

# 在线固相萃取-高效液相色谱法快速测定柑桔原料及其成品中多菌灵的残留量

张艳海 金燕  
赛默飞(中国)有限公司

**关键词:** 高效液相色谱; 在线固相萃取; 多菌灵; 柑桔

**Key words:** HPLC; online SPE; Carbendazim; Orange

## 引言

多菌灵是一种广泛用于保护蔬菜和水果的抗真菌剂, 关于其残留量的测定方法较多, 美国FDA采用液液萃取, 液相色谱UV检测和FLD检测; 近期的一些方法多采用离线SPE和LC-MS进行检测, 其中SN/T1753-2006采用液相色谱进行分析, 处理10mL样品, 经过MCX净化, 前处理过程繁琐。本实验拟利用DGLC online-SPE技术, 建立快速测定柑桔原料和成品中多菌灵残留量的测定方法。

## 测试条件

仪器: UltiMate DGP 3600系列, 包括带有在线脱气单元的双三元梯度泵; 带有两个六通阀的柱温箱; 紫外检测器。连接图见图1。

SPE柱: Turboflow HTLC Cyclone-MCX-2 (1.0×50mm), S/N: 023512

二维分析柱: Acclaim Polar Advantage II C18 120Å 4.6×150mm×3μm, S/N: 001180

柱温: 35℃

检测波长: 280nm

进样量: 2000μL

流动相组成:

上样净化泵: A, 甲醇; B, pH=10氨水; C, 5%醋酸  
分析泵: A, 乙腈; B, 100mM醋酸铵,

梯度洗脱程序及流速: 见表1。

## 标准品及样品溶液制备

标准品溶液制备: 精密量取浓度为100 ppm的多菌灵标准品溶液1 mL, 至100 mL量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 制成浓度为1 ppm的标准品储备溶液。再分别精密量取储备溶液适量, 至100 mL量瓶中, 加水稀释并定容, 制成浓度分别为1、2、5、10和20 μg/L的系列标准品溶液。

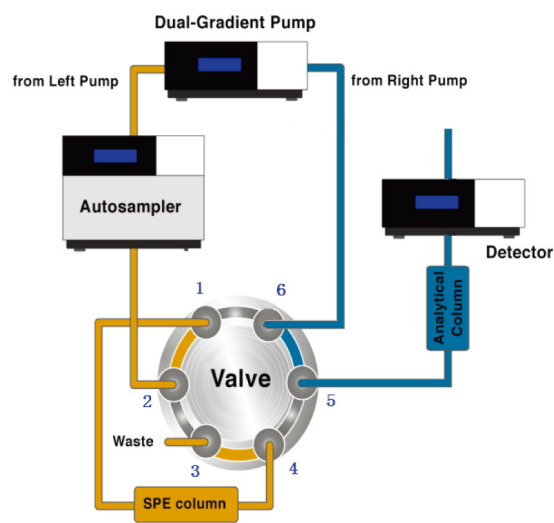


图1 仪器连接图

样品溶液制备: 取桔片或成品适量, 榨汁机捣碎后, 取10g样品, 精密称定, 至100mL量瓶中, 以pH=10的氨水定容至刻度, 摇匀后, 过滤, 取续滤液, 0.45 μm水膜过滤, 进样分析。

## 结果和讨论

### 标准品色谱图 (2ppb)

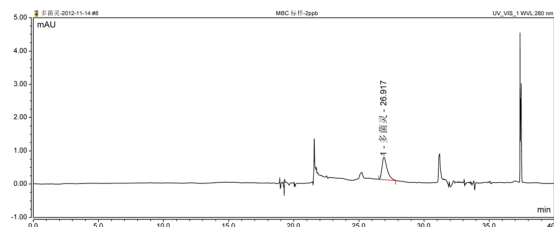


图2 标准品色谱图

表1一维分离和二维分离梯度程序

Table 1 Gradient programs of one-dimensional and two-dimensional separation

上样净化泵 Loading pump					分析泵 Analytical pump				
时间 (min) Time	流速 mL/min	A%	B%	C%	时间 (min) Time	流速 mL/min	A%	B%	C%
0	2.0	5	0	95	0	0.2	5	95	0
2.5	2.0	5	0	95	15.0	0.2	5	95	0
3.0	1.0	5		95	15.1	0.8	5	95	0
7.0	1.0	20	0	80	18	0.8	5	95	0
10	1.0	20	0	80	18.1	0.8	25	75	0
10.1	1.0	5	95	0	28	0.8	25	75	0
12	1.0	5	95	0	30	0.8	85	15	0
12.1	1.0	95	5	0	30.2	1.0	85	15	0
15	1.0	95	5	0	35	1.0	85	15	0
15.1	1.0	10	0	90	35.2	0.8	5	95	0
18.0	1.0	10	0	90	40	0.8	5	95	0
25	1.0	95	0	5					
25.2	1.5	95	0	5					
32	1.5	95	0	5					
32.1	1.0	5	0	95					
39.5	1.0	5	0	95					
40.0	2.0	5	0	95					
0	2.0	5	0	95					

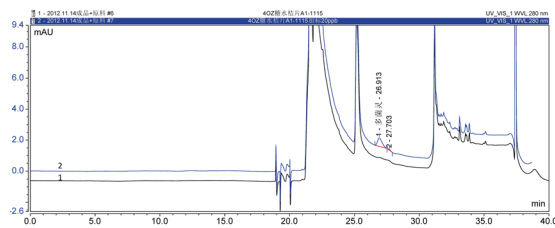
样品及加标样品谱图 (加标量为2 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ )

图3 样品及加标样品谱图

### 方法学考察

#### 方法线性范围、检出限

取系列标准品溶液，进样2000  $\mu\text{L}$ ，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，考察线性。结果多菌灵在1~20  $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内相关系数 $r=0.9992$ ，线性相关关系较好。检出限按照信噪比3:1计算，为0.12  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

#### 回收率实验

分别取桔片原料和成品10g，精密称定，按照20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 分别加入多菌灵，按照样品溶液制备方法制备样品溶液，进样分析，计算回收率，结果原料的加标回收率为86.6%，成品20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 的加标回收率为98%。

### 样品含量测定结果

取5个批次成品和原料，按照样品溶液制备方法制备样品，进样分析，结果见图4~5。

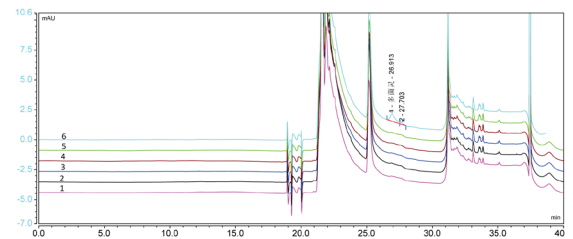


图4 成品5个批次和加标样品叠加谱图

(1为4OZ糖水桔片A1；2为4OZ糖水桔片A2；3为29OZ糖水桔片A1；4为29OZ糖水桔片A2；5为4OZ糖水桔片A1-1115；6为4OZ糖水桔片A1-1115加标20  $\mu\text{g}/\text{Kg}$ 的谱图)

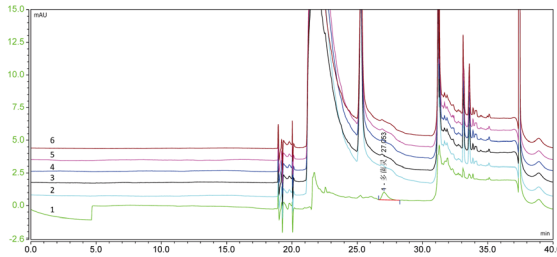


图5 原料5个批次和2ppb标准品叠加谱图

(1为2ppb标准品; 2为桔子原料-1115-1; 3为桔子原料-1115-2; 4为桔子原料-1115-3; 5为桔子原料-1115-4; 6为桔子原料-1115-5)

## 讨论

### 分析柱选择

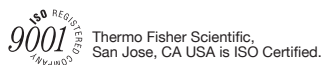
实验分别采用C18与PA II C18作为分析柱, 从结果可以看出, PA II C18 对目标物保留及分离效果较好, 同时此柱pH值耐受范围较宽(2~10), 较适宜作为分析柱。

## 可行性分析

本实验初步建立了online-SPE-HPLC方法快速测定多菌灵残留量的方法, 与标准方法比较, 提高了检出限和分析效率。方法对于桔片成品检测良好, 基质干扰少, 但对于桔片原料或未去皮的桔片原料依然存在基质干扰, 或出现假阳性现象, 需要结合LC-MS方法做进一步验证。

## 参考文献

- [1]. GB/T 18979-2003《进出口浓缩果汁中噻菌灵、多菌灵农残检测方法-高效液相色谱法》
- [2]. Mixed-Mode Solid-Phase Extraction and Cleanup Procedures for the Liquid Chromatographic Determination of Thiabendazole and Carbendazim in Fruit Juices, JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 84, NO. 2, 2001



[thermoscientific.com](http://thermoscientific.com)

© 2012 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries. Specifications, terms and pricing are subject to change. Not all products are available in all countries. Please consult your local sales representative for details.

**上海**  
上海浦东新金桥路27号6号楼  
邮编: 201206  
电话: 021-68654588  
传真: 021-64457830

**北京**  
北京东城区安定门东大街28号  
雍和大厦西楼F座7层702-715室  
邮编: 100007  
电话: 010-84193588  
传真: 010-88370548

**免费服务热线:**  
800 810 5118  
400 650 5118

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC