

张晓强,包素萍,武中平,等. 2 种 HPLC 法联用技术同时检测 13 种农业杀虫剂[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):296-298.

2 种 HPLC 法联用技术同时检测 13 种农业杀虫剂

张晓强,包素萍,武中平,顾爱国,王 莉,朱利利,曹 磊
(江苏省产品质量监督检验研究院,江苏南京 210007)

摘要:分别采用甲醇-水体系、乙腈-水体系作为流动相,建立了 2 种液相色谱条件,用于同时检测吡虫啉、啉虫脒、克百威、氟虫脒、氯虫苯甲酰胺、溴虫脒、辛硫磷、毒死蜱、阿维菌素、吡蚜胺、噻嗪酮、哒螨灵、丁硫克百威等 13 种农业杀虫剂的含量。结果表明,这 2 种方法不但可以从定性角度判断农药中是否添加了上述组分,同时还可以对添加组分进行定量分析,且精密度、添加回收率较高。

关键词:杀虫剂;HPLC;隐性成分;

中图分类号:TQ450.7 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)07-0296-03

目前,部分国产农药产品中添加隐性成分几乎成了行业内“公开的秘密”,究其原因,主要是不法企业为了牟取非法利润,在当前监管不到位的情况下铤而走险的行为^[1-3]。隐性成分可能涉及的品种很多,目前还缺乏高效且准确的检测方法,导致监督检测隐性成分难度大、成本高,从而影响了监管机构的执法力度。目前,关于农药产品中的隐性成分特别是同时检测多种杀虫剂隐性成分的检测方法还鲜有报道。本研究分别采用甲醇-水体系、乙腈-水体系作为流动相,建立了 2 种液相色谱条件,用于同时检测吡虫啉、啉虫脒、克百威、氟虫脒、氯虫苯甲酰胺、溴虫脒、辛硫磷、毒死蜱、阿维菌素、吡蚜胺、噻嗪酮、哒螨灵、丁硫克百威等 13 种农业杀虫剂的含量,旨在为监管机构监督检测农药制剂中是否含有上述组分作为隐性成分提供依据。

1 材料与与方法

1.1 仪器

Agilent 1100、1200 系列高效液相色谱仪,Millipore 超纯水制备系统,超声波清洗器。

吡虫啉、啉虫脒、克百威、氟虫脒、氯虫苯甲酰胺、溴虫脒、辛硫磷、毒死蜱、阿维菌素、吡蚜胺、噻嗪酮、哒螨灵、丁硫克百威(含量均≥99.0%)等 13 种杀虫剂标准品;甲醇、乙腈(溶剂)均为色谱纯;超纯水。

1.3 色谱条件

1.3.1 甲醇-水体系 色谱柱:250 mm×4.6 mm Agilent Zorbax-C18(5 μm)不锈钢柱;甲醇-水体系流动相洗脱梯度见表 1。流速:0.8 mL/min;柱温:25℃;检测波长:220 nm;进样量:10 μL。保留时间:吡虫啉 6.2 min,啉虫脒 7.5 min,克百威 14.8 min,氯虫苯甲酰胺 21.9 min,氟虫脒 28.9 min,辛硫磷 31.8 min,溴虫脒 34.1 min,吡蚜胺 35.7 min,噻嗪酮 36.2 min,毒死蜱 37.9 min,哒螨灵 41.1 min,阿维菌素 42.6 min,丁硫克百威 43.0 min。混合标样液相色谱分离图见图 1。

表 1 甲醇-水体系流动相洗脱梯度

时间(min)	甲醇含量(%)	水含量(%)
0	42.0	58.0
30	85.0	15.0
40	95.0	5.0
45	95.0	5.0
46	42.0	58.0
55	42.0	58.0

收稿日期:2013-09-21

基金项目:国家质检总局科技计划(编号:2012QK191)。

作者简介:张晓强(1976—),男,江苏泰州人,硕士,高级工程师,从事农药分析方法研究。E-mail:walele210@163.com。

通信作者:包素萍,研究员,从事农药分析方法研究。Tel:(025)84470312;E-mail:bsp0909@126.com。

表 2 SPME-GC-FPD 检测 9 种有机磷农药在库尔勒香梨样品中的平均回收率及 RSD 值(n=5)

农药	添加量(mg/kg)		回收率(%)		RSD(%)
	浓度 1	浓度 2	浓度 1	浓度 2	
敌敌畏	0.5	0.1	78.4	72.1	3.25
甲胺磷	0.5	0.1	75.2	74.3	5.12
甲拌磷	0.5	0.1	81.3	84.5	4.36
二嗪磷	0.5	0.1	84.1	90.3	3.78
乐果	0.5	0.1	73.2	76.9	5.63
毒死蜱	0.5	0.1	87.6	93.5	2.14
甲基对硫磷	0.5	0.1	73.8	78.4	4.71
马拉硫磷	0.5	0.1	75.9	80.2	3.56
杀螟硫磷	0.5	0.1	71.8	73.6	5.83

方法具有快速、简便、节省溶剂的特点,其回收率和精密度较好,能满足快速检测农药残留工作的基本需要。

参考文献:

[1]高启明,李 疆,李 阳. 库尔勒香梨研究进展[J]. 经济林研究,2005,23(1):79-82.

[2]郭铁群. 库尔勒香梨病虫害发生趋势及综合治理研究[J]. 新疆农业科学,2002,39(1):27-30.

[3]邓慧君,南更明. 库尔勒香梨主要病虫害及其防治技术[J]. 中国果树,2001(5):37-40.

[4]夏 阳,刘俊亭. 固相微萃取法(SPME)在农药残留分析中的应用[J]. 农药,2002,41(3):15-16.

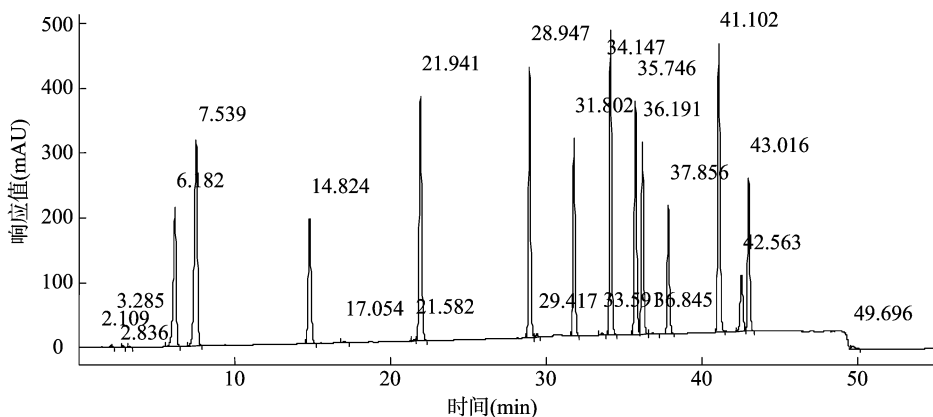


图1 13种杀虫剂混合标样HPLC色谱图(甲醇-水体系)

1.3.2 乙腈-水体系 色谱柱:250 mm×4.6 mm Supelco Discovery C18(5 μm)不锈钢柱;乙腈-水流动相洗脱梯度见表2。流速:1.0 mL/min;柱温:25℃;检测波长:220 nm,进样量:10 μL。保留时间:吡虫啉 8.4 min,啶虫脒 9.5 min,克百威 16.7 min,氯虫苯甲酰胺 22.9 min,氟虫腈 33.6 min,辛硫磷 36.8 min,吡蚜胺 38.0 min,溴虫腈 40.7 min,毒死蜱 42.4 min,噻嗪酮 43.1 min,阿维菌素 45.2 min,哒螨灵 46.4 min,丁硫克百威 52.0 min。混合标样液相色谱分离图

表2 乙腈-水流动相洗脱梯度

时间(min)	乙腈含量(%)	水含量(%)
0	20.0	80.0
55	95.0	5.0
56	20.0	80.0
70	20.0	80.0

见图2。

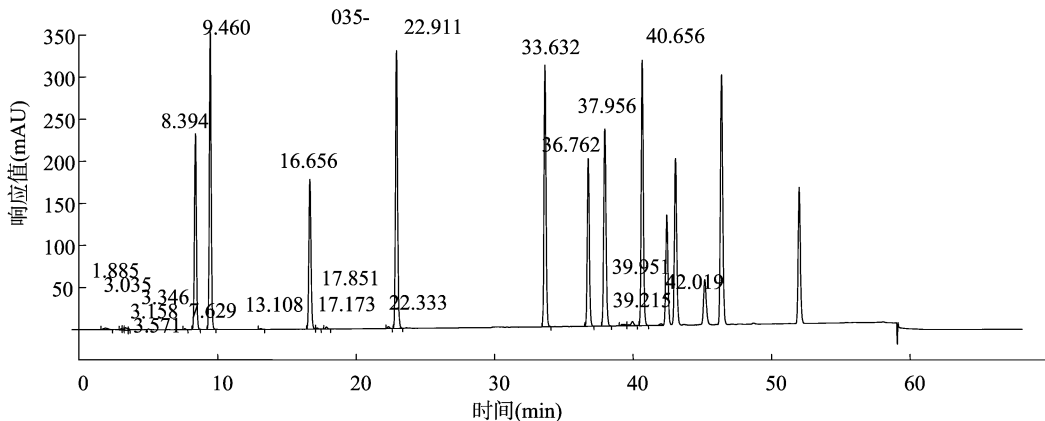


图2 13种杀虫剂混合标样HPLC色谱图(乙腈-水体系)

1.4 测定步骤

1.4.1 标样溶液的配制 称取13种杀虫剂标准品各0.050 g(均精确到0.000 2 g),置于50 mL容量瓶中,加入20 mL甲醇超声溶解,冷却后用甲醇定容,摇匀,作为标样溶液A备用。分别移取2、4、6、8、10 mL标样溶液A置于5个100 mL容量瓶中,用甲醇定容后,摇匀,0.45 μm微孔滤膜过滤,配制浓度分别为20、40、60、80、100 mg/L的标样溶液,并制作标准曲线。

1.4.2 样品溶液的配制 称取含有效成分0.050 g(精确到0.000 2 g)的试样置于100 mL容量瓶中,加入30 mL甲醇超声溶解,冷却后用甲醇定容,摇匀,0.45 μm微孔滤膜过滤后用于测试其隐性成分。若某样品的有效成分在上述13种杀虫剂范围内,则移取5 mL样品溶液A于50 mL容量瓶中,用甲醇定容后摇匀,用0.45 μm微孔滤膜过滤后测试其有效成分含量。

1.4.3 有效成分或隐性添加成分含量测定 在上述2种稳

定的色谱条件下,分别注入20、40、60、80、100 mg/L标准溶液10 μL各2针,采用二极管阵列检测器采集紫外光谱图。以各组分峰面积的平均值为纵坐标,对应的浓度为横坐标作图,可得到2种色谱条件下13个组分的标准曲线。在上述2种稳定的色谱条件下,连续注入2针试样溶液A或试样溶液B进行测定,同时采用二极管阵列检测器采集紫外光谱图。分别与标样溶液、样品溶液的HPLC色谱图进行对比,若样品溶液中某组分的保留时间以及紫外光谱图与对应条件下的标样溶液中某标样组分的均相同,则可判定该杀虫剂中含有该组分(有效成分或隐性添加成分),进而得出样品中该组分(有效成分或隐性添加成分)的质量分数。

2 结果与分析

2.1 色谱条件

2.1.1 流动相的选择 因为本研究中杀虫剂品种较多,彼此

间物化性质差异大,在恒定流速下不管选用何种流动相均不可能实现各组分的完全分离。所以,分别采用甲醇-水、乙腈-水系统作为流动相,试验了多个梯度洗脱条件,最终优化出表 1、表 2 所述的梯度洗脱条件,可实现所有组分的完全分离,保留时间、峰面积的重现性很好,2 种流动相体系下 13 种杀虫剂组分的出峰顺序有所不同(图 1、图 2)。

2.1.2 检测波长的选择 用 40 mg/L 13 种杀虫剂混合标样溶液在“1.3.1”所述的色谱条件下进样分析,利用色谱工作站数据采集系统同时采集 220、230、250、270、290 nm 的 HPLC 谱图,同时采集 190~400 nm 波长范围内各组分的紫外光谱吸收曲线。考虑到各组分均要有恰当的响应以保证足够的灵敏度及稳定性,最终确定 220 nm 为检测波长。

2.2 分析方法的线性相关性试验

将“1.4”所述的 5 个浓度标准溶液在“1.3”所述色谱操作条件下进样分析,记录测定结果。以溶液中各组分的质量浓度(mg/L)为横坐标,对应的峰面积为纵坐标作图,可得到所测浓度范围内各组分的线性回归方程及相关系数(表 3、表 4)。

表 3 甲醇-水体系分析方法的线性相关性试验

组分	浓度 (mg/L)	线性方程	相关系数 (r)
吡虫啉	20~103	$y = 26.198x - 11.756$	0.999 6
啶虫脒	22~109	$y = 37.817x + 11.557$	1.000 0
克百威	21~106	$y = 21.207x - 0.77$	1.000 0
氯虫苯甲酰胺	20~102	$y = 41.657x - 2.823$	1.000 0
氟虫腈	20~101	$y = 37.494x - 5.844$	1.000 0
辛硫磷	23~116	$y = 22.662x - 11.497$	1.000 0
溴虫腈	22~109	$y = 36.418x + 10.384$	1.000 0
吡螨胺	20~102	$y = 33.711x - 6.998$	1.000 0
噻嗪酮	22~110	$y = 25.293x - 11.181$	1.000 0
毒死蜱	22~110	$y = 16.877x - 5.701$	1.000 0
哒螨灵	21~103	$y = 42.966x - 14.691$	1.000 0
阿维菌素	28~142	$y = 7.091x + 8.889$	0.999 3
丁硫克百威	24~122	$y = 17.557x - 1.353$	1.000 0

2.3 分析方法精密度试验

分别选取有效成分为上述杀虫剂品种的样品进行 5 次重复测定,结果表明,2 种方法下 13 种杀虫剂的 RSD 值均小于 1.8%,精密度较高。

2.4 分析方法准确度试验

选取典型试样,分别添加一定量的各组份标样,在上述 2 种色谱条件下分别进行测定,各组分回收率均介于 99.3%~101.2% 之间。

2.5 部分杀虫剂产品中实际隐性添加成分检测结果

采用上述方法对本年度抽查的部分杀虫剂产品进行隐形

表 4 乙腈-水体系分析方法的线性相关性试验

组分	浓度 (mg/L)	线性方程	相关系数 (r)
吡虫啉	20~103	$y = 21.605x - 7.652 4$	0.999 7
啶虫脒	22~109	$y = 29.992x - 9.822$	1.000 0
克百威	21~106	$y = 17.588x - 2.042$	1.000 0
氯虫苯甲酰胺	20~102	$y = 33.741x - 5.092$	1.000 0
氟虫腈	20~101	$y = 30.621x - 1.295$	1.000 0
辛硫磷	23~116	$y = 17.673x + 6.137$	0.999 7
吡螨胺	20~102	$y = 26.393x - 5.607$	1.000 0
溴虫腈	22~109	$y = 30.564x - 4.991$	1.000 0
毒死蜱	22~110	$y = 13.053 + 10.938$	0.999 7
噻嗪酮	22~110	$y = 20.95x - 1.849$	0.999 9
阿维菌素	28~142	$y = 5.181 2x - 3.708$	1.000 0
哒螨灵	21~103	$y = 33.076x - 6.456$	1.000 0
丁硫克百威	24~122	$y = 14.632x + 0.797$	0.999 9

添加成分检测。在 2 种液相色谱条件下,如果样品溶液中某组分的保留时间及紫外光谱图均与标样溶液中某组分的相同,则认为该溶液中含有该组分,若非明示组分,即为违规添加的隐性组分。检测结果表明:1.8% 阿维菌素乳油中检出 2.3% 氟虫腈,4.5% 高效氯氰菊酯乳油中检出 1.2% 氟虫腈,25 g/L 高效氯氟氰菊酯乳油中检出 3.8% 辛硫磷,48% 毒死蜱乳油中检出 6.0% 辛硫磷,苏云金杆菌可湿性粉剂中检出 6.0% 溴虫腈等。上述检测结果通过气质联用或液质联用方法均得到了进一步的确认。

3 结论

本研究所述的 2 种高效液相色谱法联用技术用于检测吡虫啉、啶虫脒、克百威、氟虫腈、氯虫苯甲酰胺、溴虫腈、辛硫磷、毒死蜱、阿维菌素、吡螨胺、噻嗪酮、哒螨灵、丁硫克百威等 13 种农业杀虫剂的含量是可行的,且具有较高的精密度、准确度。这 2 种方法不但可以从定性角度判断农药中是否添加了上述组分,同时还可以对添加组分进行定量分析。

参考文献:

[1]武中平,高巍,颜春荣,等. 氟虫腈高效液相色谱分析方法的研究[J]. 现代农药,2006,5(2):21-23.
[2]高巍,武中平. 溴虫腈高效液相色谱分析方法的研究[J]. 现代农药,2007,6(5):24-25.
[3]亢晓冬,孙霞,沈礼,等. 氯虫苯甲酰胺的高效液相色谱分析方法研究[J]. 浙江化工,2010,41(4):31-32.