

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐衍生化条件优化及在土壤残留检测中的应用

程 永, 李素霞, 张 杰, 慕 卫, 刘 峰*

(山东农业大学植物保护学院 农药毒理及应用重点实验室, 山东 泰安 271018)

摘 要:为考察衍生化反应时间、温度、光照、衍生化试剂浓度以及衍生化产物稳定性等因素对衍生化反应的影响,建立测定土壤中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的柱前衍生化高效液相色谱荧光测定方法,采用三氟乙酸酐(TFAA)-N-甲基咪唑(NMIM)-乙腈(ACN)法进行柱前衍生化,研究衍生化因子的影响。土壤样品经甲醇提取,以高效液相色谱-荧光检测器进行甲维盐残留量分析结果表明:在 20℃,避光条件下,先后加入等量 NMIM-CAN(1+9)和 TFAA-CAN(1+9),衍生化效率达到最高,此时,对土壤中甲维盐的最低检测浓度为 0.001 mg·L⁻¹;在 0.005~1 mg·kg⁻¹ 时,甲维盐添加回收率为 91.74%~102.68%,变异系数在 2.55%~7.55%之间。在最大衍生率下,高效液相色谱-荧光检测法准确可靠,灵敏度和准确度均达到农药残留检测的要求。

关键词:甲维盐;衍生;残留;高效液相色谱;土壤

中图分类号:X830.2 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2012)12-2506-07

Optimized the Impact Factors of Fluorescence Derivatization Reaction and the Application in the Determination of Emamectin Benzoate in Soil

CHENG Yong, LI Su-xia, ZHANG Jie, MU Wei, LIU Feng*

(College of Plant Protection, Key Laboratory of Pesticide Toxicology & Application Technique, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: The aim of this study is to investigate some experimental parameters that influence derivatization efficiency, such as the time, temperature, light, concentration of derivatization reagent and the stability of the derivatized products and build a sensitive HPLC-FD method for determining Emamectin benzoate in soils. The sample extracted by methanol, was derivatised by TFAA-NMIM-CAN system. And then the Emamectin benzoates in soil were analyzed on HPLC-FD. The results showed that derivatization efficiency reached the highest under 20℃, NMIM-CAN(1+9) and TFAA-CAN(1+9) without light. The fortified recovery and variation coefficient of added compounds in samples were 91.74%~102.68% and 2.55%~7.55% respectively, the limited level of detection was 0.001 mg·L⁻¹. Under the optimized conditions, the HPLC-FD method was accurate and reliable, all validated parameters of this method were sufficient for analysis of pesticide residue.

Keywords: emamectin benzoate; derivatization; residues; HPLC; soil

甲氨基阿维菌素苯甲酸盐(简称甲维盐)是 1984 年美国 Merck 公司对阿维菌素 4''-(α -1-齐墩果糖基)- α -1-齐墩果糖上的羟基进行衍生化的产物,为半合成抗生素杀虫、杀螨剂,近年来在我国随着其生产成本的下降以及作为高毒有机磷农药替代药剂而

得到广泛应用,使用量在不断增加。然而有研究表明,甲维盐对高等动物毒性中等,经皮毒性较低,但对鱼、虾、蝌蚪等非靶标水生生物高毒^[1-2],部分国家已对甲维盐最高残留限量(MRL 值)作了明确规定,如澳大利亚、马来西亚分别将其残留限量限定为 0.02、0.05 mg·kg⁻¹^[3],因此甲维盐的残留问题应该引起我国重视。由于甲维盐农药分子量大,极难气化,无法用气相色谱分析,大多以液相色谱、酶联免疫吸附和同位素标记方法进行分析^[4-8],其中液相色谱法是目前的主要方法。但液相色谱广泛使用的 UV 检测器灵敏度不

收稿日期:2012-03-23

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(200903040)

作者简介:程 永(1987—),男,河北唐山人,硕士研究生,主要从事农药加工与应用技术研究。E-mail:cy19870205@163.com

*通信作者:刘 峰 E-mail:fliu@sdau.edu.cn

高,且易受杂质干扰,而 MS 或 MS/MS 设备价格昂贵,将甲维盐用衍生化试剂衍生化使用荧光检测器检测是提高检测限的一种解决方案。甲维盐的衍生化反应基于阿维菌素衍生化反应原理,Morozik 等研究表明阿维菌素与醋酸酐-无水吡啶长时间共热可在 TLC 展板上出现强的荧光带;Demontigny 等^[9]采用更强的酰化剂三氟醋酸酐(TFAA)和惰性乙腈作溶剂,操作简单,反应快速,其荧光产物可以直接测定。而后三氟乙酸酐(TFAA)-N-甲基咪唑(NMIM)-乙腈(ACN)法成为阿维菌素类残留荧光测定的主要衍生方法。但衍生化反应受多种因素影响,同时甲维盐是在阿维菌素的结构基础上进行了修饰的产物,许多文献或多或少提及实验参数对该衍生反应的结果有不同程度的影响,但报道结果存在很大的出入,迄今为止未见文献对此进行过系统地研究^[4-5,9-13],而衍生化反应情况直接关系到最终检测结果的准确性和精确性。本研究旨在比较不同因子对甲维盐的衍生化效果的影响,明确最佳的衍生化条件,并在此基础上应用 HPLC-FD 方法检测土壤中甲维盐。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与材料

1.1.1 仪器与试剂

2414 高效液相色谱仪(Waters);474 荧光检测器(Waters);515 高效液相色谱泵(Waters);Diamondsil C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm,迪马公司);回旋式振荡器;旋转蒸发仪;循环水多用真空泵;超声波清洗仪;Florisil-SPE 净化柱(1 g/6 mL),万分之一电子天平(Sartorius A200S);10 μL 进样针(瑞士 Hamilton 公司);SE812 型氮吹仪(北京帅恩科技有限责任公司);光照度测定仪 TES-1332A (泰仕电子工业股份有限公司)。

甲维盐标准品(纯度 98%,购自中国标准试剂网);甲维盐原药(纯度 92%,河北威远生物制药有限公司);N-甲基咪唑和三氟乙酸酐(购自百灵威生物试剂);甲醇、乙腈(色谱纯,天津永大);实验用水为 Milli-Q 纯水(美国 Milipore 公司)。

1.1.2 甲维盐溶液配制

甲维盐标准液配制:用电子天平准确称取甲维盐标样,用过无水硫酸钠的无水乙腈溶解,配制成浓度为 100 mg·L⁻¹ 的甲维盐标准储备液。

标准工作溶液系列:用无水乙腈将甲维盐储备液配制成 0.001、0.005、0.010、0.050、0.100、1.000、2.000 mg·L⁻¹ 的标准溶液。

1.2 试验步骤

1.2.1 样品前处理

取 10 g 土壤于 150 mL 三角瓶中,加入两倍体积的甲醇,32 kHz 超声 30 min,200 r·min⁻¹ 振荡 2 h,抽滤,滤液旋转蒸发近干,用 5 mL 丙酮转移至 5 mL 容量瓶,氮气吹干,用 0.5 mL 乙腈溶解(超声助溶),待衍生化。

1.2.2 柱前衍生化衍生因子研究

衍生化参照赵莉等^[4]方法,略有改动,在避免强光照射条件下,先加入 0.5 mL N-甲基咪唑(NMIM),再加入 0.5 mL 三氟乙酸酐(TFAA),立即盖上试管塞,振荡摇匀,冷却至常温,加入 1.2 mL 甲醇,盖上试管塞,60 ℃水浴衍生化反应 1 h,取出用甲醇定容至 1.2 mL,过 0.45 μm 有机滤头后进行 HPLC-FD 测定。

1.2.2.1 光照对衍生反应的影响研究

将同一浓度的甲维盐放置在 6 个不同光照条件下进行衍生化,处理如表 1 所示。衍生化试验中每个光照条件组处理取 4 个 5 mL 容量瓶,各加入 0.5 mL 10 mg·L⁻¹ 的甲维盐标准工作液,然后加入 N-甲基咪唑:乙腈=3:7(体积比,以下同)0.5 mL,漩涡混匀 30 s,

表 1 光照试验设计
Tabel 1 The design of the illumination test

处理 Treatment	光照度 Illumination/lx	
	加入甲维盐标准工作液至加入 1.2 mL 甲醇 From adding the emamectin benzoates to adding the 1.2 mL methanol	加入 1.2 mL 甲醇后 After adding the 1.2 mL methanol
1	0.0	0.0
2	194.5	0.0
3	0.0	194.5
4	194.5	194.5
5	1 973.0	1 973.0
6	10 000.0	10 000.0

再加入 0.5 mL 三氟乙酸酐/乙腈 (3:7), 立即盖紧盖子, 漩涡混匀 30 s, 反应 30 min, 加入 1.2 mL 甲醇, 反应 30 min, 用甲醇定容, 过 0.45 μm 有机滤头后进行 HPLC-FD 测定。

1.2.2.2 温度对衍生化反应的影响研究

取一定量甲维盐标准工作液进行衍生化, 在避光条件下, 按照上述方法分别在 -20、0、20、40 $^{\circ}\text{C}$ 和 60 $^{\circ}\text{C}$ 条件下进行衍生化, 比较不同温度对荧光衍生化反应的影响。

1.2.2.3 反应时间对衍生反应的影响研究

取一定量甲维盐标准工作液进行衍生化, 分为 A、B 两组, 分别在避光条件下加入衍生化试剂, A 组再衍生化在加入 1.2 mL 甲醇前分别反应 0.5、15、30、45、60、90、120、150 min, 加入甲醇后反应 30 s, B 组再衍生化在加入 1.2 mL 甲醇前反应 30 s, 加入 1.2 mL 甲醇后分别反应 0.5、15、30、45、60、90、120、150 min, 反应完成后用甲醇定容, 过 0.45 μm 滤头, HPLC 检测比较不同反应时间对衍生化反应的影响。

1.2.2.4 衍生化试剂浓度对衍生反应的影响研究

取一定量甲维盐标准工作液, 在避光条件下, 分别加入 N-甲基咪唑+乙腈 (CAN) 和三氟乙酸酐 (TFAA)+乙腈 (CAN), 比较 N-甲基咪唑和三氟乙酸酐 (TFAA) 与乙腈 (CAN) 的体积比均为 0.5+9.5、1+9、3+7、5+5、7+3、9+1 以及 10+0 条件下衍生化反应情况, 每处理重复 3 次, 30 min 后测定其峰面积。

1.2.2.5 衍生化产物稳定性研究

取一定量甲维盐标准工作液, 按照上述条件进行衍生化, 将所得溶液分别置于室温避光 (0 lx)、室温不避光 (约 200 lx)、4 $^{\circ}\text{C}$ 避光 (0 lx) 3 种条件下, 分别于衍生化后 0.5、2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24 h 上机测定衍生化产物的响应峰面积, 比较暴露在不同条件下衍生化产物的稳定性。

1.3 土壤中甲维盐残留检测

1.3.1 标准曲线绘制

配置浓度分别为 0.001、0.005、0.010、0.050、0.100、1.000、2.000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的甲维盐标准工作液, 按照优化后衍生化条件进行优化, HPLC 检测, 绘制浓度和峰面积做线性回归曲线, 分别求得标准曲线方程和线性相关系数。

1.3.2 添加回收试验

添加回收试验用土采集于泰安市山东农业大学南校区试验田, 土壤为棕壤土, pH 值为 7.2, 有机质含量 32.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 分别在 0.005、0.010、0.100、1.000 $\text{mg}\cdot$

kg^{-1} 4 个浓度水平进行添加回收实验, 每浓度设 3 次处理, 每处理重复 5 次, 计算批内和批间添加回收率。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Diamonsil C18 (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm , 迪马公司)。流动相甲醇:乙腈 (90:10); 流速 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。检测波长: 荧光激发波长 365 nm, 发射波长 470 nm。柱温 40 $^{\circ}\text{C}$ 。进样量 10 μL 。

1.3.4 环境中甲维盐检测

在优化的实验条件下, 分别测定山东农业大学试验田一年内未进行甲维盐土壤处理的以及按照田间使用量 100 $\text{g a.i}\cdot\text{hm}^{-2}$ 施用过甲维盐的土壤中 10 d 后甲维盐残留量。田间采用 1 cm 直径土钻五点取样, 混合均匀, 取 50 g 土壤, 提取, 参照曹爱华等^[7]的方法用 Florisil-SPE 柱净化, 衍生化, HPLC 检测。

1.4 数据分析

数据分析采用 Office 2003 和 DPS V7.05 软件。

根据以下公式进行计算:

$$\text{添加回收率}(\%) = \frac{\text{提取后甲维盐的量}}{\text{投入量}} \times 100$$

2 结果

2.1 色谱条件优化

分别采用甲醇-水、乙腈-水和甲醇-乙腈为流动相。结果表明: 以甲醇(乙腈)-水为流动相时, 色谱峰出峰时间较长, 不利于检测; 以甲醇-乙腈为流动相时, 峰型尖锐, 对称性好。因此, 选择甲醇-乙腈为流动相。通过对甲醇-乙腈流动相比和流速的筛选发现, 随着乙腈所占配比的增高, 出峰时间缩短, 但分离效果较差, 另外随着流速的增大, 出峰时间缩短。因此本方法选择甲醇:乙腈=90:10 为流动相, 流速为 1.2 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。此时甲维盐分离效果好, 无杂峰的影响(图 1)。

2.2 最佳衍生化因子的确定

2.2.1 光照对衍生化反应的影响

将同一浓度的甲维盐放置在不同光照下进行衍生化, 研究表明, 处理 1、2、3、4、5 和 6 的衍生化产物响应值分别为 (556 046.8 $\pm$ 1 216.3) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 、(552 768.0 $\pm$ 1 035.5) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 、(545 438.8 $\pm$ 945.1) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 、(544 442.1 $\pm$ 682.9) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 、(325 560.3 $\pm$ 1 510.7) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 、(53 900.0 $\pm$ 1 283.08) $\mu\text{V}\cdot\text{s}$ 。经显著性分析可知, 光照对衍生化反应存在一定的影响, 在较低光照度情况下, 光照对反应影响不显著; 在较高光照度下, 光照明显抑制衍生化反应; 在同等光照下, 光照对加入甲醇后的醇式转化反应抑制作用明显高于对加入甲醇前反应的抑制

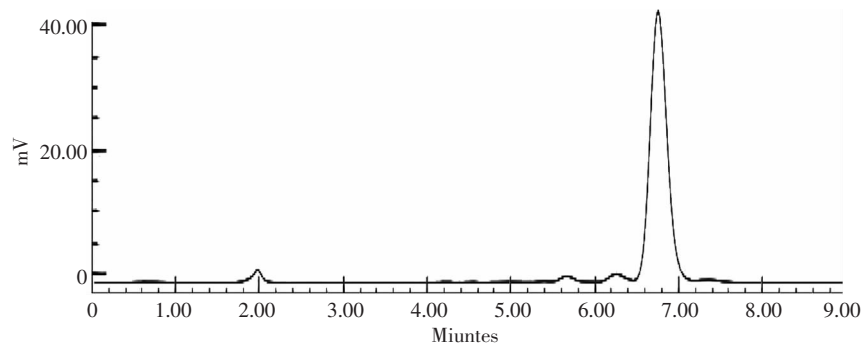


图 1 甲维盐标准品 HPLC-FD 色谱图

Figure 1 HPLC-FD chromatogram of emamectin standard

作用。

2.2.2 温度对衍生化反应的影响

不同温度下进行衍生化表明，在 20 ℃和 60 ℃时,衍生化响应相对较高,但二者差异不显著。其反应机制有待进一步研究。考虑 20 ℃和 60 ℃差异不显著,本研究选择 20 ℃为最佳反应温度(图 2)。

2.2.3 衍生化反应时间的影响

衍生化反应时间的研究结果(图 3)表明,加入甲醇前甲维盐的衍生化反应为瞬间可逆反应,30 s 时响应值较高,但由于反应为放热反应,瞬间放出大量的热,衍生化反应逆向移动,30 min 后,衍生化反应瓶内温度降低到此时刻反应的平衡温度,但外界温度仍低于反应瓶内温度,随反应瓶内温度降低,反应正向移动,90 min 后,试剂瓶内温度和外界温度平衡,反应也趋于平衡,达到最大响应值;而加入甲醇后,30 s 时反应即达到最大值,在 30 s 到 15 min,响应值明显下降,15 min 后趋于稳定,变化不显著,其反应机理有待

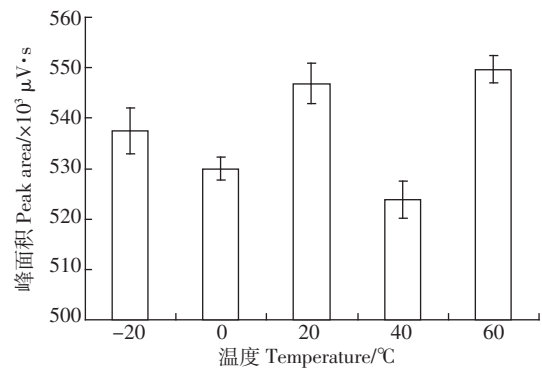


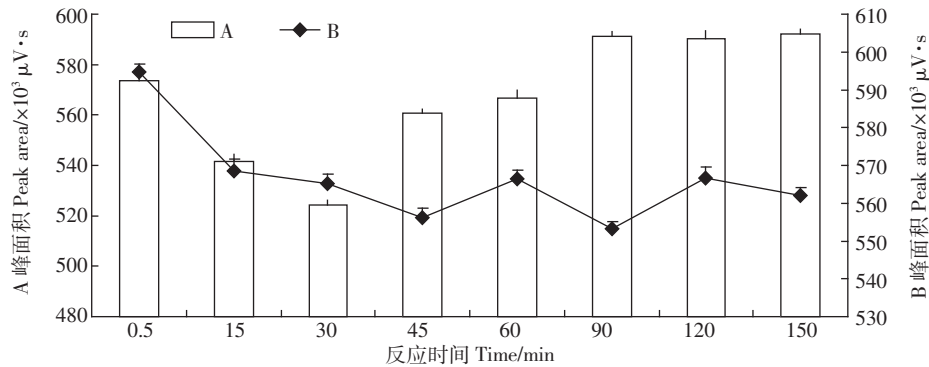
图 2 温度对甲维盐荧光衍生化反应的影响

Figure 2 Effect of the temperature on the fluorescence derivatization of emamectin benzoate

进一步研究。

2.2.4 衍生化试剂浓度确定

衍生化试剂浓度影响衍生化产物峰值,由表 2 可见,高浓度和低浓度衍生化试剂均对衍生化反应有一定抑制作用,其作用机理有待进一步研究。方差分析结



A 加入 1.2 mL 甲醇前不同反应时间峰面积;B 加入 1.2 mL 甲醇后不同反应时间峰面积

A means the peak area of the derivatized products at different time before adding 1.2 mL methanol;

B means the peak area of the derivatized products at different time after adding 1.2 mL methanol

图 3 反应时间对甲维盐荧光衍生化反应的影响

Figure 3 Effect of the reaction time on the fluorescence derivatization of emamectin benzoate

表 2 衍生化试剂浓度与峰面积关系

Table 2 Relationship between the concentration of derivatization reagent and peak area

衍生化试剂浓度 Concentration of derivatization reagent	峰面积平均值 Average of peak area/ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$	差异显著性 Difference significance	衍生化试剂浓度 Concentration of derivatization reagent	峰面积平均值 Average of peak area/ $\mu\text{V}\cdot\text{s}$	差异显著性 Difference significance
NMIM-CAN(0.5+9.5)	564 836.0±2 801.66	b B	NMIM-CAN(7+3)	498 378.6±2 339.90	e D
TFAA-CAN(0.5+9.5)			TFAA-CAN(7+3)		
NMIM-CAN(1+9)	621 665.8±1 574.21	a A	NMIM-CAN(9+1)	503 184.8±3 834.01	d D
TFAA-CAN(1+9)			TFAA-CAN(9+1)		
NMIM-CAN(3+7)	562 666.6±1 968.58	b B	NMIM	523 579.0±3 703.30	c C
TFAA-CAN(3+7)			TFAA		
NMIM-CAN(5+5)	503 187.0±3 849.90	d D			
TFAA-CAN(5+5)					

注:小写字母代表 5%差异水平,大写字母代表 1%差异水平。
Notes: The lowercase means 5% significance difference level and the capital letters 1% significance difference level.

果显示 NMIM-CAN(1+9)和 TFAA-CAN(1+9)峰面积显著高于其他各浓度处理。因此,确定 NMIM-CAN(1+9)和 TFAA-CAN(1+9)为最佳衍生化试剂使用浓度。

2.2.5 衍生化产物的稳定性

通过对不同温度和光照条件下衍生化产物稳定性分析,光照和温度对产物稳定性均有一定影响。由图 4 可见,在 4℃避光条件下,衍生化产物 24 h 内无变化;在室温避光条件下,12 h 内无明显变化,12 h 后明显下降;在室温光照条件下,衍生化产物不稳定,可能由于甲维盐衍生产物进行醇式转化反应。

2.3 土壤中甲维盐含量的测定

2.3.1 甲维盐标准曲线的绘制

分别取浓度为 0.001、0.005、0.010、0.050、0.100、1.000、2.000 mg·L⁻¹ 的甲维盐标准工作液,按上述色

谱条件进行测定,然后以浓度和峰面积做线性回归分析求得标准曲线方程和线性相关系数。由图 5 可见,在 0.001~2.000 mg·L⁻¹ 浓度范围内与峰面积呈现良好的线性关系。

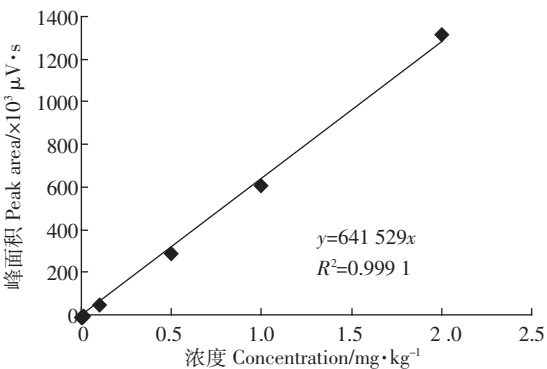


图 5 甲维盐标准曲线

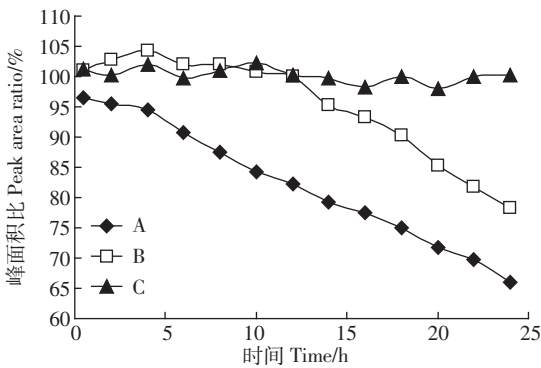
Figure 5 Standard cruve of emamectin benzoate

2.3.2 方法的添加回收率、灵敏度和精确度

以土壤为研究对象,分别在 0.005、0.010、0.100、1.000 mg·kg⁻¹ 4 个浓度水平进行添加回收实验。结果(表 3)表明,经甲醇提取后,样品色谱图杂质峰非常少,对检测分析无干扰作用。甲维盐添加回收率在 91.74%~102.68% 之间,批内变异系数为 3.3%~10.23%,批间变异系数为 2.55%~7.55%。表明本方法准确度与精密度良好,完全达到残留分析要求,最低检出量为 1×10⁻¹¹ g,最低检测浓度为 0.001 mg·L⁻¹。

2.3.3 环境样品检测

在优化的实验条件下,分别测定山东农业大学试验田一年内未进行甲维盐土壤处理的以及施用过甲维盐处理后的土壤中甲维盐残留量,结果表明甲维盐



A 室温不避光;B 室温避光;C 4℃避光

A means stored at the room temperature without avoiding light;

B means stored at the room temperature without light; C means stored at

4℃ without light

图 4 衍生化产物稳定性

Figure 4 The stability of the derivatived products

表 3 土壤中甲维盐添加回收率及变异系数($n=5$)

Table 3 Recoveries and precision of the Emamectin benzoate in soil($n=5$)

添加浓度 Spiked level/mg·kg ⁻¹	添加量 Spiked level/mg	平均回收量 Average recovery/mg	平均回收率 Average recovery/%	变异系数 C.V/%	
				批内 Intra	批间 Inter
0.005	0.000 250 0	0.000 256 7	102.68	10.23	7.55
0.01	0.000 500 0	0.000 479 7	95.93	3.95	6.02
0.1	0.005 000 0	0.004 709 5	94.19	4.19	2.55
1	0.050 000 0	0.045 870 0	91.74	3.3	2.87

在未处理的山东农业大学试验田土壤中的残留量低于该方法的检出限,处理后土壤中的残留量为 0.010 7 mg·L⁻¹。

3 讨论

3.1 衍生化影响因子

衍生化反应结果能直接影响最后检测结果的准确性和重复性。衍生化反应受反应条件影响较多,目前相关报道也不尽相同。在反应光照及衍生产物稳定性上,史陶中等^[14]报道光照对衍生化反应有抑制作用;Roudaut 等^[13]报道,日光条件下衍生产物 3 h 降解 50%左右;魏广智等^[15]的试验结果表明在室内光照或避光条件下荧光产物稳定。在反应温度上,Wei 等^[15]报道在室温条件下反应 15 min 即可;Rupp 等^[16]报道在 50~55 ℃条件下需反应 15 min;Kimihiko Yoshii 等^[17]认为在衍生反应前衍生反应试剂需冷却至 0 ℃;在反应时间上,Janice 等^[18]指出衍生反应在室温下瞬间完成(<30 s);魏广智等^[15]认为室温条件下反应 15 min 后达到峰值,随后逐渐下降,反应时间太长或太短都会影响反应结果。

本文通过系统研究表明,甲维盐衍生产物对光照和温度均敏感,易被降解,但在 4 ℃避光条件下,衍生化产物 24 h 内无变化,在室温避光条件下,12 h 内保持稳定,较前人^[14-16]进一步详细确定了衍生化反应在温度和光照两种因子下的变化情况,为衍生化的反应光照和温度的选择提供科学依据,且通过对温度和光照的选择提高了衍生化反应产物在 HPLC 检测时的响应值。本研究首次对加入 1.2 mL 甲醇前后的衍生化时间对衍生化反应进行比较,研究发现甲维盐的衍生反应在加入 1.2 mL 甲醇前后均能瞬间达到峰值(<30 s),但由于加入甲醇前的反应为放热反应,而在加入 1.2 mL 甲醇后缓慢冷却至室温使反应正向移动,从而达到稳定峰值。衍生化试剂浓度对衍生化反应影响试验研究结果表明,衍生化过程中,衍生化试剂浓度过高或过低均不利于反应进行,以 NMIM-CAN(1+

9)和 TFAA-CAN(1+9)最佳,较赵莉等^[4]和曹爱华等^[7]采用的衍生化方法节省了 NMIM 以及 TFAA 使用量,节约了衍生化反应成本。同时,通过试验论证发现环境温度对衍生反应影响不显著,可能由于衍生反应是一个大量放热的过程,反应溶液在反应时会达到较高的温度,因而衍生反应对温度不敏感。

3.2 分析方法

甲维盐的提取通常以乙腈为溶剂,本研究以甲醇为提取溶剂,采用超声振荡法提取,提取液浓缩吹干后直接衍生反应,杂质峰较少,对目标物的检测无干扰。与曹爱华等^[7]和孙明娜等^[5]研究结果相比,提高了灵敏度,省略了净化过程,可减少溶剂的使用,降低检测成本,同时缩短检测时间,极大提高工作效率,符合残留测定标准。

4 结论

采用三氟乙酸酐(TFAA)-N-甲基咪唑(NMIM)-乙腈(ACN)法对甲维盐进行柱前衍生化,再利用高效液相色谱分离、荧光检测分析其含量是可行的。优化的衍生化条件为:在 20 ℃,避光条件下,先后加入等量 NMIM-CAN(1+9)和 TFAA-CAN(1+9),漩涡振荡摇匀,30 min 后甲醇定容,避光条件下 12 h 内检测灵敏度最高,分析时间为 6.8 min。通过甲醇超声振荡提取土壤中甲维盐,HPLC-FD 检测,该方法能够准确测定土壤中甲维盐残留,最低检出量为 1×10⁻¹¹ g,最低检测浓度为 0.001 mg·L⁻¹,符合残留测定标准。

参考文献:

[1] 苍涛,赵学平,吴长兴,等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐对 4 种非靶生物毒性及安全评价[J]. 农药, 2007, 46(7):481-483.
CANG Tao, ZHAO Xue-ping, WU Chang-xing, et al. Toxicity and safety evaluation of emamectin benzoate on four types of non-target organism[J]. *Agrochemicals*, 2007, 46(7):481-483.
[2] Les E B, Natalie H, Susan L W, et al. Acute toxicity of emamectin benzoate(SLICE™) in fish feed to American lobster, *Homarus americanus*[J]. *Aquaculture Research*, 2004, 35:713-722.

- [3] Food safety authority. pesticide MRL database EU[Z]. 2003:5-6.
- [4] 赵 莉, 谢显传, 占绣萍. 高效液相色谱-荧光法同时检测蔬菜中阿维菌素、甲氨基阿维菌素苯甲酸盐和伊维菌素的多残留量[J]. 中国农业科学, 2010, 43(16):3467-3472.
- ZHAO Li, XIE Xian-chuan, ZHAN Xiu-ping. Multi-residues determination of abamectin, emamectin benzoate and ivermectin in vegetables by HPLC-FD[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(16):3467-3472.
- [5] 孙明娜, 万 宇, 朱传明, 等. 液相色谱-荧光法测定甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在甘蓝和土壤中的残留[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(18):7533-7534.
- SUN Ming-na, WANG Yu, ZHU Chuan-ming, et al. Determination of the residual of emamectin benzoate in cabbage and soil with HPLC fluorescence detection[J]. *Journal of Anhui Agri Sci*, 2008, 36(18):7533-7534.
- [6] 孔德洋, 石利利, 单正军, 等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的降解性研究[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(4):88-91.
- KONG De-yang, SHI Li-li, SHAN Zheng-jun, et al. Photolysis and hydrolysis of emamectin benzoate and its degradation in soils[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2009, 25(4):88-91.
- [7] 曹爱华, 孙惠青, 徐金丽, 等. 甲氨基阿维菌素苯甲酸盐在烟草及土壤中残留分析方法的研究[J]. 中国烟草科学, 2010, 31(4):64-68.
- CAO Ai-hua, SUN Hui-qing, XU Jin-li, et al. Residue analysis of emamectin benzoate in tobacco and soil[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2010, 31(4):64-68.
- [8] Mika K, Hiroshi Y, Mikiko U, et al. Development of an enzyme-linked Immunosorbent assay for residue analysis of the insecticide emamectin benzoate in agricultural products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 359-362.
- [9] De-Montigny P, Shim J S K, Pivnichny J V, et al. Liquid chromatographic determination of ivermectin in animal plasma with trifluoroacetic anhydride and N-methylimidazole as the derivatization reagent [J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 1990, 8(6): 507-511.
- [10] 谢显传, 张少华, 王冬升, 等. 柱前衍生高效液相色谱法测定果蔬产品阿维菌素及其有毒代谢物的残留量[J]. 中国农业科学, 2005, 38(11):2254-2260.
- XIE Xian-chuan, ZHANG Shao-hua, WANG Dong-sheng, et al. Determination of abamectin and its toxicological metabolite in vegetables and fruits by HPLC with pre-column Fluorescent Derivatization[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(11):2254-2260.
- [11] 向章敏, 邱雪柏, 商胜华, 等. 烟叶中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐的残留分析方法[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(12):199-201.
- XIANG Zhang-min, QIU Xue-bai, SHANG Sheng-hua, et al. Analysis of emamectin benzoate residues in tobacco leaves[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2010, 38(12):199-201.
- [12] 谢显传, 张少华, 王冬升, 等. 阿维菌素土壤吸附特性研究[J]. 中国农业科学, 2007, 40(9):1959-1963.
- XIE Xian-chuan, ZHANG Shao-hua, WANG Dong-sheng, et al. Adsorption of abamectin in soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2007, 40(9):1959-1963.
- [13] Roudaut B. Multiresidue method for the determination of avermectin and moxidectin residues in the liver using HPLC with fluorescence detection[J]. *Analyst*, 1998, 123:2541-2544.
- [14] 史陶中, 马 鑫, 花日茂, 等. 高效液相色谱-荧光法测定水中甲氨基阿维菌素苯甲酸盐[J]. 环境化学, 2010, 29(3):542-546.
- SHI Tao-zhong, MA Xin, HUA Ri-mao, et al. Determination of emamectin benzoate residues in water by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(3):542-546.
- [15] Wei G Z, Li J S. Improved method for determination of abamectin and ivermectin in cattle plasma[J]. *Journal of AOAC International*, 2001, 84(6):1730-1734.
- [16] Rupp H, Sherri B T, Calvin C W, et al. Determination of ivermectin of in salmon muscle tissue by liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of AOAC International*, 1998, 81(3):549-553.
- [17] Kimihiko Y, Akiko K, Yukari T, et al. Simultaneous determination of residues of emamectin and its metabolites, and milbemectin, ivermectin, and abamectin in crop by liquid chromatography with fluorescence detection[J]. *Journal of AOAC International*, 2001, 84(3):31-33.
- [18] Janice A C, Neison A J. Liquid chromatographic method for rapid determination of total avermectin B1 and 8, 9-Z-avermectin B1 residues in apples[J]. *Journal of AOAC International*, 1995, 78(2):419-423.