

文章编号 :1001-5914(2010)03-0261-02

# 蔬菜中百草枯的高效液相色谱测定法

王爱月, 翟志雷

**摘要:**目的 建立蔬菜中百草枯残留量的高效液相色谱-紫外检测器测定方法。方法 选用 Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6×250 mm, 5 μm) 检测波长 257 nm, 以 10 mmol/L 庚烷磺酸钠(用磷酸调 pH=3.0)-甲醇(50+50)作为流动相, 柱流量 1.0 ml/min, 采用高效液相色谱法检测蔬菜中百草枯含量。结果 该方法的线性范围为 0.00~10.0 μg/ml  $R^2=0.9994$ ,  $RSD$  为 0.75%~3.65%, 回收率为 96.1%~104.0%, 检出限为 0.03 μg/ml。结论 该方法简单、快速、准确度高, 适用于蔬菜中百草枯残留量的测定。

**关键词:** 色谱法; 液相; 蔬菜; 百草枯

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

**Determination of Paraquat in Vegetables by High Performance Liquid Chromatography** WANG Ai-yue, ZHAI Zhi-lei. Center for Hygienic Monitoring and Testing, He'nan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou, He'nan 450016, China

**Abstract:**Objective To establish a method for the determination of paraquat in vegetables by high performance liquid chromatography(HPLC). **Methods** The HPLC separation was conducted by using an Agilent TC-C<sub>18</sub> column (4.6 mm×250 mm, 5 μm). The detection wavelength was 257 nm. The eluent is the mixture of 10 mmol/L sodium heptanesulfonate and methanol (50+50) with the flow rate of 1.0 ml/min. **Results** The linearity of the method ranged 0.00–10.0 μg/ml. The concentration of paraquat showed a good linear relationship ( $R^2=0.9994$ ), the  $RSD$ s were 0.75%–3.65%, the rates of recovery were 96.1%–104.0%, and the limit of detection was 0.03 μg/ml. **Conclusion** This simple and accurate method is applicable to the determination of paraquat in vegetables.

**Key words:** Chromatography, liquid; Vegetable; Paraquat

百草枯(又称对草快、克芜踪)其化学名称是 1,1'-二甲基-4,4'-联吡啶阳离子,易溶于水,不溶于烃类,酸性及中性溶液中稳定。百草枯为灭生性除草剂,对人毒性极大,且无特效药<sup>[1]</sup>。关于蔬菜中百草枯残留量的测定,目前还没有国家标准测定方法;常见的分析方法有气相色谱法<sup>[2]</sup>、紫外分光光度法<sup>[3]</sup>。气相色谱法中,样品需要进行衍生化,操作繁琐,紫外分光光度法是针对生物样品的,操作也相当繁琐,杂质干扰较严重,回收率偏高<sup>[3]</sup>,致使测定结果不可靠;也有研究者采用高效液相色谱法测定百草枯含量<sup>[4,5]</sup>,但针对生物样品(如血液样品),笔者采用高效液相色谱紫外检测器法,用离子对试剂作为流动相,用高纯水对蔬菜中百草枯残留量进行超声提取并进行了测定。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

D-78224 型超声波提取器, Waters2695 型高效液相色谱仪, 配紫外检测器, TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(Agilent 公司, 4.6×250 mm, 5 μm); Empower 色谱工作站。甲醇(分析纯); 10 mmol/L 庚烷磺酸钠溶液(准确称取 2.02 g 庚烷磺酸钠, 加入约 980 ml 高纯水溶解, 用磷酸调节 pH 值为 3.0 后, 定容至 1 000 ml 备用)。百草枯标准储备液[精密称取百草枯标准品(纯度 99.0%, 国家农药质量监督检验中心提供)0.100 0 g, 加高纯水溶解并定容至 100 ml, 百草枯含量为 1.0 mg/ml。应用时再逐级稀释至所需浓度]。试验用水电导率小于 0.1 μS/cm。

### 1.2 色谱条件

Agilent TC-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6×250 mm, 5 μm), 紫外检测器或二级管阵列检测器, 检测波长 257.0 nm, 流动相为甲醇-10 mmol/L 庚烷磺酸钠(50+50), 流量 1.0 ml/min, 柱温 30 ℃, 进样量 10 μl。

### 1.3 测定方法

**1.3.1 测定原理** 样品中百草枯用纯水提取后, 提取液经 TC-C<sub>18</sub> 色谱柱分离, 以保留时间定性, 峰面积定量。

**1.3.2 标准曲线制备** 精密吸取百草枯标准储备液 0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml, 分别置于 100 ml 容量瓶中, 加高纯水定容至刻度混匀, 百草枯浓度分别为 0.0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 μg/ml, 以此作为标准系列应用液, 按上述色谱条件进行测定, 每个浓度重复测定 3 次, 以浓度为横坐标, 峰面积均值为纵坐标, 绘制标准工作曲线。

**1.3.3 样品前处理及测定** 蔬菜样品先用匀浆机打碎, 称取经匀浆机打碎的蔬菜样品 20 g 于 200 ml 三角瓶中, 加一定量的高纯水, 超声提取 15 min, 然后加水定容至 100 ml 刻度混匀, 过滤, 滤液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤后供高效液相色谱测定。

**1.3.4 结果计算** 根据样品峰的峰面积, 在标准工作曲线上查出含量, 再换算出样品中百草枯的含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 百草枯最大吸收波长的选择

吸取 0.5 ml 百草枯储备液于 100 ml 容量瓶中, 加高纯水定容至刻度, 混匀后倒入 1 cm 比色皿中, 置于紫外分光光度计比色皿中进行测定, 设定波长从 200~400 nm 范围内进行吸光度扫描, 选择最大吸收峰处作为测定波长, 结果百草枯在 257.0 nm

作者单位: 河南省疾病预防控制中心卫生检测检验中心(河南 郑州

450016)-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

作者简介: 王爱月(1963-), 女, 副主任技师, 从事理化检验工作。

处有最大吸收,因此选择 257.0 nm 作为检测波长。

## 2.2 流动相的选择

选用 0.5%乙酸-甲醇(体积比为 95:5)作为流动相,结果百草枯出峰时间小于 3 min,调整体积比对出峰时间影响不明显,采用 10 mmol/L 庚烷磺酸钠(pH=3)-甲醇作流动相(V:V=50:50),百草枯出峰时间约 6 min,分离效果好,故将其作为分析条件。

## 2.3 样品处理方法的选择

百草枯易溶于水,不溶于烃类,在酸性及中性溶液中稳定,因此选择水作为提取溶剂,提取方法有振荡提取、超声波提取和浸泡过夜,笔者对不同的提取方法进行了比较试验,结果采用超声波提取和浸泡过夜提取的提取率均高于采用振荡提取的提取率,但考虑到浸泡过夜时间太长,因此选择超声波提取作为样品的提取方法,实验结果见表 1。对不同的提取时间(5、10、15、20、25 min)分别进行了实验,结果随着提取时间的延长,其提取效率呈上升趋势,但到达一定时间后,提取率变化不明显,即提取 15、20 和 25 min 时,其提取率变化不明显,所以选择 15 min 作为样品提取时间。结果见表 2。

表 1 蔬菜中百草枯不同提取方法的提取率 (%)

样品	振荡	超声波	浸泡过夜
样品 1	85.4	103.0	98.4
样品 2	88.8	99.0	101.0
样品 3	87.9	98.2	99.3
样品 4	90.3	102.0	98.7
样品 5	91.0	104.0	99.6

表 2 蔬菜中百草枯不同提取时间的提取率 (%)

样品	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min
样品 1	90.5	95.2	103.0	102.2	102.0
样品 2	91.0	93.8	99.0	98.9	99.1
样品 3	90.3	94.4	98.2	99.0	98.6
样品 4	92.1	96.1	102.0	101.5	101.2
样品 5	91.9	93.5	104.0	102.8	100.9

## 2.4 线性范围及检出限

按照 1.3.2 标准曲线的制备,制作了百草枯标准曲线,经过回归,得到其线性方程为  $y=37\ 968x-13\ 218$ ,  $R^2=0.999\ 4$ 。线性范围为 0.00~10.0 μg/ml。

百草枯标准谱图见图 1,标准出峰在 6.765 min。

用标准工作曲线的最低浓度点,按上述色谱条件测定 6 次,得一组低浓度标准峰面积,求出其标准偏差,以 3 倍标准偏差除以方法的灵敏度,即得方法的检出限为 0.03 μg/ml。

## 2.5 精密度试验

配制 5 个不同浓度的标准溶液,每个浓度各测定 6 次,其 RSD 值分别为 2.16%、0.75%、1.12%、2.44%、3.65%,表明精密度良好。

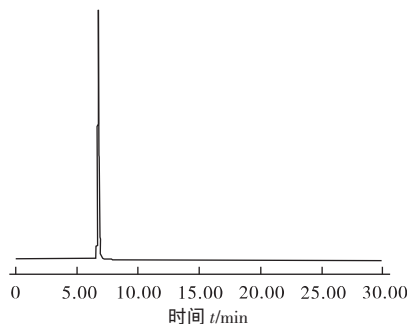


图 1 百草枯标准色谱图

## 2.6 回收率试验

采用加标回收的方法进行准确度评价。取 5 份蔬菜样品(其百草枯本底值均为未检出),分别是大白菜、洋葱、大蒜、芹菜和香葱,先用匀浆机把蔬菜样品打碎,称取适量的样品加入一定量的标准溶液,本方法选取 1.0、4.0 和 8.0 μg/ml 加标水平,按以上方法进行色谱测定,测定结果见表 3。回收率在 96.1%~104.0% 之间。

表 3 蔬菜中百草枯的高效液相色谱测定法的回收率试验

样品	加标 1.0 μg/ml		加标 4.0 μg/ml		加标 8.0 μg/ml	
	测定值	回收率	测定值	回收率	测定值	回收率
	(μg/ml)	(%)	(μg/ml)	(%)	(μg/ml)	(%)
白菜	1.02	102.0	4.12	103.0	7.98	99.8
洋葱	0.980	98.0	3.96	99.0	7.95	99.4
大蒜	1.01	101.0	3.93	98.2	8.06	100.8
芹菜	0.978	97.8	4.08	102.0	7.89	98.6
香葱	0.961	96.1	4.15	104.0	7.96	99.5

## 3 小结

本次研究建立了简单、快速测定蔬菜中百草枯残留量的方法,其方法的精密度、准确度均符合要求,适用于蔬菜中百草枯残留量的测定。

## 参考文献:

- [1] 杜宝顺,翟德胜,范文燕,等.百草枯半数致死量测定[J].新乡医学院学报,2006,23(2):161-162.
- [2] 韩会新,郝树勇,常凤启,等.常见化学性食物中毒检验与救治手册[M].北京:中国石化出版社,2001:98-100.
- [3] 赵燕燕,刘会芳,郝丽娜,等.血中百草枯的紫外分光光度测定法[J].环境与健康杂志,2007,24(5):346-347.
- [4] 杨宇平.人血浆百草枯浓度的高效液相色谱测定法[J].新乡医学院学报,2008,25(5):956-958.
- [5] 王朝虹,李玉安,邢俊波,等.高效液相色谱法测定人血液中的百草枯[J].中国法医学杂志,2004,19(3):160-161.

(收稿日期 2009-11-09 修回日期 2010-02-04)

(本文编辑 杜宇欣)