

文章编号: 1000-5862(2015)06-0566-04

HPLC 法同步测定谷物中的吡虫啉和辛硫磷

周永丹¹ 张 勇^{2*} 李存雄^{1,3*} 陈顺琴¹ 吴 浪²

(1. 贵州师范大学化学与材料科学学院, 贵州 贵阳 550001;

2. 贵州师范大学贵州省山地环境信息系统和生态环境保护重点实验室, 贵州 贵阳 550001;

3. 贵州师范学院化学与生命科学学院, 贵州 贵阳 550018)

摘要: 建立了高效液相色谱法(HPLC)同步测定大米、荞麦、玉米等谷物中吡虫啉与辛硫磷残留量的方法。样品用乙腈提取经硅镁型吸附剂净化,以 $w(\text{乙腈}):w(\text{水})=80:20$ 作为流动相,高效液相色谱(配紫外检测器-UVD)分析,检测波长为280 nm。结果表明:该方法对谷物中吡虫啉与辛硫磷的检出限(LOD)分别为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,均符合相关要求;标准品浓度在 $0.05 \sim 5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 之间时线性关系良好,相关系数分别为0.999 6和0.999 8。在 $0.10, 0.20, 0.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的3个水平浓度下回收率范围为81.3%~96.7%,相对标准偏差(RSD)为0.9%~4.7%。该方法具有简单、快捷、准确等优点,适合谷物中吡虫啉与辛硫磷的同步测定。

关键词: 高效液相色谱; 谷物; 吡虫啉; 辛硫磷

中图分类号: TQ 450 **文献标志码:** A **DOI:** 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2015.06.04

0 引言

吡虫啉(Imidacloprid)与辛硫磷(Phoxim)是农业上广泛使用的杀虫剂之一,因其广谱、高效、低毒的特性广泛应用于粮食等作物病虫害的防治。近年来吡虫啉与辛硫磷作为一种复合杀虫剂渐渐在农业种植上被广泛使用^[1-2],与原来的单一杀虫剂相比,这种复合杀虫剂具有毒性低、效果好、内吸性更强且对作物地下害虫有特殊防治效果,因此成为防治地下害虫高毒、高残留农药的理想替代药剂。

根据已报道的文献,吡虫啉由于沸点较高不易气化,通常用高效液相色谱法检测,但对谷物中吡虫啉残留研究较少;辛硫磷是用气相色谱法检测,但辛硫磷在高温下不稳定、易分解,使气相色谱法检测受到一定限制^[3]。为了提高检测效率,本文拟建立谷物中吡虫啉和辛硫磷的同时检测方法,以谷物为研究对象建立同时测定吡虫啉与辛硫磷的高效液相色谱法^[4-8]。由于2种前处理方法不同,若采用以往的前处理方法无法达到检测要求。本文参考文献[9-12],采用硅镁型吸附剂对谷物进行净化,减少色素

干扰目标分析物的测定,同时回收率达到相关要求,为谷物中吡虫啉与辛硫磷残留的检测提供了一种简单、快捷、准确的分析方法。

1 材料与方法

1.1 实验仪器

Agilent 1200 高效液相色谱仪(配UVD); HB-10250 型数控超声波清洗器; EYELA OSB-2000 型旋转蒸发仪。

1.2 实验试剂

$100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吡虫啉标准样品(农业部环境保护科研监测所研制); $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 辛硫磷标准样品(农业部环境保护科研监测所研制); 二氯甲烷、丙酮(分析纯); 乙腈(色谱纯); 硅镁型吸附剂(经 450°C 高温活化4 h); 无水硫酸钠(经 450°C 高温灼烧4 h); 氯化钠(分析纯)。

1.3 分析条件

色谱柱: Diamonsil C_{18} ($5 \mu\text{m}$, $250 \text{ mm} \times$

收稿日期: 2015-06-20

基金项目: 贵州省科技厅科学技术基金(黔科合J字LKS[2011]30号)和贵州省教育厅招标(黔教科(2011)018号)资助项目。

通信作者: 张 勇(1980-),男,安徽合肥人,副教授,博士生,主要从事环境分析化学研究;

李存雄(1957-),男,重庆人,教授,主要从事环境分析化学研究。

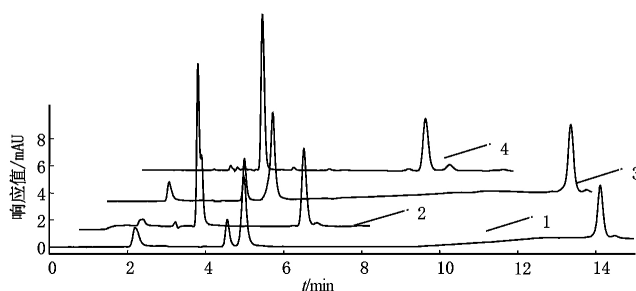
4.6 mm); 流动相: $w(\text{乙腈}) : w(\text{水}) = 80 : 20$; 波长: 280 nm; 流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 柱温: 30°C ; 进样量: $10 \mu\text{L}$; 保留时间: 吡虫啉 3.074 min 辛硫磷 7.250 min.

1.4 样品前处理

1.4.1 样品制备 取大米等谷物样品约 1.00 kg, 按 4 分法对角取样 100 g 用粉碎机粉碎后, 封装备用作供试品. 制作过程必须防止样品受污染或待测物残留物的含量发生变化.

1.4.2 样品提取 称取 5.00 g 试样于 250 mL 锥形瓶中, 加入 2 g NaCl 和 1 mL 水, 再加入 30 mL 乙腈(分析纯), 震荡摇匀, 放入超声波清洗器上超声 30 min, 过滤. 之后分别用 5, 10, 15 mL 乙腈(分析纯)淋洗滤渣, 过滤, 合并滤液并浓缩至约 2 mL, 待过柱净化.

1.4.3 样品净化 在 $1 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 的玻璃层析柱中依次加入无水硫酸钠(约 1 cm)、硅镁型吸附剂(约 10 cm)、无水硫酸钠(约 1 cm). 装柱完毕后先用 10 mL 乙腈活化, 当液面降至柱面时弃去流出液, 加入浓缩液, 再依次用 5, 5, 10, 10 和 10 mL 乙腈淋洗净化柱, 洗脱液收集于锥形瓶中并在 40°C 下旋转蒸发浓缩至近干, 然后用乙腈(色谱纯)定容至



1. $w(\text{乙腈}) : w(\text{水}) = 60 : 40$; 2. $w(\text{乙腈}) : w(\text{水}) = 90 : 10$;
3. $w(\text{乙腈}) : w(\text{水}) = 70 : 30$; 4. $w(\text{乙腈}) : w(\text{水}) = 80 : 20$.

图1 不同比例流动相图谱

丙酮 3 种溶剂. 通过实验考察了乙腈、二氯甲烷、丙酮对吡虫啉和辛硫磷的提取效果. 3 种提取溶剂对谷物中吡虫啉与辛硫磷的回收率如图 2 所示. 由图 2 可知: 1) 乙腈的提取效果最佳, 回收率相对较高; 2) 丙酮提取效果较差; 3) 二氯甲烷提取效果较差, 同时以二氯甲烷作为提取溶剂时伴随目标物被提取出来的杂质含量增加, 加大了净化及仪器分析的难度. 因此, 选择乙腈作为提取溶剂和净化方法中的洗脱液.

2.4 填料的选择

谷物因所含的天然色素不同而呈现不同颜色, 这些杂质会严重干扰分析物的测定, 同时会缩短色谱柱的使用寿命, 因此需要对样品进行净化. 本文考

2 mL 过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜, 供高效液相色谱测定.

2 结果分析

2.1 流动相的选择

在选择流动相时, 有以下考虑因素: 吡虫啉与辛硫磷分离效果较好; 针对 2 种农药洗脱能力要强; 分析时长较短; 谷物中色素的干扰较少. 如图 1 所示, 当乙腈与水的质量比为 80:20 时的图谱效果最佳, 因此选择乙腈与水的质量比为 80:20 作为流动相比例.

2.2 波长的选择

通过实验可知: 吡虫啉最大吸收波长为 270 nm; 辛硫磷最大吸收波长为 285 nm. 在波长为 280 nm 时, 吡虫啉和辛硫磷的峰面积可达到最佳, 因此选择 280 nm 为本方法的检测波长.

2.3 提取溶剂的选择

提取溶剂的选择主要根据待测物的物理化学性质, 由于吡虫啉与辛硫磷易溶于极性溶剂, 而在极性较小的溶剂中溶解度较小, 因此选择乙腈、二氯甲烷、

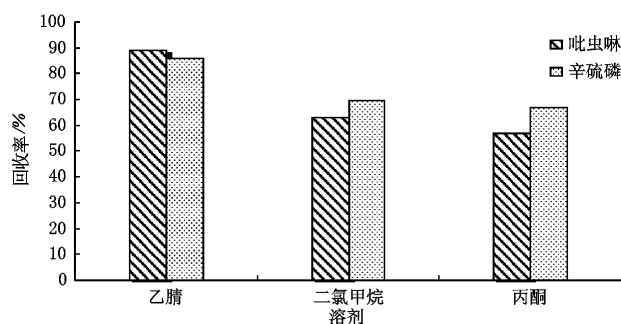


图2 溶剂对提取效果的影响

察了中性氧化铝、硅镁型吸附剂对净化效果的影响. 结果发现, 硅镁型吸附剂与中性氧化铝的净化效果都非常好, 未干扰目标分析物测定, 但中性氧化铝的回收率未达到要求, 因此选择硅镁型吸附剂作为柱层析填料净化谷物色素.

2.5 线性范围、相关性与检出限

分别精密量取 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 吡虫啉与 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 辛硫磷标准品 0.5 mL 于 5.0 mL 的容量瓶中, 用乙腈定容, 摇匀配制成混合标准储备液; 用混合标准储备液逐一稀释成浓度为 5.00, 2.00, 1.00, 0.50, 0.10, 0.05 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的吡虫啉与辛硫磷混合标准样品, 进样量为 $10 \mu\text{L}$, 其标样色谱图如图 3 所示; 以标准样品浓度 x 为横坐标, 以峰面

积 y 为纵坐标建立回归线方程,吡虫啉·辛硫磷的回归线性方程及相关数据结果见表 1.

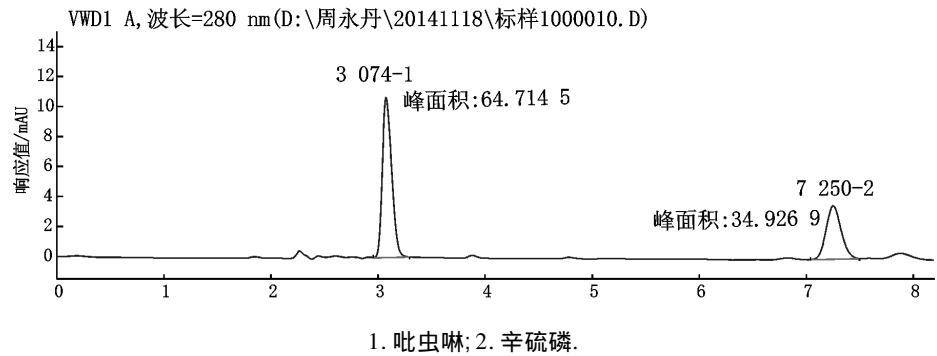


图 3 吡虫啉和辛硫磷标准品色谱图

由表 1 可知: 在 $0.1 \sim 5.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,吡虫啉与辛硫磷浓度与峰面积有较良好的线性关系,满足测定要求. 根据结果,以 3 倍信噪比计算,本方法吡虫啉与辛硫磷的检出限(LOD)分别为 $0.01, 0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; 以 10 倍信噪比计算,本方法吡虫啉与辛硫磷的定量限(LOQ)为 $0.04, 0.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

表 1 吡虫啉与辛硫磷的线性回归方程、相关系数、检出限及最低定量限

大米	线性回归方程	相关系数(R^2)	LOD/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	LOQ/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
吡虫啉	$y = 60.1080x + 0.1776$	0.9996	0.01	0.04
辛硫磷	$y = 34.7941x - 0.5015$	0.9998	0.02	0.06

2.6 回收率与方法精密度

称取 5.0 g 大米等谷物试样于 250 mL 锥形瓶中,分别添加 $0.5, 1.0$ 和 $2.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 3 个浓度的吡虫啉与辛硫磷混合标准样品 1 mL ,制成含量为 $0.1, 0.2$ 和 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的样品(每个浓度均设 3 个平行).按本文 2.4 节的实验方法以乙腈为提取和净化时溶剂进行回收率实验,结果见表 2. 由表 2 可知: 在 3 个浓度水平下吡虫啉与辛硫磷添加回收率范围为 $85.2\% \sim 96.7\%$; 相对标准偏差为 $0.9\% \sim 3.2\%$,符合农药残留检测的相关要求.

表 2 大米中吡虫啉和辛硫磷的回收率和精密度($n = 3$)

大米	添加量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	回收率/%			平均回收率/%	RSD/%
吡虫啉	0.1	88.8	90.0	88.3	89.0	1.0
	0.2	88.6	85.5	91.2	88.4	3.2
	0.4	96.7	92.4	93.1	94.1	2.5
辛硫磷	0.1	85.2	86.2	86.8	86.1	0.9
	0.2	90.4	93.2	94.4	92.7	2.2
	0.4	93.4	94.4	96.7	94.3	1.8

3 方法的迁移

为了验证本方法对谷物中吡虫啉与辛硫磷均能达到农药残留分析的要求,选取小麦、玉米、荞麦具有代表性的谷物进行加标实验,其样品加标图如图 4 所示. 由图 4 可知,经过本方法处理后样品杂质在测定条件下对测试没有干扰. 同时小麦、玉米、荞麦

的加标回收率实验如图 4 所示. 由图 4 可知: 该方法对小麦、玉米、荞麦等谷物平均水平添加回收率为 $82.2\% \sim 90.4\%$,满足 CIPAC(国际农药分析协作委员会)对平均回收率与精密度的要求.

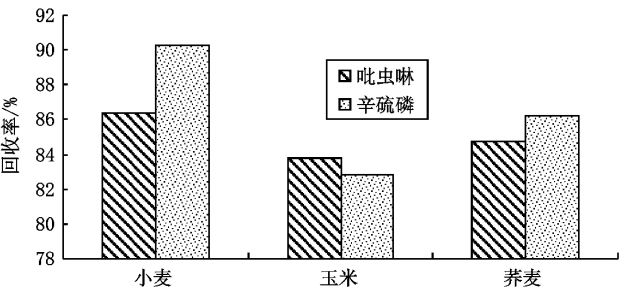


图 4 其他谷物中吡虫啉和辛硫磷回收率

4 结论

本方法选用一种填料作为层析柱净化吸附剂,来满足不同谷物色素的去除,未干扰目标分析物测定,同时吡虫啉与辛硫磷平均回收率范围为 $81.3\% \sim 96.7\%$,相对标准偏差范围为 $0.9\% \sim 4.7\%$,吡虫啉与辛硫磷的最低检出限分别为 0.01 和 $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,满足 CIPAC 对平均回收率与精密度的要求,因此该方法能够满足谷物中吡虫啉与辛硫磷的同时测定,为吡虫啉与辛硫磷在谷物上的安全性评价提供一种检测依据,为这 2 种农药在其他农作物中的残留检测方法提供参考.

5 参考文献

- [1] 戴华,李拥军,张莹. 稻谷中吡虫啉农药残留量的固相萃取高效液相色谱测定 [J]. 分析测试学报, 2002, 21(1): 70-72.
- [2] 王勇,周宏琛,闫秋成,等. 高效液相色谱法测定浓缩胡萝卜汁中辛硫磷残留量 [J]. 分析试验室, 2006, 25(6): 81-83.
- [3] 王连珠,胡朝阳,郑俊超,等. 低温提取气相色谱法测定大葱中辛硫磷 [J]. 理化检验: 化学分册, 2007, 43(6): 447-449.
- [4] 刘荣飞,刘幸,刘晓宇,等. 高效液相色谱和液相色谱-电喷雾质谱联用法鉴定辛硫磷在鲫鱼肝微粒体中代谢产物及途径 [J]. 分析化学, 2013, 41(6): 893-898.
- [5] 樊苑牧,顾晓俊,俞雪钧,等. 高效液相色谱法测定蔬菜和水果中吡虫啉农药残留量 [J]. 分析科学学报, 2007, 23(5): 583-585.
- [6] 刘文杰,万英,庞新安,等. 高效液相色谱法测定水果和蔬菜中残留的多菌灵、吡虫啉和甲基托布津 [J]. 理化检验: 化学分册, 2008, 44(7): 673-674.
- [7] 陈黎,王金芳,杜鹏,等. 韭菜中吡虫啉和啉虫脒残留的微波处理-逆固相分散法净化及液相色谱检测 [J]. 分析化学, 2008, 36(10): 1364-1368.
- [8] 师君丽,宋春满,孔光辉,等. 高效液相色谱法同时测定烟草中吡虫啉、啉虫脒、多菌灵和甲基硫菌灵 [J]. 分析试验室, 2012, 31(12): 82-85.
- [9] 和顺琴,陈章玉,崔柱文,等. 凝胶净化-高效液相色谱法测定烟草中的吡虫啉 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2010, 32(S1): 124-126.
- [10] 何书海,唐海武,陈菲,等. 高效液相色谱法测定土壤中辛硫磷 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(5): 2566-2567, 2612.
- [11] 韦国兵,胡奇军,廖夫生. HPLC 法测定银黄口服液中黄芩苷的含量 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2013, 37(5): 527-529.
- [12] 林春花. 超高效液相色谱-质谱法测定大豆油中 5 种脂肪酸含量 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2015, 39(2): 162-165.

The Determination of Imidacloprid and Phoxim Residues in Cereals by HPLC

ZHOU Yongdan¹, ZHANG Yong^{2*}, LI Cunxiong^{1,3*}, CHEN Shunqin¹, WU Lang²

(1. College of Chemistry and Material Science, Guizhou Normal University, Guiyang Guizhou 550001, China;

2. Key Laboratory for Information System of Mountainous Area and Protection of Protection of Ecological Environment of Guizhou Province, Guizhou Normal University, Guiyang Guizhou 550001, China;

3. College of Chemistry and Life Science, Guizhou Normal College, Guiyang Guizhou 550018, China)

Abstract: An efficient method with high performance liquid chromatography (HPLC) was established to detect the imidacloprid and phoxim residues in cereals (rice, buckwheat, corn, etc.). The samples were extracted by methyl cyanide and purified by florisil. Using methyl cyanide and water as mobile phase, samples were analysed by HPLC with UVD, detection wavelength of 280 nm. Test results using the method applied in imidacloprid and phoxime can be described as follows: imidacloprid limit of detection (LOD) was $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, phoxime LOD was $0.02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. There is a good linear relationship when the concentration is in the range of $0.05 \sim 5.00 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the correlation coefficient of 0.999 6 and 0.999 8. The recoveries fluctuated in the range of 81.3%~96.7% for different levels ($0.10, 0.20, 0.40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), the relative standard deviations (RSD) were 0.9%~4.7%. Simplicity, efficiency and accuracy are the key qualities of this method which is suitable for determination of imidacloprid and phoxim residues in cereals.

Key words: high-performance liquid chromatography; grain; imidacloprid; phoxim

(责任编辑: 刘显亮)