

文章编号: 1000-5862(2015)03-0246-03

# HPLC 法测定苦荞中多菌灵的残留量

吴浪<sup>1</sup> 张勇<sup>1\*</sup> 李存雄<sup>1,3\*</sup> 赵君<sup>1</sup> 陈顺琴<sup>2</sup> 周永丹<sup>2</sup>

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

2. 贵州师范大学化学与材料科学学院, 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:** 建立了一种分析苦荞中多菌灵残留量的高效液相色谱法(HPLC)。苦荞粉碎后, 用乙酸乙酯超声提取, 净化、浓缩、用乙腈定容。采用配有紫外检测器的 HPLC 测定, 以乙腈-水(体积比为 65: 35)为流动相, 流速为  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 检测波长为 282 nm。浓度在  $0.025 \sim 5.000 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内多菌灵的质量浓度与峰面积线性关系良好,  $R^2$  为 0.999 9; 平均回收率为 83.60% ~ 91.59%,  $RSD$  为 2.11% ~ 6.56%, 方法的最低检出限( $3S/N$ ) 为  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。该方法操作简单, 灵敏度、重现性良好。

**关键词:** 高效液相色谱; 苦荞; 多菌灵; 残留

中图分类号: TS 207 文献标志码: A DOI: 10.16357/j.cnki.issn1000-5862.2015.03.04

## 0 引言

苦荞属蓼科, 学名鞑靼荞麦。苦荞被誉为“五谷之王”, 三降食品(降血压、降血糖、降血脂)<sup>[1-2]</sup>。贵州的毕节和六盘水地区是我国苦荞主要生产区之一<sup>[3]</sup>。相比于水稻、玉米, 它的产量并不高, 但是其营养价值很高, 是贵州有名的特产。

多菌灵属苯并咪唑类杀菌剂, 是一种广谱内吸性杀菌剂, 一般用于防治粮食、蔬菜、水果等多种作物的多种真菌病害<sup>[4-6]</sup>。多菌灵的化学性质稳定, 在环境中残留的时间比较长。若人类长期摄入会出现恶心呕吐、精神恍惚、胸闷等中毒现象。目前, 国内已报道了小麦、水稻、柑橘、花生等多种作物和土壤中多菌灵的检测方法, 但是苦荞中多菌灵的检测方法尚鲜见文献报道<sup>[7-11]</sup>。本文参考相关文献<sup>[12-13]</sup>, 建立了一种操作简单、易于推广应用的测定苦荞中多菌灵残留量的检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

配有紫外检测器的 Agilent1200 型高效液相色谱

仪(美国安捷伦科技公司), EYELA OSB-2000 旋转蒸发仪(日本 EYELA 公司), AL204 电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司), HB-40250 型数控超声波清洗器(江苏汉邦科技有限公司), 高速万能粉碎机 QE-400g(浙江屹立工贸有限公司)。

乙腈为色谱纯, 乙酸乙酯、甲醇、丙酮、弗罗里硅藻土等均为分析纯, 多菌灵对照品浓度为  $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  (农业部环境保护科研监测所研制)。

### 1.2 标准品的配置

多菌灵标准溶液的配制: 准确移取 1 mL 多菌灵对照品溶液, 用色谱纯的乙腈稀释定容至  $10 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ , 并从其中取适量依次稀释成  $5.000$ 、 $2.000$ 、 $1.000$ 、 $0.500$ 、 $0.100$ 、 $0.025 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的标准溶液, 于避光低温条件下保存。

### 1.3 色谱条件

色谱柱为 Diamonsil  $C_{18}$  柱 ( $250 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}$ ,  $5 \text{ } \mu\text{m}$ ); 流动相为  $V(\text{乙腈}): V(\text{水}) = 65: 35$ ; 流速:  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 柱温:  $30 \text{ } ^\circ\text{C}$ ; 进样量:  $10 \text{ } \mu\text{L}$ ; 检测波长: 282 nm。

### 1.4 样品的提取与净化

样品的提取: 准确称取  $5.0 \text{ g}$  试样到  $150 \text{ mL}$  的锥形瓶中, 加入  $40 \text{ mL}$  乙酸乙酯, 超声  $30 \text{ min}$  过滤,

收稿日期: 2014-12-20

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), 贵州省教育厅自然科学基金(黔教科 2010017) 和贵州省教育厅招标课题(黔教科(2011)018 号)资助项目。

通信作者: 李存雄(1957-), 男, 重庆市人, 教授, 主要从事环境分析化学研究;

张勇(1980-), 男, 安徽合肥人, 讲师, 主要从事环境分析化学研究。

洗涤,旋蒸至尽干。

样品的净化:层析柱(3 g 弗罗里硅藻土,均匀敲实)。先用 15 mL 乙酸乙酯淋洗柱子,弃去淋洗液。向旋干的样品锥形瓶中加入 5 mL 乙酸乙酯使其均匀润湿瓶壁,倒入层析柱,重复 4 次,用 15 mL 乙酸乙酯分 3 次淋洗柱子,收集于 150 mL 锥形瓶中。旋蒸定容至 2 mL,经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,供 HPLC 分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 流动相选择

流动相的组成对苦荞样品中组分的色谱分离有一定的影响。试验结果表明:采用乙腈-水作为流动相,乙腈的比例增大时,保留时间缩短。当乙腈和水的体积比为 65:35 时,其峰型好,基线噪声小,柱压低,出峰时间快且不受干扰。苦荞样品色谱图和样品加标色谱图见图 1 和图 2。

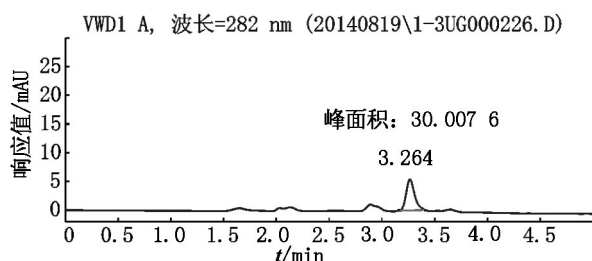


图1 样品加标图谱

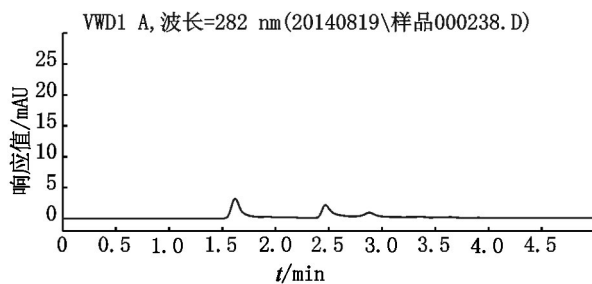


图2 样品空白图谱

### 2.2 提取溶剂的选择

样品中多菌灵的提取溶剂主要有甲醇、乙腈、丙酮、乙酸乙酯或者它们的混合溶剂。实验分别单独以乙酸乙酯、甲醇、丙酮、乙腈等溶剂对加标样品进行回收实验。实验结果表明:当以甲醇作提取剂时,提取物中色素含量较多,样品净化难度较大,易对分析造成干扰;当以丙酮和乙腈作为提取剂时,色素含量较少,但是回收率较低;以乙酸乙酯作提取剂时,不仅色素较少,而且回收率较高,满足农药残留的分析要求。综合考虑本实验选用乙酸乙酯作为提取溶剂。乙酸乙酯、丙酮、乙腈的提取回收率见图 3。

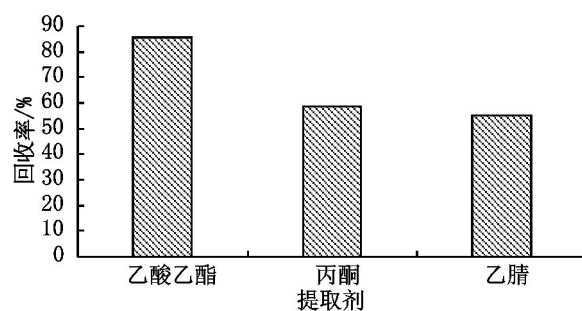


图3 不同提取剂的回收率

### 2.3 色谱图与标准曲线

按本文 1.3 节的色谱条件分别对 5.000、2.000、1.000、0.500、0.100、0.025  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  的多菌灵标样进行测定。以标准溶液质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标作标准曲线。得线性回归方程:  $y = 24.487x - 0.2836$ ,  $R^2 = 0.9999$ 。结果表明,在 0.025 ~ 5.000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  范围内,多菌灵的质量浓度与峰面积呈良好的线性关系。多菌灵标样色谱图见图 4,可以看出标样的保留时间  $t_R = 3.282 \text{ min}$ ,且峰型对称性良好。

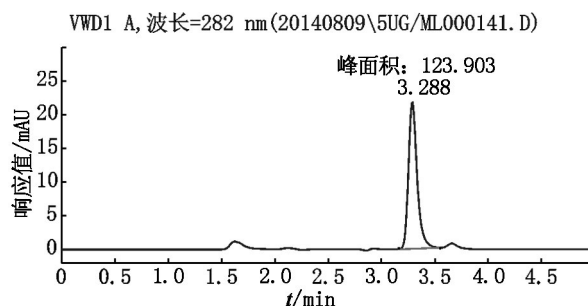


图4 多菌灵标样色谱图

### 2.4 检出限和精密度实验

本方法的多菌灵的最低检出限为 0.025  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。以称取 5.0 g 苦荞样品算,多菌灵的最低检出限为 0.01  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,满足对农药残留的分析要求。

取多菌灵标准溶液连续进样 8 次,多菌灵标样的峰面积的相对标准偏差(RSD)为 1.76%,表明方法的精密度良好。取加标苦荞样品 9 份,制备供试品溶液,进样测定,计算多菌灵含量,其含量的 RSD 值为 2.11%,表明该方法的重现性良好。

### 2.5 方法的回收率

分别称取 9 份空白苦荞样品进行加标回收率试验,多菌灵标样加入浓度分别为 0.200、0.400、0.600  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每个浓度设置 3 个平行样品,按照本文 1.4 节的方法对加标样品进行提取和净化,通过外标法定量,得到相应的平均回收率,其结果见表 1,回收率满足对农药残留检测的要求。

表 1 苦荞样品添加多菌灵标样回收率 ( $n=9$ )

添加量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收率/%			平均回 收率/%	RSD/%
	1	2	3		
0.200	94.07	87.08	82.63	87.93	6.56
0.400	92.91	89.37	92.50	91.59	2.11
0.600	84.53	81.09	85.17	83.60	2.62

### 3 结束语

用乙酸乙酯对苦荞样品中残留的多菌灵进行提取,用弗罗里硅藻土层析柱净化,高效液相色谱等度分离和测定。结果表明本试验建立的方法有操作简单、分析速度快、检测结果准确、线性范围宽等优点。其回收率、精密度、灵敏度等均能满足对农药残留检测的要求,可作为快速测定苦荞中多菌灵残留的测定方法。

### 4 参考文献

- [1] 张瑞. 苦荞黄酮及其降血糖活性研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2008.
- [2] 尹礼国, 钟耕. 荞麦营养特性、生理功能和药用价值研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2002, 5: 32-33.
- [3] 万丽英, 穆建稳. 贵州苦荞的营养保健功能与开发利用价值 [J]. 贵州农业科学, 2004, 32(2): 74-75.
- [4] 孟江平, 耿蓉霞, 周成合, 等. 苯并咪唑类药物研究进展 [J]. 中国新药杂志, 2009, 18(16): 1505-1513.
- [5] 刘晓松, 董张法, 郑玲, 等. 固相萃取-高效液相色谱法

同时测定噻菌灵和多菌灵在浓缩菠萝汁中的残留量 [J]. 分析科学学报, 2007, 23(3): 311-314.

- [6] 丁立平, 刘微, 李华, 等. 高效液相色谱串联双检测器法测定干性蔬菜中的多菌灵残留量 [J]. 分析科学学报, 2013, 29(4): 565-568.
- [7] 李桂凤, 郝征红, 董淑敏, 等. 花生中多菌灵残留量的高效液相色谱分析方法的研究 [J]. 分析测试学报, 1998, 17(3): 69-70.
- [8] 余向阳, 骆爱兰, 刘贤进. 小麦中多菌灵残留量的 HPLC 分析方法研究 [J]. 现代农药, 2004, 3(1): 18-19.
- [9] 覃慧丽, 梁春意, 高川, 等. 高效液相色谱法测定水稻植株、糙米和土壤中的多菌灵残留量 [J]. 现代农药, 2013, 12(5): 38-40.
- [10] 沈菁, 刘军, 刘建. 高效液相色谱法测定柑橘和土壤中残留的多菌灵 [J]. 色谱, 2009, 27(3): 308-311.
- [11] 刘文杰, 万英, 庞新安, 等. 高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(1): 133-135.
- [12] 韦国兵, 胡奇军, 廖夫生. HPLC 法测定银黄口服液中含黄芩苷的含量 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2013, 37(5): 527-529.
- [13] 赖政, 李希茜, 汪涯, 等. 蛇足石杉中石杉碱甲含量测定及其时空动态 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2014, 38(5): 489-495.

## The Determination of Carbendazim Residue in Buckwheat by HPLC

WU Lang<sup>1</sup>, ZHANG Yong<sup>1\*</sup>, LI Cunxiong<sup>1,3\*</sup>, ZHAO Jun<sup>1</sup>, CHEN Shunqin<sup>2</sup>, ZHOU Yongdan<sup>2</sup>

(1. 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;

2. School of Chemistry and Material Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang Guizhou 550001, China;

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

**Abstract:** The method was established to detect the carbendazim residue in buckwheat by the high performance liquid chromatography (HPLC). The buckwheat samples were splintered, extracted with ethyl acetate by ultrasonic wave, purified, concentrated and diluted with acetonitrile. The experiments were performed by HPLC equipped with VWD. Experiment conditions are as follows: mobile phase, acetonitrile: water (65:35); flow rate, 1 mL · min<sup>-1</sup>; wavelength 282 nm. The peak area was linearly proportional to carbendazim concentration in the range between 0.025 ~ 5.000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ . The results showed the  $R^2$  was 0.999 9, RSD was 2.11% ~ 6.56%, the average recovery was 83.60% ~ 91.59%, and the lowest detection limit was 0.01  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . The method has advantages of simply operating, high sensitivity and good reproducibility.

**Key words:** HPLC; buckwheat; carbendazim; residual

(责任编辑: 刘显亮)