

方法开发报告：2013-APP-RLC-044-液相色谱紫外检测器分 析测定茶叶中的吡虫啉残留（LC+UV）

检测项目	吡虫啉
样品基体	茶叶
仪器型号	Ultimate 3000 系列： 泵：LPG-3400SD P/N: 5040.0031 自动进样器：WPS-3000SL P/N: 5822.0010 柱温箱：TCC-3000RS P/N: 5730.0000 检测器：DAD-3000 P/N: 5082.0010 色谱软件：Chromeleon Chromatography Data System
色谱柱类型尺寸、S/N 号及柱温	Accucore aQ, 150 × 4.6mm 2.6um , P/N:17326-154630, S/N:10031604; 30℃
检测器类型、工作参数及 S/N 号	DAD, 270nm
流动相组成及流速	A: ACN, B: 0.1% H3PO4 水溶液 梯度洗脱：0-22min, A: 10%-25%; 22-25min, A:100%; 25min 后平衡 10min. 总的分析时间：35min。
进样体积	10uL

1. 简介

吡虫啉是烟碱类超高效杀虫剂，具有广谱、高效、低毒、低残留，害虫不易产生抗性，对人、畜、植物和天敌安全等特点，并有触杀、胃毒和内吸等多重作用。害虫接触药剂后，中枢神经正常传导受阻，使其麻痹死亡。产品速效性好，药后1天即有较高的防效，残留期长达25天左右。药效和温度呈正相关，温度高，杀虫效果好。主要用于防治刺吸式口器害虫。主要用于防治水稻、小麦、棉花等作物上的刺吸式口器害虫，如蚜虫、叶蝉、蓟马、白粉虱及马铃薯甲虫和麦秆蝇等。

茶叶系山茶科植物茶树（*Camellia sinensis* O. Ktze）的干燥嫩叶或叶芽，

是一种传统的药食同源的天然保健饮品。在茶叶种植过程中,有时会采用易降解、毒性低的杀虫剂防治病害,因此需要对茶叶中的吡虫啉残留进行测定。国家及农业部分别制定了GB/T 23379-2009 水果、蔬菜及茶叶中吡虫啉残留的测定 高效液相色谱法, NY/T 1724-2009 茶叶中吡虫啉残留量的测定 高效液相色谱法,因此,本方法根据以上标准,尽量遵从原标准方法的基础上,对吡虫啉进行了分析。

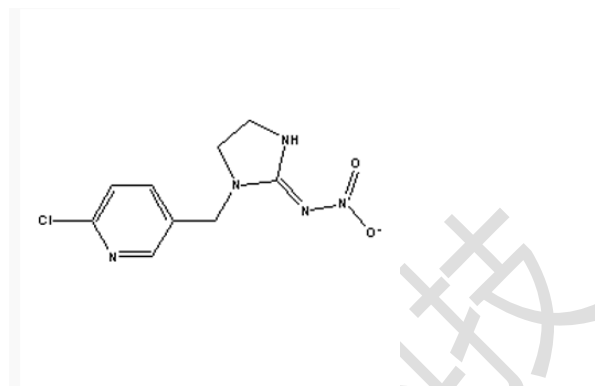


图1 吡虫啉分子结构式



图2 蚜虫

2. 标准品与样品前处理

标准溶液配制: 吡虫啉标准溶液购自阿拉丁试剂公司, 浓度1000ug/ml, 用1+4 ACN: H₂O, 稀释成标准工作溶液, 最终浓度为1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50 ug/ml。

样品前处理: 称取5.0g样品, 加50ml ACN超声提取, 过滤, 然后旋蒸至近干, 转移至C18 SPE小柱上进行净化, 分别用NaOH水溶液去除杂质, 再用水进行清洗, 平衡pH值, 然后抽干, 用1ml ACN洗脱, 过0.22um滤膜后, 上样。具体参照GB/T 23379-2009执行。

样品名称及编号：祁门红茶-CM，龙井-LJ，茉莉花茶-MLH，普洱茶-PE，铁观音-TGY。以上茶叶均为市售品。

3. 色谱柱的选择及梯度洗脱方法改进

色谱柱选择：由于吡虫啉极性较强；同时由于茶叶中杂质较多，采用5 μ m, 4.6*250mm的C18柱进行分析，需要50min以上。因此，考虑以上两种情况，本方法采用了更亲水的Aq柱，同时，考虑到Accucore实心颗粒柱，分离效果更好，峰容量较大，因此，采用了Accucore 4.6*150mm的柱，节省分析时间。

洗脱程序：根据国标中的洗脱方法，在Accucore 4.6*150mm上进行了方法转换计算，分析时间共35min，见上表。

4. 分析结果与谱图

4.1 标准溶液分析谱图

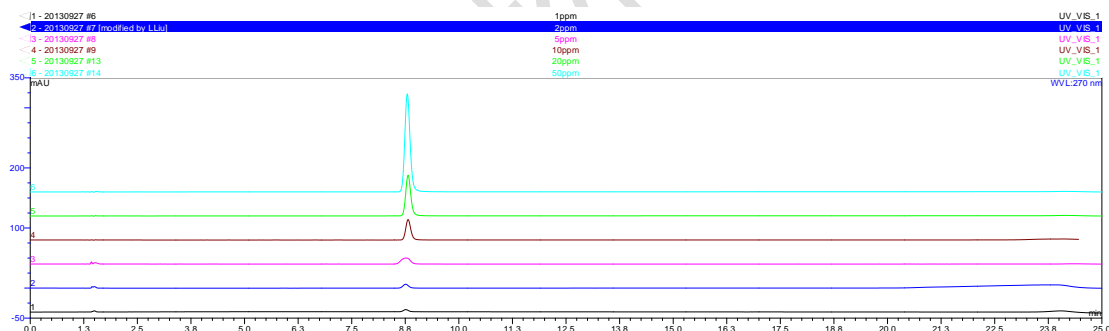


图 3 吡虫啉标准溶液谱图

表 1 吡虫啉标准溶液分析结果

No.	Peak Name	Cal.Type	#Points	Coeff.Det. %	Offset	Slope
1	吡虫啉	LOff	6	99.99	0.0628	0.4717

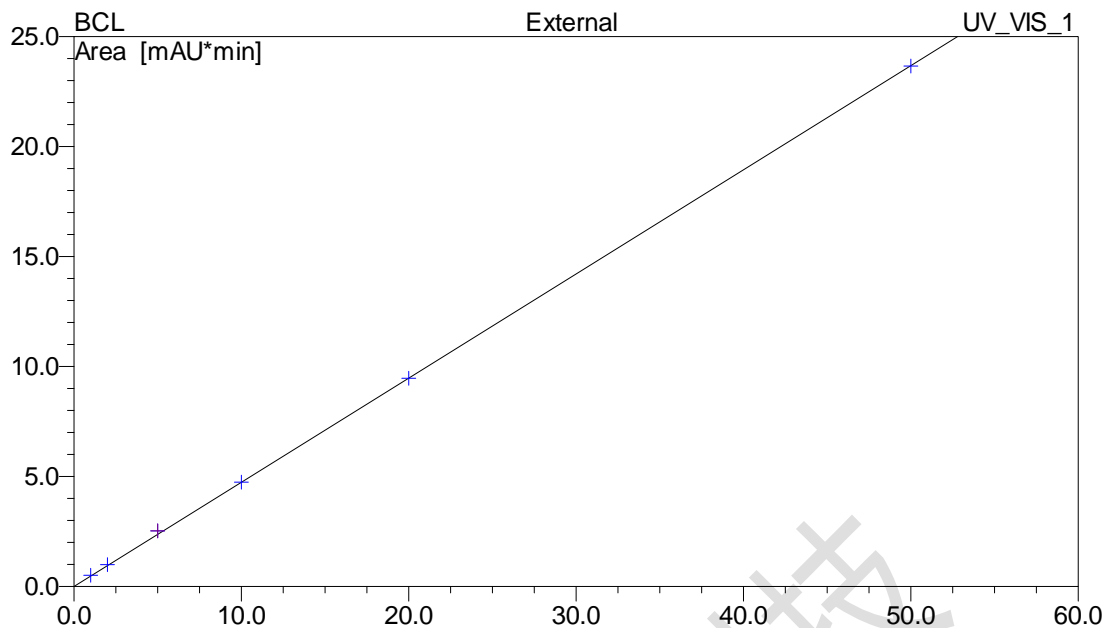


图 4 吡虫啉标准曲线图

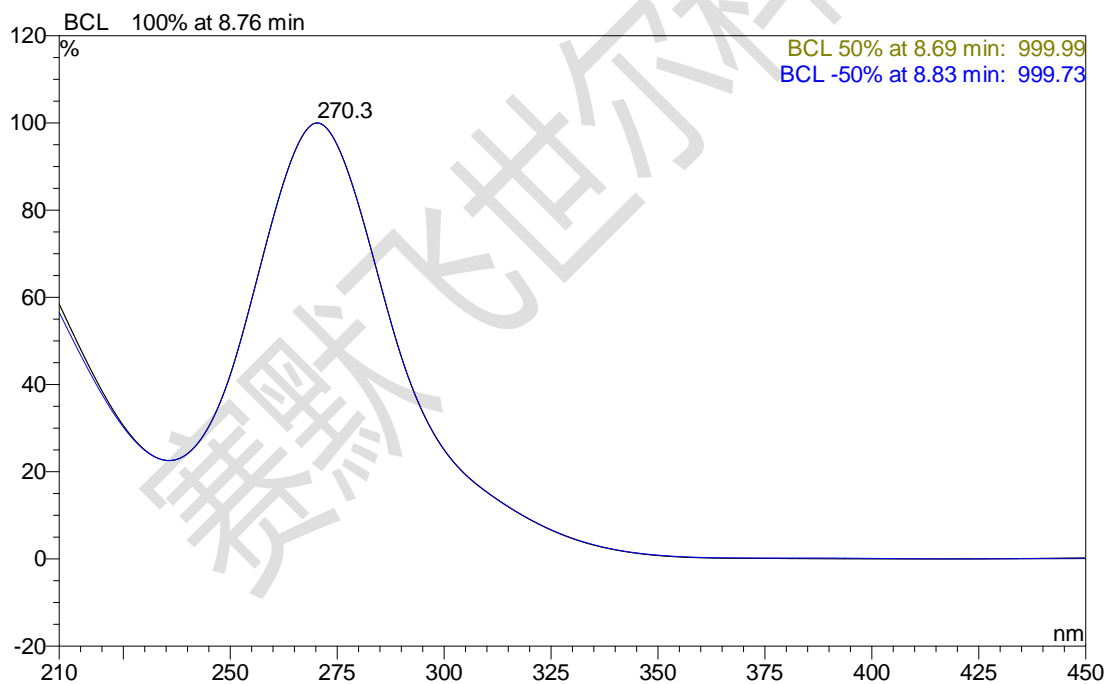


图 5 吡虫啉标准溶液峰纯度图

从以上图表，可以看出吡虫啉的线性回归系数较好，峰纯度较高，最大吸收峰 270nm。

4.2 吡虫啉标准溶液重现性分析结果

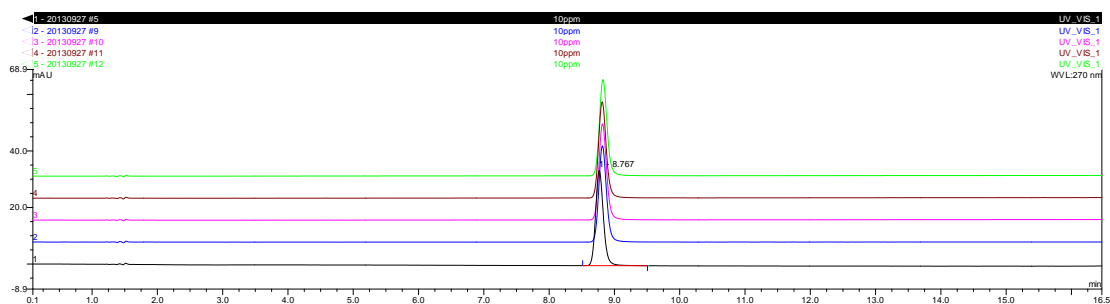


图 6 标准溶液重现性分析图（浓度为 10.0ug/ml, n=5）

表 2 标准溶液重现性分析结果（浓度为 10.0ug/ml, n=5）

Sample No.	Sample Name	Ret.Time min	Area mAU*min	Height mAU
1	STD	8.767	8.767	4.7054
2	STD	8.817	8.817	4.7422
3	STD	8.817	8.817	4.7336
4	STD	8.813	8.813	4.7313
5	STD	8.824	8.824	4.7333
Average:		8.807	4.7292	33.9306
Rel.Std.Dev:		0.08%	0.261 %	0.294 %

从以上图表可以看出，对浓度为 10.0ug/ml 的标准溶液连续进样 5 次，重现性较好，峰面积值 RSD<0.50%，保留时间 RSD 值<0.10%。

4.3 仪器检出限

对最低浓度 1.0ug/ml 进行了分析，根据信噪比进行计算，仪器最低检出限（以 S/N=3 计）为 0.10ug/ml。

4.4 样品重现性分析及加标分析结果

同时称取普洱茶样品三份，进行分析，样品重现性分析结果如下：

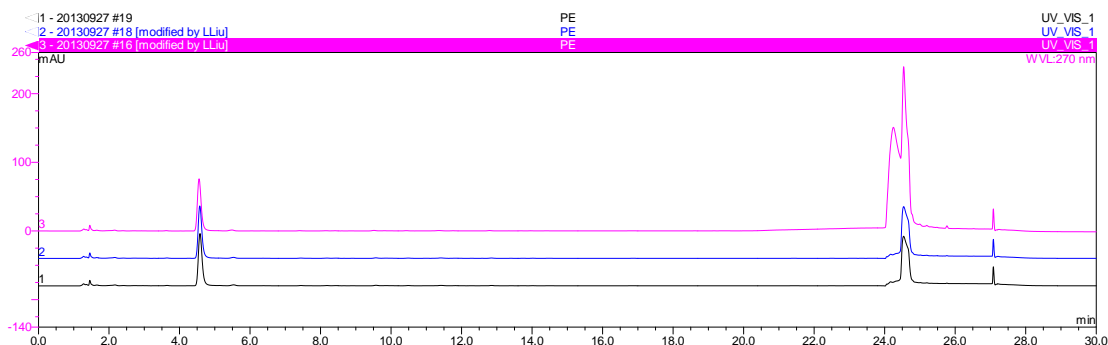


图 7 样品溶液重现性分析图

表 3 样品溶液重现性分析结果

Sample No.	Sample Name	Ret. Time min	Area mAU*min	Height mAU
16	普洱 1	4.553	9.3583	75.0399
18	普洱 2	4.573	9.6142	76.1349
19	普洱 3	4.580	9.6592	75.9999
Average:		4.566	9.6367	76.0674
Rel. Std. Dev:		0.11%	0.33%	0.13%

对普洱茶进行了加标回收率实验，加入浓度值 10.0ug/mL，测得值 9.30ug/ml，计算得回收率为 93.0%。加标样品谱图如图 7 所示。

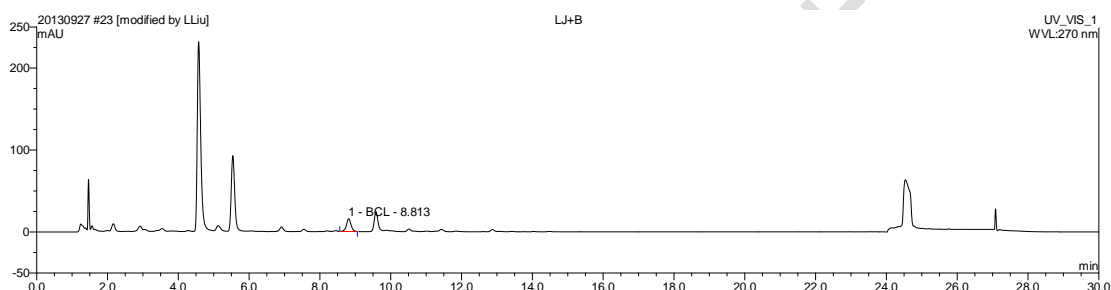


图 8 加标回收样品分析图

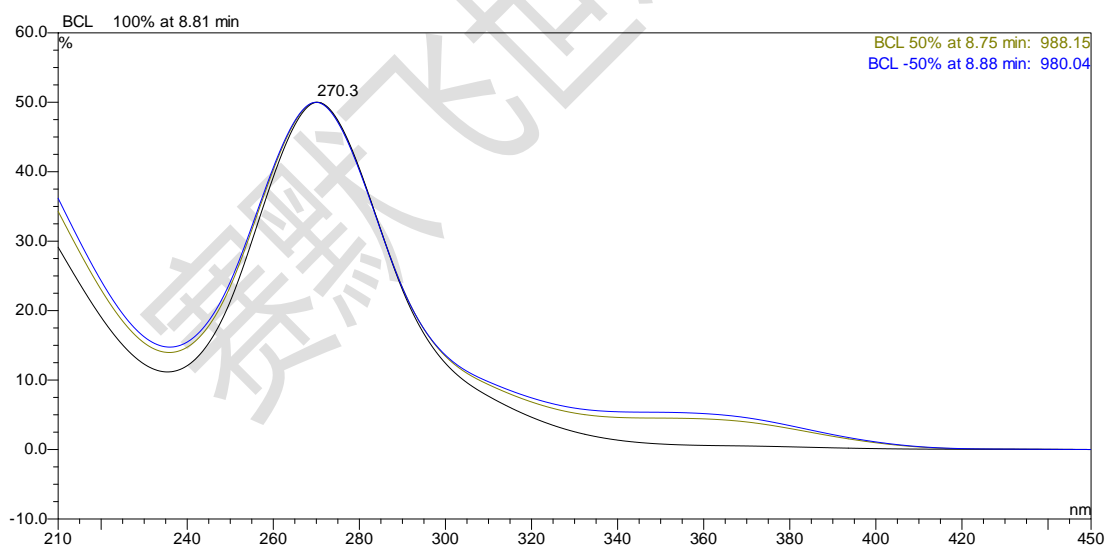


图 9 加标回收样品中吡虫啉光谱图

4.5 样品分析结果

分别对 5 种不同茶叶样品进行了分析，分析谱图及结果如下：

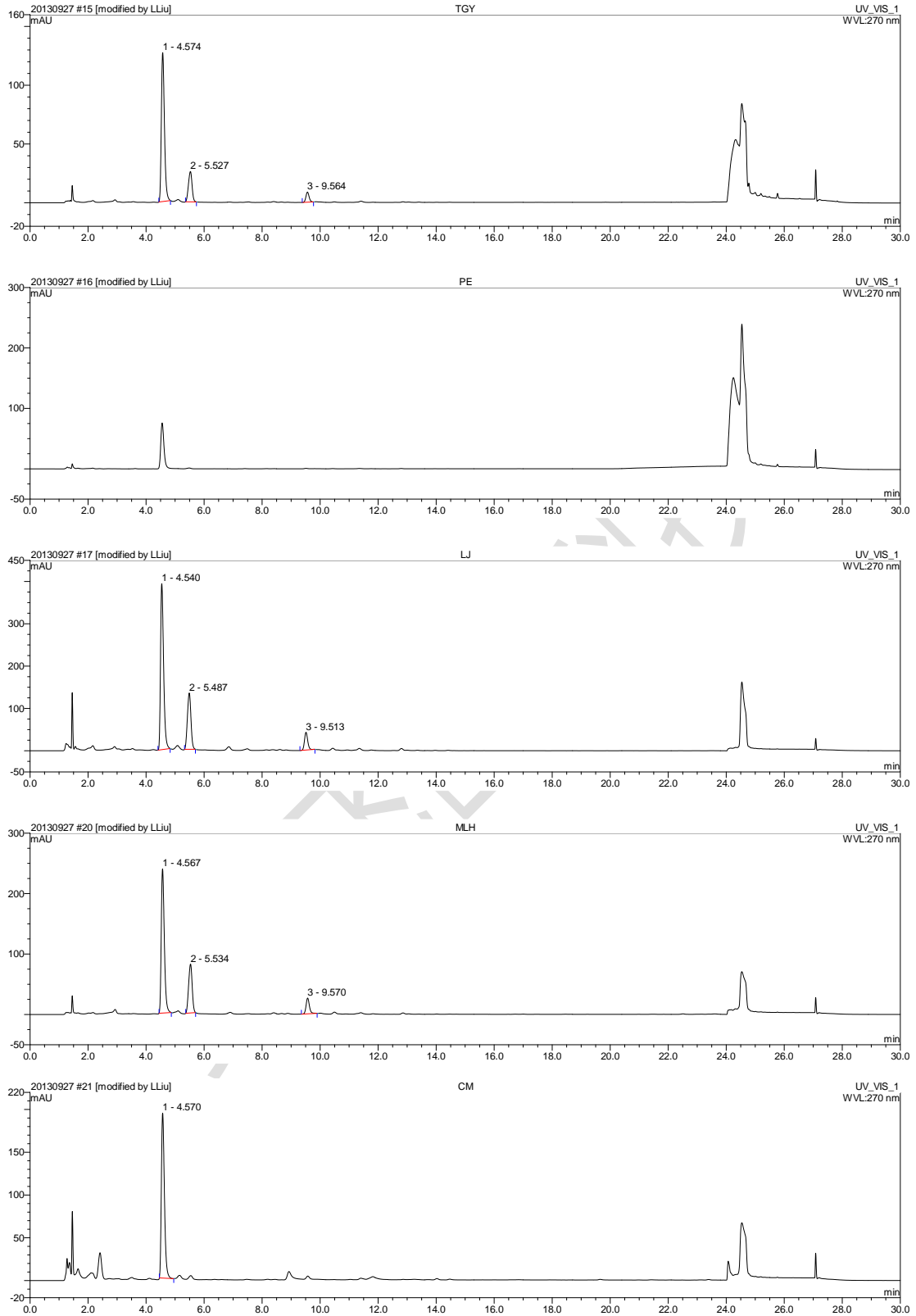


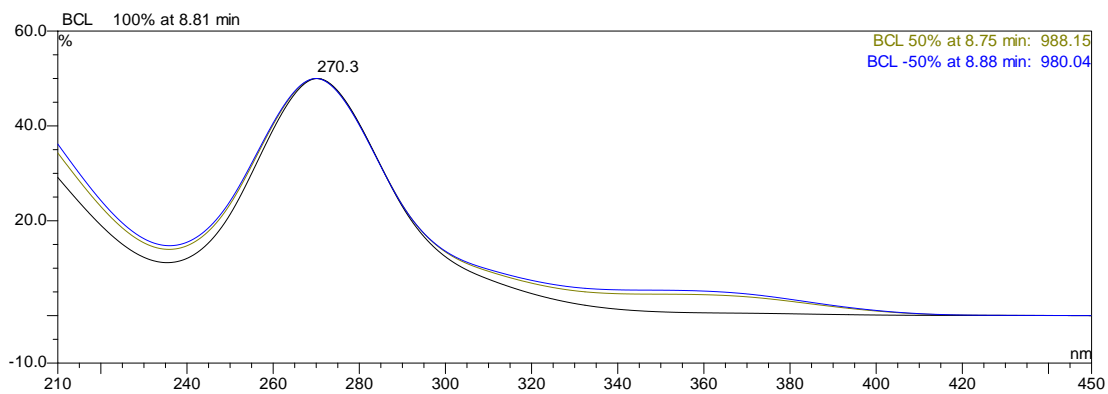
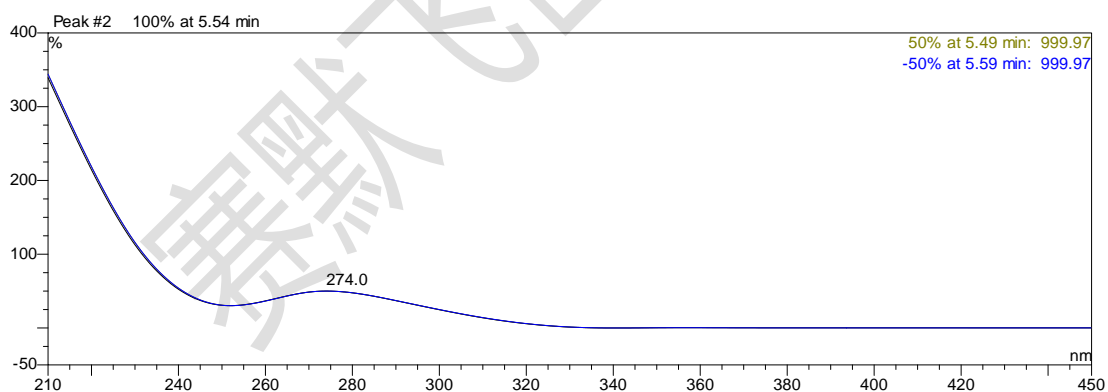
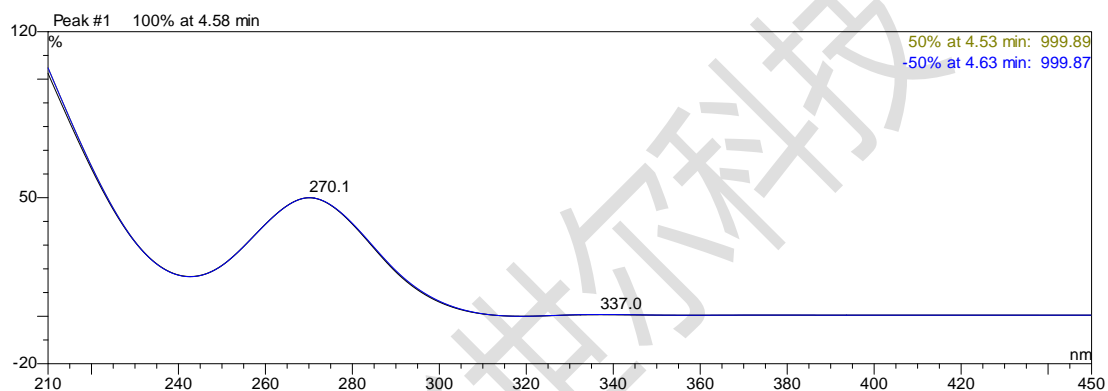
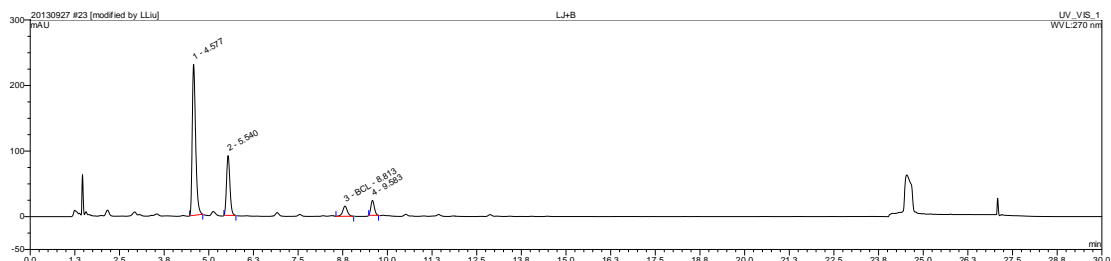
图 5 样品分析谱图

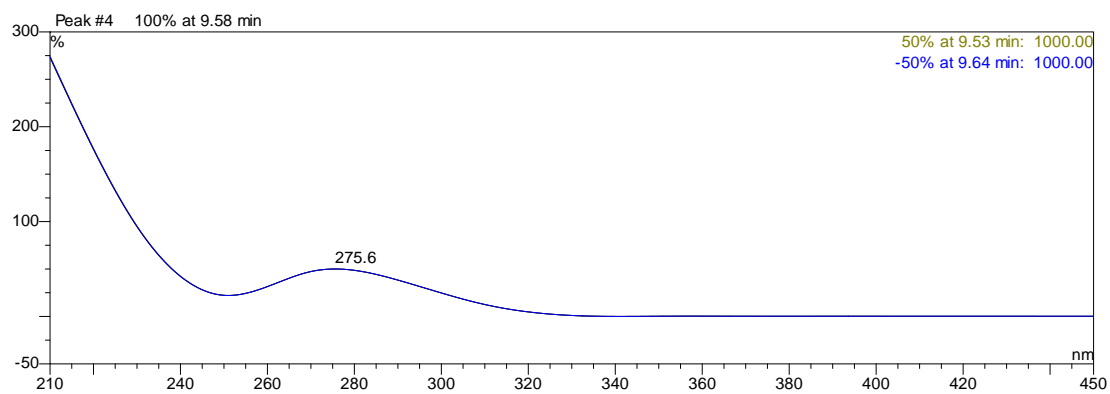
(自上至下, 铁观音-TGY, 普洱茶-PE, 茉莉花茶-MLH, 龙井-LJ, 祁门红茶-CM,) 通过对以上样品进行分析, 结果均为未检出。

5. 结论

该方法可用于对茶叶中的吡虫啉的测定。

附录：样品（加标）中检出的主要化合物峰及其光谱图：





赛默飞世尔科技