

# 高效液相色谱法同时测定烟草中 吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵的残留量

曹爱华<sup>1</sup>, 李义强<sup>1\*</sup>, 徐光军<sup>1</sup>, 孙惠青<sup>1</sup>, 李 晓<sup>2</sup>, 徐金丽<sup>1</sup>, 郑 晓<sup>1</sup>

(1.中国烟草总公司青州烟草研究所, 青岛 266101; 2.山东中烟工业公司技术中心, 济南 250100)

**摘 要:**用固相萃取-高效液相色谱法对烟草中吡虫啉(imidacloprid)、多菌灵(carbendazim)、甲基硫菌灵(thiophanate-methyl) 3种农药同时进行残留分析。用丙酮/水(1:1, V/V)提取, 二氯甲烷萃取, 紫外检测器分析, 检测波长为270 nm, 流动相为甲醇/水(60:40, V/V)。试验结果表明, 方法回收率吡虫啉为91.9%~97.1%, 相对标准偏差为3.97%~10.01%; 多菌灵为92.7%~99.9%, 相对标准偏差为3.15%~5.37%; 甲基硫菌灵为87.4%~95.3%, 相对标准偏差为3.05%~4.61%。该方法操作简便, 分离效果好, 准确度和精密度均达到定量分析要求。

**关键词:** 高效液相色谱法; 烟草; 吡虫啉; 多菌灵; 甲基硫菌灵

中图分类号: S435.72

文献标识码: A

文章编号: 1007-5119(2009)01-0031-04

## Determination of Imidacloprid, Carbendazim and Thiophanate-methyl in Tobacco by High Performance Liquid Chromatography

CAO Aihua<sup>1</sup>, Li Yiqiang<sup>1</sup>, XU Guangjun<sup>1</sup>, SUN Huiqing<sup>1</sup>, Li Xiao<sup>2</sup>, XU Jinli<sup>1</sup>, ZHENG Xiao<sup>1</sup>

(1. Qingzhou Tobacco Research Institute of CNTC, Qingdao 266101, China; 2. Technology Center of China Tobacco Shandong Industrial Corporation, Ji'nan 250100, China)

**Abstract:** The residues of three pesticides (imidacloprid, carbendazim, thiophanate-methyl) in tobacco leaves were analyzed by using high performance liquid chromatography. The samples were distilled by acetone/water ( $v/v=1:1$ ), extracted by dichloromethane and analyzed by using UV detector at 270nm. The liquid phase was methanol/ water(60:40). The analytical results showed that the recovery ratios of imidacloprid was 91.9%-97.1% and the relative standard deviations was 3.97%-10.01%, carbendazim was 92.7%-99.9% and the relative standard deviations was 3.15%-5.37%, thiophanate-methyl was 87.4%-95.3% and the relative standard deviations was 3.05%-4.61%. This method showed simple, good separation effect and high accuracy and precision met the demand of quantitative analysis.

**Keywords:** high performance liquid chromatography; tobacco; imidacloprid; carbendazim; thiophanate-methyl

吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵为烟草常用农药。吡虫啉<sup>[1-3]</sup>(imidacloprid)化学名称: 1-(6-氯吡啶-3-基甲基)-N-硝基亚咪唑烷-2-基胺, 属硝基亚甲基类广谱内吸性低毒杀虫剂, 具有胃毒和触杀作用。对烟草上的刺吸式口器害虫(如蚜虫、叶蝉、飞虱、蓟马和粉虱等)有较好的防治效果<sup>[4-5]</sup>。多菌灵<sup>[1-3]</sup>(carbendazim)化学名称: 苯并咪唑-2-基氨基甲酸甲酯; 甲基硫菌灵(thiophanate-methyl)化学名称:

1,2-二(3-甲氧羰基-2-硫脲基)苯, 这两种农药均属苯并咪唑类高效广谱低毒内吸性杀菌剂<sup>[6]</sup>。对子囊菌纲的某些病原菌和半知菌纲中的大多数病原真菌有效。对烟草根黑腐病、白粉病、蛙眼病等真菌病害都有很好的防治效果<sup>[4-5]</sup>。目前, 有关3种农药残留分析的报道较多<sup>[7-12]</sup>, 均为单个农药在作物中的残留分析。吡虫啉在烟草中的残留分析有过报道<sup>[9]</sup>, 但未见多菌灵、甲基硫菌灵在烟草中的残留分析报

基金项目: 国家烟草专卖局资助项目, 项目文号国烟科[2008]320号

作者简介: 曹爱华(1956-), 女, 实验师, 长期从事烟草农药残留分析研究。E-mail: cahycs@tom.com。\* 通讯作者, E-mail: liyiqiang1008@163.com

收稿日期: 2008-01-27

道。至今,国际上对烟草中多菌灵、甲基硫菌灵残留量的测定方法没有标准,我国也没有烟草中的残留分析方法,但在食品和其他作物中的残留分析方法有较多报道<sup>[10-13]</sup>。方法主要有:紫外分光光度法(260~290 nm)<sup>[14]</sup>、气相色谱法(氮磷检测器 NPD、火焰光度检测器 FPD)<sup>[15]</sup>、液相色谱法/紫外检测器(UV)<sup>[10-12]</sup>等。参考相关资料<sup>[9,11-13]</sup>经过反复试验改进后,确定采用高效液相色谱(HPLC)同时测定烟草中3种农药的残留分析方法。因为甲基硫菌灵在植物中经水解和闭环所形成的主要代谢物是多菌灵,因而目前甲基硫菌灵的残留量是以这两个化合物测得的残留量之和表示<sup>[14]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

农药标准品:吡虫啉(99.8%)、多菌灵(99.9%)、甲基硫菌灵(97.7%)。试剂:甲醇、丙酮、二氯甲烷(农残级,美国 Tedia 公司)、盐酸、氯化钠、无水硫酸钠(AR 分析纯,国药集团化学试剂公司)、SPE-Florisil 柱 1g 6mL(振翔公司)、弗罗里硅土(美国,650 °C 活化 4 h,5%去离子水脱活后,放入干燥器 24 h 后使用)、去离子水、对照烟叶样品。

仪器设备:高效液相色谱仪 Waters 2695;检测器:UV-Waters 2487;Empower 工作站;色谱柱:Vertisep AQS-C18 5 $\mu$ m 4.6  $\times$  250 mm (Vertical 公司)。

### 1.2 检测方法

1.2.1 样品提取 称取烟叶样品 5 g(精确至 0.01g),置于 250 mL 磨口三角瓶中,加入 100 mL 丙酮/水提取液(1:1, V/V),震荡提取 1 h,静置 1 h,过滤。量取滤液 50 mL,转入 250 mL 分液漏斗中,加入 25 mL 饱和 NaCl 溶液,用 50、40、30 mL 二氯甲烷分别萃取 3 次,合并二氯甲烷相,过无水硫酸钠除水,收集于 250 mL 平底烧瓶中,在旋转蒸发器(水浴温度 40 °C)上减压浓缩至近干,用 1 mL 二氯甲烷溶解,待净化。

1.2.2 样品净化 SPE-Florisil 层析柱,用 5 mL 丙酮/二氯甲烷(6:4, V/V)混合液预淋洗,待液面降至吸附层上表面时,立即加入上述 1 mL 提取残渣,

用 35 mL 丙酮/二氯甲烷(6:4, V/V)分数次洗涤平底烧瓶内残渣并转入层析柱,收集淋出液,在旋转蒸发器(水浴温度 40 °C)上减压浓缩至近干,用甲醇定容 2.5 mL,过 0.45  $\mu$ m 滤膜,待测定。

1.2.3 检测条件 波长:270 nm;流动相:甲醇/水(60:40, V/V);流速:0.8 mL/min;进样量:10  $\mu$ L。采用保留时间和紫外吸收光谱定性,外标法峰面积定量。

## 2 结果

### 2.1 线性关系、最小检出量、最低检出浓度

分别配制 0.5、1.0、2.5、5.0、10.0 mg/L 系列浓度的混合标准曲线工作液进行液相色谱分析,以进样质量浓度  $x$  (mg/L) 对仪器测定峰高  $y$  绘制标准曲线,其一元线性回归方程:吡虫啉为  $y = -256.5 + 7420.5x$ ,相关系数为  $r = 0.9999$ ;多菌灵为  $y = -428.4 + 3204.6x$ ,相关系数为  $r = 0.9997$ ;甲基硫菌灵为  $y = -5321 + 3482.0x$ ,相关系数为  $r = 0.9995$ (图 1、图 2)。按上述仪器测定条件确定吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵最小检出量分别为  $2 \times 10^{-11}$ 、 $4 \times 10^{-10}$  和  $5 \times 10^{-10}$  g,最低检出浓度分别为 0.002、0.003 和 0.004 mg/kg。

### 2.2 方法回收率和精密度

准确称取烟叶对照样品 5.0 g,分别添加不等量的 3 种农药标准品溶液,按上述方法提取、净化和测定。结果表明,平均回收率吡虫啉为 91.9%~97.1%,多菌灵为 92.7%~99.9%,甲基硫菌灵为 87.4%~95.3%。相对标准偏差分别为 3.97%~10.01%、3.15%~5.37%和 3.05%~4.61%。

### 2.3 试验条件的选择

2.3.1 吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵混合标样适宜波长的选择 从仪器检测色谱峰面积看,210 nm 和 220 nm 检测波长下,吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵测定数值较高,但分离效果不理想。从色谱峰面积、分离效果及色谱峰峰形三因素综合考虑,在 270 nm 波长下较理想,故采用 270 nm 波长作为本方法的检测波长(图 3)。

2.3.2 SPE 柱、层析柱淋洗溶剂及配比的选择 按上述提取方法,将对照烟叶样品提取液添加一定浓

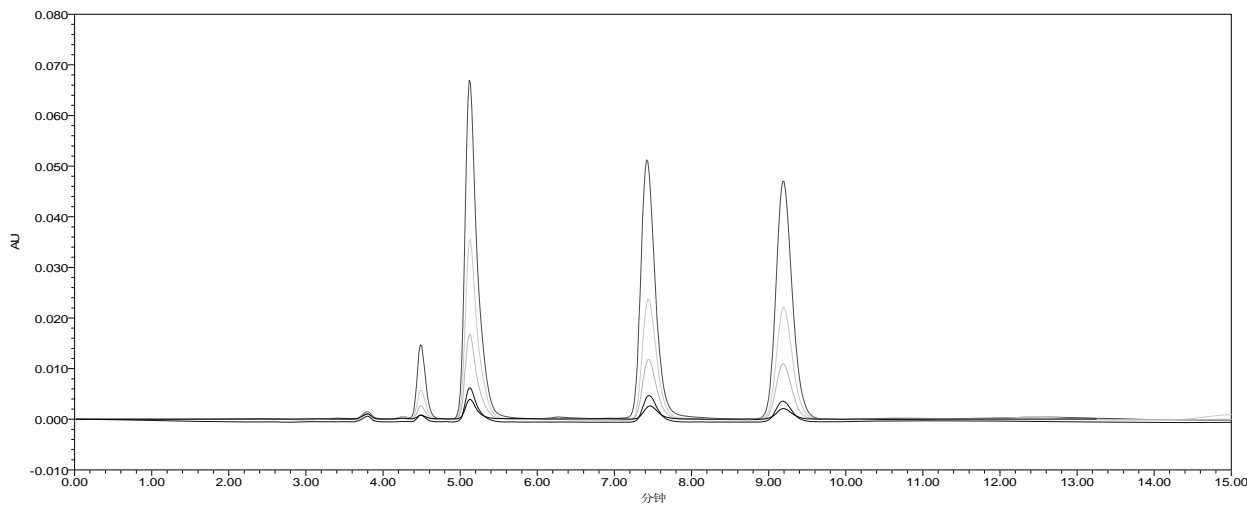


图 1 吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵标准曲线色谱峰图

Fig.1 The graphs of high performance liquid chromatography displaying imidacloprid, carbendazim, thiophanate-methyl

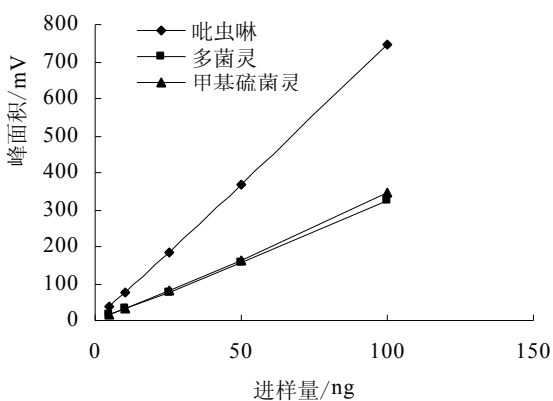


图 2 吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵标准曲线

Fig.2 The pesticides' standard curves

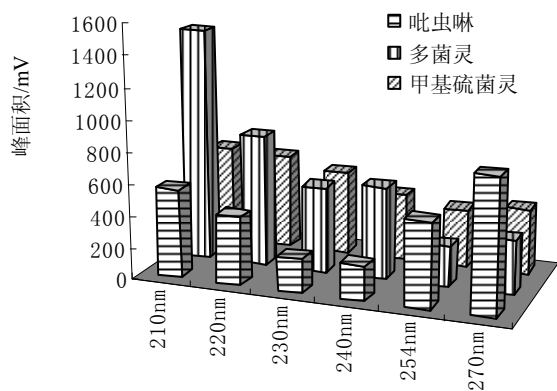


图 3 不同波长下吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵色谱峰面积比较

Fig.3 Area of pesticides' signal in different wavelength

度的 3 个农药标准品溶液，浓缩近干，用 1 mL 二氯甲烷溶解并转移至层析柱中（SPE-Florisil 层析柱，玻璃层析柱），用乙酸乙酯/二氯甲烷和丙酮/二氯甲烷的不同配比液淋洗层析柱，进行比较试验。结果表明，丙酮/二氯甲烷淋洗液洗脱效果优于乙酸乙酯/二氯甲烷，从 3 种农药成分洗脱均衡性考虑，以 6:4 配比为最好。

SPE-Florisil 层析柱用丙酮/二氯甲烷 6:4 配比液淋洗至 25 mL 时，吡虫啉和甲基硫菌灵回收率 100%，多菌灵回收率 97%，由于多菌灵在层析柱中吸附能力较强，将淋洗液增加至 35mL，使 3 种农药有效成分回收率均达到 100%。玻璃层析柱在用丙酮/二氯甲烷 6:4 配比液淋洗至 150 mL 时，吡虫啉和甲基硫菌灵回收率达到 100.1%，多菌灵回收率较低，淋洗至 230 mL 时 3 种农药成分均得到理想回收率。

### 3 讨论

用丙酮/水混合液同时提取烟草中吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵，SPE-Florisil 层析柱净化，净化速度快，节省劳动力及成本，减少环境污染，平均回收率 87.4%~99.9%，相对标准偏差在 3.05%~10.01%。

联合国粮农组织（FAO）规定，多菌灵在水果及蔬菜中最高残留限量(MRL)为 0.5~3.0 mg/kg<sup>[16]</sup>，甲基硫菌灵为 1.0~20.0 mg/kg<sup>[16]</sup>，CORESTA 指导

性残留限量 (GRL) 规定烟草上苯菌灵+多菌灵为 2.0 mg/kg、吡虫啉为 5.0 mg/kg。本方法的最低检出浓度吡虫啉为 0.002 mg/kg、多菌灵为 0.003 mg/kg、甲基硫菌灵为 0.004 mg/kg。用高效液相色谱同时测定烟草中吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵, 方法线性关系好, 相关系数均在 0.999 以上, 最低检出浓度符合农药残留检测要求。

## 4 结 论

本研究得出, 在同一条件下测定吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵 3 种农药成分, 其回收率、相对标准偏差、准确度和精密度符合要求, 且具有简便、快速、准确、分离效果好 (图 4) 等优点, 适合于烟草中吡虫啉、多菌灵、甲基硫菌灵的多残留分析。

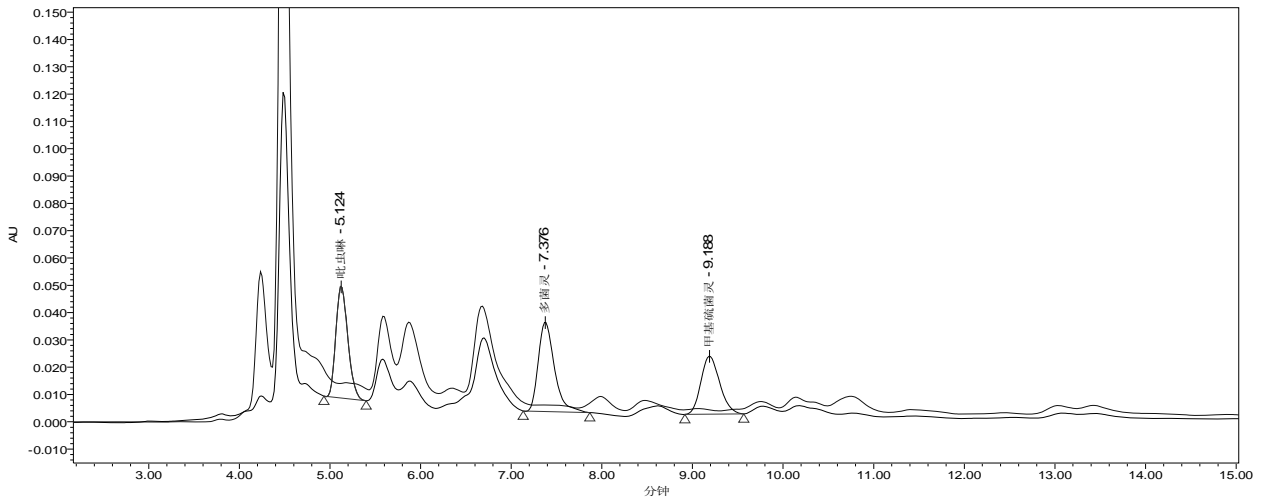


图 4 烟叶对照+烟叶添加

Fig.4 The graphs of tobacco leaves compared additional pesticides with blank control

## 参考文献

- [1] 赵桂芝. 百种新农药使用方法[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 73-75.
- [2] 岳钺. 农药新品种及使用[M]. 北京: 化学工业出版社, 1985: 180-193.
- [3] 化学工业部农药情报中心站. 国外农药品种手册(二). 1981: 1-4, 134-136.
- [4] 王刚, 王凤龙. 烟草农药合理使用技术指南[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 35-45.
- [5] 苏德成. 烟草栽培技术[M]. 北京: 科学普及出版社, 1999: 123-140.
- [6] 薛克富. 新型农药使用技术[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1997: 143-145.
- [7] NY/T 1275-2007 蔬菜、水果中吡虫啉残留量的测定[S]. 北京: 中国农业出版社, 2007.
- [8] YC/Y 182-2004 烟草及烟草制品——吡虫啉农药残留量的测定——高效液相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.
- [9] 曹爱华, 徐光军, 刘保安, 等. 烟草及土壤中吡虫啉的残留分析方法研究[J]. 中国烟草科学, 2001(4): 21-23.
- [10] GB/T 6697-1986 多菌灵原药含量分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1987.
- [11] 金劲松, 王玉平. 15%多菌灵·福美双悬浮种衣剂分析方法[J]. 农药科学与管理, 2004(11): 1-2.
- [12] 高国文, 刘育清, 朱家香. 液相色谱法检测柑橘中多菌灵残留的方法研究[J]. 农药科学与管理, 2006(5): 19-21.
- [13] 廖国会, 段婷婷, 秦立新, 等. 高效液相色谱同时测定蔬菜中多菌灵、甲基托布津残留量[J]. 贵州农业科学, 2005(4): 11-13.
- [14] GB/T5009.188-2003 蔬菜、水果卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [15] 黄土忠, 姚建仁. 农药多组分残留量气相色谱分析法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1991: 82-89.
- [16] 中华人民共和国农业部农药检定所. 农产品农药残留限量标准汇编[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 19-47.

(责任编辑 佟 英)