

王天玉, 林媚, 平新亮, 等. 果园土壤中乙基多杀菌素的高效液相色谱分析方法[J]. 农药, 2019, 58(3): 196–198.

果园土壤中乙基多杀菌素的高效液相色谱分析方法

王天玉 林媚 平新亮 姚周麟 陈方永

(浙江省柑桔研究所, 浙江 台州 318026)

摘要 [目的]建立了一种能够快速高效测定果园土壤中乙基多杀菌素的高效液相色谱分析方法。[方法]样品经乙腈和水提取, 吸附剂PSA净化, 以甲醇-乙酸铵作为流动相, 在波长245 nm下对待测组分进行检测, 外标法定量。[结果]乙基多杀菌素标准溶液在0.05~2.00 mg/L范围内, 峰面积与相应的质量浓度间呈现良好的线性关系, 相关系数(R^2)均大于0.9990, 在0.1~1.0 mg/kg的添加水平下, 乙基多杀菌素在土壤中的平均回收率为96.4%~102.1%, 相对标准偏差(RSD)为2.5%~6.3%。仪器的最小检出量LOD为(按 $S/N=3$ 计)为0.2 ng, 方法的最低检测浓度LOQ为0.1 mg/kg。[结论]该方法满足农药残留分析要求, 简单易行, 且净化效果好, 适用于土壤中乙基多杀菌素的农药残留分析。

关键词 高效液相色谱法; 乙基多杀菌素; 土壤; 农药残留

中图分类号: TQ450.2 文献标志码: A 文章编号: 1006-0413(2019)03-0196-03

Determination of Spinetoram Residues in Orchard Soil by HPLC

WANG Tian-yu, LIN Mei, PING Xin-liang, YAO Zhou-lin, CHEN Fang-yong

(Zhejiang Citrus Research Institute, Taizhou 318026, Zhejiang, China)

Abstract: [Aims] An analytical method was developed for determining spinetoram residue in orchard soil by high performance liquid chromatography (HPLC). [Methods] Sample was extracted with acetonitrile and water, cleaned up by PSA, HPLC conditions were as follows: methanol-ammonium acetate as mobile phase and the detection wave length at 245 nm. External standard method was used in quantitative analysis. [Results] The standard curve of spinetoram was linear in the range of 0.05-2.00 mg/L ($r > 0.9990$). At the fortified level of 0.1-1.0 mg/kg, the recoveries and relative standard deviation (RSD) were 96.4-102.1 and 2.5-6.3%. The limit of detection ($S/N=3$) was 0.2 ng, the minimum concentration of detection was 0.1 mg/kg. [Conclusions] This analytical method is easier, faster, satisfied with the analysis of spinetoram residues in soil and has better purification effect.

Key words: HPLC; spinetoram; soil; pesticide residue

DOI:10.16820/j.cnki.1006-0413.2019.03.010

乙基多杀菌素(spinetoram)作为新型的生物农药,是从放线菌刺糖多孢菌(*Saccharopolyspora spinosa*)发酵产生的,为多杀菌素(spinasad)的换代产品,在其结构中,由天然的甲基醚转变为乙基醚,就使其生物活性提高了10倍;其原药的有效成分是占主要的乙基多杀菌素-J(75.5%)和乙基多杀菌素-L(20.7%)的混合物(比值为3:1),其生物活性之间并无显著差异^[1-2]。目前在我国登记用于十字花科蔬菜、茄子、柑橘、棉花等作物上的鳞翅目幼虫、蓟马和潜叶蝇等,对小菜蛾、甜菜夜蛾、潜叶蝇、蓟马、斜纹夜蛾、豆荚螟也有好的防治效果^[3]。

该农药属于易降解农药,有报道称其在植物体中降解时间仅为7~10 d^[4-5],但因使用不合理,仍有农药残留超标风险。我国对食品中乙基多杀菌素的MRL为甘蓝0.5 mg/kg,茄子0.1 mg/kg,豇豆0.1 mg/kg,2011年6月,台湾

修订水果、蔬菜中农药最大残留限量标准其中规定苹果当中的MRL为0.2 mg/kg。国内外目前关于乙基多杀菌素类农药在水体、土壤、蔬菜、水果等基质中的残留分析方法已有不少报道,主要采用液相色谱法^[6-7]和液相色谱-质谱联用法测定^[8-11],如陈国等^[12]采用UPLC-MS/MS分析乙基多杀菌素在水稻及土壤中的乙基多杀菌素残留,PSA净化,乙腈和甲酸作为流动相检测,张晓燕等^[13]建立了用高效液相色谱法测定稻谷中乙基多杀菌素残留量的方法,经Pesticarb/ NH_2 固相萃取柱净化,高效液相色谱法测定,通过对土壤中提取剂、吸附剂、无机相和有机相的进一步探索和优化,发现其保留规律,具有简单快捷、节省溶剂、分析速度快等特点,为评价与监测土壤中乙基多杀菌素农药残留状况,合理而有效地使用此类农药提供参考。

收稿日期: 2018-09-21, 修返日期: 2018-11-01

基金项目: 台州市科学技术局资助项目(162ny12), 杨梅果实腐烂预防高效栽培技术推广(2017TS06号)

作者简介: 王天玉(1984—),男,湖北襄阳人,助理研究员,硕士,主要从事食品营养与农药环境毒理。E-mail: wangtianyu2011@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器设备

高效液相色谱仪1260(带VWD紫外检测器,美国Agilent公司);高速组织捣碎机DS-1(上海标本模型厂);漩涡机MS3(德国IKA公司);高速分散均质机FA25(上海弗鲁克公司);SK250KUDOS超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);AnkeTDL-40B离心机(上海安亭科学仪器厂);Milli-Q超纯水系统(德国Millipore公司)。

1.1.2 试剂与药剂

PSA、 MgSO_4 (美国Agilent公司);乙腈、甲醇(AR和HPLC)、氯化钠(AR)均购于国药集团化学试剂有限公司。

乙基多杀菌素(spinetoram)标准品(95.0%,德国Dr. Ehrenstorfer公司)。

1.1.3 样品

土壤样品来自浙江省柑桔研究所试验田0~15 cm耕作层,经检测不含有乙基多杀菌素,处理方法:新鲜土壤过1 mm孔径筛,最后取约250~500 g样品保存待测,测试同时测定水分含量,用于校正干土残留量;不能过筛的土壤样品去掉植物残枝和石砾后保存待测。

1.2 试验方法

1.2.1 样品的提取及净化

称取10 g预处理的土壤样品至100 mL离心管中,加入10 mL水和10 mL乙腈,涡旋1 min,超声20 min,加入5 g氯化钠,摇匀并离心10 min(4000 r/min),取上清液1 mL,加入吸附剂50 mg PSA,旋涡1 min后,静置沉淀,过0.22 μm 有机膜,待测进样。

1.2.2 检测条件

色谱柱:Waters XTERRA C_{18} 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相:A为甲醇,B为10 mmol/L乙酸铵,流动相比例A:B=90:10,流速:1 mL/min,进样量:20 μL ,柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;检测波长:245 nm,以保留时间定性,外标法峰面积定量。

1.2.3 标准溶液的配制和线性相关性

准确称取乙基多杀菌素标准品,用甲醇配制成质量浓度为500 mg/L的标准溶液,于3 $^{\circ}\text{C}$ 下储存,备用。

吸取适量的标准储备液,用甲醇逐步稀释成质量浓度为2、1、0.5、0.1、0.05 mg/L的一系列标准工作溶液,在1.2.2的条件下,分别进样,平行测定3次,以标准品质量浓度 $x(\text{mg/L})$ 为横坐标,峰面积 $y(\text{mAU})$ 为纵坐标作线性回归,绘制标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂的选取

乙基多杀菌素易溶于大多数有机溶剂,微溶于水,

土壤样品在有机溶剂中不易分散,影响回收率,提取过程中在土壤样品中加入适量的水,以增加有机溶剂与土壤的接触表面积;同时选择乙腈和丙酮作为提取溶剂,这2种溶剂都能在盐的作用下分层,便于净化,2者的提取效率都在90%以上,但是丙酮的提取杂质太多,故选取乙腈作为最终提取溶剂。

2.2 吸附剂的选择

利用QuEChERS方法对土壤样品进行净化,其提取液中含有有机酸、脂肪酸和一些极性色素等杂质,参考文献[14],PSA能够取得较好的净化效果,最终选取其作为吸附剂。

2.3 色谱柱和流动相的选择

试验选择乙腈和甲醇作为有机相,研究表明,选取甲醇-乙腈-乙酸铵作为流动相体系时,固定一定比例的无机相,随着乙腈比例的增加,乙基多杀菌素的出峰时间越晚,可以为测定不同基质提取液时色谱条件优化提供参考,见图1~2,土壤最终选取甲醇和乙酸铵能够取得较好的分离效果。

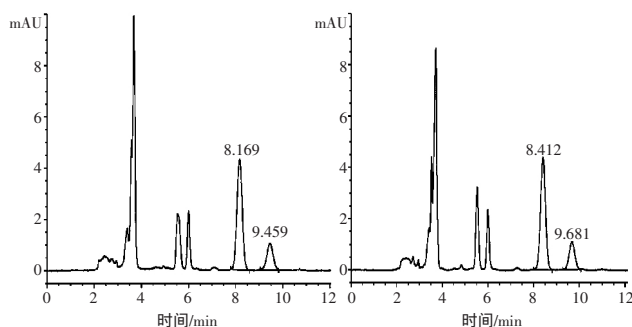


图1 乙基多杀菌素标准品色谱图

图2 甲醇-乙腈-乙酸铵(体积比80:10:10)流动体系色谱图

乙基多杀菌素作为弱极性的农药,能够在 C_{18} 柱上面有较好的保留,其理化性质在1%水溶液中,23 $^{\circ}\text{C}$ 下pH值约为6.46,本研究选择水和乙酸铵(10 mmol/L)缓冲盐作为无机相;通过对比发现缓冲盐溶液能够改善峰形,见图3~4(甲醇-无机相体积比为85:15)。

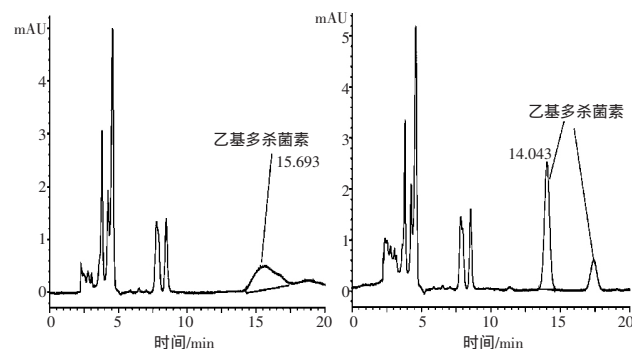


图3 甲醇-水流动体系色谱图

图4 甲醇-乙酸铵流动体系色谱图

原因在于乙酸铵缓冲液属于中性溶液,能够稳定溶液的pH值,增加体系离子强度,抑制化合物解离,使化合物处于分子状态,提高保留,获得优异的峰形。

2.4 标准曲线

经回归分析,乙基多杀菌素标准溶液在0.05~2.00 mg/L质量浓度范围内峰面积(y)与进样浓度(x)呈线性相关,方程为 $y=13.795x-0.075$ $R=0.9998$ 。

2.5 方法的准确度和精密度

称取10.0 g的土壤样品,添加一定的质量浓度的标样,按照1.2的样品前处理、色谱检测条件和标样的制备方法,结果(见表1)表明:乙基多杀菌素在土壤中的添加回收率为96.4%~102.1% 相对标准偏差(RSD)为2.5%~6.3%,符合农药残留分析的要求;仪器的最小检出量LOD均为(按 $S/N=3$ 计)为0.2 ng,方法的最低检测浓度LOQ为0.1 mg/kg,相应的色谱图见图5~6。

表1 乙基多杀菌素在果园土壤中的添加回收率 ($n=3$)

添加质量分数/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	回收率				RSD/%
	1	2	3	平均值	
0.1	93.6	92.3	103.4	96.4	6.3
0.5	101.2	99.8	104.7	101.9	2.5
1	106.1	97.8	102.4	102.1	4.1

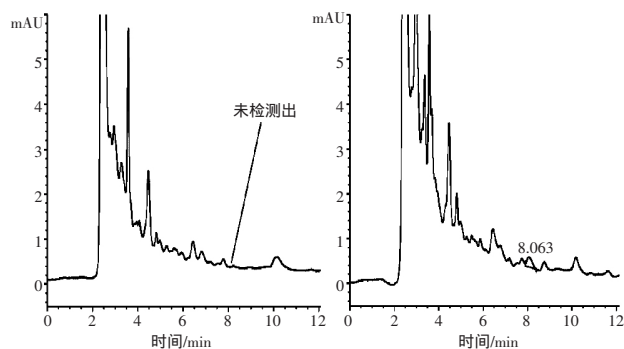


图5 土壤空白样品色谱图

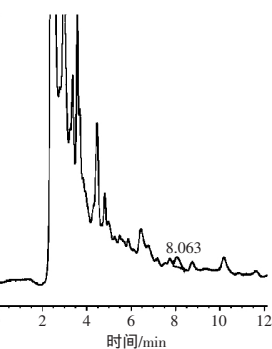


图6 添加0.1 mg/kg 农药的土壤样品色谱图

3 结论

利用HPLC法对乙基多杀菌素在果园土中的残留分析方法进行了探索和优化,样品提取中加入适量的水增加有机溶剂对农药的提取效率,选取PSA作为杂质的净化剂,简单快速;在液相色谱条件中,研究出乙酸铵、甲醇、乙腈与农药乙基多杀菌素在 C_{18} 柱上的相应关系,乙

酸铵能够加强体系离子强度,增加色谱柱的保留,改善峰形,甲醇和乙腈能够影响农药在色谱柱上的保留时间,为乙基多杀菌素在其他基质中的残留分析提供很好的理论依据。乙基多杀菌素的添加回收率均在96.4%~102.1%范围内,相对标准偏差均小于10%,该方法准确度高、精密性好、重现性良好,符合农药残留检测的要求,同时对乙基多杀菌素的安全评价具有一定的意义。

参考文献:

- [1] 华乃震. 绿色环保生物杀虫剂多杀霉素和乙基多杀菌素的述评[J]. 农药, 2015, 54(1): 1-5, 13.
- [2] 朱明军, 郑秋梅, 胡飞, 等. 多杀霉素发酵工艺的优化及其毒性初步研究[J]. 农药, 2009, 48(10): 728-731.
- [3] 邱永林, 陆致平. 乙基多杀菌素防治夜蛾类害虫效果好[J]. 农药快讯, 2012, 545(16): 37.
- [4] 邵佳佳, 章伟杰, 吴丽莹, 等. 乙基多杀菌素防治杨梅果蝇的效果试验[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(1): 112-113.
- [5] 李学斌, 王林云. 艾绿士等对杨梅采前病虫的防治试验[J]. 浙江柑橘, 2014, 31(2): 36-38.
- [6] MALHAT F M. Simultaneous Determination of Spinetoram Residues in Tomato by High Performance Liquid Chromatography Combined with QuEChERS Method[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2013, 90: 222-226.
- [7] 赵瑶瑶, 秦旭, 秦冬梅, 等. XDE-175及其代谢物在甘蓝和土壤中的残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(5): 1032-1036.
- [8] LIU Xue, ABD EL-ATY A M, PARK J Y, et al. Determination of Spinetoram in Leafy Vegetable Crops Using Liquid Chromatography and Confirmation via Tandem Mass Spectrometry[J]. Biomed Chromatogr, 2011, 25(10): 1099-1106.
- [9] PARK K H, CHOI J H, EL-ATY A M A, et al. Determination of Spinetoram and Its Metabolites in Amaranth and Parsley Using QuEChERS-based Extraction and Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry[J]. Food Chem, 2012, 134(4): 2552-2559.
- [10] 张缙, 杨黎忠, 林立毅, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食品中多杀菌素A和D的残留量[J]. 色谱, 2011, 29(7): 637-642.
- [11] 孙敏, 曹赵云, 刘慧, 等. PSA分散固相萃取和高效液相色谱-质谱法测定蔬菜中多杀菌素的残留量[J]. 分析试验室, 2010, 29(8): 70-74.
- [12] 陈国, 朱勇, 赵健, 等. 乙基多杀菌素在稻田水、土壤和水稻植株中的残留及消解动态. 农药学报, 2014, 16(2): 153-158.
- [13] 张晓燕, 邓树华, 黄卫, 等. 乙基多杀菌素的高效液相色谱测定[J]. 粮食科技与经济, 2013, 38(1): 37-39.
- [14] 王天玉, 姚周麟, 平新亮, 等. QuEChERS-高效液相色谱法测定杨梅果实中苯醚甲环唑和乙基多杀菌素的农药多残留[J]. 浙江农业科学, 2017, 58(4): 583-586, 589.

责任编辑 李新