

啉螨酯在苹果中残留分析方法研究

王 进¹, 岳永德^{1*}, 花日茂², 汤 锋², 操海群²

(1. 国际竹藤网络中心, 北京 100102; 2. 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

摘要:通过对提取、净化方法的优化,建立了啉螨酯在苹果中的残留分析方法。样品以乙酸乙酯匀浆法提取, Florisil 柱层析净化, HPLC 测定。结果表明, Florisil 柱采用梯度淋洗的方法, 啉螨酯残留能与苹果共提取物有效分离。该方法在苹果中的最低检出浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 添加回收率 ($0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 为 $82.6\% \sim 87.1\%$, 相对标准偏差为 $3.49\% \sim 8.52\%$ 。该方法简便快速, 灵敏可靠, 适用于苹果中啉螨酯残留的测定。

关键词:啉螨酯; 残留分析; 苹果; 液相色谱

中图分类号: S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2007)01-0049-04

Analytical method of fenpyroximate residue in apple

WANG Jin¹, YUE Yong-de¹, HUA Ri-mao², TANG Feng², CAO Hai-qun²

(1. International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing 100102;

2. School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: A simple method was developed for determination of fenpyroximate residue in apples by high performance liquid chromatography with ultraviolet (HPLC/UV). The residue of fenpyroximate in apples was extracted by ethyl acetate, cleaned up by florisil packed column, determined by HPLC / UV. The results showed that gradient elution used in florisil packed column could make fenpyroximate separated from co-extraction. Limit of quantitation in this method was $0.025 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. In the range of 0.1 to $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the average recoveries were $82.6\% \sim 87.1\%$ with the relative standard deviation (RSD) range of $3.49\% \sim 8.52\%$. These results demonstrated that the proposed method is sensitive and reliable for determination of fenpyroximate residue in apples.

Key words: fenpyroximate; residue analysis; apple; liquid chromatography

啉螨酯 (fenpyroximate) 属于苯氧基吡啉类杀螨剂, 该药有很强的选择性, 仅对植食性螨类有很强的毒性, 而对昆虫和动物体寄生螨类和土壤中螨类则表现出低毒或没有毒性。啉螨酯在我国登记适用作物是苹果和柑桔, 主要防治红叶螨、全爪螨和其它植食性螨类, 速效性好, 持效期较长^[1,2]。目前, 我国尚缺少啉螨酯的残留分析的标准方法。啉螨酯蒸汽压很低, 难以气化, 在气相色谱进样口容易造成残留累积, 影响啉螨酯准确的定量, 所以啉螨酯残留分析方法主要以高效液相色谱 (HPLC/UV) 检测^[3-8]。而

衍生化后气相色谱检测也过于烦琐、复杂^[9]。EPA 推荐的啉螨酯在蛇麻草中残留分析方法中, 采用了德国 DFG-S19 的方法。FAO 和 WHO 报道了一些没有正式出版的方法, 主要以甲醇、丙酮、乙腈为提取溶剂, 液液分配后用氧化铝、硅胶等柱层析净化。这些方法都是用甲醇等极性溶剂提取, 需要液-液分配 (LLE) 等净化步骤, 存在易乳化、耗时、费力等问题。本试验以高效液相色谱 (HPLC) 为检测条件, 优化了啉螨酯在苹果中的提取和净化方法, 建立了

收稿日期: 2006-09-25

基金项目: 国家“十五”重大科技专项 (2001-BA804A17) 资助。

作者简介: 王进 (1977 -), 男, 硕士; 岳永德 (1952 -), 男, 教授, 博士生导师。

* 通讯作者 (Corresponding author) E-mail: yueyd@icbr.ac.cn

乙酸乙酯提取, 弗罗里硅土柱净化的苹果中唑螨酯残留分析的方法。

1 材料与方法

1.1 仪器设备

Agilent 1100 高效液相色谱, 配紫外检测器(美国安捷伦公司); RE-52 旋转蒸发器(上海青浦沪西仪器厂); SQ2119 多功能食品加工机(上海帅佳电子科技有限公司); 匀浆机(美国 OMNI-MIXER HOMOGENIZER); 200mL 匀浆瓶(PYREX, No 1261, ENGLAND); N-EVAPTM112 氮吹仪(美国制造); 玻璃层析柱, 25cm × 1cm(i. d.)。

1.2 药品与试剂

唑螨酯标准溶液: 称取唑螨酯标准品(纯度 99.0%, 国家农药质检中心)0.0181 g 于 10 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀即为唑螨酯的储备液, 把储备液稀释成 $1 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 再用甲醇逐级稀释配成不同浓度的标准溶液。甲醇(色谱纯, 山东禹王实业有限公司); 乙酸乙酯(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 79℃ 馏分); 石油醚(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 69℃ 馏分); 无水硫酸钠(分析纯); 弗罗里硅土(农残级, 60~100 目, 美国 Sigma 公司)650℃ 灼烧 4 h, 用前于 130℃ 活化 4 h 于干燥器中备用。

1.3 试验方法

1.3.1 试验样品预处理 供试苹果购自市场, 储存于 4℃ 冰箱(一周内使用), 四分法取样, 分别用多功能食品加工机捣碎匀浆, 样品均分为 2 份, 1 份供试, 1 份置于 -20℃ 冰箱备用。

1.3.2 添加农药 准确称取预处理后的样品 100 g, 于 200 mL 匀浆瓶中, 用移液管移取 $1 \times 10^{-4} \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的唑螨酯标准溶液, 使苹果样品的添加浓度为 0.1、0.5 和 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 每种浓度设置 3 个重复, 设基质空白为对照。添加农药后样品以转速 8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 匀浆 4~5 min, 使农药均匀分布于样品中; 匀浆后从 100 g 样品中取出 40 g 于另一匀浆瓶中, 稳定至少 2 h 后提取。

1.3.3 提取 用 100 mL 量筒准确量取 80 mL 乙酸乙酯, 完全转移入盛装苹果样品的匀浆瓶中, 高速 (8 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$) 匀浆提取 5 min, 再用 3 cm 高的无水硫酸钠滤纸漏斗过滤, 滤入量筒中, 取其 40 mL 提取液转移入平底烧瓶, 50℃ 条件下浓缩至干(如有少量乙酸乙酯残留于平底烧瓶, 用微氮气流吹干), 加入 5 mL 石油醚溶解残留物, 待过层析柱净化。

1.3.4 净化 弗罗里硅土层析柱(无水硫酸钠: 弗

罗里硅土: 无水硫酸钠, 2:6:2, w:w:w), 用橡皮棒轻敲层析柱使弗罗里硅土密实、均匀地分散于层析柱中, 用 20 mL 石油醚预淋洗后, 待石油醚降至上层无水硫酸钠层, 加入样品提取液, 待液面降至上层无水硫酸钠层, 用石油醚/乙酸乙酯(7:1, v:v) 30 mL 混合液淋洗, 弃去淋出液, 待液面再降至上层无水硫酸钠层, 用石油醚: 乙酸乙酯(3:1, v:v) 30 mL 淋洗, 收集淋出液于平底烧瓶, 浓缩至干, (如有残余溶剂用微氮气流吹干) 用甲醇定容至 10 mL, 过 0.45 μm 的滤膜, 待测。

1.3.5 色谱条件 色谱柱: Hypersil ODS C18, 4.6 mm(i. d.) × 250 mm; 柱温: 室温; 流动相: 甲醇: 水 = 90:10(v:v); 流速: 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 258 nm, 进样量: 20 μL 。

2 结果与讨论

2.1 提取条件的优化

2.1.1 无水硫酸钠量的选择 在匀浆法提取中, 对高含水量的样品, 一般需添加一定量的无水硫酸钠, 以利于农药的盐析及提取。为明确无水硫酸钠的量对提取的影响, 比较了 0、10、20、30、40 和 50 g 无水硫酸钠的量对添加回收率影响。从图 1 看出, 不加无水硫酸钠有着较高的提取回收率, 所以在方法中不加无水硫酸钠。

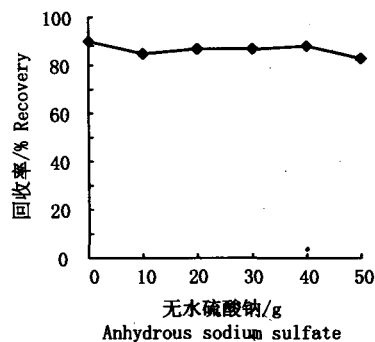


图 1 不同无水硫酸钠量对唑螨酯回收率的影响

Figure 1 Effect of amount of anhydrous sodium sulfate on recoveries of fenpyroximate

表 1 不同匀浆时间对回收率的影响

Table 1 Effect of extraction time on recoveries of fenpyroximate in fortified apples

样品 Matrix	匀浆时间/min Extraction time	平均回收率/% Recovery	相对标准偏差/% RSD
苹果 Apple	3	79.4	13.4
	4	87.7	5.6
	5	89.5	5.7

2.1.2 匀浆提取时间的选择 不同匀浆时间(3、4 和 5 min)对提取回收率的影响结果见表 1。从表 1 看出,不同时间匀浆提取的回收率为 79.4% ~ 89.5%。匀浆提取 5 min 的相对标准偏差小且提取回收率较高,确定匀浆提取时间为 5 min。

2.2 净化条件的优化

2.2.1 弗罗里硅土柱等度淋洗曲线 移取唑螨酯标准溶液直接添加到弗罗里硅土柱上,用 40 mL 石油醚/乙酸乙酯(3:1, v: v) 作为弗罗里硅土柱的淋洗液,弗罗里硅土柱淋洗馏分图,见图 2。用弗罗里硅土柱净化苹果样品,净化效果,见图 3。

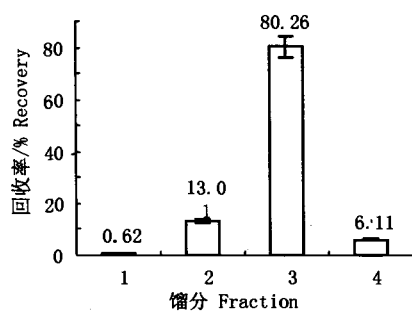


图 2 唑螨酯在弗罗里硅土柱上的馏分

Figure 2 Elution test of fenpyroximate in column chromatography

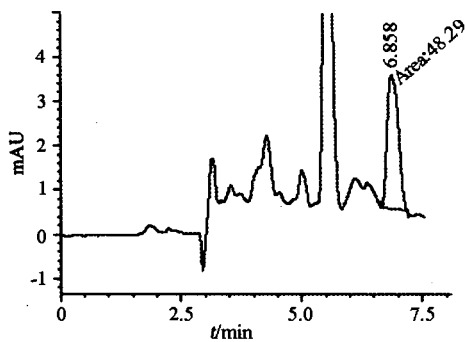


图 3 弗罗里硅土柱净化苹果样品色谱图

Figure 3 Chromatogram of fenpyroximate spiked florilil column chromatography in apples cleaned up by florilil column

表 2 唑螨酯在弗罗里硅土柱中的梯度淋洗馏分

Table 2 The elution fractions of fenpyroximate in florilil column

	馏分/mL Fraction							
	10	10	10	5	5	10	10	
添加回收率/% Recovery	ND	ND	ND	8.0	33.1	62.9	ND	

从图 3 看出,样品基质共提物使检测基线升高,唑螨酯色谱峰有一定的干扰,影响定量,净化后色谱图重现性较差,所以用石油醚/乙酸乙酯(3:1, v: v)

单一淋洗液的洗脱方式,在弗罗里硅土柱的净化中,不能获得良好的净化效果,需要进一步的优化净化方法。

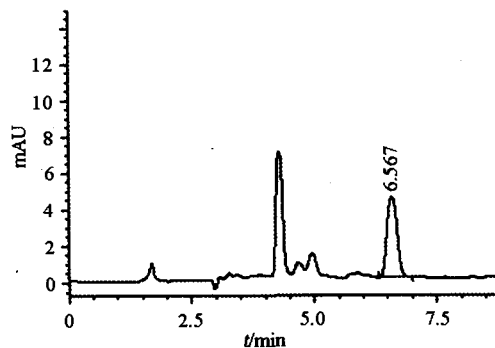


图 4 弗罗里硅土柱净化苹果样品色谱图

Figure 4 Chromatogram of fenpyroximate spiked florilil column chromatography in apples cleaned up by florilil column

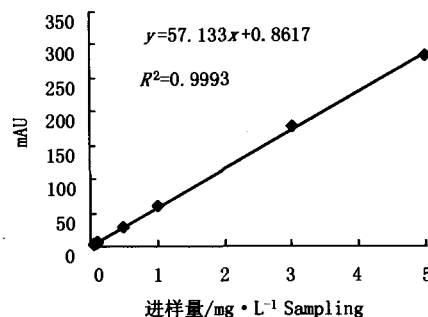


图 5 唑螨酯高效液相色谱标准曲线

Figure 5 Standard curve of fenpyroximate

2.2.2 弗罗里硅土柱梯度淋洗曲线 移取唑螨酯标准溶液直接添加到弗罗里硅土柱上,用 30 mL 石油醚/乙酸乙酯(7:1, v: v) 淋洗弗罗里硅土柱,再用 30 mL 石油醚/乙酸乙酯(3:1, v: v) 淋洗,依次收集不同馏分测定,测定结果见表 2,用弗罗里硅土柱梯度淋洗的方法净化苹果样品,从图 4 看出,样品共提物与唑螨酯色谱峰分离良好,基线平稳,获得了较好的净化效果。所以在弗罗里硅土柱层析中,分别用石油醚:乙酸乙酯(7:1, v: v)、石油醚/乙酸乙酯(3:1, v: v) 作为淋洗液,进行梯度洗脱。

2.3 标准曲线及检出限

把储备液稀释成 $1 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,用甲醇逐级稀释成系列标准溶液,取 0.05×10^{-6} 、 0.1×10^{-6} 、 0.5×10^{-6} 、 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 和 $5 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 不同浓度的标准溶液,采用外标法对唑螨酯进行定量,测定了唑螨酯进样量与 HPLC 响应的线性关系。由图 5 可知,唑螨酯在 $0.05 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$

范围内,峰面积与进样量呈良好线性关系。在该方法条件下,唑螨酯在苹果样品中的最低检出浓度为 $0.025 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.4 添加回收率

以乙酸乙酯为提取溶剂,匀浆提取,HPLC 检测。从表3可以看出,在苹果中添加唑螨酯浓度分别为 0.1 、 0.5 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,在苹果中的添加回收率为 $82.6\% \sim 87.1\%$,相对标准偏差为 $3.49\% \sim 8.52\%$,符合残留分析的要求。

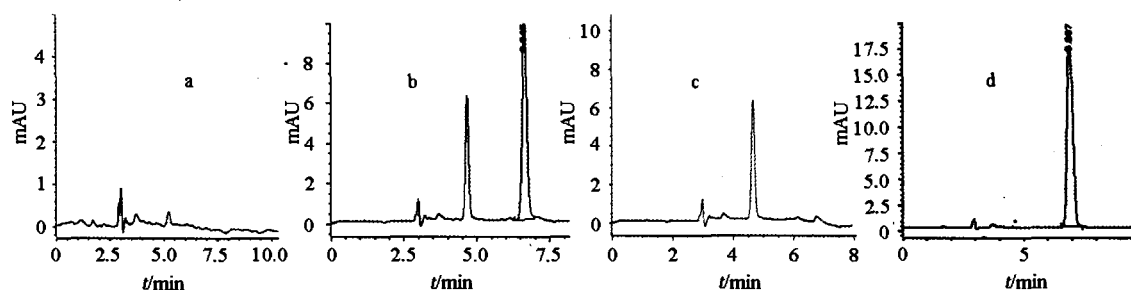
表3 唑螨酯在苹果中的添加回收率

Table 3 Recoveries of fenpyroximate spiked in apples at three concentration levels ($n = 3$)

添加浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Spiking level	平均回收率/% Recovery	相对标准偏差/% RSD
0.1	82.6	8.52
0.5	87.1	4.79
1.0	86.3	3.49

基质:苹果;提取方法:匀浆提取。

Matrix: Apple; Extraction: Homogenization.



a. 方法溶剂空白色谱图; b. 苹果添加回收色谱图; c. 苹果空白色谱图; d. 唑螨酯标样色谱图
a. Solvent blank of analysis method; b. Untreated apple spiked by fenpyroximate; c. Untreated apple;
d. Standard solution of fenpyroximate

图6 唑螨酯在苹果中添加回收色谱图

Figure 6 HPLC Chromatograms of extracts, solvent and standard solution

从添加回收色谱图可看出(图6),使用乙酸乙酯作为提取溶剂,共提物较少,省去液-液分配的净化步骤,唑螨酯与基质共提物能够较好的分离。在提取中,利用匀浆提取有很高的提取回收率,可能是因为唑螨酯本身的性质决定的,唑螨酯不易溶于水,易溶于二氯甲烷、乙酸乙酯等中等极性溶剂,提取效果符合“相似相溶原理”。在高速匀浆中,整个溶剂系统形成油包水相,匀浆停止时水相和有机相迅速分层,不存在乳化现象,所以用乙酸乙酯匀浆提取具有较高的提取率。在净化中,通过不同极性溶剂的混合,调节并选择合适的淋洗液极性,进行弗罗里硅土层析柱的梯度淋洗,洗出基质共提物,仅收集农药残留的馏分,从而获得了满意的净化效果。

参考文献:

- [1] Hamaguchi H, Kajihara O, Kato M. Development of a new acaricide, fenpyroximate[J]. J Pestic Sci, 1995, 20: 173-175.
- [2] Kazuhiko Motoba, Hideo Nishizawa, Takashi Suzuki, et al. Species-specific detoxification metabolism of fenpyroximate, a potent acaricide [J]. Pesticide Biochemistry and

Physiology, 2000, 67: 73-84.

- [3] 吴俐勤, 朱亚红, 许海忠, 等. 唑螨酯在柑桔和土壤中的残留研究[J]. 农药, 1996, 35(7): 21-23.
- [4] Lee Young-Deuk, Kwon, Chan-Hyeok. Multiresidue analysis of eight acaricides in fruits[J]. Agric Chem Biotechnol, 1999, 42(4): 191-196.
- [5] Halvorsen B L, Thomsen C, Greibrokk T, et al. Determination of fenpyroximate in apples by supercritical fluid extraction and packed capillary liquid chromatography with UV detection [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 880: 121-128.
- [6] 杨仁斌, 郭正元, 刘毅华, 等. 速霸螨水乳剂在柑橘及土壤中的残留动态研究[J]. 农药学报, 2004, 6(1): 58-62.
- [7] Akiko Kaihara, Kimihiko Yoshii, Yukari Tsumura, et al. Multiresidue analysis of pesticides in fresh fruits and vegetables by supercritical fluid extraction and HPLC[J]. Journal of Health Science, 2000, 46(5): 336-342.
- [8] 吴俐勤, 徐浩, 朱亚红, 等. 固相萃取技术在农药残留测定中的应用[J]. 农药科学与管理, 1999(增刊): 17-20.
- [9] 吴园生, 平霄飞, 梁天锡. 杀螨王及其代谢物残留量的气相色谱分析法[J]. 色谱, 1994, 12(6): 421-422.