

高效液相色谱法检测蔬菜中的吡虫啉残留

张雪辉, 杜雨倩, 徐芳, 王琦

(昆明医学院公共卫生学院营养与食品研究所, 云南昆明呈贡新城 650500)

摘要: 本文建立了一种果蔬中吡虫啉农药残留的高效液相色谱检测方法。样品经乙腈提取、盐析、LC-NH₂小柱净化, 采用高效液相色谱仪-紫外检测器进行测定, 色谱柱: Waters Symmetry Shield™ C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm); 柱温: 30.0 °C; 检测波长: 275 nm; 流动相: 甲醇:水:乙腈=55:25:20 (体积比); 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 10.0 μL。吡虫啉在 0.1 mg/L 至 1.0 mg/L 的添加范围内线性良好, 线性关系系数 *r* 为 0.9925; 添加水平为 0.05~0.20 mg/kg 时, 西红柿样品的平均回收率为 95.4%~106.8%, 相对标准偏差为 2.66%~7.99%。结果表明该方法具有快速、灵敏、准确等优点, 适合蔬菜中吡虫啉农药残留的测定。

关键词: 吡虫啉; 高效液相色谱法; 农药残留

文章编号: 1673-9078(2012)4-466-468

Determination of Imidacloprid Pesticide Residue in Fresh Vegetables by HPLC

ZHANG Xue-hui, DU Yu-qian, XU Fang, WANG Qi

(Nutrition and Food Institute, School of Public Health, Kunming Medical College, Kunming 650500, China)

Abstract: A novel high performance liquid chromatography (HPLC) method was developed for the analysis of imidacloprid pesticide residue in fresh vegetables. Imidacloprid was extracted from the samples by acetonitrile, purified with LC-NH₂ column and determined by high performance liquid chromatography with UV detection. Symmetry Shield™ C₁₈ column (4.6×250 mm, 5 μm) using the mixture of methanol, water and acetonitrile (55:25:20) as the mobile phase. The column temperature, flow rate, detection wavelength and sample volume were 30.0 °C, 0.8 mL/min, 275 nm and 10.0 μL, respectively. Within the linear range of 0.1~1.0 mg/L, the correlation coefficient, the recoveries of imidacloprid in tomato and the relative standard deviations (RSD) were 0.9925, 95.4%~106.8 % and 2.66%~7.99%, respectively. The method was simple, effective and accurate. It can be applied to determine imidacloprid pesticide residue in fresh vegetables.

Key words: imidacloprid; HPLC; pesticide residue

吡虫啉 (Imidacloprid) 是德国拜耳公司第一个商品化的烟碱类杀虫剂, 目前在世界农药市场的销售量居于所有杀虫剂首位^[1]。其杀虫机理是作用于乙酰胆碱受体, 干扰昆虫神经系统的刺激传导, 引起神经通路的阻塞, 造成神经递质乙酰胆碱的积累, 导致昆虫痉挛、麻痹, 最终死亡。吡虫啉具有高效、低毒、广谱、内吸性强、持效期长等特点, 广泛用于谷类、棉花、果蔬等各种作物中同翅目、双翅目、鞘翅目特别是刺吸式口器害虫的防治。

日本“食品中残留农业化学品肯定列表制度”规定吡虫啉在蔬菜上的最大残留限量为 5 mg/kg, 其它

收稿日期: 2012-01-19

基金项目: 云南省科技计划项目 (2009ZC098)

作者简介: 张雪辉 (1975-), 男, 实验师, 主要从事营养与食品卫生学教学工作

通讯作者: 王琦 (1976-), 女, 副教授, 硕士生导师, 主要从事食品安全性检测工作

国家尚未制定吡虫啉在蔬菜上的最大残留限量。吡虫啉农药残留作为影响食品安全的主要因素之一, 其分析检测方法一直备受关注。在商检行业标准 SN/T 2073-2008 进出口植物性产品中吡虫啉残留量的检测方法中规定了吡虫啉残留量的液相色谱-串联质谱测定方法, 但方法仪器设备成本较高, 普及率不高。国内外对于水果蔬菜中吡虫啉农药残留的报道主要有高效液相色谱法 (HPLC-DAD)、液相色谱-质谱法 (HPLC-MS)、气相色谱-质谱法 (GC-MS) 等^[2-6]。本文建立了一种氨基小柱固相萃取, 高效液相色谱-紫外检测器检测蔬菜中吡虫啉农药残留的方法, 并以西红柿、茼蒿、球莴苣、菜豆等蔬菜为样品, 证明该方法准确、灵敏、适用于蔬菜中吡虫啉残留的检测。

1 材料和方法

1.1 仪器设备、试剂和样品

Waters Alliance 2695 高效液相色谱仪, 配置四元

泵溶剂淋洗系统、自动进样系统, 2487 双波长紫外检测器, Empower 色谱工作站, 美国 Waters 公司; Diacx 900 高速匀浆机, 德国 Heidolph 公司; Organomation Associates 氮吹仪, 美国 Jnc.公司; Arium 611 超纯水机, 德国 Sartorius 公司; 打浆机, 飞利浦公司。

乙腈, AR, 国药集团化学试剂有限公司; 二氯甲烷, AR, 国药集团化学试剂有限公司; 氯化钠, AR, 天津市化学试剂三厂; 乙腈、甲醇, HPLC, 德国莫克; 氨基固相萃取柱, LC-NH₂ tubes 500 mg/3mL, Supelclean; 吡虫啉标准品, 100 μg/mL, 农业部环境保护科研监测所生产。

蔬菜样品西红柿、结球甘蓝、菜豆均购自昆明农贸市场。

1.2 试验步骤

1.2.1 提取

将西红柿、结球甘蓝、菜豆等蔬菜样品用食品粉碎机进行粉碎, 准确称取 15.0 g 试样于 250 mL 锥形瓶中, 加入 30 mL 乙腈(分析纯), 用 Diacx 900 高速匀浆机匀浆 40 s, 过滤于具塞量筒中, 加入 4~6 g 氯化钠, 剧烈震荡 50 s 后静置约 30 min, 分层, 吸取 10 mL 乙腈置于烧杯中, 用氮气吹至近干, 用 1 mL 甲醇:二氯甲烷(5:95)溶解提取物。

1.2.2 净化

取 Supelclean LC-NH₂ 小柱, 用 5.0 mL 甲醇:二氯甲烷(5:95)淋洗, 弃去淋出液, 将上述提取液加入柱中, 用甲醇:二氯甲烷(5:95) 10 mL 洗脱, 收集洗脱液于 10 mL 离心管中, 将离心管置于氮吹仪上吹干, 用甲醇准确定容至 2.0 mL, 经 0.22 μm 有机相滤膜过滤, 用液相色谱进行分析。

1.2.3 液相色谱条件

色谱柱: Waters Symmetry Shield™ C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm); 柱温: 30.0 °C; 检测波长: 275 nm; 流动相: CH₃OH:H₂O:CH₃CN=55:25:20; 流速: 0.8 mL/min; 进样量: 10.0 μL。

1.2.4 样品测定

在上述色谱条件下, 待仪器稳定后, 重复进样吡虫啉标准溶液, 待相邻两针的响应值变化小于2%时, 按标准溶液, 样品溶液, 样品溶液, 标准溶液的顺序进样, 用两次重复所得面积平均值计算结果。

1.3 结果计算

样品中吡虫啉农药残留含量X(mg/kg)按式(1)计算:

$$X(\text{mg/kg}) = \frac{m_2 \times V_1 \times V_3}{m_1 \times V_2 \times V_4} \quad (1)$$

注: m_2 -测定样品的含量, ng; V_1 -加入的乙腈量, mL; V_2 -

分取体积, mL; V_3 -最后定容体积, mL; V_4 -进样体积, μL; m_1 -称样量, g。

2 结果及讨论

2.1 线性范围

吡虫啉标准品以甲醇为介质稀释成0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L的吡虫啉标准溶液系列, 将标准溶液系列在液相色谱仪上依次进样测定。在标准物质浓度为0.1 mg/L至1.0 mg/L间, 吡虫啉浓度与仪器响应值的峰面积有较好的线性, 校正曲线为: $Y=5.53e+0.003X+1.59e+0.003$, 相关系数为0.992508。

2.2 最低检测限

将吡虫啉标准溶液逐级稀释至峰高为基线噪音的10倍, 该浓度为0.05 μg/mL。若取样15.0 g, 最低检测限为0.01 mg/kg。

2.3 色谱条件的选择

吡虫啉是一种具有较强极性的农药, 在水中有一定的溶解度, 其在C₁₈柱上有保留, 且有良好的峰形。经实验确定采用甲醇:水:乙腈=55:25:20的流动相和C₁₈键合固定相分离试样中的吡虫啉。吡虫啉的准分子离子的色谱图见图1。

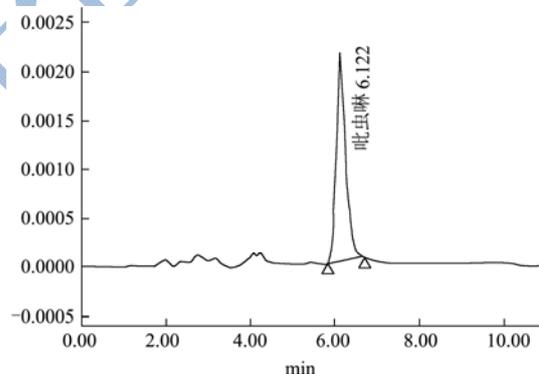


图1 吡虫啉标准品浓度为0.5 mg/L的液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of imidacloprid standards with the concentration of 0.5 mg/L

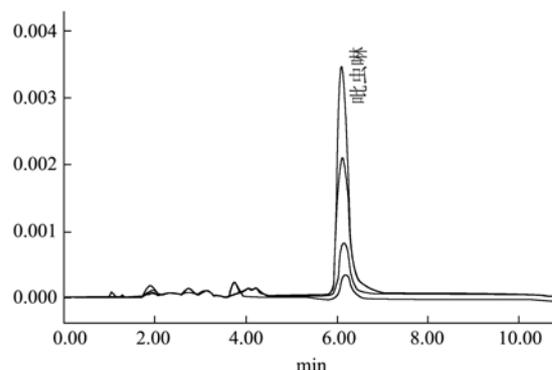


图2 不同浓度吡虫啉标准品重叠色谱图

Fig.2 Superposed chromatogram of imidacloprid standards at various concentrations

2.4 试样前处理方法

2.4.1 提取溶剂和洗脱液的选择

在样品提取试剂的选择中,分别用乙腈、丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷等试剂,对相同添加质量浓度的样品进行提取比较,发现其中乙腈的提取效果较完全,回收率远远高于丙酮、乙酸乙酯、甲醇、二氯甲烷等试剂,提取步骤也较简单。

二氯甲烷与甲醇以不同比例,不同用量作为洗脱剂时对农药洗脱的影响,结果表明:甲醇体积分数为1.0%~9.0%时,吡虫啉的回收率基本稳定,但甲醇+二氯甲烷=5+95时,杂质峰较少。当洗脱剂用量为10.0 mL时,吡虫啉的回收率接近100.0%。

2.4.2 净化方法的选择

目前较成熟的农药残留分析前处理方法主要有液液萃取法(LLE)和固相萃取法(SPE)。固相萃取法以其集样品提取、浓缩、净化于一体,简化了操作步骤,减少了溶剂用量,提高了样品前处理效率而受到重视。本文对弗罗里硅柱、氧化铝柱、氨基小柱等比较发现氨基小柱前处理效果较好。氨基小柱前处理蔬菜样品杂质干扰较少,颜色比较浅,回收率能满足分析测定的需求。

本实验采用LC-NH₂柱净化的方式处理,可以去除试样中的天然色素、糖类等大分子组分,试验证明可以有效地排除对吡虫啉测定的干扰。图3是在西红柿样品中添加2.0 mg/kg吡虫啉标准品的色谱图。

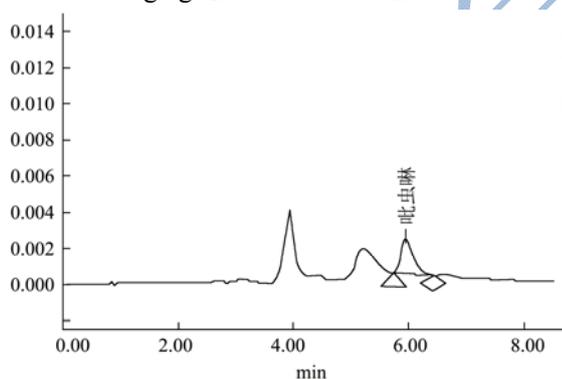


图3 西红柿样品中添加2.0 mg/kg 标准品色谱图

Fig.3 HPLC chromatogram of tomato sample and imidacloprid standards with the concentration of 2.0 mg/kg

2.5 准确度和精密度试验

采用标准加入法,称取3份西红柿样品,在已知含量的吡虫啉标准品中分别加入0.05、0.10、0.20 mg/kg的吡虫啉标准品,按上述方法进行提取、净化后,在上述色谱条件下测定吡虫啉含量,进行回收率实验,计算平均回收率和相对标准偏差见表1。

表1 吡虫啉在西红柿样品中的添加回收率

Table 1 Recovery result of imidacloprid in tomato samples

样品	添加浓度 (mg/kg)	含量 (mg/L)	平均值 (mg/L)	平均回收 率/%	RSD /%
西红柿	0.05	0.1301	0.1335	106.8	2.66
		0.1372			
		0.1332			
	0.10	0.2472	0.2462	102.5	7.99
		0.2796			
		0.2417			
0.20	0.4568	0.4588	95.4	5.58	
	0.5075				
	0.4681				

表1可知:在0.05~0.20 mg/kg的添加水平范围内,平均回收率为95.4%~106.8%,相对标准偏差为2.66%~7.99%,符合国家标准农药残留分析要求。

2.6 样品的检测

利用本法对昆明市农贸市场的西红柿、结球甘蓝、菜豆各抽样10份,进行吡虫啉农药残留的测定,均未检出吡虫啉残留。

3 结论

采用乙腈提取、盐析、LC-NH₂小柱净化的样品处理方法,建立了蔬菜中吡虫啉农药残留的高效液相色谱检测方法。对于西红柿样品,吡虫啉添加水平为0.05、0.10、0.20 mg/kg,其平均回收率为106.8%、102.5%和95.4%,相对标准偏差为2.66%、7.99%、5.57%,可以满足农药残留检测的要求。该方法能较简便、准确地实现蔬菜样品的检测,也可为其他产品中吡虫啉残留量的测定提供参考。

参考文献

[1] 张一宾,张译.世界农药新进展[M].北京:化学工业出版社,2007

[2] 庞民好,康占海.基质固相分散-高效液相色谱法测定小麦籽粒中吡虫啉和啶虫脒残留[J].农药学报,2008,10(4):491-494

[3] 陈黎,王金芳,杜鹏,等.韭菜中吡虫啉和啶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,2008,10(36):1364-1368

[4] 侯如燕,蔡荟梅,张正竹,等.水果蔬菜中吡虫啉农药残留的液相色谱检测方法[J].食品与发酵工业,2009,35(10):128-131

[5] Di Muccio A, Fidente P, Attard Barbini D, et al. Application of Solid-phase extraction and liquid chromatography-mass spectrometry to the determination of neonicotinoid pesticide residues in fruit and vegetables [J]. J Chromatography of A,

2006, 1108(1):1-6

- [6] Watanabe E, Baba K, Eun H, et al. Simultaneous determination of neonicotinoid insecticides in agriculture

samples by solid-phase extraction clean up and liquid chromatography equipped with diode-array detection [J] Agriculture Food Chemistry, 2007, 55(10): 3798-3804

现代食品科技