

基质分散固相萃取 - 高效液相色谱法测定 水果中的异菌脲残留量

吴春红, 聂继云*, 李 静, 李海飞, 徐国锋
(中国农业科学院果树研究所, 辽宁 兴城 125100)

摘 要: 以 PSA(乙二胺基-N-丙基硅烷)和 ODS(十八烷基硅胶键合硅胶填料)为混合固相基质分散剂萃取净化, 液相色谱柱分离, 建立了水果中异菌脲残留量的测定方法。异菌脲在 0.1~5.0 $\mu\text{g/ml}$ 的浓度范围内, 峰面积和浓度的相关系数为 0.9994。在香蕉、柑橘和芒果中分别添加 0.5、1.0、2.0 mg/kg 三个浓度异菌脲, 回收率在 82.70%~108.62% 之间, RSD 值在 1.8%~5.3% 之间, 方法的检出限为 0.036 mg/kg 。此方法具有灵敏、准确、简便、重现性好等优点。

关键词: 分散固相萃取; 液相色谱法; 异菌脲; 水果

Combination of Matrix Solid Phase Dispersion Extraction with High Performance Liquid Chromatography for the Determination of Iprodione Residue in Fruits

WU Chun-hong, NIE Ji-yun*, LI Jing, LI Hai-fei, XU Guo-feng
(Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng 125100, China)

Abstract: A high performance liquid chromatographic method was developed for the determination of iprodione in fruits. Samples were extracted using acetonitrile, cleaned up by solid phase extraction using PSA and ODS (1:1, *m/m*) as dispersants. The chromatographic separation was achieved on an ODS reverse-phase (RP) column. There was a good linear calibration curve in the range from 0.1 to 5.0 $\mu\text{g/ml}$ with the correlation coefficient of 0.9994. The recoveries for iprodione in banana, orange and mango spiked at 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg ranged from 82.70% to 108.62%, with the RSDs of 1.8%—5.3%. The method detection limit was 0.036 mg/kg . This method is simple, sensitive, accurate and reproducible.

Key words: matrix solid phase dispersion extraction; liquid chromatography; iprodione; fruits

中图分类号: S66; TS207.53

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)14-0188-03

异菌脲(iprodione), 又名扑海因, 属于二甲酰亚胺类, 是一种广谱性触杀型保护性杀菌剂, 并具有一定的治疗作用^[1]。该杀菌剂对病原真菌生活史中的各发育阶段均有影响, 广泛用于果树、蔬菜、谷物的病害防治和水果的贮藏保鲜, 对香蕉、柑橘、芒果尤其有效。由于异菌脲生产较早且大量使用, 美国和欧盟制定了其在水果、蔬菜和粮食中的最大残留限量(MRL), 并对其残留量进行监测。目前, 我国水果中异菌脲残留量的检测多采用液-液萃取、气相色谱法测定^[1-2]。但异菌脲热稳定性差, 在进行气相色谱法测定时易发生分解, 色谱峰拖尾现象严重。为此, 吕岱竹等对固相萃取-高效液相色谱法测定黄皮中的异菌脲残留量进行了研究^[3]。

1989 年美国路易斯安那州立大学的 Barker 首次提出基质分散固相萃取(matrix solid phase dispersion extraction, MSPD)并给予了理论解释^[4], 该技术在国外已应用于水果、蔬菜的农药残留检测^[5]。研究表明, 对于蔬菜和水果中的农药残留分析, 乙二胺基-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)吸附剂具有弱的阴离子交换能力, 有利于吸附样品基质中的有机酸、糖和色素, 对农药有较高的回收率^[6]。本研究旨在采用 PSA 和十八烷基硅胶键合硅胶填料(octadecylsilyl, ODS)混合分散固相萃取的净化方法, 建立简单、快速、基质干扰少、灵敏度高水果中异菌脲残留量测定的高效液相色谱法。

1 材料与方法

收稿日期: 2008-11-12

基金项目: 2007 年农业行业标准制定项目(农财发[2007]40 号)

作者简介: 吴春红(1982—), 女, 硕士, 研究方向为果品质量与安全标准。E-mail: bestchunhong@163.com

* 通讯作者: 聂继云(1970—), 男, 研究员, 博士研究生, 研究方向为果品质量与安全标准。E-mail: jiyunnie@163.com

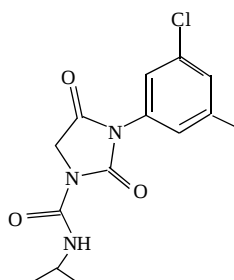


图1 异菌脲结构式

Fig.1 Structural formula of iprodione

1.1 材料与试剂

香蕉、柑橘、芒果3种常使用异菌脲做保鲜处理的代表性水果,均随机购自兴城农贸市场。

异菌脲标准品(1000mg/kg) 农业部环境保护科研监测所; PSA 吸附剂(平均粒度 45 μm)、阳离子交换吸附剂(polycarbonate, PC)、硅胶吸附剂(平均粒度 45 μm)、硅吸附剂(平均粒度 45 μm)、石墨化碳(PestiCarb, 平均粒度 120~400 目)、ODS 美国艾杰尔科技有限公司; 乙腈(优级纯) 天津科密欧化学试剂公司; 甲醇(色谱纯); 超纯水(用前过膜)、氯化钠(分析纯, 使用前在 650℃的马弗炉内灼烧 4h)。

1.2 仪器与设备

Class-vp 10AVP 型高效液相色谱仪、VP-ODS 反相色谱柱(150mm × 4.6mm)、紫外检测器、EB-280-11 电子天平 日本岛津公司; Lindberg Blue M Furnaces 马弗炉 美国 Thermo 公司; LXJ-64-01 离心机 北京医疗仪器修理厂; Z233MK-Z 台式冷冻离心机 德国 Hermle 公司; PU1800spc 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; 取液器 德国 Simplex 公司; 溶剂过滤器(1000ml) 美国 Wheaton 公司; IKA® VORTEX GENIUS3 漩涡混匀器 德国 IKA 公司; Milli-Q50 超级纯水器 美国 Millipore 公司。

1.3 样品处理

按 NY/T 789—2004《农药残留分析样品的采样方法》抽取样品,用蒸馏水洗净,擦干,四分法取可食部分,切碎,用组织捣碎机捣成匀浆,备用。准确称取果实匀浆 10.0g 于 50ml 离心管中,加入 10.0ml 乙腈,漩涡混匀器混匀 30s,加入 2g 氯化钠,再振荡混匀 5min。4000r/min 离心 5min,静置 1min 分层、澄清。准确吸取 1.5ml 上清液,放入事先装有 40mg PSA 和 40mg ODS 的 2ml 离心管中,振荡,置于漩涡混匀器上混和 1min,8000r/min 离心 5min。移取上清液 1ml,过 0.45 μm 膜,待测。

1.4 标准品的配制

取异菌脲标样 1000mg/kg,用甲醇逐步稀释,配制质量浓度分别为 0.1、0.5、1.0、3.0、5.0 μg/ml 的系

列标准工作溶液。

1.5 色谱条件

色谱柱: ODS 反相色谱柱(VP-ODS, 150mm × 4.6mm); 检测波长: 202nm; 柱温: 30℃; 流动相: 甲醇-水(70:30, V/V), 经 Millipore 溶剂过滤系统(0.22 μm 滤膜)过滤; 进样量: 10 μl。

2 结果与分析

2.1 检测波长的选择

用紫外可见分光光度计对异菌脲标准溶液进行高速紫外扫描,在波长 202nm 处有一强吸收峰,在 270nm 处有一较弱吸收峰。但由图 2 可以看出波长 202nm 处峰的吸光度更大,紫外吸收更明显,因此,选择 202nm 为检测波长。

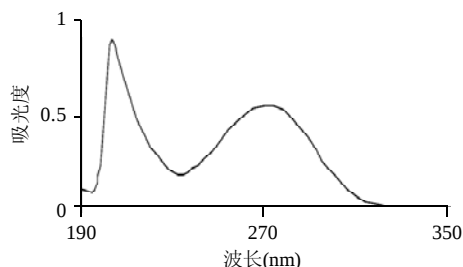


图2 异菌脲的紫外扫描图

Fig.2 UV absorption spectrum

2.2 提取剂的选择

样品中添加 0.1 μg/ml 异菌脲标样后,分别以乙腈和丙酮为溶剂,进行提取、浓缩、过滤、进样。结果显示乙腈和丙酮的提取回收率在 90% 以上,均能满足要求。但用乙腈提取时,分层更加明显,即乙腈的盐析效果好于甲醇,更有利于提取的分层,故选择乙腈为提取剂。

表1 不同提取剂的提取回收率

Table 1 Comparison of extraction recoveries of iprodione using acetonitrile and acetone

提取剂	平均回收率(%)	RSD(% , n = 5)
丙酮	95.3	3.2
乙腈	90.2	2.7

2.3 净化吸附剂种类及用量的选择

分散固相萃取的净化吸附剂有很多种类,选择两种离子交换吸附剂(PSA、PC)和三种惰性吸附剂(ODS、石墨化碳、硅胶)进行筛选。结果显示,石墨化碳和 PC (阳离子交换吸附剂)对异菌脲的吸附作用很大,不适合使用。通过 ODS、PSA、硅胶的组合实验,PSA 和 ODS 吸附剂组合的净化效果最好。当 PSA 用量高于 50mg

时,回收率低于60%,不能满足要求。当吸附剂组合用量低于40mg时,提取液含杂质较多,呈现黄色混浊,会影响测定的准确度,故吸附剂的用量为PSA 40mg + ODS 40mg较为合适。对比谱图3、4可以看出,净化后目标物周围无杂质峰干扰。

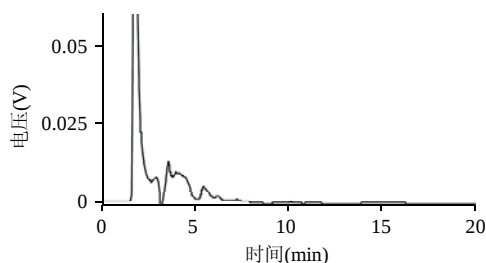


图3 水果基质空白样品色谱图

Fig.3 Chromatogram of blank fruit sample

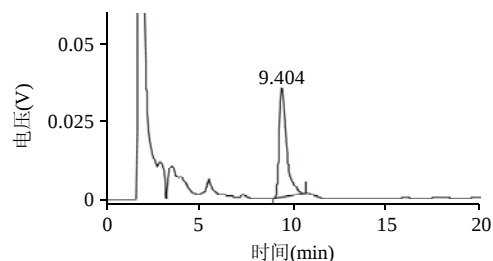


图4 水果基质空白添加异菌脲标准品色谱图

Fig.4 Chromatogram of spiked fruit sample

2.4 方法的线性范围及检出限

取系列浓度0.1、0.5、1.0、3.0、5.0 $\mu\text{g/ml}$ 的标准工作液,按上述色谱条件每种浓度进样10 μl ,以峰面积为纵坐标、标准进样浓度为横坐标,绘制标准曲线,计算回归方程,以3倍信噪比时的进样量计算最低检出限,得回归方程: $y=10^{-0.00217} \times 1.37436x$, $r=0.9994$ ($n=5$)。表明在0.1~5.0 $\mu\text{g/ml}$ 浓度范围内线性良好,检出限为0.036mg/kg。

2.5 方法的准确度及精密度实验

选取香蕉、柑橘、芒果三种经常使用异菌脲的水果,分别准确称取10.0g匀浆进行0.5、1.0、2.0mg/kg的标准的添加实验,结果如表2所示。不同添加浓度的回收率测定范围在82.70%~108.62%,相对标准偏差为1.8%~5.3%,均小于10%,其结果表明方法的准确度

及精密度均可达到定量分析的要求^[7]。

表2 水果中添加异菌脲标准品的测定结果

Table 2 Recoveries for iprodione in banana, orange and mango spiked at 0.5, 1.0 and 2.0 mg/kg

样品	加标量(mg/kg)	测得量(mg/kg)	回收率(%, $n=5$)	RSD(%, $n=7$)
香蕉	0.5	0.492	87.54~100.89	4.1
	1.0	1.016	92.38~106.22	4.6
	2.0	2.084	98.65~108.62	1.8
柑橘	0.5	0.431	82.70~91.34	5.3
	1.0	0.882	86.28~91.88	2.7
	2.0	1.185	87.85~93.32	2.9
芒果	0.5	0.449	85.73~94.26	3.3
	1.0	0.934	88.76~95.61	2.9
	2.0	1.895	90.35~98.97	2.3

注:本底值未检测出。

3 结 论

本方法采用基质分散固相萃取的净化方法,去除了大量的杂质,达到了净化的目的,并且在净化的过程中,目标物的损失较少。使用高效色谱法进行检测,有效避免了异菌脲在进行气相色谱法测定时易发生分解,色谱峰拖尾严重的问题。由测定的数据统计分析可知该方法重现性高,回收率好。该方法采用PSA和ODS混合分散固相萃取的净化方法,具有前处理简便、灵敏、准确、快速等优点。

参考文献:

- [1] 中国农业百科全书总编委会农药卷编委会. 中国农业百科全书: 农药卷[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 554.
- [2] 王一茹, 曹哲. 新鲜蔬菜水果的农药多残留快速检测[J]. 现代科学仪器, 2003(1): 28-32.
- [3] 吕岱竹, 韩红新. 用固相萃取-高效液相色谱法测黄皮中的异菌脲残留量[J]. 热带作物学报, 2006, 27(4): 101-103.
- [4] BARKER S A. Matrix solid-phase dispersion[J]. J Chromatogr A, 1989, 475(1): 353-361.
- [5] LEHOTAY S J, KATERINA M, ALAN R L. Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticide in a fast and easy method for residue[J]. Journal of AOAC International, 2005, 88(2): 615-629.
- [6] SCHENCK F J, LEHOTAY S J. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas chromatographic analysis of pesticide residues in food[J]. J Chromatogr A, 2000, 868(1): 51-61.
- [7] NY/T 788—2004 农药残留试验准则[S].