

# 固相萃取-高效液相色谱同时测定大米中的4种烟碱农药残留量

王毅谦 王玥 乙小娟 罗印

(张家港出入境检验检疫局,张家港 215600) (江苏大学,镇江 212000)

**摘要** 建立了高效液相色谱法同时测定大米样品中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清4种烟碱农药残留量的检测方法,对4种烟碱农药在ENVI-Florisil和Carb复合固相萃取柱上的保留行为进行了研究。样品用乙腈提取,固相萃取净化,HPLC-DAD分离检测,外标法定量。峰面积与标准溶液浓度在0.1~1.0 mg/L范围内呈良好的线性关系,相关系数大于0.9996。样品加标回收率为75.5%~96.0%,相对标准偏差为0.49%~4.36%(n=6),检出限达到0.004 mg/kg。

**关键词** 呋虫胺 噻虫胺 吡虫啉 吡虫清 液相色谱 固相萃取 大米

20世纪80年代中期由德国拜耳公司成功开发出第一个烟碱类杀虫剂——吡虫啉,其新颖的作用方式、选择毒性强、高效、广谱和对环境相容性好等特点,立即引起了人们的注意。烟碱类杀虫剂的作用机制是通过选择性控制昆虫神经系统烟碱型乙酰胆碱酯酶受体,阻断昆虫中枢神经系统的正常传导,从而导致害虫出现麻痹进而死亡<sup>[1]</sup>,可有效防治同翅目、鞘翅目、双翅目和鳞翅目等害虫,对用传统杀虫剂防治产生抗药性的害虫也有良好的活性。

从吡虫啉问世到目前为止,已有十几个产品商品化或即将商品化<sup>[1]</sup>,如呋虫胺(dinotefuran)、噻虫胺(clothianidin)、吡虫啉(imidacloprid)、啶虫脒(acetamiprid,又名吡虫清)等。日本规定大米中这4种烟碱类农药最高残留限量(MRLs)为0.01~2 mg/kg<sup>[2]</sup>。目前有文献报道用HPLC-MS/MS检测食品中的呋虫胺<sup>[3]</sup>;文献[4~6]报道用高效液相色谱法(HPLC)测定茶叶、蔬菜、水果中吡虫啉的残留;文献[6~10]检测蔬菜、茶叶和水果中吡虫啉或啶虫脒;文献[11]报道了HPLC-MS/MS法检测茶叶中6种烟碱农药。目前尚未见液相色谱法同时检测大米中4种烟碱类杀虫剂的报道。笔者对大米中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清的测定方法进行了研究,考察了不同浓度的呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清在Florisil-Carb复合固相萃取柱上的保留行为,建立了采用高通量柱液相色谱同时测定大米样品中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清残留量的检测方法,该法各项指标满足农残检测的要求。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪:HP1200型,配DAD检测器,

美国安捷伦科技公司;

旋转蒸发器:R200型,美国Buchi公司;

超声波清洗器:KQ-500D型,昆山市超声仪器有限公司;

SPE小柱处理系统:美国Supelco Park公司;

固相萃取柱:Superclean ENVI-Florisil型、Superclean ENVI-Carb型,均为3 mL,500 mg;

呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清标准品:纯度不小于97%,Germany Dr. Ehrenstorfer GmbH Company;

乙腈:HPLC级;

正己烷:农残级,进口;

丙酮:紫外光谱纯;

氯化钠:分析纯,于140℃烘烤4 h,置于干燥器内备用。

### 1.2 提取方法

称取25 g粉碎大米试样,置于250 mL具塞锥形瓶中,加30 mL水浸泡15 min,准确加入乙腈50 mL,振荡提取30 min后过滤,滤液收集到装有5~7 g氯化钠的100 mL具塞量筒中,收集滤液60~80 mL,盖上塞子,剧烈震荡,静置,使乙腈相和水相分层,从100 mL具塞量筒中吸取25.00 mL乙腈溶液,放入125 mL心型瓶中,用旋转蒸发仪于50℃以下浓缩至近干。用1 mL丙酮溶解残渣,待残渣完全溶解后加入9 mL正己烷,混匀,待净化。

### 1.3 样品净化

将Florisil和Carb固相萃取柱用连接头上下串联起来,5 mL正己烷预淋洗,将1.2制备的溶液移

入 Florisil 和 Carb 的复合柱中, 弃去流出液, 然后用 10 mL 体积比 1:1 的丙酮 - 正己烷淋洗柱子, 收集 15 mL 淋洗液, 用旋转蒸发仪在 50℃ 以下浓缩至近干, 用体积比 3:7 的乙腈 - 水定容至 1 mL, 经 0.22 μm 过滤器过滤至样品瓶内, 待测。

#### 1.4 标准溶液配制及标准曲线

准确称取适量的呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清标准品, 用乙腈配制成 100 mg/L 的标准储备液, 用体积比 3:7 的乙腈 - 水将储备液稀释成 0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.0 mg/L 的混合标准溶液系列。按选定色谱条件进样, 以混合标准溶液中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清的浓度( $X$ )和组分色谱峰面积( $Y$ )绘制标准曲线, 得到线性方程为  $Y = AX + B$ , 样品浓度线性范围在 0.1 ~ 1.0 mg/L 之间, 呋虫胺标准曲线:  $Y = 3.359X + 0.043$ ,  $r = 0.99964$ ; 噻虫胺标准曲线:  $Y = 3.654X + 0.042$ ,  $r = 0.99979$ ; 吡虫啉标准曲线:  $Y = 4.313X + 0.049$ ,  $r = 0.99975$ ; 吡虫清标准曲线:  $Y = 4.211X + 0.072$ ,  $r = 0.99964$ 。

#### 1.5 色谱条件

色谱柱: XDB C<sub>18</sub> 柱 (4.6 mm × 50 mm, 1.8 μm); 色谱柱温度: 25℃; 流动相: A 为 0.2% 甲酸水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱程序: 0 min 时, 5% B, 1.5 min 时, 线性增加至 35% B, 保持到 3.5 min, 再升至 75%, 4.5 min 结束, 之后进行系统平衡, 平衡时间为 2 min; 流速: 2 mL/min; 进样量: 2 μL; 检测波长: 258 nm; 采集时间: 0.01 min。

### 2 结果与讨论

#### 2.1 样品提取剂的选择

烟碱类农药属于极性物质, 易溶于甲醇、乙腈等<sup>[11]</sup>。试验以乙腈为溶剂进行了提取, 结果表明, 用乙腈提取样品, 不仅可以减少大米中油脂的提取量, 而且烟碱类农药的回收率也能满足要求。为了更好地保证乙腈渗入大米中, 在大米中先加入适量的水浸润大米样品, 使其细胞完全涨开, 再加入乙腈震荡, 可提高提取效率。

#### 2.2 固相萃取柱的选择

Florisil 属于正相固相萃取柱, 对极性较强的化合物吸附力较强, 是从有机基体中去除或分离极性物质的理想之选, 它可以有效地吸附样品中的脂肪酸和叶黄素<sup>[12]</sup>。选用 Florisil 柱净化, 用体积比 1:9 的丙酮 - 正己烷溶解提取液残渣, 采用体积比为 1:1 的正己烷 - 丙酮洗脱, 洗脱液中仍有黄色色素存在,

污染色谱柱, 缩短色谱柱的使用寿命。通过使用 Florisil 和 Carb 混合净化柱净化, 色素被活性炭吸附, 减少了色素的干扰。当收集洗脱液 15 mL 时, 可以完全将呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清 4 种烟碱农药洗脱下来。

但是直接用 10 mL 体积比为 1:9 的丙酮 - 正己烷溶解提取液残渣, 再用弗罗里硅土和活性炭混合净化柱净化, 4 种农药的回收率均小于 60%; 改用 1 mL 丙酮溶解提取液残渣, 再加入 9 mL 正己烷混匀净化, 回收率符合实验要求。这可能是由于烟碱农药的极性大, 体积比为 1:9 的丙酮 - 正己烷不能完全溶解样品提取液残渣中呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清的缘故。

#### 2.3 检测波长的选择

对于紫外 - 可见检测器, 检测时一般选择对样品有最大吸收的波长, 以获得最大的灵敏度和抗干扰能力。对标样进行了光谱扫描, 呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清分别在 270、260、270、250 nm 处有最大吸收。综合考虑 4 种农药同时检测的灵敏度, 当检测波长设定为 258 nm 时, 相同浓度的呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清标准溶液能够获得相似的灵敏度, 最终选择 258 nm 作为检测波长。标准溶液色谱见图 1。

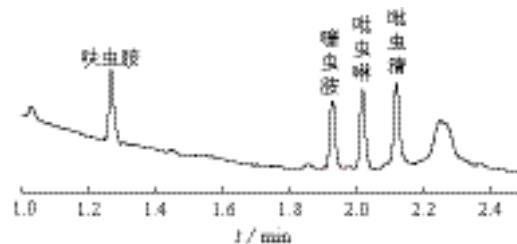


图 1 标准溶液色谱图

#### 2.4 流动相的优化

在等度反相分离时, 通过对标准溶液的试验表明, 当乙腈 - 水体积比为 35:65 左右时, 检测的灵敏度达到最佳, 但呋虫胺峰型较差。当使用 0.2% 甲酸为流动相 A, 起始梯度为 95A + 5% B 时, 峰型改善, 1.5 min 后梯度上升至 35% B, 在所使用的梯度条件下, 可将所有色谱峰在 2.5 min 左右达到基线分离, 整个分析 4.5 min 结束。

#### 2.5 溶剂效应

使用纯乙腈作定容溶剂时, 由于样品溶剂强度大于乙腈 - 水流动相, 呋虫胺的峰形拖尾, 这会引起谱峰展宽和变形而导致定量不准确, 而后面的 3 个峰不受影响, 溶解样品有机相比例远远大于起始流

动相中有机相比例时,色谱峰(尤其是较早洗脱的色谱峰)会有展宽现象。笔者在乙腈中加入一定量的水调节溶剂强度,峰形窄而对称,峰形得到明显改善。将体积比3:7的乙腈-水作为样品溶剂进样进行试验,结果表明,进样量大时呋虫胺的峰明显拖尾,因此将进样量定为2 μL。

### 2.6 回收率及精密度试验

在选定的色谱条件下,以噪声的10倍峰高所对应的呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清含量为检出限,计算出该方法的呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉和吡虫清的检出限均为0.004 mg/kg。

称取3份不含呋虫胺、噻虫胺、吡虫啉、吡虫清的大米样品,分别添加浓度为10 μg/mL的混合标准溶液0.025、0.05、0.10 mL,每份样品按样品检测方法重复检测6次,测得结果见表1。大米加标色谱图见图1。

表1 回收率和精密度试验结果( $n=6$ )

化合物名称	加入量/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	平均测得值/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
呋虫胺	0.01	0.0094	94.0	2.48
	0.02	0.0176	88.0	1.61
	0.04	0.0347	87.5	0.57
噻虫胺	0.01	0.0090	90.0	3.80
	0.02	0.0158	79.0	1.57
	0.04	0.3500	87.5	0.49
吡虫啉	0.01	0.0096	96.0	3.91
	0.02	0.0151	75.5	3.55
	0.04	0.3590	89.8	2.82
吡虫清	0.01	0.0093	93.0	3.64
	0.02	0.0189	94.5	4.36
	0.04	0.3670	91.8	1.01

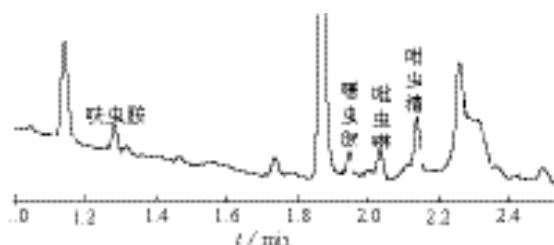


图2 大米加标(0.01 mg/kg)色谱图

### 3 结语

采用液相色谱法同时测定了大米中4种烟碱农药。所建立的方法简便快速,2.5 min内在色谱柱上即可达到4种农药完全分离;该法准确度和精密度高;方法灵敏度高,检出限达到0.004 mg/kg。方法可满足进出口大米中4种烟碱农药的检测要求。

### 参考文献

- [1] 张国生,侯广新.烟碱类杀虫剂的应用、开发现状及展望[J].农药科学与管理,2004,25(3):22-26.
- [2] 国家质检总局标准法规中心组织翻译.日本肯定列表制度食品中农业化学品残留限量(食品卷)[M].北京:中国标准出版社,2006:24.
- [3] 李立,付建,初玉圣,等.食品中呋虫胺残留量的HPLC-MS/MS检测方法研究[J].食品科学,2008,29(11):538-540.
- [4] 汤富彬,刘光明,罗逢健,等.茶叶中吡虫啉残留量的HPLC测定方法[J].农药,2004,43(12):561-562.
- [5] 刘承兰,刘丰茂,李莉,等.高效液相色谱法测定芦笋中多菌灵和吡虫啉残留[J].农药学学报,2004,6(4):93-96.
- [6] 陈黎,王金芳,杜鹏,等.韭菜中吡虫啉和啶虫脒残留的微波处理-逆固相分散法净化及液相色谱检测[J].分析化学,2008,36(10):1364-1368.
- [7] 谢文,丁慧瑛,蒋晓英.液相色谱-串联质谱检测蔬菜和茶叶中吡虫啉的残留量[J].色谱,2006,24(6):633-635.
- [8] Pous X, Ruiz M J, Picó Y, et al. Determination of imidacloprid, metalaxyl, myclobutanil, propham, and thiabendazole in fruits and vegetables by liquid chromatography - atmospheric pressure chemical ionization - mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2001, 371(2): 182-189.
- [9] Sannino A, Bolzoni L, Bandini M J. Application of liquid chromatography with electrospray tandem mass spectrometry to the determination of a new generation of pesticides in processed fruits and vegetables[J]. Chromatogr A, 2004, 1036: 161-169.
- [10] 谢文,丁慧瑛,蒋晓英,等.液相色谱-串联质谱检测蔬菜和茶叶中吡虫啉的残留量[J].色谱,2006,24(6):633-635.
- [11] 谢文,钱艳,丁慧瑛,等.液相色谱-电喷雾电离三级四极杆质谱法测定茶叶中6种烟碱类农药残留[J].分析化学,2009,37:495-499.
- [12] 林谷园,张金虎,赵建晖,等.固相萃取-气相色谱-质谱联用法检测进出口蔬菜产品中百菌清残留[J].福建分析测试,2009,18(4):13-16.

## DETERMINATION OF FOUR KIND OF NEONICOTINOID RESIDUES IN RICE BY SOLID PHASE EXTRACTION HPLC

Wang Yiqian, Wang Yue, Yi Xiaojuan

Luo Yin

(Zhangjiagang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhangjiagang 215600, China) (Jiangsu University, Zhenjiang 212000, China)

**ABSTRACT** Reverse phase high performance liquid chromatography method was developed for the determination of dinotefuran, clothianidin, imidacloprid and acetamiprid residues in rice. The retention behaviors of dinotefuran, clothianidin, imidacloprid and acetamiprid on the ENVI-Florisil and carb were investigated. Neonicotinoid residues were extracted from the sample with acetonitrile, then were cleaned up with a SPE tube. The target was separated in an XDB-C<sub>18</sub> column and detected with a DAD detector, external

standard method to quantify. There was a good linear correlation between the peak areas and concentration of the four neonicotinoid residues in the range of 0.1–1.0 mg/L with the calibration coefficient more than 0.999 6. The average recoveries in samples were 75.5%–96.0%. The relative standard deviation were 0.49%–4.36% ( $n=6$ ) and the detection limit was 0.004 mg/kg.

**KEYWORDS** dinotefuran, clothianidin, imidacloprid, acetamiprid, high performance liquid chromatography, solid phase extraction, rice

### 我国南极极区空间环境实验室建成并投用

2009 年 10 月至 2010 年 4 月间,中国成功开展第 26 次南极科学考察,在冰川、天文、地质、海洋、高空物理等科研领域取得突破性进展。

#### (1) “冰盖之巅”再创浅冰芯钻探新纪录

南极冰芯直接记录着远古时代的大气组成,蕴藏着珍贵的古气候和古环境信息。此次考察中,考察队员经过近 20 天的不懈努力,在南极“冰盖之巅”——海拔 4 093 m 的冰穹 A 地区钻取了一支超过 130 m 长的冰芯,创造了冰穹 A 地区浅冰芯钻探的新纪录。通过研究这支冰芯,可以追溯过去五六千年以来的地球环境变化。

同时,为今后在冰穹 A 地区钻取地下 3 000 多米处的深冰芯,开展 100 万年时间尺度内的全球变化研究,此次考察队在昆仑站附近建成了深冰芯钻探场地,这标志着我国在南极冰盖的深冰芯钻探即将拉开序幕。

#### (2) 南极昆仑站开辟天文观测新“窗口”

在天文学家眼中,冰穹 A 地区很可能是南极地区最好的天文观测台址。此次,考察队在中国南极昆仑站的天文观测站成功安装了一台频谱范围更宽的太赫兹傅立叶频谱仪,为我国在冰穹 A 地区开展天文观测开辟了新窗口。此外,考察队员还安装了“月光闪烁仪”等新的天文观测设备,并为下一次南极考察安装“施密特望远镜阵”完成了地基准备工作。

#### (3) 陨石采集、冰下地形测绘取得重大突破

格罗夫山地区是南极大陆上极少数有山脉峰峦凸露于冰盖的地区之一,此次南极考察是我国第五次派出队员对这一地区开展地质、测绘、冰川、环境、陨石回收等多学科综合考察。考察队共采集陨石 1 618 块,总重量约为 17 kg,使我国的南极陨石拥有量累计达到 11 452 块。考察队员还在格罗夫山地区发现了新的陨石分布区。

此外,测绘学者在此次考察中首次探测出格罗夫山局部地区的冰下地形,初步揭开了这一冰原岛峰地貌形态的神秘面纱。

#### (4) 首次独立建成南极永久性验潮站

考察队在中国南极中山站附近海域建立了一座数据实时传输永久性验潮站,这是我国首次独立建成的南极永久性验潮站,为我国监测南极海平面变化、开展全球气候变化研究提供了重要的支撑平台。

#### (5) 首次应用无人机开展大范围南极海冰观测

考察期间,科考队员首次在南极应用无人机“雪燕”进行了大范围海冰观测实验。“雪燕”搭载传感器设备在南极

中山站附近 40 km 海域内累计自主飞行 39 个架次、20 余小时,获得了清晰的海冰形态图像和精确的海冰观测数据,为“雪龙号”破冰航行提供了参考。

#### (6) 中山站极区空间环境实验室基本建成

我国极地考察“十五”能力建设项目的重要内容之一——南极中山站极区地球空间环境实验室在此次考察期间基本建成,并已正式投入越冬观测。该实验室的建成,将使中山站对极区地球空间环境的探测范围由极隙区、极光带扩展到极盖区,可探测到的自然现象覆盖电离层和磁层,探测要素包含极光、电离层参数和空间等离子体波等关键要素,使南极中山站成为自主性更强、国际一流的极区地球空间环境观测站。

#### (7) 首次开展大范围南极地物光谱采集

光谱反射数据是研究地面物质特性的基本遥感资料。此次考察首次在南极长城站、中山站周边大范围开展了光谱测量工作,获得有关南极雪、冰、岩石、湖水、地衣等地面物质的大量光谱反射数据和图片资料。这些现场资料不仅有助于增加人们对南极地物反射特性的了解,也为我国编绘出首张高分辨率南极陆地“景观图”、精确展现南极洲地物分布情况提供了有力支持。

#### (8) 首次在南大洋自主成功布放和回收潜标系统

考察期间,考察队在南极第三大湾普里兹湾海域成功布放、回收一套潜标系统,该系统对南大洋的温度、盐度、流速等数据进行了为期两个月的持续观测,获取了理想的观测数据和样品。这是我国首次在南极成功布放并回收潜标系统,对于开展南极大陆周边海域海洋、海冰、大气之间的相互作用研究具有重要意义。

(高卓)

#### 扣式电池进出口将实施汞含量专项检测

进出口锌-氧化银、锌-空气、锌-二氧化锰扣式电池(下称扣式电池)将于 7 月 1 日起实施汞含量专项检测。

此前,进出口扣式电池尚无汞含量限值国家标准,因此暂不实施汞含量检测,但必须办理备案手续。2009 年 9 月 30 日,国家质检总局和国家标准委联合发布《锌-氧化银、锌-空气、锌-二氧化锰扣式电池中汞含量的限制要求》,该标准将于 2010 年 7 月 1 日实施,含汞量小于等于 0.005 mg/g 属于无汞电池,含汞量小于等于 20 mg/g 属于含汞电池,超出此标准限值属于不合格电池。

根据《进出口电池产品汞含量检验管理办法》规定:检验检疫机构对进出口电池产品实行备案和汞含量专项检测制度,未经备案或汞含量检测不合格的电池产品,不准进口或出口。

(高晨)