

高效液相色谱法测定蔬菜和粮食中的烯虫酯*

徐爱平 王富华 杜应琼 邓义才

[农业部蔬菜水果质量监督检验测试中心(广州),广东省农业科学院蔬菜研究所,广州 510640]

摘要 建立了一种测定烯虫酯的反相高效液相色谱紫外法。样品中的烯虫酯用石油醚提取, C₁₈ ODS 柱净化, 以 82.5% 甲醇为流动相洗脱, Phenomenex C₁₈ (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 柱分离, 用紫外检测器 (λ_{em} = 260 nm) 测定。研究表明, 烯虫酯含量在 0.10 ~ 50.0 μg/mL 范围内, 峰面积与待测物的质量浓度呈良好的线性关系, 相关系数为 0.998, 测量结果的相对标准偏差小于 4.36% (n = 5), 回收率为 83.5% ~ 102.2%。

关键词 粮食 蔬菜 烯虫酯 高效液相色谱

烯虫酯 (methoprene) 的化学名称是 (R, S)-(2E, 4E)-3, 7, 11-三甲基-11-甲氧基十二碳-2, 4-二烯酸异丙酯, 属保幼激素类昆虫生长调节剂, 主要用于粮贮、烟贮、蔬菜害虫的防治以及畜牧、公共卫生、家庭害虫、寄生虫等的防治。它主要通过干扰昆虫的正常生长发育, 抑制成虫产卵来降低昆虫的危害, 过量地使用会影响人们身体健康和环境生态平衡^[1]。

日本、欧盟等国和国际组织对蔬菜和粮食中烯虫酯残留量最大限量有明确规定, 但我国还没有相应的烯虫酯检验方法和限量标准。为了保护环境, 提高产品的国际竞争力, 有必要研究相应的检验方法和制定限量标准。目前烯虫酯的检测主要采用气相色谱法^[2], 检测范围限制在烟叶和粮食, 测定时用 FID 检测器, 由于内含物干扰大, 测定结果的准确度和灵敏度较差。用液相法定性定量测定烯虫酯的研究较少^[3], 国内未见用液相色谱法测定蔬菜和粮食中烯虫酯的报道。

笔者根据粮食和蔬菜的特点, 研究了烯虫酯的高效液相色谱检验方法, 样品中的烯虫酯用石油醚提取, C₁₈ ODS 柱净化, 过 0.25 μm 滤膜, HPLC (UVD) 测定。该法简便、快速, 各项技术指标均能满足检测要求。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

高效液相色谱仪: Agilent 1100 型, 带紫外检测器, 美国安捷伦公司;

紫外分光光度计: UV-2501 型, 日本岛津公司;

高速组织粉碎机: IKA T18 basic 型, 德国 IKA 公司;

烯虫酯标准物质: 纯度 99.9%, 美国 Sigma 公

司, 用甲醇配成 100 μg/mL 的标准储备液, 再根据需要稀释成相应浓度的标准工作液;

石油醚(Ⅱ): 分析纯;

甲醇: 色谱纯;

C₁₈ ODS 萃取小柱: 500 mg, 北京八方公司, 使用前用 2.50 mL 石油醚进行活化处理;

实验用水为超纯水。

1.2 色谱条件

色谱柱: Phenomenex (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm); 流动相: 甲醇 + 水 (体积比为 82.5:17.5); 洗脱时间: 20 min; 流速: 0.80 mL/min; 检测器: 紫外检测器, 检测波长 260 nm。

1.3 样品前处理

(1) 样品处理

粮食用粉碎机粉碎, 蔬菜用组织捣碎机捣碎, 储藏在塑料瓶中, 于 4℃ 冰箱保存。

(2) 样品提取

称取样品 50.00 g, 置于 150 mL 三角瓶中, 加入 50.0 mL 石油醚, 用高速组织粉碎机以 10 000 r/min 粉碎 2 min, 盖盖后静置 30 min。如果样品成悬浊液则马上移入离心管, 以 4 000 r/min 离心 7 min。样品处理过程中应尽量使用避光器皿。

(3) 样品净化

取 1.3.2 中的上清液 10.0 mL, 温度控制在 50 ~ 60℃ 时吹氮浓缩至 2 mL, 然后倒入 C₁₈ ODS 萃取小柱, 用 8.0 mL 石油醚分 4 次洗涤, 当样品溶液全部进入填料时, 加入石油醚洗涤液洗脱, 调节流速约 2 mL/min, 洗脱液用 10 mL 比色管收集, 最后用石油醚定容至 10.0 mL, 过 0.25 μm 滤膜, 待上机测试。

* 广东省重大科技专项资助项目 (2006B36301002)

收稿日期: 2008-10-24

2 结果与讨论

2.1 提取试剂的选择

烯虫酯属酯类物质,易溶于有机溶剂,对于含水量较低的粮食样品,甲醇、石油醚、乙酸乙酯和乙腈等溶剂都能很好地提取样品中的烯虫酯。对于含水量高的蔬菜样品,用乙腈和甲醇提取时,烯虫酯回收率偏低且干扰严重,主要是乙腈和甲醇沸点高,吹氮浓缩时,部分烯虫酯被蒸出,另一方面,样品中的色素被提取,对烯虫酯检测时带来干扰,因此很难获得好的回收率和分辨率;当用乙酸乙酯提取时产生分层,烯虫酯在水和乙酸乙酯的分配系数之比为9.8%,因此结果偏低;用石油醚(Ⅱ)提取,样品中的叶绿素提取较少,干扰因素大大降低,不同有机溶剂提取结果表明,用石油醚(Ⅱ)提取效果最好。

2.2 固相萃取柱的选择

蔬菜和粮食中的烯虫酯残留经石油醚提取后直接测定,内含物干扰严重,因此必须进行净化。试验选用 C_{18} ODS、氟罗里硅土、氨基柱、Waters WCX Cartridge 和 Waters Sep-Pak Vac 等5种固相萃取小柱对提取液净化,用石油醚洗脱,这5种小柱对样液中的油脂和蛋白质有很好的去除作用,但对色素的作用差别较大,烯虫酯的回收率分别为102%、5.32%、63.4%、58.5%、和97.4%,因此 C_{18} ODS固相萃取小柱和 Waters Sep-Pak Vac 固相萃取小柱在回收率方面符合净化要求。将两者净化液上机,发现 C_{18} ODS固相萃取小柱净化能力更强,能较好地吸附色素,且 C_{18} ODS固相萃取小柱较便宜,所以选用 C_{18} ODS固相萃取小柱对样液进行净化。

2.3 检测波长的选择

用紫外分光光度计对 $10 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的烯虫酯在紫外区(200~400 nm)进行扫描,在250~300 nm间烯虫酯有一明显的吸收峰,当 $\lambda = 260 \text{ nm}$ 时,烯虫酯的吸收值最大,因此用液相色谱分析烯虫酯时选择260 nm的吸收波长。烯虫酯紫外图谱见图1。

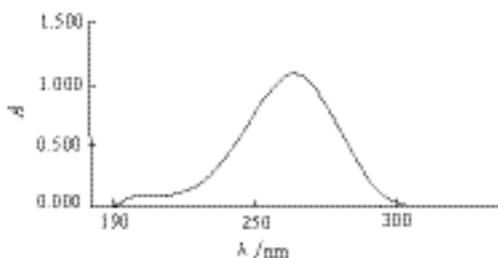


图1 烯虫酯的紫外吸收光谱图

2.4 色谱柱的选择

试验中选用 Zobax C_{18} (150 mm × 4.6 mm i. d.,

5 μm)、Zobax C_{18} (250 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm)、Phenomenex C_{18} (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 和 Xterra RP₁₈ (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 4种色谱柱,其中 Zobax C_{18} (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 和 Phenomenex C_{18} (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 分离的效果好且时间短,都可用作烯虫酯的分析柱,Phenomenex C_{18} (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 分离效果见图2。

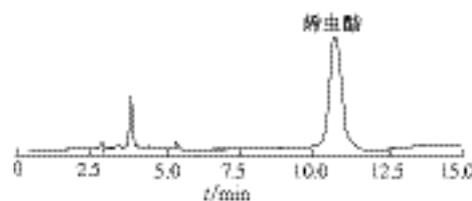


图2 烯虫酯(1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$)标准溶液色谱图

2.5 流动相的选择

烯虫酯属保幼激素类昆虫生长调节剂,弱极性,用有机溶剂如甲醇和乙腈洗脱出峰早且受内含物干扰严重,而用超纯水和其它极性溶剂进行洗脱则不易被洗脱出来。笔者使用甲醇和水,采用5个不同比例进行洗脱试验,甲醇和水的比例分别为95:5、90:10、85:15、82.5:17.5和80:20。结果表明,甲醇和水的比例为82.5:17.5时,所测试样品的内含物和目标检测物能很好地分离。

2.6 线性范围和检出限

烯虫酯的质量浓度在0.10~50.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 之间,样品浓度 c 与峰面积 A 呈线性关系,线性方程为 $A = 96.2c - 0.769$,相关系数为0.998,检出限($S/N = 3$)为0.05 mg/kg 。

2.7 回收试验和精密度试验

选用不含烯虫酯的小麦、黄瓜和菜心进行3个水平的添加回收试验,每个添加水平取5个平行样,方法的回收率与精密度试验数据见表1。

表1 烯虫酯的精密度和回收试验结果($n = 5$)

样品	添加量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	测定值/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率/%	RSD/%
小麦	0.50	0.452	90.4	3.36
	1.00	0.974	97.4	0.89
	5.00	4.967	99.3	1.36
黄瓜	0.50	0.463	92.6	2.56
	1.00	0.926	92.6	3.45
	5.00	4.263	85.3	0.98
菜心	0.50	0.432	86.4	3.25
	1.00	0.858	85.8	2.27
	5.00	4.327	86.5	1.63

此外,为了研究方法的普遍性,同时做了大米、

小米、玉米、白菜和番茄中烯虫酯的添加回收试验,当添加量为 1.00 mg/kg 时,回收率在 83.5% ~ 102.2% 之间,测定结果的相对标准偏差小于 4.36%。结果显示,烯虫酯的回收率和相对标准偏差均满足检测要求。

3 结语

通过石油醚提取, C₁₈ ODS 萃取小柱净化,采用水和甲醇为流动相洗脱, Phenomenex (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) 分离和 HPLC (UVDλ_{em} = 260 nm)

测定,建立了蔬菜和粮食中烯虫酯的分析方法。该方法操作简便、重复性好,灵敏度高,可以用于蔬菜和粮食中烯虫酯的分析。

参考文献

- [1] 赵善欢. 植物化学保护[M]. 第2版. 北京:中国农业出版社, 2000:191-197.
- [2] 全国农药残留试验协作组. 农药残留实用检测方法手册(第2卷)[M]. 北京:化学工业出版社, 2001(2):167-169.
- [3] 徐爱平,杜应琼,邓义才,等. 高效液相色谱法测定烟草中的烯虫酯[J]. 广东农业科学, 2006(1):83-84.

DETERMINATION OF METHOPRENE IN VEGETABLES AND CORN BY HPLC

Xu Aiping, Wang Fuhua, Du Yingqiong, Deng Yicai

(Supervision and Testing Centre for Vegetable and Fruit Quality, Ministry of Agriculture;

Vegetable Research Institute of Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

ABSTRACT A method for the determination of methoprene in vegetables and corn by high performance liquid chromatography (HPLC) was established. Methoprene was detected by HPLC with UVD detection (λ_{em} = 260 nm) after extracted with petroleum ether. Chromatographic separation was carried out on the Phenomenex C₁₈ (150 mm × 4.6 mm i. d., 5 μm) column with a mobile phase consisting of methanol and water. A good linear relationship between peak area and concentration of methoprene existed in the range of 0.10 - 50.0 μg/mL with r = 0.998. The recovery was in the range from 83.5% to 102.2%, and the relative standard deviations were no more than 4.36%. The method can be applied to the determination of methoprene.

KEYWORDS corn, vegetable, methoprene, HPLC

从肉制品添加剂浅谈 GB 2760 - 2007 的合理性变化

备受社会关注的新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 经卫生部和国家标准化委员会批准,已经在 2008 年 3 月 25 日正式颁布,从 2008 年 6 月 1 日正式实施至今已有 2 个多月了,对新版的 GB 2760 - 2007 的使用也从茫然到逐渐熟悉,对新版的 GB 2760 - 2007 的合理性变化也渐渐明晰。

新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 与《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 1996 等版本相比较有这许多前所未有的进步和完善,具体表现有以下几个方面。

(1) 新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 增加了食品添加剂的使则。

新版标准规定了使用食品添加剂应该遵循安全健康理念,不以掩盖腐败、参杂、使假为目的,尽量少用或不用的科学原则,将添加剂的危害控制到最低。

新版标准规定使用食品添加剂时应遵循的几个最大原则是:不应对人体产生任何健康危害;不应掩盖食品腐败变质;不应掩盖食品本身或加工过程中的质量缺陷或以参杂、掺假、伪造为目的而使用食品添加剂。

(2) 新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 新增了添加剂质量要求的规定

按照新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 使用的食品添加剂应当符合相应的质量标准。质量标准概念的引入是对食品添加剂使用原则的规范,改变了原来只在

食品添加剂概念上的定义,增加了具体食品添加剂的唯一性的认定依据,确保使用者少打擦边球,监督者有法可依,便于监督。

新标准对食品添加剂的生产、使用有了明确的质量要求规定,规范了食品添加剂的使用必须有质量检验依据,改变了过去食品添加剂有规定使用量,无检测控制方法的局面,在食品添加剂的使用中注重食品添加剂的质量控制,使食品添加剂的安全合理使用从源头抓起。

(3) 新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 增加了食品分类。新增的食品分类在方便查找的同时,也细化了各种食品在添加剂使用上的细微差别,为真正做到尽量少用、安全使用食品添加剂提供更为科学合理的依据。

(4) 新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 在使用原则中增加了“带入原则”

(5) 新版《食品添加剂使用卫生标准》GB 2760 - 2007 增加了可在各类食品中按生产需要适量使用的添加剂名单,以及适量使用的添加剂所例外的食品类别名单。(志)

“吉林中药化学与质谱重点实验室”通过省级验收

日前,以中国科学院长春应用化学研究所为依托单位的“吉林省中药化学与质谱重点实验室”,通过省级重点实验室验收,标志着该所在实验室建设方面又获得了新的进展。该实验室主要研究领域为中药化学及质谱方法学,重点针对中药现代化过程中急需解决的中药标准化及相关中医药基础理论展开研究。(志)