

气相色谱法测定陈皮中丙溴磷的残留量

韩曦莹*

(成都市食品药品检验研究院, 成都 610045)

摘要: **目的** 建立气相色谱法测定陈皮中丙溴磷残留量的分析方法。**方法** 样品经乙腈提取, 经过滤, QuEChERS 净化, 浓缩后, 用丙酮定容, 采用气相色谱法测定、外标法定量。**结果** 丙溴磷在 0.005 ~ 1.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内线性良好, 相关系数 r^2 达到 0.999; 方法检出限为 0.008 mg/kg ; 平均回收率为 89.9% ~ 110.8%, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 2.2% ~ 3.3% ($n=6$)。**结论** 本方法操作简便、灵敏度高、准确度高, 适用于陈皮中丙溴磷残留量测定。

关键词: 气相色谱法; 陈皮; 丙溴磷; QuEChERS

Determination of profenofos in tangerine peel by gas chromatograph

HAN Xi-Ying*

(Cheng Du Institutes for Food and Drug Control, Cheng Du 610045, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of profenofos in tangerine peel by gas chromatograph. **Methods** The sample was extracted by acetonitrile, filtered, purified by QuEChERS and concentrated, and then fixed volume by acetone, determined by gas chromatography and quantified by external standard method. **Results** The calibration curve showed a good linearity in the range of 0.005–1.000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the correlation coefficient $r^2 > 0.999$. The detection limit for profenofos was 0.008 mg/kg . The average recovery rate of profenofos was 89.9%–110.8%, with relative standard deviation(RSD) 2.2%–3.3% ($n=6$). **Conclusion** This method is simple, sensitive and accurate, which is suitable for the determination of probromophos in tangerine peel.

KEY WORDS: gas chromatography; tangerine peel; profenofos; QuEChERS

1 引言

陈皮, 为芸香科植物橘(*Citrus reticulata* Blanco)及其栽培变种的干燥成熟果皮。药材分为“陈皮”和“广陈皮”。采摘成熟果实, 剥取果皮, 晒干或低温干燥, 其气香, 味辛, 苦^[1]。陈皮的化学成分主要有黄酮类、挥发油类、柠檬苦素类、生物碱类和微量元素(钾、钠、钙、镁、铁、锌)以及营养物质(维生素 B₁、维生素 C、类胡萝卜素、蛋白质)等。陈皮含有黄酮物质, 可抗氧化、清除自由基; 挥发油可镇咳、抗过敏; 柠檬苦素可抗炎、抗癌; 微量元素和营养物质可提高免疫力、抗疲劳等^[2]。此外陈皮可去腥增鲜,

被广泛用于食品的烹饪调味。在卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知(卫法监发〔2002〕51号)中, 将“橘皮”列入既是食品又是药品的物品名单^[3]。

丙溴磷(profenofos), 全称 O-(4-溴-2-氯苯基)-O-乙基-S-丙基-硫代磷酸酯, 淡黄色液体, 沸点 110 $^{\circ}\text{C}$ (0.1333 Pa), 密度 1.455 g/cm^3 (20 $^{\circ}\text{C}$), 是一种不对称有机磷类杀虫剂, 能与大多数有机溶剂互溶。丙溴磷具有触杀和胃毒作用, 常用于防治蔬菜、果树等作物上的害虫和螨类。其高效广谱, 中等毒性, 对鱼、鸟、蜜蜂有毒, 若不幸口服摄入立即发病, 轻中度中毒者出现头痛头昏、恶心呕吐、视力模糊、肌肉震颤、行走不稳等; 重度中毒则昏迷、抽搐、呼吸困

*通讯作者: 韩曦莹, 主管药师, 主要研究方向为食品安全检验检测及药品质量研究。E-mail: 251194958@qq.com

*Corresponding author: HAN Xi-Ying, Pharmacist in Charge, Chengdu Institutes for Food and Drug Control, No.10. 2ND Wuxing Road, Chengdu 610045, China. E-mail: 251194958@qq.com

难、大小便失禁等^[4,5]。据国家市场监督管理总局(原国家食品药品监督管理总局)近 2 年的食品安全抽查数据显示,丙溴磷农药残留被频频检出且超标,有的超标高达 9 倍,且主要为柑橘类水果^[6-9]。陈皮作为柑橘的一部分,为保证其质量,农残(丙溴磷)含量必须控制在标准范围内。

目前农药残留检测方法主要有气相色谱法^[10,11]、液相色谱法^[12]、气相色谱-质谱法^[13,14]、气相色谱-串联质谱法^[15-17]和液相色谱-串联质谱法^[18,19]等,气相色谱-质谱法和气相色谱-串联质谱法虽然能准确定性,但检出限、灵敏度、稳定性以及定量均不够理想。而且气相色谱-质谱法、气相色谱串联质谱法和液相色谱-质谱法对仪器配置要求较高,价格昂贵,基层单位普及率不高。有机磷类农药残留的传统检测方法是气相色谱法,且国家标准中主要也是以气相色谱法为主,如农业部标准 NY/T 761-2008《蔬菜水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》^[20]、GB 23200.116-2019《食品安全国家标准植物源性食品中 90 种有机磷类农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱法》^[21]等。QuEChERS(quick, easy, cheap, effective, rugged and safe)方法具有快速、简便、廉价、高效、耐用和可靠的特点,同时所需溶剂需要量少、污染低。该方法很好地解决了传统前处理方法所存在的操作繁琐、费时费力及污染程度大等问题。同时去除了色素等杂质基质效应,确保最终结果的准确定量。本文采用基于 QuEChERS 方法结合气相色谱法,测定食药两用陈皮中丙溴磷的残留量,为进一步加强市场对陈皮的质量监管提供依据。

2 材料与方 法

2.1 实验材料

2.1.1 样品与试剂

陈皮及新鲜橘皮样品购自成都某药店、某超市等。

乙腈、丙酮、甲醇、乙酸乙酯(色谱纯,美国 Fisher Scientific 公司);氯化钠(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);丙溴磷标准样品溶液(浓度 100 mg/L,农业部环境保护科研监测所);无水硫酸镁(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司);N-丙基乙二胺(primary secondary amine, PSA)、石墨化碳黑(graphitized carbon black, GCB)(上海安谱实验科技股份有限公司)。

2.1.2 仪器与设备

GC-7890B 气相色谱仪、DB-17 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)(美国安捷伦公司);BSA2202S 电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];KQ5200DE 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);HY-5 旋转振荡器(金坛市恒丰仪器厂);TGL-16M 离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);MTN-2800D 干式氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司);R-300 旋转蒸发器(瑞士 BUCHI 公司);

GENIUS3 涡旋混合器(德国 IKA 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液制备

准确吸取丙溴磷标准样品溶液 1.0 mL 于 10 mL 棕色容量瓶中,用丙酮稀释定容至刻度,配制成 10 μg/mL 的标准样品贮备液(与冰箱 4 °C 保存)。精密吸取标准样品贮备液 0、5、10、50、100、500、1000 μL,分别置 10 mL 棕色量瓶中,用阴性样品基质溶液(由阴性新鲜橘皮照 2.2.2 前处理方法得到)稀释至刻度,混匀,配制成浓度为 0.000、0.005、0.010、0.050、0.100、0.500、1.000 μg/mL 的基质标准工作溶液。

2.2.2 样品前处理

(1)采样和试样制备

用四分法分别抽取 20 批陈皮样品各 200 g 低温烘干,粉碎,过二号筛(24 目),混匀,装入自封袋中,避光保存,备用。

(2)提取

分别准确称取 5 g(精确至 0.01 g)经粉碎预处理的陈皮样品于 100 mL 离心管中,加水 20 mL 摇匀后浸泡 30 min,再加入 40 mL 乙腈,摇匀,置于超声仪中超声提取 15 min,加入 5 g 氯化钠,涡旋 3 min,然后以 10000 r/min 离心 5 min,使乙腈相和水相分层。

(3)QuEChERS 净化

精密吸取上层乙腈层 20 mL,加入 1.5 g 无水 MgSO₄、50 mg PSA 和 15 mg GCB,涡旋 1 min,10000 r/min 离心 5 min。

(4)浓缩

精密吸取上清液 10 mL 于 15 mL 刻度离心管中,于 40 °C 氮吹至近干,再用 2 mL 丙酮定容,备用。同时做空白实验。

2.2.3 色谱条件

色谱柱:DB-17 毛细管色谱柱

升温程序:进样口温度 250 °C,检测器温度 250 °C。柱温箱程序升温:初始温度 100 °C,以 20 °C/min 的速度升温至 250 °C,保留 8.5 min;再以 30 °C/min 的速度升温至 280 °C,保留 3 min。氢气 70 mL/min,空气 100 mL/min,载气为高纯氮气 1.7 mL/min,尾吹 30 mL/min。

检测器:火焰光度检测器(带磷滤光片)。

3 结果与分析

3.1 方法的优化

3.1.1 提取方法的优化

考虑到陈皮样品为干性样品,含水量低,有机溶剂不能有效渗入,若直接提取,样品加标回收率较差。故试验选择先添加水浸泡,使样品基质分散,有助于提高回收率。本研究对比了乙酸乙酯、甲醇、乙腈 3 种

提取溶剂, 结果发现用甲醇和乙酸乙酯提取样品时, 样品溶液颜色较深, 且存在少量杂质, 不利于后期净化, 易造成干扰, 而用乙腈提取样品溶液颜色则清澈透明, 说明乙腈对目标物质有较好的渗透性。且参考 NY/T 761-2008《蔬菜水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定》及相关资料, 最终确定选择乙腈作为其提取溶剂。本实验对比了超声提取和旋转震荡提取进行试验, 旋转震荡提取时, 由于样品性质属于粉末, 在震荡过程中易附着于离心管上层管壁处, 从而造成提取损失, 且所需耗时长, 而超声提取更充分, 且耗时短, 超声提取 15 min 的回收率既能够满足实验要求, 最终选定用超声提取 15 min。

3.1.2 除水剂、吸附剂的选择

常规使用的除水剂一般为无水硫酸钠, 而 QuEChERS 方法中使用的是无水硫酸镁, 结合氯化钠的盐析作用, 去除了提取液中的水分和杂质, 使得目标物质在有机相中得到充分的溶解。因此需要考察无水硫酸镁的用量对回收率的影响。当无水硫酸镁的用量在 0.5~1.5 g 时, 丙溴磷回收率呈上升趋势; 当超过 1.5 g 时, 回收率出现下降趋势, 如图 1 所示。所以无水硫酸镁的合理用量为 1.5 g。PSA 和 GCB 作为农药残留分析的吸附剂用于吸附杂质, PSA 能有效去除样品基质中的有机酸、糖类杂质等, GCB 则主要用于去除色素。由于用 PSA 净化后的提取液仍然有少量色素的存在, 于是本方法采取 PSA 和 GCB 合用来达到进一步净化的效果, 以减少对实验结果的干扰。

3.1.3 浓缩方式的选择

本实验对比了 40 °C 氮吹至近干和 40 °C 水浴旋蒸至近干 2 种浓缩方式, 再用丙酮 2 mL 定容, 进行试验, 二者回收率均能够满足实验要求, 但氮吹更适合大批量样品的操作, 故最终选择氮吹的方式。

3.2 方法的线性关系及检出限

精密吸取 2.2.1 中基质标准工作溶液及试剂空白各 1 μL 注入气相色谱仪, 测定峰面积。以浓度($\mu\text{g/mL}$)为横坐标, 以峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线。丙溴磷标准样品

色谱图和标准曲线图如图 2~3 所示。丙溴磷在 0.005~1.000 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围内, 线性回归方程为: $Y = 2020.92043X + 12.74778$, $r^2 = 0.99975$, 方法的线性关系良好。以信噪比(S/N)为 3 计算其检出限, 丙溴磷的方法检出限为 0.008 mg/kg, 方法检出限低。

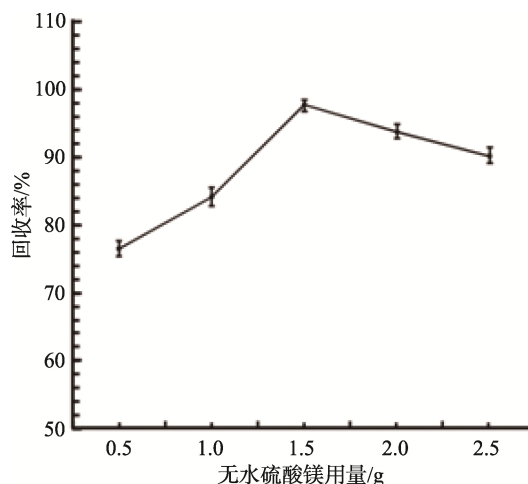


图 1 MgSO_4 用量对加标回收率的影响(加标水平 0.016 mg/kg, $n=3$)
Fig.1 Effect of MgSO_4 dosage on the standard recovery rate (Standard addition level 0.016 mg/kg, $n=3$)

3.3 回收率及精密度实验

以空白陈皮为样品, 在 0.016、0.080 和 0.160 mg/kg 3 个水平下进行加标回收实验, 每个水平重复 6 次。计算得丙溴磷的平均回收率为 89.9%~110.8%, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 2.2%~3.3%, 如表 1 所示。数据表明该方法具有良好的准确度和精密度

3.4 方法的重复性

分别准确称取备用陈皮样品 6 份, 每份各 5.0 g, 按照 2.2.2 样品前处理方法制得 6 份样品溶液, 取续滤液 1 μL 注入气相色谱仪, 记录丙溴磷的峰面积, 计算得 RSD 为 4.2%, 说明重复性良好。

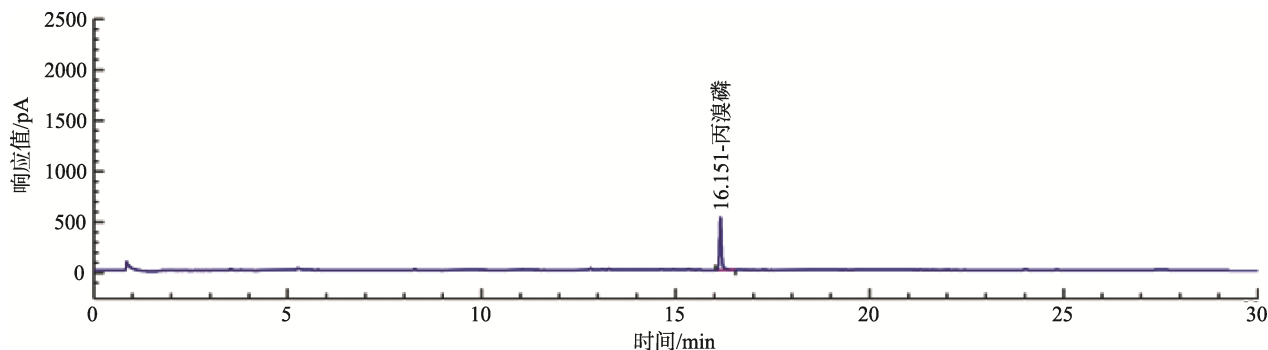


图 2 丙溴磷标准样品溶液色谱图
Fig.2 Chromatogram of profenofos in standard solution

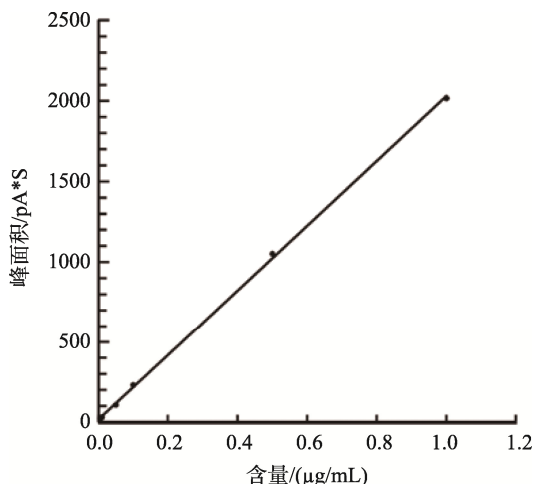


图 3 丙溴磷的标准曲线图
Fig.3 Standard curve of profenofos

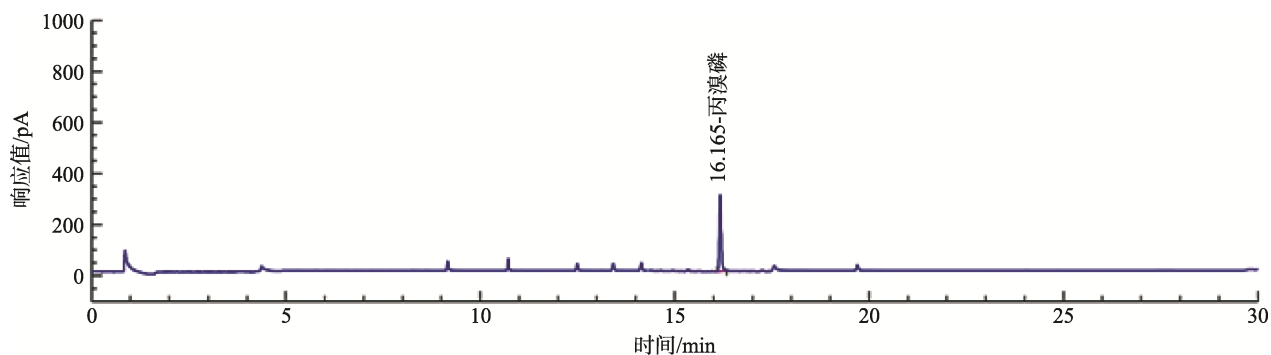


图 4 样品中丙溴磷色谱图
Fig.4 Chromatogram of profenofos in the sample

表 2 20 批陈皮丙溴磷测定结果
Table 2 Determination results of 20 batches of propyl bromide phosphorus of tangerine peel

陈皮来源	抽样批次	检出批次	检出率/%	丙溴磷含量/(mg/kg)
药店	5	0	0	—
超市	6	1	17	0.016
农贸市场	9	3	33	0.023 ~ 1.300

4 结论与讨论

本研究建立了气相色谱法测定食药两用中药材陈皮中丙溴磷的残留量。通过优化提取体系, 有效提高回收率, 且操作简便、灵敏度高、准确度高、线性范围宽, 该方法适用于陈皮中丙溴磷残留量的检测。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
Chinese Pharmacopoeia Commission. First Part of Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science and Technology

表 1 加标回收率和精密度(n=6)

Table 1 standard recovery and precisions(n=6)

	添加水平/(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%
低	0.016	89.9	3.3
中	0.080	103.2	2.2
高	0.160	110.8	3.1

3.5 实际样品测定结果

分别对来自不同超市、农贸市场、药店的 20 批陈皮进行检测, 其中包括了食用和药用 2 类。样品中丙溴磷色谱图如图 4 所示。实测结果显示, 少部分食用陈皮含有丙溴磷, 其含量在 0.016 ~ 1.300 mg/kg 之间, 如表 2 所示。

Press, 2015.

- [2] 宋叶, 梅全喜, 赵志敏, 等. 陈皮的古今临床应用[J]. 时珍国医国药, 2019, 30(7): 1726-1729.
Song Y, Mei QX, Zhao ZM, *et al.* The ancient and modern clinical application of tangerine peel [J]. Lishizhen Med Mater Med Res, 2019, 30(7): 1726-1729.
- [3] 国家卫生部. 卫生部关于进一步规范保健食品原料管理的通知(卫法监发[2002]51号)[Z]. 2002-02-28.
Ministry of Health. Notice of the Ministry of Health on further regulating the management of health food raw materials(Health and law supervision[2002] No. 51) [Z]. 2002-02-28.
- [4] 李亭亭, 王灿楠, 龚玲芬, 等. 有机磷农药膳食累积暴露风险评估的研究进展[J]. 公共卫生与预防医学, 2014, 25(5): 67-69.

- Li TT, Wang CN, Gong LF, *et al.* Advances in the risk assessment of cumulative dietary exposure to organophosphorus pesticides [J]. *J Publ Health Prev Med*, 2014, 25(5): 67–69.
- [5] 侯志伟, 林国建, 卢敏聪, 等. 一起由蔬菜残留丙溴磷引起的食物中毒调查[J]. *中国农村卫生事业管理*, 2017, 37(9): 1062–1063.
- Hou ZW, Lin GJ, Lu MC, *et al.* An investigation of food poisoning caused by residual propidium bromide and phosphorus in vegetables [J]. *Chin Rural Health Serv Admin*, 2017, 37(9): 1062–1063.
- [6] 吕冰峰, 刘敏, 裴新荣. 2018 年水果国家食品安全监督抽检结果分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(17): 5687–5692.
- Lv BF, Liu M, Pei XR. Analysis of sampling inspection results of fruit national food safety supervision in 2018 [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(17): 5687–5692.
- [7] 刘刚. 应高度重视丙溴磷在我国柑橘中的残留问题[J]. *农药市场信息*, 2019, (12): 37–39.
- Liu G. We should attach great importance to the residue of propidium bromide in Chinese citrus [J]. *Pestic Market News*, 2019, (12): 37–39.
- [8] 李慧君, 张文生, 吴洁珊, 等. 中药材农药残留研究现状[J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(1): 48–52.
- Li HJ, Zhang WS, Wu JS, *et al.* Research progress of pesticide residues in traditional Chinese medicines [J]. *China J Chin Mate Med*, 2019, 44(1): 48–52.
- [9] 佚名. 市场监管总局关于 9 批次食品不合格情况的通告[J]. *中国品牌*, 2018, (8): 23–25.
- Anonymous. State administration for market regulation on the unqualified situation of 9 batches of food [J]. *China Brand*, 2018, (8): 23–25.
- [10] 党富民, 向晓黎, 罗瑞峰, 等. 气相色谱法快速测定有机磷农药方法的研究[J]. *食品工业*, 2017, 38(10): 301–304.
- Dang FM, Xiang XL, Luo RF, *et al.* Determination of organophosphorus pesticides with gas chromatography [J]. *Food Ind*, 2017, 38(10): 301–304.
- [11] 王驰, 王冠. 气相色谱法快速测定蔬菜、水果中有机磷农药残留[J]. *化学工程师*, 2019, 33(9): 34–36, 27.
- Wang C, Wang G. Determination of organophosphorus pesticide residues in vegetables and fruits by gas chromatography [J]. *Chem Eng*, 2019, 33(9): 34–36, 27.
- [12] 马先发. 固相萃取-液相色谱法测定水中毒死蜱等三种有机磷农药残留[J]. *安徽化工*, 2019, 45(3): 117–119.
- Ma XF. Solid phase extraction-determination by high performance liquid chromatography residues of chlorpyrifos and other organophosphorus pesticides in water [J]. *Anhui Chem Ind*, 2019, 45(3): 117–119.
- [13] 谭珊, 蔡小钦, 李红丽, 等. 气相色谱质谱检测食品中有机磷农药残留分析[J]. *生物化工*, 2019, 5(2): 91–92.
- Tan S, Cai XQ, Li HL, *et al.* Determination of organophosphorus pesticide residues in food by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Biol Chem Ind*, 2019, 5(2): 91–92.
- [14] 郭阳, 郭艳琼, 王建军, 等. 固相萃取-气相色谱-质谱法同时测定甜瓜中 11 种有机磷农药残留量[J]. *中国瓜菜*, 2019, 32(8): 124–128.
- Wu Y, Guo YQ, Wang JJ, *et al.* Simultaneous determination of 11 organophosphorus pesticide residues in muskmelon by GC-MS with solid-phase extraction [J]. *China Cucurbit Veget*, 2019, 32(8): 124–128.
- [15] 房宁, 李倩, 王海云, 等. 气相色谱-串联质谱法测定植物性食品中 50 种农药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(13): 4394–4400.
- Fang N, Li Q, Wang HY, *et al.* Determination of 50 kinds of pesticide residues in plant foods by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(13): 4394–4400.
- [16] 王建国, 李鹏高. 气相色谱-串联质谱法同时检测代用茶中的 16 种农药残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2019, 10(11): 3452–3458.
- Wang JG, Li PG. Simultaneous determination of 16 kinds of pesticide residues in substitutional tea by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *J Food Saf Qual*, 2019, 10(11): 3452–3458.
- [17] 范广宇, 孟祥龙, 姚燕林, 等. 气相色谱-串联质谱法同时测定花生中 97 种农药[J]. *粮食与油脂*, 2019, 32(6): 70–74.
- Fan GY, Meng XL, Yao YL, *et al.* Simultaneous determination of 97 kinds of agrochemicals residues in peanut by gas chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Cere Oils*, 2019, 32(6): 70–74.
- [18] 朱光艳, 孙丰收, 崔凯, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定果蔬汁中 9 种农药残留[J]. *农药科学与管理*, 2019, 40(2): 28–33.
- Zhu GY, Sun FS, Cui K, *et al.* Determination of 9 pesticide residues in fruit and vegetable juice by LC-MS/MS [J]. *Pestic Sci Admin*, 2019, 40(2): 28–33.
- [19] 俞寅, 蒋梅峰, 马宏伟. 高效液相色谱-串联质谱法测定小麦中 11 种有机磷农药残留[J]. *粮食科技与经济*, 2018, 43(5): 58–61.
- Yu Y, Jiang MF, Ma HW. Determination of 11 organophosphorus pesticides in wheat by HPLC-MS/MS [J]. *Grain Sci Technol Econ*, 2018, 43(5): 58–61.
- [20] NY/T 761-2008 蔬菜水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].
- NY/T 761-2008 Determination of organophosphorus, organochlorine, pyrethroid and carbamate pesticide residues in vegetables and fruits [S].
- [21] GB 23200.116-2019 食品安全国家标准 植物源性食品中 90 种有机磷类农药及其代谢物残留量的测定 气相色谱法[S].
- GB 23200.116-2019 National food safety standard-Determination of 90 organophosphorus pesticides and their metabolites residues in plant derived foods-Gas chromatography [S].

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介

韩曦莹, 主管药师, 主要研究方向为
食品安全检验检测及药品质量研究。
E-mail: 251194958@qq.com