

固相萃取-气相色谱测定马铃薯中肟菌酯残留量

钱 训, 陈勇达, 张少军*

(河北省农林科学院农产品质量安全研究中心, 农业部农产品安全风险评估实验室(石家庄), 石家庄 050051)

摘 要: **目的** 建立串联固相萃取-气相色谱法测定马铃薯中肟菌酯残留量的方法。**方法** 捣碎的试样经乙腈浸泡, 加入氯化钠, 用均质器匀浆提取, C₁₈柱、石墨化炭黑柱和氨基柱三柱联用固相萃取净化, 用气相色谱仪电子捕获检测器检测, 外标法定量。**结果** 在质量浓度 0.01~2.0 μg/mL 范围内, 峰面积与其浓度的线性关系良好, 相关系数为 0.9995, 方法检出限为 1×10⁻¹² g, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg, 分别在 0.02、0.20、2.00 mg/kg 3 个添加水平进行加标回收试验, 平均回收率为 81.3%~97.3%。**结论** 该方法简便、快速、准确、重现性好, 适用于马铃薯中肟菌酯残留量检测。

关键词: 气相色谱法; 固相萃取; 肟菌酯; 马铃薯

Determination of trifloxystrobin residues in potatoes by solid phase extraction-gas chromatography

QIAN Xun, CHEN Yong-Da, ZHANG Shao-Jun*

(Research Center of Quality and Safety of Agro-products, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-products (Shijiazhuang), Ministry of Agriculture, Shijiazhuang 050051, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of trifloxystrobin residues in potatoes by tandem solid phase extraction and gas chromatography. **Methods** Mashed samples were soaked and extracted by acetonitrile, added with sodium chloride, then homogenized by homogenizer, purified by tandem solid phase with C₁₈, graphon and aminopropyl column, detected by gas chromatography with electron capture detector (ECD), and quantitated by external standard method. **Results** In the range of 0.01~2.0 μg/mL, the linear relationship between peak area and concentration was good with the correlation coefficient of 0.9995. The detection limit was 1×10⁻¹² g, and the minimum detectable concentration was 0.02 mg/kg. The average recovery rate was 81.3%~97.3% with the spiked concentrations of 0.02, 0.20 and 2.00 mg/kg. **Conclusion** This method is easy, fast, accurate, and has a good reproducibility, which is suitable for the detection of trifloxystrobin residues in potatoes.

KEY WORDS: gas chromatography; solid phase extraction; trifloxystrobin; potatoes

基金项目: 农业部农药登记残留试验项目(2013F274)

Fund: Supported by Pesticide Residues Testing Project from Ministry of Agriculture (2013F274)

*通讯作者: 张少军, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: zhangshj601@163.com

*Corresponding author: ZHANG Shao-Jun, Professor, Research Centre of Quality and Safety of Agro-products, Hebei Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Shijiazhuang 050051, China. E-mail: zhangshj601@163.com

1 引言

脞菌酯(trifloxystrobin)属于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂,杀菌谱广、活性高。对子囊菌类、半知菌类、担子菌类和卵菌纲等真菌都有良好的活性。它是一种呼吸抑制剂,通过锁住细胞色素 b 与 c1 之间的电子传递而阻止细胞 ATP 酶的合成,从而抑制其线粒体呼吸而发挥抑菌作用。由于甲氧基丙烯酸类杀菌剂对靶标病原菌作用位点单一,容易产生抗药性,一般不单独使用,而是与不同化学结构的杀菌剂混配使用^[1-3]。农业部已经将脞菌酯登记用于马铃薯早疫病的防治。

目前,脞菌酯农药产品的检验方法多以气相色谱法和高效液相色谱进行分离定量^[4,5]。研究方法多见于蔬菜、水果等农作物生长过程中的植株、采后籽粒及土壤中脞菌酯残留量分析以及降解规律的研究^[6-11]。分析方法多采用气相色谱电子捕获检测器或气相色谱质谱磷检测器,也有液相色谱串联质谱联用技术^[11]。但未见脞菌酯在薯类作物上残留量检测方法的报道。

本研究以脞菌酯为目标,采用串联固相萃取小柱技术净化马铃薯样品,建立了以气相色谱分离、电子捕获检测器测定的马铃薯中脞菌酯分析方法。方法的建立为马铃薯类样品中脞菌酯残留量的检测提供了依据。

2 仪器与方法

2.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪(Agilent 6890N, 美国安捷伦公司),带电子捕获检测器和色谱工作站;均质器(德国 IKA 公司);固相萃取仪(北京康林科技有限公司);氮吹仪(DCY-24S, 青岛海科仪器有限公司)。

脞菌酯标准品:99.6%,国家农药检验中心(沈阳)提供;Envi-18 小柱(2 g, 12 mL, 美国 Supelco 公司);Envi-Carb 小柱(0.5 g, 6 mL, 美国 Supelco 公司);Sep-Pak NH₂ 固相萃取柱(0.5 g, 3 mL, 美国 Waters 公司);乙腈、甲苯、乙酸乙酯(色谱纯,美国 Fisher);乙腈、二氯甲烷、甲苯、氯化钠、无水硫酸钠(分析纯,天津市康科德科技有限公司)。

2.2 色谱条件

色谱柱:农残 1 号(300 mm×0.25 mm, 1.0 μm, 中国科学院兰州化学物理所);柱温:80 °C, 保持 1 min,

25 °C/min 升至 260 °C, 保持 7 min;进样口:250 °C;检测器:300 °C;流量:2 mL/min;进样量:1 μL, 脞菌酯的相对保留时间为 14.3 min。

2.3 标准溶液的配制

色谱纯乙酸乙酯做溶剂,将脞菌酯标准物质配制成 100 μg/mL 标准溶液,稀释成 10 μg/mL 标准储备液,再稀释成 0.01、0.02、0.05、0.10、0.50、1.00、2.00 μg/mL 系列工作标准溶液。

2.4 样品前处理

2.4.1 样品的制备

将马铃薯样品切成 5 mm 方块,用粉碎机捣碎,装入密闭洁净容器中,置于 4 °C 冰箱中备用。

2.4.2 样品提取

称取上述样品 25 g(精确至 0.01 g)于烧杯中,加入 50 mL 乙腈,用均质器在 15000 r/min 匀浆提取 1 min,加入 5 g 氯化钠,匀浆提取 1 min,将提取液转移至离心管并放入离心机,以 3000 r/min 离心 5 min,取上清液 10 mL,待净化。

2.4.3 样品净化

将 Envi-18 柱放入固定架上,加样前先用 10 mL 乙腈预洗柱,下接鸡心瓶,移入上述 10 mL 提取液,并用 15 mL 乙腈洗涤柱,将收集的提取液和洗涤液在 40 °C 水浴中旋转浓缩至约 1 mL,备用。

在 Envi-Card 柱中加入约 2 cm 高无水硫酸钠,将该柱连接在 Sep-Pak 氨丙基柱顶部,将串联柱下接鸡心瓶放在固定架上。加样前先用 4 mL 乙腈/甲苯(3:1, V:V, 下同)预洗柱,当液面到达无水硫酸钠的顶部时,迅速将样品浓缩液转移至净化柱上,再每次用 2 mL 乙腈/甲苯三次洗涤样液瓶,并将洗涤液移入柱中。在串联柱上加上 50 mL 贮液器,用 25 mL 乙腈/甲苯洗涤串联柱,收集所有流出物于鸡心瓶中,并在 40 °C 水浴中旋转浓缩至约 0.5 mL。每次加入 5 mL 乙酸乙酯在 40 °C 水浴中旋转蒸发,进行二次溶剂交换,最后使样液体积为 5 mL,用于气相色谱测定。

3 结果与分析

3.1 样品前处理条件的优化

3.1.1 提取溶剂的选择

研究表明,脞菌酯易溶于极性强的有机溶剂。文献中大多采用乙腈进行样品中脞菌酯提取^[10-12]。本文选择乙腈作为提取剂,加入适量氯化钠进行盐析,

取得了很好的提取效果。

3.1.2 净化方法的选择

首先选用 Envi-18 柱, 多点键和, 含碳量高, 亲和能力强, 柱容量大。除去可能存在的机械杂质和非极性化合物杂质, 进行初步净化并浓缩。采用 Envi-Card 柱除去存在于样品中的色素(如叶绿素和类胡萝卜素等)及固醇类化合物。最后串联氨基丙基柱, 更好地分离极性化合物, 以提高净化效果。比传统液液萃取的方法, 操作简单, 效率高, 环境友好。

3.1.3 色谱条件的优化

采用农残 I 号毛细管色谱柱(中国科学院兰州化学物理研究所), 在本实验中, 对肟菌酯和杂质具有良好的分离效果(见图 1)。电子捕获检测器选择性强, 灵敏度高的检测器, 物质的电负性越强, 检测器的灵敏度越高, 肟菌酯分子中有 3 个氟原子和 2 个氮原子, 在电子捕获检测器上有很好的响应灵敏度。程序升温, 提高了分离效果, 缩短了分析周期。

3.2 工作曲线和检出限

将 2.3 所配标准溶液, 按 2.2 色谱条件进行样品分析(典型色谱图见图 1)。以肟菌酯标准溶液浓度为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线(见图 2)。标准曲线方程为 $Y=167.39X-2.4708$, 相关系数 $r^2=0.9992$ 。由此可见, 本检测方法在 0.01~2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内, 线性关系良好。以 3 倍信噪比(S/N)计算, 肟菌酯检出限为 1×10^{-12} g, 最低检出浓度为 0.02 mg/kg。

3.3 准确度和精密度

称取 25 g(精确至 0.01 g)马铃薯空白样品 15 份, 分为 3 组, 分别按 0.02、0.20、2.00 mg/kg 3 个添加水平进行加标回收试验。回收率结果见表 1, 空白样品色谱图见图 3, 空白样品加标色谱图见图 4。

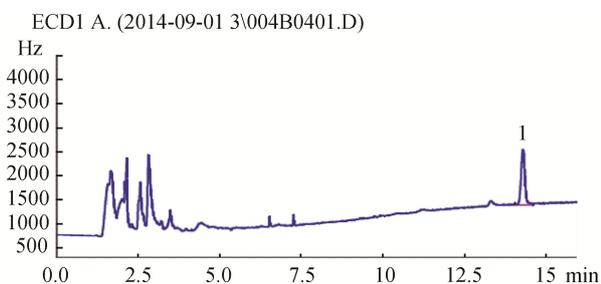


图 1 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard solution (0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

注: 1—肟菌酯

Note: 1- trifloxystrobin

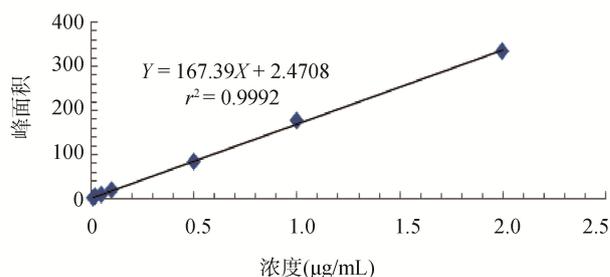


图 2 肟菌酯标准工作曲线

Fig. 2 Standard curve of trifloxystrobin

表 1 肟菌酯在马铃薯中的添加回收率($n=5$)

Table 1 Recoveries of trifloxystrobin in potatoes ($n=5$)

添加浓度 /mg/kg	回收率/%					平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5		
0.02	91.3	88.5	92.9	86.7	91.3	90.1	2.5
0.2	83.2	81.3	84.9	81.8	90.4	82.8	1.6
2.0	95.3	97.3	96.4	92.2	96.6	95.6	2.0

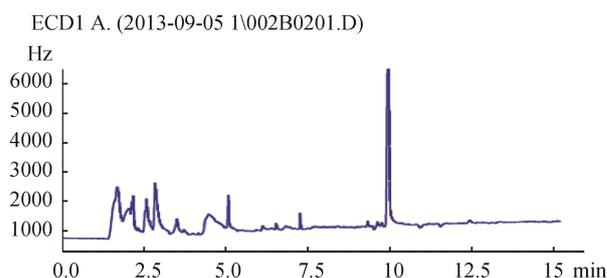


图 3 马铃薯空白对照色谱图

Fig. 3 Chromatogram of blank potato sample

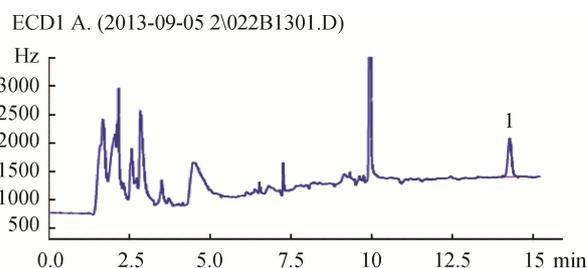


图 4 马铃薯添加肟菌酯色谱图(0.02 mg/kg)

Fig. 4 Chromatogram of trifloxystrobin spiked in potatoes

(0.02 mg/kg)

注: 1—肟菌酯

Note: 1- trifloxystrobin

4 结 论

本文采用串联固相萃取-气相色谱联用技术测定马铃薯中肟菌酯残留量,方法检出限低、线性范围宽、回收率高、快速、简便易行,满足农药残留量的检测要求。

参考文献

- [1] 张舒, 郭茂胜, 千继红, 等. 肟菌酯·戊唑醇 75%WG 防治辣椒炭疽病田间药效试验[J]. 安徽农学通报, 2011, (17): 98-99.
Zhang S, Guo MS, Qian JH, *et al.* The field efficacy trials of trifloxystrobin-tebuconazole 75%WG against *Colletotrichum capsici* [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2011, (17): 98-99.
- [2] 李敏, 厉恩茂, 李壮, 等. 75%肟菌酯·戊唑醇防治苹果病害及改善果实品质作用研究[J]. 中国果树, 2013, (6): 55-57.
Li M, Li EM, Li Z, *et al.* Study on fruit quality of 75% trifloxystrobin-tebuconazole against apple diseases and improvement [J]. Chin Fruits, 2013, (6): 55-57.
- [3] 郭世保, 陈俊华, 史洪中, 等. 75%肟菌酯·戊唑醇水分散粒剂防治黄瓜炭疽病药效试验[J]. 广东农业科学, 2013, (15): 96-98.
Guo SB, Chen JH, Shi HZ, *et al.* Application of trifloxystrobin and tebuconazole 75% WG in controlling against *colletotrichum lagenarium* [J]. Guangdong Agric Sci, 2013, (15): 96-98.
- [4] 万宏剑, 叶淑芳, 谭波. 肟菌酯原药高效液相色谱分析[J]. 农药, 2011, (11): 820-821.
Wan HJ, Ye SF, Tan B, *et al.* Analysis of trifloxystrobin by HPLC [J]. Agrochemicals, 2011, (11): 820-821.
- [5] 林绍霞, 姜宜飞, 吴进龙, 等. 24.1%异噁菌胺·肟菌酯悬浮种衣剂高效液相色谱分析[J]. 农药, 2014, 53(11): 799-801.
Lin SX, Jiang YF, Wu JL, *et al.* Analysis of isotianil-trifloxystrobin 24.1% FS by HPLC [J]. Agrochemicals, 2014, 53(11): 799-801.
- [6] 吴进龙, 季颖, 傅桂平, 等. 75%肟菌酯·戊唑醇 WG 气相色谱分析[J]. 农药, 2009, (7): 498-499.
Wu JL, Ji Y, Fu GP, *et al.* Analysis of 75% trifloxystrobin-tebuconazole WG by gas chromatography [J]. Agrochemicals, 2009, (7): 498-499.
- [7] 吕印美, 姚刚, 李晓红, 等. 30%啶酰菌胺·肟菌酯悬浮剂的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2014, 53(2): 104-106.
Lv YM, Yao G, Li XH, *et al.* Analysis method of boscalid trifloxystrobin 30% SC by HPLC [J]. Agrochemicals, 2014, 53(2): 104-106.
- [8] 江小雪. 肟菌酯气相色谱分析方法研究[J]. 农药科学和管理, 2011, 32(9): 43-45.
Jiang XX. Quantitative analysis of trifloxystrobin TC by GC [J]. Pestic Sci Admin, 2011, 32(9): 43-45.
- [9] 杨辉, 陈力华, 任凤莲, 等. 气相色谱法同时测定蔬菜中醚菌酯和肟菌酯残留量的方法研究[J]. 农业环境与发展, 2009, 26(4): 81-84.
Yang H, Chen LH, Ren FL, *et al.* Study on the method of simultaneous determination of kresoxim-methyl and trifloxystrobin in vegetables by gas chromatography [J]. Agro-Environ Dev, 2009, 26(4): 81-84.
- [10] 邓曼, 曹梦超, 王全胜, 等. 气相色谱法同时检测水果中氟吡菌酰胺、肟菌酯及其代谢物肟菌酸的残留量[J]. 农药学报, 2013, 15(6): 704-707.
Deng M, Cao MC, Wang QS, *et al.* Simultaneous determination of fluopyram, trifloxystrobin and its metabolite trifloxystrobin acid in fruits by gas chromatography [J]. Chin J Pestic Sci, 2013, 15(6): 704-707.
- [11] 韩丙军, 林靖凌, 张月, 等. 气相色谱法测定香蕉和土壤中的肟菌酯及其代谢物与戊唑醇残留[J]. 农药, 2012, 51(11): 816-817.
Han BJ, Lin JL, Zhang Y, *et al.* Determination of banana and soil of tebuconazole, trifloxystrobin and its metabolites by gas chromatography [J]. Agrochemicals, 2012, 51(11): 48-50.
- [12] 陈莉, 贾春虹, 朱晓丹, 等. 超高效液相色谱-电喷雾串联质谱法测定戊唑醇、肟菌酯及代谢物肟菌酸在西瓜和土壤中的残留[J]. 农药, 2013, 52(2): 119-121.
Chen L, Jia CH, Zhu XD, *et al.* Determination of tebuconazole, trifloxystrobin and its metabolite trifloxystrobin acid in watermelon and soil by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Agrochemicals, 2013, 52(2): 119-121.
- [13] 袁雅洁, 龚道新, 吴亮, 等. 肟菌酯在辣椒和土壤中的消解动态[J]. 农药, 2015, 54(2): 126-128.
Yuan YJ, Gong DX, Wu L, *et al.* Degradation dynamics of trifloxystrobin in chilli and soil [J]. Agrochemicals, 2015, 54(2): 126-128.
- [14] 傅强, 聂思桥, 任竞, 等. 肟菌酯在水稻植株和田水中消解动态研究[J]. 农药科学和管理, 2015, 36(8): 31-33.
Fu Q, Nie SQ, Ren J, *et al.* Study on residue dynamics of trifloxystrobin in rice plants and water [J]. Pestic Sci Admin, 2015, 36(8): 31-33.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



钱 训, 副研究员, 主要研究方向为
农药分析和农产品质量安全。
E-mail: xunqian1968@sina.com



张少军, 博士, 研究员, 主要研究方向
为农产品质量安全。
E-mail: zhangshj601@163.com

“食品中风险物质筛查检测与系统样品处理技术” 专题征稿函

食品中的风险物质的来源有多种途径, 有来自原料、有食品加工过程产生、有在物流及储藏过程中而产生微生物污染, 也有受到环境污染而致食品被污染等。近十余年来, 中国的食品安全检测技术研究成果表明, 我国在该领域的检测技术水平已经跑在国际同行业的前列。但是, 仍然不能满足检测市场需求, 仍然不能解决全部的食品安全检测技术问题。食品中未知的有害风险物质还时时的困扰着食品消费者和政府监管部门。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品中风险物质筛查检测与系统样品处理技术”系列专题, 由中国检验检疫科学研究院副总工程师、国家食品安全风险评估专家委员会委员、国家食品安全标准化委员会委员通用检测方法分委会副主任委员、《食品安全质量检测学报》副主编 **储晓刚 研究员** 担任专题主编, 主要围绕食品农产品中基于不同质谱技术、对外源性风险物质的筛查检测方法、系统的样品处理技术及样品处理设备等的研发研制和应用, 及残留形成和代谢机理、控制方法等相关领域的研究成果展开讨论, 计划在 2016 年 4 月出版。

本刊专题主编 **储晓刚 研究员** 特邀请各位专家为本专题撰写专题稿件, 以期分享您的最新科研成果、与同行交流, 进一步提升专题交流的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可投稿, 请您通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsqq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部