

高效液相色谱法测定水果蔬菜中辛硫磷残留

付艳梅^{1*}, 杜 锋¹, 翟硕莉²

(1. 衡水出入境检验检疫局, 衡水 053000; 2. 衡水学院, 衡水 053000)

摘 要: **目的** 建立高效液相色谱法测定水果蔬菜中辛硫磷残留的检测方法。**方法** 样品经乙腈提取, 石墨化碳-氨基(GCB/NH₂)固相萃取小柱净化, 流动相溶解定容, 经反相 C₁₈ 色谱柱分离, 以甲醇-水(80:20, V:V)为流动相, 在波长 285 nm 处检测, 外标法定量。**结果** 在 0.1~1.0 μg/mL 范围内, 线性回归方程为 $Y=2.49 \times 10^4 X - 1.51 \times 10^2$, 相关系数为 0.9998, 方法定量限为 0.02 mg/kg, 加标回收率在 79.2%~92.8%之间。**结论** 该方法操作简便、快速准确, 满足农药残留分析的要求, 适用于水果蔬菜中辛硫磷残留量的检测。

关键词: 高效液相色谱法; 水果; 蔬菜; 辛硫磷

Determination of phoxim in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography

FU Yan-Mei^{1*}, DU Feng¹, ZHAI Shuo-Li²

(1. Hengshui Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hengshui 053000, China; 2. Hengshui University, Hengshui 053000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of phoxim in fruits and vegetables by high performance liquid chromatography. **Methods** The sample was extracted by acetonitrile, cleaned up by GCB/NH₂ SPE, dissolved and volume measured by mobile phase, and then separated by C₁₈ chromatography column, the mobile phase was methanol-water (80:20, V:V), the detection wavelength was 285 nm, and the quantitative method was the external standard method. **Results** The linear regression equation was $Y=2.49 \times 10^4 X - 1.51 \times 10^2$ over the range of 0.1~1.0 μg/mL with the correlation coefficient 0.9998, and the limit of quantification was 0.02 mg/kg, the standard addition recoveries of the method were ranged from 79.2%~92.8%. **Conclusion** The method is easy and fast to operate, and can meet the requirements of the pesticide residue analysis, which is suitable for the determination of phoxim in fruits and vegetables.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; fruits; vegetables; phoxim

1 引 言

辛硫磷是一种高效、低毒、低残留的广谱有机磷农药, 对危害花生、小麦、水稻、棉花、玉米、果树、蔬菜、桑、茶等作物的多种鳞翅目害虫的幼虫有良好的作用效果, 对虫卵也有一定的杀伤作用, 是国内外

重点关注和检测的农药。

目前我国现有的标准 GB/T 5009.102-2003^[1]、SN/T 0148-2011^[2]、NY/T 761-2008^[3]及很多的相关文献^[4-6]都是应用气相色谱法、气相色谱-质谱法检测辛硫磷残留。由于辛硫磷在常温下很稳定, 但在 120~130 °C 的高温下容易分解, 给气相色谱分析带来

*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

了一定的困难。高效液相色谱法测定辛硫磷残留已有报道^[7-14], 但都是研究单一样品中辛硫磷残留。水果蔬菜中辛硫磷残留是人们重点关注的农药, 本研究利用一种方法处理多种水果蔬菜, 操作简单, 适用于大批量样品的检测。本文采用乙腈提取, 经过固相萃取小柱净化, 用高效液相色谱-紫外检测器检测蔬菜水果中的辛硫磷残留, 我国水果蔬菜中辛硫磷限量^[15]为 0.05 mg/kg, 欧盟日本大部分水果蔬菜中限量为 0.02 mg/kg, 本方法的定量限为 0.02 mg/kg, 能满足国内外辛硫磷的限量要求。

2 仪器与方法

2.1 仪器与试剂

Waters e2695 高效液相色谱仪, 配有 Waters2489 紫外可见检测器(美国 Waters 公司); 匀浆机(IKA, T25); 旋蒸仪(EYELA, N-1001); 离心机(SIGMR, 3-18K); 石墨化碳-氨基(GCB/NH₂)固相萃取小柱(规格 500 mg/500 mg, 6 mL, CNW)。

甲醇、乙腈和二氯甲烷(色谱纯, 韩国 J.T.Baker 公司); 氯化钠(优级纯, 天津大茂); 水为超纯水; 辛硫磷标准品(98%, 德国 Dr.Ehrenstorfer)

2.2 辛硫磷标准溶液

称取辛硫磷标准品 10.0 mg, 用甲醇溶解并定容至 100 mL, 配成 100 µg/mL 标准溶液, 吸取 10 mL 100 µg/mL 辛硫磷标准溶液, 用甲醇溶解定容至 100 mL, 配成 10 µg/mL 标准溶液, 放于冰箱中冷藏, 使用前用流动相稀释成相应浓度的工作液。

2.3 色谱条件

反相 C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 µm), 柱温 40 °C, 检测波长 285 nm, 流动相为甲醇-水(80:20, V:V), 流速 1 mL/min, 进样量 10 µL。

2.4 实验方法

称取搅碎混匀样品 10.0 g, 加入 40 mL 乙腈, 匀浆提取 1 min, 加入 3 g NaCl, 再匀浆 1 min, 离心 5 min, 取 20 mL 上清液于鸡心瓶中, 45 °C 旋蒸至近干, 用 5 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5, V:V)溶解待净化。

用 5 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5, V:V)溶液预淋洗 GCB/NH₂ 小柱, 将 5 mL 待净化液转入小柱并收集, 再用 5 mL 二氯甲烷-甲醇(95:5, V:V)洗涤鸡心瓶, 洗涤液一并转入小柱, 收集合并上述溶液, 在 35 °C 下

氮吹至干, 用流动相定容 1 mL, 过膜, 装瓶。

3 结果与讨论

3.1 样品前处理方法的选择

3.1.1 样品提取液的选择

本文比较了提取农药残留常用的两种溶剂乙酸乙酯和乙腈。实验结果表明, 采用乙酸乙酯作为提取溶剂, 提取物中杂质较多, 净化效果不理想, 且氮吹后定容时出现浑浊现象, 而采用乙腈作为提取溶剂, 在辛硫磷出峰位置不存在干扰(见图 1), 目标物辛硫磷与杂质峰得到有效分离, 回收率高。

3.1.2 净化小柱的选择

石墨化碳柱特别适用于分离/去除普遍存在于水果、蔬菜和其他天然产物中的色素(如叶绿素和类胡萝卜素)及固醇类化合物, 因此选用石墨化碳柱进行样品的初步净化。辛硫磷是一种有机磷农药, 而氨基固相萃取小柱作为弱阴离子交换柱常被用于蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药净化, 故而选用石墨化碳-氨基(GCB/NH₂)固相萃取小柱可以达到良好的净化效果, 且操作简便、回收率高, 谱图详见图 1, 回收率见表 1。

3.2 色谱条件的优化

3.2.1 流动相的选择

本文比较了采用乙腈-水和甲醇-水作为流动相, 谱图显示, 选用乙腈-水作为流动相色谱峰面积较小, 且色谱峰展宽比较严重, 而采用甲醇-水作为流动相, 峰形较好, 通过不同比例的甲醇-水做流动相发现, 当甲醇水体积比为 9:1 时, 出峰时间太短, 不能与杂质峰有效分离, 当甲醇水体积比为 7:3 或者甲醇比例降低时, 色谱峰出峰时间延长太多且随着甲醇比例的降低, 辛硫磷峰面积随之减小, 信噪比减小, 当甲醇水体积比为 8:2 时, 在满足分离度要求的同时, 信噪比最高, 峰面积最大。

3.2.2 检测波长的选择

对辛硫磷标准品中目标峰进行扫描, 光谱图显示在 285 nm 处辛硫磷有最大吸收峰, 因此选用 285 nm 作为检测波长。

3.3 标准曲线和检出限

将 10 µg/mL 的辛硫磷标液用流动相稀释成 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 µg/mL 的标准工作液, 辛硫磷的质量浓度在 0.1~1.0 µg/mL 范围内, 浓度与峰面积呈线性相关, 线性方程为 $Y=2.49 \times 10^4 X-1.51 \times 10^2$,

相关系数 $r^2=0.9998$, 定量限为 0.02 mg/kg。辛硫磷标准溶液的色谱图见图 2。

3.4 方法的精密度和回收率试验

分别称取 10 g 桃、苹果、西葫芦和西红柿, 在定量

限、2 倍定量限及 5 倍的定量限浓度进行加标回收实验, 平均回收率结果见表 1, 桃样品不同水平回收率及精密度结果见表 2, 桃样品空白色谱图见图 3, 桃样品添加色谱图见图 1。

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

	桃	苹果	西葫芦	西红柿
0.02 mg/kg	79.4%	79.9%	79.2%	80.1%
0.04 mg/kg	88.7%	89.1%	87.6%	88.5%
0.10 mg/kg	92.1%	92.5%	91.7%	92.8%

表 2 回收率及精密度结果
Table 2 The results of recoveries and precision

样品	添加量 mg/kg	样品空白 mg/kg	回收率/%					平均回收率/%	RSD%
白桃	0.02	0	79.5	78.5	78.9	79.8	80.3	79.4%	0.71
	0.04		89.2	88.5	87.9	89.7	88.2	88.7%	0.74
	0.10		91.7	92.5	93.1	91.0	92.2	92.1%	0.80

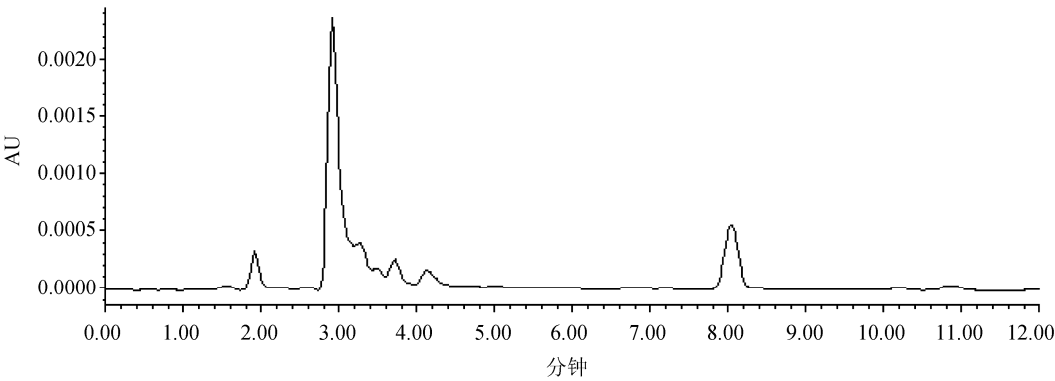


图 1 样品添加 0.02 mg/kg 色谱图
Fig. 1 HPLC chromatogram of 0.02 mg/kg spiked sample

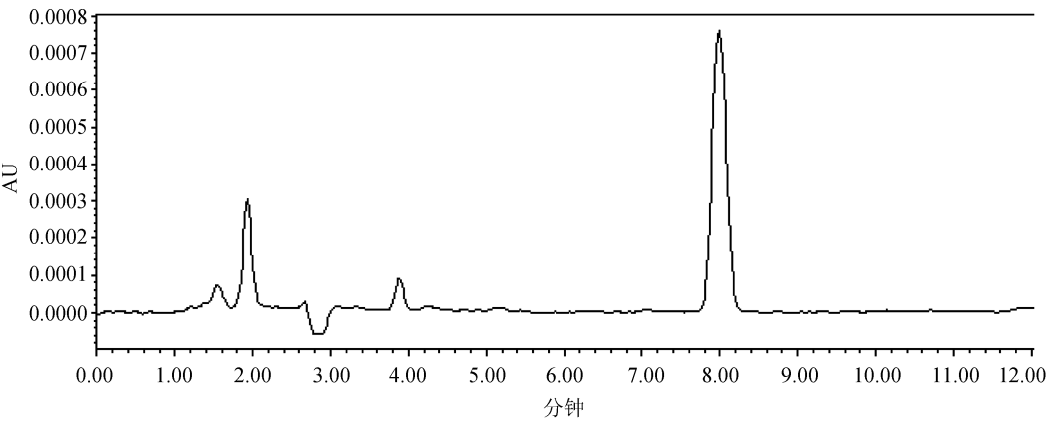


图 2 辛硫磷标准品液相色谱图(0.1 µg/mL)
Fig. 2 HPLC chromatogram of phoxim standards (0.1 µg/mL)

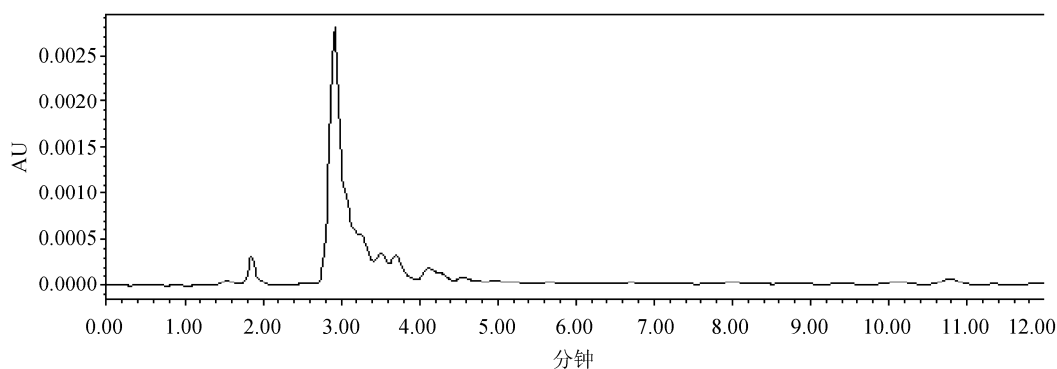


图 3 样品空白色谱图

Fig. 3 HPLC chromatogram of the blank sample

4 结 论

本研究建立了高效液相色谱法测定水果蔬菜中辛硫磷残留方法, 该方法操作简单、灵敏度高、重现性好, 方法的回收率能满足农药残留分析的要求, 适用于水果蔬菜中辛硫磷残留量的检测。

参考文献

- [1] GB/T 5009.102-2003 植物性食品中辛硫磷农药残留量的测定[S].
- [2] GB/T 5009.102-2003 Determination of phoxim pesticide residues in vegetable foods [S].
- [3] SN/T 0148-2011 进出口水果蔬菜中有机磷农药残留量检测方法 气相色谱和气相色谱-质谱法[S].
- [4] SN/T 0148-2011 Determination of organophosphorus residues in fruits and vegetables for import and export-GC-FPD and GC-MS methods [S].
- [5] NY/T 761-2008 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].
- [6] NY/T 761-2008 Pesticide multiresidue screen methods for determination of organophosphorus pesticides, organochlorine pesticides, pyrethroid pesticides and carbamate pesticides in vegetables and fruits [S].
- [7] 李媛, 郝慎智, 尹英豪. 气相色谱法测蔬菜中辛硫磷与杀螟硫磷的最佳检测方法[J]. 中国科技信息, 2012, (23): 47.
- [8] Li Y, Hao SZ, Yin YH. Determination of best test methods for phoxim and fenitrothion in vegetables by gas chromatography [J]. China Sci Technol Inform, 2012, (23): 47.
- [9] 杨玉霞, 莫仁甫, 周其峰, 等. 果蔗中毒死蜱和辛硫磷农药残留分析方法的研究[J]. 现代农药, 2012, 11 (6): 35-37
- [10] Yang YX, Mo RF, Zhou QF, *et al.* Study on the analytical method of chlorpyrifos and phoxim residues in chewing cane [J]. Mod Agrochem, 2012, 11(6): 35-37
- [11] 潘金菊, 梁林, 刘伟. 分散固相萃取-气相色谱质谱法测定花生种辛硫磷的残留[J]. 农药科学与管理, 2013, 34(6): 26-31.
- [12] Pan JJ, Liang L, Liu W. Determination of phoxim residue in peanut using dispersive-spe-gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry [J]. Pestic Sci Admin, 2013, 34(6): 26-31.
- [13] 杨燕强, 张鑫鑫, 赵发宝. 高效液相色谱法测定饲料中辛硫磷残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2012, 48(7): 839-840, 844.
- [14] Yang YQ, Zhang XX, Zhao FB. Determination of residual amount of phoxim in feed by HPLC [J]. Phys Test Chem Anal Part B: Chem Anal, 2012, 48(7): 839-840, 844.
- [15] 孙金旭, 朱会霞, 张彩凤, 等. HPLC 法测定菜花中的辛硫磷残留的研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(13): 100-102.
- [16] Sun JX, Zhu HX, Zhang CF, *et al.* Determination of phoxim in cauliflower by HPLC [J]. Food Res Devel, 2013, 34(13): 100-102.
- [17] 王勇, 周宏琛, 闫秋成, 等. 高效液相色谱法测定浓缩果汁中辛硫磷残留量[J]. 分析实验室, 2006, 25(6): 81-83.
- [18] Wang Y, Zhou HC, Yan QC, *et al.* Determination of phoxim residues in carrot juice concentrate by HPLC [J]. Chin J Anal Lab, 2006, 25(6): 81-83.
- [19] 田明武, 杨琳琳, 李李. 液相色谱法测定蔬菜中的辛硫磷[J]. 现代农业科技, 2011, (10): 25, 28.
- [20] Tian MW, Yang LL, Li L. Determination on phoxim residues in vegetable by liquid chromatography [J]. Mod Agric Sci Technol, 2011, (10): 25, 28.
- [21] 毛应明, 王学松, 斯琴高娃, 等. 高效液相色谱法测定紫菜中辛硫磷残留量[J]. 化学工程与装备, 2010, (11): 138-140.
- [22] Mao YM, Wang XS, Si Qin GW, *et al.* Determination of phoxim residues in nori by HPLC [J]. Chem Eng Equip, 2010, (11): 138-140.
- [23] 李欣, 郑琦, 李锋格. 高效液相色谱法测定番茄酱中辛硫磷残留[J]. 分析科学学报, 2012, 28(4): 590-592
- [24] Li X, Zheng Q, Li FG. Determination of phoxim residues in

- tomato sauce by HPLC [J]. J Anal Sci, 2012, 28(4): 590–592
- [13] 张秀英. 高效液相色谱法测定黄瓜中辛硫磷的残留量[J]. 中国农业信息, 2012, (23): 95.
- Zhang XY. Determination of phoxim residues in cucumber by HPLC [J]. China Agric Inform, 2012, (23): 95.
- [14] 贺敏, 贾春虹, 陈莉, 等. 高效液相色谱法测定大白菜中虫酰肼和辛硫磷的残留量[J]. 农药, 2011, 50 (12): 912–914.
- He M, Jia CH, Chen L, et al. Analysis method for residue of tebufenozide and phoxim in cabbage by HPLC [J]. Agrochemicals, 2011, 50(12): 912–914.
- [15] GB 2763-2014 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

[S].

GB 2763-2014 National food safety standard maximum residue limits for pesticides in food [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



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

补充说明

本刊 2015 年第 6 卷第 11 期(2015, 6(11): 4318-4323) 刘莹等作者“连续流动-水杨酸盐分光光度法测定葡萄酒及葡萄汁中氨氮含量”一文补充基金项目如下:

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局科技计划项目(2015IK010)

Fund: Supported by the Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of China (AQSIQ) Science and Technology Project (2015IK010)

《食品安全质量检测学报》编辑部