

# 高效液相色谱法测定小麦面粉中吡蚜酮残留量

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, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(石家庄), 石家庄 050051)

**摘 要:** **目的** 采用固相萃取技术净化小麦面粉样品, 建立以反相高效液相色谱法分离、紫外检测器测定的小麦面粉中吡蚜酮残留量分析方法。 **方法** 试样用乙腈-氨水溶液涡旋振荡提取, 二氯甲烷萃取, 浓缩后, 采用 SPE-C<sub>18</sub> 固相萃取柱净化, 用液相色谱法, 以 C<sub>18</sub> 色谱柱为分离柱, 以乙腈-水为流动相, 在 299 nm 波长下检测, 外标法定量。 **结果** 在质量浓度 0.01 ~ 5.0 μg/mL 范围内, 吡蚜酮的峰面积与其浓度的线性关系良好, 标准曲线方程为  $Y=193.21X-1.6338$ , 相关系数为 0.9999, 在选定的仪器条件下, 吡蚜酮最小检出量为  $2 \times 10^{-11}$  g, 分别在 0.01、0.10、1.00 mg/kg 3 个添加水平进行添加回收试验, 平均回收率为 86.9% ~ 100.9%, 添加回收率试验表明, 小麦面粉中吡蚜酮的最低检出浓度为 0.01 mg/kg。 **结论** 该方法检测灵敏度高, 线性范围宽, 准确度和精密度满足农药残留检测需要, 适用于小麦面粉中吡蚜酮残留量检测。

**关键词:** 吡蚜酮; 高效液相色谱法; 小麦; 固相萃取; 农药残留

## Determination of pymetrozine residue in wheat flour by high performance liquid 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 pymetrozine residue in wheat flour by solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography with UV detector. **Methods** The pymetrozine residue was extracted by acetonitrile-ammonia water from the wheat flour, extracted by dichloromethane and purified by SPE-C<sub>18</sub> solid-phase extraction column, then detected by liquid chromatography at 299 nm with C<sub>18</sub> column as separation column, acetonitrile-water as mobile phase, and quantitated with external standard quantitative method. **Results** In the range of 0.01~5.0 μg/mL, there was a good linear relationship between peak area and concentration, with the standard curve equation of  $Y=193.21X-1.6338$  and the correlation coefficient of 0.9999. The detection limit was  $2 \times 10^{-11}$  g at the chosen chromatographic condition. The average recovery rate was 86.9% ~ 100.9% with the spiked concentrations of 0.01, 0.10, 1.00 mg/kg, and the limit of quantitation was 0.01 mg/kg. **Conclusion** The method is sensitive, accurate, precise and with a wide linear range, and suitable for the detection of pymetrozine residue in wheat flour.

基金项目: 农业部农药登记残留试验项目(2012P242)

**Fund:** Supported by Pesticide Residues Testing Project from Ministry of Agriculture (2012P242)

\*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 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. E-mail: zhangshj601@163.com

**KEY WORDS:** pymetrozine; high performance liquid chromatography; wheat; solid phase extraction; pesticide residue

## 1 引言

吡蚜酮(pymetrozine)属于吡啶类杀虫剂, 是全新的非杀生性杀虫剂, 可产生口针阻塞效应, 使昆虫立刻停止取食, 并最终饥饿致死<sup>[1]</sup>。由于其特殊的杀虫机制和优秀的杀虫效果, 吡蚜酮被广泛用于防治小麦蚜虫的防治<sup>[2,3]</sup>。我国规定吡蚜酮在小麦籽粒中的最大残留限量(MRL)值为 0.02 mg/kg。

目前, 吡蚜酮农药产品的检验方法多以高效液相色谱进行分离定量<sup>[4,5]</sup>, 残留量分析方法多见于水稻、小麦、西蓝花、甘蓝、棉花等农作物生长过程中的植株、采后籽粒及土壤中吡蚜酮残留量分析以及降解规律的研究<sup>[6-11]</sup>。胡璇等<sup>[6,8]</sup>建立了西兰花中吡蚜酮残留量的高效液相色谱紫外检测器分析方法; 潘康标等<sup>[7]</sup>采用固相萃取-气相色谱电子捕获检测器对稻米中吡蚜酮残留量进行了分析检测, 实测最低检出浓度达到 0.01 mg/kg; 杨辉等<sup>[9]</sup>采用氨水-乙腈混合溶剂提取, 二氯甲烷萃取, 弗罗里硅土/活性炭柱净化, 液相色谱二极管阵列检测器对稻米中吡蚜酮残留量进行了分析检测, 实测最低检出浓度达到 0.02 mg/kg; 夏志等<sup>[10]</sup>采用甲醇-水-氨水混合溶剂提取, 二氯甲烷萃取, 液相色谱紫外检测器对水稻生态系统中的吡蚜酮残留量进行了检测, 实测最低检出浓度达到 0.02 mg/kg; 冯义志等<sup>[11]</sup>采用氨水-乙腈混合溶剂提取, N-丙基乙二胺(PSA)净化, 液相色谱-质谱联用技术对小麦中吡蚜酮残留量进行了分析测定, 实测最低检出浓度达到 0.02 mg/kg。本研究以吡蚜酮为目标, 采用固相萃取小柱净化小麦面粉样品, 建立了以高效液相色谱分离, 紫外检测器检测的小麦面粉中吡蚜酮残留量检测方法。本文固相萃取技术的运用, 提高了净化效果, 提高了检测灵敏度。

## 2 仪器与方法

### 2.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪(Agilent 1260, 美国安捷伦公司), 带紫外可变波长检测器和色谱工作站; 匀质器(T25, 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);

SPE-C<sub>18</sub>小柱(2 g, 12 mL, Supelco 公司); 吡蚜酮标准品: 99.5%, 国家农药检验中心(沈阳)提供; 乙腈、二氯甲烷、甲醇、氨水、氯化钠、无水硫酸钠等(分析纯, 天津市康科德科技有限公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Fisher 公司)。

### 2.2 色谱条件

色谱柱: ZORBAX Eclipse® ODS-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 检测波长: 299 nm; 流速: 0.6 mL/min; 柱温: 40 °C; 进样量 20 μL; 流动相: 乙腈-水, 梯度洗脱, 0~10 min(V:V=15:85), 10~15 min(V:V=95:5)。

### 2.3 标准溶液的配制

乙腈做溶剂, 将吡蚜酮标准物质配制成 100 μg/mL 标准溶液, 再稀释成 10 μg/mL 标准储备液, 然后再稀释成 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、2.0、5.0 μg/mL 系列工作标准溶液。

### 2.4 样品前处理

#### 2.4.1 样品提取

称取 10 g 混合均匀的小麦面粉样品于三角瓶中, 加入 80 mL 乙腈、20 mL 1 mol/L 氨水, 浸泡过夜, 摇床振摇 1 h, 抽滤, 上清液转移至分液漏斗中, 加 50 mL 10%氯化钠溶液, 用 40 mL×3 二氯甲烷萃取, 下层有机相经无水硫酸钠过滤至 250 mL 的圆底烧瓶中, 于 40 °C 水浴旋转蒸发浓缩至体积约 1 mL, 加入 5 mL 0.1 mol/L 氨水待净化。

#### 2.4.2 样品净化

SPE-C<sub>18</sub>小柱先用 10 mL 乙腈预淋, 再用 10 mL 0.1 mol/L 氨水冲洗。将上述提取液上柱, 用 5 mL 10%甲醇-水溶液淋洗, 弃去, 再用 10 mL 30%乙腈-水溶液分两次洗脱, 收集洗脱液, 45 °C 水浴氮气吹至近干, 用乙腈定容至 5 mL, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测。

## 3 结果与分析

### 3.1 检测方法的优化

#### 3.1.1 提取溶剂的选择

根据吡蚜酮化学性质, 吡蚜酮在碱性条件下易

溶于极性强的有机相。分别采用乙腈、甲醇等加稀氨水的混合溶剂对样品提取试验, 结果表明, 采用甲醇作溶剂, 在进行二氯甲烷萃取时, 萃取界面乳化严重, 水相中加入氯化钠破乳也不理想。本文选择乙腈-氨水进行面粉样品中吡蚜酮的提取, 有效克服了上述缺点, 分离效果好, 验证试验表明添加回收率为 87%~101%, 故最终确定以乙腈-氨水(V:V=80:20)作为提取溶剂。

### 3.1.2 净化方法的选择

为了有效去除杂质, 进一步降低方法的最低检出浓度, 选用  $C_{18}$  固相萃取小柱, 对二氯甲烷萃取浓缩液进行净化。固相萃取小柱在使用前依次用 10 mL 乙腈和 10 mL 0.1 mol/L 氨水预淋。结果显示, 经过固相萃取小柱净化后, 在选定色谱条件下, 吡蚜酮在小麦面粉中最低检出浓度为 0.01 mg/kg。

### 3.1.3 色谱条件的优化

杨辉等<sup>[9]</sup>报道了利用二极管阵列检测器对吡蚜酮甲醇溶液在 190~400 nm 波长范围内进行扫描, 结果显示, 吡蚜酮在 299 nm 处有最大吸收峰。经过对小麦面粉提取液进行试验, 299 nm 波长处吡蚜酮吸收信号最强, 而且此处杂质干扰最小。采用乙腈-水作为流动相, 检测波长 299 nm, 对样品进行分离测定。实验表明, 当流动相中乙腈含量超过 30%(V:V)后, 吡蚜酮和样品杂质分离度较低, 尤其在吡蚜酮含量很低时, 样品本底杂质干扰吡蚜酮定量。乙腈含量为 15%时吡蚜酮和样品杂质分离良好, 但分离周期较长。最终确定采用梯度洗脱的方法, 待吡蚜酮组分流出色后, 采用乙腈含量为 95%的流动相将杂质洗脱, 既缩短了检测周期, 又提高了分离度。

## 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)。以吡蚜酮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  $Y=193.21X-1.6338$ , 相关系数  $r^2=0.9999$ 。由此可见, 本检测方法在 0.01~5.0  $\mu\text{g/mL}$  范围内, 线性关系良好。以 3 倍信噪比(S/N)计算, 吡蚜酮的最小检出量为  $2\times 10^{-11}$  g, 添加回收率试验表明, 在小麦面粉中的实测最低检出浓度为 0.01 mg/kg。

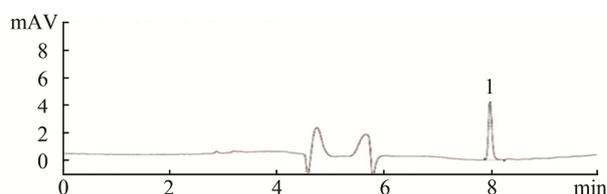


图 1 标准溶液色谱图(0.10  $\mu\text{g/mL}$ )

Fig. 1 Chromatogram of standard solution(0.10  $\mu\text{g/mL}$ )

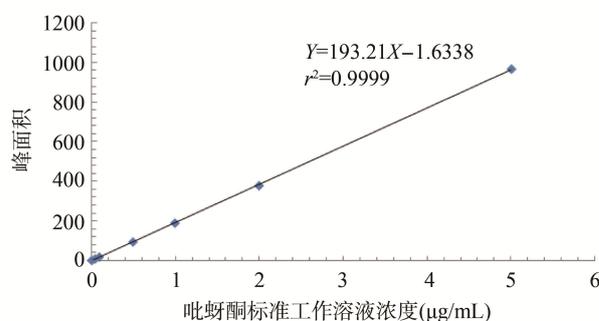


图 2 吡蚜酮标准工作曲线

Fig. 2 Standard curve of pymetrozine

## 3.3 准确度和精密度

称取 10 g 空白小麦面粉样品 15 份, 分为 3 组, 每组 5 个重复, 分别用 2.3 中 10、1.0、0.1  $\mu\text{g/mL}$  标准工作溶液各添加 1.0 mL, 使添加浓度分别为 1.00、0.10 和 0.01 mg/kg, 待挥发溶剂后充分混合均匀, 按 2.4 前处理方法进行检测, 同时用相同方法做空白试验。回收率试验结果见表 2, 空白样品色谱图见图 3, 空白样品加标色谱图见图 4。

表 2 吡蚜酮在小麦面粉中的添加回收率试验  
Table 2 Recoveries of pymetrozine in wheat flour

添加浓度 mg/kg	回收率(%)					平均值	变异系数(%)
	1	2	3	4	5		
0.01	103	110	96.8	99.9	94.3	101	6.2
0.10	88.9	87.6	86.8	86.5	84.8	86.9	1.5
1.00	95.2	95.0	95.9	94.9	86.9	93.6	3.8

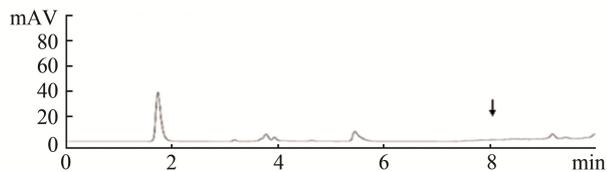


图3 面粉空白对照色谱图

Fig.3 Chromatogram of wheat flour blank

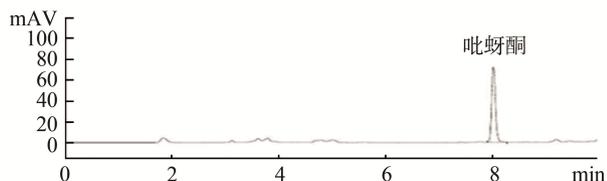


图4 面粉添加吡蚜酮色谱图(1.0 mg/kg)

Fig.4 Chromatogram of pymetrozine spiked in wheat flour (1.0 mg/kg)

## 4 结论

本文采用乙腈-氨水提取、固相萃取净化、高效液相色谱紫外检测法测定小麦面粉中吡蚜酮残留量。固相萃取技术的采用,降低了样品中的杂质干扰,提高了检测灵敏度,线性范围宽,回收率高,满足农药残留量的检测要求。

## 参考文献

- [1] 何月平, 陈利, 陈建明, 等. 吡蚜酮对水稻褐飞虱取食行为的影响[J]. 中国水稻科学, 2010, 24(6): 635-640.  
He YP, Chen L, Chen JM, *et al.* Effects of pymetrozine on the feeding behavior of rice brown planthopper [J]. Chin J Rice Sci, 2010, 24 (6): 635-640.
- [2] 楼曼庆, 黄福旦, 王国荣, 等. 25%吡蚜酮可湿性粉剂对小麦灰飞虱及蚜虫的防效试验[J]. 浙江农业科学, 2008(1): 92-94.  
Lou MQ, Huang FD, Wang GR, *et al.* Testing of prevention effect for 25% pymetrozine WP to wheat aphids and planthopper [J]. Zhejiang Agric Sci, 2008, (1): 92-94.
- [3] 冯成玉, 杨和文, 陆晓峰, 等. 吡蚜酮对小麦穗期灰飞虱与麦蚜的防治效果[J]. 植物保护, 2008, 34(3): 142-144.  
Feng CY, Yang HW, Lu XF, *et al.* Control effect of pymetrozine to laodelphax striatellus and aphid on wheat earing stage [J]. Plant Prot, 2008, 34(3): 144-147.
- [4] 刘建华, 张小峰, 季美娟, 等. 吡蚜酮原药高效液相色谱分析[J]. 农药, 2008, (47): 741-742.  
Liu JH, Zhang XF, Ji MJ, *et al.* A HPLC analysis method of pymetrozine TC [J]. Agrochemicals, 2008, (47): 741-742.
- [5] 毕富春, 吴国旭, 翟立红, 等. 吡蚜酮 25%可湿性粉剂分析方法研究[J]. 农药科学与管理, 2010, 31(11): 40-43.  
Bi FC, Wu GX, Zhai LH, *et al.* Study on the analytical method for pymetrozine 25% WP by HPLC [J]. Pestic Sci Admin, 2010, 31(11): 40-43.
- [6] 胡璇, 沈国清, 陆贻通, 等. 甘蓝中吡蚜酮残留量的高效液相色谱分析[J]. 农药, 2008(47): 184-185.  
Hu X, Shen GQ, Lu YT, *et al.* Determination of pymetrozine residues in Cabbage with HPLC [J]. Agrochemicals, 2008, (47): 184-185.
- [7] 潘康标, 黄彧, 徐炜枫, 等. 25%吡蚜酮可湿性粉剂在水稻上残留量的研究[J]. 现代农药, 2010, (5): 43-46.  
Pan KB, Huang Y, Xu WF, *et al.* Study on residue of pymetrozine 25% WP in paddy rice [J]. Mod Agrochem, 2010, (5): 43-46.
- [8] 胡璇, 沈国清, 陆贻通, 等. 西兰花中吡蚜酮残留量的高效液相色谱检测与条件优化研究[J]. 环境污染与防治, 2008, (9): 40-42,80.  
Hu X, Shen GQ, Lu YT, *et al.* Optimization of HPLC measurement of residual pymetrozine in broccoli [J]. Environ Pollut Control, 2008, (9): 40-42,80.
- [9] 杨辉, 陈力华, 任凤莲, 等. 高效液相色谱法测定水稻中的吡蚜酮残留量[J]. 农药, 2010(11): 825-827.  
Yang H, Chen LH, Ren FL, *et al.* Determination of pymetrozine residues in rice with HPLC [J]. Agrochemicals, 2010 (11) : 825-827.
- [10] 夏志, 胡德禹, 张钰萍. 25%吡蚜酮·噻嗪悬浮剂在水稻生态系统中的残留检测和消解动态[J]. 精细与专用化学品, 2012, (6): 46-50.  
Xia Zh, Hu DY, Zhang YP. 25% Pymetrozine and thiamethoxam suspension residues detection and degradation in the rice ecosystem [J]. Fine Specialty Chem, 2012, (6): 46-50.
- [11] 冯义志, 潘金菊, 刘伟. 超高效液相色谱质谱联用检测小麦中吡蚜酮的残留分析方法[J]. 农药, 2015, 54(1): 48-50.  
Feng YZ, Pan JJ, Liu W. Analysis of pymetrozine residual in wheat by UPLC-MS/MS method [J]. Agrochemicals, 2015, 54(1): 48-50.

(责任编辑: 白洪健)

## 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

---

## 《食品安全质量检测学报》关于“功能性食品研究”专题征稿函

功能性食品是指具有功能性成分、可调节人体生理活动功能的食品。目前已研发的功能性食品主要包括: 增强人体体质(增强免疫能力, 激活淋巴系统等)的食品; 防止疾病(高血压、糖尿病、冠心病、便秘和肿瘤等)的食品; 恢复健康(控制胆固醇、防止血小板凝集、调节造血功能等)的食品; 调节身体节律(神经中枢、神经末梢、摄取与吸收功能等)的食品和延缓衰老的食品等。由于其特殊的营养和保健功能, 越来越得到人们的关注。

鉴于此, 本刊特别策划了“**功能性食品研究**”专题, 由南昌大学食品科学与技术国家重点实验室副主任**邓泽元教授**担任专题主编, 围绕**功能性食品的营养研究、开发应用、安全质量控制**等问题展开讨论, 计划在 2016 年 7 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及邓教授特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2016 年 5 月 31 日前通过网站或 Email 投稿。我们将快速处理并优先发表。

投稿方式:

网站: [www.chinafoodj.com](http://www.chinafoodj.com)

Email: [jfoodsq@126.com](mailto:jfoodsq@126.com)

《食品安全质量检测学报》编辑部