

高效液相色谱法测定油炸蚕豆中的多菌灵残留

付艳梅*, 王海霞, 张秀丰

(衡水出入境检验检疫局, 衡水 053000)

摘要: **目的** 建立高效液相色谱法测定油炸蚕豆中的多菌灵残留的方法。**方法** 试样经 1% 乙酸-乙腈溶液提取, MCX 固相萃取柱净化, 甲醇溶解定容, 经 C_{18} 色谱柱分离, 以乙腈-水为流动相, 在波长 274 nm 处检测, 外标法定量。**结果** 在质量浓度为 0.10 ~ 4.0 mg/L 范围内, 峰面积与其浓度的线性关系良好, 相关系数为 0.9998, 方法检出限为 0.02 mg/kg, 平均回收率为 85.2% ~ 95.9%。**结论** 该方法简便、快速准确, 适用于油炸蚕豆中多菌灵的测定。

关键词: 高效液相色谱法; 油炸蚕豆; 多菌灵; 固相萃取

Determination of carbendazim residue in fried broad bean by high performance liquid chromatography

FU Yan-Mei*, WANG Hai-Xia, ZHANG Xiu-Feng

(Hengshui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hengshui 053000, China)

ABSTRACT: Objective To study and establish a method for determination of carbendazim residue in fried broad bean by high performance liquid chromatography. **Methods** The sample was extracted by 1% acetic acid-acetonitrile, cleaned up by MCX SPE, dissolved and volumed by methanol, and then separated by C_{18} chromatography column, the mobile phase was acetonitrile-water, the detection wavelength was 274 nm, and the quantitative method was the external standard method. **Results** The linear relationship between peak area and concentration was good over the range of 0.10~4.0 mg/L with the correlation coefficient 0.9998, and the detection limit was 0.020 mg/kg, the average recoveries of the method were ranged from 85.2%~95.9%. **Conclusion** This method is easier, faster and suitable for the determination of carbendazim in fried broad bean.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; fried broad bean; carbendazim; solid-phase extraction

1 引言

多菌灵是一种广谱、内吸、高效、低毒的苯并咪唑类杀菌剂, 能够防治果树、蔬菜、粮棉和林木等多种作物的多种病害, 尤其对子囊菌和半知菌引起的

病害有较好的防治效果^[1]。但是也存在着很多弊端, 如残留期较长, 对哺乳动物具有一定的毒害作用^[2]。蚕豆赤斑病在蚕豆的生育期均有发生, 严重影响蚕豆的产量, 在盛花至结荚期, 喷洒多菌灵可湿性粉剂可以有效防治赤斑病发生^[3,4], 因此, 对蚕豆及蚕豆成

*通讯作者: 付艳梅, 助理工程师, 主要研究方向为食品理化检验。E-mail: fuyanmei013@126.com

*Corresponding author: FU Yan-Mei, Assistant Engineer, Hengshui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No. 1396, Renmin Road, Hengshui 053000, China. E-mail: fuyanmei013@126.com

品油炸蚕豆中多菌灵的检测尤为必要。

多菌灵检测方法的报道及国家标准方法^[5,6]多见于水果蔬菜中。油炸蚕豆中多菌灵的残留还未见报道, 目前对多菌灵检测的方法主要有高效液相色谱法^[7-10]、紫外-可见分光光度法^[11]、气相色谱法^[12]和液相色谱-质谱联用法^[13]等。本文以油炸蚕豆为研究对象, 通过乙酸-乙腈提取, 固相萃取小柱净化的方法除去杂质, 高效液相色谱法测定, 可以有效去除油炸蚕豆中油脂对结果的影响, 使处理后的样品干扰少, 结果更准确、操作简便、灵敏度高。

2 仪器与方法

2.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪(e2695, 美国沃特世公司), 配紫外检测器; 混合型阳离子交换固相萃取小柱(6 cc, 150 mg, Waters Oasis)。

多菌灵标准溶液(100 $\mu\text{g/mL}$), 农业部环境保护科研检测所; 甲醇、乙腈(色谱级, 韩国 J.T.Baker 公司), 其余均为分析纯, 实验用水均为一级水。

2.2 色谱条件

Welch Ultimate XB-C₁₈ 色谱柱(250 mm $\times$ 4.6 mm, 5 μm); 流动相为: 乙腈-水(85:15, V:V); 检测波长 274 nm; 流速 1.0 mL/min; 柱温 40 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μL 。

2.3 标准溶液的配制

将 100 $\mu\text{g/mL}$ 的多菌灵标准溶液用甲醇稀释为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 将 10 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液用甲醇分别配成浓度为 0.1、0.5、1、2 和 4 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作溶液。

2.4 样品前处理

2.4.1 样品的制备

将试样充分混匀、粉碎, 装入密闭洁净容器中标记, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏保存备用。

2.4.2 样品提取

称取 10 g 粉碎样品(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 40 mL 1%乙酸-乙腈溶液高速匀浆 1 min, 4000 r/min 离心 5 min, 上清液备用。

2.4.3 样品净化

取 10 mL 上清液, 将其通过经 3 mL 1%乙酸-乙

腈活化的 MCX 固相萃取柱, 依次用 3 mL 水, 3 mL 甲醇淋洗、抽干, 然后用 3 mL 5%氨水-甲醇溶液洗脱, 洗脱液经 45 $^{\circ}\text{C}$ 氮气吹干后用甲醇定容至 1 mL, 经 0.45 μm 滤膜过滤, 待测备用。同时做空白试验。

3 结果与分析

3.1 样品前处理条件的优化

3.1.1 溶剂的选择

油炸蚕豆中含有较多的油脂, 采用甲醇、丙酮、乙酸乙酯等提取不能去除, 而采用乙腈提取可以有效去除油炸蚕豆中的油脂, 故本文采用乙腈提取, 多菌灵易溶于无机酸及醋酸, 本文比较了 1%盐酸-乙腈和 1%乙酸-乙腈, 发现用 1%盐酸-乙腈作为提取剂, 回收率较低, 仅能达到 60%, 而采用 1%乙酸-乙腈作为提取剂, 回收率可以达到 85%以上, 故选用 1%乙酸-乙腈溶液作为提取溶剂^[14]。

3.1.2 净化方法的选择

多菌灵在植物中以阳离子形式存在, 所以选用反向作用的阳离子交换柱。试验选用混合项 Oasis MCX 固相萃取小柱^[15]。固相萃取小柱在使用前需用 3 mL 1%乙酸-乙腈溶液对其进行活化, 除去填料中可能存在的杂质, 以获得高的重现性和回收率。

3.1.3 色谱条件的优化(流动相的选择)

本文比较了用磷酸盐缓冲液(pH=6.8)与乙腈以 80:20 作为流动相及乙腈与水以 85:15 作为流动相的标准溶液及样品溶液的色谱图发现, 两者均具有柱压稳定适中, 峰形好, 噪声小及检出限低的特点, 但用乙腈和水作为流动相对系统和色谱柱造成的污染小, 易清洗, 故本文用乙腈和水作为流动相。

3.2 工作曲线与检出限

多菌灵在 2 倍到 80 倍的检出限质量范围即 0.10~4.0 mg/L 范围内, 多菌灵的浓度与其峰面积呈线性相关, 线性方程为 $Y=28266X-30$, 相关系数 $r^2=0.9998$ 。以 3 倍的信噪比($S/N=3$)计算, 检出限为 0.02 mg/kg。多菌灵标准溶液的色谱图见图 1。

3.3 回收率与精密度

称取 10 g 油炸蚕豆样品, 分别选择 0.1、1.0、2.0 mg/kg 3 个添加水平进行加标回收试验, 回收率结果见表 1, 空白样品色谱图见图 2, 空白样品加标色谱图见图 3。

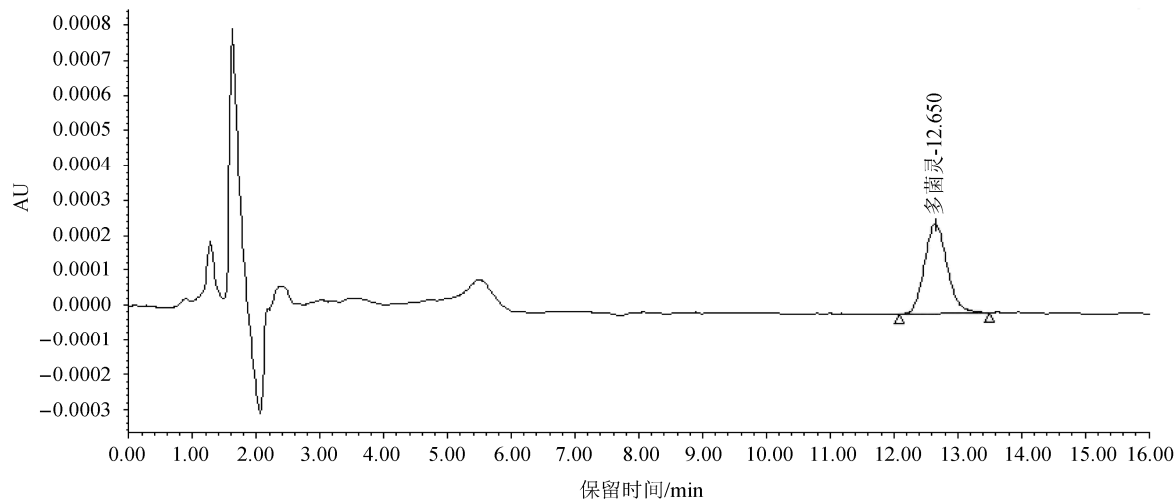


图 1 多菌灵标准品液相色谱图
Fig. 1 HPLC chromatogram of carbendazim standards

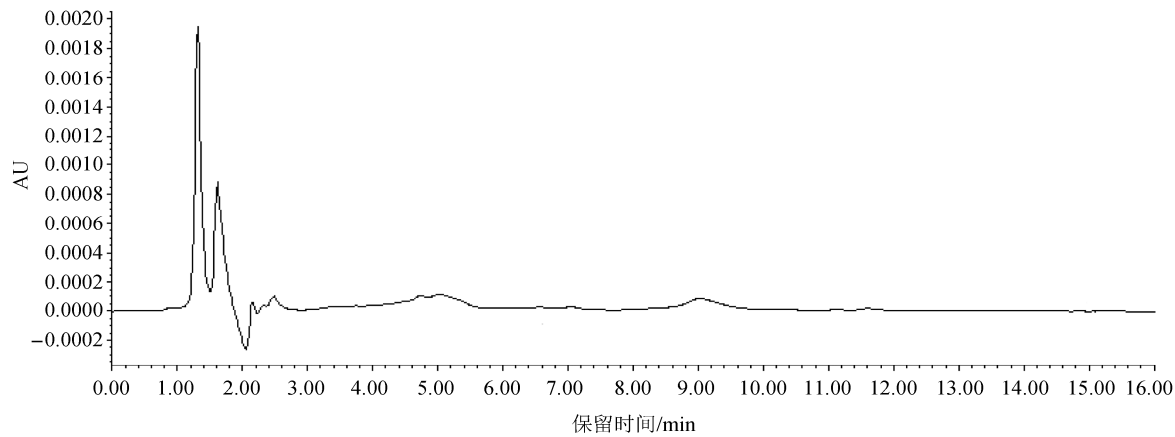


图 2 空白样品色谱图
Fig. 2 HPLC chromatogram of the blank sample

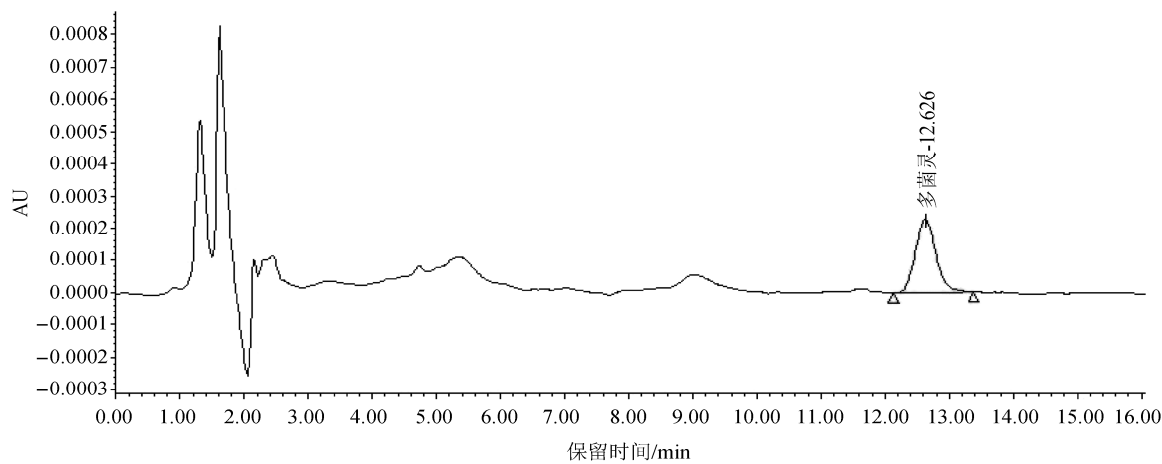


图 3 空白样品加标色谱图
Fig. 3 HPLC chromatogram of blank samples spike

表 1 回收率实验
Table 1 Recoveries of the measured results

样品	添加量 mg/kg	样品空白 mg/kg	回收率%			平均回收率/%			RSD%
油炸蚕豆	0.1	0	85.3	84.8	86.4	83.7	85.9	85.2%	1.0
	1.0		94.7	95.3	97.2	96.5	95.7	95.9%	0.99
	2.0		90.2	88.3	88.7	86.9	89.0	88.6%	1.2

4 结 论

本方法采用高效液相色谱法测定油炸蚕豆中的多菌灵残留, 方法简便、快速, 该方法的检出限低、线性范围宽、回收率高, 采用 1%乙酸-乙腈溶液提取可以有效去除油炸蚕豆中油脂对结果的影响, 方法的选择性强, 灵敏度高, 适用于进出口贸易及超市等对油炸蚕豆中多菌灵的检测。

参考文献

[1] 刘乾开, 朱开念. 新编农药使用手册(第 2 版)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999.

Liu QK, Zhu KN. New pesticide manual (Version 2) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1999.

[2] 吴丽明. 多菌灵对小鼠精子形态及雄鼠生育力的影响[J]. 中国职业医学, 1992, 19(1): 11-12.

Wu LM. Effects of carbendazim on sperm morphology and reproductive ability of male mice [J]. China Occup Med, 1992, 19(1): 11-12.

[3] 季合春. 蚕豆赤斑病发生规律及防治措施[J]. 现代农村科技, 2015, (05): 30.

Ji HC. The occurrence and control measures of favism [J]. Mod Rural Sci Technol, 2015, (05): 30.

[4] 张夕林. 青蚕豆病虫的发生情况与防治技术[J]. 农药市场信息, 2015, (05): 59-60.

Zhang XL. Occurrence and control measures of insect pests in green bean [J]. Pestic Market News, 2015, (05): 30.

[5] GB/T 23380-2009 水果、蔬菜中多菌灵残留的测定[S].

GB/T 23380-2009 Determination of carbendazim residues in fruits and vegetables-HPLC method [S].

[6] NY/T 1680-2009 水果蔬菜中多菌灵等 4 种苯并咪唑类农药残留量的测定高效液相色谱法[S].

NY/T 1680-2009 Determination of carbendazim and other 3 benzimidazoles in vegetable and fruit by HPLC [S].

[7] 孔祥虹, 海云, 仇农学. 固相萃取-高效液相色谱法测定浓缩苹果汁中的多菌灵残留量[J]. 分析试验室, 2007, 26(5): 65-67.

Kong XH, Hai Y, Qiu NX. Solid phase extraction and high performance liquid chromatography method for determination of carbendazim residue in concentrated juice [J]. Assay Lab, 2007, 26(5): 65-67.

[8] 高蓉, 赵人(王争), 杨俊, 等. 高效液相色谱法测定多菌灵在油菜籽中的残留量[J]. 南京医科大学学报, 2004, 24(4): 425-426.

Gao R, Zhao R (Wang Z), Yang J, et al. Determination of residues of carbendazim in rapeseed by HPLC [J]. J Nanjing Med Univ, 2004, 24(4): 425-426.

[9] 俸金梅, 张学忠, 冯雷, 等. 高效液相色谱法测定菠菜中的多菌灵[J]. 农业机械, 2013, (35): 51-53.

Feng JM, Zhang XZ, Feng L, et al. Determination of residues of carbendazim in spinach by HPLC [J]. Agric Mach, 2013, (35): 51-53.

[10] 周晓洁, 赵良忠, 夏湘, 等. 在线净化/固相萃取-高效液相色谱法测定柑橘中多菌灵痕量残留量[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(11): 3691-3698.

Zhou XJ, Zhao LZ, Xia X, et al. Determination of trace carbendazim in citrus by high performance liquid chromatography with on-line clean-up and solid phase extraction [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(11): 3691-3698.

[11] GB/T 5009.188-2003 蔬菜、水果中甲基托布津、多菌灵的测定[S].

GB/T 5009.188-2003 Determination of thiophanate-methyl, carbendazim in vegetables and fruits [S].

[12] 李贝妮, 王亚林, 贾金平. 水果中多菌灵的衍生碳纤维固相微萃取气相色谱测定法[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25(3): 255-257.

Li BN, Wang YL, Jia JP. Determination of the solid phase micro extraction gas chromatography for the determination of carbendazim in fruits [J]. J Environ Health, 2008, 25(3): 255-257.

[13] 黄文雯, 刘晓松, 郑玲, 等. LC-MS/MS 法测定浓缩果汁中 2-氨基苯并咪唑、多菌灵、噻菌灵、甲基硫菌灵的残留量[J]. 食品工业科技, 2012, 33(22): 56-59, 62.

- Huang WW, Liu XS, Zheng L, *et al.* Determination of residues of 2-Aminobenzimidazole, carbendazim, thiabendazole, thiophanate-methyl in concentrated juice by LC-MS/MS [J]. Food Ind Sci Technol, 2012, 33(22): 56–59, 62.
- [14] 郭爱华, 王玮, 赵媛媛, 等. 高效液相色谱法测定蔬菜中多菌灵的残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24(10): 1407–1410.
- Gou AH, Wang W, Zhao YY, *et al.* Determination of the residues of carbendazim in vegetables by HPLC [J]. Chin J Health Inspect, 2014, 24(10): 1407–1410.
- [15] 郝金芝. 高效液相色谱法测定水果中的多菌灵[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(5): 586–587.

Hao JZ. Determination of carbendazim in fruits by HPLC [J]. Chin J Health Inspect, 2004, 14(5): 586–587.

(责任编辑: 李振飞)

作者简介



付艳梅, 本科, 助理工程师, 主要研究方向为食品理化检测。
E-mail: fuyanmei013@126.com

“食品化学与营养”专题征稿函

食品中成分相当复杂, 有些成分是动、植物体内原有的; 有些是在加工过程、储藏期间新产生的; 有些是人为添加的; 有些是原料生产、加工或储藏期间所污染的; 还有的是包装材料带来的。食品营养是指人体从食品中所能获得的满足自身生理需要的必要的生物学过程, 而食品营养学是研究食物、营养与人体生长发育和健康的以及提高食品营养价值的措施。食品化学就是从化学的角度和分子水平上研究食品中化学成分的结构、理化性质、营养作用、安全性及可享受性, 以及各种成分在食品生产、食品加工和储藏期间的变化及其对食品营养性、享受性和安全性影响的科学, 为改善食品品质、开发食品新资源、革新食品加工工艺和储运技术、科学调整膳食结构、改进食品包装、加强食品质量与安全控制及提高食品原料加工和综合利用水平奠定理论基础。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品化学与营养”专题, 由西南大学食品科学学院副院长, 西南大学“食品科学与工程”一级学科博士学位授权点、重庆市重点一级学科“食品科学与工程”和重庆市“食品科学与安全优秀教学团队”的带头人, 重庆市营养学会的副理事长, 重庆市营养学会营养与保健食品专业委员会的主任委员, 重庆市食品安全促进会专家委员会主任委员, 重庆市营养师协会副会长, 国家食品药品监督管理局保健食品审评专家 **阚建全 教授** 担任专题主编, 围绕 **食品中的营养成分、微量及添加成分、生理活性成分及以上各成分在食品加工、储藏过程中的次生物质的分离与分析, 食品加工、储藏和运销过程对食品化学成分的影响, 营养与膳食平衡、能量平衡、疾病防治的关系, 食品的营养素强化与功能性食品等方面**或您认为本领域有意义的问题进行论述, 计划在 2015 年 11 月份出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及专题主编 **阚建全 教授** 特邀请您和您的团队为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2015 年 10 月 10 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与与支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部