

高效液相色谱法测定番茄中甲氧虫酰肼的残留

迟梦宇^{1,2,3}, 陈子雷^{1,2,3}, 毛江胜^{1,2,3*}, 卢琦^{1,2,3}, 张艳^{1,2,3}, 李慧冬^{1,2,3}

(1. 山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 山东济南 251000; 2. 山东省食品质量与安全检测技术重点实验室, 山东济南 251000; 3. 农业农村部食品质量监督检验测试中心(济南), 山东济南 251000)

摘要 [目的] 建立测定甲氧虫酰肼在番茄上残留的高效液相色谱检测方法。[方法] 样品经过酸化的甲醇高速匀浆提取, 经过二氯甲烷萃取, 采用甲醇:乙腈:水(30:55:15, V/V)为流动相, 利用 symmetry C₁₈ 柱(4.0 mm×250 mm)进行检测。[结果] 在 0.01、0.50、2.00 mg/kg 3 个添加浓度水平下, 甲氧虫酰肼在番茄上的回收率为 85%~105%, 相对标准偏差(RSD)为 0.6%~1.4%。相关系数(*r*)为 0.999 8。甲氧虫酰肼在番茄上的最低检出限为 0.01 mg/kg, 最小检出量为 2 ng。在实际样品检测中检测出有甲氧虫酰肼的残留, 但均未超过我国规定的最大残留限量值。[结论] 在实际样品检测中, 该方法能够快速、准确地对样品进行检测, 为大量样品的检测提供了数据方法。

关键词 高效液相色谱法; 甲氧虫酰肼; 番茄; 农药残留

中图分类号 TS207.5⁺3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)23-0201-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.23.056



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Determination of Methoxyfenozide Residues on Tomatoes by High Performance Liquid Chromatography

CHI Meng-yu^{1,2,3}, CHEN Zi-lei^{1,2,3}, MAO Jiang-sheng^{1,2,3} et al (1. Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan, Shandong 251000; 2. Shandong Key Laboratory of Testing Technology for Food Quality & Security, Jinan, Shandong 251000; 3. Monitor Inspection & Test Center of Foods Quality of Ministry of Agricultural and Rural Affairs (Jinan), Jinan, Shandong 251000)

Abstract [Objective] To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) for the determination of methoxyfenozide residues on tomatoes. [Method] Methanol:acetonitrile:water (30:55:15, V/V) was used as the mobile phase, and a symmetry C₁₈ column (4.0 mm×250 mm) was used for detection. [Result] At three additive concentration levels of 0.01, 0.50, and 2.00 mg/kg, the recovery of methoxyfenozide on tomatoes was 85%~105%, and the relative standard deviation (RSD) was 0.6%~1.4%. The correlation coefficient (*r*) was 0.999 8. The minimum detection limit of methoxyfenozide on tomatoes was 0.01 mg/kg, and the minimum detection amount was 2 ng. The methoxyfenozide residues were detected in the actual samples, but none of them exceeded the maximum residue limit value stipulated by China. [Conclusion] In actual sample detection, this method could quickly and accurately detect samples, providing a data method for the detection of a large number of samples.

Key words High performance liquid chromatography (HPLC); Methoxyfenozide; Tomato; Pesticide residue

甲氧虫酰肼是由美国陶氏益农公司研发的一种新型的双酰胺类昆虫生长调节剂, 它不但能够导致昆虫异常蜕皮抑制进食, 而且还有一定的杀卵活性^[1-3], 对鳞翅目害虫具有很好的防治作用。目前对甲氧虫酰肼的残留研究国内外均有报道^[4-9], 但是在番茄上的残留研究目前国内还鲜有报道。笔者以番茄为样品, 建立了测定甲氧虫酰肼在番茄中残留量的液相色谱检测方法, 为快速、准确地测定番茄中甲氧虫酰肼残留提供了有效的数据方法, 满足了农药残留的要求。

1 材料与与方法

1.1 仪器和试剂 高压液相色谱仪, Waters 公司, Alliance2695 泵, 2487 紫外检测器; 旋转蒸发器, 德国 Heidolph laborota 4000; 离心机, 北京医用离心机厂 LD5-2A。甲氧虫酰肼标样(德国, 纯度 98.9%); 甲醇(色谱纯); 乙腈(色谱纯); 重蒸水; 二氯甲烷(分析纯); 无水硫酸钠(分析纯)。

1.2 试验方法

1.2.1 样品处理。 称取样品 15.0 g 加至 80 mL 离心管中, 加入 40 mL 甲醇:0.1 mol/L HCl(4:1, V/V) 混合溶液振荡提

取 10 min, 10 000 r/h 匀浆破碎 1 min, 然后离心 5 min, 取清液于分液漏斗中, 残渣再加入 40 mL 甲醇:0.1 mol/L HCl 混合溶液, 重复提取操作 2 次。

1.2.2 净化。 将 2 次提取的上清液合并加至分液漏斗中, 用二氯甲烷重复萃取 2 次, 过无水硫酸钠。40 °C 水浴旋转蒸发二氯甲烷至干, 净化, 甲醇定容, 过膜, 待测。

1.2.3 色谱条件。 色谱柱为 Waters symmetry C₁₈ 柱(4.0 mm×250 mm); 流动相为水:甲醇:乙腈(15:30:55, V/V); 柱温 30 °C; 流速 1.0 mL/min; 检测波长 200 nm; 进样量 10 μL。相对保留时间 8 min。

1.2.4 标准溶液的配制。 准确称取 0.01 g 甲氧虫酰肼标准品, 用甲醇溶液定容至 10 mL 棕色容量瓶中, 配制成浓度为 1 000 mg/L 标准储备溶液。将甲氧虫酰肼标准储备液用甲醇溶液稀释配制成浓度为 0.01、0.10、0.20、0.50、1.00 mg/kg 的标准工作溶液, 按“1.2.3”色谱条件进行分析, 测定峰面积, 以峰面积(*Y*)为纵坐标、质量浓度(*X*, mg/L)为横坐标绘制标准曲线, 进行线性回归分析^[10]。

1.2.5 添加回收试验。 称取 15 个番茄空白样品各 10 g, 向空白样品中添加 3 个不同水平的甲氧虫酰肼标准溶液, 使最终添加浓度分别为 0.01、0.50、2.00 mg/kg, 每个浓度设置 5 个重复, 按照“1.2.1”和“1.2.2”样品处理和净化的方法进行处理, 按“1.2.3”色谱条件对样品进行检测分析, 计算加标回

基金项目 山东省农业重大应用技术创新项目(KY-NYZDJSCX2016)。
作者简介 迟梦宇(1993—), 女, 山东青岛人, 硕士, 从事农产品中农药残留检测技术研究。*通信作者, 副研究员, 从事农药残留限量标准与检测技术研究。

收稿日期 2021-04-16

收率。

2 结果与分析

2.1 流动相的选择 选择甲醇-乙腈-水的梯度作为流动相,不仅能提高分离度,还能使农药与样品中的杂质完全分离开,避免杂质峰影响^[6]。确定好流动相对流动相的不同配比进行比较选择。在乙腈体积为55%时,分离效果较好,但出峰时间长^[10]。对甲醇和水的比例进行了优化。结果表明,在甲醇:乙腈:水的比例为30:55:15时,能够使色谱分离效果最好,从而获得峰型好、灵敏度高的色谱峰(图1)。

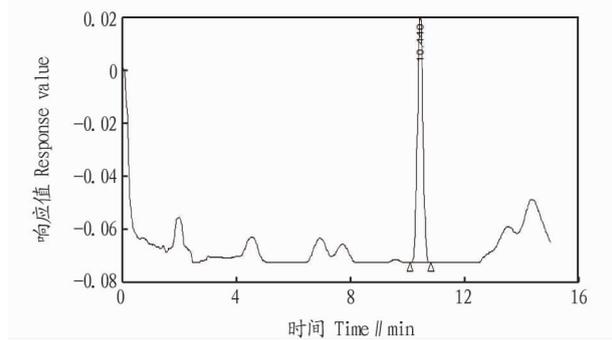


图1 甲氧虫酰肼标样色谱图

Fig. 1 Chromatogram of methoxenozone standard sample

2.2 线性关系的确立 将稀释好的系列浓度标准溶液按“1.2.3”色谱条件进行分析,以峰面积(Y)和质量浓度(X, mg/L)为坐标轴绘制标准曲线,进行线性回归分析,得出线性回归方程为 $Y=14\ 299.46X+1\ 871.79$,线性回归系数(r)为0.999 8(图2)。结果表明甲氧虫酰肼的浓度在0.01~1.00 mg/L与峰面积呈线性关系,且线性关系良好,符合相关分析要求。

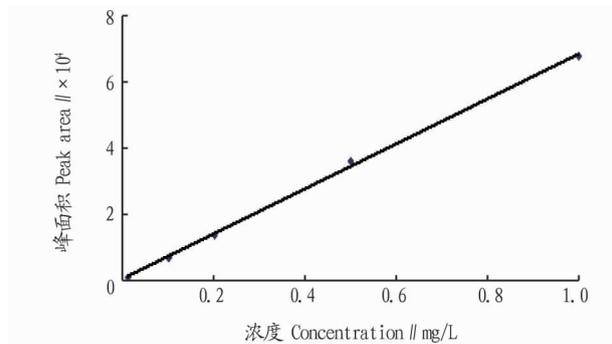


图2 甲氧虫酰肼的标准曲线

Fig. 2 The standard curve of methoxenozone

2.3 方法回收率和精密度 在没有检出的番茄样品中分别添加不同含量水平的甲氧虫酰肼标准溶液,使最终添加浓度分别为0.01、0.50、2.00 mg/kg,每个浓度设置5个重复。按照“1.2.1”和“1.2.2”样品处理和净化方法对样品进行处理后进样,得到添加回收图谱(图3~4)。计算得到的加标回收率为85%~105%,相对标准偏差(RSD)为0.6%~1.4%,表明该方法的准确度和精密度良好,符合农药残留检测要求。甲氧虫酰肼在番茄上的最低检出限为0.01 mg/kg,最小检出量为2 ng。

2.4 实际样品的检测 在济南市场随机抽取了番茄样品,

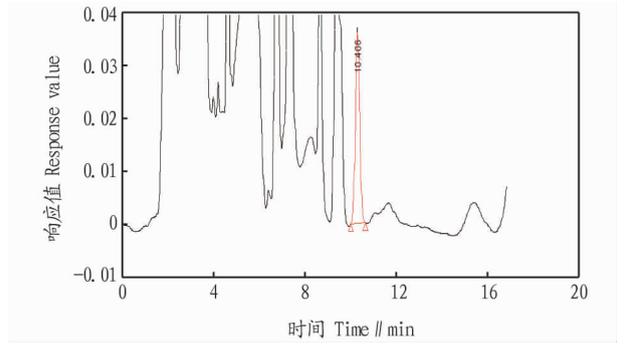


图3 番茄加标回收样品色谱图(0.5 mg/kg)

Fig. 3 Chromatogram of the recovered sample of tomato (0.5 mg/kg)

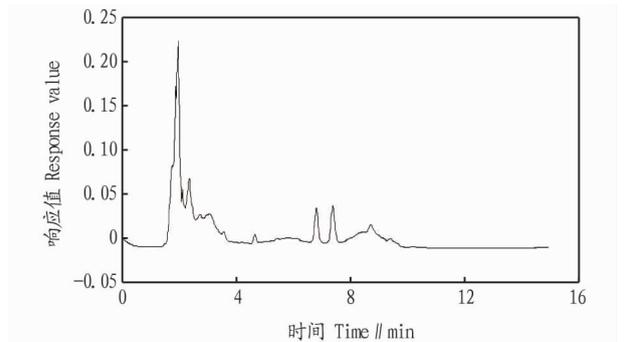


图4 番茄空白样品色谱图

Fig. 4 Chromatogram of a blank tomato sample

按照该研究建立的样品前处理方法和检测方法对样品进行检测,其中有番茄样品检测出有甲氧虫酰肼残留,检出量分别为0.020、0.028、0.050、0.031、0.022、0.043 mg/kg,均小于国家规定的最大残留限量值(2 mg/kg),说明市场上销售的番茄相对比较安全。

3 结论

该试验研究并建立了检测番茄中甲氧虫酰肼残留量的高效液相色谱方法。通过酸化的甲醇提取,二氯甲烷萃取,流动相甲醇、乙腈、水的比例为30:55:15,检测到的色谱峰分离效果好、准确度高。在优化的最佳条件下,该分析方法的平均回收率为85%~105%,最低检出限为0.01 mg/kg,最小检出量为2 ng,满足残留检测要求。在实际样品检测中该方法能够快速、准确地对样品进行检测,为大量样品的检测提供了数据方法。

参考文献

- [1] CARLSON G R, DHADIALLA T S, HUNTER R, et al. The chemical and biological properties of methoxyfenozide, a new insecticidal ecdysteroid agonist [J]. *Pest management science*, 2001, 57(2): 115-119.
- [2] 李燕芳, 尚汉祥, 李怡峰, 等. 40%氟虱虫脒·甲氧虫酰肼悬浮剂防治稻纵卷叶螟田间试验[J]. *现代农业科技*, 2017(8): 94, 96.
- [3] 侯玉发, 许晶, 臧连生, 等. 24%甲氧虫酰肼悬浮剂田间防治玉米螟的效果研究[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(33): 11728-11729, 11742.
- [4] 刘松健, 郭鸿莹, 王硕, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定氟虱虫脒和甲氧虫酰肼在水稻和土壤中的残留及消解动态[J]. *农药*, 2019, 58(5): 359-363.
- [5] 毛江胜, 赵善仓, 邓立刚. 高效液相色谱法测定菠菜中残留的甲氧虫酰肼[J]. *农药*, 2006, 45(2): 121-122.
- [6] 占绣萍, 马琳, 陈建波. 高效液相色谱法测定蔬菜和土壤中氯虫苯甲酰胺甲氧虫酰肼的残留[J]. *现代农药*, 2010, 9(5): 47-50.

(下转第205页)

类必需氨基酸总量与氨基酸总量比值与长脂拟鲮、乌苏拟鲮差别不明显^[6-7],分别为 41.26%、44.48%、41.95%。此外,凹尾拟鲮的鲜味氨基酸的总量(34.39%)低于长脂拟鲮

(45.96%)和黄颡鱼(40.11%),但高于乌苏拟鲮(13.23%)和斑点叉尾鲴(7.52%),与江颡鱼的含量(32.21%)基本相当^[6-7,9-11]。

表 3 凹尾拟鲮肌肉脂肪酸组成

Table 3 Fatty acid composition in muscle of *Pseudobagrus emarginatus*

脂肪酸 Fatty acid	凹尾拟鲮 <i>Pseudobagrus emarginatus</i>	黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>	脂肪酸 Fatty acid	凹尾拟鲮 <i>Pseudobagrus emarginatus</i>	黄颡鱼 <i>Pelteobagrus fulvidraco</i>
C14:0	2.23	4.2	C22:5	1.14	0.2
C16:0	19.45	22.1	C22:6	4.41	2.7
C16:1	5.40	12.8	ΣSAF	27.11	30.4
C18:0	4.90	4.1	ΣMUFA	49.12	35.8
C18:1	41.75	23.0	ΣPUFA	23.77	29.4
C18:2	15.36	6.1	Σ(n-3)PUFA	1.30	18.3
C18:3	1.13	12.1	Σ(n-6)PUFA	4.41	11.1
C20:4	0.41	5.0	EPA+DHA	5.55	5.8
C20:5	1.14	3.1			

注:Σ(n-3)PUFA为n-3系列多不饱和脂肪酸;Σ(n-6)PUFA为n-6系列多不饱和脂肪酸;EPA+DHA为C20:5和C22:6之和

Note:Σ(n-3)PUFA is n-3 series polyunsaturated fatty acid;Σ(n-6)PUFA is n-6 series polyunsaturated fatty acid;EPA+DHA is the sum of C20:5 and C22:6

凹尾拟鲮的氨基酸评分在 0.42~3.05,平均值为 1.75,化学评分值在 0.35~2.30,平均值为 1.27,其肌肉中必需氨基酸组成和含量与标准模式接近,这表明凹尾拟鲮的氨基酸品质好。

凹尾拟鲮的肌肉中含有 6 种鲜味氨基酸,鲜味氨基酸的含量为 34.39%,鲜味氨基酸含量占氨基酸含量的 46.68%,凹尾拟鲮的鲜美程度与黄颡鱼和江颡鱼相当。

3.2 脂肪品质评价 肌肉脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸是肉食香味的重要前体物质,且多不饱和脂肪酸本身就是人体不可缺少的营养物质。凹尾拟鲮的肌肉脂肪酸中,多不饱和脂肪酸总量高达 23.77%,高于黄颡(21.2%),与乌鲢(24.8%)、黄颡鱼(29.4%)相似^[8]。此外,EPA和DHA是一种对人体非常重要的不饱和脂肪酸,能够促进神经细胞的生长,具有抑制血小板凝集等功能。EPA和DHA不仅能降低人体血液中的血浆甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白和极低密度脂蛋白含量,还能增加高密度脂蛋白的含量。凹尾拟鲮的DHA+EPA含量达到 5.55%,其含量高于乌鲢(3.2%)和黄颡(3.4%),与鲢(5.7%)和黄颡鱼(5.8%)基本一致^[8]。

多不饱和脂肪酸,尤其是(n-6)PUFA和(n-3)PUFA,不仅是人体必需营养素,同时还在调节和预防人类疾病方面发挥着重要作用。过量的n-6脂肪酸或者高比例的(n-6)/(n-3)PUFA将引发现代疾病,而较低比例(n-6)/(n-3)

PUFA则有助于抗炎和抗癌^[12]。凹尾拟鲮肌肉脂肪酸组成中,n-3与n-6系列脂肪酸之比为 0.29,与乌鲢(0.38)基本一致,低于黄颡(0.8)、鲢(0.73)、黄颡鱼(1.65)^[8]。肌肉氨基酸和脂肪组成分析表明凹尾拟鲮营养价值高。

参考文献

- [1] 程建丽,张鹏,张建强,等.凹尾拟鲮(*Pseudobagrus emarginatus*)——长江上游中国鲈类一有效种(硬骨鱼纲:鲈科)[J].井冈山大学学报(自然科学版),2016,37(3):99-106.
- [2] 杨志,龚云,董纯,等.黑水河下游鱼类资源现状及保护措施[J].长江流域资源与环境,2017,26(6):847-855.
- [3] 邹远超,岳兴建,王永明,等.岷江切尾拟鲮的年龄结构与生长特征[J].生态学报,2014,33(10):2749-2755.
- [4] 邹远超,林溪,岳兴建,等.切尾拟鲮染色体核型分析[J].安徽农业科学,2013,41(8):3400-3402.
- [5] 李忠利,梅杰,雷红梅,等.乌江中游支流佛顶山切尾拟鲮的年龄、生长与资源利用[J].大连海洋大学学报,2019,34(5):718-724.
- [6] 尹邦一,代应贵,董坡.长脂拟鲮含肉率及肉质营养评价[J].淡水渔业,2014,44(3):85-89.
- [7] 尹洪滨,姚道霞,孙中武,等.黑龙江鲢形目鱼类的肌肉营养组成分析[J].营养学报,2006,28(5):438-441.
- [8] 温小波,李伟国,周永平.野生乌鲢、鲢、黄颡鱼和黄鲢的脂类及脂肪酸组成比较[J].湖北农学院学报,2003(3):169-173.
- [9] 黄峰,严安生,熊传喜,等.黄颡鱼的含肉率及鱼肉营养评价[J].淡水渔业,1999,29(10):3-6.
- [10] 陈涛,赵鑫,黄凯.江黄颡鱼肌肉氨基酸组成及营养分析[J].湖北农业科学,2011,50(21):4448-4450,4480.
- [11] 甄润英,陶秉春,马丽珍,等.3种鲈鱼肌肉主要营养成分的对比分析[J].食品与机械,2008,24(4):108-110,142.
- [12] 乌日娜,李建科.多不饱和脂肪酸的营养作用、医用价值及其开发利用[J].中兽医医药杂志,2004,23(2):52-54.

(上接第 202 页)

- [7] 占绣萍,马青,余淑红,等.液相色谱法测定蔬菜中氟啶虫酰胺等 6 种杀虫剂残留[J].现代农药,2013,12(4):36-39.
- [8] LIU X G, XU J, DONG F S, et al. Residue analysis of four diacylhydrazine insecticides in fruits and vegetables by Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe (QuEChERS) method using ultra-performance liquid chro-

matography coupled to tandem mass spectrometry[J]. Analytical and bio-analytical chemistry, 2011, 401(3):1051-1058.

- [9] 孙春发.超高效液相色谱-串联质谱法同时测定大米中 5 种农药残留[J].安徽化工,2021,47(2):111-115.
- [10] 章虎,吴俐勤,谢磊,等.高效液相色谱法测定甘蓝、青菜和番茄中虫酰胺、甲氧虫酰胺和呋喃虫酰胺残留[J].现代科学仪器,2006(3):55-58.