果蔬中植物生长调节剂氯吡脲的高效液相色谱测定方法

HPLC analysis of forchlorfenuron in fruits and vegetables

黎 路[1*] 王 楠[2]
黄晓晶[1] 胡 坪[2]
Li Lu[1] Wang Nan[2]
Huang Xiaojing[1] Hu Ping[2]

（1.上海舜宇恒平科学仪器有限公司 上海 200233；2.华东理工大学 上海 200237）
(1.Shanghai Sunny Hengping Scientific Instrument Co., Ltd., Shanghai M200233; 2.East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

摘 要 采用国产高效液相色谱仪，建立果蔬中植物生长调节剂 - 氯吡脲的测定方法。样品采用超声提取，经过分散固相萃取对提取样品进行净化处理。试样采用 C_{18} 色谱柱，以乙腈 - 水（40:60）为流动相，在 260nm 检测波长下，氯吡脲可得到良好的分离检出结果。方法重现性良好，实际样品的最小检出限为 0.003mg/kg，在 0.01~10 mg/kg 浓度范围内线性关系良好，加标回收率 84.32%~108.44%。

关键词 植物生长调节剂 氯吡脲 HPLC

Abstract In this work, plant growth regulator in fruits and vegetables was analyzed with HPLC system. Sample was extracted by ultrasonic and cleaned up by dispersive solid-phase extraction (DSPE). Forchlorfenuron was separated from complex matrix by C_{18} column and detected in 260nm wavelength with high precision and reproducibility. The detection limit in real sample was 0.003mg/kg and linear relationship was satisfied between 0.01~10mg/kg. Sample recoveries were between 84.32%~108.44%.

Key words Plant growth regulators Forchlorfenuron HPLC

中图分类号 ：S-3 TH833 文献标识码 ：A 文章编号 ：1672-7916(2012)05-0015-03

引 言

植物生长调节剂是人工合成的、具有调节植物生长发育的生物或化学制剂，氯吡脲是其中应用最广泛的植物生长调节剂之一，属于苯脲类细胞生长素[1]。近年来，由于膨大剂滥用、误用造成瓜果畸形、炸裂的现象频发，引起社会的广泛关注，而目前国内尚无相关限量与检测的标准方法，相关的研究工作也比较少。应用国产高效液相色谱仪，采用超声提取和分散固相萃取净化，建立果蔬食品中氯吡脲的检测分析方法。本方法操作简单，检出灵敏度高，所采用仪器设备的成本也较低，不仅可为相关标准的建立提供参考，也适宜在检测机构推广使用。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

LC1620A 高效液相色谱仪，配紫外检测器（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；FA2004 电子分析天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；MP5002 电子天平（上海舜宇恒平科学仪器有限公司）；SK3200H 超声波清洗仪（上海科导超声仪器有限公司）；TGL-16-A 离心机（上海安亭科学仪器有限公司）；乙腈 ：色谱纯 ；无水硫酸钠 ：分析纯 ；氯化钠 ：分析纯 ；氯吡脲标准物质 ：纯度≥ 98%（J&K Scientific Ltd.）。

1.2 标准溶液的配制

精确称取 0.1g 氯吡脲标准物质用甲醇溶解，定容于 100mL 容量瓶，配制成 1000 μg/mL 的标准贮备液。吸取一定量的标准储备液，混合均匀，用流动相稀释至相应浓度，作为标准品工作液。

1.3 样品制备

1.3.1 样品提取 取新鲜果蔬粉碎均匀后，称取 10g 试样（精确至 0.01g），放于 50mL 具塞离心管中，加入 10 mL 乙腈溶液，超声提取 20min，加入 1g 氯化钠和 4g 无水硫酸钠，再用力振摇 1min 后，6000r/min 离心 5min，取上清液 2mL 待净化。

* 作者简介 ：黎路（1981-），硕士，工程师，研究方向 ：色谱 / 质谱应用

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

1.3.2 样品净化 2mL 上清液中加入 PSA 粉末 200mg，轻轻振摇 1min 后再静置 1min，取上清液经 0.45μm 微孔滤膜过滤，作为待测样品溶液。

1.4 液相色谱条件

色谱柱：Shodex C_{18}-100-5 4D（4.6×150mm，5μm）；流动相：乙腈 - 水（40:60）；检测波长：260nm；流速：1mL/min；进样量：20μL；柱温：室温。

2 结果与讨论

2.1 流动相和色谱柱的选择

比较甲醇 - 水与乙腈 - 水 2 种体系以及 250mm 和 150mm 2 种规格的 C_{18} 色谱柱。乙腈相对甲醇来说柱压较低，有机溶剂使用量更少，峰形也更好，对残留分析有利，所以采用乙腈 - 水为流动相。150mm 的色谱柱相对价格更低，出峰快，平衡时间也更短，亦能实现样品中氯吡脲的有效分离，因此选择 150mm 的 C_{18} 柱。有文献报道在乙腈 - 水体系中添加磷酸作为氯吡脲分析的流动相 [2]，但在反相色谱分析中流动相一旦添加酸、碱、缓冲盐等，平衡时间会大大增长，还增加分析后清洗工作的繁琐性。采用不含任何缓冲盐的乙腈 - 水体系即可对氯吡脲达到良好的分析检测，大大提高分析效率。对色谱条件进行优化后，最后确定乙腈 - 水 40∶60 为流动相，采用 4.6×150mm 的 C_{18} 柱，氯吡脲的出峰时间在 10min 左右，与其他干扰组分分离良好。

2.2 提取溶剂和提取方法的比较

由于氯吡脲在丙酮中的溶解性好，乙腈是最常用的农残提取溶剂，因此对乙腈和丙酮的提取效果做比较考察。均质提取和超声提取都可用于蔬菜水果类样品的提取，在对于氯吡脲的提取方法上，对这 2 种提取方法进行考察比较。在空白的样品中添加入一定量的氯吡脲标准品，考察加样回收率和重现性，平行处理 3 份样品（见表 1,2）。

表 1 不同提取溶剂的比较

No	1(%)	2(%)	3(%)	平均值 (%)	RSD(%)
丙酮	44.06	46.78	45.19	45.29	3.12
乙腈	93.16	95.70	94.51	94.46	1.27

表 2 不同提取方法的比较

No	1(%)	2(%)	3(%)	平均值 (%)	RSD(%)
均质	93.10	95.70	94.51	94.44	1.38
超声	93.16	95.53	94.68	94.46	1.27

从以上结果可以看出，乙腈提取的效果明显优于丙酮，超声提取与均质提取的效率没有明显差异，2 种方法各有优缺点，均质提取耗时短，但不能处理多个样品。超声提取耗时长，但可一次处理多个样品。考虑到仪器成本和工作效率，选择以乙腈为提取溶剂，超声作为提取方法。

2.3 净化方法的选择

果蔬类样品的杂质主要为色素、有机酸等，对分散固相萃取（DSPE）和凝胶渗透色谱（GPC）这 2 种净化方法进行考察比较。分散固相萃取净化的优点是样品体积不会发生变化，可省去浓缩步骤，节省样品前处理的时间 [3~5]。GPC 净化是依据体积排阻的原理，可以除去大分子的色素等杂质 [6~8]。2 种净化方式都取得较好的净化效果（见图 1），但是考虑到 GPC 净化对样品有稀释，需要增加浓缩步骤才能达到相同的检出限。因此，最后选择分散固相萃取作为净化方法，所用吸附剂为 PSA 粉末，可除去色素、有机酸等杂质。

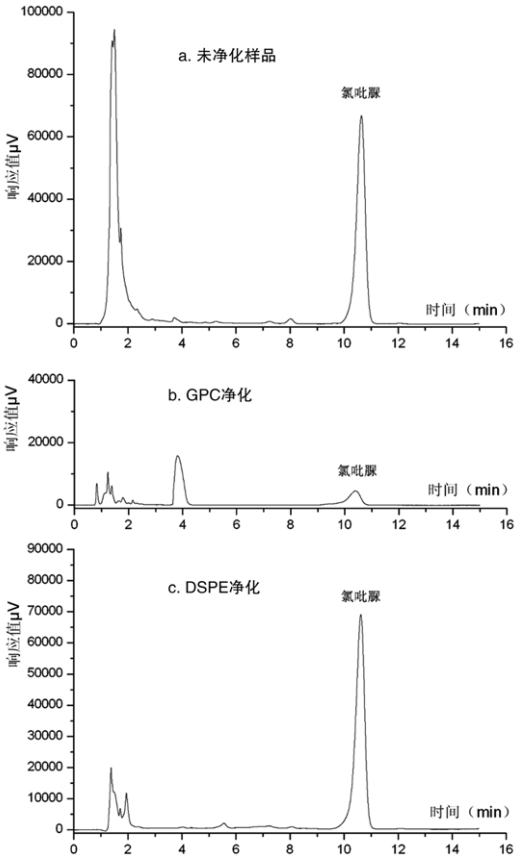

图 1 不同净化方法对比谱图（添加浓度 10mg/kg）

2.4 标准曲线

国内目前没有氯吡脲的限量标准，参考日本对于氯吡脲限量标准，选取 0.01μg/mL，0.1μg/mL，1μg/mL，5μg/mL，10μg/mL 5 个浓度级别的标准品溶液进行测定，绘制标准曲线，得到曲线：$y = 12940x + 90.417$（$r = 0.9999$）（见图 2）。结果表明：在 0.01~10μg/mL 浓度范围内，线性关系良好。

2.5 检验方法验证

2.5.1 精密度 在相同分析条件下，取 0.1μg/mL 标准品溶液连续进样 6 次，读出保留时间及峰面积并计算相对标准偏差，考察仪器的精密度（见表 3）。

2.5.2 重现性及加标回收率 在已知含量的样品中添加

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

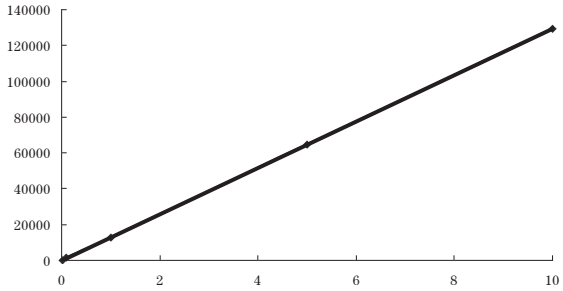

图 2　标准曲线图

表 3　精密度结果

No.	保留时间 (min)	峰面积
1	10.475	1572
2	10.475	1537
3	10.508	1566
4	10.492	1549
5	10.492	1558
6	10.498	1601
平均值	10.49	1563.83
RSD	0.12%	1.41%

0.05mg/kg，0.5mg/kg，10mg/kg 3 种不同浓度的氯吡脲标准品，每个浓度平行制备 3 份样品，计算加标回收率及相对标准偏差（见表 4）。

表 4　加标回收率及重现性

实测值 (mg/kg)	添加量 (mg/kg)	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD(%)
9.828	10	98.28		
10.463	10	104.63	100.52	3.54
9.866	10	98.66		
0.520	0.5	103.96		
0.525	0.5	105.06	105.82	2.21
0.542	0.5	108.44		
0.042	0.05	84.32		
0.046	0.05	91.17	88.48	4.12
0.045	0.05	89.93		

2.5.3　最低检出限和定量限　基于实际空白样品中添加 0.05 mg/kg 氯吡脲标准品分析结果，按 3 倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低检出限为 0.003mg/kg，按 10 倍信噪比计算对应的浓度为方法的最低定量限为 0.01mg/kg（见图 3）。

2.6　实际样品测定

采用本方法对市场上购买的猕猴桃、西瓜、黄瓜等 3 种样品进行分析检测，猕猴桃样品未检出氯吡脲，西瓜和黄瓜样品中检出氯吡脲，但均未达到最低定量限（见图 4）。

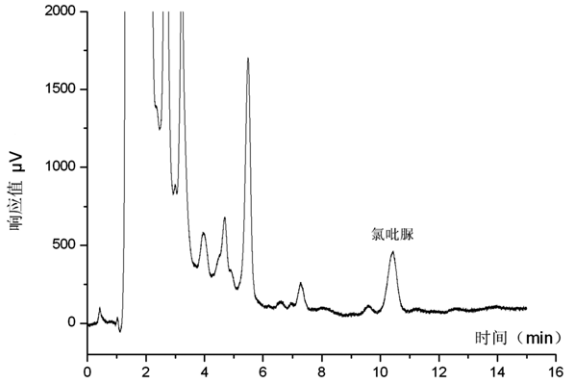

图 3　空白样品中添加 0.05mg/kg 标准品谱图

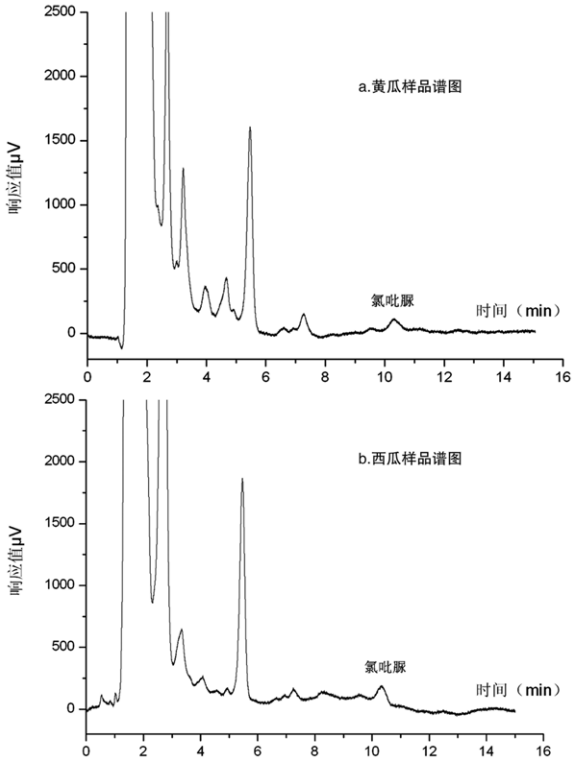

图 4　实际样品谱图

参考文献

[1] 张卫炜 , 杨永珍 . 氯吡脲的研究及应用进展 . 农药科学与管理 , 2006, 27(5): 36-40

[2] 胡江涛 , 盛毅 , 方智 , 等 . 分散固相萃取 - 高效液相色谱法快速检测猕猴桃中的氯吡脲 . 色谱 , 2007,25(3): 441-442

[3] 郑文慧 , 叶江雷 , 王秀彬 , 等 . 分散固相萃取法在农药残留检测中应用的进展 . 分析仪器 , 2011, (4): 23-27

[4] 许鹏军 , 高晓莎 , 张红艳 , 等 . 分散固相萃取 - 气相色谱四极杆质谱联用测定 9 种果品中的螺螨酯残留 . 分析化学 , 2008, 36(11): 1515-1520

[5] 朱明达 , 陈冬东 , 马微 , 等 . 分散固相萃取 / 高效液相色谱 - 串联质谱法同时测定中药和保健食品中 7 种胰岛素分泌促进剂 2011, 39(2): 213-218

[6] 刘咏梅 , 王志华 , 储晓刚 . 凝胶渗透色谱技术在农药残留分析中的应用 . 分析测试学报 , 2005,24(2): 123-127

[7] 于胜良 , 杨桂朋 , 付萌 . 凝胶渗透色谱净化 - 气相色谱 / 串联质谱分析蘑菇中的 36 种农药残留 . 色谱 , 2007,25(4): 581-585

[8] 宋欢 , 连庚寅 , 杜利君 , 等 . 凝胶渗透色谱 - 液相色谱法测定辣椒及其制品中对位红和苏丹红 . 食品科学 , 2006,27(12): 611-613

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net