

# 固相萃取-气相色谱法测定蜂蜜中的溴虫腈

杜志峰<sup>1</sup>, 郭新东<sup>1</sup>, 罗海英<sup>1</sup>, 陈晓珍<sup>1</sup>, 吴玉銮<sup>1</sup>, 王永华<sup>2</sup>

(1. 国家加工食品监督检验中心(广州), 广东 广州 510110) (2. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510641)

**摘要:** 建立了用气相色谱分析蜂蜜中溴虫腈的方法。样品经溶解、固相萃取净化, 用气相色谱测定, 外标法定量。该方法快速、准确, 在 0.01~0.50 mg/L 范围内线性相关系数  $R^2=0.9996$ , 平均回收率达到 95.7%~98.1%, 相对标准偏差为 1.3%~2.4%, 最低检测浓度为  $2.0 \times 10^{-4}$  mg/kg。

**关键词:** 固相萃取; 气相色谱法; 蜂蜜; 溴虫腈

中图分类号: TS207.5\*3; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)03-0080-03

## Determination of Chlorfenapyr in Honey by Solid-Phase Extraction and GC Chromatography

DU Zhi-feng<sup>1</sup>, GUO Xin-dong<sup>1</sup>, LUO Hai-ying<sup>1</sup>, CHEN Xiao-zhen<sup>1</sup>, WU Yu-luan<sup>1</sup>, WANG Yong-hua<sup>2</sup>

(1. National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou 510100, China)

(2. College of Light Industry and Food engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** A new method for the determination of chlorfenapyr in honey by solid-phase extraction and gas chromatography was described here. The method was fast and accurate with a linear correlation of 0.9996 in the range of 0.01 to 0.5 mg/L. Its average recoveries were within the range from 95.7% to 98.1% and the relative standard deviation ranged from 1.3% to 2.4%. Besides, the minimum determination concentration was shown to be  $2.0 \times 10^{-4}$  mg/kg.

**Key words:** solid phase extraction (SPE); gas chromatography; honey; chlorfenapyr

溴虫腈 (Chlorfenapyr), 又名除尽、虫螨腈, 化学名称为 4-溴-2-(4-氯苯基)-1-乙氧甲基-5-三氟甲基吡咯-3-腈, 分子式为  $C_{15}H_{11}BrClF_3N_2O$ , 是一种高效低毒的吡咯类新型农药。此药由美国氰胺公司开发, 于 1994 年进入市场, 目前已经被广泛应用于蔬菜、花卉、茶树、果树、棉花等作物, 其不仅对钻蛀、刺吸、咀嚼式害虫及螨虫等防治优异, 且对氨基甲酸酯类、有机磷类和拟除虫菊酯类杀虫剂具有抗性的害虫也非常高效<sup>[1]</sup>。溴虫腈杀虫作用机制独特, 可通过作用于昆虫体内多功能氧化酶 (MFO) 来抑制线粒体 ADP 向 ATP 转化。经改进的 Ames 实验和中国仓鼠卵巢实验表明, 溴虫腈无致突变性, 但对鱼类、蜜蜂的毒性相对较高<sup>[2]</sup>。近年来有关研究发现, 溴虫腈能致小鼠脾、肝、肾细胞 DNA 的损害, 而且损害的程度与溴虫腈浓度成正比关系<sup>[3]</sup>。

目前, 我国主要应用溴虫腈 10% 悬浮剂于作物, 由于其在通常环境条件下的半衰期过长, 因而容易造成该药在农产品中的残留。现代研究表明, 蜂蜜是一

种营养丰富的食疗佳品。蜂蜜中含有单糖及少量的矿物质、维生素、蛋白质、有机酸、酶类等多种营养成分。临床医学证明, 用蜂蜜或蜂蜜与其它药物配伍治疗各种疾病并取得良好的疗效。如前所述, 由于溴虫腈对蜜蜂较高的毒性和半衰期较长, 可能会在蜂蜜中有残留, 而国内目前尚未制订蜂蜜中溴虫腈残留的标准检测方法, 所以建立一种快速、方便、经济的检测方法, 对保障食品安全有非常重要的意义。

本文以蜂蜜作为研究材料, 采用 GC-ECD 方法对溴虫腈的含量进行定量测定, 旨在建立一种快速检测蜂蜜中溴虫腈残留量的方法。

### 1 实验部分

#### 1.1 仪器与材料

Agilent 6890N 气相色谱仪 (带电子捕获检测器, 美国 Agilent 公司); 氮吹仪 (长沙中迅电子工程研究所), 振荡器 (美国 IKA 公司)。Oasis HLB 固相萃取小柱 (60 mg/3 mL, 美国 Waters 公司)、C18 固相萃取小柱 (500 mg/6 mL, 美国 Supelco 公司)、Florisil 固相萃取小柱 (500 mg/6 mL, 美国 Agilent 公司)。

收稿日期: 2006-11-01

作者简介: 杜志峰, 学士, 助理工程师。通讯作者: 王永华和郭新东

溴虫腈标准品 ( $\geq 99\%$ , 美国 Acros Organics 公司); 甲醇, 丙酮, 正己烷 (色谱纯, 美国 Sigma 公司); 氯仿, 乙酸乙酯 (分析纯, 广州试剂厂); 无水硫酸钠 (分析纯,  $650\text{ }^{\circ}\text{C}$  烘 4 h, 广州化学试剂一厂)。市售蜂蜜 (当地超市购买)。

## 1.2 标准溶液的配制

标准溶液储备液: 称取 0.1 g 溴虫腈标准品 (精确至 0.0001 g), 用少量丙酮溶解, 再用正己烷稀释并定容至 100 mL, 得标准溶液储备液的浓度为 1000 mg/L。

## 1.3 GC-ECD 分析

色谱柱: DB-5 弹性石英毛细管柱 ( $30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ ); 柱温采用程序升温, 初始温度为  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 以  $15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升至  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 保持 8 min; 进样口温度:  $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 检测器温度:  $300\text{ }^{\circ}\text{C}$ ; 流速:  $1.0\text{ mL}/\text{min}$ ; 进样量:  $1\text{ }\mu\text{L}$ ; 进样方式为无分流进样, 开阀时间 0.75 min。

## 1.4 样品处理

### 1.4.1 氯仿提取法

精确称取约 5 g 蜂蜜 (精确至 0.01 g) 样品, 加入 30 mL 水溶解, 分别用 20 mL 氯仿萃取两次, 合并萃取后的氯仿溶剂, 并用水洗, 然后用无水硫酸钠干燥, 浓缩至近干, 用正己烷定容至 1 mL, 上机测定。

### 1.4.2 乙酸乙酯提取法

称取 5 g 蜂蜜 (精确至 0.01 g) 样品, 加入 30 mL 水溶解, 分别用 20 mL 乙酸乙酯萃取两次, 合并萃取后的乙酸乙酯溶剂, 并用水洗, 然后用无水硫酸钠干燥, 浓缩至近干, 用正己烷定容至 1 mL, 上机测定。

### 1.4.3 固相萃取小柱提取法

分别选用 Oasis HLB 固相萃取小柱、C18 固相萃取小柱、Florisil 固相萃取小柱来提取蜂蜜中的溴虫腈。准确称取约 5 g 的蜂蜜 (精确至 0.01 g) 置于离心管中, 加入 10 mL 水充分涡动溶解。上样于已预先用 3 mL 甲醇、3 mL 水活化处理过的固相萃取小柱, 保持自然流速过柱。然后用 3 mL 水洗涤离心管, 洗涤液上柱, 重复洗涤一次。再以 3 mL 水洗涤萃取小柱, 将柱中残留液体在真空下抽干 1 min。用 3 mL 甲醇对保留在柱上的样品进行洗脱, 控制液体流速为  $1\text{ mL}/\text{min}$ , 收集洗脱液并过无水硫酸钠后, 用氮气吹至近干, 用正己烷定容至 1 mL, 供测定。

## 1.5 实验方法的回收率及精密度测定

样品加标实验: 称取样品后, 精确加入一定量的标准品, 振摇均匀, 于室温下放置 10 min, 其他步骤按照 1.4.3 方法进行提取, 按照 1.3 进行检测。

## 2 结果与讨论

### 2.1 蜂蜜中溴虫腈的提取方法研究

气相色谱法测定溴虫腈在蜂蜜中微量残留的关键是去除糖的干扰, 以便可以充分提取出残留的溴虫腈。以参考国家标准测定农药残留的方法<sup>[4-6]</sup>为基础, 分别选取氯仿萃取法、乙酸乙酯萃取法、固相小柱萃取法方法提取蜂蜜中的溴虫腈。结果如表 1 所示。从表 1 可知, Oasis HLB 固相萃取小柱的纯化效果最好, 回收率高达 90%, 而其它方法的萃取效果相对较差。因此确定使用 Oasis HLB 固相小柱萃取法提取样品。

表 1 不同方法对溴虫腈萃取效果的影响

方法	氯仿萃取法	乙酸乙酯萃取法	Oasis HLB 固相萃取小柱	C18 固相萃取小柱	Florisil 固相萃取小柱
回收率	32%	26%	90%	54%	62%

### 2.2 标准曲线的制作

以 1000 mg/L 的溴虫腈标准液为母液, 配制 5 个不同浓度的溴虫腈标准溶液, 其浓度分别为 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5 mg/L。采用 1.3 方法进行含量测定。以质量浓度 ( $x$ , mg/L) 为横坐标、峰面积 ( $y$ ) 为纵坐标作图可得一标准曲线 (图 1)。经最小二乘法计算, 得溴虫腈的回归方程为:  $y = 1.62 \times 10^6 x - 4.46 \times 10^3$ , 相关系数平方为  $R^2 = 0.9996$ 。溴虫腈浓度在 0.01~0.5 mg/L 范围内与峰面积具有良好的线性相关性。

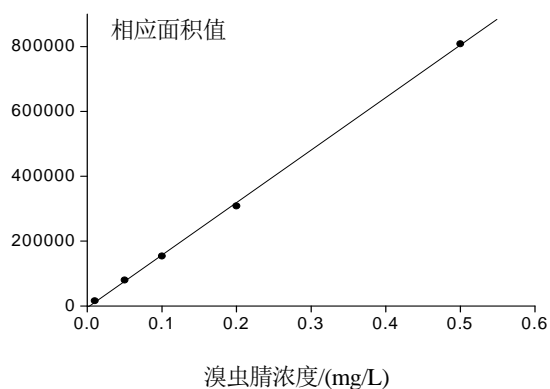


图 1 溴虫腈残留检测标准曲线

### 2.3 方法的回收率和精密度

采用质量分数添加回收率来表示本方法的准确度和精密度, 在空白的蜂蜜样品中, 添加已知含量的溴虫腈标准品, 按照上述色谱操作条件测定其含量, 计算其回收率及变异系数, 结果见表 2。

由表 2 可知, 通过对溴虫腈残留样品分析的准确度及精确度检验, 本方法测定的蜂蜜中溴虫腈的回收率为 95.7%~98.1%, 平均添加回收率为 97.1%, 变异系数为 1.3%~2.4%, 达到残留分析的要求<sup>[7]</sup>。因此,

利用本方法进行溴虫腈残留样品的分离和含量测定,灵敏度高,重现性好,能为样品检测提供可靠的数据。本方法对溴虫腈的最小检测量为  $2 \times 10^{-12}$  g,最低检出浓度为  $2.0 \times 10^{-4}$  mg/kg。

表 2 蜂蜜样品的溴虫腈添加回收率和相对标准偏差

添加量	回收率/%						平均回收率/%	相对标准偏差
	1	2	3	4	5	6		
0.01	95.3	95.1	97.9	93.2	94.8	98.1	95.7	2.0
0.1	101.8	96.0	97.6	95.3	98.4	96.6	97.6	2.4
0.5	98.5	96.4	97.8	98.9	99.9	97.0	98.1	1.3

注:蜂蜜样品添加量单位为 mg/L

### 3 结论

目前国家尚未制订蜂蜜中溴虫腈残留检测的标准方法,因而开发简单、快速、可靠的检测方法,对我国食品安全检测具有重要意义。蜂蜜中存在的高含量糖份对溴虫腈的提取有很大的干扰,本研究探讨了氯仿提取法、乙酸乙酯提取法、固相萃取小柱提取法对蜂蜜中溴虫腈提取效果的影响。发现 Oasis HLB 固相萃取小柱的纯化效果好,回收率高达 90%。利用本

方法进行溴虫腈残留样品的提取和含量测定,灵敏度高,精确度好,快速经济,其最小检测量为  $2 \times 10^{-12}$  g,最低检出浓度为  $2.0 \times 10^{-4}$  mg/kg。

### 参考文献

- [1] 农业部农药检定所. 新编农药手册(续集)[M].北京:中国农业出版社,1998.57
- [2] 徐尚成,蒋木庚.溴虫腈的研究与开发进展.农药[J].2003,42(2):5-8。
- [3] 李小燕,陈贤均.溴虫腈对小鼠肾细胞 DNA 的损伤效应.卫生毒理学杂志[J].2004,18 (2):106
- [4] GB/T 5009.21-2003 《粮、油、菜中甲萘威残留量的测定》
- [5] GB/T 5009.172-2003 《大豆、花生、豆油、花生油中氟灵残留量的测定》
- [6] GB/T 5009.176-2003 《茶叶、水果、食用植物油中三氯杀螨醇残留量的测定》。
- [7] Roger C. Validation of chromatographic methods in biomedical analysis viewpoint and discussion [J]. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 1997, 689:175

(上接第 101 页)

- [17] Hidekazu Ikezaki, Yoshikazu Kobayashi, Rieko Toukubo, et al. Techniques to control sensitivity and selectivity of multichannel taste sensor using lipid membranes[C]. Transducer'99, June 1, 3 p3.1
- [18] Kikkawa Y, Yoko K, Matsuno T, and Yamafuji K. Discrimination of taste of amino acids with a multichannel taste sensor[J]. Jpn J Appl Phys, 1993, 32:5731-5736
- [19] Sou Takagi Adachi, Kiyoshi Toko, Koichi Wada, Toshimisu Ohki, Detection of suppression of bitterness by Phospholipids

using electronic tongue.[C]Tranducers'99, June, 3, p3.2

- [20] Hideyuki Akiyama, Kiyoshi TOKO, Kaoru Yamafuji. Detection of taste substances using impedance change of phospholipids Langmuir Blodgett membrane[J]. Jpn J Appl Phys, 1996, 35:5516-5521
- [21] Winquist F, Holmin S, Krantz Rulcker C, Wide P, Lundstrom I. A hybrid electronic tongue Analytica[J]. Chimica Acta 2000, 06:147-157
- [22] Saida Y, Matsuno T, Toko K, and Yamafuji K. chaosexcitabile lipid membranes.[J] Jpn J Appl Phys. 1993; 32:1859- 1866

## 卫生部要求餐饮单位用食品添加剂申报备案

昨天,卫生部下发通知,要求加强餐饮卫生监督,坚决杜绝使用“地沟油”加工食品,不得采购和使用来源不明的食品。

《通知》强调餐饮经营单位应重点抓好三方面的管理工作:一要加强食用油脂的管理,坚决杜绝使用废弃食用油脂(地沟油)加工食品的行为。大型或连锁餐饮单位要配备食用油脂卫生质量快速检测设备,对购进的食用油脂进行检测并做好记录,严防废弃食用油脂流入餐饮经营单位。二是加强食品原料的管理。餐饮经营单位要建立健全食品原料采购索证和验收制度,建立台账,并设专人管理。购进和使用食品添加剂,餐饮经营单位应将食品添加剂的使用量、使用范围及操作规程等要主动向卫生行政部门申报备案,同时要做好出入库和使用记录。同时,还要认真完善经营场所、设施、设备的卫生条件;加强对餐饮加工关键环节的控制和管理。[摘自广州市食品安全信息网 2007-03-19]