

# 灯笼果中噻菌灵的 RP-HPLC-PDA 残留分析

高智席<sup>1</sup>, 吴艳红<sup>1</sup>, 郑胡飞<sup>1</sup>, 敖克厚<sup>1</sup>, 刘焱<sup>1</sup>, 曾启华<sup>1</sup>, 黄成<sup>2</sup>

(1. 遵义师范学院化学系, 贵州 遵义 563002; 2. 西南大学化学化工学院, 重庆 400715)

**摘要:** 目的: 建立反相高效液相色谱-二极管阵列检测器测定灯笼果中杀菌剂噻菌灵残留的分析法。方法: 色谱柱为 Shim-pack VP-ODS(150mm × 4.6mm), 检测波长为 299nm, 流动相为 pH6.8 的乙腈-0.02mol/L 磷酸缓冲溶液(70:30, V/V), 流速为 0.6mL/min, 进样量 20 $\mu$ L。结果: 噻菌灵在 0.10~90.0 $\mu$ g/mL 范围内与峰面积成良好线性关系( $r = 0.9995$ ), 检测限为 0.05 $\mu$ g/mL, 噻菌灵的回收率为 87.9%~102.6%, 相对标准偏差为 0.98%~2.79%。结论: 该方法操作简便快速, 可作为灯笼果中噻菌灵含量监测的控制方法。

**关键词:** 噻菌灵; 残留分析; 反相高效液相色谱; 灯笼果

## Residue Analysis of Triabendazole in Peruvian Ground Cherry by RP-HPLC-PDA

GAO Zhi-xi<sup>1</sup>, WU Yan-hong<sup>1</sup>, ZHENG Hu-fei<sup>1</sup>, AO Ke-hou<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, ZENG Qi-hua<sup>1</sup>, HUANG Cheng<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry, Zunyi Normal College, Zunyi 563002, China;

2. School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China)

**Abstract:** Purpose: A reversed-phase high performance liquid chromatographic method with PDA was used for the residue analysis of triabendazole in Peruvian ground cherry. Methods: The HPLC conditions were as follows: the column was Shim-pack VP-ODS 150 mm × 4.6 mm. CH<sub>3</sub>CN:0.02mol/L H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (pH 6.8) = 70:30 (V/V) as mobile phase, flow rate 0.6 mL/min, injection volume 20  $\mu$ L and detection wavelength 299 nm. Results: Good linearity of triabendazole was obtained over the range of 0.10—90.0  $\mu$ g/mL ( $r = 0.9995$ ). The detection limits were 0.05  $\mu$ g/mL for triabendazole. The average recoveries ranged from 87.9% to 102.6% with relative standard deviation of 0.98% — 2.79%. Conclusions: The method is fast and simple for the residue detection and analysis of triabendazole in Peruvian ground cherry.

**Key words:** triabendazole; residue analysis; reversed-phase high performance liquid chromatographic (RP-HPLC); Peruvian ground cherry

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)10-0204-04

灯笼果具有“开胃健脾, 补虚益智”的作用, 又可作为治疗脑溢血、脑血栓、动脉粥样硬化, 减低血压, 缓和痛风和风湿性关节炎等症的滋补品, 并能养血安神、清理血亏、降低血液中的胆固醇、调节血脂、促进脑部和眼睛的发育<sup>[1]</sup>。它除了具有一般水果所含有的氨基酸、维生素、微量元素等对人体有益的营养价值外, 另外还具有一定的保健药用价值。灯笼果含有大量的油酸、亚油酸等不饱和脂肪酸, 所以具有美容养颜、延缓衰老、预防心脑血管病等保健价值<sup>[2]</sup>。

噻菌灵(triabendazole)属于苯并咪唑类农药, 它是一类高效、低毒和广谱的内吸性杀菌剂。噻菌灵具有

抑制霉菌生长繁殖的作用, 但噻菌灵生产上除防治灰霉病等病害, 主要用于防治贮藏期病害<sup>[3]</sup>。因此, 它被广泛用于采收后的水果和蔬菜的防腐保鲜。为了防贮藏期病害, 减少经济损失, 在贮存时, 常常向灯笼果上喷洒噻菌灵杀菌剂。但水果中残留的噻菌灵对人体有一定的毒性, 主要侵害人体的肝脏、神经系统和骨髓。因此, 检测灯笼果中噻菌灵残留量就显得很有必要, 对保证人体健康具有重要意义。

通常测定噻菌灵的方法有高效液相色谱法<sup>[4-8]</sup>、固相萃取-高效液相色谱法<sup>[9-12]</sup>、离子交换色谱法<sup>[13-14]</sup>、高效液相色谱-荧光检测法<sup>[15]</sup>、毛细管电泳法<sup>[16]</sup>、高效液相

收稿日期: 2011-07-27

\* 基金项目: 贵州省遵义市科技局项目([2008]26号); 贵州省教育厅自然科学研究项目([2010]085号);

贵州省科技厅社会发展攻关项目(黔科合SY字[2009]3050)

作者简介: 高智席(1969—), 男, 副教授, 硕士, 主要从事仪器分析研究。E-mail: wyhgzx@163.com

色谱-质谱法<sup>[17-19]</sup>等。但未见关于灯笼果中噻菌灵残留分析的高效液相色谱测定方法的报道。因此,本实验旨在建立一种简单、适用并能检测名贵水果中噻菌灵残留量的监测控制方法,建立反相高效液相色谱分离-二极管阵列检测器测定灯笼果中噻菌灵残留分析的方法。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

灯笼果样品为市购,于冷藏柜中保存(0~10℃)。

噻菌灵标准品(含量≥99%) 国家标准物质标准样品信息中心; 甲醇、纯磷酸氢二钠、硫酸钠、磷酸二氢钠、乙酸乙酯均为分析纯; 二次蒸馏水。所有溶液使用前均经0.45 μm孔径的滤膜过滤。

LC-20AT 高效液相色谱仪(配SPDM-20A检测器、SIL-20A自动进样器、CBM-20A系统控制器) 日本岛津公司; 电子天平 上海越平科学仪器有限公司; 离心机 上海手术器械厂; 微孔过滤装置 北京莱伯泰科仪器有限公司; SY3200超声波清洗器 上海声源超声波仪器设备有限公司; DHG-9070A型新型电热恒温鼓风干燥箱 宁波江南仪器厂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 色谱条件

色谱柱: Shim-pack VP-ODS(150mm×4.6mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-0.02mol/L磷酸缓冲溶液(70:30, V/V); 紫外检测波长: 299nm; 流速: 0.6mL/min; 柱温: 室温; 进样量: 20 μL。

#### 1.2.2 溶液配制

标准溶液: 准确称取噻菌灵标准品0.0068g(精确至0.0001g), 置于50mL容量瓶中, 用甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀后即为0.136mg/mL的噻菌灵标准溶液。用移液管准确移取不同体积的噻菌灵标准溶液分别置于25mL的容量瓶中, 再用甲醇定容得一系列不同质量浓度(0.01、0.10、0.14、0.25、0.31、1.26、5.03、19.35、27.20、54.40、74.42、90.00、97.92 μg/mL)的噻菌灵标准溶液, 摇匀并贴上标签, 0~10℃保存, 备用。

磷酸缓冲液: 称1.38g Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O和1.41g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>溶于900mL二次蒸馏水中, 用0.1mol/L稀NaOH溶液调pH6.8, 定容至1000mL, 配制成0.02mol/L的磷酸缓冲溶液。摇匀, 用0.45 μm的孔径滤膜过滤, 超声振荡15min, 备用。

#### 1.2.3 样品前处理

将施用过噻菌灵(0.136mg/mL)的样品灯笼果分别编号, 并保存于0~5℃的冷藏柜中。对不同编号的样品贮藏10d后依次进行残留量测定。

取10g样品于研钵中, 加入15g无水硫酸钠混合均

匀, 再加入10mL乙酸乙酯, 组织捣碎, 转移至250mL碘瓶中, 用5mL乙酸乙酯冲洗研钵, 将洗液合并入碘瓶中。超声振荡10min, 过无水硫酸钠层抽滤, 用乙酸乙酯洗涤残渣两次, 合并滤液。再在滤渣中加入20mL乙酸乙酯, 超声波提取10min, 过无水硫酸钠层抽滤, 合并滤液于碘瓶中。于30℃恒温箱中浓缩至干, 用2mL甲醇溶解并通过0.45 μm滤膜, 待测。

## 2 结果与分析

### 2.1 检测波长的选择

利用二极管阵列检测器在线扫描配制好的噻菌灵标准溶液, 可得到噻菌灵的吸收波长响应值的紫外吸收图谱(图1), 最大吸光波长出现在204、235、299nm波长处。当吸收波长小于220nm时, 吸收干扰较大。考虑到噻菌灵本身以及溶剂、基体干扰、灵敏度等因素, 选定波长为299nm作为检测波长。灯笼果中各杂质在该波长时对噻菌灵的测定无影响, 且色谱峰形较好。

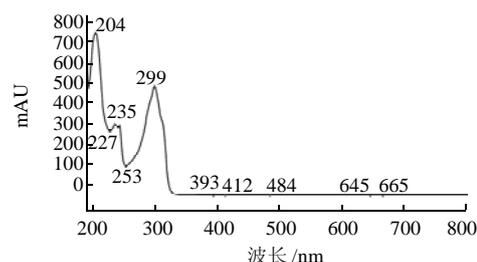


图1 标准品噻菌灵的紫外扫描图

Fig.1 Spectrum of triabendazole standard

### 2.2 流动相的选择

分别用甲醇溶液、甲醇-氨水溶液、甲醇-磷酸二氢钾溶液、甲醇-冰乙酸、乙腈-磷酸二氢钾溶液、乙腈-离子对溶液、乙腈溶液和乙腈-磷酸缓冲溶液等作流动相进行比较, 发现乙腈-磷酸缓冲溶液作流动相时, 噻菌灵与其杂质分离完全且峰形对称; 再经过比较不同配比的乙腈-磷酸缓冲溶液体系, 发现乙腈-0.02mol/L磷酸缓冲溶液(pH6.8)配比为70:30(V/V)时, 柱效最高、保留时间适宜。

### 2.3 流速的选择

在上述流动相和检测波长条件下, 以0.2~1.0mL/min的不同流速进行测定, 分析比较发现在0.6mL/min流速时的噻菌灵液相色谱峰形较好、出峰时间较早, 故选择0.6mL/min为检测流速。

### 2.4 线性范围及检出限

按照上述色谱条件制作噻菌灵标准曲线, 经过回归, 得到其线性方程为  $y = 5010.8x - 51.171$ ,  $r = 0.9995$ 。线性范围为  $0.10 \sim 90.0 \mu\text{g/mL}$ 。噻菌灵标准谱图见图 2, 标准出峰在  $3.904 \text{min}$ 。采用标准工作曲线的最低质量浓度点并按上述色谱条件测定 6 次, 得到一组低质量浓度标准峰面积, 求出其标准偏差, 以 3 倍标准偏差除以方法的灵敏度, 即得方法的检出限为  $0.05 \mu\text{g/mL}$ 。噻菌灵标准品和样品色谱图见图 2。

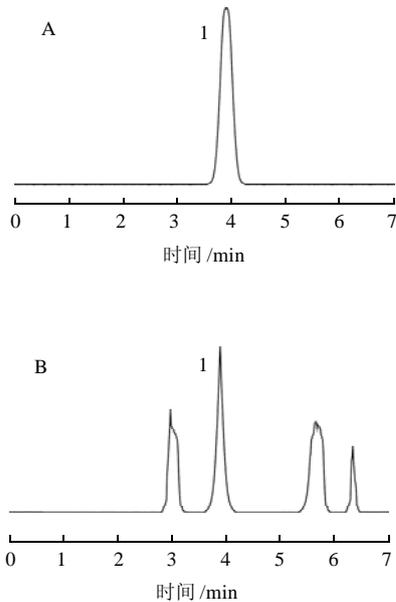


图2 噻菌灵标准品(A)和灯笼果果肉中噻菌灵(B)的色谱图  
Fig.2 Chromatogram of triabendazole in Peruvian ground cherry sarcocarp

## 2.5 精密度和回收率

在选定的色谱条件下进行添加回收实验, 灯笼果肉分别以  $0.01$ 、 $0.05$ 、 $0.1 \text{mg/kg}$  三个添加水平, 灯笼果皮分别以  $0.05$ 、 $0.1$ 、 $0.2 \text{mg/kg}$  三个添加水平, 按照样品处理方法进行提取净化, 测定噻菌灵含量, 计算回收率见表 1。灯笼果肉噻菌灵添加回收率为  $87.9\% \sim 101.5\%$ , 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)( $n = 3$ )为  $1.53\% \sim 2.79\%$ , 灯笼果皮噻菌灵添加回收率为  $89.2\% \sim 102.6\%$ , RSD( $n = 3$ )为  $0.98\% \sim 1.51\%$ , 方法的回收率和标准偏差符合国内外有关标准和法规的要求。在选定的色谱条件下, 质量浓度  $50 \mu\text{g/mL}$  的标准品连续测定 5 次, 保留时间和峰面积的 RSD 分别为  $0.17\%$  和  $2.78\%$  ( $n = 5$ )。因此, 本方法具有很高的灵敏度与精密度, 重复性好, 回收率稳定, 可以为灯笼果样品中噻菌灵的测定提供参考方法。

表 1 回收率及精密度实验结果( $n = 3$ )

Table 1 Results of recovery and precision experiments ( $n = 3$ )

灯笼果部位	加入量/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
果肉	0.01	101.5	1.53
	0.05	94.8	2.34
	0.10	87.9	2.79
果皮	0.05	89.2	0.98
	0.10	102.6	1.51
	0.20	94.7	1.48

## 2.6 实际样品测定

对不同批次的样品中灯笼果肉和灯笼果皮中的噻菌灵含量进行测定, 每个样品重复 3 次, 从表 2 可以看出, 灯笼果肉中的噻菌灵含量明显低于灯笼果皮。相对误差小于  $3.4\%$ , 符合国内农药残留检测的要求。

表 2 灯笼果样品测定结果( $n = 3$ )

Table 2 Triabendazole residues in Peruvian ground cherry samples as determined by the method ( $n = 3$ )

灯笼果 肉编号	噻菌灵含量平 均值/(mg/kg)	相对 误差/%	灯笼果 皮编号	噻菌灵含量平 均值/(mg/kg)	相对 误差/%
11003	2.28	2.5	11003	20.33	0.6
11007	3.16	2.7	11007	17.53	2.3
11013	2.63	3.4	11013	14.73	1.7
11017	2.47	2.5	11017	9.64	0.9
11023	3.77	3.2	11023	8.47	1.9
11027	1.87	1.4	11027	7.59	1.5
11037	2.66	1.0	11037	12.36	1.4
11053	3.79	1.9	11053	12.50	2.1
11076	3.98	2.6	11076	2.99	1.4
11088	2.87	2.3	11088	7.57	0.7

## 参考文献:

- [1] 刘俊花, 张宝善, 葛玉. 新型水果酸浆的研究开发现状[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(3): 31-32.
- [2] 王永辉, 张振华, 金宏, 等. 锦灯笼果不同部位氨基酸的测定与分析[J]. 氨基酸和生物资源, 2009, 31(1): 81-83.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 296.
- [4] 辜雪英, 仇满珍, 刘云珠. 高效液相色谱法测定柑橘中多菌灵、噻菌灵、甲基硫菌灵和硫菌灵残留量[J]. 理化检验: 化学分册, 2010, 46(7): 797-799.
- [5] WU Qihua, LI Yunping, WANG Chun, et al. Dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-fluorescence detection for the determination of carbendazim and thiabendazole in environmental samples[J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 638(2): 139-145.
- [6] 刘晓松, 童张法, 郑玲, 等. 浓缩刺梨汁中噻菌灵和多菌灵残留量的高效液相色谱法测定[J]. 分析实验室, 2006, 25(10): 74-78.
- [7] 张浩, 张祥辉, 逯忠斌, 等. 高效液相色谱法同时测定食用菌中的多菌灵和噻菌灵残留量[J]. 农药, 2008, 47(7): 517-518.
- [8] VENEZIANO A, VACCA G, ARANA S, et al. Determination of carbendazim, thiabendazole and thiophanate-methyl in banana (*Musa*

- acuminata*) samples imported to Italy[J]. Food Chemistry, 2004, 87(3): 383-386.
- [9] 陈莹, 丛佩华, 聂继云, 等. 分散固相萃取 - 高效液相色谱法测定: 水果中多菌灵和噻菌灵[J]. 果树学报, 2008, 25(5): 769-773.
- [10] 郭英娜, 姜苗松, 张敏, 等. 固相萃取富集 - 高效液相色谱法测定环境中多菌灵和噻菌灵[J]. 分析化学, 2005, 33(3): 395-397.
- [11] 王登飞, 陈练洪, 游俊, 等. 固相萃取 - HPLC 法同时测定果蔬中多菌灵和噻菌灵残留量[J]. 农药, 2008, 47(6): 443-447.
- [12] 刘晓松, 董张法, 郑玲, 等. 固相萃取 - 高效液相色谱法同时测定噻菌灵和多菌灵在浓缩菠萝汁中的残留量[J]. 分析科学学报, 2007, 23(3): 311-314.
- [13] 赵洁, 何强, 孔祥虹, 等. 离子交换色谱 - 荧光检测法快速测定枸杞子中噻菌灵[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1853-1855.
- [14] 李建华, 何强, 赵洁, 等. 离子交换色谱 - 荧光检测法快速测定浓缩果汁中噻菌灵残留量[J]. 农药, 2007, 46(11): 772-773.
- [15] 胡彦学, 杨秀敏, 王志, 等. 固相微萃取 - 高效液相色谱 - 荧光检测法测定番茄中的多菌灵和噻菌灵[J]. 色谱, 2005, 23(6): 581-584.
- [16] RODRIGUEZ R, PICO Y, FONT G, et al. Analysis of thiabendazole and procymidone in fruits and vegetables by capillary electrophoresis-electrospray mass spectrometry[J]. J Chromatogr A, 2002, 949(1/2): 359-366.
- [17] MSAGATI T A M, NINDI M M. Comparative study of sample preparation methods; supported liquid membrane and solid phase extraction in the determination of benzimidazole anthelmintics in biological matrices by liquid chromatography-electrospray-mass spectrometry[J]. Talanta, 2006, 69(1): 243-250.
- [18] 胡梅, 王骏, 张卉, 等. 超高效液相色谱 - 串联质谱测定蒜苔中多菌灵和噻菌灵的残留量[J]. 山东农业科学, 2010(4): 89-91.
- [19] 连文浩, 苏建峰, 江滨炜. 超高效液相色谱 - 串联质谱法测定干香菇中多菌灵和噻菌灵残留量研究[J]. 食品科学, 2009, 30(12): 202-204.