

高效液相色谱法测定黄瓜中嘧霉胺和烯酰吗啉农药残留

程文杰, 苏效华, 桑绍纯

摘要: [目的] 研究黄瓜中嘧霉胺和烯酰吗啉残留量的检测方法。[方法] 采用乙腈提取黄瓜中的嘧霉胺和烯酰吗啉农药残留, 氟罗里硅土固相萃取小柱进行柱净化, 高效液相色谱可变波长紫外检测器(260 nm)进行测定。[结果] 嘧霉胺和烯酰吗啉回收率分别为 97.74%~102.83% 和 83.21%~103.74%, 相对标准偏差均 < 5%, 最低检出限分别为 0.008 mg/kg 和 0.014 mg/kg。[结论] 该方法简单、快捷、灵敏, 适合于黄瓜中嘧霉胺和烯酰吗啉残留量的测定。

关键词: 高效液相色谱; 嘧霉胺; 烯酰吗啉; 残留

Determination of Residues of Pesticides Pyrimethanil and Dimethomorph in Cucumber by High-performance Liquid Chromatography CHENG Wen-jie, SU Xiao-hua, SANG Shao-chun (Tianjin Health and Anti-Epidemic Station of Beijing Railway Bureau, Tianjin 300140, China)

Abstract: [Objective] To study the determination method of pesticides residue of pyrimethanil and dimethomorph in cucumber. [Methods] The pesticide residues in cucumber were extracted with acetonitrile and cleaned up with florisil Solid-Phase Extraction (SPE) column. The analytes were quantified by high-performance liquid chromatography (HPLC) equipped with Variable Wavelength Detector (VWD) at 260 nm wavelength. [Results] The average recoveries of pyrimethanil and dimethomorph ranged 97.74%-102.83% and 83.21%-103.74%, separately. The relative standard deviations were less than 5%. The limits of detection of them were 0.008 mg/kg and 0.014 mg/kg respectively. [Conclusion] This method is simple, rapid and sensitive, it can be used to determine pyrimethanil and dimethomorph residues in cucumber.

Key Words: high-performance liquid chromatography; pyrimethanil; dimethomorph; residue

嘧霉胺(4,6-二甲基-N-苯基-2-嘧啶胺)是一种高效、低毒的杀菌剂, 嘧霉胺的蒸气压较高, 为 2.2×10^{-3} Pa (25℃), 易挥发, 田间使用后易于降解。烯酰吗啉即 4-[3-(4-氯苯基)-3-(3,4-二甲氧基苯基)丙烯酰]吗啉有两种异构体, E 体和 Z 体, 两种异构体在日光下发生互变, 蒸气压低, 为 9.7×10^{-4} mPa (25℃), 降解缓慢, 易于在作物中残留, 这两种农药在农业生产中应用非常普遍。朴秀英等^[1]建立了检测土壤中烯酰吗啉的方法, 但未见农产品中烯酰吗啉和嘧霉胺检测方法的报道。为此, 本研究拟以黄瓜为试样, 对烯酰吗啉和嘧霉胺的农药残留检测方法进行探讨, 为黄瓜中烯酰吗啉和嘧霉胺的残留测定提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

嘧霉胺标准品、烯酰吗啉标准品, 纯度均 ≥ 98%, 由国家农药标准物质中心提供, 准确称取一定量的农药标准品(精确到 0.1 mg), 用甲醇配制为 5 mg/L; 甲醇、乙腈均为色谱纯; 丙酮、正己烷均为分析纯, 经重蒸馏处理后使用; 氯化钠, 分析纯, 650℃ 烘烤 2h; 水为纯净水, 用前以 0.45 μm 滤膜过滤; 固相萃取柱为氟罗里硅土柱, 填料为 1000 mg, 容积为 6 mL, 美

国安捷伦公司生产。

1.2 仪器

Agilent1100 液相色谱仪, 带可变波长紫外检测器(VWD)和自动进样器, 美国安捷伦公司产品; 食品处理机, 德国 Braun 公司产品; T25 分散器、旋转蒸发仪均为德国 IKA 公司产品。

1.3 实验步骤

1.3.1 试样制备 将黄瓜按照纵向四分法进行缩分, 切碎, 放入食品处理机中粉碎, 制成待测样。

1.3.2 提取 准确称取 20.0 g 试样, 加入乙腈 50 mL, 用 T25 分散器匀浆, 过滤, 滤液中加入 6 g 左右氯化钠, 剧烈震荡约 2 min, 静置, 量取上层乙腈相 25 mL, 用旋转蒸发仪浓缩至近干, 用少量正己烷溶解, 待净化。

1.3.3 净化 将氟罗里硅土柱先用正己烷 10 mL 预淋, 条件化, 当溶剂液面到达吸附层表面时, 立即倒入上述待净化溶液, 用 10 mL 正己烷/丙酮(9/1, 体积比)洗脱, 收集滤液用于测定嘧霉胺残留量。将上述氟罗里硅土柱继续用 7 mL 正己烷/丙酮(7/3, 体积比)洗脱, 收集滤液用于测定烯酰吗啉残留量。将以上两次分别收集的滤液用氮气吹至近干, 用甲醇定容至 5 mL, 过 0.25 μm 滤膜, 待液相色谱分析。

1.4 液相色谱条件的优化

采用安捷伦公司的 SB-C18 柱(4.0 mm 内径 × 250 mm, 5 μm), 以乙腈/水做为流动相、选择流量为 0.8 mL/min 进行优化试验

[作者简介] 程文杰(1970-), 女, 学士, 主管技师; 研究方向: 卫生防疫理化检验; E-mail: djw711208@yahoo.cn

[作者单位] 北京铁路局天津卫生防疫站, 天津 300140

条件,选择乙腈/水体积比分别为 5/5、6/4、7/3、8/2 进行测定。结果表明,甲醇在流动相中的比例大于 60% 时, E 体和 Z 体烯酰吗啉不能完全分离; 甲醇在流动相中的比例小于 50% 时, 烯酰吗啉和嘧霉胺的保留时间明显延长, 而且色谱峰变宽, 灵敏度下降。

经比较,选择乙腈/水=60/40, 流速 0.8 mL/min 对烯酰吗啉和嘧霉胺进行测定, 吸收波长采用 260 nm, 进样量为 10 μL, 运行时间为 12 min。

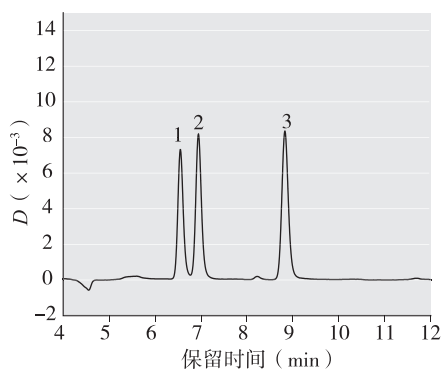
1.5 结果计算

烯酰吗啉和嘧霉胺的残留量以质量分数 W 计, 单位以 mg/kg 表示, 按照下列公式进行计算: $W = (V_1 \times A \times C_s \times V_3) / (V_2 \times A_s \times m)$ 。上式中: C_s —标准溶液中烯酰吗啉或嘧霉胺的浓度, 单位为 mg/L; A —样品溶液中烯酰吗啉或嘧霉胺的峰面积; A_s —烯酰吗啉或嘧霉胺标准溶液的峰面积; V_1 —样品溶液定容体积, 单位为 mL; V_2 —分取的用于检测的样品溶液体积, 单位为 mL; V_3 —样品溶液定容体积, 单位为 mL; m —试样的质量, 单位为 g。

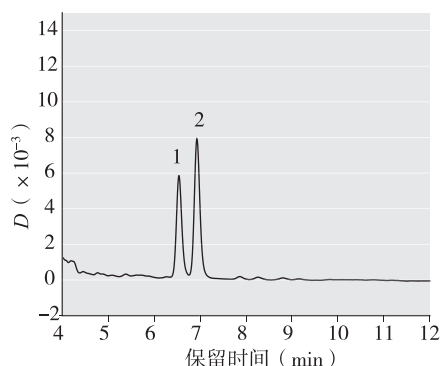
2 结果

2.1 分析方法中线性关系的测定

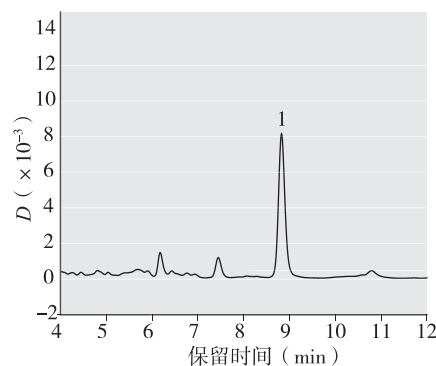
在上述色谱条件下, 采用外标法定量, 以甲醇为溶剂, 将嘧霉胺和烯酰吗啉配制成 0.05~5 mg/L, 测定各浓度相对应的峰面积, 结果表明, 两种农药的浓度 (x) 和峰面积 (y) 有很好的相关性, 满足定量分析的需要, 见图 1-3; 回归方程和相关系数见表 1。



1: E 体烯酰吗啉; 2: Z 体烯酰吗啉; 3: 嘧霉胺
图 1 烯酰吗啉和嘧霉胺标样色谱图



1: E 体烯酰吗啉; 2: Z 体烯酰吗啉
图 2 黄瓜中添加烯酰吗啉色谱图



1: 嘧霉胺

图 3 黄瓜中添加嘧霉胺色谱图

表 1 嘧霉胺和烯酰吗啉浓度 (x) 和峰面积 (y) 的相关性

农药名称	回归方程	相关系数
嘧霉胺	$\hat{y} = 33.335x - 0.465$	0.99998
烯酰吗啉	$\hat{y} = 52.729x + 0.216$	0.99999

2.2 准确度和精密度

将黄瓜试样按照 1.3 进行处理后检测, 选用未检测出嘧霉胺和烯酰吗啉的黄瓜试样进行回收率试验, 在黄瓜试样中添加嘧霉胺和烯酰吗啉的量均为 0.1、0.5、2.0 mg/kg 三个梯度, 每个梯度设 3 个重复, 取得较好的试验结果, 嘧霉胺回收率为 97.74%~102.83%, 烯酰吗啉回收率 83.21%~103.74%, 相对标准偏差均在 5% 以下, 见表 2。

表 2 黄瓜中嘧霉胺和烯酰吗啉的添加回收率实验结果

农药名称	添加量 (mg/kg)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
嘧霉胺	0.1	102.83	0.38
	0.5	97.74	0.58
	2.0	99.62	0.78
烯酰吗啉	0.1	103.74	2.90
	0.5	83.21	1.30
	2.0	94.12	3.19

2.3 最低检出限

按照 $S/N=3$ 计算, 黄瓜中嘧霉胺的最低检出浓度为 0.008 mg/kg, 最低检出量为 1.6×10^{-10} g; 烯酰吗啉的最低检出浓度为 0.014 mg/kg, 最低检出量为 2.8×10^{-10} g。

3 讨论

本法采用国际和国内最常用的提取溶剂乙腈^[2-3]方法, 提取效率高, 而且很容易和水相分离, 使得提取和净化过程比使用其他溶剂提取相对简单。测定烯酰吗啉和嘧霉胺时, 采用分段收集洗脱液的办法, 使 Z 体烯酰吗啉避免了第一种洗脱液中杂质带来的干扰, 提高了方法的灵敏度和准确度。采用固相萃取净化的办法, 比传统的萃取法节省时间、减少试剂的用量, 而且有效地去除了杂质干扰^[4-5], 灵敏度高, 能够满足黄瓜中烯酰吗啉和嘧霉胺农药残留检测的要求, 实用性好。

参考文献:

[1] 朴秀英, 吴凌云, 邹积鑫, 等. 烯酰吗啉在土壤中残留测定方法研

究[J]. 农药科学与管理, 2006, 27(1): 7-9.

[2] 农业部环境质量监督检验测试中心(天津), 农业部环境保护科研监测所. NY/T 761—2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留检测方法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2008.

[3] ANASTASSIADES M, LEHOTAY SJ, STAJHBAHER D, et al. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the

determination of pesticide residues in produce[J]. J AOAC Int, 2003, 86(2): 412-431.

[4] 李本昌. 农药残留量实用检测方法手册[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1995.

[5] 杨建湘, 黄超群, 熊莉莉. 烯酰吗啉原药的高效液相色谱分析[J]. 精细化工中间体, 2003, 33(4): 50-51.

(收稿日期: 2009-06-15)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 王晓宇; 校对: 丁瑾瑜)

(上接第 511 页)

3 讨论

样品预处理简化后, 会有杂质在色谱柱保留。但由于保留时间不干扰 7 种性激素的测定, 因而本实验中才无须进行分离。化妆品取样量也大大减少, 节省了预处理的试剂和时间。这种简化预处理步骤大大提高了测定的准确度(84%~104%)、精密度(1.9%~8.3%), 可得到最低 0.01~0.06 mg/L 的检出限。

实验的简单预处理步骤能满足某些化妆品样品的测定需要, 在检测波长 230 nm, 乙腈: 水 = 40: 60 流动相条件下, 30 min 内即可实现 7 种性激素组分完全的基线分离, 且避开了杂质峰的干扰。其他共存物不干扰性激素的分离和测定。但育发类等基体复杂的化妆品不适于本法测定, 需要进一步实验探索, 另作讨论。

本研究结果适用于水剂、凝胶剂、乳剂、膏剂类样品的 7 种性激素的同时检测, 可以在化妆品检测分析机构推广应用, 评价化妆品的质量卫生, 保证人民群众的健康安全, 为相关检测标准的制定提供了科学依据。

参考文献:

[1] McEWEN B, AKAMA K, ALVES S, et al. Tracking the estrogen receptor in neurons: Implications for estrogen-induced synapse formation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(13): 7093-7100.

[2] 赵辨. 临床皮肤病学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 2001: 935-936.

[3] WARING RH, HARRIS RM. Endocrine disrupters: A human risk? [J]. Mol Cell Endocrinol, 2005, 244(112): 2-9.

[4] MASSART F, PARRINO R, SEPIA P, et al. How do environmental estrogen disrupters induce precocious puberty? [J]. Minerva Pediatr, 2006, 58(3): 247-554.

[5] 中华人民共和国卫生部. GB 7916—1987 化妆品卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1987.

[6] 中华人民共和国卫生部. 化妆品卫生规范[M]. 北京: 人民卫生

出版社, 2007: 220-227.

[7] 刘以训. 一种快速、可靠的性甾体激素放射免疫测定法[J]. 动物学杂志, 1982, 17(3): 42-46.

[8] 虞小芳, 翁萌炜. 保健品和化妆品中雌二醇免疫法测定溶剂的选择[J]. 浙江预防医学, 2005, 17(8): 78-79.

[9] ANDRÉ C, JACQUOT Y, TRUONG T T, et al. Analysis of the progesterone displacement of its humanserum albumin binding site by beta-estradiol using biochromatographic approaches effect of two salt modifiers[J]. J chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2003, 796(2): 267-81.

[10] 黄百芬, 李晓萍, 任一平, 等. 高效液相色谱法同时测定化妆精油中的七种性激素[J]. 浙江科技学院学报, 2003, 15(增刊): 84-85.

[11] 胡伟, 黄荣斌, 陈小君, 等. 用气相色谱考察雌二醇的衍生化方法[J]. 分析测试技术与仪器, 2001, 7(1): 41-44.

[12] 吴维群, 沈朝焯, 杨玉林, 等. GC-MS 联用技术检测水性化妆品中性激素成分的方法研究[J]. 环境与职业医学, 2004, 21(4): 307-309.

[13] 朱杰民, 吴西梅, 杜达安, 等. 用高效液相色谱法测定化妆品中性激素的探讨[J]. 华南预防医学, 2004, 30(4): 60-61.

[14] 赵珊, 吴大南, 王鹏. 高效液相色谱法同时测定化妆品中七种性激素[J]. 色谱, 2004, 22(3): 267-269.

[15] 王骏, 胡俊明, 冯朝华. 反相高效液相色谱法测定化妆品中性激素[J]. 卫生研究, 1999, 28(1): 35-36.

[16] HONOUR JW. High-performance liquid chromatography for hormone assay[J]. Methods Mol Biol, 2006, 324: 25-52.

[17] HONOUR JW. Gas chromatography-mass spectrometry[J]. Methods Mol Biol, 2006, 324: 53-74.

[18] 郑星泉, 周淑玉, 周世伟. 化妆品卫生检验手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 114-118.

(收稿日期: 2009-04-20)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 王晓宇; 校对: 丁瑾瑜)