

高效液相色谱法测定马铃薯和土壤中的辛硫磷残留

王运儒^{1,2,3}, 秦玉燕^{1,2,3}, 农耀京^{1,2,3*}, 杨秀娟^{1,2,3}, 杜国冬^{1,2,3}, 邓有展^{1,2,3}, 时鹏涛^{1,2,3}

(1. 广西壮族自治区亚热带作物研究所, 南宁 530001; 2. 农业部亚热带果蔬质量监督检验测试中心, 南宁 530001;
3. 农业部农产品质量安全风险评估实验室(南宁), 南宁 530001)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法测定马铃薯和土壤中辛硫磷残留的分析方法。**方法** 样品经乙腈萃取, 氨基固相萃取小柱净化, 采用以色谱柱 Agilent ZARBAX SB-C₁₈ 柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)分离, 甲醇/水 (75:25, V/V)为流动相等度洗脱后紫外检测器检测, 检测波长为 280 nm。**结果** 辛硫磷在 0.05~10 mg/L 浓度范围内线性关系良好($r^2=0.9990$); 最低检出限为 0.02 mg/kg, 辛硫磷在马铃薯块茎、植株和土壤中的添加水平为 0.05~5.0 mg/kg 时, 添加回收率分别为 92.3%~102.4%、98.5%~109.1%和 89.7%~104.3%, 相对标准偏差分别为 1.0%~2.5%、1.4%~5.6%和 1.4%~2.1%。**结论** 该方法具有快速、准确、灵敏度高等特点, 符合国家标准对食品中农药残留测定的要求。

关键词: 辛硫磷; 马铃薯; 残留; 土壤

Determination of phoxim residues in potato and soil by high performance liquid chromatography

WANG Yun-Ru^{1,2,3}, QIN Yu-Yan^{1,2,3}, NONG Yao-Jing^{1,2,3*}, YANG Xiu-Juan^{1,2,3}, DU Guo-Dong^{1,2,3},
DENG You-Zhan^{1,2,3}, SHI Peng-Tao^{1,2,3}

(1. Guangxi Subtropical Crops Research Institute, Nanning 530001, China; 2. Quality Supervision and Testing Center of Subtropical Fruit and Vegetable, Ministry of Agriculture, Nanning 530001, China; 3. Laboratory of Quality Risk Assessment for Agro-products(Nanning), Ministry of Agriculture, Nanning 530001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of phoxim residues in potato and soil by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Phoxim residues were extracted from potato and soil with acetonitrile, then purified with NH₂ solid phase extraction (SPE) column, and separated by Agilent ZARBAX SB-C₁₈ column (4.6 mm×250 mm, 5 μm) using a mixture of methanol and water (75:25, V/V) as mobile phase for isocratic elution. The ultraviolet detection wavelength was set at 280 nm. **Results** Phoxim had a good linear relationship in the concentration range of 0.05~10 mg/L ($r^2=0.9990$) and the limit of detection was 0.02 mg/kg. The average recoveries of phoxim spiked at 0.05~5.0 mg/kg were 92.3%~102.4% for potato tuber, 98.5%~109.1% for potato shoots and 89.7%~104.3% for soil, respectively, with relative standard deviations (RSDs) of 1.0%~2.5%, 1.4%~5.6% and 1.4%~2.1%, respectively in potato tuber, shoots and soil. **Conclusion** The established method is rapid, accurate and sensitive, which can meet the national standard requirements for pesticide determination.

KEY WORDS: phoxim; potato; residue; soil

*通讯作者: 农耀京, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 255889212@qq.com

*Corresponding author: NONG Yao-Jing, Senior Engineer, Institute of Agriculture Quality Standards & Testing Technique, Quality Supervision and Testing Center of Subtropical Fruit and Vegetable, Ministry of Agriculture, Nanning, 530001, China. E-mail: 255889212@qq.com

1 引言

马铃薯是我国四大粮食作物之一,仅次于水稻、小麦、玉米^[1]。我国马铃薯种植产业日益受到政府关注,其农药残留问题也越来越引起人们的重视。辛硫磷英文名称为 phoxim, 化学名称为 *O*- α -氰基亚苯基氨基-*O*,*O*-二乙基硫代磷酸酯,属高效低毒有机磷杀虫剂^[2],杀虫谱广,击倒力强,以触杀和胃毒作用为主^[3]。辛硫磷在田间施入土中后残留期很长,因此适合于防治地下害虫,目前广泛应用于马铃薯地下害虫的防治^[4]。

目前国内外已经有许多关于辛硫磷残留的分析方法,主要有高效液相色谱法^[5,6]、液相色谱-串联质谱法^[7,8]、气相色谱^[9]及气相色谱-质谱法^[10,11]等,但是有关马铃薯中辛硫磷残留的分析方法未见有报道。本研究采用高效液相色谱法对辛硫磷在马铃薯块茎、植株和土壤中的残留进行分析研究,拟建立一种简捷的残留分析方法,旨在为辛硫磷在马铃薯及土壤中的安全使用和环境安全评价提供科学依据。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

2.1.1 仪器

Waters 2695 高效液相色谱仪(配备 2478 型紫外检测器,美国 Waters 公司); XW-80A 漩涡混合仪(海门其林贝尔公司); T18 高速均质仪(德国 IKA 公司); YL-JY1-20 纯水仪(上海洋沅精密设备科技有限公司); Agilent8453 紫外/可见分光光度计(美国 Agilent 公司)。

2.1.2 试剂

甲醇、乙腈均为 HPLC 级(美国 Fisher 公司); 二氯甲烷(HPLC 级,天津市光复精细化工研究所); 氯化钠(140 °C 烘烤 4 h, 分析纯, 天津市福晨化学试剂厂);

辛硫磷标准品(浓度为 1000 mg/L, 购自农业部环境质量监督检验测试中心)。本实验用水均为超纯水, 安捷伦净化柱(Amino NH₂-Box, 500 mg/6 mL; Agilent AccuBOND 中性氧化铝, 500 mg/6 mL; Florisil PR-Box, 500 mg/6 mL); 0.45 μ m 有机系过滤膜。

2.2 实验方法

2.2.1 色谱条件

色谱柱: Agilent ZARBAX SB-C₁₈ 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μ m), 流速: 1.00 mL/min; 柱温: 40.0 °C; 流动相: 甲醇:水(75:25, *V*:*V*); 检测波长: 280 nm; 进样量: 20 μ L。

2.2.2 标准工作液的配制

将辛硫磷标准品用甲醇配制成浓度为 100 mg/L 的储备液。用甲醇:水(70:30, *V*:*V*)将储备液稀释成 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00、10.00 mg/L 系列质量浓度标准液, 以质量浓度(mg/L)为横坐标、峰面积为纵坐标绘制标准曲线,

进行线性回归分析。

2.2.3 样品的提取

分别称取土壤(过筛后)、马铃薯块茎与植株(粉碎样)样品各 25.00 g, 置于 250 mL 烧杯中, 加入 50 mL 乙腈, 高速匀浆 1 min, 然后过滤到 100 mL 的具塞量筒中, 加入 6.0 g 氯化钠, 振摇 1 min, 静置 30 min。待有机相和水相分离后, 量取上层有机相 10 mL 于 100 mL 烧杯中, 将烧瓶至于 65 °C 水浴, 氮气吹干, 待蒸发近干后取下自然挥干。

2.2.4 样品的净化

用 50 mL 平底烧杯接收洗脱液, 样品依次用 2.0、4.0、4.0 mL 二氯甲烷/甲醇(92:8, *V*:*V*)溶解样品后淋洗净化, 净化前先将氨基柱用 3 mL 二氯甲烷/甲醇(92:8, *V*:*V*)预淋洗, 当溶剂液面到达柱吸附层表面时, 立即倒入上述待净化液, 收集淋洗液, 于 45 °C 恒温水浴, 氮气蒸发近干, 先用 3.5 mL 甲醇溶解再用水定容至 5 mL, 旋涡震荡混合, 0.45 μ m 微孔滤膜过滤, 待测。

2.3 回收率测定

用未施过辛硫磷的马铃薯块茎、植株和土壤样品进行 3 个浓度的添加回收率试验, 使马铃薯块茎、植株和土壤样品中辛硫磷的实际添加量均分别为 0.05、0.50、5.00 mg/kg, 每浓度设 5 个平行。按照上述方法进行样品前处理及分析测定, 计算回收率和 RSD。

3 结果与分析

3.1 检测波长及流动相的选择

用紫外/可见分光光度计对辛硫磷标准品溶液于 190~1100 nm 波段下扫描, 发现在 267 nm 波长附近有最大的吸收峰, 参照贺敏等^[12,13], 朱鲁生等^[14]用液相色谱法对辛硫磷的残留分析研究, 选择 280 nm 为检测波长。经过对辛硫磷标准品及其基质空白进行甲醇-水(60:40、65:35、70:30、75:25、80:20、90:10, *V*:*V*)不同流动相比率的测试, 结果显示流动相中甲醇所占比例在 70%~90%范围内, 都能洗脱出辛硫磷标准品, 保留时间在 5.121~19.341 min。经过对比, 考虑分析时间、基质效应等各方面的因素选择流动相甲醇-水(75:25, *V*:*V*)为最佳条件, 辛硫磷标准品保留时间为 10.337 min(见图 1), 可以准确地定量和定性, 避免干扰。

3.2 样品处理条件确定

3.2.1 提取溶剂的选择

比较了乙腈、甲醇、二氯甲烷 3 种常用有机溶剂的提取及 3 种净化小柱的净化效果; 在采用同种净化柱处理后发现乙腈和二氯甲烷对辛硫磷的提取效果较好, 甲醇提取效果次之, 在萃取马铃薯块茎时有少量的乳化现象。因为二氯甲烷毒性过大, 不宜大量使用, 因此本方法采用乙腈作为提取溶剂。图 2 为采用 Amino NH₂-Box 净化柱时不同提取溶剂对辛硫磷回收率的影响。

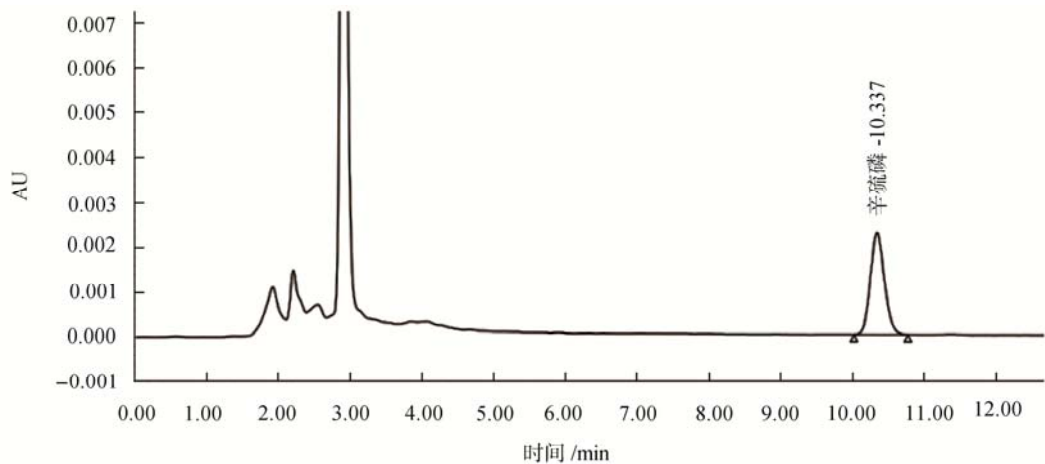


图 1 辛硫磷标准品色谱图(0.05 mg/L)
Fig. 1 Chromatogram of phoxim standard (0.05 mg/L)

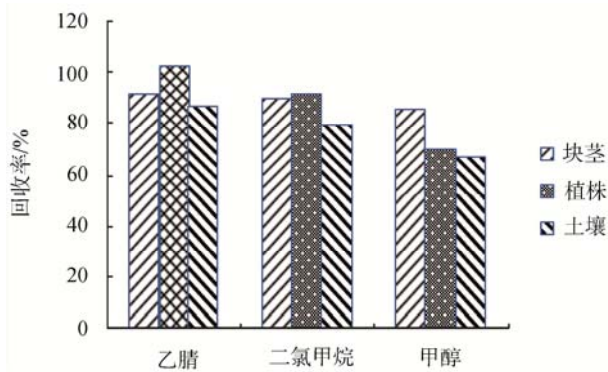


图 2 不同提取溶剂对辛硫磷回收率的影响(0.05 mg/L)
Fig. 2 Effects of different extraction solvents on the recoveries of phoxim (0.05 mg/kg)

3.2.2 固相萃取柱的选择

比较了 Amino NH₂-Box(500 mg/6 mL)、Agilent AccuBOND 中性氧化铝 (500 mg/6 mL) 和 Florisil PR-Box(500 mg/6 mL)3 种固相萃取柱的净化效果, 马铃薯块茎、土壤净化之后的样品杂质含量都较少, 马铃薯块茎因为色素含量比较多, 所以杂质相对复杂。经考察氨基柱对马铃薯块茎、植株、土壤的净化效果, 不同固相萃取柱处理, 对辛硫磷的回收率最好的是 Amino NH₂-Box(见图 3)。因此本次试验采用 Amino NH₂-Box 作为净化柱。

3.2.3 前处理优化

样品经过净化浓缩之后, 实验发现直接用甲醇定容, 辛硫磷色谱峰会有明显拖尾现象, 加入一定比例的水溶液之后峰型能得到较好的优化。当直接用甲醇/水溶液(7:3, V/V)定容时, 净化后的样品有少量不溶解现象, 可能是定容溶液中有含水溶液极性太强, 不能充分溶解样品中的辛硫磷, 导致样品回收率明显偏低, 因此提取样定容时先用 3.5 mL 甲醇溶解然后再用水定容到 5 mL。

3.3 线性关系

将配制好的一系列标准液浓度按照 2.2.1 色谱条件进行分析。据峰面积与相应质量浓度进行线性回归分析, 得回归方程 $Y=62359.3X-1341.7$, 相关系数 r^2 为 0.9990, 线性范围为 0.05~10.0 mg/L(见图 4)。在最佳色谱条件下, 以

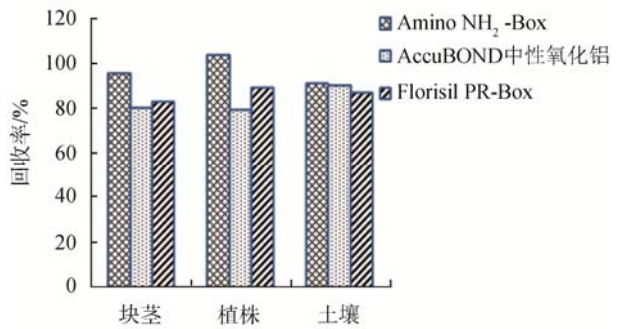


图 3 不同固相萃取柱对辛硫磷回收率的影响(0.05 mg/L)
Fig. 3 Effects of different solid phase extraction columns on the recoveries of phoxim (0.05 mg/kg)

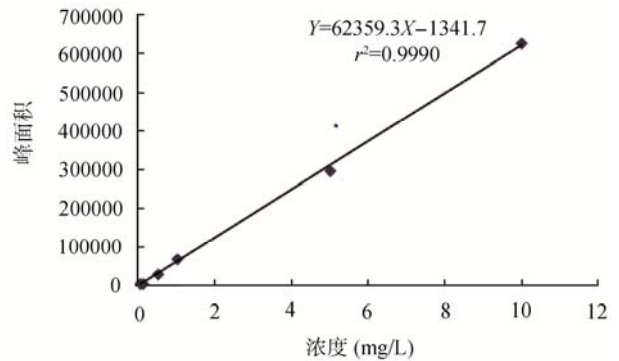


图 4 辛硫磷标准曲线
Fig. 4 Standard curve of phoxim

空白加标样品溶液逐级稀释的方法考察方法的检出限,最终以 10 倍信噪比(S/N)确定本方法检测马铃薯块茎、植株和土壤中辛硫磷的定量下限(limit of quantity, LOQ)均为 0.05 mg/kg,以 3 倍信噪比(S/N)确定最低检出限(limit of detection, LOD)为 0.02 mg/kg。

3.4 加标回收率测定结果

加标回收率试验结果表明(见表 1),在空白马铃薯块茎、植株和土壤样本中添加辛硫磷 0.05、0.50、5.0 mg/kg

3 个水平浓度,马铃薯块茎的回收率为 92.3%~102.4%,RSD 为 1.0%~2.5%;马铃薯植株的添加回收率为 98.5%~109.1%,RSD 为 1.4%~5.6%,在土壤中的添加回收率为 89.7%~104.3%,RSD 为 1.4%~2.1%。色谱图(见图 5~图 10)表明本方法对马铃薯和土壤中辛硫磷农药残留的测定具有灵敏度高、操作简单、定量准确、测定浓度范围广的特点,达到了国家规定的最低检测限量要求^[15]。

表 1 辛硫磷在马铃薯块茎、植株和土壤的添加回收率及 RSD
Table 1 Recoveries and RSDs of phoxim spiked in potato tuber, shoots and soil

样品	添加浓度(mg/L)	回收率 (%)						相对标准偏差 RSD(%)
		1	2	3	4	5	平均	
块茎	0.05	104.0	104.7	103.9	98.8	100.5	102.4	2.5
	0.5	93.9	91.4	93.5	91.2	91.5	92.3	1.4
	5.0	99.9	100.6	99.3	99.7	97.9	99.5	1.0
植株	0.05	103.8	112.9	105.0	107.9	115.9	109.1	4.7
	0.5	102.0	111.3	100.0	105.9	96.1	103.0	5.6
	5.0	99.3	98.4	96.5	98.3	100.2	98.5	1.4
土壤	0.05	89.9	88.6	92.1	90.2	87.6	89.7	1.9
	0.5	92.1	89.7	91.7	89.5	89.7	90.5	1.4
	5.0	105.8	105.6	104.7	105.1	100.5	104.3	2.1

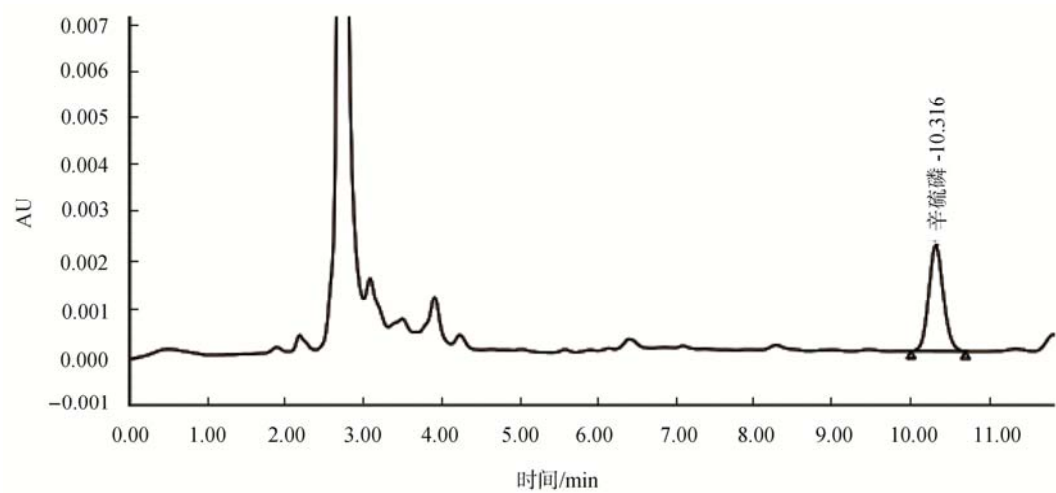


图 5 马铃薯块茎添加 0.05 mg/kg 辛硫磷的色谱图
Fig. 5 Chromatogram of potato tuber spiked phoxim at the level of 0.05 mg/kg

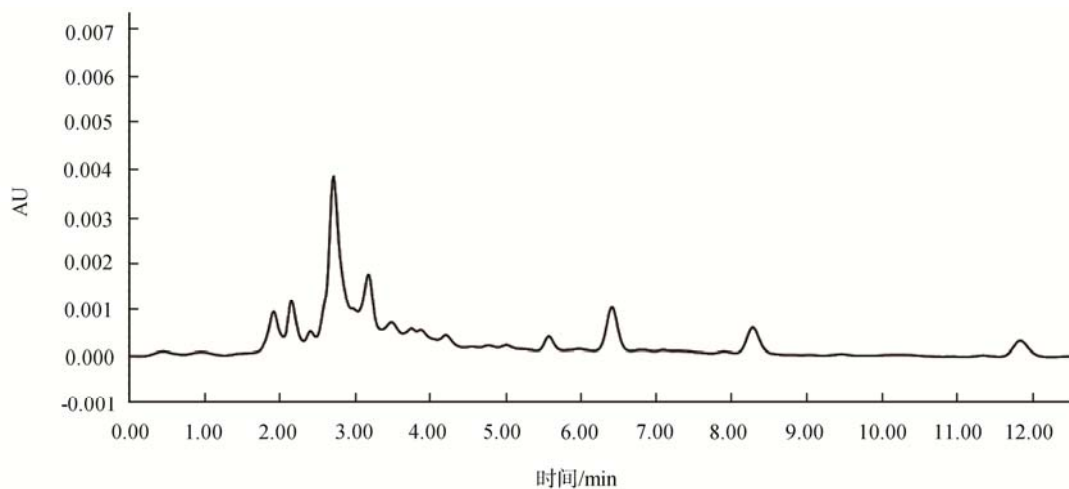


图 6 马铃薯块茎的空白色谱图

Fig. 6 Chromatogram of blank potato tuber

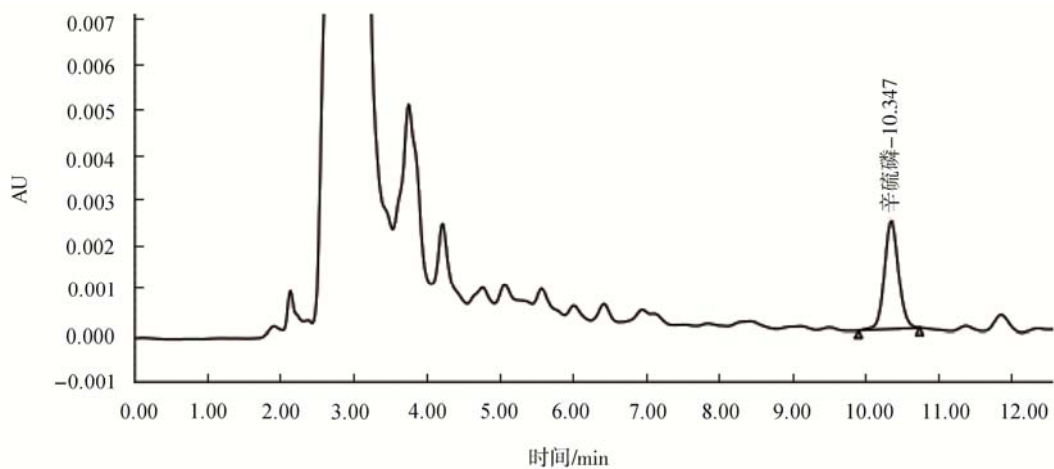


图 7 马铃薯植株添加 0.05 mg/kg 辛硫磷的色谱图

Fig. 7 Chromatogram of potato shoots spiked phoxim at the level of 0.05 mg/kg

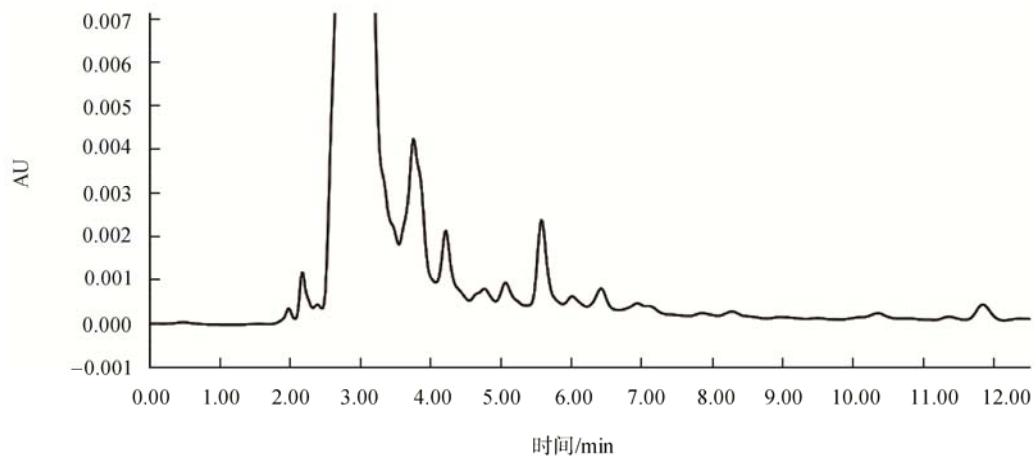


图 8 马铃薯植株的空白色谱图

Fig. 8 Chromatogram of blank potato shoots

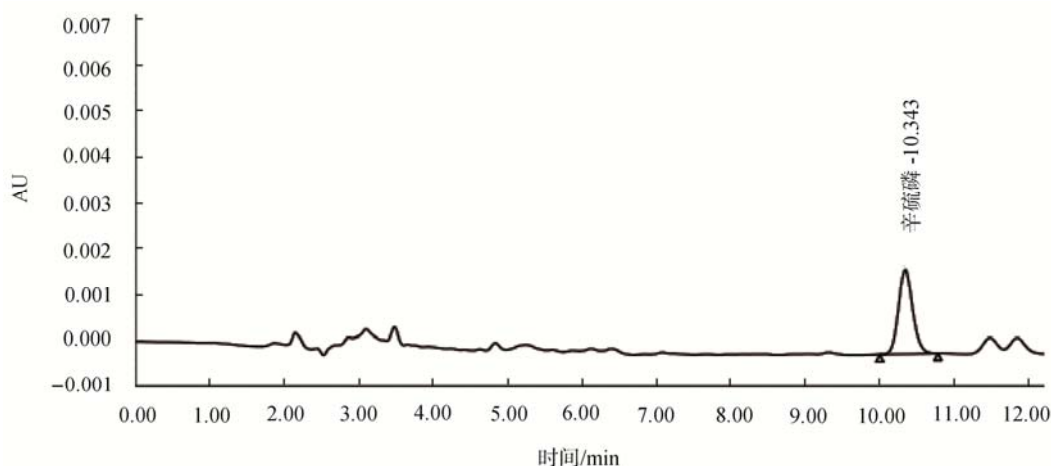


图9 马铃薯土壤添加 0.05 mg/kg 辛硫磷的色谱图

Fig. 9 Chromatograph of soil spiked phoxim at the level of 0.05 mg/kg

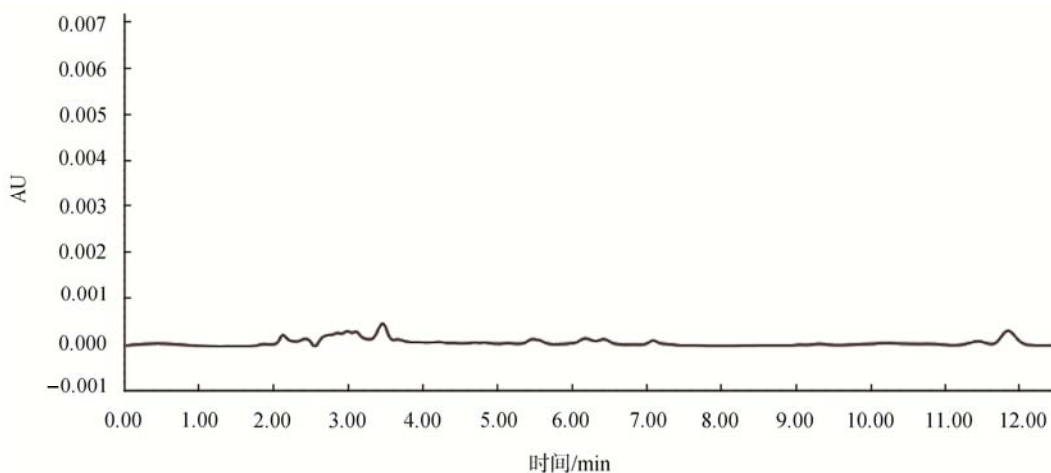


图10 土壤空白色谱图

Fig. 10 Chromatogram of blank soil

4 结 论

本研究建立了高效液相色谱测定马铃薯块茎、植株及土壤中辛硫磷残留的分析方法。该方法快速、重现性好,操作简便可行,精密度和回收率等都符合农药残留分析检测限量的要求,可用于马铃薯中辛硫磷残留量的测定,同时为其他农产品中辛硫磷的残留测定提供参考依据。

参考文献

- [1] 屈冬玉, 谢开云, 金黎平, 等. 中国马铃薯产业发展与食品安全[J]. 中国农业科学, 2005, 38(2): 358–362.
Qu DY, Xie KY, Jin LP, *et al.* Development of potato industry and food security in China [J]. *Sci Agric Sin*, 2005, 38(2): 358–362.
- [2] Munoz M, De PZM, Casas JA, *et al.* Assessment of the generation of chlorinated byproducts upon Fenton-like oxidation of chlorophenols at different conditions [J]. *J Hazardous Mater*, 2011, 190(1–3): 993.
- [3] Ni YN, Cao DX, Kokot S. Simultaneous enzymatic kinetic determination of pesticides, carbaryl and phoxim, with the aid of chemometrics [J]. *Anal Chim Acta*, 2007, 588(2): 131.
- [4] 黄子伦, 陈利标, 付丽华, 等. 有机膨润土辛硫磷缓释剂的制备和释放研究[J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2012, 37(5): 881–886.
Huang ZL, Chen LB, Fu LH, *et al.* Controlled release of phoxim from organobentonite based formulation [J]. *J Guangxi Univ (Nat Sci Ed)*, 2012, 37(5): 881–886.
- [5] 张治科, 李少南, 张蓉, 等. 辛硫磷在宁夏甘草及对应根际土壤中的残留及消解动态[J]. 西北农业学报, 2010, 19(2): 52–56.
Zhang ZK, Li SN, Zhang R, *et al.* Residues and degradation dynamics of phoxim in glycyrrhiza uralensis and rhizospheric soil in Ningxia [J]. *Acta Agric Boreali-Occident Sin*, 2010, 19(2): 52–56.
- [6] Peng GL, Lu Y, He Q, *et al.* Determination of 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol, phoxim and chlorpyrifos-methyl in water samples using a new

- pretreatment method coupled with high-performance liquid chromatography [J]. *J Sep Sci*, 2015, 38(24): 4204–4210.
- [7] 张冬冬, 孙佳鹏, 张忠宝, 等. 液相色谱-串联质谱法测定人参中辛硫磷残留量[J]. *吉林农业科技学院学报*, 2015, 24(2): 12–14
Zhang DD, Sun JP, Zhang ZB, *et al.* Determination of phoxim residue in Ginseng by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *J Jilin Agric Sci Technol Univ*, 2015, 24(2): 12–14.
- [8] 李爱军, 牟峻, 王明泰, 等. 液相色谱-串联质谱法测定粮谷中敌百虫、辛硫磷残留量[J]. *农药*, 2010, 49(8): 599–601.
Li AJ, Mu J, Wang MT, *et al.* Determination of trichlorfon and phoxim residue in cereal grains by liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Agrochemicals*, 2010, 49(8): 599–601.
- [9] 王梅, 段劲生, 孙明娜. 辛硫磷在甘蔗中的残留及消解动态研究[J]. *现代农药*, 2013, 12(5): 35–37.
Wang M, Duan JS, Sun MN, *et al.* Study on residues and degradation of phoxim in sugarcane [J]. *Mod Agrochem*, 2013, 12(5): 35–37.
- [10] 潘金菊, 梁林, 刘伟, 等. 分散固相萃取-气相色谱质谱法测定花生中辛硫磷的残留[J]. *农药科学与管理*, 2013, 34(6): 26–31.
Pan JJ, Liang L, Liu W, *et al.* Study on residues and degradation of phoxim in sugarcane [J]. *Pest Sci Admin*, 2013, 34(6): 26–31.
- [11] 吴惠勤, 王云玉, 蔡明招, 等. 气相色谱-质谱法分析辛硫磷过程中热分解产物的研究[J]. *分析实验室*, 2009, 28(2): 100–103.
Wu HQ, Wang YY, Cai MZ, *et al.* Study on decomposed products of phoxim in process of gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Lab*, 2009, 28(2): 100–103.
- [12] 贺敏, 戴荣彩, 余平中, 等. 小麦和土壤中辛硫磷残留量的液相色谱分析方法研究[J]. *华北农学报*, 2008, 23(2): 210–213.
He M, Dai RC, Yu PZ, *et al.* Residue analysis method of phoxim in wheat and soil by HPLC [J]. *Acta Agric Boreali-Sin*, 2008, 23(2): 210–213.
- [13] 贺敏, 贾春虹, 陈莉, 等. 高效液相色谱法测定大白菜中虫酰肼和辛硫磷的残留量[J]. *农药*, 2011, 50(12): 912–914.
He M, Jia CH, Chen L, *et al.* Analysis method for residue of tebufenozide and phoxim in cabbage by HPLC [J]. *Agrochemicals*, 2011, 50(12): 912–914.
- [14] 朱鲁生, 樊德方, 王军, 等. 甲氰菊酯和辛硫磷及其混合剂在土壤中的残留[J]. *植物营养与肥料学报*, 2002, 8(2): 244–247.
Zhu LS, Fan DF, Wang J, *et al.* Residue of fenprothrin, phoxim and their mixture in soils [J]. *Plant Nutr Fertilizer Sci*, 2002, 8(2): 244–247.
- [15] GB 2763-2014 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2014 National food safety standard-Maximum residue limits for pesticides in food [S].

(责任编辑: 姚 菲)

作者简介



王运儒, 硕士, 助理研究员, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: wangaa2008@163.com

农耀京, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: 255889212@qq.com