

高效液相色谱 - 二极管阵列法测定蔬菜中噻虫啉残留量

张 征, 武中平, 张晓强, 卢 剑

(江苏省产品质量监督检验研究院, 江苏 南京 210007)

摘 要: 采用高效液相色谱 - 二极管阵列检测器对蔬菜中噻虫啉残留量进行测定。样品用乙腈提取后, 经 Florisil 固相萃取小柱净化, 用 C₈ 液相色谱柱、二极管阵列检测器, 对蔬菜中噻虫啉残留量的测定可取得满意的结果。该方法样品平均加标回收率为 81.8%~97.5%, 相对标准偏差为 1.36%~7.80%; 蔬菜中噻虫啉检出下限为 0.02mg/kg。

关键词: 蔬菜; 噻虫啉; 残留量; 高效液相色谱; 二极管阵列检测器

Determination of Thiocloprid Residue in Vegetables by High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection

ZHANG Zheng, WU Zhong-ping, ZHANG Xiao-qiang, LU Jian

(Jiangsu Product Quality Supervision & Inspection Institute, Nanjing 210007, China)

Abstract: A method to determine thiocloprid residue in vegetables was developed using high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD). Samples were extracted by acetonitrile, cleaned up on florisil SPE column, separated on C₈ liquid chromatography columns and detected with DAD. The average recoveries of thiocloprid in three species of vegetables at three spike levels were 81.8%—97.5% with a relative standard deviation of 1.36%—7.80% ($n = 6$). The detection limit of the method was 0.02 mg/kg.

Key words: vegetables; thiocloprid; residue; high performance liquid chromatography; DAD

中图分类号: O657.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0241-03

噻虫啉, 英文名 thiocloprid, 化学名称为 3-[(6-氯-3-吡啶基)甲基]-1,3-噻唑啉-2-基叉氰胺, 是德国拜耳公司研制、开发的第二代新烟碱类杀虫剂。该产品具有用量少、药效快、活性高、持效期长等特点。对刺吸口器害虫有优异的防效, 对各种甲虫(如马铃薯甲虫、苹花象甲、稻象甲)和鳞翅目害虫如苹果树上的潜叶蛾和苹果蠹蛾也有效^[1-5]。既可用于茎叶类蔬菜灭虫处理, 也可以进行种子处理。与常规杀虫剂如拟除虫菊酯、有机磷类和氨基甲酸酯类没有交互抗性, 因此可用于抗性治理。其在土壤中半衰期短, 对鸟类、鱼和多种有益节肢动物安全, 同时对蜜蜂也安全, 在作物花期也可以使用。噻虫啉对哺乳动物毒性较低, 对操作者和消费者安全^[6]。

目前已有一些关于噻虫啉分析方法的报道^[7-13], Yu 等^[11]采用液相色谱质谱联用测定了噻虫啉在百里香草、

甘菊和土壤中的残留。韩振泰等^[12]用高效液相色谱法测定绒毛白蜡树干及土壤中噻虫啉残留量, 植物和土壤均采用二氯甲烷超声提取, 甲醇溶解过滤膜后上机测定。武中平^[7]HPLC-DAD 测定了农药产品中噻虫啉的含量。刘丽丹等^[13]对噻虫啉在土壤和稻谷中的残留情况进行了研究。关于蔬菜中噻虫啉残留的分析方法鲜见报道。本实验优化前处理和色谱条件, 采用高效液相色谱 - 二极管阵列检测器(high performance liquid chromatography-diode array detectors, HPLC-DAD)测定蔬菜中噻虫啉的含量, 以期为其建立标准测定方法提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

黄瓜、四季豆、空心菜 市售。

噻虫啉标准物质: 纯度 ≥ 99%; 乙腈、甲醇、正

收稿日期: 2011-10-07

基金项目: 江苏省地方标准制定项目(苏质技监标发[2006]171 号文)

作者简介: 张征(1972—), 男, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测与风险分析。

E-mail: zz_spjkzx@jsqts.gov.cn

己烷(均为色谱纯);丙酮(使用前需重蒸)、甲酸(均为分析纯);氯化钠(优级纯);无水硫酸钠(分析纯),用前在 650℃灼烧 4h,贮于干燥器中,冷却后备用。

噻虫啉标准溶液:称取噻虫啉标准物质约 0.025g(精确至 0.0002g)于 25mL 容量瓶中,加甲醇超声振荡溶解,并定容至刻度,摇匀,配制成单一标准溶液。

噻虫啉标准工作溶液:准确移取适当体积的标准溶液于 25mL 容量瓶中,加甲醇超声振荡,并定容至刻度,摇匀,配制成一系列噻虫啉标准工作溶液。

淋洗液:丙酮:正己烷(10:90, V/V);**洗脱液:**丙酮:正己烷(20:80, V/V)。

1200 高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器、化学工作站) 美国 Agilent 公司; N-EVAP 氮吹仪 美国 Organomation Associates 公司; Innovation Florisil 固相萃取柱[(500mg, 6mL), 使用前需用 5mL 正己烷活化] 无锡科奥美萃生物科技有限公司; 微孔过滤膜: 13mm × 0.45μm, 有机相; CPA 分析天平(感量为 0.0001g 和 0.01g) 赛多利斯科学仪器(北京)有限公司; SB25-12D 超声波清洗器 宁波新芝生物科技股份有限公司; Supelco 固相萃取装置 北京康林科技有限责任公司; XFB-200 粉碎机 吉首市中诚制药机械厂; XW-80A 旋涡混合器 上海昨非实验室设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 提取与净化

取代表性样品 500g, 取可食部分(不可水洗)并将其切成小块, 用组织捣碎机匀浆并混合均匀。

称取 25g 试样(精确至 0.01g)于锥形瓶中, 再加入 50mL 乙腈, 超声提取 20min, 过滤, 将滤液转移到具塞量筒中, 加入 5g 氯化钠, 剧烈振荡 3min, 静置 30min。准确移取 10.0mL 上层清液, 使之通过装有 2cm 厚的无水硫酸钠层的滤纸进入试管中, 并用 5mL 乙腈洗涤无水硫酸钠层, 收集、合并乙腈, 于 65℃水浴中氮气吹干, 用 2mL 淋洗液溶解残渣, 待净化。

将待净化液转移至已预先活化的 Florisil 固相萃取柱中, 调节装置使淋洗液流速约为 2mL/min, 用 12mL 淋洗液分 3 次洗涤试管, 将其加入柱中, 流出液弃去。加入 10mL 洗脱液, 收集洗脱液于另一支试管中, 于 40℃水浴中用氮气吹干。加入 1.0mL 乙腈, 旋涡混合器混合 1min, 有机滤膜过滤, 待测。

1.2.2 高效液相色谱分析条件

液相色谱柱: Supelco LC-C₈ 柱(250mm × 4.6mm, 5μm); **流动相:** 乙腈 + 0.25% 甲酸溶液(30:70, V/V); **柱温:** 30℃; **流速:** 1.0mL/min; **检测波长:** 245nm; **进样量:** 10μL。此条件下, 噻虫啉的保留时间为 8.9min, 噻虫啉标准溶液高效液相色谱图见图 1。

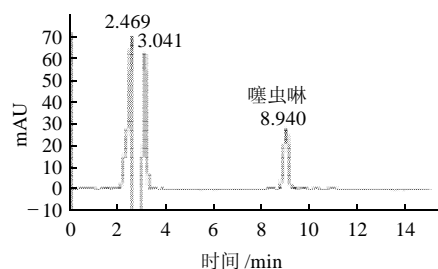


图 1 噻虫啉标准溶液高效液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of thiacloprid standard

2 结果与分析

2.1 样品前处理

蔬菜样品含有一定量的色素、有机酸、多糖类、蛋白质、脂肪, 在用有机溶剂对其提取时不可避免地将这些物质也提取出来, 从而干扰噻虫啉农药残留的测定, 并影响分析仪器的性能、寿命。谢文等^[14]测定茶叶中呋虫胺、噻虫嗪、噻虫胺、吡虫啉、啉虫咪和噻虫啉烟碱类农药残留时采用活性炭和 Oasis(HLB)固相小柱净化。乙小娟等^[15]采用 Florisil 固相萃取小柱对大米中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清 4 种烟碱类农药进行净化, 净化效果较好。噻虫啉也属于烟碱类农药, 结构和上述 4 种农药相似, 因此在本实验采用文献^[15]中净化手段, 即用 Florisil 固相萃取小柱对蔬菜提取液进行净化。

在 Florisil 固相萃取小柱中加入相同质量的噻虫啉标准物质后, 用不同体积的洗脱液进行洗脱, 收集洗脱液并将其浓缩到相同体积后测定噻虫啉的质量, 得到洗脱回收率。结果表明, 在用 10mL 淋洗液进行洗脱时, 噻虫啉的回收率能达到 99.5%, 之后洗脱液体积的增加并不能提高噻虫啉的回收率, 因此本实验洗脱液体积定为 10mL。

2.2 流动相的选择

为了获得较好的分离效果, 本实验对不同比例的甲醇 + 0.25% 甲酸溶液、甲醇 + 乙腈 + 0.25% 甲酸溶液、乙腈 + 0.25% 甲酸溶液进行考察, 结果表明乙腈 + 0.25% 甲酸溶液(30:70, V/V)时, 不但实现了噻虫啉和蔬菜样品中杂质峰的有效分离, 而且峰形对称性很好, 同时保留时间适当, 能有效避免基质中相关物质的干扰。

2.3 线性范围和方法检出限

分别吸取一定体积的噻虫啉标准溶液, 配制成质量浓度为 0.16、0.80、8.00、20.00、100.00mg/L 噻虫啉标准工作溶液, 采用 1.2.2 节方法进行色谱分析。以质量浓度(x)-峰面积(Y)求出线性方程。Y = 44.1640339x - 4.5374864, 相关系数为 0.99995。

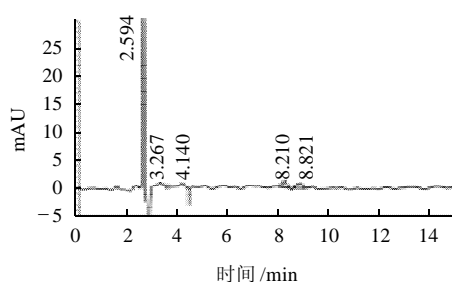


图2 空白黄瓜加标高效液相色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of spiked cucumber sample

本方法检出限采用在空白样品中添加标准物质的方式进行测定。按三倍噪声水平对噻虫啉在黄瓜、四季豆、空心菜中的进行测定,得到检测下限为0.02mg/kg。在黄瓜中检测下限测定谱图见图2。

2.4 方法的精密度和回收率

在空白黄瓜、四季豆、空心菜(各25g)进行噻虫啉的添加回收率实验,共设3个添加水平,分别是0.02、0.1、1.0mg/kg,同一添加水平在同一样品上重复6次,按照1.2.1节前处理方法处理之后,按照1.2.2节色谱条件进行测定。计算平均回收率和变异系数。结果见表1。平均添加回收率在81.8%~97.5%之间,变异系数在1.36%~7.8%之间。

表1 噻虫啉在黄瓜、四季豆、空心菜中的平均添加回收率

Table 1 Average spike recoveries and RSDs of thiacloprid in cucumber, green bean and water spinach

蔬菜	添加量/ (mg/kg)	测得量/ (mg/kg)	平均添加 回收率/%	变异系 数/%
黄瓜	0.02	0.0180	90.0	7.80
	0.1	0.0950	95.0	6.90
	1.0	0.9750	97.5	2.80
四季豆	0.02	0.0176	88.1	2.48
	0.1	0.0852	85.2	3.91
	1.0	0.9490	94.9	3.55
空心菜	0.02	0.0164	81.8	2.82
	0.1	0.0840	84.0	1.36
	1.0	0.9390	93.9	3.64

3 结 论

本实验建立的蔬菜中噻虫啉残留量的高效液相色谱-二极管阵列测定法,前处理简单,操作方便,精密度和准确度较好,检出限较低,能满足蔬菜中噻虫啉的限量要求,符合实验室对农药残留测定方法的要求。可用于蔬菜中噻虫啉残留量的测定,并具有一定的推广价值。

参考文献:

- [1] 童文钢. 噻虫啉对杨树天牛成虫的毒力测定及林间防治[J]. 福建林学院学报, 2011(4): 368-371.
- [2] 刘晓杰, 杨金库, 冯争光, 等. 48% 噻虫啉悬浮剂防治白粉虱田间药效试验[J]. 现代农村科技, 2011(16): 70-72.
- [3] 袁媛, 李桥, 陈祖海, 等. 噻虫啉微胶囊剂防治松褐天牛药效试验[J]. 华东森林经理, 2011(3): 52-54.
- [4] 常国彬, 温小遂, 熊惠龙, 等. 噻虫啉林间防治松褐天牛药效试验[J]. 辽宁林业科技, 2011(1): 22-24; 45.
- [5] 胡敏, 张强, 吴兵兵, 等. 噻虫啉对蚜虫杀虫活性及田间药效评价[J]. 现代农药, 2006(3): 52-53.
- [6] 张冲, 葛峰, 单正军, 等. 噻虫啉环境行为研究[J]. 农药, 2010(11): 830-833.
- [7] 武中平. HPLC-DAD测定噻虫啉含量[J]. 农药, 2008, 47(9): 661-662.
- [8] 石隆平, 李磊, 左伯军. 噻虫啉的反相高效液相色谱分析[J]. 农药, 2007(4): 246-247.
- [9] 王跃凤, 张宏超, 高亚琳. 噻虫啉原药高效液相色谱分析[J]. 河南化工, 2006(6): 44-45.
- [10] 陈昌云, 赵波, 王正武. 固相萃取-高效液相色谱法测定饲料中的噻虫啉[J]. 畜牧与兽医, 2011(7): 47-50.
- [11] YU Yunlong, WU Jialun, STAHLER M, et al. Residual dynamics of thiacloprid in medical herbs marjoram, thyme, and camomile in soil[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(2): 205-209.
- [12] 韩振泰, 李如华, 高瑞桐. 反相高效液相色谱法测定绒毛白蜡中噻虫啉残留量[J]. 现代科学仪器, 2007(1): 64-65.
- [13] 刘丽丹, 侯志广, 殷利丹, 等. 噻虫啉在土壤和稻谷中的残留研究[J]. 安徽农业科学, 2010(23): 1256-1258.
- [14] 谢文, 钱艳, 丁慧瑛, 等. 液相色谱-电喷雾电离三级四极杆质谱法测定茶叶中6种烟碱类农药残留[J]. 分析化学, 2009(4): 495-499.
- [15] 乙小娟, 朱加叶, 丁萍, 等. 高效液相色谱法快速测定大米中的4种烟碱农药残留量[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 169-172.