

作者简介：王进(1977-)，男，硕士，研究方向为农药残留与环境毒理。

报道了一些没有正式认可的方法, EPA 推荐的唑螨酯在蛇麻草中残留分析方法中, 采用了德国 DFG-S19 的方法。由于桔皮成分比较复杂, 需要严格的净化, 易产生乳化、溶剂用量大、耗时、成本高等问题, 复杂的净化步骤以及转移次数的增加都可能会造成农药的损失。

基质固相分散(MSPD)技术自 1989 年 Barker 提出以来, 已在蔬菜、水果的农药残留分析中得到应用, 具有很大发展潜力<sup>[10]</sup>。为优化唑螨酯在柑桔中的残留分析方法, 本文采用 MSPD 萃取, HPLC 检测, 并对定量分析的条件进行了研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

甲醇(色谱纯) 山东禹王实业有限公司; 乙酸乙酯(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 79 馏分) 上海化学试剂公司; 石油醚(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 69 馏分) 中国石油化工集团杭州炼油厂; 无水硫酸钠(分析纯); 中性氧化铝(100~200 目) 500 灼烧 4h, 用前 130 烘 4h 于干燥器中备用; 唑螨酯(纯度 99.0%) 国家农药质检中心。

Agilent 1100 高效液相色谱仪 美国安捷伦公司; 760CRT 型双光束紫外-可见分光光度计 上海第三分析仪器厂; RE-52 旋转蒸发器 上海青浦沪西仪器厂; SQ2119 多功能食品加工机 上海帅佳电子科技有限公司; FA1104 电子天平(精确至万分之一) 上海天平仪器厂; N-EVAP™112 氮吹仪 美国 Organomation 公司; 玻璃层析柱, 25cm × 1cm(i.d.)、50cm × 1cm(i.d.); 研钵外口径 10cm。

### 1.2 标准溶液的配制

准确称取唑螨酯标准品 0.0165g 于 10ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀即为唑螨酯的储备液。把储备液稀释成  $1 \times 10^{-4}$ g/ml, 再用甲醇逐级稀释配成不同浓度的标准溶液。

### 1.3 色谱条件

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 具可变波长紫外检测器和化学工作站; Hypersil ODS C<sub>18</sub> 色谱柱, 4.6mm (i.d.) × 250mm, 柱温 20, 流动相: 甲醇: 水(90:10, V/V), 流速: 1.0ml/min, 检测波长 258nm, 进样量 20μl。

### 1.4 样品制备

#### 1.4.1 试验样品预处理

供试柑桔购自市场, 储存于 4 冰箱(一周内使用), 将桔肉和桔皮分开, 四分法取样, 分别用多功能食品加工机捣碎匀浆, 待测样品均分为两份, 一份供测, 一份置于 -20 冰箱备用。

#### 1.4.2 基质固相分散萃取

取准确称量 4.0g 预处理后的样品(桔皮、桔肉)于研钵中, 用研锤碾匀样品, 加入 7g 无水硫酸钠(用于吸收样品中的水分, 使得样品研磨后呈粉末状), 再加入 7g 氧化铝, 研磨样品直至成近干燥粉末状。50cm × 1cm (i.d.) 层析柱用少许脱脂棉堵在活塞上端(防止柱填料漏出), 加入 3g 无水硫酸钠, 然后小心把研磨的样品粉末转移到玻璃层析柱中, 再加 3g 无水硫酸钠于上端层析柱, 轻敲两下即可(如把柱填料敲的太实会影响淋洗液的流速), 用 40ml 乙酸乙酯淋洗, 收集洗脱液于 150ml 平底烧瓶, 浓缩至近干, 氮气流吹干(吹干不会造成唑螨酯损失), 用 5ml 石油醚溶解残留物, 待净化。

#### 1.4.3 净化

氧化铝柱(无水硫酸钠: 氧化铝: 无水硫酸钠, W/W/W, 2:6:2)先用 20ml 石油醚预淋洗后, 加入样品提取液, 用 20ml 石油醚/乙酸乙酯(V/V, 7:1)淋洗, 弃去淋出液, 待液面降至层析柱顶端无水硫酸钠层, 再用石油醚/乙酸乙酯(V/V, 3:1)30ml 混合液淋洗, 收集淋出液于 150ml 平底烧瓶, 再浓缩至干(如有残余溶剂用微氮气流吹干), 用甲醇或流动相(甲醇/水, V/V, 9:1)定容至 5ml, 过 0.45 μm 的滤膜, 待测。

## 2 结果与分析

### 2.1 淋洗液用量的选择

为选择合适的淋洗液用量, 以基质固相分散萃取法为前处理, 在柑桔样品中添加唑螨酯标准溶液, 使得添加浓度为 0.5mg/kg, 用不同量的乙酸乙酯淋洗, 测定唑螨酯的添加回收率, 见表 1。

表 1 不同淋洗液用量的唑螨酯回收率  
Table 1 Recoveries of fenpyroximate using different eluant volumes in MSPDE

乙酸乙酯(ml)	提取方法	回收率(%)	相对标准偏差(%)
80	MSPD	84.3	6.9
60	MSPD	82.8	9.3
50	MSPD	86.2	12.3
40	MSPD	85.4	7.9
35	MSPD	81.8	8.8

从表 1 看出, 从 35 到 80ml 的乙酸乙酯均能较好地洗脱出农药, 在基质固相萃取中, 由于柱中吸附剂和样品会吸附一定量的淋洗液, 为保证农药的回收率, 选用 40ml 乙酸乙酯作为基质固相分散柱的淋洗液。

### 2.2 检测波长的确定

用 10mg/L 的唑螨酯甲醇溶液在 190~500nm 内进行紫外光谱扫描。选择 258nm 为检测波长, 在此波长下, 溶剂的紫外吸收很小, 唑螨酯的响应值也满足残留分析灵敏度的要求。

### 2.3 方法灵敏度

把储备液稀释成  $1 \times 10^{-4}$  g/ml, 再用甲醇逐级稀释配成系列标准溶液, 取  $0.05 \times 10^{-6}$ 、 $0.1 \times 10^{-6}$ 、 $0.5 \times 10^{-6}$ 、 $1 \times 10^{-6}$ 、 $3 \times 10^{-6}$ 、 $5 \times 10^{-6}$  g/ml 不同浓度的标准溶液, 采用外标法对唑螨酯进行定量, 测定了唑螨酯进样量与 HPLC 响应的线性关系, 标准曲线, 见图 2。

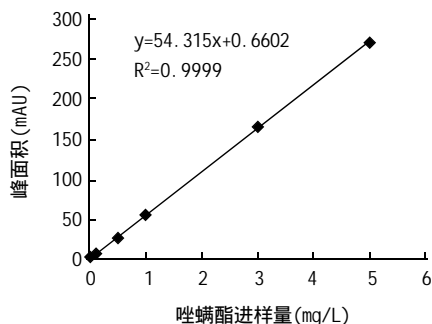


图2 唑螨酯高效液相色谱标准曲线  
Fig.2 HPLC standard curve of fenpyroximate

由标准曲线知, 唑螨酯在  $0.05 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-6}$  g/ml 范围内, 峰面积与进样量呈良好线性关系。在该方法条件下, 唑螨酯在柑桔样品中的最低检出浓度为 0.0625 mg/kg。

### 2.4 方法精密度

取浓度为 0.05、0.5 和 1.0 mg/L 的三种标准样品, 各连续进样 4 次, 结果见表 2。

表2 检测方法精密度

Table 2 Results of precision for fenpyroximate determination

浓度 (mg/L)	进样 次数	峰面积(mAU)					相对标准偏差 (%)
		1	2	3	4	平均值	
0.05	4	2.7	3.1	2.6	3.0	2.85	8.35
0.5	4	27.4	27.5	28.4	27.6	27.73	1.65
1.0	4	55.3	56.2	54.9	56.5	55.73	1.35

从表 2 可以看出, 在该检测条件下, 浓度为 0.05、0.5 和 1.0 mg/L 的三种样品 4 次进样所测值的相对标准偏差分别为 8.35%、1.65% 和 1.35%, 同一浓度样品的色谱峰面积响应值重现性较好。

### 2.5 添加回收率

以基质固相分散萃取法为前处理, 在桔肉和桔皮空白样品中添加唑螨酯标准溶液使得添加浓度为 0.1、0.5、1 mg/kg, 按上述分析检测方法, 测定唑螨酯在柑桔样品中的添加回收率, 见表 3。

以回收率表示准确度, 从表 3 可以看出, 在桔肉和桔皮中添加唑螨酯浓度分别为 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg, 在桔肉中的添加回收率为 81.9%~90.9%, 相对标准偏差为 3.95%~7.26%, 桔皮中的添加回收率为 83.5%~

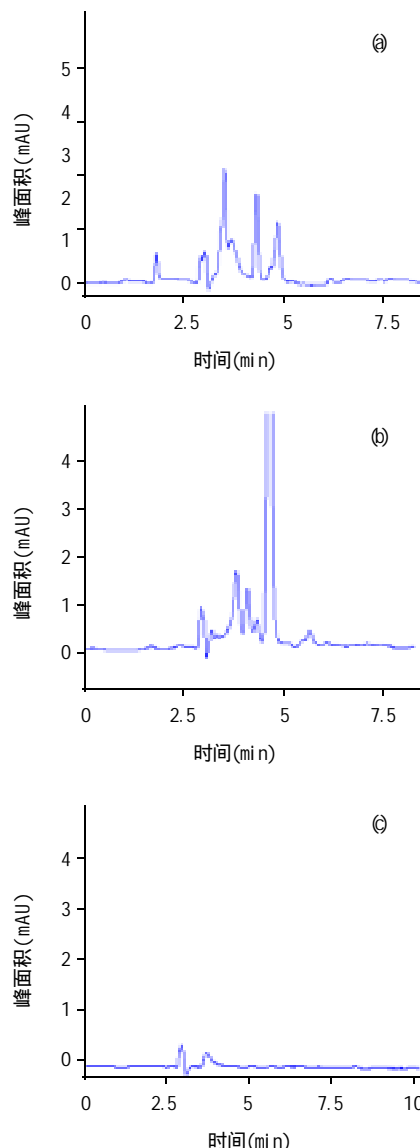
表3 唑螨酯在柑桔中的添加回收率

Table 3 Recoveries of fenpyroximate spiked in oranges at three concentration levels

基质	提取方法	添加浓度(mg/kg)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
桔肉	MSPD	0.1	81.9	4.35
		0.5	83.8	7.26
		1	90.9	3.95
桔皮	MSPD	0.1	96.3	7.54
		0.5	83.5	4.58
		1	92.4	3.73

96.3%, 相对标准偏差为 3.73%~7.54%, 符合残留分析的要求。添加回收色谱图, 见图 3。

从添加回收色谱图可看出, 唑螨酯与基质共提物有良好的分离, 能进行准确的定量分析。在提取过程中, 若选用极性溶剂如甲醇、丙酮、乙腈提取, 脂和糖等共提物较多, 还需要液液分配除去水溶性部分, 增加了实验操作的步骤, 较难除去的共提物也会干扰农药在



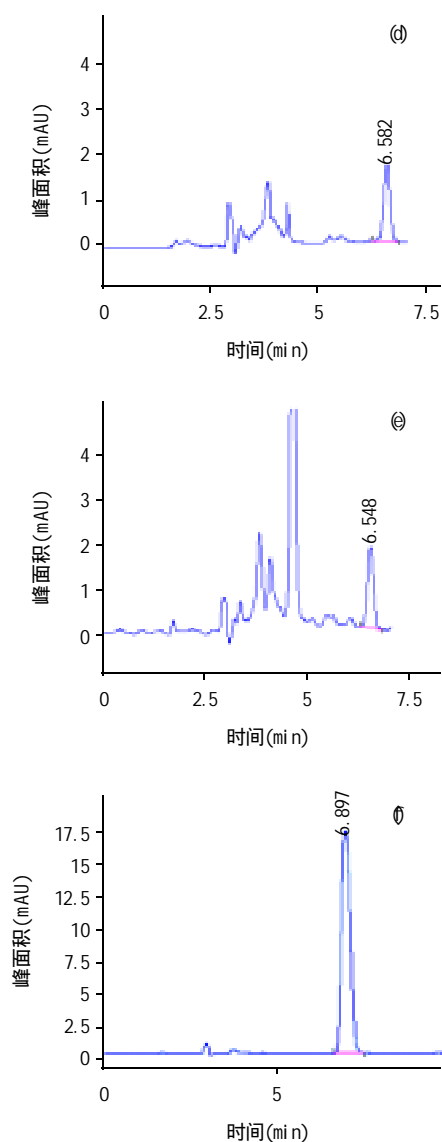


图3 啉螨酯在柑桔中的添加回收色谱图  
Fig.3 HPLC Chromatograms of extracts, solvent and standard solution

HPLC 上的准确检测。由于桔皮成分复杂, 含有桔皮苷、色素、香精油等在常规的净化方法中都难以除去, 桔皮结构特点是捣碎后仍呈小颗粒状, 渗入在桔皮组织内部的农药不能与提取溶剂充分接触, 可能也是有些方法中提取率不高或重现性不好的原因之一。应用基质固

相分散(MSPD)正好克服了桔皮样品复杂性的特点, 乙酸乙酯对啉螨酯有很好的溶解和洗脱能力, 所以选用乙酸乙酯作为基质分散柱的淋洗剂, 把氧化铝作为基质分散剂的也有报道<sup>[11]</sup>。应用基质固相分散萃取法, 能有效地萃取出柑桔中的啉螨酯, 同时减少了共提物的干扰。

### 3 结 论

本研究建立了啉螨酯在柑桔中基质固相分散萃取, 氧化铝柱净化后 HPLC 测定的方法, 该方法啉螨酯与杂质能得到很好的分离, 线性关系良好, 操作简便、成本低、快捷、定量准确, 回收率符合农药残留分析的要求。

### 参考文献:

- [1] MOTOBA K, NISHIZAWA H, SUZUKI T, et al. Species-specific detoxification metabolism of fenpyroximate, a potent acaricide[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2000, 67: 73-84.
- [2] 平霄飞, 吴园生, 梁天锡. 啉螨酯在苹果和柑桔上的残留动态[J]. 农药, 1994, 33(6): 24-25.
- [3] 吴俐勤, 朱亚红, 许海忠, 等. 啉螨酯在柑桔和土壤中的残留研究[J]. 农药, 1996, 35: 21-23.
- [4] 宋亚平, 李宏. 霸螨灵在苹果和土壤中的残留动态试验[J]. 农村生态环境, 2000, 16(2): 28-30.
- [5] 吴园生, 平霄飞, 梁天锡. 杀螨王及其代谢物残留量的气相色谱分析法[J]. 色谱, 1994, 12(6): 421-422.
- [6] 杨仁斌, 郭正元, 刘毅华, 等. 速霸螨水乳剂在柑橘及土壤中的残留动态研究[J]. 农药学报, 2004, 6(1): 58-62.
- [7] AKIKO K, KIMIHIKO Y, YUKARI T, et al. Multi-residue analysis of 18 pesticides in fresh fruits, vegetables and rice by supercritical fluid extraction and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Journal of Health Science, 2002, 48(2): 173-178.
- [8] OHNO C, OTAKI M, MORI Y. Simultaneous determination of residual pesticides in agricultural products by HPLC[J]. Ehime-kenritsu Eisei Kankyo Kenkyusho Nenpo, 1998, (1): 26-30.
- [9] LEE Y D, KWON C H. Multi-residue analysis of eight acaricides in fruits[J]. Agric Chem Biotechnol, 1999, 42(4): 191-196.
- [10] BARKER S A. Matrix solid-phase dispersion[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 885: 115-127.
- [11] LAGANÀ A, BACALONI A, CASTELLANO M, et al. Sample preparation for determination of macrocyclic actinomycotoxins in fish tissue, based on on-line matrix solid-phase dispersion and solid-phase extraction cleanup followed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. J AOAC Int, 2003, 86(4): 729-736.