

固相萃取 - 高效液相色谱法测定茶叶和土壤中吡虫啉的残留量

楼正云 汤富彬 陈宗懋 罗逢健 刘光明

(中国农业科学院茶叶研究所 杭州 310008)

E-mail: louzy@zj.com

摘要 建立了固相萃取-高效液相色谱法测定茶叶和土壤中吡虫啉农药残留量的方法。样品用乙腈提取,过 C_{18} 固相小柱净化,用乙腈洗脱,DAD二级管阵列检测器检测,外标法定量。对茶叶和土壤的添加浓度在0.01~2.0 mg/kg时,平均添加回收率为:88.3~96.2%,变异系数<4.02%,吡虫啉的最小检出量为 2.5×10^{-10} g,茶叶中的最低检出浓度为0.01 mg/kg。该方法的灵敏度、准确度和精密度均符合农药残留测定的技术要求。

关键词 吡虫啉;高效液相色谱;残留;固相萃取

中图分类号 O657.7+2

Determination of Imidacloprid Residue in Tea and Soil by Solid - phase Extraction—High Performance Liquid Chromatography

Lou Zhengyun, Tang Fubin, Chen Zongmao, Luo Fengjian, Liu Guangming

(Tea Research Institute China Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310008, China)

Abstract A method for the determination of imidacloprid residue in tea and soil by solid - phase extraction—high performance liquid chromatography with DAD detector was established. The sample is extracted by acetonitrile, cleaned up by C_{18} solid - phase extraction(SPE), eluted by acetonitrile. The average recovery of method varies from 88.3 to 96.2% and the relative standard deviation is less than 4.02%. When the sample was spiked at 0.01~2.0 mg/kg, the lowest detection limit for imidacloprid was 2.5×10^{-10} g, and detectable concentration was 0.01 mg/kg in tea. The proposed method is characterized by simplicity, higher sensitivity and accuracy.

Key words imidacloprid; HPLC; residue; SPE

1 引言

吡虫啉(Imidacloprid)是一种吡啶类杀虫剂,具有广谱杀虫活性,能有效防治茶树小绿叶蝉、飞虱、蓟马、黑刺粉虱等,这两年来在我国出口到欧盟茶叶中经常被检出。而目前此药在欧盟未制定标准,并且对未制定标准的农药以仪器的最低检出限的标准执行,故吡虫啉在茶叶上的使用将受到很大的限制^[1]。吡虫啉农药在苹果、稻谷、烟草和土壤、蔬菜、茶叶、金银花、苹果、萝卜、大蒜和小麦^[2-12]中的检测方法已有报道,本文采用固相萃取-高效液相色谱法测定吡虫啉在茶叶和土壤中的残留量,该方法操作简单,灵敏度、精密度和回收率较好,可满足实际检测工作的需要。

2 实验部分

2.1 试剂与材料

试剂均为分析纯,乙腈、石油醚(分析纯)、0.2%

磷酸水溶液、Supelco C_{18} 固相小柱(500mg,6mL)。

标准储备溶液:准确称取吡虫啉(纯度 $\geq 99\%$)标准品10.0mg,用乙腈溶解定容至100mL,得吡虫啉100mg/L的标准储备液,保存在冰箱中。

标准使用溶液:将标准储备溶液用乙腈稀释成0.05、0.1、0.5、1.0、2.0mg/L的标准液,制作标准曲线。

2.2 仪器设备

HP1100 高效液相色谱仪,配DAD二级管阵列检测器、柱温箱和KQ-250DB型数控超声波。

2.3 茶叶样品前处理

准确称取10.0g磨碎混匀的茶叶样品置于100mL三角烧瓶中,加入50mL乙腈,混摇,超声波提取0.5h。抽滤,用30mL乙腈分3次清洗残渣,合并滤液。于35℃水浴中旋转蒸发浓缩至近干,用 N_2 吹干,待净化。

2.4 土壤样品前处理

准确称取10.0g碾碎风干,过40目筛。均匀土样置于100mL三角烧瓶中,加入乙腈50mL,混摇,超声

收稿日期:2008-01-04

作者简介:楼正云(1974-),男,助研,从事农药残留分析。

波提取 0.5h。抽滤,用 30mL 乙腈分 3 次清洗残渣,合并滤液。于 35℃ 水浴中旋转蒸发浓缩至近干,用 N₂ 吹干,待净化。

2.5 样品净化

将 Supelco C18 固相小柱用 5mL 丙酮和 5mL 石油醚预淋洗,提取液先用 15mL 石油醚分三次淋洗圆底烧瓶后上柱,用真空泵调节样液使过柱流速不超过 1mL/min,弃去;然后用 5mL 石油醚/丙酮(V/V = 8:2)直接淋洗小柱,弃去;最后用 10mL 乙腈分两次淋洗圆底烧瓶后上柱,收集全部洗脱液,于 35℃ 水浴中旋转蒸发浓缩至近干,并用 N₂ 吹扫至干,用 2mL 乙腈定容,过 0.45μm 微孔滤膜后,上 HPLC 测定。

2.6 液谱条件

HP1100 高效液相色谱仪, DAD 二极管阵列检测器、柱温箱和色谱工作站。

色谱柱: Agilent TC - C₁₈ 柱(4.6mm i. d. × 250mm, 5μm);

检测波长: 270nm;

流动相: 乙腈 - 0.2% 磷酸水溶液(体积比 30:70);

流速 0.6mL/min; 柱温: 25℃; 进样量 5μL;

在上述条件下测得吡虫啉的保留时间为: 13.0 min。

3 结果和讨论

3.1 方法线性关系与检测限

吡虫啉的液相色谱最小检出量为: 2.5×10^{-10} g; 茶叶的最低检出浓度为 0.01mg/kg, 土壤的最低检出浓度为 0.01mg/kg。

标准曲线的绘制: 将标准储备溶液用乙腈稀释成 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.0mg/L 的标准液, 每个浓度进样 5μL, 以峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标绘制标准曲线。从吡虫啉的标准曲线可以看出, 在试验浓度范围内, 液相色谱的响应值(峰面积)与进样量呈正相关性, 其线性方程为 $Y = 2953.4x - 112.4$, 相关系数 $r = 0.999$ 。

3.2 液谱条件的优化

通过二极管阵列检测器的波长扫描, 该吡虫啉在 270nm 处有最大吸收, 因此选择 270nm 作为检测

波长。

在乙腈 + 0.2% 磷酸水溶液(30 + 70)的条件下, 比较了吡虫啉在 1.0mL/min, 0.8mL/min, 0.6mL/min, 0.4mL/min 不同流速下保留时间与峰面积的关系, 结果表明, 随流速的减小, 吡虫啉的保留时间延长, 峰面积增加。考虑到吡虫啉样品峰与杂质峰的分离以及缩短检测时间, 最终选用 0.6mL/min 的流速为最佳的液谱条件。

研究了乙腈 + 0.2% 磷酸水溶液 = 80 + 20, 60 + 40, 50 + 50, 30 + 70, 10 + 90 (V/V) 的比例与吡虫啉保留时间的关系。结果表明, 随着流动相中水的比例的提高, 吡虫啉峰和杂质峰位都后移, 保留时间延长, 利用二者后移速率的差异而达到完全分离, 同时在水中加 0.2% 磷酸能改善峰型, 减少峰的拖尾。实验表明, 乙腈与 0.2% 磷酸水溶液的体积比为 30:70 (V/V) 时对样品检测的最佳条件, 既排除了杂质峰的影响, 又满足了分析灵敏度的要求。

3.3 茶叶样品的净化方法选择

样品提取溶剂的选择: 吡虫啉属于极性物质, 易溶于甲醇、乙腈、丙酮等极性溶剂, 难溶于石油醚等非极性溶剂。本试验分别以乙腈、二氯甲烷、乙酸乙酯、丙酮作为提取溶剂进行了条件优化。试验结果表明, 用乙腈、乙酸乙酯、丙酮提取样品, 吡虫啉的回收率大于 75%, 没有显著差异。但由于茶叶样品含有大量色素和脂溶性物质, 试验表明乙腈的共提物最少, 所以确定乙腈为提取剂。

该农药难溶于非极性溶剂石油醚, 故先用 15mL 石油醚分三次洗脱圆底烧瓶后上 C₁₈ 柱, 然后用 5mL 石油醚/丙酮(V/V = 8:2)洗脱 C₁₈ 柱, 弃去洗脱液, 这样可以使样品中的大部分色素和脂溶性物质被洗脱, 最后用 10mL 乙腈分二次洗脱圆底烧瓶后上 C₁₈ 柱, 收集洗脱液, 取得良好的净化作用。

3.4 方法回收率试验

在茶叶、土壤样品中添加已知不等量的吡虫啉标准溶液按上述提取、净化、测定吡虫啉的回收率和标准偏差。在 0.01 ~ 2.0mg/kg 范围内, 吡虫啉在茶叶中的平均添加回收率为 90.5 ~ 95.9%, 标准偏差为 2.96 ~ 4.02。吡虫啉在土壤中的平均添加回收率为 88.3 ~ 96.2%, 标准偏差为 2.14 ~ 3.67。

表 1 吡虫啉在茶叶、土壤中的添加回收率

样品	添加浓度 mg/kg	回收率					平均	标准偏差	变异系数(%)
		1	2	3	4	5			
茶叶	0.01	94.1	92.4	91.0	96.9	99.8	95.9	4.02	4.19
	0.1	91.9	88.2	93.3	92.5	86.5	90.5	2.96	3.27
	2.0	91.3	84.7	95.9	92.0	97.1	92.2	3.44	3.54

	0.01	92.0	87.0	92.2	85.0	85.2	88.3	3.57	4.04
土壤	0.1	89.5	91.6	95.8	85.8	92.0	90.9	3.67	4.04
	2.0	97.1	97.0	98.8	94.5	93.5	96.2	2.14	2.32

4 实际样品分析

样品,其中 16 份中测出吡虫啉农药残留量,其浓度为 0.015~0.183mg/kg(其液相色谱图见图 A~E)。

采用上述方法测定 50 份田间试验的茶叶和土壤

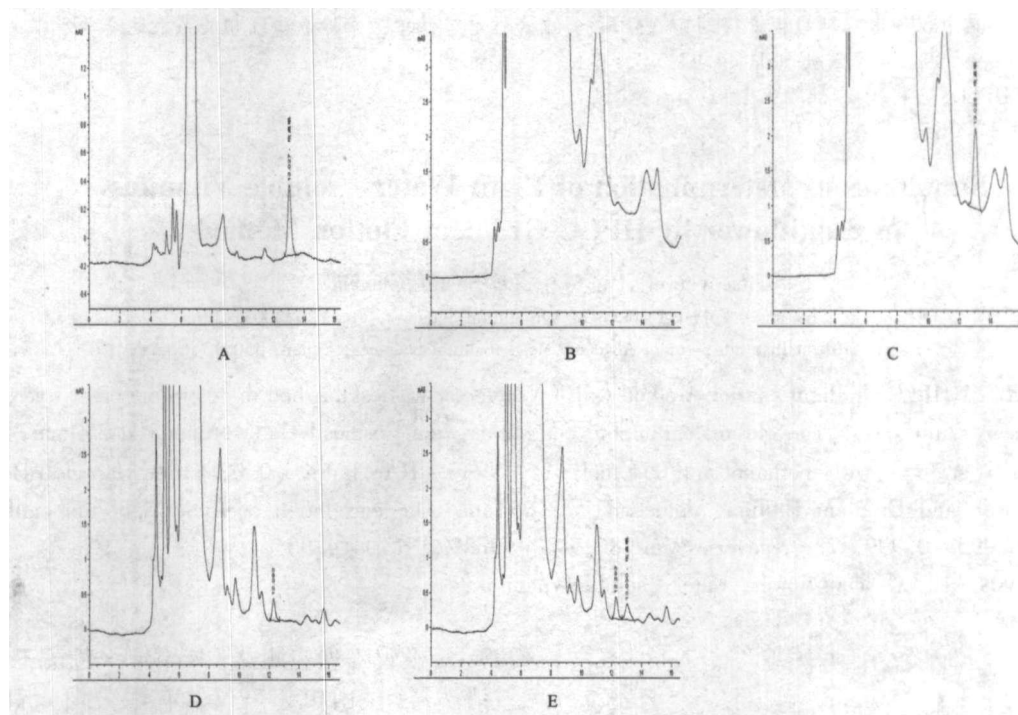


图 1 标样、空白样品和实际样品液谱图(A 吡虫啉标样;B 茶叶对照; C 茶叶样品;D 土壤对照;E 土壤样品)

5 结论

研究并建立了一种固相萃取-高效液相色谱分析方法,用于测定茶叶和土壤中吡虫啉农药的残留量,该方法具有操作简单、分离效果好、准确度和灵敏度高的特点。在茶叶、土壤中的添加浓度分别为 0.01~2.0mg/kg,平均回收率为 88.3~96.2%,变异系数小于 4.02%,茶叶和土壤中的最低检出浓度为 0.01mg/kg,可满足农残测定的要求。

参考文献

[1] 陈宗懋. 今年国外茶叶农残标准新动向[J], 中国茶叶 2003, (2):4~6
 [2] 张金林, 石健. 吡虫啉在苹果上残留动态研究[J], 农业环境保护 1997, 16(6):247~251
 [3] 戴华, 李拥军, 张莹. 稻谷中吡虫啉农药残留量的固相萃取高效液相色谱测定[J], 分析测试学报, 2002, 21(1):70~72

[4] 杨红, 章维华, 黄丽琴等. 吡虫啉在烟草中残留动态研究[J], 南京农业大学学报 1999 22(3):80~82
 [5] 陈道文, 杨春龙, 黄丽琴等. 吡虫啉在蔬菜上的残留及动态研究[J], 农药, 1998, 37(4):21~22
 [6] 曹爱华, 徐光军, 朱先志等. 烟草及土壤中吡虫啉的残留分析研究[J], 中国烟草科学, 2001, (4):45~48
 [7] 汤富彬, 刘光明, 罗逢健等. 茶叶中吡虫啉残留量的 HPLC 测定方法[J]. 农药, 2004, 43(12):561~562
 [8] 吴刚, 吴云华, 鲍晓霞等. 高效液相色谱法分析茶叶中吡虫啉残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2005, 41(10):768~769
 [9] 谢文, 丁慧瑛, 蒋晓英等. 液相色谱-串联质谱检测蔬菜和茶叶中吡虫啉的残留量[J]. 色谱, 2006, 24(6):633~635
 [10] 赵莉, 姜忠涛. 吡虫啉在土壤萝卜中的残留分析方法, 农药科学与管理, 2003, 24(8):15~16
 [11] 王勇, 周宏琛, 闫秋成等. 高效液相色谱法测定大蒜中吡虫啉残留[J]. 济宁师范专科学校学报, 2006, 27(3):16~17
 [12] 张莉, 王静. 高效液相色谱法测定小麦粉中吡虫啉的残留量[J]. 石河子大学学报-自然科学版, 2003, 7(3):209~210