文章编号：1006-3617(2010)08-0512-03　　中图分类号：R481+8　　文献标志码：A

【方法研究】

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 florsil 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2 h；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1 000 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，剧烈震摇约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。

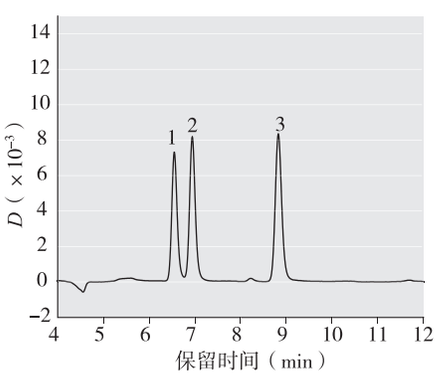
1.5　结果计算

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

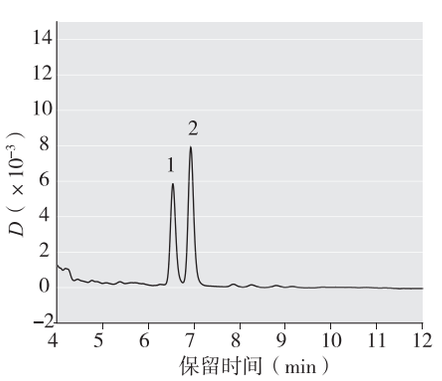
2.1　分析方法中线性关系的测定

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。



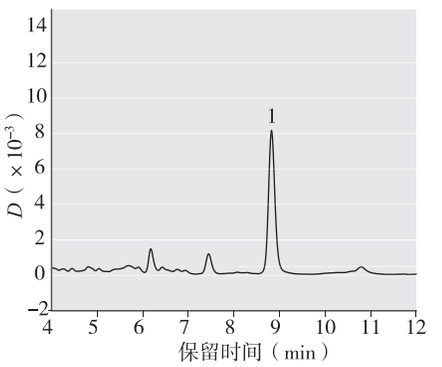
1：E体烯酰吗啉；2：Z体烯酰吗啉；3：嘧霉胺

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 S J, 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 R H, HARRIS R M. Endocrine disrupters: A human risk?[J]. Mol Cell Endocrinol, 2005, 244(112): 2-9.
[4]MASSART F, PARRINO R, SEPPIA P, et al .How do onvironmental estrogen disruptors 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]. Jchromatogr 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, 沈朝烨, 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 J W. High-performance liquid chromatography for hormone assay[J]. Methods Mol Biol, 2006, 324: 25-52.
[17]HONOUR J W. 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)