

高效液相色谱法测定阿维菌素 在枸杞果实中的残留动态^{*}

张 怡, 张宗山, 王 芳, 张 蓉

(宁夏农林科学院 植物保护研究所, 宁夏 银川 750002)

[摘 要] 采用高效液相色谱法研究了1.8%阿维菌素乳油在枸杞果实内的残留动态和最终残留量。结果表明,阿维菌素在枸杞果实内消解较快,在6和12 mg/L浓度下,施药后7 d枸杞果实内的阿维菌素残留分别为0.008和0.010 mg/kg,7 d后均未检出阿维菌素残留,半衰期为1.34~1.50 d,在使用推荐浓度6 mg/L、施药2次的情况下,最后一次施药7 d后,在枸杞果实内未检出阿维菌素,说明阿维菌素在推荐剂量下使用对枸杞果实的食用是安全的。

[关键词] 阿维菌素; 枸杞; 残留动态; 高效液相色谱

[中图分类号] TS201.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)12-0181-04

阿维菌素是由阿佛曼链球霉菌经微生物发酵提取等工艺生产的抗菌素类杀虫剂,其杀虫机制不同于一般杀虫剂,主要是通过阻碍害虫运动神经信号的传递使害虫麻痹致死。阿维菌素以胃毒作用为主,兼有触杀作用,具有药效持久、不易产生抗药性、与其他农药使用无交互抗性等特点,被广泛用于防治果树、蔬菜、花卉等多种作物的双翅目、同翅目、鳞翅目以及螨类害虫。由于该药的广泛使用,国际贸易中对其残留指标的检测十分重视。目前,国内对于阿维菌素在水果、蔬菜中的残留检测报道较少。在宁夏枸杞种植区,该农药是防治枸杞瘿螨的首选药剂,对枸杞蚜虫有很好的防治效果,用量较大。但对该药在枸杞中的残留动态研究尚未见报道。为此,本研究采用高效液相色谱法研究了1.8%阿维菌素乳油在枸杞果实内的残留动态和最终残留量,以了解该药使用中的残留情况并制定合理的使用方法提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

仪器: Agilent 1100型液相色谱仪(FLD检测器,色谱工作站), YWG-C₁₈色谱柱(长250 mm × 4.6 mm, 德国Agilent公司), 组织捣碎机(10 000 r/min), 旋转蒸发器, 食品加工机等。TX-16型背负式

喷雾器(工作压力为0.2~0.3 MPa, 工作行程为80~210 mm, 喷孔直径为1.0 mm)。

试剂: 1.8%齐螨素乳油(北京华绒生物激素厂); 阿维菌素标准品(99.0%) (浙江大学提供); 甲醇为HPLC级; 无水硫酸钠(分析纯, 500℃灼烧4 h, 贮于密封瓶内)。其他试剂为AR级。

1.2 田间试验

田间试验在宁夏农林科学院枸杞研究所进行。

1.2.1 消解动态试验 消解动态试验按一次施药多次取样方法进行,用“TX-16型”背负式喷雾器按推荐浓度6 mg/L和推荐浓度的2倍量12 mg/L两种剂量进行叶面喷雾,药液用量为1 350 kg/hm²。设清水喷雾为对照区。每处理1个小区,每小区9株枸杞树,重复3次。分别于施药后1 h和1, 3, 5, 7, 14, 21, 28 d采集枸杞成熟鲜果,于-20℃冰箱中保存。

1.2.2 最终残留试验 按推荐浓度6 mg/L 2次喷药,第一次喷药7 d后进行第2次喷药,于第2次喷药后7, 14, 21 d分别采集枸杞成熟果实,于-20℃冰箱中保存。

1.3 枸杞果实中阿维菌素残留量检测

1.3.1 阿维菌素的提取 将所取样品缩分出1 000 g,用食品加工机捣碎,均分成2份,装入洁净容器内,密封,作为试样。称取20.0 g试样于150 mL三角瓶中,加入40 mL丙酮,在组织捣碎机中捣碎5 min。

* [收稿日期] 2006-05-12

[基金项目] 国家“十五”重大专项(2001BA701A58-03)

[作者简介] 张 怡(1968-),男,宁夏中卫人,硕士,主要从事农林病虫害防治研究。E-mail: nxzhy@email.nx.cninfo.net

匀浆液经两层滤纸抽滤,滤渣用20 mL 丙酮洗涤,合并洗涤液到500 mL 分液漏斗中。然后加入50 g/L 硫酸钠水溶液50 mL,摇匀。用50 mL 二氯甲烷萃取3次,每次振摇1 min。合并3次二氯甲烷萃取液,于旋转蒸发器上浓缩后,转移至5 mL 离心管,用N₂吹干。

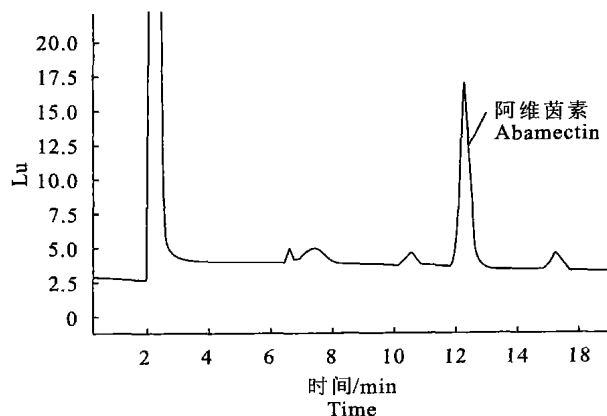


图1 阿维菌素标样色谱图

Fig 1 Standard chromatogram of Abamectin

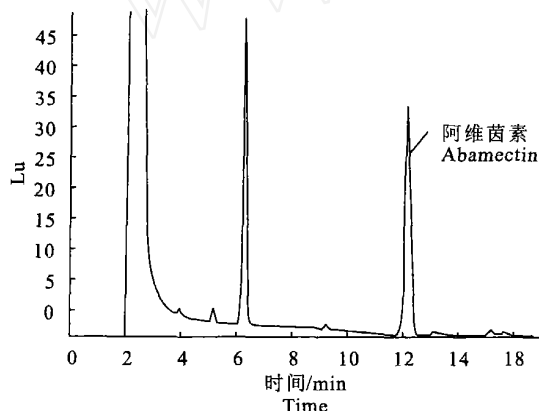


图3 枸杞样品中阿维菌素图谱

Fig 3 Chromatogram of Abamectin in wolfberry

1.4 阿维菌素标准曲线的制作

将阿维菌素标准品配制成1.92, 19.2, 192, 960和1920 μg/L 的标准系列溶液,进行液相色谱测定(进样量为20 μL),以标准溶液浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标绘制标准曲线。

1.5 阿维菌素添加回收率的测定

称取20 g 枸杞鲜果对照样品于150 mL 三角瓶中,分别加入0.016, 0.16, 1.6 mg/L 阿维菌素标准液,制成含量分别为1.6, 16, 160 μg/kg 的样品。然后按上述枸杞果实中阿维菌素的提取方法提取并检测。计算阿维菌素回收率。

1.3.2 液相色谱检测条件 色谱柱为YW G-C₁₈,长250 mm × 4.6 mm。流动相为V(甲醇) V(水)=95:5,流速1.0 mL/min;激发波长364 nm;发射波长470 nm。柱温为室温。进样量为20 μL。最小检出浓度0.001 mg/kg;最小检出量4.0 × 10⁻¹⁰ g。测定色谱图见图1~图3。

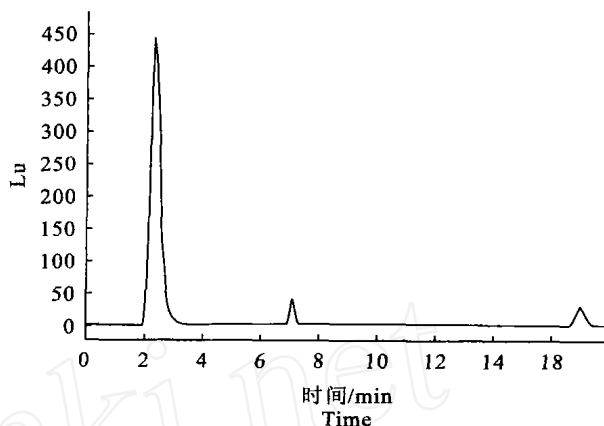


图2 空白样品色谱图

Fig 2 Chromatogram of Abamectin in blank wolfberry

1.6 计算方法

阿维菌素残留量计算公式:

$$X = \frac{h \times c}{h' \times m} \times V$$

式中, X 为阿维菌素残留量(mg/kg); h 为样液中阿维菌素峰面积; h' 为标准工作溶液中阿维菌素峰面积; c 为标准工作溶液浓度(μg/mL); m 为所取试样量(g); V 为样液定容体积(mL)。

阿维菌素降解率计算公式:

$$D = [(M - N) / N] \times 100\%$$

式中, D 为降解率; M 为样品中阿维菌素的含量(mg/kg); N 为对照样品中阿维菌素的含量(mg/kg)。

阿维菌素消解动态方程:

$$C_t = C_0 e^{-kt}$$

式中, C_t 为施药后间隔 t 时的农药浓度; C_0 为施药后的原始沉积量; k 为消解速率常数; t 施药后时间。

2 结果与分析

2.1 阿维菌素标准曲线

阿维菌素标准曲线见图4,该标准曲线的方程为: $y = 1.5715x + 16.223$, $R^2 = 0.9987$ 。由图4可知,阿维菌素浓度在1.92~1920 μg/L,其含量与峰面积有良好的线性关系。

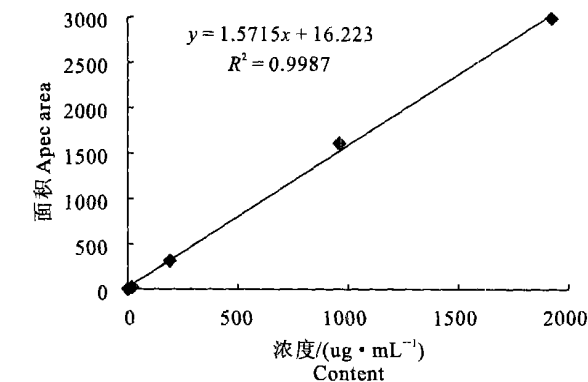


图 4 阿维菌素的标准曲线

Fig 4 Standard curve of abamectin with HPLC

2 2 阿维菌素在枸杞果实中的添加回收率

阿维菌素添加回收率试验结果见表1。由表1可知, 枸杞鲜果中阿维菌素的添加回收率为91.2%

表 1 阿维菌素在枸杞果实上添加回收率的试验结果

Table 1 Recovery of abamectin in wolfberry fruit samples fortified with known amounts of the insecticide %					
添加水平/ ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Portification level	回收率 Rate of recovery			平均回收率/% Average rate of recovery	标准偏差 Standard deviation
	I	II	III		
1.6	95.1	93.5	94.2	94.3	0.80
16	89.6	92.3	91.8	91.2	1.44
160	96.2	92.3	91.4	93.3	2.55

表 2 阿维菌素在枸杞果实内的消解动态

Table 2 Residual dynamics of abamectin in wolfberry fruit

施药后天数/d Days after application	6 mg/L		12 mg/L	
	残留量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Residue dosage	降解率/% Disappearance rate	残留量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Residue dosage	降解率/% Disappearance rate
0	0.350	0	0.302	0
1	0.069	80.29	0.099	67.22
3	0.011	96.86	0.038	87.42
5	0.008	97.71	0.018	94.04
7	0.008	97.71	0.010	96.69
14	ND		ND	
21	ND		ND	
28	ND		ND	
降解方程 Degredation equation	$C = 0.1462e^{-0.516x}$ ($r = 0.8794$)		$C = 0.2031e^{-0.4634x}$ ($r = 0.9736$)	

注: ND 为低于最小检测浓度0.001 mg/kg,

Note: ND means no detection, or < 0.001 mg/kg

2 4 阿维菌素在枸杞果实中的最终残留

对阿维菌素在枸杞果实内的最终残留检测结果表明, 按推荐浓度6mg/L 两次施药, 施药7 d 后阿维菌素在枸杞果实内的最终残留量均未检出。

3 讨 论

目前, 国内已有关于阿维菌素在几种蔬菜中的残留动态研究报道^[1-3]。国际上对阿维菌素最高残留

~ 94.3%, 标准偏差0.80%~ 2.55%, 表明本试验的分析方法符合农药残留分析要求。

2 3 阿维菌素在枸杞果实中的消解动态

阿维菌素在枸杞果实中的消解动态见表2。由表2可以看出, 2 种浓度处理, 在喷药当天阿维菌素在枸杞果实中的残留量分别为0.350 和0.302 mg/kg; 喷药后 7 d, 阿维菌素在枸杞果实内的残留量分别为0.008 和0.010 mg/kg, 降解率分别为97.71% 和96.69%, 7 d 后均未检出阿维菌素。

对消解动态数据进行回归处理, 消解动态曲线符合一级动力学方程。在推荐剂量和加倍剂量处理下阿维菌素在枸杞果实中的残留动态方程分别为 $C = 0.1462e^{-0.516x}$ ($r = 0.8794$) 和 $C = 0.2031e^{-0.4634x}$ ($r = 0.9736$), 半衰期分别为1.34 d 和1.50 d。

量(MRL)的要求: 联合国粮农组织和世界卫生组织(FAO) 所属的食品中农药残留立法委员会(CCRPF) 为5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 美国为20 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 欧盟为0.02 mg/kg。枸杞有3 个多月的采收期, 每隔7 d 就需要采收一次, 枸杞瘿螨是枸杞采收期内的常发性害虫, 为了防治枸杞瘿螨, 需多次喷施阿维菌素, 所以控制阿维菌素的剂量和用药次数对枸杞生产非常重要。目前, 我国尚未制定阿维菌素在枸杞中的MRL 值。

本研究结果表明,阿维菌素在田间枸杞上使用,在采收前7 d 按推荐质量浓度6 mg/L 施药,其残留量均低于国际上制定的MRL 值,说明阿维菌素在推荐

剂量下使用对枸杞果实的食用是安全的,但对其药有效成分的影响,还需要进一步试验验证。

[参考文献]

- [1] 梁振益,李嘉诚,罗盛旭,等. 高效液相色谱法测定蔬菜与水果中阿维菌素残留量[J]. 现代农药, 2005, 4(4): 20-22
- [2] 张少华,皇甫伟国,何新华,等. 高效液相色谱法检测葱中阿维菌素的残留量[J]. 农药, 2006, 45(4): 263-264
- [3] 陈勇达,张少军,钱训,等. 1.8%阿维菌素乳油在黄瓜上的消解动态研究[J]. 河北农业科学, 2004, 8(2): 113-115

Residues of abamectin in wolfberry by HPLC

ZHANG Yi, ZHANG Zong-shan, WANG Fang, ZHANG Rong

(Institute of Plant Protection, Academy of Ningxia Agricultural and Forestry Science, Yinchuan, Ningxia 750002, China)

Abstract: The studies on the final residue and dynamic degradation of 1.8% abamectin EC in wolfberry were carried out by HPLC. and the results showed that abamectin dissipated rapidly in wolfberry fruit. Spraying at 6 and 12 mg/L with an interval of 7 d, the residue was 0.008 and 0.010 mg/kg in wolfberry fruit, the half life of Abamectin in wolfberry fruit was 1.34- 1.50 d and abamectin was not detected after 7 d of last spray at dilution of 6 mg/L. Thus, this pesticide is safe when applied on wolfberry fruit at recommended rates

Key words: abamectin; wolfberry; residue dynamic; HPLC

(上接第180页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)12-0174-EA

Isolation and identification of symbiotic bacteria associated with entomopathogenic nematodes

WANG Yong-hong, ZHANG Xing

(Biorational Pesticides Research and Service Center, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The phenotypes and biochemical characteristics of the symbiotic bacteria associated with *Steinernema* sp. YL001 and *Steinernema* sp. YL002 were studied to determine the taxonomic classification. These characteristics of both symbiotic bacteria were consistent with other strains of *X. nematophila* and *X. bovienii* in morphological and biochemical properties respectively. On the basis of the phenotypes and biochemical characteristics analysis, both symbiotic bacteria should belong to the species of *X. nematophila* and *X. bovienii*

Key words: entomopathogenic nematodes; symbiotic bacteria; isolation of symbiotic bacteria; identification of symbiotic bacteria