

HPLC 法测定多菌灵在西洋参中的残留量

陈建民 薛 健 王春兰 刘惠灵

(中国医学科学院药用植物研究所, 北京, 100094)

葛 兴 云自厚

(北京师范大学化学系, 北京, 100875)

摘 要

本文报道了多菌灵在西洋参中残留量的 HPLC 检测方法。当添加水平在 $1.0-5.0 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 时, 根中间回收率为 60—76%; 添加水平在 $0.5-2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 时, 茎叶中间回收率为 70—80%; 土壤添加 $2.5 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 时, 回收率为 84%。茎叶、根、土壤中残留量测定的相对标准偏差分别为 2.16%, 6.17%, 1.24%, 检测极限均为 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 。多菌灵在茎叶和土壤中的消解动态方程为 $C=118.42e^{-0.1158t}$ 和 $C=18.84e^{-0.1512t}$, 半衰期为 5.87d 和 3.63d。

关键词: 高效液相色谱, 西洋参, 残留量, 多菌灵。

多菌灵 [Carbendazim, 2-(甲氧基氨基甲酰) 苯并咪唑, Methylbenzimidazol-2-yl carbamate] 是一种广谱内吸性杀菌剂, 对大多数子囊菌、半知菌和担子菌等真菌引起的植物病害有效, 对植物有内吸和治疗作用, 是西洋参栽培过程中最常用的农药, 播种时可用于种子和土壤消毒, 在苗期可防治立枯病和猝倒病。国外对水果蔬菜中多菌灵残留量检测已有报道, 如 Rangaswamy^[1] 用比色法, Chiba^[2-6] 分别采用离子对色谱及 RP-HPLC 来测定, Ogierman 等^[7,8] 将样品烷基化后用 GC 测定, Hases-Stery^[9] 报道了用 GC-MS 的方法。但国内外对西洋参茎叶、根中多菌灵的测定尚未见报道。我们用 HPLC 方法测定了多菌灵在西洋参茎叶和土壤中的消解动态, 为制订多菌灵在西洋参栽培中安全使用标准提供依据。

实 验 部 分

1. 仪器和试剂

Waters 510 型 HPLC 泵, U_{6k} 进样阀, Maxima/Baseline 810 色谱工作台, C_{18} 色谱柱 (长 25cm, 内径 4mm) 为不锈钢柱, 流动相为甲醇: 水: 四氢呋喃 (49: 49: 2), 流动相也可用 $0.5 \text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$ 醋酸铵: 甲醇 (7: 3), 流速 $1.0 \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 紫外检测波长 277nm。

多菌灵标准贮备液 $100 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (北京农业大学提供), 工作液浓度 $5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。西洋参所用农药为 50% 可湿性粉剂, 施药量为 $7.5 \text{kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, 原药剂稀释 200 倍。其它试剂均为分析纯。

2. 样品前处理

2.1 田间消解动态试验

种植三年生西洋参, 设三个重复小区, 面积 4m^2 , 保护行宽 2m , 并设空白对照区, 从 1992 年 5 月 20 日当天喷药后按一定间隔时间随机采样, 采样后立即贮存于低温冰箱中。

2.2 茎叶样品处理

称 2g 风干并粉碎的茎叶样品, 置于 50ml 具塞三角瓶中, 依次用 $20, 15, 15\text{ml}$ 丙酮超声提取 $30, 15, 15\text{min}$, 滤液合并用真空旋转浓缩器低温浓缩至约 5ml , 加入 50mL 2% 氯化钠溶液, 摇匀后加 10mL $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸溶液, 再加 20ml 二氯甲烷萃取脱色 (颜色深时可萃取二次), 二氯甲烷层用 10mL $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸反萃取一次, 弃去二氯甲烷相, 酸液用 $2\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 氢氧化钠调 $\text{pH} 6.5-7.0$, 再用二氯甲烷萃取三次 ($30, 15, 15\text{ml}$), 合并有机相后浓缩至约 15ml , 定量转入 K-D 瓶中, 加入适量甲醇, 然后蒸去二氯甲烷, 甲醇定容至适当体积, HPLC 检测。

2.3 西洋参根中多菌灵的提取

取 35°C 吹干的西洋参根粉末, 称取 2g , 于 50ml 三角瓶中, 加入 30ml 氯仿超声提取 30min , 过滤, 药渣用氯仿再提二次, 合并提取液低温真空旋转浓缩或氮气吹去氯仿, 浓缩至近 $1/5$ 体积时加入 2ml 甲醇, 继续蒸至近干时用甲醇移至 K-D 瓶中, 继续浓缩后定容, HPLC 检测。

2.4 土壤中多菌灵的提取

取 10g 35°C 风干的土壤样品 (过 40 目), 以下方法同上。

3. 残留量检测

配制不同浓度的标准品溶液, 进样 $20\mu\text{l}$, 得出标准曲线: 多菌灵浓度 ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) = $8.614 \times 10^{-7}A + 0.059$, $r = 0.9994$, 其中 A 为吸收峰面积, 在上述操作条件下, 此标准曲线在多菌灵浓度 $0.25-5\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 范围内呈线性, 用外标法测定样品中多菌灵的含量。

结 果 与 讨 论

1. 回收率与精密度

取空白对照区的西洋参茎叶、根、土壤, 按上述样品处理方法提取、净化、测定, 确认不含多菌灵, 再取这些空白样品加入不同量的多菌灵标准溶液, 凉干后按前法操作, 测定多菌灵含量并计算添加回收率, 结果见表 1, 色谱图见图 1。

表 1 多菌灵在西洋参中添加回收率

Table 1 Recovery of Carbendazim in *Panax quinquefolium*

样 品	茎 叶			根			土 壤
添加浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0.5	1.0	2.0	1.0	2.5	5.0	2.5
平均测定值 ($n=4$) / $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	0.40	0.70	1.5	0.7	1.5	3.8	2.1
回收率/%	80	70	75	70	60	76	84

