高效液相色谱法同时测定人参中多菌灵和甲基硫菌灵农药残留的含量

张念洁[1]，吴信子[1]，姜旭[2]
（1. 吉林省延边州产品检验所，吉林延吉 133000）（2. 北京泽优医药科技有限公司，北京 100000）

摘要：建立了高效液相法同时测定中药材人参中多菌灵、甲基硫菌灵农药残留含量农药残留量方法。色谱条件：Diamonsil C18色谱柱，流动相为甲醇:水，梯度洗脱,检测波长为 285 nm。结果平均回收率多菌灵为 85.73%，RSD 为 2.07%(n=6)；平均回收率甲基硫菌灵为 85.83%，RSD 为 2.39%(n=6)。多菌灵在 0.2~1.0 μg 时，r=0.9990，呈良好的线性关系，甲基硫菌灵在 0.2~1.0 μg 时，r=0.9993，呈良好的线性关系。本方法简便、快速、适合同类中药材中多菌灵、甲基硫菌灵农药残留量测定与安全监控。

关键词：人参；多菌灵；甲基硫菌灵；农药残留；高效液相

文章篇号：1673-9078(2013)4-907-910

Simultaneous Determination of Residual Carbendazimin and Thiophanate-methyl in Ginseng by High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Nian-jie[1], WU Xin-zi[1], JIANG Xu[2]
(1.Yanbian State Product Inspection Jilin 33000, China)
(2.Beijing Zeyou Medeicine Technologies Co, Ltd, Beijing 100000, China)

Abstract: A High performance liquid chromatography (HPLC) method was developed in this paper for simultaneous determination of residual carbendazimin and Thiophanate-methyl in Ginseng, a Chinese traditional medicine.The HPLC analysis of the samples were carried out using methanol-water as mobile phase on a Diamonsi C18 column at 285 nm. The average recovery and RSD for Carbendazimin were 85.73% and 2.07% (n=6), respectively. The average recovery and RSD for Thiophanate-methyl were 85.83% and 2.39% (n=6), respectively. The standard curve of carbendazim was linear in the range of 0.2~1.0 μg (R=0.9990)and the standard curve of Thiophanate-methyl was linear in the range of 0.2~1.0 μg (R=0.9993). This method was simple, rapid and reliable1, which is suitable for the determination and safe control of residual carbendazimin and Thiophanate-methyl in Chinese traditional medicines.

Key words: ginseng; carbendazim; thiophanate-methyl and residualpesticide; HPLC

发达国家对食品安全卫生指标十分敏感，尤其对农残重金属等要求日趋严格[1]。我国是人参的生产大国和销售大国，近年来药残问题是导致我国人参出口受阻的主要原因之一，而人参生产过程中的病虫害防治是导致药残超标的直接原因。多菌灵、甲基硫菌灵在防治人参病虫害中发挥着重要作用，它们都属于苯并咪唑类农药，这类物质在自然环境中降解较慢，对人、畜有一定的毒副作用[2]。多菌灵是一种广谱性杀菌剂，对多种作物由真菌（如半知菌、多子囊菌）引起的病害有防治效果。可用于叶面喷雾、种子处理和土壤处理等。甲基硫菌素是一种广谱性内吸低毒杀菌剂，具有内吸、预防和治疗作用。内吸性比多菌灵强。甲基硫菌素按其化学结构属取代苯类杀菌剂。甲基硫菌素被植物吸收后即转化为多菌灵。由于甲基硫菌素具有可以转化为多菌灵的特性，所以同时检测甲基硫菌素和多菌灵这两种物质的残留具有重要意义。

目前我国国家标准里同时测定多菌灵和甲基硫菌素的方法有紫外分光光度计法[3]，液相色谱-质谱-质谱联用法[4]，高效液相法同时检测这两种物质的的方法检测条件比较苛刻[5]，此外这几种方法的前处理都非常繁琐复杂，回收率低，不利于农药残留量的检测。

本文通过梯度方法同时测定人参的多菌灵、甲基硫菌灵具有方法简便，对液相色谱要求低，具有广泛的应用性。

收稿日期：2012-11-15

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪；SPD-10AD 紫外可见检测器；SIL-10AD 自动进样器；SCL-10A 系统监控器；甲醇(色谱纯)；水（一级去离子水）；标准溶液：甲醇配制的标准溶液储备液（1 mg/mL）；甲醇稀释相应的标准工作溶液。对照品：多菌灵（>99%）对照品 GSB05-072-2008（中国计量科学研究院提供）、甲基硫菌灵（>99%）对照品 GSB05-2342-2008(中国计量科学研究院提供)；人参样品来自吉林省白山地区。

1.2 色谱分析条件

表 1 流动相梯度

Table 1 Eluent gradient of HPLC

时间/min	甲醇/%	水/%
0	15	85
2	15	85
12	65	35
18	100	0
24	15	85

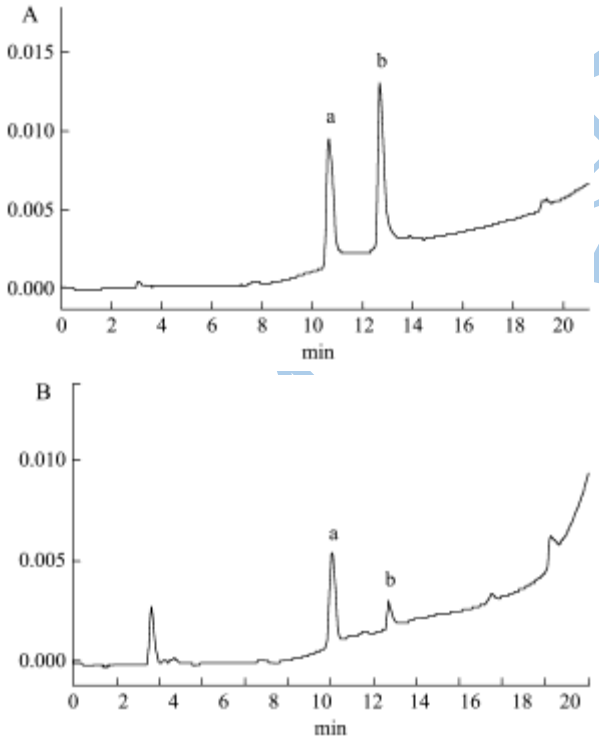


图 1 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of carbendazim(A) and Thiophanate-methyl(B)

注：（A）标准品 a：多菌灵(carbendazim) b：甲基硫菌素(Thiophanate-methyl)，（B）样品。

液相色谱条件及系统适应性实验色谱柱为 Diamonsil C18 柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)；流动相：甲醇:水梯度洗脱；流动相条件见表 1。流速：1.0 mL/min；检测波长为 285 nm，色谱图见图 1。

1.3 对照品的制备

精密移取多菌灵对照品和甲基硫菌素对照品,用甲醇稀释溶解，超声，定容，得 1.0 μg/mL 的对照品溶液作为储备液。

1.4 样品的前处理

取 90 g 干样品加入 50 mL 乙腈匀浆超声 30 min 离心（3000 r/min 3 min）准确吸取 10.0 mL 离心上清液浓缩后用 5%甲醇二氯甲烷洗涤浓缩（2、5、5 mL）过碳柱子。收集过滤液浓缩后加 2 mL 甲醇，旋涡混合器上震荡。过 0.45 μL 滤膜，进样。供液相色谱测定用。

2 结果与讨论

2.1 线性方程和方法检测限

标准曲线的制备精密吸取多菌灵对照品和甲基硫菌素对照品，用甲醇稀释成质量浓度为 1.0 μg/mL 的溶液，再精密吸取该溶液 2、4、6、8 mL 分别置 10 mL 量瓶中，用甲醇稀释至刻度，摇匀，分别吸取 20 μL，注入液相色谱仪，按照 1.2 项下的方法测定，以对照品浓度为横坐标，对照品峰面积为纵坐标，结果经回归分析，多菌灵 0.2~1.0 μg 内有良好的线性关系，回归方程 Y=83289.5X-8546.5，r=0.9990。甲基硫菌素 0.2~1.0 μg 内有良好的线性关系，回归方程为 Y=54745X-7744.6，r=0.9993。见表 2。方法检出限[6]按 S/N=3 计算，多菌灵最低检出线 0.01 mg/kg，甲基硫菌素检出线 0.02 mg/kg。

表 2 浓度与面积关系

Table 2 The relationship of concentration and peak area

浓度	面积	
/(μg/mL)	多菌灵	甲基硫菌素
0.2	4032	9486
0.4	13452	23795
0.6	24506	40439
0.8	36038	57486
1	47484	75930

2.2 测定

按照对照品溶液制备方法（1.3），配制溶液，按照 1.2 项下的方法测定，连续进样 5 次见表 2。精密度实验精密吸取多菌灵、甲基硫菌素对照品溶液 20 μL，测定峰面积，结果多菌灵 RSD 为 1.653%。甲基硫菌

素 RSD 为 1.209%。见表 3。

表 3 精密度实验

Table 2 Precision experiment

	浓度/(μg/mL)	面积	RSD/%
多菌灵	0.5	76834	1.65
	0.5	74850	
	0.5	77201	
	0.5	78802	
	0.5	76640	
	0.5	76542	
甲基硫菌素	0.3	17514	1.21
	0.3	17876	
	0.3	17849	
	0.3	17786	
	0.3	17822	
	0.3	17355	

2.3 稳定性实验样品溶液

表 4 稳定性实验

Table 4 Stability experiments

	浓度/(μg/mL)	面积	RSD/%
多菌灵	0.5	79830	0.61
	0.5	78840	
	0.5	79112	
	0.5	78892	
	0.5	78423	
	0.5	79332	
甲基硫菌素	0.3	16843	0.72
	0.3	16630	
	0.3	16876	
	0.3	16794	
	0.3	16574	
	0.3	16770	

按照 1.2 项下的方法在 0、2、4、8、16、24 h 分别进样 20 μL，测定峰面积,结果多菌灵 RSD 为 0.61%，甲基硫菌素 RSD 为 0.72%，表明样品溶液在 24 h 内保持稳定。见表 4。

2.4 重复性实验

取同一批样品 6 份，按“1.2”项方法测定峰面积,多菌灵 RSD 为 1.63%，甲基硫菌素 RSD 为 1.49%。见表 5。

2.5 加样回收率实验

精密称取未喷撒农药的人参样品(经检测不含多菌灵、甲基硫菌素)约 90 g，分别加入一定量的(3 个梯度浓度)多菌灵对照品溶液，按“1.4”的制备方法及“1.2”项条件方法进行测定。见表 6。

多菌灵平均回收率为 85.73%，RSD 为 2.07%(n=6)；甲基硫菌灵为平均回收率 85.83%，RSD 为 2.39%(n=6)。

表 5 重复性实验

Table 5 Repeated experiments

	浓度/(μg/mL)	面积	RSD/%
多菌灵	0.5	79844	1.63
	0.5	76640	
	0.5	79516	
	0.5	79192	
	0.5	79321	
	0.5	77097	
甲基硫菌灵	0.3	16700	1.49
	0.3	16509	
	0.3	16856	
	0.3	17118	
	0.3	17056	
	0.3	15666	

2.6 样品的含量测定

取样品按照 1.2 项下的方法测定，人参样品中含有多菌灵、甲基硫菌素的含量见表 7，多菌灵、甲基硫菌素的含量高于检测限的检测结果多数小于国家农药残留标准。

3 结论

3.1 该提取净化方法可以同时提取出样品中的多菌灵和甲基硫菌素，大大缩短了提取时间,提取净化方法是整个实验成败的关键一环，经实验对比，将整个人参匀浆后,更利于溶剂提取，其次乙腈等溶剂回收率高，故选择乙腈为溶剂。选用固相萃取可以得到高纯度和浓缩的分离物，样品的浓缩过程是较关键的一个步骤,经常会因为操作不当，导致回收率偏低。乙腈提取液浓缩采用了氮吹仪，用可以避免真空浓缩时温度过高导致的损失，浓缩后用超声仪充分震荡溶解，定容。多菌灵平均回收率为 85.73%，甲基硫菌灵为平均回收率 85.83%。

3.2 本方法快速灵敏，与 GB/T 5009.188-2003 蔬菜和水果中甲基托布津、多菌灵的测定相比，本研究采用的是高效液相法，而标准中用的比色法，操作相对简便。与 NYT 1453-2007 蔬菜及水果中多菌灵等 16 种农药残留测定，液相色谱-质谱-质谱联用法比较具有方法简便，相对降低了设备投资；样品的含量测定结果显示，人参样品中同时检测出多菌灵和甲基硫菌素的情况较少，这说明参农同时用这两种农药的情况较

少，但是人参中含有的多菌灵不排除是甲基硫菌素转化的。建议是加强农药用量管理，使用少的药量，在保证人参良好的生长的同时，减少农药残留量。

表 6 加样回收率的实验结果（n=6）

Table 6 Results of recovery ratio

序号	加入量/mg	多菌灵 测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%	甲基硫菌素 测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1	5	4.2	83.99			4.17	83.42		
	5	4.24	84.87			4.42	88.44		
2	5	4.15	82.94			4.23	84.5		
	5	4.30	85.9			4.37	87.34		
3	10	8.60	85.96			8.55	85.45		
	10	8.60	85.92	85.73	2.07	8.93	89.3	85.83	2.39
4	10	8.60	85.99			8.73	87.34		
	10	8.59	85.92			8.65	86.5		
5	15	13.04	86.93			13.40	89.32		
	15	13.05	86.98			13.42	89.44		
6	15	13.18	87.89			13.72	91.45		
	15	13.35	89.02			13.5	90		

表 7 样品中的多菌灵和甲基硫菌素的含量 （mg/kg）

Table 7 The contents of Carbendazimin and Thiophanate-methyl in samples

样品	多菌灵的含量/(μg/kg)	甲基硫菌素的含量/(μg/kg)
1	6.90	-
2	-	34.10
3	106.70	-
4	6.30	17.60
5	2.40	-
6	-	99.90
7	-	11.60
8	5.10	17.60
9	4.80	-

注：表 6 中“-”表示未检出。

参考文献

[1] 单杨,张群,吴越辉.我国绿色食品标准存在的问题及建议[J].现代食品科技,2007,1:79-82

[2] 章强华,董国堃,姚晗珺,等.人参常用农药国外残留限量标准的分析及对策[J].人参研究,2009,1:2-10

[3] GB/T 5009.188-2003 蔬菜和水果中甲基托布津、多菌灵的测定[S]

[4] NYT 1453-2007 蔬菜及水果中多菌灵等 16 种农药残留测定 液相色谱-质谱-质谱联用法[S]

[5] 廖国会,段婷婷,秦立新,等.高效液相色谱同时测定蔬菜中多菌灵、甲基托布津残留[J].贵州农业科学,2005,4:75-76

[6] 陈意光,邓穗兴,柯振华,等.高效液相色谱法同时测定果汁中 13 种有机酸和白藜芦醇[J].现代食品科技，2010，12:1387-1390

欢迎订阅 EI 收录期刊·中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号：46-349 刊号：ISSN 1673-9078/CN 44-1620

地址：广州五山华南理工大学轻工与食品学院麟鸿楼 508，邮编：510640

电话：020-87112373，87114555，87113352，87112532

E-mail：xdspkj@vip.sohu.com