

# 啶酰菌胺在黄瓜和土壤中残留分析方法研究

唐俊<sup>1</sup>, 汤锋<sup>1</sup>, 操海群<sup>1</sup>, 花日茂<sup>1</sup>, 岳永德<sup>2\*</sup>

(1. 安徽省农产品安全重点实验室, 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036; 2. 国际竹藤网络中心, 北京 100102)

**摘要:**建立了啶酰菌胺(boscalid)在黄瓜和土壤中残留的分析方法。样品以乙腈提取, 弗罗里硅土柱层析净化, 气相色谱(ECD)测定。啶酰菌胺的最小检测量为  $8 \times 10^{-11}$  g, 最低检测浓度为  $0.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。黄瓜中啶酰菌胺的添加(浓度为  $0.05 \sim 5.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )回收率为 92.16% ~ 98.32%, 变异系数分别为 4.59% ~ 8.31%; 土壤中啶酰菌胺的添加(浓度为  $0.05 \sim 5.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )回收率为 89.46% ~ 99.23%, 变异系数分别为 3.48% ~ 6.15%。该方法的准确性和灵敏度均符合农药残留分析要求。

**关键词:**啶酰菌胺; 黄瓜; 土壤; 残留分析; 气相色谱

中图分类号: X132; S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2008)04-0550-05

## Analytical method of boscalid residue in cucumber and soil

TANG Jun<sup>1</sup>, TANG Feng<sup>1</sup>, CAO Hai-qun<sup>1</sup>, HUA Ri-mao<sup>1</sup>, YUE Yong-de<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Anhui Agri-food Safety, School of Resource and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;  
2. International Centre for Bamboo & Rattan, Beijing 100102)

**Abstract:** Gas chromatography was used to analysis boscalid residues in cucumber and soil. Residues of boscalid were extracted from cucumber and soil with acetonitrile, cleaned up by column chromatography of florisisil, and determined by GC equipped with ECD. The average recoveries and coefficient of variations of the method were 92.16% ~ 98.32%, 4.59% ~ 8.31% for cucumber sample and 89.46% ~ 99.23%, 3.48% ~ 6.15% for soil sample. The minimum detectable amount and concentration of boscalid were  $8 \times 10^{-11}$  g and  $0.04 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ . The method of boscalid in cucumber and soil accords with demands of residue analysis of pesticide.

**Key words:** boscalid; cucumber; soil; residue analysis; GC

啶酰菌胺(boscalid)为德国巴斯夫公司于1992年发现其杀菌活性,并申请专利,2004年登记,现已于欧洲、美国等50余国家进行了注册<sup>[1]</sup>。1999年在日本通过日本植保所委托各试验地进行了蔬菜、豆类、果树等作物上的灰霉病和菌核病的防治试验,试验结果表明该药剂对灰霉病和菌核病有较好的防治效果并对作物安全。2005年1月该杀菌剂在日本进行了登记。防治作物为蔬菜、大豆、葡萄,防治对象为灰霉病和菌核病<sup>[2]</sup>。随着食品安全的观念逐渐为社会所重视,蔬菜等农作物上的农药残留问

题引起人们广泛关注,我国的蔬菜出口也因为农药残留超标而面临巨大压力。目前关于啶酰菌胺的残留分析方法的报道国内外尚不多。本试验系农业部农药登记项目内容,就啶酰菌胺在黄瓜和土壤中残留检测方法进行了研究,旨在为啶酰菌胺在中国市场的登记提供残留分析与评价提供相关指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器设备

Agilent6890型气相色谱(ECD检测器),恒温振

收稿日期: 2008-02-29

基金项目: 农业部农药残留试验项目资助。

作者简介: 唐俊(1981-),男,硕士研究生,助教;岳永德(1952-),男,教授,博士生导师。

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

荡器(SHA-C型),旋转真空蒸发仪(RE-52AA型),超声波清洗器KQ100(昆山市超声波仪器有限公司),玻璃层析柱(20 cm × Φ1.0 cm)等。

## 1.2 药品与试剂

啶酰菌胺标样(巴斯夫中国有限公司提供,纯度 >99%)。

乙腈、正己烷、丙酮等均为分析纯;无水硫酸钠,分析纯 450℃ 烘烤 4 h;氯化钠(分析纯);弗罗里硅土(农残级),用前经 550℃ 烘烤 4 h,冷却后加入 5% 水脱活。

## 1.3 方法

**1.3.1 标准曲线的绘制** 母液的配制:用万分之一电子天平准确称取啶酰菌胺 10.0 mg 溶于乙腈中,配成  $1.0 \times 10^3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的标准母液。

工作曲线的绘制:用正己烷将标准母液配成 0.05、0.10、0.20、0.40、0.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的工作溶液,分别进样分析,以进样量(ng)为横坐标,峰高(Hz)为纵坐标,绘制标准曲线。

**1.3.2 农药的添加** 市购新鲜黄瓜样,切碎后放入食品捣碎机中捣碎成匀浆状;土样采自未施药田块,风干后磨碎,过孔径 0.45 mm 筛。准确称取 10.0 g 样品于 50 mL 具塞塑料离心管中,加入一定体积的啶酰菌胺工作溶液,混匀,配制不同添加浓度的样品。每种浓度设置 3 次重复,同时设置空白对照。

**1.3.3 样品的前处理** (1)提取:向样品加入 20 mL 乙腈(土样预先加入 5 mL 蒸馏水,摇匀),在恒温振荡器上振荡提取 30 min。向离心管中加入 5.0 g NaCl,剧烈振摇 5 min 后在离心机上 3 500  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min;取上清液(乙腈)10 mL 过无水

硫酸钠后收集于 150 mL 浓缩瓶中,在 45℃ 下浓缩至近干,用 10 mL 丙酮:正己烷(1:9, v: v)洗残渣(可在超声波水域中振荡 10 s 助溶),待过弗罗里硅土柱净化。

(2)净化:玻璃层析柱中加入 5% 水脱活的弗罗里硅土 2.0 g,上下各加入高度 1 cm 左右无水硫酸钠,轻轻敲打使填充致密。用 10 mL 丙酮:正己烷(1:9, v: v)预淋层析柱后上样,再用 10 mL 丙酮:正己烷(1:9, v: v)预淋,弃去,然后用 30 mL 丙酮:正己烷(1:9, v: v)淋洗,收集淋出液于 150 mL 浓缩瓶中,40℃ 浓缩至近干,用 5 mL 正己烷分 3 次洗涤浓缩瓶,定容至 5 mL 容量瓶中,待测。

**1.3.4 气相色谱检测条件** 用 ECD 检测器检测啶酰菌胺残留量。色谱柱:HP-5, 0.25  $\mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ;载气为高纯氮气(99.999%),流速:柱流量 2.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,尾吹 40  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,采用不分流进样;温度:进样口 260℃,检测器 320℃;柱温采用程序升温方式,初始温度 60℃,保持 1.0 min,以 25  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 180℃,再以 6  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 200℃,然后以 15  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 260℃,保持 8 min。进样量为 2  $\mu\text{L}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线

啶酰菌胺标准曲线如图 1 所示,在此浓度范围内色谱峰高与浓度呈良好的线性关系,其线性方程为  $y = 56789x - 2978.5$ ,决定系数达 0.993 2。该检测条件下啶酰菌胺的标样色谱图如图 2 所示,其最小检测量为  $8 \times 10^{-11} \text{ g}$ ,保留时间约为 18.0 min。

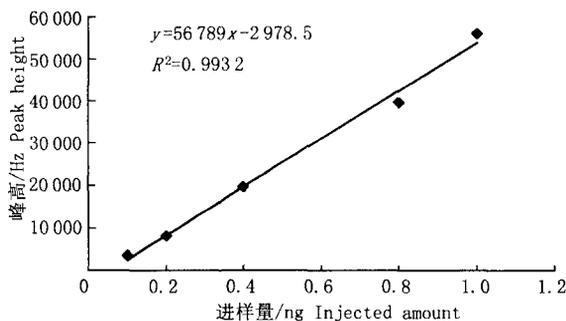


图 1 啶酰菌胺标准曲线

Figure 1 The standard curve of boscalid

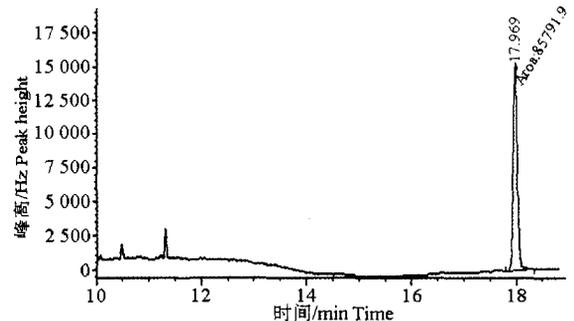


图 2 啶酰菌胺标样色谱图

Figure 2 The GC chromatogram of boscalid

### 2.2 提取方法的建立

在添加浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的黄瓜样品中分别加入 20 mL 的乙腈、甲醇和丙酮作为提取溶剂,比较了提取溶剂对啶酰菌胺添加回收率的影响,结果如

表 1 所示。所用 3 种提取溶剂,乙腈所得回收率最高,达 102.16%,变异系数为 4.14%。

在添加浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的黄瓜样品中加入 20 mL 的乙腈,比较了机械振荡和超声波提取 2 种

不同提取方式对啶酰菌胺添加回收率的影响(见表2),结果表明机械振荡和超声提取的方法回收率和变异系数均符合要求,其中机械振荡 30 min 提取回收率最高。

表 1 不同提取溶剂对黄瓜中啶酰菌胺提取回收率的影响

Table 1 Recoveries of variability of boscalid in cucumber by selected extract solvents

提取溶剂 Extract solvents	平均添加回收率/% Average recoveries	标准差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
乙腈 Acetonitrile	102.16	4.23	4.14
丙酮 Acetone	94.82	6.71	7.08
甲醇 Ethyl acetate	85.65	6.86	7.98

表 2 不同提取方法对黄瓜中啶酰菌胺提取回收率的影响

Table 2 Recoveries of variability of boscalid in cucumber by selected extract methods

提取方法 Extract methods	提取时间/min Extract time	平均添加回收率/% Average recoveries	标准差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
机械振荡 Mechanical oscillation	30	97.23	6.51	6.70
	60	95.34	7.59	7.96
超声波振荡 Ultrasonic oscillation	10	77.40	2.42	3.12
	20	93.72	2.16	2.31

表 3 不同淋洗液对黄瓜中啶酰菌胺提取回收率的影响

Table 3 Recoveries of variability of boscalid in cucumber by using different elute solvents

淋洗液种类 Elute solvents	平均添加回收率/% Average recoveries	标准差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
正己烷:丙酮(9:1) n-hexane/Acetone	98.93	3.12	3.15
正己烷:丙酮(8:2) n-hexane/Acetone	97.63	6.15	6.30
正己烷 n-hexane	46.72	8.41	18.00

### 2.3 净化方法的建立

在空白提取液中添加一定体积的啶酰菌胺工作溶液,使其浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,过弗罗里硅土柱时采用 50 mL 不同的淋洗液,比较在净化过程中淋洗液对啶酰菌胺添加回收率的影响(见表3),结果表明单纯用 40 mL 正己烷作淋洗液,回收率较低,正己烷:丙酮(8:2)淋洗虽然可得到较高回收率,但干扰物也较多被淋洗下来,表现为色谱图中杂质峰较多,而正己烷:丙酮(9:1)淋洗效果较好,可得到较高的回收率,又避免过多干扰物的淋出。

在确定了正己烷:丙酮(9:1)作为淋洗液后,在空白提取液中添加一定体积的啶酰菌胺工作溶液,使其浓度为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,然后过弗罗里硅土柱净化,用 50 mL 淋洗液淋洗,每 10 mL 淋洗液收集于一个容量瓶中,作为一个馏分,分别测定其中啶酰菌胺的回收率。5 个馏分的回收率(见图3)分别为 1.75%、13.23%、50.38%、34.72% 和 1.52%,第 2 至第 4 个馏分所得回收率之和为 96.73%。所以为减少干扰物,在样品上柱后先用 40 mL 正己烷:丙酮

(9:1)预淋,弃去前 10 mL 淋出液,收集后 30 mL 淋洗液,待分析。

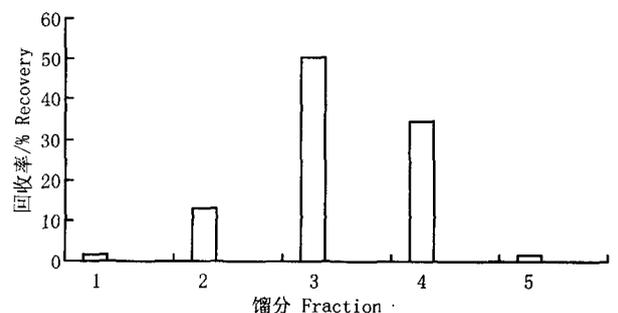


图 3 啶酰菌胺的淋洗曲线

Figure 3 Elute curve of boscalid in column chromatography of florisil

### 2.4 添加回收试验

分别在空白黄瓜和土壤样品中添加一定体积的啶酰菌胺工作溶液,使其浓度为 0.05、1.0 和  $5.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。采用优化建立的提取和净化条件进行添

加回收试验(结果见表4),在添加浓度范围内,黄瓜中啶酰菌胺回收率为92.16%~98.32%,变异系数分别为4.59%~8.31%;土壤中啶酰菌胺的回收率为89.46%~99.23%,变异系数分别为3.48%~

6.15%。啶酰菌胺在黄瓜和土壤中的添加回收样品和空白对照样品图谱如图4所示。该方法可以很好满足残留分析要求。

表4 土壤和黄瓜中啶酰菌胺添加回收结果

Table 4 Recoveries of boscalid from soil and cucumber samples

基质 Sample	添加浓度/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Fotified concentration	平均回收率/% Average recoveries	标准差 Standard deviation	变异系数/% Coefficient of variability
土壤 Soil	0.05	91.38	3.87	4.23
	1.00	99.23	3.45	3.48
	5.00	89.46	5.50	6.15
黄瓜 Cucumber	0.05	98.32	6.23	6.34
	1.00	92.16	4.23	4.59
	5.00	94.15	7.82	8.31

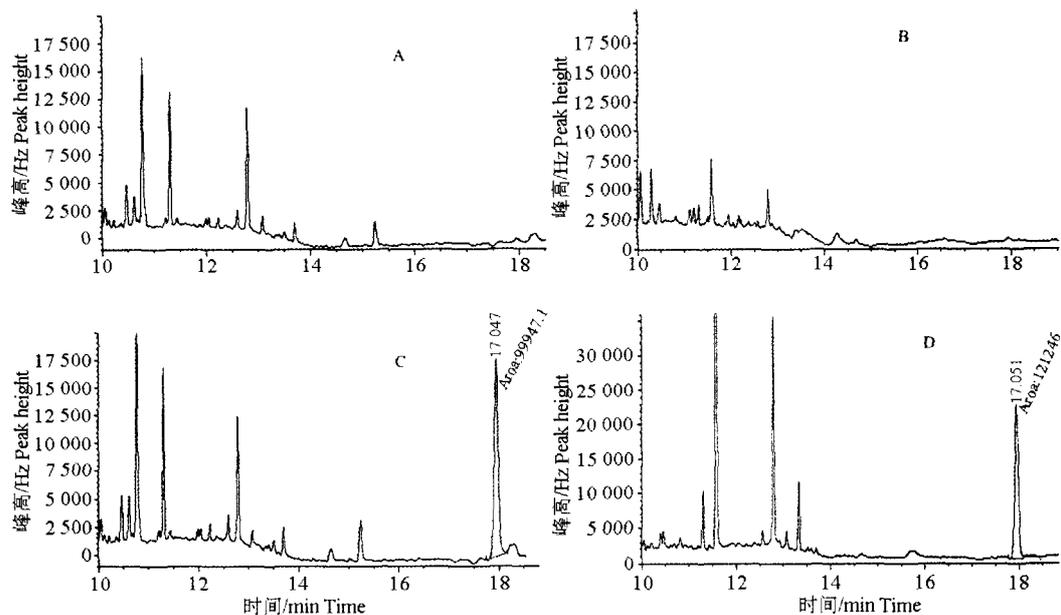


图4 土壤空白(A)、黄瓜空白(B)和土壤(C)、黄瓜(D)中啶酰菌胺添加回收图谱

Figure 4 GC chromatograms of unspiked soil (A), unspiked cucumber (B), soil (C) and cucumber (D) spiked with boscalid

### 3 小结与讨论

本研究比较了乙腈、丙酮和甲醇对黄瓜中啶酰菌胺的提取回收率,丙酮和甲醇的提取回收率均满足农药残留分析的要求<sup>[3]</sup>,但试验中丙酮和甲醇在提取后溶剂与水分离效果较差,需消耗大量的无水硫酸钠脱水或需要用二氯甲烷等进行萃取处理,因而增加试验难度和试剂消耗,而用乙腈作提取剂时,只需在体系中加入5.0 g氯化钠,剧烈振荡后,便可较好实现有机相与水相的分离,与文献[4]报道有相同的结果。

在净化过程中,选用吸附性能较高的弗罗里硅土作为吸附材料,通过做淋洗曲线确定淋洗剂的最佳配比和用量,既有效排除了基体干扰,同时也减少了有机试剂的消耗。

日本厚生劳务省<sup>[5]</sup>报道了农产品中啶酰菌胺的检测方法,其中蔬菜类样品用150 mL丙酮提取2次,提取液浓缩至30 mL后再用150 mL正己烷提取2次,经合成硅酸镁柱净化后,FTD或NPD检测。本研究与之相比提取试剂用量大大减少,仅需20 mL乙腈,操作步骤有所简化,无需溶剂萃取,因而省时省力。文献[6]报道日本肯定列表中规定黄