

高效液相色谱法测定食品中氟啶脲的残留量

杜利君*, 宋洁, 张丽娜, 刘红艳

(山西出入境检验检疫局技术中心, 山西太原 030024)

摘要: 建立了高效液相色谱测定食品中氟啶脲残留量的方法。样品中的氟啶脲经正己烷或乙腈提取, 弗罗里硅土净化后, 以乙腈-水(85:15, v/v)混合溶液为流动相, 经C18色谱柱分离, 紫外检测器(260 nm)测定。结果表明: 氟啶脲在0.05~2.0 mg/L范围内线性良好(相关系数为0.9998), 定量限(以信噪比为10计)为0.05 mg/kg。在0.05、0.1、1 mg/kg添加水平下的加标回收率为82.1%~102.5%, 相对标准偏差($n=10$)为3.00%~6.25%。该方法操作简便、快速、稳定性好, 样品和溶液用量少, 可用于水果、蔬菜、粮谷、动物源性等食品中氟啶脲残留量的日常检测。

关键词: 高效液相色谱法; 氟啶脲; 食品

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1000-8713(2011)12-1240-04

Determination of chlorfluazuron residue in foods by high performance liquid chromatography

DU Lijun*, SONG Jie, ZHANG Lina, LIU Hongyan

(Technology Center of Shanxi Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Taiyuan 030024, China)

Abstract: A method for the determination of chlorfluazuron residue in foods by high performance liquid chromatography (HPLC) was developed. The samples were extracted with hexane or acetonitrile. After cleaned up with Florisil-solid phase extraction (SPE), the samples were analyzed by the separation on a C18 chromatographic column with an acetonitrile and water (85:15, v/v) mixed solution as the mobile phase and the determination with an ultraviolet detector at 260 nm. The linear range was 0.05–2.0 mg/L, the correlation coefficient was 0.9998 and the limit of quantification ($S/N=10$) was 0.05 mg/kg. The recoveries were 82.1%–102.5% with the relative standard deviations ($n=10$) of 3.00%–6.25% at the three different spiked levels of 0.05, 0.1 and 1 mg/kg. The method is easy, fast, accurate and consuming less sample and organic solvents. It can be applied in the determination of chlorfluazuron in foods.

Key words: high performance liquid chromatography (HPLC); chlorfluazuron; foods

氟啶脲(chlorfluazuron, 又称定虫隆、氟定脲、克福隆、抑太保、控幼脲、定虫脲)是一种苯甲酰脲类新型杀虫剂, 化学名称为1-(3,5-二氯-4-(3-氯-5-三氯甲基-2-吡啶氧基)苯基)-3-(2,6-二氟苯甲酰基)脲。日本、韩国、澳大利亚对水果、蔬菜、粮谷、茶叶、肉、肝脏中的氟啶脲都制定了最高残留限量(MRL), 其中在玉米和大麦中的MRL(0.05 mg/kg)最为严格, 其他食品中的MRL为0.1~2 mg/kg。

目前对氟啶脲的检测主要采用气相色谱法

(GC)^[1]、高效液相色谱法(HPLC)^[2-4]、高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[5-7]。对氟啶脲残留的研究主要集中于其在甘蓝、青菜、梨、枣等水果、蔬菜上。2010年以前的文献大多数采用HPLC检测, 主要采用自填的大的固相萃取柱净化。这些检测方法存在溶剂用量大、操作繁琐等缺点, 且分析对象少。2010年后主要采用HPLC-MS进行检测, 但存在HPLC-MS联用仪还没有普及、检测费用高等问题。本文对水果、蔬菜用正己烷匀浆提取, 对荞麦以及鸡蛋、牛肉等动物源性食品采用乙腈匀浆提

* 通讯联系人: 杜利君, 工程师, 主要从事农药残留、兽药残留、食品添加剂检测等。Tel: (0351) 6160663, E-mail: wuji_du@163.com.

收稿日期: 2011-08-04

取; 提取液经固相萃取小柱净化, HPLC 测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Waters 2690 高效液相色谱仪, 配有紫外检测器(美国 Waters 公司); Sigma 23K 台式高速冷冻离心机(美国 Sigma 公司); Vortex Genie2 旋涡混合器(美国 Vortex-Genie 公司); FASTH21 高通量匀浆机(瑞士 Consual 公司); 氮吹仪(美国 Organo-mation 公司); 弗罗里硅土固相萃取柱(0.5g/3 mL, 博纳艾杰尔科技)。

氟啶脲标准品(纯度大于 98.5%, Dr. Ehrenstorfer GmbH)。乙腈(色谱纯, 博纳艾杰尔科技)。正己烷、乙酸乙酯、丙酮、氯化钠均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制

准确称取适量的氟啶脲标准品, 用乙腈溶解, 配制成质量浓度为 100 mg/L 的标准储备液。用乙腈逐级稀释成 0.05、0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0 mg/L 的标准溶液。

1.2.2 样品提取

蔬菜和水果: 称取 5 g 均匀试样, 置于均质管中, 加入 10.0 mL 正己烷, 于 10 000 r/min 下匀浆 60 s, 于 4 000 r/min 下离心 5 min; 取正己烷层, 待净化。

荞麦和动物源性食品: 称取 5 g 均匀试样, 置于均质管中, 加入 20.0 mL 乙腈, 于 10 000 r/min 下匀浆 60 s, 于 4 000 r/min 下离心 5 min; 量取 4.0 mL 乙腈提取液, 在 40 °C 下氮吹至近干; 残渣用正己烷溶解并定容至 2 mL, 待净化。

1.2.3 净化

取 2.0 mL 待净化液上弗罗里硅土固相萃取小柱(预先用 2 mL 丙酮、5 mL 正己烷淋洗), 用 5 mL 正己烷-乙酸乙酯(9:2, v/v) 混合溶剂淋洗, 弃去淋洗液; 再用 8 mL 正己烷-丙酮(1:1, v/v) 混合溶剂洗脱, 流速控制在 1 mL/min; 收集洗脱液于试管中, 于 40 °C 下氮吹至近干; 用 0.5 mL 乙腈溶解残渣, 过 0.45 μm 有机滤膜, 滤液供 HPLC 测定。

1.2.4 HPLC 条件

色谱柱: Ultimate XB-C18(250 mm × 4.6 mm, 5 μm; 上海月旭公司); 流动相: 乙腈-水(85:15, v/v); 流速: 1.0 mL/min; 检测波长: 260 nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 室温。

2 结果与讨论

2.1 提取剂的选择

乙酸乙酯、丙酮、乙腈等有机溶剂是目前农药残留提取中最常用的试剂。氟啶脲为脂溶性化合物。本文对不同基质的样品考察了分别采用乙腈、正己烷、正己烷-丙酮(2:1, v/v) 的提取效果, 发现提取效率相差不大; 结合采用弗罗里硅土小柱净化的效果, 最终选用了正己烷提取水果和蔬菜, 其提取液可以直接上柱净化; 而采用乙腈提取粮谷, 可以防止样品中的油脂溶解进入提取液而影响净化效果; 对于动物源性样品, 采用乙腈提取样品, 提取液中的杂质少。

2.2 净化方法的选择

借鉴文献[8-13]的净化方法, 本文分别考察了直接上样、氧化铝小柱净化、弗罗里硅土小柱净化、HLB 小柱净化、PSA + C18 填料净化等 5 种净化方法。采用直接上样、HLB 小柱净化、PSA + C18 填料 3 种方法净化的样品都有干扰。氧化铝小柱对氟啶脲的吸附性强, 用乙腈不能将其直接洗脱下来, 乙腈中加入一定量的水后才能将其洗脱, 这增加了后续工作的复杂性。采用弗罗里硅土固相萃取小柱净化, 发现 5 mL 的正己烷、正己烷-乙酸乙酯(9:2, v/v) 淋洗液中都不含有氟啶脲; 分别用正己烷-乙酸乙酯(2:1, v/v)、正己烷-乙酸乙酯(1:1, v/v)、乙酸乙酯、正己烷-丙酮(4:1, v/v)、正己烷-丙酮(2:1, v/v)、乙腈进行洗脱, 发现有些溶剂不能把氟啶脲完全洗脱下来, 有些需要的洗脱液的体积太大; 用正己烷-丙酮(1:1, v/v) 进行洗脱, 洗脱液用量为 8 mL 时可将氟啶脲完全洗脱。

2.3 HPLC 条件的选择

将氟啶脲标准溶液于 190 ~ 400 nm 范围内进行扫描测定, 在 260 nm 波长处有强吸收, 同时杂质的干扰也不大。因此选择检测波长为 260 nm。以乙腈和水为流动相, 比较了不同比例的乙腈-水(85:15, v/v)、乙腈-水(90:10, v/v)、乙腈-水(95:5, v/v)、乙腈-水(70:30, v/v) 作流动相的分离效果, 乙腈和水的体积比为 70:30 时, 氟啶脲出峰太晚; 为其他比例时, 氟啶脲的峰形都比较对称, 但随着乙腈比例的增加, 氟啶脲的保留时间逐渐缩短。为了避免杂质峰的干扰, 选择乙腈-水(85:15, v/v) 作流动相, 在其流速为 1.0 mL/min 时, 氟啶脲的出峰时间为 8.54 min, 色谱图见图 1。

2.4 线性范围及定量限

分别对 0.05、0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0 mg/L 系列质量浓度的氟啶脲标准溶液进行测定, 以氟啶脲的峰面积 Y 对质量浓度 X (mg/L) 绘制标准曲线, 得到的线性方程为 $Y = 48\ 647X + 90.075$, 相关

系数 r 为 0.999 9, 表明在 0.05 ~ 2.0 mg/L 范围内有良好的线性关系。以信噪比 (S/N) ≥ 10 计算, 方法的定量限为 0.05 mg/kg。

2.5 加标回收率和精密度

在芦笋、胡萝卜、葱、苹果、荞麦、菠菜、鸡蛋、牛肝、牛肉等 9 种食品中分别添加 0.05、0.1、1.0 mg/kg 的氟啶脲标准品, 进行加标回收率试验, 每个添加水平重复测定 10 次, 外标法定量, 其中苹果、荞麦、牛肉和菠菜样品的试验结果见表 1。代表性样品基质的 HPLC 谱图和定量限添加水平的样品的 HPLC 谱图见图 2 和图 3。

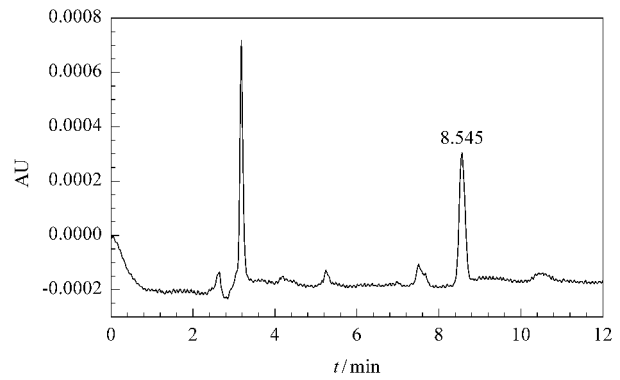


图 1 氟啶脲标准品的液相色谱图
Fig. 1 Chromatogram of chlorfluazuron standard

表 1 不同样品中氟啶脲的加标回收率和相对标准偏差 ($n = 10$)
Table 1 Recoveries and precisions (RSDs) of chlorfluazuron spiked in foods ($n = 10$)

| Spiked/ (mg/kg) | Apple | | Buckwheat | | Beef | | Spinach | |
|--------------------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|-------------|--------|
| | Recovery /% | RSD /% | Recovery /% | RSD /% | Recovery /% | RSD /% | Recovery /% | RSD /% |
| 0.05 | 98.7 | 3.93 | 82.1 | 6.35 | 85.1 | 6.25 | 89.6 | 5.37 |
| 0.1 | 96.5 | 4.26 | 86.5 | 5.57 | 84.6 | 5.80 | 102.5 | 4.98 |
| 1 | 97.6 | 3.47 | 89.2 | 4.18 | 83.8 | 3.31 | 98.1 | 3.00 |

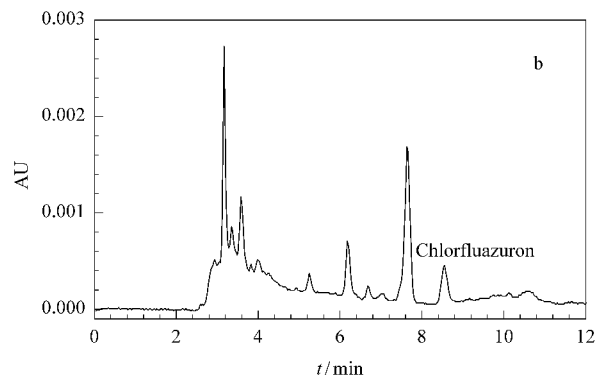
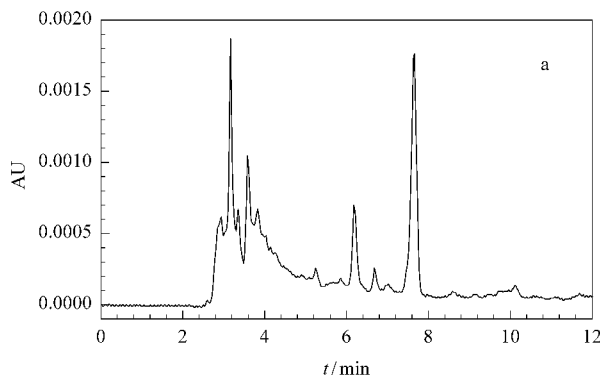


图 2 芦笋 (a) 空白样品及其 (b) 添加氟啶脲 (0.05 mg/kg) 样品的 HPLC 谱图
Fig. 2 HPLC chromatograms of (a) a blank asparagus sample and (b) the asparagus spiked with chlorfluazuron standard at 0.05 mg/kg

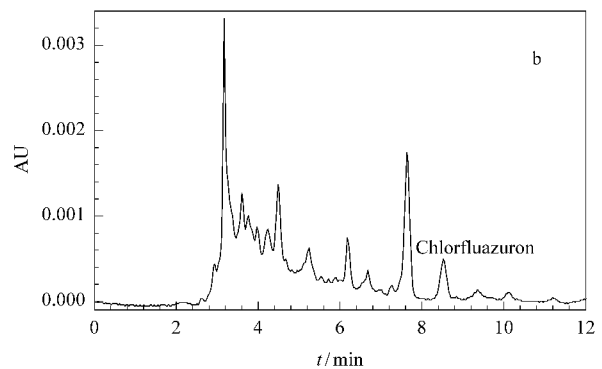
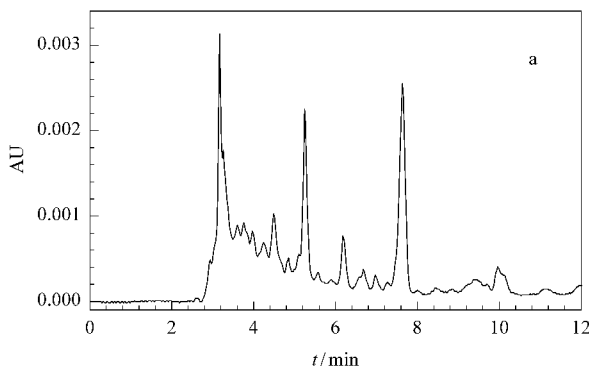


图 3 葱 (a) 空白样品及其 (b) 添加氟啶脲 (0.05 mg/kg) 样品的 HPLC 谱图
Fig. 3 HPLC chromatograms of (a) a blank scallion sample and (b) the scallion spiked with chlorfluazuron standard at 0.05 mg/kg

3 结论

本方法对于水果、蔬菜采用正己烷匀浆提取, 对

荞麦和鸡蛋、牛肉等动物源性食品采用乙腈匀浆提取; 提取液经固相萃取小柱净化, HPLC 测定。该方法简便、快速、准确, 灵敏度高, 检测范围广, 定量限

能满足国内外残留限量要求,并可节约大量的有机溶剂,经济实用,可以在实验室中广泛推广。

参考文献:

- [1] Jiang T H, Ju R, Xu H H. Agrochemicals (江腾辉,鞠荣,徐汉虹. 农药), 2004, 43(10): 463
- [2] Li M, Qin J P, Xu C X. Journal of Anhui Agricultural Sciences (李敏,秦金平,徐春祥. 安徽农业科学), 2011, 39(1): 204
- [3] Huo J C. [MS Dissertation]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences (霍九春. [硕士学位论文]. 北京: 中国农业科学院), 2010
- [4] Ge X, Hua R M, Tang F, et al. Food Science (葛昕,花日茂,汤锋,等. 食品科学), 2010, 31(4): 135
- [5] Wang L Z, Zhou Y, Chen Y, et al. Journal of Instrumental Analysis (王连珠,周昱,陈泳,等. 分析测试学报), 2010, 29(3): 289
- [6] Liu H S, Chen X M, Shi L, et al. Physical Testing and Chemical Analysis Part B: Chemical Analysis (刘海山,陈笑梅,石蕾,等. 理化检验: 化学分册), 2010, 46(5): 468
- [7] Han X, Lou X S, Zhang L, et al. Chinese Journal of Chromatography (韩笑,娄喜山,张莉,等. 色谱), 2010, 28(4): 341
- [8] Wu Y Y. [MS Dissertation]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University (吴余颖. [硕士学位论文]. 福建农林大学), 2009
- [9] Wu G, Wu J J, Zhao S H, et al. Inspection and Quarantine Science (吴刚,吴俭俭,赵珊红,等. 检验检疫学刊), 2009, 19(1): 10
- [10] Ding H Y, Xie W, Zhou Z Q, et al. Journal of Instrumental Analysis (丁慧瑛,谢文,周召千,等. 分析测试学报), 2009, 28(8): 970
- [11] Yang T, Zhao L, Zhao J, et al. Agrochemicals (杨挺,赵莉,赵健,等. 农药), 2007, 46(6): 407
- [12] Zhang Q, Hu M, Wu B B, et al. Modern Agrochemicals (张强,胡敏,吴兵兵,等. 现代农药), 2006, 5(5): 25
- [13] He H M, Wu L Q, Zhang H, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry (何红梅,吴俐勤,章虎,等. 分析化学), 2006, 34(10): 1379