

刘磊, 邵辉, 李辉, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定草莓中氟唑菌酰胺残留量[J]. 农药, 2014, 53(11): 818-820.

固相萃取-高效液相色谱法测定草莓中 氟唑菌酰胺残留量

刘磊, 邵辉, 李辉, 李娜, 李晶, 张玉婷, 郭永泽

(天津农业质量标准与检测技术研究所, 天津 300381)

摘要: [目的]建立草莓中氟唑菌酰胺残留量的测定方法。[方法]采用乙腈提取,氨基固相萃取柱净化,高效液相色谱法测定。[结果]添加氟唑菌酰胺水平为0.05、0.1、0.5 mg/kg,平均回收率分别为83.5%、89.6%和90.4%,相对标准偏差分别为7.1%、4.9%和2.0%,检出限为0.05 mg/kg。[结论]方法操作简单,定量准确,重现性好。

关键词: 固相萃取; 高效液相色谱法; 草莓; 氟唑菌酰胺

中图分类号: TQ450.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1006-0413(2014)11-0818-03

Determination of Fluxapyroxad Residues in Strawberry by HPLC with Solid Phase Extraction

LIU Lei, SHAO Hui, LI Hui, LI Na, LI Jing, ZHANG Yu-ting, GUO Yong-ze

(Tianjin Institute of Agricultural Quality Standard and Testing Technology, Tianjin 300381, China)

Abstract: [Aims] The HPLC method for the determination of fluxapyroxad residues in strawberry was established. [Methods] The samples were extracted with acetonitrile, then purified with amino solid-phase extraction column and detected by HPLC. [Results] The precision and accuracy of the method were assessed by adding fluxapyroxad standard material into strawberry at three concentration levels (0.05, 0.1, 0.5 mg/kg) using five replicates at each level. The average recoveries of fluxapyroxad were 83.5, 89.6 and 90.4%, the RSDs were 7.1, 4.9 and 2.0%, respectively. In addition, the limit of detection was 0.05 mg/kg. [Conclusions] The method is easy, accurate and reproducible.

Key words: solid phase extraction; HPLC; strawberry; fluxapyroxad

氟唑菌酰胺(fluxapyroxad), 化学名称3-(二氟甲基)-1-甲基-N-(3',4',5'-三氟二苯-2基)吡唑-4-羧酰胺。氟唑菌酰胺是德国巴斯夫公司开发的杀菌剂,在化学结构上属甲酰胺类化合物,是以作为琥珀酸脱氢抑制剂发挥作用的杀菌剂。它能抑制孢子的发芽、芽孢管的伸长、菌丝体的生长和孢子的形成,对真菌疾病表现出极好的预防和治疗效果,田间试验表明它对谷物、大豆、玉米、油菜和多种特种作物中的许多主要疾病具有高效和高选择性的防治作用^[1]。

Dong等^[2]报道了氟唑菌酰胺在谷物、水果和蔬菜中的液相色谱-串联质谱残留量测定方法,除此之外,目前尚没有任何其他氟唑菌酰胺残留量测定方法研究的报道。基于此,本研究建立了草莓中氟唑菌酰胺残留量的固相萃取-高效液相色谱测定方法。高效液相色谱仪响应稳定,更重要的是不需要基质匹配标样定量,免去了实际检测中难以找到相同基质空白的难题,定量更加准确,可作为液相色谱-串联质谱法的重要补充。本方法为

研究氟唑菌酰胺的残留消解动态,进而为氟唑菌酰胺的登记和合理使用提供技术支撑,对保障食品安全具有重要意义。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

1.1.1 仪器设备

Agilent 1200 SL型高效液相色谱仪(带DAD检测器),电子天平(感量为0.01 g),IKEA匀浆机,高速离心机,BUCHI旋转蒸发器,涡旋混合器,固相萃取装置,精密移液枪。

1.1.2 试剂

乙腈、氯化钠和甲苯为分析纯,甲醇为色谱纯,水为超纯水。氨基固相萃取柱:500 mg,3 mL。氟唑菌酰胺标准品:纯度99.7%,德国巴斯夫公司。

1.2 样品前处理

称取10 g试样(精确到0.01 g)于50 mL具塞离心管中,加20 mL乙腈,15 000 r/min匀浆提取1 min,加入3 g氯化钠,

收稿日期:2014-07-23,修返日期:2014-08-07

作者简介:刘磊(1981—),女,黑龙江伊春人,助理研究员,硕士,从事农药残留研究工作。E-mail:liulei2004@163.com。

通讯作者:郭永泽(1971—),男,河北赵县人,研究员,从事农药残留研究工作。E-mail:yongzeguo@126.com。

再匀浆提取1 min, 3 000 r/min离心5 min, 取上清液10 mL, 在40 ℃水浴中旋转蒸发浓缩至干, 待净化。

氨基固相萃取柱用前加入2 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)预淋洗, 弃去淋洗液, 待液面到达柱填料顶部时, 用2 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)溶解浓缩残留物并转移至柱中, 收集洗脱液, 重复4次, 合并洗脱液在40 ℃水浴中旋转蒸发浓缩至干, 加入2 mL甲醇涡旋溶解, 过0.45 μm滤膜, 待测。

1.3 仪器条件

色谱柱: ZORBAX C₁₈, 4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm; 柱温: 45 ℃; 流动相: 甲醇-水(体积比75:25); 流速: 0.5 mL/min; 运行时间: 10 min; 检测器: DAD; 波长: 氟唑菌酰胺在254 nm; 进样量: 5 μL; 保留时间: 1.91 min。

1.4 定性

进行样品测定时, 如果检出色谱峰的保留时间与标准品的保留时间一致, 且紫外吸收光谱图也相同, 则可判断样品中存在这种农药化合物。

1.5 定量

以外标准曲线法定量, 并且保证所测化合物响应在仪器线性范围之内。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的优化

通过进氟唑菌酰胺标准工作溶液到高效液相色谱仪, 得到氟唑菌酰胺的紫外吸收光谱图, 见图1。在210、230 nm处有2个吸收高峰, 但是进草莓对照样品发现, 在这2处吸收高峰有杂质干扰, 从兼顾方法灵敏度和定量准确性综合考虑, 确定检测波长为254 nm。

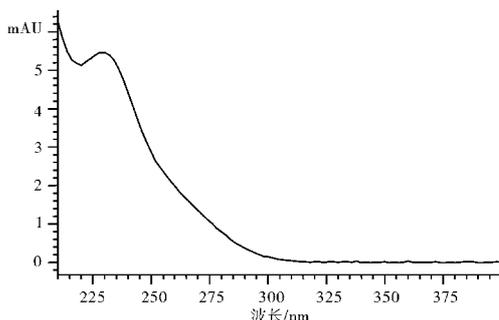


图1 氟唑菌酰胺的紫外吸收光谱图

2.2 流动相的确定

本研究选用快速分离反相C₁₈色谱柱作为分离柱, 甲醇和水作为流动相, 可实现氟唑菌酰胺和其他化合物的快速分离, 保留时间仅为1.91 min。对流动相的比例进行了优化, 结果表明当甲醇和水的比例为70:30时, 保留时间延长为2.58 min; 当比例为60:40时, 保留时间延长为

6.20 min; 但在这2个流动相比例下, 在保留时间处均有杂质峰干扰, 只有当甲醇和水的比例为75:25时, 恰好可以避开杂质峰干扰, 见图2~4。

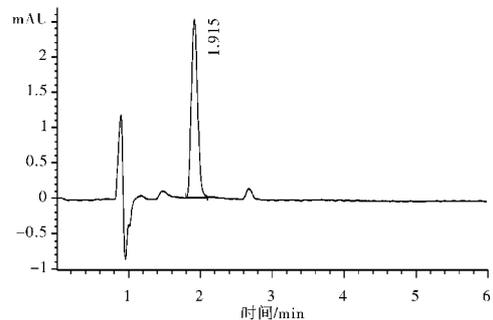


图2 氟唑菌酰胺标样 2.5 mg/L 谱图

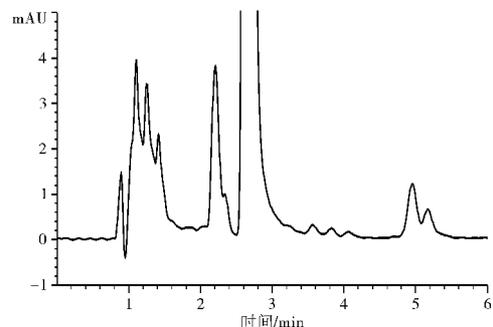


图3 草莓对照谱图

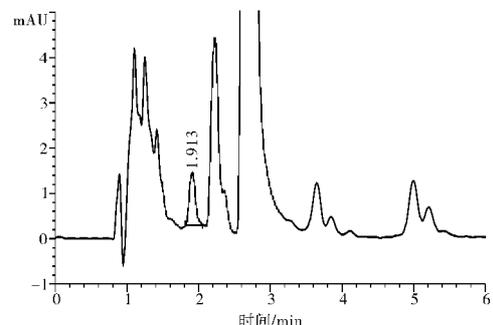


图4 草莓添加 0.5 mg/kg 谱图

2.3 洗脱液体积的确定

空白样品经提取离心后, 取上清液10 mL浓缩至干, 添加氟唑菌酰胺标准工作溶液, 过柱净化, 每次用2 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)洗脱液洗涤浓缩残留物并转移至柱中, 单独收集, 浓缩至干, 定容检测, 重复7次。检测结果表明, 随着洗脱液体积的增加, 氟唑菌酰胺被逐渐洗脱出来: 第1个2 mL洗脱回收率为15%; 第2个2 mL洗脱回收率为62%; 第3个2 mL洗脱回收率为13%; 第4个2 mL洗脱回收率为3%; 第5~7个2 mL均为未检出; 各馏分回收率见图5。因此, 确定洗脱液的总体积为8 mL, 具体洗脱方法为用2 mL乙腈-甲苯(体积比3:1)溶解浓缩残留物并转移至柱中, 收集洗脱液, 重复4次。

2.4 标准曲线线性关系分析

配制氟唑菌酰胺标准工作溶液系列质量浓度2.5、1.25、0.25、0.125、0.05 mg/L, 分别进样5 μ L, 以进样量为横坐标、峰面积为纵坐标做标准曲线, 得线性方程为 $y = 5.805 7x - 0.041$, $r = 0.999 7$, 可见在0.05 ~ 2.5 mg/L, 线性关系良好。

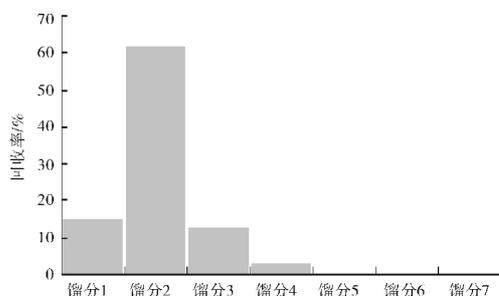


图5 各馏分回收率图

2.5 方法的准确度、精密度和灵敏度

添加氟唑菌酰胺水平为0.05、0.1、0.5 mg/kg, 平均回收率分别为83.5%、89.6%和90.4%, 相对标准偏差分别为7.1%、4.9%和2.0%, 见表1。平均回收率和相对标准偏差均满足农药残留分析对准确度和精密度的要求。本方法

氟唑菌酰胺检出限为0.05 mg/kg。

表1 方法的准确度和精密度测定结果

添加水平 / (mg·kg ⁻¹)	回收率 /%					平均值	相对标准 偏差 /%
	I	II	III	IV	V		
0.05	81.3	90.6	88.5	76.0	81.3	83.5	7.1
0.1	89.6	86.1	87.7	97.1	87.3	89.6	4.9
0.5	89.0	88.2	92.1	92.1	90.6	90.4	2.0

3 结论

建立了草莓中氟唑菌酰胺残留量的固相萃取-高效液相色谱测定方法。方法样品前处理操作简单, 定量准确, 重现性好, 在实际样品测定中准确高效, 可作为液相色谱-串联质谱法的重要补充。

参考文献:

- [1] 钱文娟. 巴斯夫的新杀菌剂fluxapyroxad及它的一些复配制剂在欧美获登记[J]. 农药市场信息, 2012(28): 37.
- [2] DONG Feng-shou, CHEN Xiu, LIU Xin-gang, *et al.* Simultaneous Determination of Five Pyrazole Fungicides in Cereals, Vegetables and Fruits Using Liquid Chromatography/tandem Mass Spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2012, 1262: 98-106.

责任编辑: 李新

(上接第 817 页)

- [8] 金丽华, 陈长军, 王建新, 等. 嘧菌酯及SHAM对4种植物病原真菌的活性和作用方式研究 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(10): 2206-2213.
- [9] SUDISHA J, AMRUTHESH K N, DEEPAK S A, *et al.* Comparative Efficacy of Strobilurin Fungicides against Downy Mildew Disease of Pearl Millet [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2005, 81(3): 188-197.
- [10] PEREZ L, HERNANDEZ A, HERNANDEZ L, *et al.* Effect of Trifloxystrobin and Azoxystrobin on the Control of Black Sigatoka (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) on Banana and Plantain[J]. Crop Protection, 2002, 21(1): 17-23.
- [11] 乔桂双, 王文桥, 韩秀英, 等. 6种候选杀菌剂对黄瓜霜霉病的防治效果[J]. 农药, 2009, 48(3): 167-168.
- [12] 王维国, 常华, 张程, 等. 气相色谱法测定霜脲氰原药含量[J]. 农药, 1997, 36(3): 19-20.
- [13] AGUILERA A, VALVERDE A, CAMACHO F, *et al.* Effect of Household Processing and Unit to Unit Variability of Azoxystrobin, Acrinathrin and Kresoxim Methyl Residues in Zucchini[J]. Food Control, 2012, 25(2): 594-600.
- [14] 韩波, 姚安庆, 吴慧明, 等. 嘧菌酯在柑橘和土壤中残留动态[J]. 农药, 2009, 48(12): 899-901.
- [15] 王悦, 林红梅, 侯志广, 等. 人参中11种农药残留振荡提取气相色谱法测定[J]. 农药, 2013, 52(7): 509-511.
- [16] 钱虹, 张翼翮. 50%嘧菌酯水分散粒剂高效液相色谱分析方法[J]. 农药, 2013, 52(6): 423-424.
- [17] 何丽丽, 徐应明, 孙有光, 等. 复配剂中霜脲氰在马铃薯和土壤中残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(1): 322-325.
- [18] 于康平, 李泽方, 徐韶康, 等. 嘧菌酯的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2008, 47(4): 275-276.
- [19] TELLIER F, FRITZ R, LEROUX P, *et al.* Metabolism of Cymoxanil and Analogs in Strains of the Fungus Botrytis Cinerea Using High-performance Liquid Chromatography and Ion-pair High-performance Thin-layer Chromatography [J]. Journal of Chromatography B, 2002, 769(1): 35-46.
- [20] 钱家亮, 孔菲. 气相色谱-负化学离子源质谱法分析大葱中28种农药残留[J]. 福建分析测试, 2011, 20(3): 44-48.
- [21] 薄海波. 固相萃取-气相色谱/质谱法分析水果和蔬菜中残留的嘧菌酯[J]. 色谱, 2007, 25(6): 898-901.
- [22] 苗水, 王柯, 季申, 等. 新型混合型固相萃取小柱气相色谱-质谱联用法测定蔬菜水果中92种农药残留 [J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(12): 3106-3114.
- [23] 黄志波, 吴春梅, 李敬钊, 等. 固相萃取-超高效液相色谱-质谱/质谱法同时测定蔬菜中7种杀菌剂的残留量 [J]. 广东农业科学, 2011(24): 80-83.
- [24] 张育乐, 黄超群, 朱晓雨, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定中药材中7种甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂的残留量 [J]. 色谱, 2013, 31(3): 246-249.

责任编辑: 李新