

◆ 环境与残留 ◆

# HPLC法分析土壤中烯丙苯噻唑

段亚玲, 杨浪, 李景壮, 何钰, 杨鸿波\*, 谭红

(贵州省分析测试研究院, 贵阳 550000)

**摘要:**为检测土壤中的烯丙苯噻唑残留量,建立了液相色谱分析方法。土壤样品经乙腈超声提取,静置过滤,HPLC-PAD直接测定。当添加质量分数为1.0~10.0 mg/kg时,烯丙苯噻唑在黑土、水稻土和红壤中的平均添加回收率分别为96.2%~98.4%、98.0%~98.2%和96.4%~97.1%,RSD分别为1.3%~1.4%、0.8%~1.3%和1.1%~1.7%。方法最小检出量为 $1.0 \times 10^{-9}$ g,最低检测质量浓度为0.2 mg/L。

**关键词:**烯丙苯噻唑;土壤;残留分析;高效液相色谱

中图分类号:TQ 450.2+63 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2018.04.012

## Determination of Probenazole in Soil by HPLC

Duan Ya-ling, Yang Lang, Li Jing-zhuang, He Yu, Yang Hong-bo\*, Tan Hong

(Guizhou Academy of Testing and Analysis, Guiyang 550000, China)

**Abstract:** In order to determinate the probenazole residue in soil, an analysis method was established by high performance liquid chromatography (HPLC). Soil samples were extracted by ultrasound extraction, using acetonitrile as extracting solvent. Then probenazole residue was analyzed by HPLC-PAD directly. At the concentration of 1.0-10.0 mg/kg, the average recoveries of probenazole in black soil, paddy soil, red soil were 96.2%-98.4%, 98.0%-98.2% and 96.4%-97.1%, the coefficients of variation were 1.3%-1.4%, 0.8%-1.3% and 1.1%-1.7%, respectively. The detection limit of probenazole was  $1.0 \times 10^{-9}$  g, the quantification limit was 0.2 mg/L.

**Key words:** probenazole; soil; residue analysis; HPLC

烯丙苯噻唑是由日本明治制果株式会社研究开发的苯并噻唑类化合物,最初作为杀菌剂应用。20世纪末期,随着活化酯的上市应用,抗病激活剂的理论也随之诞生。烯丙苯噻唑通过激发作物系统获得抗性,抵御病原菌侵害,实现防病效果<sup>[1]</sup>。烯丙苯噻唑用于防治水稻稻瘟病,由于其低毒,对水稻安全,已经成为东南亚稻区使用面积最广的抗病激活剂<sup>[2]</sup>。烯丙苯噻唑的相关研究主要集中在合成<sup>[1,3]</sup>、对稻瘟病的防治效果等<sup>[4-9]</sup>。关于烯丙苯噻唑残留的液相色谱分析方法报道较少,其残留分析主要采用气相色谱法<sup>[10-13]</sup>。气相色谱检测法虽然检测限低,但样品前处理较复杂,耗时多,且成本高。为评价烯丙

苯噻唑在土壤环境中的安全性,本试验以3种具有代表性的土壤(黑土、水稻土和红壤)为研究材料,建立液相色谱法测定烯丙苯噻唑在土壤中的残留。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

Waters e2695高效液相色谱仪,美国Waters公司;超声波清洗器,上海科导超声仪器有限公司;LT1002T电子天平,常熟市天量仪器有限责任公司;XSE105DU电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;移液枪,德国Eppendorf股份公司。

烯丙苯噻唑标准品(99%),国家农药产品质量

收稿日期:2018-03-26

基金项目:国家国际科技合作专项项目(2015DFA41280);中央引导地方科技发展专项资金项目(黔科中引地[2016]4001号);环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金课题(KF2016-21);贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2016]2578-2号);浙江省植物有害生物防控重点实验室开放基金项目(2010DS700124-KF1708)

作者简介:段亚玲(1985—),女,高级工程师,硕士。研究方向:农药安全评价。E-mail:duanyaling2006@163.com

通讯作者:杨鸿波(1976—),男,副研究员,博士。研究方向:分析化学。E-mail:hbyang@gzata.cn

监督检验中心;乙腈(色谱纯)德国Merck公司;甲醇(色谱纯)美国Honeywell公司。

## 1.2 试验材料

本试验以黑土、水稻土、红壤为试验土样,其中黑土采集于吉林省集安市,水稻土采集于贵州省关岭县稻田,红壤采集于云南省宣威市。土壤样品采集后,拣出碎石、砂砾及植物残体等,风干后,研磨使其过2 mm筛,于4℃冰箱保存备用。土壤的理化性质见表1。

表1 土壤理化性质

土壤类型	pH值	有机碳质量分数/(g·kg <sup>-1</sup> )	黏粒质量分数(<0.01 mm)/%	阳离子交换量/(cmol·kg <sup>-1</sup> )
黑土	6.44	45.26	34.0	26.26
水稻土	7.96	18.39	44.0	15.09
红壤	5.57	14.18	52.0	9.63

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 样品处理

称取20.0 g土壤(黑土、红壤和水稻土)于250 mL具塞三角瓶中,加入50 mL乙腈,将其置于超声波中水浴超声提取10 min,静置后取上清液过0.45 μm有机滤膜,HPLC定量分析。

### 1.3.2 仪器条件

色谱柱:Shim-pack CLC-ODS(M)(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:V(乙腈):V(水)=70:30;柱温:25℃;流速:1.0 mL/min;检测器:PAD;检测波长:210 nm;进样体积:10 μL。

## 2 结果与讨论

### 2.1 检测波长的选择

采用Waters e2695高效液相色谱仪-二极管阵列检测器对烯丙苯噻唑的标样溶液进行波长扫描。结果显示,在210 nm波长附近,烯丙苯噻唑吸收峰最大,且土壤样品在此波长下无干扰峰,灵敏度满足分析的要求。因此,烯丙苯噻唑的检测以210 nm为检测波长。

### 2.2 色谱柱的选择

烯丙苯噻唑色谱分析方法的报道相对较少,而关于其液相色谱分析方法的报道更少。试验比较了填料为C<sub>18</sub>和ODS的色谱柱在液相色谱仪上的分离情况。结果表明,填料为ODS的色谱柱分离效果较好,峰形对称,出峰时间快。因此,选用Shim-pack CLC-ODS(M)色谱柱分析土壤中的烯丙苯噻唑。烯丙苯噻唑标准品色谱图见图1。

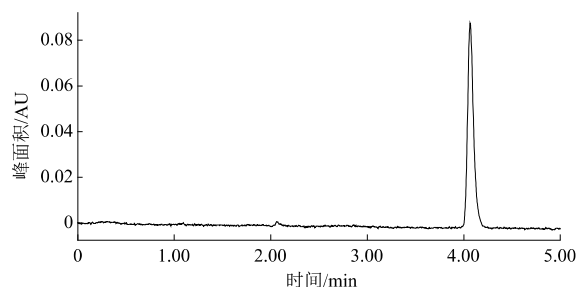


图1 烯丙苯噻唑标准品色谱图

### 2.3 提取溶剂的选择

烯丙苯噻唑在丙酮、乙腈、甲醇中均具有较好的溶解性。姜忠涛等<sup>[11]</sup>在提取糙米中的烯丙苯噻唑时,先加入水超声振荡混匀10 min,再加入丙酮振荡提取。刘照清等<sup>[13]</sup>提取土壤中烯丙苯噻唑时,加入10 g NaCl、100 mL乙腈于振荡器上振荡提取2 h。2种溶剂均具有较高的回收率,为85.8%~99.1%。本试验比较了乙腈和甲醇对烯丙苯噻唑的提取效率。结果表明,烯丙苯噻唑在乙腈和甲醇中的平均回收率分别为97.1%和83.7%,满足农药残留分析的要求。相对而言,乙腈的提取效率更高。因此,提取土壤中烯丙苯噻唑选择乙腈为提取溶剂。

### 2.4 提取方式的选择

试验比较了超声和振荡2种方式下烯丙苯噻唑的提取回收率。结果表明,超声10 min、20 min和30 min时的提取回收率无显著差异,且与振荡30 min的回收率相当,均超过95%。考虑时间等因素,故采用超声10 min的方式来提取土壤中的烯丙苯噻唑。

### 2.5 标准曲线与线性范围

准确称取0.105 3 g(准确至0.1 mg)烯丙苯噻唑(质量分数为95%)于称量瓶中,用乙腈少量多次溶解,转移至100 mL容量瓶中,定容,摇匀制得1 000 mg/L烯丙苯噻唑母液,冷藏备用。分别移取不同体积的母液,配制成质量浓度分别为0.2、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 mg/L的系列标样溶液。以烯丙苯噻唑的质量浓度为横坐标(x),响应峰面积为纵坐标(y),进行线性回归,见图2。

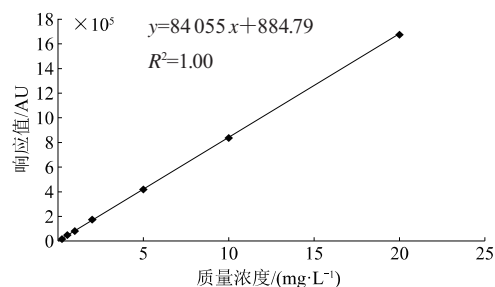


图2 烯丙苯噻唑标准曲线

结果表明,烯丙苯噻唑的峰面积与质量浓度具有良好的线性相关性,线性方程为 $y=84\ 055x+884.79$   $R^2=1.00$ 。此条件下土壤中烯丙苯噻唑的保留时间约为4.0 min。

## 2.6 仪器的精密度

在1.3.2仪器条件下,待仪器基线稳定后连续对同一质量浓度的烯丙苯噻唑标样溶液(5.0 mg/L)进行6次平行测定,进样量为10  $\mu$ L,结果见表2。

表2 仪器精密度试验

项目	测定值( $n=6$ )						平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
保留时间/min	4.023	4.025	4.027	4.033	4.031	4.029	4.028	0.09
峰面积/AU	423 790	423 989	423 971	423 968	430 960	423 981	425 110	0.67

峰面积的变异系数(RSD)为0.67%,保留时间的RSD为0.09%。该方法重现性好,仪器精密度高。

## 2.7 方法的准确度和精密度

方法的准确度和精密度通过添加回收率和变异系数来表示<sup>[14]</sup>。在3种土壤中分别加入0.20 mL质量浓度为100.0、1 000.0 mg/L的烯丙苯噻唑标样溶液,使添加质量分数分别为1.0、10.0 mg/kg,每组设5个平

行试样。土壤样品经处理后,HPLC测定3种土壤中烯丙苯噻唑残留量,结果见表3。由表3可以看出,烯丙苯噻唑在黑土、水稻土和红壤中的平均添加回收率分别为96.2%~98.4%、98.0%~98.2%和96.4%~97.1%,RSD分别为1.3%~1.4%、0.8%~1.3%和1.1%~1.7%。方法的准确度和精密度均满足农药残留分析要求<sup>[15]</sup>。烯丙苯噻唑在土壤中的添加色谱图见图3。

表3 烯丙苯噻唑在3种土壤中的平均添加回收率

土壤类型	添加质量分数/ ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	回收率/%					平均值	RSD/%
		1	2	3	4	5		
黑土	1.0	95.7	97.0	96.3	97.8	94.3	96.2	1.4
	10.0	98.5	97.2	96.9	99.6	99.6	98.4	1.3
水稻土	1.0	98.6	95.8	98.7	98.4	98.3	98.0	1.3
	10.0	98.3	99.2	98.2	97.0	98.4	98.2	0.8
红壤	1.0	94.7	95.8	97.2	97.3	96.9	96.4	1.1
	10.0	95.4	99.2	98.2	97	95.5	97.1	1.7

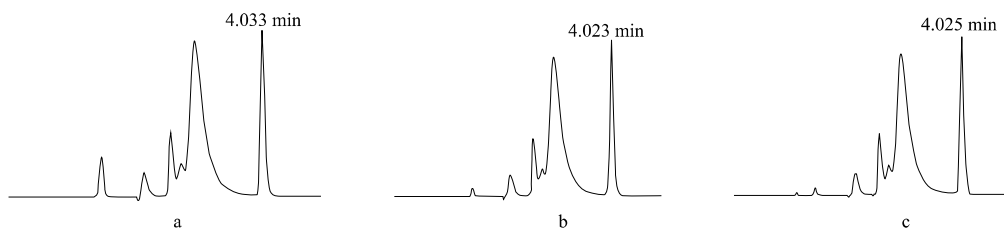


图3 烯丙苯噻唑在土壤中的添加回收谱图(a—黑土、b—水稻土、c—红壤)

## 2.8 最小检出量和最低检测浓度

以 $S/N=3$ 和 $S/N=10$ 计算最小检出量(LOD)和最低检测质量浓度(LOQ)。本方法中烯丙苯噻唑的LOD为 $1.0\times 10^{-9}$  g, LOQ为0.2 mg/L。

## 3 结论

本文建立了一种液相色谱分析方法测定土壤中烯丙苯噻唑的残留量。土壤样品经乙腈超声提取,静置后过有机滤膜,HPLC-PAD直接测定。当添加质量分数为1.0~10.0 mg/kg时,烯丙苯噻唑在3种土壤中的平均添加回收率为96.2%~98.4%,RSD为0.8%~1.7%。方法最小检出量为 $1.0\times 10^{-9}$  g,最低检

测质量浓度为0.2 mg/L。方法分析速度较快,前处理简单,准确度、精密度及灵敏度均满足农药残留分析的要求,可用于土壤中烯丙苯噻唑残留量的检测。

### 参考文献

- [1] 张一宾,徐进.作物抗病激活剂烯丙苯噻唑的合成[J].现代农药,2012,11(1):13-15.
- [2] 朱政,王迟早,高炯,等.水稻PBZ1基因启动子对烯丙异噻唑的诱导响应性分析[J].南京农业大学学报,2015,38(5):720-726.
- [3] 王晓军,徐尚成,肖国民,等.烯丙苯噻唑的合成研究[J].化工时刊,2001,15(8):18-19.

(下转第43页)

- Determination of Selected Pesticides on Tobacco by High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionisation-Tandem Mass Spectrometry [J]. *Talanta*, 2008, 74 (5): 1184-1190.
- [12] 刘景坤, 武春媛, 邓晓, 等. 液相色谱法分析龙眼及其种植土壤中的烯酰吗啉残留 [J]. *热带作物学报*, 2015, 36 (8): 1475-1478.
- [13] Ferrer I, Garcíaareyes J F, Mezcuca M, et al. Multi-residue Pesticide Analysis in Fruits and Vegetables by Liquid Chromatography-Time-of-Flight Mass Spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1082 (1): 81-90.
- [14] 程文杰, 苏效华, 桑绍纯. 高效液相色谱法测定黄瓜中嘧霉胺和烯酰吗啉农药残留 [J]. *环境与职业医学*, 2010, 27 (8): 512-514.
- [15] 邵辉, 刘磊, 李娜, 等. 黄瓜中吡唑醚菌酯和烯酰吗啉的测定方法 [J]. *农药*, 2014, 53 (7): 500-501.
- [16] 倪永付, 闫秋成, 朱莉萍, 等. 搅拌棒萃取LC-MS/MS法检测大蒜中烯酰吗啉残留 [J]. *农产品加工*, 2015 (7): 65-67.
- [17] Pizzutti I R, De K A, Hiemstra M, et al. Method Validation and Comparison of Acetonitrile and Acetone Extraction for the Analysis of 169 Pesticides in Soya Grain by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216 (21): 4539-4552.
- [18] 丁立平, 蔡春平, 王丹红. 改进的QuEChERS-气相色谱-质谱联用法测定蔬菜中的氟吗啉和烯酰吗啉残留 [J]. *色谱*, 2014, 32 (8): 849-854.
- [19] 罗迷, 陈雪, 邓代宇, 等. 气相色谱法同时测定白菜中毒死蜱和烯酰吗啉的残留 [J]. *贵州农业科学*, 2014, 42 (4): 117-119.
- [20] 袁圆, 左友华, 吴小毛. 白菜中嘧霉胺和烯酰吗啉残留的气相色谱分析 [J]. *山地农业生物学报*, 2013, 32 (6): 492-494.
- [21] 吴南村, 张群, 刘春华. 莴笋、油菜中烯酰吗啉的GC-ECD分析 [J]. *农药科学与管理*, 2014, 35 (1): 35-37.
- [22] 崔淑华, 王开运, 钱家亮, 等. 烯酰吗啉在大葱中的残留消解动态 [J]. *农药*, 2010, 49 (1): 47-49.
- [23] 张文斌, 冯光泉, 曾鸿超, 等. 三七及栽培土壤中烯酰吗啉残留降解动态研究 [J]. *中草药*, 2009, 40 (5): 809-812.
- [24] 王燕, 王春伟, 高洁, 等. 烯酰吗啉在人参和土壤中的残留动态及膳食风险评估 [J]. *食品科学*, 2014, 35 (14): 170-174.
- [25] 刘利, 潘一乐. 果桑资源研究利用现状与展望 [J]. *植物遗传资源学报*, 2001, 2 (2): 61-65.
- [26] 张志强, 杨清香, 孙来华. 桑葚的开发及利用现状 [J]. *中国食品添加剂*, 2009 (4): 65-68.
- [27] Elleunorah A. Investigation into the Apparent Failure of Chemical Control for Management of Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande), on Plums in the Western Cape Province of South Africa [J]. *Crop Protection*, 2010, 29 (8): 824-831.
- [28] 李国烈, 覃明丽, 苏旭, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定桑葚中醚菌酯残留量 [J]. *农药*, 2017, 56 (12): 905-907.
- [29] 李国烈, 苏旭, 杜鑫, 等. 超高效液相色谱-串联质谱测定桑葚中噻虫嗪残留量 [J]. *世界农药*, 2017, 39 (5): 54-58.
- [30] 李国烈, 杜鑫, 苏旭, 等. 超高效液相色谱-串联质谱方法测定桑葚中吡虫啉和啶虫脒残留量 [J]. *农药科学与管理*, 2018, 39 (1): 41-46; 52.
- [31] 覃明丽, 李国烈, 苏旭, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定桑葚中乐果残留 [J]. *广州化工*, 2017, 45 (23): 113-115.
- [32] 赵鑫, 邓新平, 厉阆. 食用桑葚中甲基硫菌灵、乐果和腐霉利的残留分析 [C]//陈万权. 2014年中国植物保护学会学术年会论文集. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2014: 316-320.
- [33] 张鹏翔. 色谱分析中的检出限和测定下限及其确定方法 [J]. *内蒙古科技与经济*, 2009 (6): 62-63.
- [34] Matuszewski B K, Constanzer M L, Chavezeng C M. Strategies for the Assessment of Matrix Effect in Quantitative Bioanalytical Methods Based on HPLC-MS/MS [J]. *Analytical Chemistry*, 2003, 75 (13): 3019-3030.

(责任编辑:柏亚罗)

(上接第38页)

- [4] 徐沛东, 常冬冬, 兰波, 等. 烯丙苯噻唑对水稻主要防御酶活性的影响及其对稻瘟病的防治效果 [J]. *华南农业大学学报*, 2014, 33 (4): 60-65.
- [5] 李海静. 烯丙苯噻唑对水稻的安全性和对稻瘟病的防治效果研究 [D]. 黑龙江密山: 黑龙江八一农垦大学, 2014.
- [6] 韩润亭, 张金花, 任金平. 烯丙苯噻唑诱导水稻抗瘟性研究 [C] // 成卓敏. 农业生物灾害预防与控制研究. 北京: 中国农业科技出版社, 2005: 984-985.
- [7] 李莉, 郭晓丽, 刘晓梅, 等.  $\beta$ -氨基丁酸与烯丙苯噻唑诱导水稻穗瘟病抗性研究初报 [J]. *吉林农业科学*, 2008, 33 (1): 36-37; 46.
- [8] 孙柏欣, 王疏, 刘晓舟, 等. 新型杀菌剂8%烯丙苯噻唑颗粒剂防治水稻稻瘟病田间试验 [J]. *辽宁农业科学*, 2013 (3): 71-72.
- [9] 马忠华, 周明国, 叶钟音, 等. 烯丙异噻唑对水稻叶片中NAA、A-BA含量的影响与稻瘟病抗性的关系 [J]. *植物保护学报*, 1999, 26 (3): 235-238.
- [10] 姜忠涛. 烯丙苯噻唑颗粒剂在水稻植株、土壤中残留动态研究 [J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2007, 15 (2): 156-160.
- [11] 姜忠涛, 陆贻通, 黄秀根, 等. 糙米中烯丙异噻唑的残留分析方法 [J]. *上海交通大学学报: 农业科学版*, 2015, 23 (4): 443-445.
- [12] 张强, 李兰春, 吴兵兵, 等. 毛细管气相色谱法定量分析烯丙苯噻唑 [J]. *现代农药*, 2009, 8 (6): 23-25.
- [13] 刘照清, 胡昌弟, 张湘晖, 等. 烯丙异噻唑(好米得)在水稻上残留分析方法研究 [J]. *湖南农业科学*, 2006 (3): 94-95.
- [14] 中华人民共和国农业部. NY/T 788—2004 农药残留试验准则 [S]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [15] 岳永德. 农药残留分析 [M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2004: 36-80.

(责任编辑:顾林玲)