

文章编号:1000-5471(2012)03-0091-05

高效液相色谱同时测定果园土壤中的 乐果、甲基托布津和联苯菊酯残留^①

张 丹¹, 张进忠^{1,2}, 骆云中¹, 王国民³, 唐柏彬³

1. 西南大学 资源环境学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400716;

2. 重庆市农业资源与环境重点实验室, 重庆 400716;

3. 重庆出入境检验检疫局, 重庆市进出口食品安全工程技术研究中心, 重庆 400020

摘要: 采用高效液相色谱法(HPLC), 建立了果园土壤中乐果、甲基托布津和联苯菊酯残留的同时测定方法. 用甲醇提取果园土壤中的农药残留, C₁₈液相色谱柱分离, 紫外检测器检测, 在 12 min 内实现了 3 种农药的分离和测定. 乐果、甲基托布津和联苯菊酯的加标回收率为 75.82%~97.49%, 相对标准偏差(RSD, $n=8$)为 1.49%~4.92%, 检测限分别为 0.080, 0.038 和 0.032 mg/kg. 本方法快速、灵敏、可靠, 能够用于果园土壤中 3 种农药残留的同时检测.

关键词: 高效液相色谱; 果园土壤; 乐果; 甲基托布津; 联苯菊酯; 残留检测

中图分类号: X132

文献标志码: A

中国是世界第一水果生产大国, 苹果、柑橘、梨、桃、柿子和核桃等果树的种植面积都占世界第一位^[1]. 乐果和联苯菊酯是果园常用的杀虫剂, 甲基托布津是常用的抗菌剂. 这些农药的使用增加了水果产量, 但其在土壤中长期残留也会对果品质量、生态环境和人体健康造成影响^[2-3]. 因此, 加强果园土壤中的农药残留监控是非常必要和重要的.

文献调研^[4-12]发现, 目前未见有同时测定果园土壤中乐果、甲基托布津和联苯菊酯这 3 种农药残留的研究报道. 为此, 本研究采用甲醇提取果园土壤中的 3 种农药, 高效液相色谱分离和紫外检测, 建立同时测定果园土壤中这 3 种农药的方法, 为评价果园土壤的安全性和促进无公害果品的生产提供科学依据.

1 材料与方 法

1.1 主要仪器和试剂

高效液相色谱仪(配双波长紫外-可见分光光度检测器): Agilent 1200 型, 美国;

氮吹仪: DC12 型, 上海安谱科学仪器有限公司;

漩涡混合器: XH-B 型号, 江苏康健医疗用品有限公司;

超声波清洗器: AS10200B 型, 天津奥特赛恩斯仪器有限公司;

台式高速冷冻离心机: Hermle Z323K 型, 德国.

乐果、甲基托布津和联苯菊酯标准储备溶液: 分别准确称取 25 mg 的乐果、甲基托布津和联苯菊酯标

① 收稿日期: 2010-05-08

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项经费项目资助(200903056).

作者简介: 张 丹(1985-), 女, 河南许昌人, 硕士研究生, 主要从事环境污染化学方面的研究.

通信作者: 张进忠, 教授.

准品(纯度均高于 98%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司), 用甲醇溶解并定容至 50 mL, 配制成浓度为 500 mg/L 的 3 种农药单一标准贮备溶液, 并于 4 °C 冰箱中保存;

3 种农药的混合标准中间溶液: 分别移取一定体积的单一标准贮备液, 用甲醇稀释, 使每种农药的浓度均为 100 mg/L, 于 4 °C 冰箱中保存;

3 种农药的混合标准工作溶液: 根据需要临用前移取一定量的混合标准中间溶液, 用流动相(55%乙腈-45%水)稀释, 配制成适当浓度的混合标准工作溶液;

乙腈和甲醇均为色谱纯(美国); 超纯水(18.2 M Ω ·cm, Millipore 超纯水仪制备, 美国).

1.2 液相色谱条件

C₁₈ 色谱柱: 4.6 mm \times 250 mm, 5 μ m, Pickering Laboratories, 美国;

流动相为乙腈(A)和纯水(B), 纯水在使用前用超声脱气, 载液流速为 1 mL/min;

色谱分离采用梯度洗脱程序应当为: 0 \rightarrow 3 min, 55%A; 3 \rightarrow 4 min, 55%A \rightarrow 95%A; 4 \rightarrow 12 min, 95%A; 12 min 后, 55%A;

柱温为 30 °C; 进样量为 10 μ L.

1.3 实验方法

采用多点混合采样法, 采集重庆市金果园内梨园、枣园、桃园、柑橘园、枇杷园、樱桃园、葡萄园、血橙园和脐橙园等 9 个园区的表土样品(0~20 cm)各 500 g. 土样取回后在塑料布上均匀摊开, 去除砾石、植物残体和其它杂物, 自然风干 1 周, 压磨、过 2 mm 的尼龙筛、混匀, 用玛瑙乳钵研磨、过 40 目尼龙筛、再混匀, 装塑料袋备用.

称取 5 g(精确至 0.01 g)处理后的土样于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 甲醇, 2 600 r/min 旋涡混匀 1 min, 超声提取 30 min 后, 6 000 r/min 离心分离 5 min, 准确移取上清液 10 mL, 在氮吹仪上 40 °C 吹干溶剂, 用 1 mL 的流动相(55%乙腈-45%水)溶解, 0.45 μ m 滤膜过滤后供 HPLC 分析.

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

2.1.1 检测波长的选择

在 190~300 nm 波长范围内, 用二极管阵列检测器分别对浓度均为 10 mg/L 的乐果、甲基托布津和联苯菊酯标准溶液进行波长扫描, 获得如图 1 所示的吸收光谱曲线. 从图 1 可以看出, 乐果的最大吸收波长在 205 nm 附近; 甲基托布津和联苯菊酯在 210 nm 处有最大吸收. 为保证测定 3 种物质时都能获得较高的灵敏度, 确定 HPLC 分析的检测波长为 210 nm.

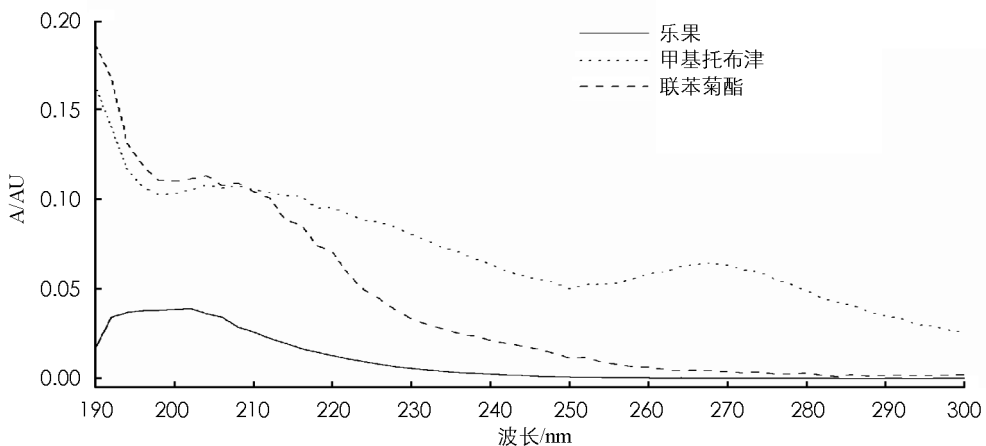


图 1 3 种农药标准溶液的吸收光谱图

2.1.2 流动相的选择

比较了甲醇-水和乙腈-水体系对 3 种农药的分离效果, 发现用乙腈-水体系做流动相时, 3 种农药

都能得到很好的分离. 为了使极性差异较大的3种农药能够在较短的时间内全部出峰, 研究中采用流动相梯度洗脱程序. 结果表明流动相中乙腈的比例较低时, 分析时间较长, 基线漂移严重, 色谱峰形较宽; 随着流动相中乙腈比例的增加, 分析速度明显加快, 基线漂移程度下降, 峰形变窄且对称性良好. 因此, 选择乙腈-水体系(55:45, v/v)做流动相, 并采用1.2所述的梯度洗脱程序.

2.2 提取剂的选择

在空白土壤样品中, 加入3种农药的混合标准工作溶液, 使乐果、甲基托布津和联苯菊酯的添加量分别达到0.1, 0.5和1.0 mg/kg, 用乙腈、甲醇、乙腈-甲醇(50:50, v/v)、甲醇-水(80:20, v/v)4种提取剂分别提取, 每个处理重复测定3次, 获得如表1所示的加标回收率. 从表1可以看出, 4种提取剂对乐果和联苯菊酯的回收率均在88%以上; 乙腈对甲基托布津的提取效率最低, 仅为57.0%; 甲醇、甲醇-水提取时, 甲基托布津的回收率都在85%以上, 回收效果较好. 考虑到在净化阶段难以去除提取剂中的水, 本研究选定甲醇为提取剂. 采用甲醇提取时, 乐果和联苯菊酯都能获得较高的回收率.

表1 采用不同提取剂时的平均回收率 (% , n=3)

提取剂	乐果	甲基托布津	联苯菊酯
乙腈	91.6	57.0	93.8
甲醇	93.5	85.1	91.9
乙腈-甲醇(50:50, v/v)	93.4	65.5	93.5
甲醇-水(80:20, v/v)	88.1	87.3	90.1

2.3 典型的农药混合标准色谱图

图2为典型的农药混合标准色谱图. 从图2可以看出, 在12 min内3种农药都能得到很好的分离, 3个峰之间的分离度均大于1.5, 且峰形尖锐、对称性良好. 乐果、甲基托布津和联苯菊酯的保留时间分别为3.23, 4.23和11.93 min.

2.4 线性范围与检出限和精密度

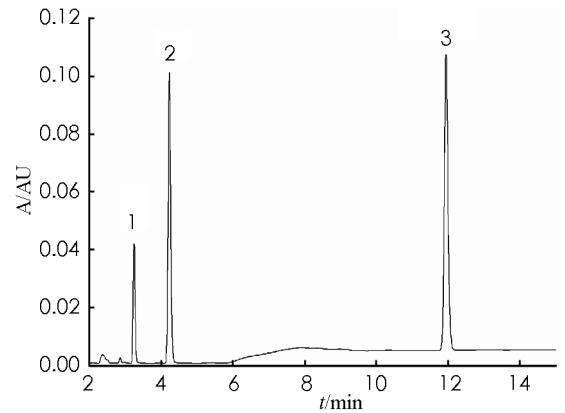
在选定的实验条件下, 分别测定不同浓度的混合标准溶液的色谱峰面积, 获得如图3所示的工作曲线. 从图3可以看出, 在0.010~25 mg/L范围内, 3种农药的色谱峰面积(A)与其质量浓度(C)均呈良好的线性关系, 乐果、甲基托布津和联苯菊酯的线性回归方程分别为 $A=15.63C+0.62$, $A=49.46C-0.34$ 和 $A=71.58C+1.06$, 决定系数(R^2)均为0.9999($n=11$). 以信噪比(S/N)为3确定检测限, 获得乐果、甲基托布津和联苯菊酯的检测下限分别为0.080, 0.038和0.032 mg/kg, 低于国际通行的最高限量或推荐最高限量(0.5~1.0 mg/kg), 能够满足实际样品检测的需要. 与相关文献^[13-15]比较, 本方法测定3种农药的线性范围更宽, 检出限更低.

在空白土样中添加3种农药的混合标准工作溶液(加标水平为0.1, 0.5和1.0 mg/kg), 分别平行测定8次, 获得如表2所示的结果. 结果表明3种农药的平均回收率为75.82%~97.49%, 相对标准偏差(RSD)为1.49%~4.92%, 均符合对回收率和精密度的要求, 且优于文献^[14,16]的回收率和精密度, 说明本方法更加准确可靠. 空白土壤及其加标样品(添加水平为1.0 mg/kg)的色谱图见图4.

表2 3种农药在空白土样中的添加回收率和精密度

n=8

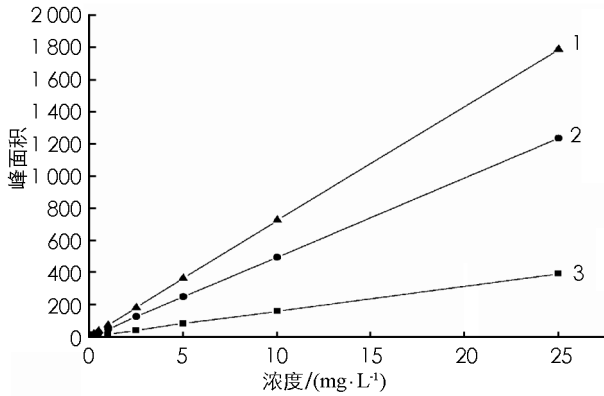
农药种类	添加量	回收率	RSD	添加量	回收率	RSD	添加量	回收率	RSD
	/(mg·kg ⁻¹)	/%	/%	/(mg·kg ⁻¹)	/%	/%	/(mg·kg ⁻¹)	/%	/%
乐果	0.1	88.35	2.41	0.5	97.49	2.10	1.0	90.03	1.89
甲基托布津	0.1	81.14	4.92	0.5	75.82	4.30	1.0	86.21	3.84
联苯菊酯	0.1	86.85	1.78	0.5	91.17	1.69	1.0	94.60	1.49



1. 乐果; 2. 甲基托布津; 3. 联苯菊酯.

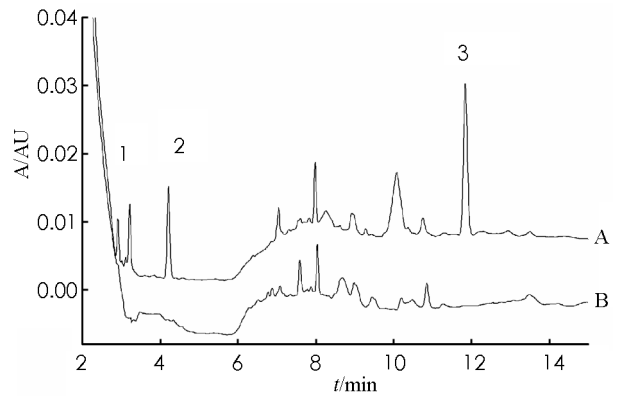
混合标准溶液中, 3种农药的浓度均为10 mg/L.

图2 典型的农药混合标准色谱图



1. 联苯菊酯; 2. 甲基托布津; 3. 乐果

图 3 测定 3 种农药的工作曲线



1. 乐果; 2. 甲基托布津; 3. 联苯菊酯

图 4 加标土壤(A)和空白土壤(B)样品的色谱图

2.5 实际样品分析

测定采集的 9 个园区土壤样品, 仅在葡萄园和梨园土壤中检测到联苯菊酯, 含量分别为 0.060 和 0.049 mg/kg, 其余园区均未检测到这 3 种农药。

3 结 论

采用高效液相色谱法, 建立了果园土壤中乐果、甲基托布津和联苯菊酯等 3 种农药残留的同时测定方法, 3 种农药在果园土壤中的添加回收率为 75.82%~97.49%, 相对标准偏差为 1.49%~4.92%, 检出限分别为 0.080, 0.038 和 0.032 mg/kg。该法具有操作简单、分离效果好和灵敏度高的特点, 可满足果园土壤中农药残留检测的实际需要。

参考文献:

- [1] 史光瑚, 王国平. 我国果树生产现状与发展建议 [J]. 中国果树, 1997(4): 3-5.
- [2] 刘君璞, 章力建, 曹尚银, 等. 我国果树生产中的立体污染及其防治 [J]. 果树学报, 2006, 23(1): 85-90.
- [3] 张 芹, 李 航. 农药与土壤腐殖酸相互作用的紫外光谱分析 [J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2008, 33(2): 87-92.
- [4] SILVA M G D, AQUINO A, DOREA H S, et al. Simultaneous Determination of Eight Pesticide Residues in Coconut Using MSPD and GC/MS [J]. Talanta, 2008, 76(3): 680-684.
- [5] 张 丽, 杨迎春, 吉爱军, 等. 鲁米诺-过氧化氢体系流动注射化学发光法测定乐果 [J]. 四川师范大学学报: 自然科学版, 2008, 31(2): 250-253.
- [6] 夏晶辉, 吴中军, 胡 华. 蔬菜有机磷农药残留检测分析 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2008, 30(6): 126-129.
- [7] 林江丽, 张丽静, 张旭龙, 等. 高效液相色谱法同时测定甲基托布津和扑海因 [J]. 分析化学, 2001, 29(8): 933-935.
- [8] SINGH S B, FOSTER G D, KHAN S U. Determination of Thiophanate Methyl and Carbendazim Residues in Vegetable Samples Using Microwave-assisted Extraction [J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1148(2): 152-157.
- [9] SANDAHL M, MATHIASSEN L, JOENSSON J A. Determination of Thiophanate-methyl and Its Metabolites at Trace Level in Spiked Natural Water Using the Supported Liquid Membrane Extraction and the Microporous Membrane Liquid-liquid Extraction Techniques Combined on-line with High-performance Liquid Chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 893(1): 123-131.
- [10] 聂洪勇, 黄志强, 袁志勇. 气相色谱法测定柑橘中的甲基托布津残留量 [J]. 分析测试通报, 1989, 8(2): 36-38.
- [11] 韩 梅, 易盛国, 杨定清, 等. 茶叶中几种例行监测农药残留的气相色谱法测定 [J]. 西南农业学报: 自然科学版, 2010, 23(2): 608-611.
- [12] RAMESH A, RAVI P E. Negative Ion Chemical Ionization-gas Chromatographic-mass Spectrometric Determination of Residues of Different Pyrethroid Insecticides in Whole Blood and Serum [J]. Journal of Analytical Toxicology, 2004, 28(8): 660-666.
- [13] ESTEVE-TURRILLAS F A, PASTOR A, DE LA GUARDIA M. Comparison of Different Mass Spectrometric Detec-

tion Techniques in the Gas Chromatographic Analysis of Pyrethroid Insecticide Residues in Soil After Microwave-assisted Extraction [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2006, 384(3): 801–809.

- [14] KARAMFILOV V K, FILEMAN T W, EVANS K M, et al. Determination of Dimethoate and Fenitrothion in Estuarine Samples by C-18 Solid Phase Extraction and High-resolution Gas-chromatography with Nitrogen Phosphorus Detection [J]. Analytica Chimica Acta, 1996, 335(1/2): 51–61.
- [15] 刘文杰, 万英, 庞新安, 等. 高效液相色谱法同时测定土壤中多菌灵、吡虫啉和甲基托布津的残留 [J]. 分析测试学报, 2007, 26(1): 133–135.
- [16] 谢湘云, 沈爱斯, 叶江雷, 等. 固相萃取小柱净化一气相色谱法测定土壤和沉积物中有机氯和拟除虫菊酯农药残留 [J]. 环境化学, 2006, 25(3): 347–350.

Simultaneous Detection of Dimethoate, Thiophanate Methyl and Bifenthrin in Orchard Soil by High Performance Liquid Chromatography

ZHANG Dan¹, ZHANG Jin-zhong^{1,2},
LUO Yun-zhong¹, WANG Guo-min³, TANG Bo-bin³

1. School of Resources and Environment, Southwest University, Key Laboratory of Eco-environments
in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education, Chongqing 400716, China;

2. Chongqing Key Laboratory of Agricultural Resources and Environment, Chongqing 400716, China;

3. Chongqing Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Chongqing Engineering Technology Research
Center of Import and Export Food Safety, Chongqing 400020, China

Abstract: A simultaneous determination method for the residues of dimethoate, thiophanate methyl and bifenthrin in orchard soil was developed by using high performance liquid chromatography method (HPLC). The residues of the agricultural chemicals were extracted with methanol, separated by the C₁₈ liquid chromatographic column, and detected by UV detector. The results showed that the 3 agricultural chemicals could be well separated and detected within 12 min, the average spiked recoveries of dimethoate, thiophanate methyl and bifenthrin ranged from 75.82% to 97.49% with the relative standard deviations (RSDs, $n=8$) of 1.49%~4.92%, and the limits of detection were 0.080, 0.038 and 0.032 mg/kg, respectively. This method is rapid, sensitive and reliable, and can be used to simultaneously detect the 3 agricultural chemicals in orchard soil.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); orchard soil; dimethoate; thiophanate methyl; bifenthrin; residual detection

责任编辑 陈绍兰