

高效液相色谱法测定黄瓜和番茄中苯丁锡残留量

李雯婷, 苗水, 陆继伟, 陈铭, 周恒, 兰岚, 毛秀红, 季申*

(上海市食品药品检验所, 上海 201203)

摘要: **目的** 建立黄瓜、西红柿中苯丁锡残留量的检测方法。**方法** 样品采用二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)溶液振摇提取, 用N-丙基乙二胺(PSA)作为净化剂净化, 采用Phenomenex Kinetex EVO C₁₈柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm), 以乙腈:0.01 mol/L 盐酸(含0.6%氯化钠)(V:V=85:15)为流动相等度洗脱分离, 流速1.0 mL/min, 在220 nm波长处用高效液相色谱法检测。**结果** 苯丁锡在0.5~50 mg/L范围内线性关系良好。平均回收率为92.9%~98.6%, 相对标准偏差(RSD)在0.7%~5.0%之间(n=6), 检出限为0.05 mg/kg。**结论** 该方法操作简便、准确、可靠, 可用于黄瓜、西红柿等蔬菜中苯丁锡残留量的测定。

关键词: 分散固相萃取; 高效液相色谱法; 苯丁锡残留

Determination of fenbutatin oxide residues in cucumbers and tomatoes by high performance liquid chromatography

LI Wen-Ting, MIAO Shui, LU Ji-Wei, CHEN Ming, ZHOU Heng, LAN Lan, MAO Xiu-Hong, JI Shen*

(Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for determination of fenbutatin oxide in cucumbers and tomatoes. **Methods** The vegetable samples were extracted with dispersive solid-phase extraction (d-SPE) of dichloromethane/ acetonitrile (V:V=1:2), and cleaned up using PSA, the extracts were separated with Phenomenex Kinetex EVO C₁₈ column (4.6 mm×150 mm, 5 μm), using acetonitrile and 0.01 mol/L hydrochloric acid solution (0.6% sodium chloride) (V:V=85:15) as mobile phase under 1.0 mL/min flow rate. Finally, the extracts were analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) with 220 nm. **Results** It had a good linearity of fenbutatin oxide in 0.5~50 mg/L. The average recoveries were in range of 92.9%~98.6%, the relative standard deviations (RSD) were 0.7%~5.0%(n=6) and the limits of detection were 0.05 mg/kg, respectively. **Conclusion** This method is simple, accurate and reliable, which is suitable for the determination of fenbutatin oxide in cucumbers and tomatoes.

KEY WORDS: dispersive solid-phase extraction; high performance liquid chromatography; fenbutatin oxide

1 引言

苯丁锡为感温型抑制神经组织的有机锡杀螨剂, 能有效防治对有机氯和有机磷产生抗性螨类害虫, 可用于防

治蔬菜、果树、茶树、花卉等作物螨害^[1]。《食品中农药最大残留限量》(GB2763-2014)^[2]仅对蔬菜中的黄瓜及番茄中苯丁锡的最大残留限量作出规定, 分别为1 mg/kg和0.5 mg/kg, 推荐的检测标准为《出口粮谷及油籽中苯丁锡残留

基金项目: 国家科技重大专项(2014ZX09304307-002)、上海市科学技术委员会项目(14DZ2294000)

Fund: Supported by National Science and Technology Major Project (2014ZX09304307-002) and Science and Technology Commission of Shanghai Municipality (14DZ2294000)

*通讯作者: 季申, 主任药师, 主要研究方向为中药、天然药物及保健食品和有害残留物的质量标准研究。E-mail: jishen2013@163.com

*Corresponding author: JI Shen, Chief Pharmacist. Shanghai Institute for Food and Drug Control, No. 1500 Zhangheng Road, Pudong New District, Shanghai 201203, China. E-mail: jishen2013@163.com

量》(SN 0592-1996)^[3]。苯丁锡常见的检测方法有气相色谱法-电子捕获检测器(gas chromatography-electron capture detector, GC-ECD)^[4,5]、气相色谱法-火焰光度检测器(gas chromatography-flame photometric detector, GC-FPD)^[6-9]、气相色谱法-原子发射检测器(gas chromatography-atomic emission detector, GC-AED)^[10,11]、气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[12-16]及气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)^[17,18]等分析方法。上述分析方法均需要将苯丁锡衍生化为氯化衍生物,再经氧化铝柱净化后检测,操作较为繁琐,重现性欠佳。本研究采用高效液相色谱法测定蔬菜中苯丁锡残留量的方法,前处理净化采用分散固相萃取法(disperse-solid phase extraction, d-SPE)。实验结果表明,该方法具有操作简便、无需衍生化、准确度和精密度高等特点,可较好应用于黄瓜与番茄中苯丁锡残留量检测。

2 材料与方法

2.1 实验材料

黄瓜、番茄(购于上海欧尚超市有限公司)。

2.2 仪器与试剂

高效液相色谱仪配有二级阵列管检测器(Agilent 1260, 美国 Agilent 公司);振荡器(IKA KS260C, 德国 IKA 公司);氮吹仪(N-EVAPTM 112, 美国 Organomation 公司);涡旋混合器(IKA MS 2, 德国 IKA 公司)。

苯丁锡(98.5%, Dr.Ehrensterfer 公司);乙腈、二氯甲烷(色谱纯, 美国 Merk 公司);盐酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司);氯化钠、无水硫酸镁(分析纯, 上海凌峰化学试剂有限公司);N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)(北京艾杰尔科技有限公司)。

2.3 试验方法

2.3.1 标准溶液配制

准确称取 10 mg 苯丁锡标准品,用二氯甲烷溶解并定容至 10 mL,配制成 1000 mg/L 的标准储备溶液。准确移取一定体积的标准储备溶液并用二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)逐级稀释,配置成浓度分别为 0.5、2.5、5、10、20 和 50 mg/L 的苯丁锡系列标准工作溶液。

2.3.2 液相色谱条件

色谱柱: Phenomenex Kinetex EVO C₁₈ 柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm);柱温: 30.0 °C;进样体积: 10.0 μL;流速: 1.0 mL/min;流动相: 乙腈:0.01 mol/L 盐酸(含 0.6%氯化钠)(V:V=85:15)等度洗脱,检测波长: 220 nm。

2.3.3 样品处理

称取 15 g 匀浆试样(准确至 0.01 g),放至于 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中,精密加入二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)

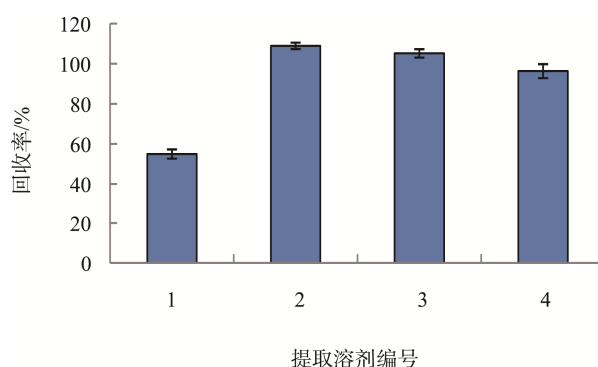
溶液 15 mL,剧烈振摇提取 30 min,再加入 6 g 氯化钠,再次剧烈振摇 1 min 后,以 4000 r/min 离心 5 min。精密移取上清液 9 mL,置于已预先装有净化材料的分散固相萃取净化管(无水硫酸镁 900 mg, N-丙基乙二胺(PSA)600 mg)中,涡旋使其充分混匀,再置振荡器上以 500 次/min 剧烈震荡 5 min 使其净化完全,以 4000 r/min 离心 5 min;精密吸取上清液 5 mL,置氮吹仪上吹至约 0.4 mL,加二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)溶液定容至 1 mL,涡旋混匀,用微孔滤膜(孔径 0.22 μm)滤过,取续滤液,即得。

3 结果与分析

3.1 提取和净化条件优化

3.1.1 提取溶剂的选择

苯丁锡难溶于大多数的有机溶剂和水,易溶于氯代烷烃、苯和丙酮,本研究选取乙腈、二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)、二氯甲烷:乙腈 V:V=1:4)、二氯甲烷:正己烷(V:V=1:1)及二氯甲烷为提取溶剂,比较 5 种提取溶剂对目标化合物的提取效果与加样回收率结果。具体见图 1,结果发现,采用乙腈作为提取溶剂目标化合物的加样回收率仅为 50%,其余提取溶剂的加样回收率均能达到 95%~100%;二氯甲烷作为提取溶剂后提取液位于下层不利于后续的前处理操作;二氯甲烷:正己烷(V:V=1:1)作为提取溶剂时,振摇提取后易产生严重乳化现象,综合考虑,本实验选择二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2)为提取溶剂,既可有效保证目标分析物的提取效率又可使提取溶剂保留在上层,使本方法简便,重现性好。



1: 乙腈; 2: 二氯甲烷:乙腈(V:V=1:2); 3: 二氯甲烷:乙腈(V:V=1:4); 4: 二氯甲烷:正己烷(V:V=1:1)

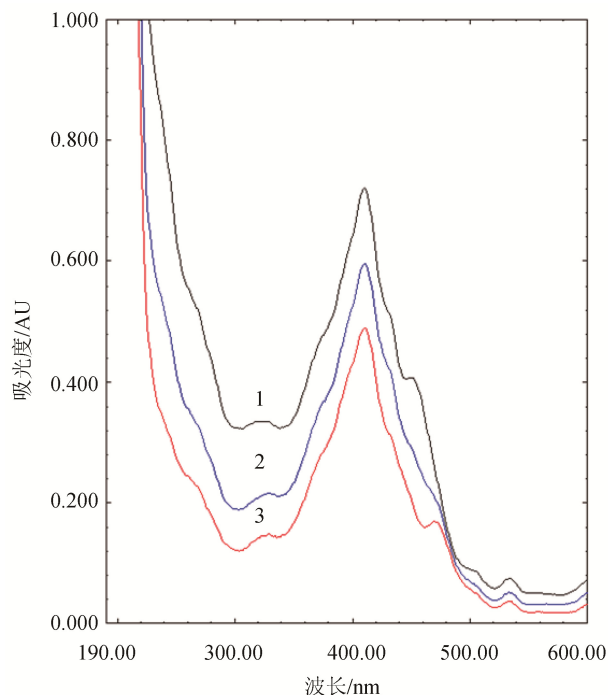
图1 不同提取溶剂对苯丁锡回收率的影响

Fig. 1 Effect of different extraction solvents on the recoveries of fenbutatin oxide

3.1.2 净化材料的选择

分散固相萃取为 QuEChERS 法的主要净化方法,常

用的分散固相萃取的净化材料主要有 N-丙基乙二胺吸附剂(PSA)、十八烷基键合硅胶(C₁₈)和石墨化碳(GCB), 其中 C₁₈ 可去除脂肪和脂类杂质, 黄瓜、番茄等蔬菜类样品中含有机酸及色素类杂质。由于苯丁锡含苯环结构, 虽然 GCB 可有效去除色素和甾醇类等杂质, 但 GCB 会对苯丁锡有吸附作用, 导致回收率降低; PSA 可去除脂肪酸、有机酸、糖及色素等杂质, 故最终选择 PSA 作为本方法分散固相萃取的净化材料。本文对 PSA 用量进行优化, 将 2.3.3 中所得提取液分别用 50、100、200、400、600、900 和 1500 mg PSA 进行净化, 将净化液采用紫外光谱法在 190~600 nm 波长处进行光谱扫描, 比较净化效果。由图 2 可见, 净化液的紫外吸收明显低于提取液, 表明采用 PSA 净化有较好的净化作用; 随着 PSA 净化材料用量的增加, 净化液的紫外吸收逐渐减小, 表明其净化效果也逐渐增加。对上述 6 种不同用量的 PSA 进行加样回收率试验, 比较不同用量的 PSA 对目标分析物的提取效率的影响。由图 3 可见, 随着 PSA 用量的增加, 回收率逐渐降低; 当 PSA 用量为 600 mg, 回收率为 95.5%, 符合检测要求, 故最终确定 PSA 的用量为 600 mg。



1: 提取液(未净化); 2: 净化液(PSA: 50 mg); 3: 净化液(PSA: 600 mg)

图 2 黄瓜提取液经不同用量 PSA 净化后的紫外光谱图
Fig. 2 UV spectrum of extract of cucumber cleaned by different amounts of PSA

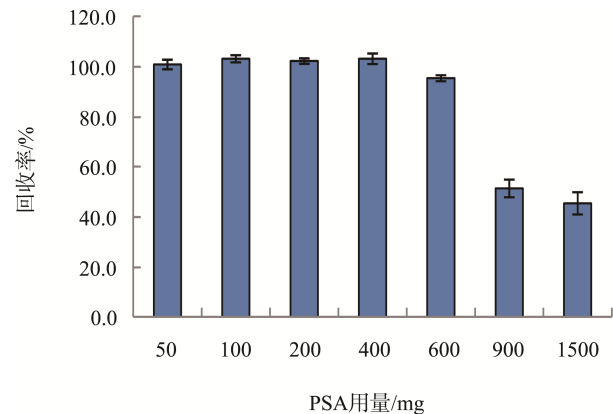


图 3 不同用量 PSA 对苯丁锡回收率的影响
Fig. 3 Effect of different amounts of PSA on recoveries of fenbutatin oxide

3.2 色谱条件优化

3.2.1 流动相的优化

分别考察乙腈-水、乙腈-乙酸、乙腈-磷酸、乙腈-盐酸-氯化钠多组不同的流动相, 结果表明, 除乙腈-0.01 mol/L 盐酸(含 0.6%氯化钠)外, 其余流动相均有不同程度的峰拖尾现象, 具体见图 4; 同时考察不同体积配比的乙腈-0.01 mol/L 盐酸(含 0.6%氯化钠)。结果表明, 流动相为乙腈-0.01 mol/L 盐酸(含 0.6%氯化钠)为 85:15(V:V)时, 目标化合物与杂质峰有较好的分离度。

3.2.2 检测波长的优化

通过对苯丁锡进行紫外扫描, 紫外光谱图如图 5 所示。苯丁锡在 200~220 nm 波长下有较好吸收, 分别试验 200、205、210、215、220 nm 时的目标物的响应和基线噪音, 具体见表 1, 结果表明, 220 nm 时信噪比最高。因此, 采用 220 nm 作为检测波长。

表 1 波长与信噪比					
Table 1 Wavelength and signal-noise ratio					
波长/nm	200	205	210	215	220
信噪比(S/N)	2.2	4.2	15.7	115.3	196.2

3.3 方法的线性范围

取系列标准工作溶液, 各进样 10 μL, 以目标化合物的峰面积对质量浓度(mg/L)进行回归分析计算。结果表明, 苯丁锡在 0.5~50 mg/L 浓度范围内线性关系良好, 回归方程为 $Y=16.76089X+0.955389$, $r=0.9999$ 。

3.4 方法的回收率与精密度

以黄瓜和番茄样品为试验对象, 在低、中、高 3 个添加浓度水平下考察本方法的回收率和精密度, 按照本方法优化好的条件进行提取和测定, 对照品溶液、加标样品及空白样品色谱图见图 6~10, 图谱可见空白样品对苯丁锡的测定无干扰。

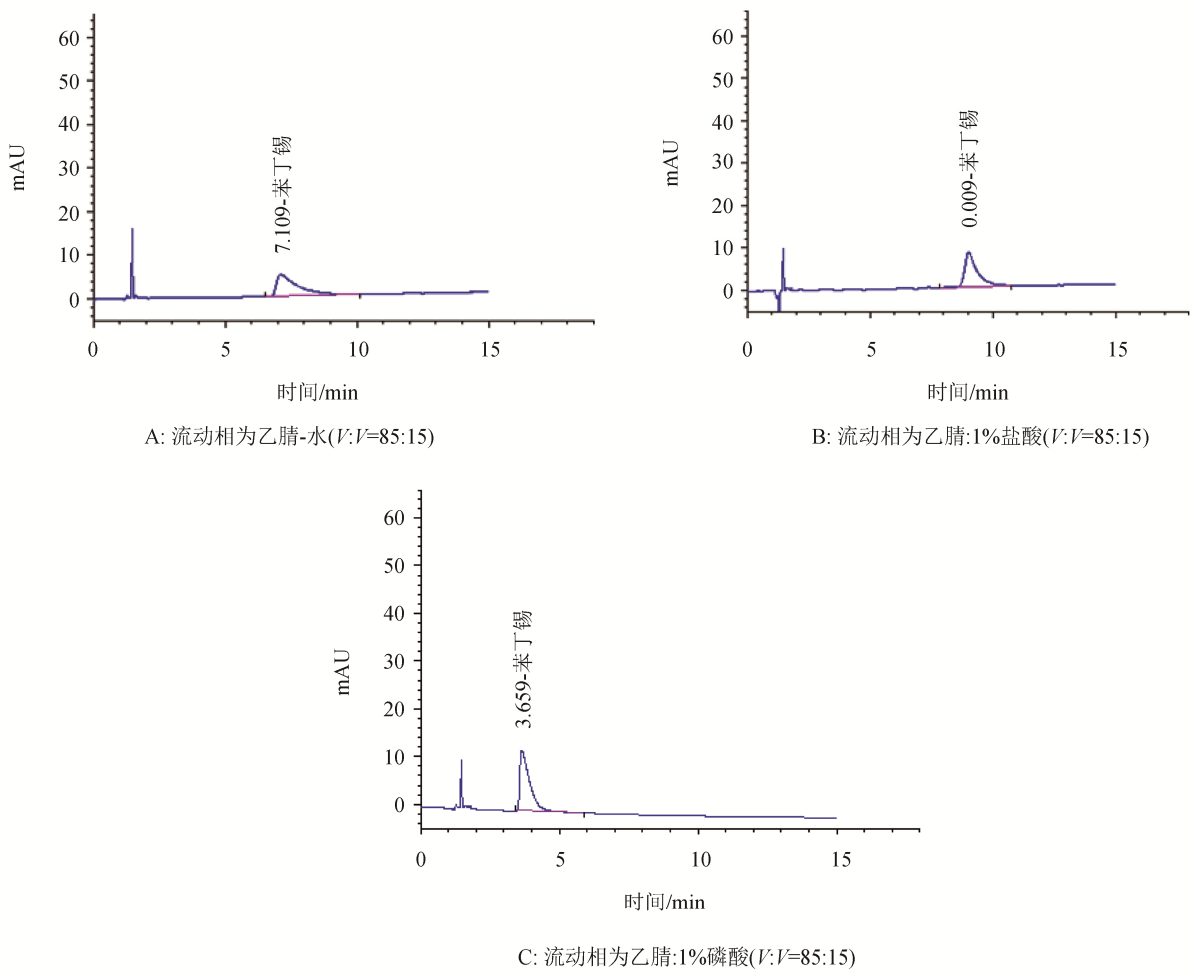


图 4 不同流动相对苯丁锡峰型的影响
Fig. 4 Effect of different mobile phases on peak-shape of fenbutatin oxide

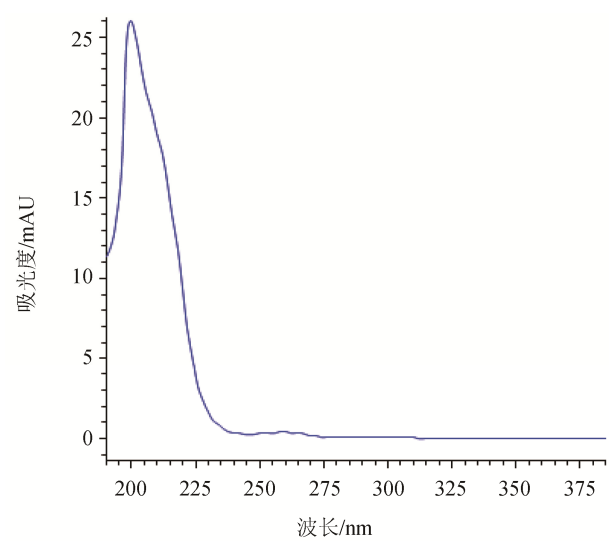


图 5 苯丁锡紫外光谱图
Fig. 5 UV spectrogram of fenbutatin oxide

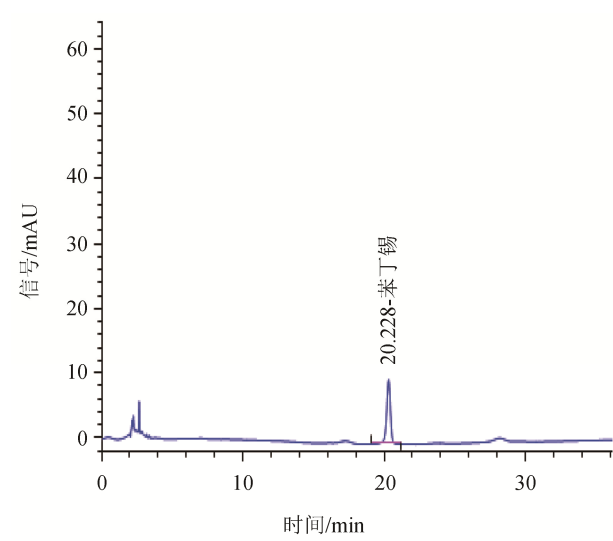


图 6 苯丁锡对照品溶液色谱图(10.0 mg/L)
Fig. 6 Chromatogram of fenbutatin oxide (10.0 mg/L)

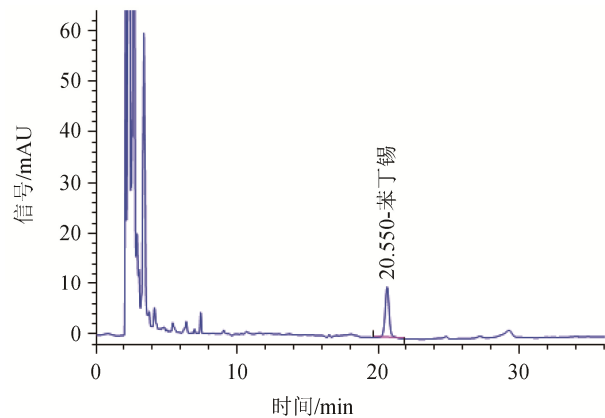


图 7 番茄加标样品溶液色谱图(2.0 mg/kg)
Fig. 7 Chromatogram of potato sample spiked at 2.0 mg/kg

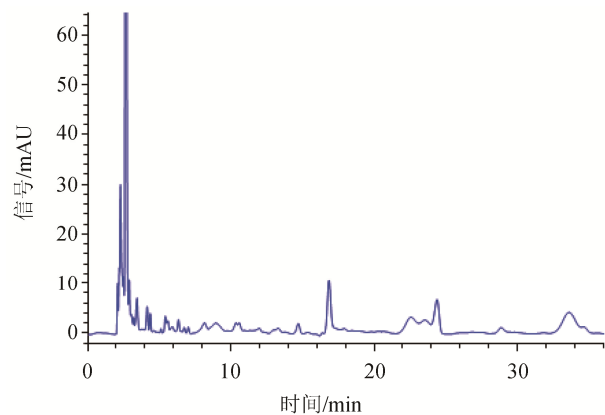


图 10 黄瓜空白样品溶液色谱图
Fig. 10 Chromatogram of cucumber sample

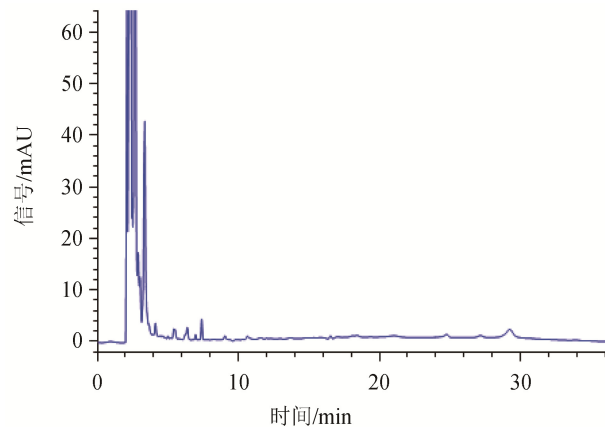


图 8 番茄空白样品溶液色谱图
Fig. 8 Chromatogram of potato sample

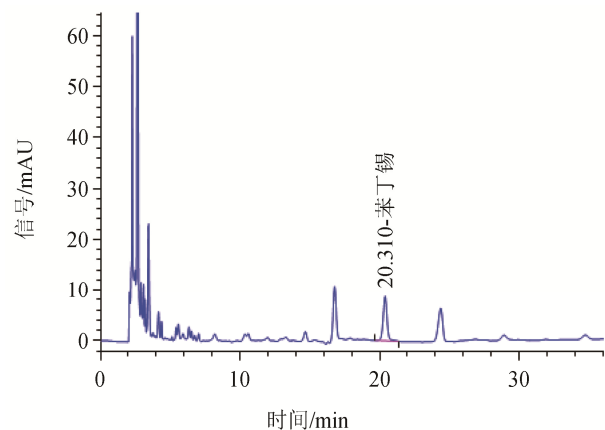


图 9 黄瓜加标样品溶液色谱图(2.0 mg/kg)
Fig. 9 Chromatogram of cucumber sample spiked at 2.0 mg/kg

表 2 黄瓜和番茄中苯丁锡的平均回收率和相对标准偏差(n=6)
Table 2 Average recoveries and relative standard deviations of fenbutatin oxide in cucumbers and tomatoes

样品	添加量(mg/kg)	平均回收率(%)	RSD(%) (n=6)
黄瓜	0.5	97.5	4.7
	2.0	96.0	5.0
	4.0	92.9	0.7
番茄	0.5	98.6	1.4
	2.0	95.0	4.2
	4.0	98.2	1.2

在 0.5、2.0 和 4.0 mg/kg 3 个添加水平下进行加样回收率实验, 每个水平 6 个重复, 目标化合物的平均回收率为 92.9%~98.6%, 相对标准偏差在 0.7%~5.0%之间(n=6), 结果见表 2。该方法有较好的准确度与精密度。

3.5 检出限

以黄瓜和番茄样品为试验对象, 在 0.1 mg/kg 添加浓度水平下考察本方法的检出限, 以目标化合物色谱峰 3 倍信噪比(S/N)确定方法检出限(LOQ), 得黄瓜和番茄的检出限均为 0.05 mg/kg, 满足 GB 2763-2014 对黄瓜及番茄中苯丁锡最大残留量的规定。

4 结 论

本文建立了分散固相萃取-高效液相色谱法测定蔬菜中苯丁锡残留量的新方法。实验表明, 该方法采用分散固相萃取为前处理方法, 相较于其他需衍生后再进行固相萃取净化的前处理方法更为快速、简便、可操作性强。同时本方法的准确度和精密度较高, 线性关系良好, 可用于蔬菜样品中苯丁锡的快速检测。

参考文献

- [1] 刘乾开, 朱国念. 新编农药使用手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000.
- Liu QK, Zhu NG. A new pesticide manual [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 2000.
- [2] GB2763-2014 食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].
- GB2763-2014 National food safety standard-maximum residue limits for pesticides in food [S].
- [3] SN 0592-1996 出口粮谷及油籽中苯丁锡残留量检验方法[S].
- SN 0592-1996 Method for the determination of fenbutatfn oxide residues in cereals and oil seeds for export [S].
- [4] 吴琨, 卢军, 朱亚红, 等. 气相色谱-电子捕获检测器法测定柑桔和土壤中苯丁锡的残留[J]. 农药学报, 2011, 13(5): 503-508.
- Wu M, Lu J, Zhu YH, *et al.* Determination of fenbutatin oxide residue in citrus fruit and soil by gas chromatography with electron capture detector [J]. *Chin J Pest Sci*, 2011, 13(5): 503-508.
- [5] Forsyth DS, Taylor J. Detection of organotin, organomercury, and organolead compounds with a pulsed discharge detector (PDD) [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 374(2): 344-347.
- [6] 刘志杏, 郭平, 王远兴, 等. 气相色谱分析柑橘类水果中残留的苯丁锡[J]. 色谱, 2009, 27(6): 760-763.
- Liu ZX, Guo P, Wang YX, *et al.* Determination of fenbutatin oxide residue in orange products by gas chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2009, 27(6): 760-763.
- [7] Bravo M, Lespes G, Gregori ID, *et al.* Determination of organotin compounds by headspace solid-phase microextraction-gas chromatography-pulsed flame-photometric detection (HS-SPME-GC-PFPD). [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2005, 383(7-8): 1082-1089.
- [8] Wasik A, Ciesielski T. Determination of organotin compounds in biological samples using accelerated solvent extraction, sodium tetraethylborateethylation, and multicapillary gas chromatography-flame photometric detection [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2004, 378(5): 1357-1363.
- [9] 李德良. 气相色谱法测定蔬菜中苯丁锡残留量[J]. 理化检验: 化学分册, 2010, (5): 518-520.
- Li DL. GC determination of residual fenbutatin oxide in vegetable [J]. *Phys Test Chem Anal (Part B)*, 2010, (5): 518-520.
- [10] Montes R, Canosa P, Lamas JP, *et al.* Matrix solid-phase dispersion and solid-phase microextraction applied to study the distribution of fenbutatin oxide in grapes and white wine [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2009, 395(8): 2601-10.
- [11] Campillo N, Viñas P, Peñalver R, *et al.* Solid-phase microextraction followed by gas chromatography for the speciation of organotin compounds in honey and wine samples: A comparison of atomic emission and mass spectrometry detectors [J]. *J Food Comp Anal*, 2012, 25(1): 66-73.
- [12] 李晓玉, 高玉生, 于杰, 等. GC-MS法同时测定粮谷中三环锡和苯丁锡残留量[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(22): 17-20.
- Li XY, Gao YS, Yu J, *et al.* Determination of cyhexatin and fenbutatinpesticide residues in grains by GC-MS [J]. *Food Res Dev*, 2013, 34(22): 17-20.
- [13] Devos C, Moens L, Sandra P. Determination of the acaricidefenbutatin oxide in water samples by automated headspace-SPME-GC/MS [J]. *J Separ Sci*, 2005, 28(7): 665-668.
- [14] Ikonomou MG, Fernandez MP, He T, *et al.* Gas chromatography-high-resolution mass spectrometry based method for the simultaneous determination of nine organotin compounds in water, sediment and tissue [J]. *J Chromatogr A*, 2002, 975(2): 319-333.
- [15] Binato G, Biancotto G, Piro R, *et al.* Atomic absorption spectrometric screening and gas chromatographic-mass spectrometric determination of organotin compounds in marine mussels: an application in samples from the Venetian Lagoon [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1998, 361(4): 333-337.
- [16] Sabrine A, Kaouthar L, Zeineb G. *et al.* Acaricidal activity of 31 essential oils extracted from plants collected in Tunisia [J]. *J Essent Oil Res*, 2012, 24(3): 279-288.
- [17] 王建华, 张慧丽. 四乙基硼化钠衍生-气相色谱-串联质谱法测定畜禽肉中有机锡农药残留[J]. 食品科学, 2016, 37(6): 178-183.
- Wang JH, Zhang HL. Simultaneous determination of organo-tin residues in livestock and poultry meat by GC-MS/MS after sodium tetraethylborate derivatization [J]. *Food Sci*, 2016, 37(6): 178-183.
- [18] 崔宗岩, 孙扬, 葛娜, 等. 格氏试剂衍生-气相色谱-串联质谱法同时测定水果和蔬菜中的三环锡、三苯锡和苯丁锡残留[J]. 色谱, 2014, 32(08): 857-862.
- Cui ZY, Sun Y, Ge N, *et al.* Simultaneous determination of cyheatin, triphenyltin and fenbutatin oxide residues in fruits and vegetables by Grignard derivatization and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2014, 32(08): 857-862.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



李雯婷, 药师, 主要研究方向为中药及食品质量与安全分析检测。
E-mail: liwenting-84@163.com



季 申, 主任药师, 主要研究方向为中药、天然药物及保健食品和有害残留物的质量标准研究。
E-mail: jishen2013@163.com