

食品中高效氯氟氰菊酯的液相色谱快速检测方法

郑玲玲, 牟海津*, 江晓路

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘 要: 采用高效液相色谱对饮用水、青菜两种典型食品中高效氯氟氰菊酯的定量检测。研究表明, 采用丙酮-正己烷提取饮用水中高效氯氟氰菊酯、利用丙酮-石油醚提取青菜中高效氯氟氰菊酯效果较好, 液相色谱检测时以乙腈-水(80:20, V/V)作为流动相, 230nm 条件下检测峰型较好, 在农药浓度为 $0.1 \times 10^{-6} \sim 10 \times 10^{-6}$ 时, 两组萃取剂的回收率分别为 97.93% ~ 103.02% 和 91.4% ~ 113.9%, 相对标准偏差均小于 4%。该方法操作简单、快速, 能够在食品安全检测中发挥一定的积极作用。

关键词: 液相色谱; 食品; 高效氯氟氰菊酯; 快速检测

Rapid HPLC Determination of Lambda-Cyhalothrin Residue in Foods

ZHENG Ling-ling, MOU Hai-jin*, JIANG Xiao-lu

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract : A HPLC method was developed for the analysis of lambda-cyhalothrin residue in drinking water (from polluted rivers) and Brassica chinensis leaves. The analysis was performed on a SB-C₁₈ column using acetonitrile-water (80:20, V/V) as a mobile phase at the flow rate of 1.25 ml/min and detection wavelength was set as 230 nm. Compared to other solvents, acetone-n-hexane (1:1, V/V) mixture exhibited the highest extraction efficiency to lambda-cyhalothrin (the highest recovery) from drinking water. Acetone-petroleum ether (1:1, V/V) mixture led to the highest recovery for lambda-cyhalothrin from ground Brassica chinensis leaves, and vortex-mixing extraction was adopted due to the highest the highest recovery for lambda-cyhalothrin as well as its time-saving contribution. The recoveries for lambda-cyhalothrin in drinking water and ground Brassica chinensis leaves spiked at three levels were in the ranges of 97.93% - 103.02% and 91.4% - 113.9%, respectively, and the RSDs were less than 4%. This method is proved to be easily performed and time saving (within 30 min) and can be applied in the food safety detection.

Key words : HPLC ; food ; lambda-cyhalothrin ; rapid determination

中图分类号: TS207

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)12-0222-04

随着现代农业的发展, 杀虫剂的作用越来越明显, 其种类及用量不断增加。自上世纪七十年代以来, 拟除虫菊酯类农药作为有机磷替代杀虫剂目前使用量已占总杀虫剂用量的三分之一^[1], 在农作物、蔬菜及水产养殖中发挥了重要作用, 但同时也给食品及环境安全造成了一定的影响^[2]。高效氯氟氰菊酯(lambda-cyhalothrin)又名三氟氯菊酯或称功夫菊酯, 以触杀和胃毒作用为主, 无内吸和重蒸作用, 杀虫谱广, 活性高、药效迅速、持效期长、对半翅目、鳞翅目等多种害虫有效, 对螨类有一定的抑制^[3]。在农业上常作为蔬菜、果菜、

稻田等的除虫剂使用; 在渔业养殖中常用于清塘剂毒杀杂鱼及有害生物^[4]。农药施用后随雨水冲刷等途径而进入河流、湖泊和海洋, 会造成水体农药污染^[5]。由于高效氯氟氰菊酯是一类亲脂性很强的化合物, 甚至在水中较低浓度时, 也可被鱼鳞强烈吸收, 所以对鱼类及水生生物有剧毒。国标中对其在食品中的限量作了明确规定: 叶菜中高效氯氟氰菊酯最大残留限量为 0.2mg/kg, 每日允许摄入量(ADI)限制为 0.002mg/kg 体重^[6]。

本研究以饮用水和青菜作为研究对象, 拟建立在实验室条件下对这两种食品中高效氯氟氰菊酯进行快速定

收稿日期: 2008-10-03

基金项目: 山东省科技攻关计划项目(2008GG1006022)

作者简介: 郑玲玲(1983-), 女, 硕士研究生, 研究方向为应用微生物学。E-mail: zll172x@163.com

* 通讯作者: 牟海津(1973-), 男, 副教授, 博士, 研究方向为应用微生物学。E-mail: mousun@ouc.edu.cn

量分析的方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜小油菜 市购；饮用水为实验室自采水，经室温放置过夜后用于实验。

甲醇、乙腈、正己烷、乙酸乙酯、石油醚、二氯甲烷(色谱纯) 美国 fisher 公司；氯氟氰菊酯标准品 Sigma 公司；重蒸丙酮(分析纯)、超纯水、无水 Na_2SO_4 (分析纯)。

高效氯氟氰菊酯标准储备液的配制：将高效氯氟氰菊酯标准品用甲醇配制成标准储备液，置于 -20℃ 冰箱，待检测时根据需要用甲醇进行稀释。

1.2 仪器与设备

氮气吹干仪；UV757 紫外可见分光光度计；Agilent 1100 高效液相色谱仪(自动进样系统)；二极管阵列检测器；TGL-16G 台式离心机 上海安亭科学仪器厂；H-1 微型漩涡混合器 上海精科实业有限公司；BS1100S 型分析天平(十万分之一) 德国 Sartorius 公司；JY12001 电子天平 上海精密科学仪器有限公司；超纯水机(0.22 μm) Millipore 公司；Appendorf 移液枪(1~100 μl 、20~200 μl 和 200~1000 μl)。

1.3 方法

1.3.1 高效氯氟氰菊酯标准曲线的制作

准确吸取一定体积的高效氯氟氰菊酯标准储备液于 10ml 容量瓶中，并用甲醇定容至 10ml，再经依次梯度稀释后获得浓度为 1000、100、10、1、0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 共五个浓度的标准溶液，待上机分析。

1.3.2 样品前处理

1.3.2.1 饮用水样品前处理

取 1ml 含一定量高效氯氟氰菊酯的饮用水样品置于 10ml 具塞试管，加入正己烷-丙酮(1:1, V/V) 2ml，涡旋混合器充分混匀(约 30s)后静置使之分层，取出正己烷相置于 10ml 玻璃管中，重复操作三次，合并正己烷相，氮气吹干后，加入 1ml 甲醇充分溶解，后转移至 1.5ml 离心管，以 16000r/min 高速离心两次，每次 5min，取上清液上机分析。

1.3.2.2 小油菜样品前处理

首先将菜用研钵捣碎成菜糜，取 1g 含一定量高效氯氟氰菊酯的菜糜样品置于 10ml 具塞试管，加入石油醚-丙酮(1:1, V/V) 2ml，涡旋混合器充分混匀(约 30s)后静置使之分层，取出石油醚相置于 10ml 玻璃管中，重复操作三次，合并石油醚相，氮气吹干后，加入 1ml 甲醇充分溶解，后转移至 1.5ml 离心管，以 16000r/min 高速离心两次，每次 5min，取上清液上机分析。

1.3.3 高效液相色谱检测条件

高效氯氟氰菊酯检测条件：SB-C₁₈ 色谱柱；流动相：乙腈-超纯水(80:20, V/V)；柱温：25℃；紫外检测波长：230nm；流速：1.25ml/min；进液量：10 μl 。在此条件下，高效氯氟氰菊酯的出峰时间约为 10.5min 左右。在上述检测条件下，高效氯氟氰菊酯标准的色谱图如图 1 所示。

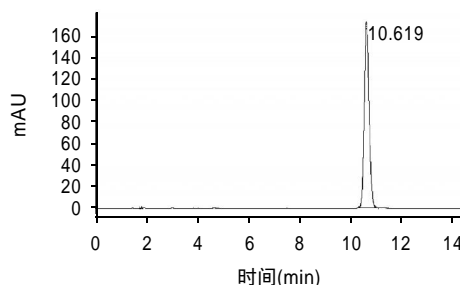


图1 高效氯氟氰菊酯标准品色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of standard lambda-cyhalothrin

1.4 计算

将测得的两针试样溶液以及试样前后两针标样溶液中高效氯氟氰菊酯分别进行平均。高效氯氟氰菊酯质量分数 $X_1(\%)$ ，按下式计算：

$$X_1(\%) = \frac{A_2 m_1 P}{A_1 m_2} \times 100$$

式中： m_1 为标样溶液中高效氯氟氰菊酯的质量(g)； m_2 为试样中高效氯氟氰菊酯的质量(g)； A_1 为标样溶液中高效氯氟氰菊酯峰面积的平均值； A_2 为样品溶液中高效氯氟氰菊酯峰面积的平均值； P 为高效氯氟氰菊酯标样的质量分数。

2 结果与分析

2.1 液相色谱紫外吸收波长的选择

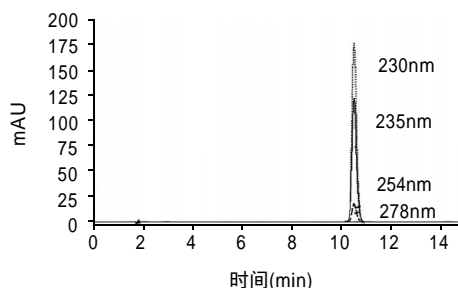


图2 高效氯氟氰菊酯检测波长的比较

Fig.2 UV spectra of lambda-cyhalothrin

对高效氯氟氰菊酯乙腈溶液进行了紫外扫描(200~340nm)，经扫描发现高效氯氟氰菊酯乙腈溶液的最大吸收波长 215nm，特征波长 278nm；当选用 215nm 作为检

测波长时, 虽响应值较高, 但基线不稳, 所以排除其作为检测波长。参考已有文献^[3,7-9]报道的高效氯氟氰菊酯的检测波长, 本实验分别选择在 230、235、254、278nm 用同一样品进行实验, 结果显示波长 230nm 时的响应值最大, 基线平稳, 如图 2。最终确定检测波长选定 230nm。

2.2 流动相的选择

分别选择乙腈 - 水(90:10、80:20、75:25、70:30、60:40, V/V), 乙腈 - 磷酸(3%), 乙腈 - 甲酸(8%)作为流动相, 结果是乙腈 - 水(80:20)峰型对称, 基线平稳, 且保留时间较短, 当流动相流速为 1ml/min 时, 约 12.18min 出峰, 流速 1.25ml/min 时, 出峰时间约为 10.6min, 当流速提高到 1.4ml/min, 出峰时间在 6min 左右。考虑到前几分钟可能会受到杂质峰影响, 最后选择流速 1.25ml/min, 以乙腈 - 水(80:20)作为流动相。

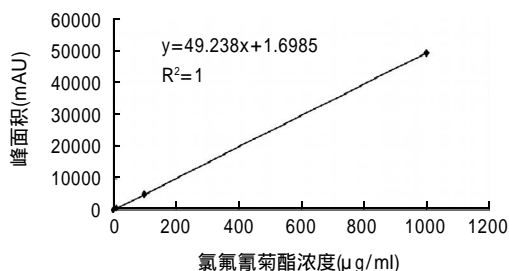


图3 高效氯氟氰菊酯标准曲线

Fig.3 Standard curve for determining lambda-cyhalothrin by HPLC

2.3 标准曲线线性回归、精密度测定

对 1000、100、10、1、0.1 μg/ml 五个不同浓度的高效氯氟氰菊酯标准品按照上述高效液相色谱条件进行分析, 测定其峰面积, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标进行线性回归。其回归方程为 $y = 49.238x + 1.6985$, $R = 1$ (图 3)。对同一样品连续进样 5 针, 其相对标准偏差(RSD)为 3.12%。本方法最低检出量为 0.01mg/kg, 低于国标中所规定的食品中高效氯氟氰菊酯最低残留限量标准(0.2mg/kg)^[6]。

2.4 萃取条件的优化

2.4.1 饮用水中高效氯氟氰菊酯萃取条件的优化

分别以正己烷 - 丙酮、乙酸乙酯、石油醚、二氯甲烷、二氯甲烷 - 丙酮作为萃取剂, 按照 1.3.2.1 节中样品处理方法对加标样品进行处理, 最后进行液相分析, 结果发现用乙酸乙酯及正己烷 - 丙酮效果均较好, 进一步比较分析乙酸乙酯、正己烷 - 丙酮和乙酸乙酯 - 丙酮的萃取效果。当乙酸乙酯 - 丙酮体积比为 1:2 时, 两种溶剂完全互溶, 无法进行萃取; 萃取剂采用正己烷 - 丙酮(1:1)时可以得到最佳的回收率, 如表 1。在 0.1、1.0 和 10 μg/ml 添加水平上, 该方法对高效氯氟氰菊酯的回

收率均在 97.93% ~ 103.02% 之间, 如表 2。液相扫描结果如图 4、5 所示。

表1 不同溶剂对饮用水样品提取结果

Table 1 Comparison of extraction efficiency among various solvents to lambda-cyhalothrin from drinking water

溶剂(V/V)	样品添加平均回收率(%)	标准偏差	RSD(%)	
乙酸乙酯	98.67	0.29	2.94	
正己烷-丙酮	2:1	94.97	0.28	2.95
	1:1	101.95	0.02	0.19
	1:2	106.9	0.03	0.28
乙酸乙酯-丙酮	2:1	82.1	0.27	3.23
	1:1	79.98	0.34	2.51

注: 本底值为 0。

表2 饮用水样品中不同农药添加水平的加标回收率测定结果

Table 2 Recovery for lambda-cyhalothrin in drinking water spiked at different levels

添加浓度(μg/ml)	实测浓度(μg/ml)	回收率(%)	标准偏差	RSD(%)
	10.164	101.64		
10	9.972	99.72	0.119	1.18
	9.946	99.46		
1	1.030	103.02		
	0.979	97.93	0.026	2.59
	1.014	101.40		
0.1	0.099	99.46		
	0.099	98.46	0.00058	0.58
	0.100	100.32		

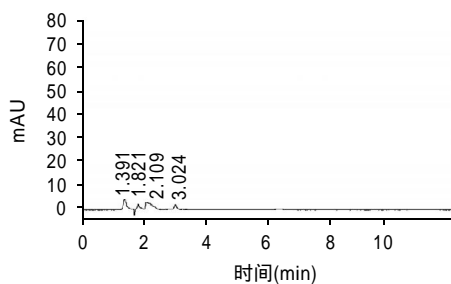


图4 未添加氯氟氰菊酯水样的液相扫描图

Fig. 4 HPLC chromatogram of drinking water

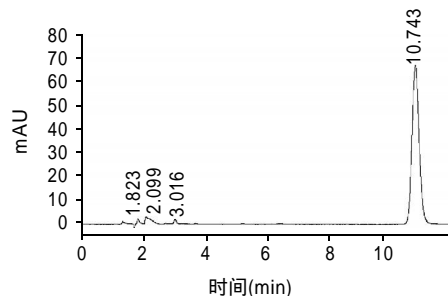


图5 添加氯氟氰菊酯水样的液相扫描图

Fig.5 HPLC chromatogram of drinking water spiked with standard lambda-cyhalothrin

2.4.2 青菜中高效氯氟氰菊酯萃取条件的优化

分别以石油醚-丙酮(1:1)、乙腈、正己烷-丙酮(1:1)作为萃取剂,按照1.3.2.2节对加标样品进行处理,最后进行液相分析,结果发现用石油醚-丙酮(1:1)效果较好,平均回收率为96%左右。并以石油醚-丙酮作为萃取剂的前提下,对添加10 $\mu\text{g/ml}$ 高效氯氟氰菊酯的青菜糜分别采用涡旋混匀萃取、超声波萃取、先用乙腈提取与涡旋混匀复合萃取三种方法比较,结果表明,采用涡旋混匀及超声萃取均表现出较好的回收率(表3),但由于超声萃取的时间长(1~2h)、耗时耗力,而采用涡旋混匀的方法方便快捷每次只需30s,因此本实验选择涡旋混匀的方法进行萃取,结果如表4。并且在0.1、1.0和10 $\mu\text{g/ml}$ 的添加水平上,该方法对高效氯氟氰菊酯的回收率均在91.4%~113.9%之间。液相扫描结果如图6、7,可以看出农药峰型对称,不受杂质峰干扰。

表3 不同萃取方法的高效氯氟氰菊酯加标回收率

Table 3 Comparison of extraction efficiency among various extraction methods to lambda-cyhalothrin from ground *Brassica chinensis* leaves

萃取方法	添加浓度($\mu\text{g/ml}$)	检测浓度($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)
涡旋混匀萃取	10.019	10.200	101.801
超声萃取		9.145	91.275
乙腈混匀后涡旋萃取		2.005	20.010

表4 青菜中不同浓度高效氯氟氰菊酯的加标回收率测定结果

Table 4 Recovery for lambda-cyhalothrin in ground *Brassica chinensis* leaves spiked at different levels

添加浓度($\mu\text{g/ml}$)	实测浓度($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)	标准偏差	RSD(%)
10	9.34	93.4	0.109	1.19
	9.163	91.6		
	9.14	91.4		
1	10.26	102.6	0.103	9.9
	1.139	113.9		
	0.934	93.4		
0.1	0.099	99.2	0.001	1.01
	0.098	97.8		
	0.1	100.5		

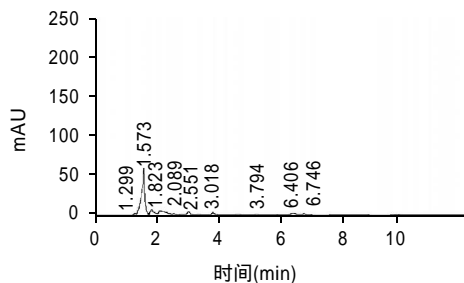


图6 未添加氯氟氰菊酯青菜的液相扫描图

Fig.6 HPLC chromatogram of ground *Brassica chinensis* leaves

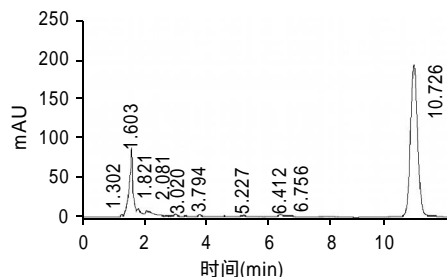


图7 添加氯氟氰菊酯青菜的液相扫描图

Fig.4 HPLC chromatogram of ground *Brassica chinensis* leaves spiked standard with lambda-cyhalothrin

3 结论

本实验通过反复试验最终确定采用正己烷-丙酮(1:1)对饮用水样品中的高效氯氟氰菊酯进行提取,采用石油醚-丙酮(1:1)对青菜样品中高效氯氟氰菊酯进行提取;利用涡旋混合器快速混合后静置萃取,与超声波萃取相比较,回收率差别不大,但时间短,相对效率较高;萃取过程容易出现乳化现象,添加少量无水硫酸钠即可解决此问题,并且对结果无影响;用氮气吹干仪代替旋转蒸发进行浓缩使前处理过程更加简化;高速离心样品代替膜过滤减少样品损失,提高回收率;对处理后样品进行高效液相色谱分析,以乙腈-水(80:20)作为流动相,230nm 二极管阵列检测,基线稳定,杂质峰干扰小,待测物峰型较好。在采用上述方法对食品中高效氯氟氰菊酯进行检测时,其回收率及精密度可以满足食品检测要求,该方法还可尝试对其他菊酯类农药的提取及检测。整个检测过程仅需30min,速度快,且成本低,可以为食品安全检测提供参考。

参考文献:

- [1] 骆爱兰. 拟除虫菊酯类农药残留分析研究进展[J]. 江苏农业学报, 2004, 20(2): 120-125.
- [2] 王筠. 拟除虫菊酯综述[J]. 安徽化工, 1997, 88(4): 5-7.
- [3] 万宏剑, 钱晓晓. 2.5% 高效氯氟氰菊酯微乳剂的高效液相色谱法测定[J]. 农药科学与管理, 2007, 25(4): 9-10.
- [4] ANADÓN A, MARTÍNEZ M, MARTINEZ M A, et al. Toxicokinetics of lambda-cyhalothrin in rats[J]. Toxicology Letters, 2006, 165(1): 47-56.
- [5] 齐红莉, 吴垠, 桂远明. 功夫菊酯对鲤红细胞生理生化指标的影响[J]. 水利渔业, 2006, 26(1): 104-107.
- [6] GB2763—2005 食品中农药残留最大限量[S].
- [7] 宋健荣, 曹新梅. 氯氟氰菊酯水乳剂的液相色谱分析[J]. 农药科学与管理, 2001, 22(2): 15-16.
- [8] 查月珍. 三氟氯氰菊酯农药中微量杂质的液相色谱-质谱法鉴定[J]. 分析测试学报, 2001, 20(1): 74-75.
- [9] 储大勇, 赵红艳, 黄颖. 2.5% 高效氯氟氰菊酯乳油的高效液相色谱分析方法[J]. 中国石油和化工标准与质量, 2007(9): 22-24.