

基质固相分散-液相色谱法测定柑桔中 啉螨酯残留

王进¹, 岳永德^{1,*}, 花日茂², 汤锋², 李学德², 操海群²

(1. 国际竹藤网络中心, 北京 100102; 2. 安徽农业大学资源与环境学院, 安徽合肥 230036)

摘要: 为优化啉螨酯在柑桔中残留分析方法, 采用基质固相分散萃取、HPLC 检测, 结果表明: 柑桔样品中啉螨酯适于基质固相分散萃取, 以氧化铝作为分散剂, 乙酸乙酯为洗脱剂, 淋出液过氧化铝柱净化后 HPLC 测定, 最低检出浓度为 0.0625mg/kg, 当桔皮、桔肉样品中添加浓度为 0.1~1.0mg/kg 时, 方法的回收率在 81.9%~96.3% 之间, 相对标准偏差为 3.73%~7.54%, 满足残留分析的要求。

关键词: 基质固相分散; 啉螨酯; 残留; 柑桔; 液相色谱

Determination of Fenpyroximate Residue in Orange by Matrix Solid-phase Dispersion and Liquid Chromatography

WANG Jin¹, YUE Yong-de^{1,*}, HUA Ri-mao², TANG Feng², LI Xue-de², CAO Hai-qun²

(1. International Centre for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China;

2. College of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: A method was developed for the determination of fenpyroximate residue in orange samples based on matrix solid-phase dispersion(MSPD) and HPLC. The results showed that taking neutral alumina as a matrix dispersing agent, the fenpyroximate residue in orange samples is appropriate for MSPD extraction. Fenpyroximate is extracted with ethyl acetate and the extract is subsequently cleaned up on an alumina column. The fenpyroximate residue is determined by high-performance liquid chromatography. The limit of quantitation is 0.0625mg/kg. With orange pulp and orange peel spiked by fenpyroximate, covering the concentration range of 0.1 to 1.0mg/kg, the average recovery and relative standard deviations(RSD) of this method are 81.9%~96.3% and 3.73%~7.54%, respectively.

Key words: matrix solid-phase dispersion(MSPD); fenpyroximate; residue; orange; liquid chromatography

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)01-0239-04

柑桔果实全身都是宝, 其皮、肉、络、核都是传统中药, 柑桔不仅可供鲜食, 还可加工成果酱、果酒、果汁及糖水罐头等。为控制害螨对柑桔的危害, 啉螨酯作为高效杀螨剂, 被越来越广泛地应用, 食品中农药残留问题受到人们的普遍关注。

啉螨酯(Fenpyroximate)是日本农药株式会社开发的苯氧基吡啉类杀螨剂, 该药有很强的选择性, 对植食性螨类有很强的毒性, 主要防治红叶螨、全爪螨和其它植食性螨类^[1]。化学名称: (E)- α -(1,3-二甲基-5-苯氧基吡啉-4-亚氨基氨基氧)对甲苯甲酸特丁酯, 结构式如图 1。

食品中农药残留的分析检测是保证食品安全的重要

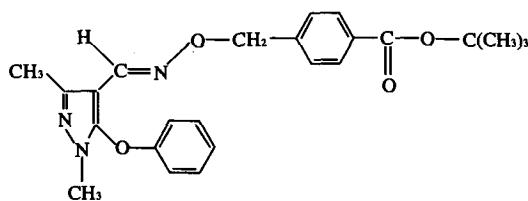


图1 啉螨酯结构式

Fig.1 Structure of fenpyroximate

手段, 有关啉螨酯残留分析方法的报道, 主要以甲醇、丙酮、乙腈为提取溶剂, 液液分配后用氧化铝柱、弗罗里硅土柱、硅胶柱或它们的混合柱以及 C₁₈ 小柱等柱层析净化, HPLC/UV 或 GC/NPD 检测^[2-9]。FAO 和 WHO

收稿日期: 2005-11-20

* 通讯作者

基金项目: 国家“十五”重大科技专项资助项目(2001-BA804A17); 安徽省“十五”科技攻关资助项目(01013013)

作者简介: 王进(1977-), 男, 硕士, 研究方向为农药残留与环境毒理。

报道了一些没有正式认可的方法, EPA 推荐的啉啉酯在蛇麻草中残留分析方法中, 采用了德国 DFG-S19 的方法。由于桔皮成分比较复杂, 需要严格的净化, 易产生乳化、溶剂用量大、耗时、成本高等问题, 复杂的净化步骤以及转移次数的增加都可能会造成农药的损失。

基质固相分散(MSPD)技术自 1989 年 Barker 提出以来, 已在蔬菜、水果的农药残留分析中得到应用, 具有很大发展潜力^[10]。为优化啉啉酯在柑桔中的残留分析方法, 本文采用 MSPD 萃取, HPLC 检测, 并对定量分析的条件进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 试剂和仪器

甲醇(色谱纯) 山东禹王实业有限公司; 乙酸乙酯(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 79℃馏分) 上海化学试剂公司; 石油醚(分析纯, 经全玻璃系统重蒸收集 69℃馏分) 中国石油化工集团杭州炼油厂; 无水硫酸钠(分析纯); 中性氧化铝(100~200 目)500℃灼烧 4h, 用前 130℃烘 4h 于干燥器中备用; 啉啉酯(纯度 99.0%) 国家农药质检中心。

Agilent 1100 高效液相色谱仪 美国安捷伦公司; 760CRT 型双光束紫外-可见分光光度计 上海第三分析仪器厂; RE-52 旋转蒸发器 上海青浦沪西仪器厂; SQ2119 多功能食品加工机 上海帅佳电子科技有限公司; FA1104 电子天平(精确至万分之一) 上海天平仪器厂; N-EVAP™112 氮吹仪 美国 Organomation 公司; 玻璃层析柱, 25cm × 1cm(i.d.)、50cm × 1cm(i.d.); 研钵外口径 10cm。

1.2 标准溶液的配制

准确称取啉啉酯标准品 0.0165g 于 10ml 容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀即为啉啉酯的储备液。把储备液稀释成 1×10^{-4} g/ml, 再用甲醇逐级稀释配成不同浓度的标准溶液。

1.3 色谱条件

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, 具可变波长紫外检测器和化学工作站; Hypersil ODS C₁₈ 色谱柱, 4.6mm (i.d.) × 250mm, 柱温 20℃, 流动相: 甲醇:水(90:10, V/V), 流速: 1.0ml/min, 检测波长 258nm, 进样量 20 μl。

1.4 样品制备

1.4.1 试验样品预处理

供试柑桔购自市场, 储存于 4℃冰箱(一周内使用), 将桔肉和桔皮分开, 四分法取样, 分别用多功能食品加工机捣碎匀浆, 待测样品均分为两份, 一份供测, 一份置于 -20℃冰箱备用。

1.4.2 基质固相分散萃取

取准确称量 4.0g 预处理后的样品(桔皮、桔肉)于研钵中, 用研锤碾匀样品, 加入 7g 无水硫酸钠(用于吸收样品中的水分, 使得样品研磨后呈粉末状), 再加入 7g 氧化铝, 研磨样品直至成近干燥粉末状。50cm × 1cm (i.d.)层析柱用少许脱脂棉堵在活塞上端(防止柱填料漏出), 加入 3g 无水硫酸钠, 然后小心把研磨的样品粉末转移到玻璃层析柱中, 再加 3g 无水硫酸钠于上层析柱, 轻敲两下即可(如把柱填料敲的太密实会影响淋洗液的流速), 用 40ml 乙酸乙酯淋洗, 收集洗脱液于 150ml 平底烧瓶, 浓缩至近干, 氮气流吹干(吹干不会造成啉啉酯损失), 用 5ml 石油醚溶解残留物, 待净化。

1.4.3 净化

氧化铝柱(无水硫酸钠:氧化铝:无水硫酸钠, W/W/W, 2:6:2)先用 20ml 石油醚预淋洗后, 加入样品提取液, 用 20ml 石油醚/乙酸乙酯(V/V, 7:1)淋洗, 弃去淋出液, 待液面降至层析柱顶端无水硫酸钠层, 再用石油醚/乙酸乙酯(V/V, 3:1)30ml 混合液淋洗, 收集淋出液于 150ml 平底烧瓶, 再浓缩至干(如有残余溶剂用微氮气流吹干), 用甲醇或流动相(甲醇/水, V/V, 9:1)定容至 5ml, 过 0.45 μm 的滤膜, 待测。

2 结果与分析

2.1 淋洗液用量的选择

为选择合适的淋洗液用量, 以基质固相分散萃取法为前处理, 在柑桔样品中添加啉啉酯标准溶液, 使得添加浓度为 0.5mg/kg, 用不同量的乙酸乙酯淋洗, 测定啉啉酯的添加回收率, 见表 1。

表 1 不同淋洗液用量的啉啉酯回收率
Table 1 Recoveries of fenpyroximate using different eluant volumes in MSPDE

乙酸乙酯(ml)	提取方法	回收率(%)	相对标准偏差(%)
80	MSPD	84.3	6.9
60	MSPD	82.8	9.3
50	MSPD	86.2	12.3
40	MSPD	85.4	7.9
35	MSPD	81.8	8.8

从表 1 看出, 从 35 到 80ml 的乙酸乙酯均能较好地洗脱出农药, 在基质固相萃取中, 由于柱中吸附剂和样品会吸附一定量的淋洗液, 为保证农药的回收率, 选用 40ml 乙酸乙酯作为基质固相分散柱的淋洗液。

2.2 检测波长的确定

用 10mg/L 的啉啉酯甲醇溶液在 190~500nm 内进行紫外光谱扫描。选择 258nm 为检测波长, 在此波长下, 溶剂的紫外吸收很小, 啉啉酯的响应值也满足残留分析灵敏度的要求。

2.3 方法灵敏度

把储备液稀释成 1×10^{-4} g/ml, 再用甲醇逐级稀释配成系列标准溶液, 取 0.05×10^{-6} 、 0.1×10^{-6} 、 0.5×10^{-6} 、 1×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 5×10^{-6} g/ml 不同浓度的标准溶液, 采用外标法对唑螨酯进行定量, 测定了唑螨酯进样量与 HPLC 响应的线性关系, 标准曲线, 见图 2。

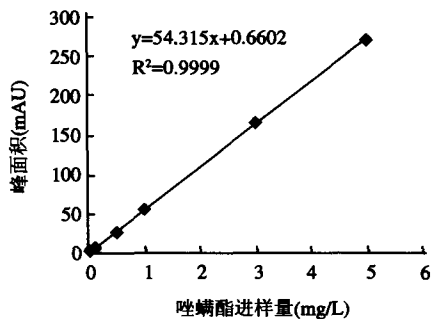


图2 唑螨酯高效液相色谱标准曲线
Fig.2 HPLC standard curve of fenpyroximate

由标准曲线知, 唑螨酯在 $0.05 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-6}$ g/ml 范围内, 峰面积与进样量呈良好线性关系。在该方法条件下, 唑螨酯在柑桔样品中的最低检出浓度为 0.0625 mg/kg。

2.4 方法精密密度

取浓度为 0.05、0.5 和 1.0 mg/L 的三种标准样品, 各连续进样 4 次, 结果见表 2。

表2 检测方法精密密度

浓度 (mg/L)	进样次数	峰面积(mAU)					相对标准偏差 (%)
		1	2	3	4	平均值	
0.05	4	2.7	3.1	2.6	3.0	2.85	8.35
0.5	4	27.4	27.5	28.4	27.6	27.73	1.65
1.0	4	55.3	56.2	54.9	56.5	55.73	1.35

从表 2 可以看出, 在该检测条件下, 浓度为 0.05、0.5 和 1.0 mg/L 的三种样品 4 次进样所测值的相对标准偏差分别为 8.35%、1.65% 和 1.35%, 同一浓度样品的色谱峰面积响应值重现性较好。

2.5 添加回收率

以基质固相分散萃取法为前处理, 在桔肉和桔皮空白样品中添加唑螨酯标准溶液使得添加浓度为 0.1、0.5、1 mg/kg, 按上述分析检测方法, 测定唑螨酯在柑桔样品中的添加回收率, 见表 3。

以回收率表示准确度, 从表 3 可以看出, 在桔肉和桔皮中添加唑螨酯浓度分别为 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg, 在桔肉中的添加回收率为 81.9%~90.9%, 相对标准偏差为 3.95%~7.26%, 桔皮中的添加回收率为 83.5%~

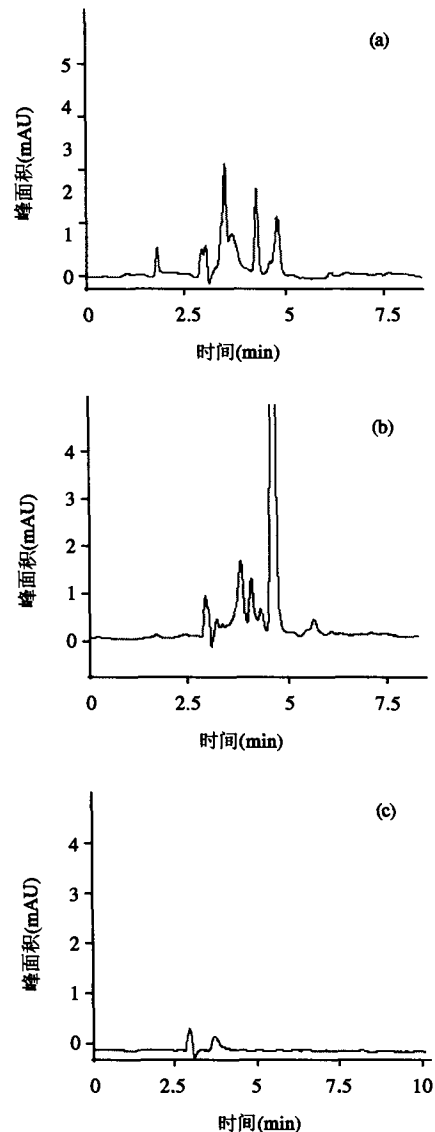
表3 唑螨酯在柑桔中的添加回收率

Table 3 Recoveries of fenpyroximate spiked in oranges at three concentration levels

基质	提取方法	添加浓度(mg/kg)	回收率(%)	相对标准偏差(%)
桔肉	MSPD	0.1	81.9	4.35
		0.5	83.8	7.26
		1	90.9	3.95
桔皮	MSPD	0.1	96.3	7.54
		0.5	83.5	4.58
		1	92.4	3.73

96.3%, 相对标准偏差为 3.73%~7.54%, 符合残留分析的要求。添加回收色谱图, 见图 3。

从添加回收色谱图可看出, 唑螨酯与基质共提物有良好的分离, 能进行准确的定量分析。在提取过程中, 若选用极性溶剂如甲醇、丙酮、乙腈提取, 脂和糖等共提物较多, 还需要液液分配除去水溶性部分, 增加了实验操作的步骤, 较难除去的共提物也会干扰农药在



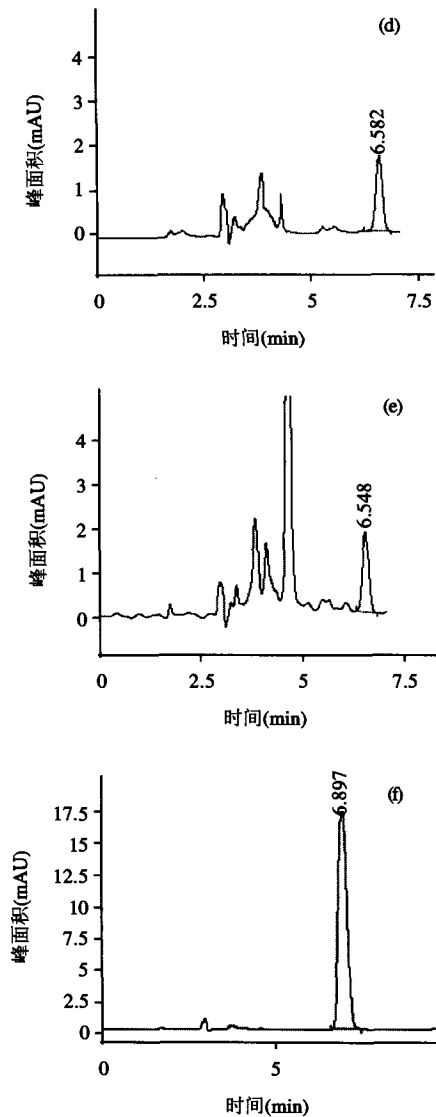


图3 唑螨酯在柑桔中的添加回收色谱图

Fig.3 HPLC Chromatograms of extracts, solvent and standard solution

HPLC 上的准确检测。由于桔皮成分复杂, 含有桔皮苷、色素、香精油等在常规的净化方法中都难以除去, 桔皮结构特点是捣碎后仍呈小颗粒状, 渗入在桔皮组织内部的农药不能与提取溶剂充分接触, 可能也是有些方法中提取率不高或重现性不好的原因之一。应用基质固

相分散(MSPD)正好克服了桔皮样品复杂性的特点, 乙酸乙酯对唑螨酯有很好的溶解和洗脱能力, 所以选用乙酸乙酯作为基质分散柱的淋洗剂, 把氧化铝作为基质分散剂的也有报道^[11]。应用基质固相分散萃取法, 能有效地萃取出柑桔中的唑螨酯, 同时减少了共提物的干扰。

3 结论

本研究建立了唑螨酯在柑桔中基质固相分散萃取, 氧化铝柱净化后 HPLC 测定的方法, 该方法唑螨酯与杂质能得到很好的分离, 线性关系良好, 操作简便、成本低、快捷、定量准确, 回收率符合农药残留分析的要求。

参考文献:

- [1] MOTOKA K, NISHIZAWA H, SUZUKI T, et al. Species-specific detoxification metabolism of fenpyroximate, a potent acaricide[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2000, 67: 73-84.
- [2] 平霄飞, 吴园生, 梁天锡. 唑螨酯在苹果和柑桔上的残留动态[J]. *农药*, 1994, 33(6): 24-25.
- [3] 吴俐勤, 朱亚红, 许海忠, 等. 唑螨酯在柑桔和土壤中的残留研究[J]. *农药*, 1996, 35: 21-23.
- [4] 宋亚平, 李宏. 霸螨灵在苹果和土壤中的残留动态试验[J]. *农村生态环境*, 2000, 16(2): 28-30.
- [5] 吴园生, 平霄飞, 梁天锡. 杀螨王及其代谢物残留量的气相色谱分析法[J]. *色谱*, 1994, 12(6): 421-422.
- [6] 杨仁斌, 郭正元, 刘毅华, 等. 速霸螨水乳剂在柑桔及土壤中的残留动态研究[J]. *农药学报*, 2004, 6(1): 58-62.
- [7] AKIKO K, KIMIHICO Y, YUKARI T, et al. Multi-residue analysis of 18 pesticide in fresh fruits, vegetables and rice by supercritical fluid extraction and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Health Science*, 2002, 48(2): 173-178.
- [8] OHNO C, OTAKI M, MORI Y. Simultaneous determination of residual pesticides in agricultural products by HPLC[J]. *Ehime-kenritsu Eisei Kankyo Kenkyusho Nenpo*, 1998, (1): 26-30.
- [9] LEE Y D, KWON C H. Multiresidue analysis of eight acaricides in fruits[J]. *Agric Chem Biotechnol*, 1999, 42(4): 191-196.
- [10] BARKER S A. Matrix solid-phase dispersion[J]. *Journal of Chromatography A*, 2000, 885: 115-127.
- [11] LAGANÒ A, BACALONI A, CASTELLANO M, et al. Sample preparation for determination of macrocyclic lactone mycotoxins in fish tissue, based on on-line matrix solid-phase dispersion and solid-phase extraction cleanup followed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry[J]. *J AOAC Int*, 2003, 86(4): 729-736.