

# 分散固相萃取-流动注射化学发光法速测果蔬中残留氯吡脞研究

高向阳<sup>1,2</sup>, 王莹莹<sup>1</sup>, 王珊<sup>2</sup>

(1. 郑州科技学院 食品科学与工程学院, 河南 郑州 450064; 2 河南农业大学 食品科学技术学院, 河南 郑州 450002)

**摘要:**以西瓜、草莓、葡萄、猕猴桃、西红柿、黄瓜等为测试样品, 样品中的氯吡脞经乙腈提取、N-丙基乙二胺(PSA)分散固相萃取(DSPE)净化, 利用其对 luminol-KIO<sub>4</sub> 化学发光体系的增敏作用进行了测定, 以期建立的分散固相萃取-流动注射化学发光法快速测定果蔬中残留氯吡脞的新方法。结果表明: 该方法的线性范围为  $1.0 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-5}$  mol/L, 相关系数  $r=0.9993$ , 对  $1.0 \times 10^{-10}$  mol/L 氯吡脞 11 次平行测定的相对标准偏差为 1.5%, 按 3 倍标准偏差计算的方法检出限为 0.163 ng/g, 加标回收率为 89.7%~98.9%。表明该法线性范围宽、灵敏度高、设备简单, 其用于测定果蔬中残留氯吡脞的结果比较理想。

**关键词:**分散固相萃取; 流动注射化学发光; 果蔬; 氯吡脞

**中图分类号:**O 657.39 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0026-04

氯吡脞(Forchlorfenuron, CPPU)是具有细胞分裂素活性的一种低毒苯脞类植物生长调节剂<sup>[1]</sup>, 具有提高光合作用效率和酶的活性、促进器官形成和蛋白质合成、防止落花落果、促进果实增大等作用<sup>[2]</sup>, 已在生产中得到广泛应用<sup>[3-5]</sup>。由于用氯吡脞处理过的果实常出现苦味<sup>[3]</sup>, 且摄入量过多会危害人体健康<sup>[6]</sup>。因此, 建立一种快速简便、灵敏准确、成本低廉的检测果蔬中氯吡脞残留的技术, 对维护食品安全具有一定的现实意义。

目前, 测定 CPPU 的方法有高效液相色谱法<sup>[7-9]</sup>、超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用法<sup>[10]</sup>、气相色谱法<sup>[11]</sup>、酶联免疫法<sup>[12]</sup>、高效液相色谱-串联质谱法<sup>[13]</sup>等。这些方法有的操作复杂、成本较高; 有的灵敏度较低, 无法满足工作需要。分散固相萃取法具有溶剂使用量少、污染少、操作简便、回收率高等优点<sup>[14]</sup>, 是一种有效的果蔬样品前处理技术<sup>[15-18]</sup>。但用分散固相萃取-流动注射化学发光法测定 CPPU 研究尚鲜见文献报道。该试验基于 CPPU 对 luminol-KIO<sub>4</sub> 化学发光体系的增敏作用, 以西瓜、草莓、葡萄、猕猴桃、西红柿、黄瓜等为测试样品, 研究了测定果蔬中 CPPU 的新型分析方法, 以期对果蔬中氯吡脞的快速、经济检测提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试西瓜、草莓、葡萄、猕猴桃、西红柿、黄瓜等样品购于郑州市丹尼斯超市。

IFFM-D 型流动注射生物发光分析仪、IFFS-A 型多功能化学发光检测器(西安瑞迈电子科技有限公司); SYZ-B 型石英亚沸高纯水蒸馏器(江苏省宜兴市勤华石英玻璃仪器厂); 电热恒温鼓风干燥箱(上海新苗医疗器械制造有限公司); FA2004A 电子天平(上海精天电子仪器有限公司); 美的榨汁搅拌机(广东美的生活电器制造有限公司); 涡旋混合器(江苏省金坛市医疗仪器厂); TDL-5-A 型低速台式离心机(上海安亭科学仪器厂)。

$2.0 \times 10^{-2}$  mol/L 鲁米诺贮备液: 称取鲁米诺 0.8850 g(称准至 0.0001 g)用 0.080 mol/L 氢氧化钠溶解并定容于 250 mL 棕色容量瓶中, 混匀, 避光保存 2 周后使用。使用时临用逐级稀释至所需浓度。

$1.0 \times 10^{-2}$  mol/L 高碘酸钾贮备液: 称取 105℃干燥至恒重的高碘酸钾 0.2300 g, 用 0.050 mol/L 氢氧化钠溶解并定容于 100 mL 棕色容量瓶中, 备用。使用时临用逐级稀释至所需浓度。

$2.0 \times 10^{-2}$  mol/L 氯吡脞标准贮备液: 准确称取 105℃干燥至恒重的氯吡脞 0.2477 g 用无水乙醇溶解并定容于 50 mL 容量瓶中, 使用时逐级稀释至所需浓度。

所用试剂均为分析纯, 水为二次去离子石英亚沸重蒸水。玻璃器皿均用(1+4)硝酸溶液浸泡 6 h 以上, 用重蒸水洗净后使用。

**第一作者简介:**高向阳(1949-), 男, 本科, 教授, 现主要从事食品分析及天然资源研究与开发研究等工作。E-mail: ndgaoyx@163.com.

**基金项目:**河南省重点学科建设项目资助项目(10466-X-082301)。

**收稿日期:**2013-05-14

## 1.2 试验方法

1.2.1 标准曲线的绘制 配制  $1.00 \times 10^{-11} \sim 1.00 \times 10^{-5}$  mol/L 氯吡脞系列标准溶液各 50.00 mL,同时配制空白溶液,在优化试验条件下,按表 1 设定的工作参数测定各溶液。以氯吡脞物质质量浓度负对数为横坐标,相对化学发光强度为纵坐标,绘制标准曲线。

1.2.2 样品处理与测定 样品匀浆后准确称取 5.0000 g 左右于 50 mL 离心管中,加入 5.00 mL 乙腈,涡旋振荡 2 min,超声提取 20 min 后,加入 2.00 g 无水  $\text{MgSO}_4$  和 0.50 g NaCl,涡旋振荡 2 min,以 5 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移至小烧杯中。将离心管中余剩样品再次加入 5.00 mL 乙腈,按上述步骤和条件振荡,超声提取,离心分离,合并上清液。准确吸取离心后的提取液 2.00 mL 于 5 mL 离心管中,加入 100 mg N-丙基乙二胺(PSA)和 100 mg 无水  $\text{MgSO}_4$ ,涡旋振荡 2 min,以 5 000 r/min 离心 2 min,将上清液移至干净梨形瓶中,旋转蒸发至近干,用无水乙醇定量转移并定容于 50 mL 容量瓶中,同时配制空白溶液<sup>[16-18]</sup>。在与标准曲线完全相同的条件下测定,由标准曲线或回归方程求出 CPPU 的物质的量浓度  $c(\text{mmol/mL})$ ,按公式计算样品中 CPPU 的质量分数  $\omega$ :

$$\omega(\mu\text{g/g}) = \frac{50.00 \times c \times \frac{10.00}{2.00} \times 247.68 \times 1\,000}{m},$$

式中: $m$  为称取的样品质量,g;247.68 为氯吡脞的毫摩尔质量,mg/mmol。

## 2 结果与分析

### 2.1 化学发光仪工作参数设定

在光电倍增管负高压为 450 V、仪器增益为 1 时,对化学发光仪工作参数进行优化。结果表明,按表 1 工作参数运行,仪器的发光信号稳定,测定结果重现性较好。

表 1 化学发光仪工作参数的设定

Table 1 Working parameters for the chemiluminescence instrument

步数 Step	时间 Time /s	主泵速 Speed of the main pump /r·min <sup>-1</sup>	副泵速 Speed of the vice-pump /r·min <sup>-1</sup>	重复次数 Times of repetition	阀位 Valve location	数据读取 Data reading
1	5	45	45	1	左	是
2	5	45	45	1	右	是
3	35	55	55	0	左	是

### 2.2 鲁米诺溶液中 NaOH 浓度的选择

鲁米诺浓度为  $4.0 \times 10^{-4}$  mol/L、高碘酸钾溶液为  $2.0 \times 10^{-4}$  mol/L(含 0.05 mol/L NaOH)、CPPU 溶液为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时,按表 1 工作参数考察鲁米诺溶液中 NaOH 在 0.005~0.100 mol/L 浓度范围对发光体系的影响。由图 1 可知,鲁米诺溶液中氢氧化钠浓度为 0.080 mol/L 时相对化学发光强度最大,因此,选择鲁米

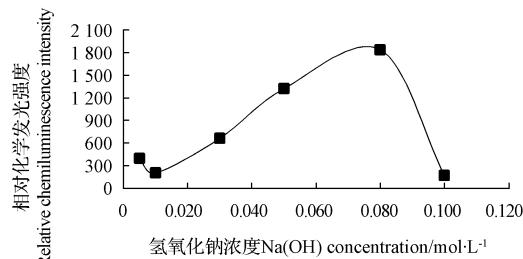


图 1 鲁米诺溶液中氢氧化钠浓度对相对化学发光强度的影响

Fig. 1 Effect of sodium hydroxide concentration in luminol on the relative chemiluminescence intensity

诺溶液中氢氧化钠浓度为 0.080 mol/L。

### 2.3 高碘酸钾溶液中 NaOH 浓度的选择

鲁米诺浓度为  $4.0 \times 10^{-4}$  mol/L(含 0.080 mol/L NaOH)、高碘酸钾溶液为  $2.0 \times 10^{-4}$  mol/L、CPPU 溶液为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时,考察高碘酸钾溶液中 NaOH 在 0.040~0.120 mol/L 范围对发光体系的影响。由图 2 可知,高碘酸钾溶液中氢氧化钠浓度为 0.050 mol/L 时相对化学发光强度最大,因此,选择高碘酸钾溶液中氢氧化钠浓度为 0.050 mol/L。

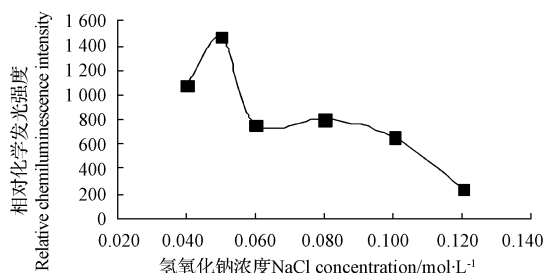


图 2 高碘酸钾中氢氧化钠浓度对相对化学发光强度的影响

Fig. 2 Effect of sodium hydroxide concentration in potassium periodate on the relative chemiluminescence intensity

### 2.4 鲁米诺浓度的选择

高碘酸钾溶液为  $2.0 \times 10^{-4}$  mol/L(含 0.05 mol/L NaOH)、CPPU 溶液为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时,考察鲁米诺溶液(含 0.08 mol/L NaOH)在  $4.0 \times 10^{-5} \sim 7.5 \times 10^{-5}$  mol/L 范围对相对化学发光强度的影响。由图 3 可知,鲁米诺浓度为  $6.5 \times 10^{-5}$  mol/L 时相对化学发光强度最大,故选择鲁米诺浓度为  $6.5 \times 10^{-5}$  mol/L。

### 2.5 高碘酸钾浓度的选择

鲁米诺溶液为  $6.5 \times 10^{-5}$  mol/L(含 0.08 mol/L NaOH)、CPPU 溶液为  $1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 时,考察高碘酸钾溶液(含 0.05 mol/L NaOH)在  $1.25 \times 10^{-4} \sim 3.00 \times 10^{-4}$  mol/L 范围对相对化学发光强度的影响。由图 4 可知,高碘酸钾浓度为  $2.25 \times 10^{-4}$  mol/L 时相对化学发光强度最大。故选择高碘酸钾浓度为  $2.25 \times 10^{-4}$  mol/L。

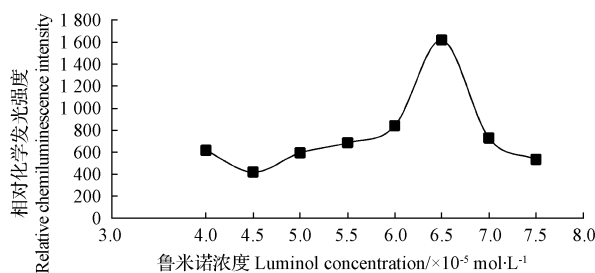


图3 鲁米诺浓度对相对化学发光强度的影响

Fig. 3 Effect of luminol concentration on the relative chemiluminescence intensity

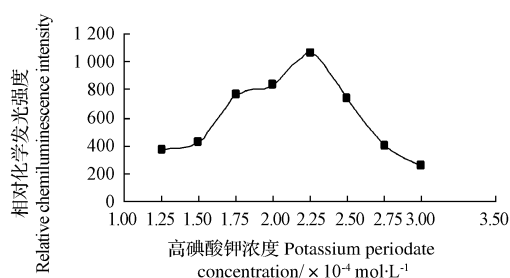


图4 高碘酸钾浓度对相对化学发光强度的影响

Fig. 4 Effect of potassium periodate concentration on the relative chemiluminescence intensity

## 2.6 干扰试验

在选定的最佳试验条件下,考察与 CPPU 溶液共存组分的干扰情况,结果表明,对于  $1.0 \times 10^{-8}$  mol/L 的 CPPU 溶液,测定的相对误差不大于  $\pm 5\%$  时,500 倍的  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ ;20 倍的  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ ;30 倍的除虫脲、灭幼脲、杀铃脲、氟铃脲、氟苯脲、氟啶蜚脲、氟虫脲、氟啶脲均不干扰测定。

## 2.7 标准曲线的绘制及相关系数的确定

由图 5 可知, CPPU 溶液在  $1.0 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围有良好的线性关系,线性方程为  $y = -84.714x + 1340.6$ ,  $R^2$  值为 0.9987,相关系数  $r$  为 0.9993。

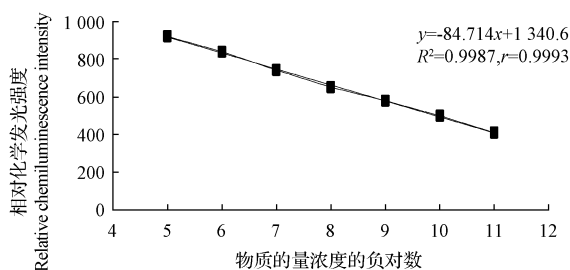


图5 CPPU 的标准曲线

Fig. 5 Standard curve of Forchlorfenuron

## 2.8 方法检出限和精密度确定

在优化试验条件下对  $1.0 \times 10^{-10}$  mol/L CPPU 标准溶液进行了 11 次平行测定,相对标准偏差 RSD

为 1.5%。按 3 倍标准偏差计算的方法检出限为 0.163 ng/g。当前不同国家针对不同作物制定的氯吡脞的最大限量值(Maximum Residue Limit, MRL)不同,范围为  $10 \sim 100 \mu\text{g}/\text{kg}^{[19]}$ ,用该方法可以满足对果蔬中氯吡脞残留的测定。

## 2.9 测定结果及回收率

在优化试验条件下,按 1.2.2 处理并进行 6 次平行测定,结果表明,所取样品均未检出 CPPU,说明样品中 CPPU 含量低于该方法检出限。按 1.2.2 操作并进行加标回收率试验,每个加标水平平均进行 6 次平行测定,用格鲁布斯(Grubbs)法检验无可疑值后,取平均值。由表 2 可知,平均加标回收率为 89.7%~98.9%。

表2 样品回收率测定结果

Table 2 Determination results of recoveries on samples

样品 Sample	CPPU 加入量 Adding amount of CPPU/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	加标后测定平均值 The average after adding/ $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$	加标回收率 Recovery /%	平均回收率 Average of recovery/%
西瓜 Watermelon	0.020	0.0178	89.0	92.2
	0.060	0.0550	91.7	
	0.180	0.172	95.8	
草莓 Strawberry	0.020	0.0169	84.6	89.7
	0.060	0.0546	91.0	
	0.180	0.168	93.5	
猕猴桃 Kiwifruit	0.020	0.0177	88.6	95.3
	0.060	0.0596	99.4	
	0.180	0.176	97.9	
葡萄 Grape	0.020	0.0188	94.1	98.9
	0.060	0.0597	99.5	
	0.180	0.186	103.1	
西红柿 Tomato	0.020	0.0181	90.6	95.5
	0.060	0.0578	96.3	
	0.180	0.179	99.7	

## 3 结论

样品预处理采用 PSA 分散固相萃取,操作简单快速,节省分析成本,净化效果较为理想。将分散固相萃取前处理技术与高灵敏度的流动注射化学发光分析技术相结合,测定果蔬中残留氯吡脞,使各自的技术特点得到充分发挥。对样品进行加标回收率试验,平均回收率为 89.7%~98.9%,结果较令人满意,该试验为果蔬中残留氯吡脞的测定提供了一种灵敏、可靠、成本低廉,操作简便的新型分析方法。

## 参考文献

- [1] 齐明芳. 三种常用坐果激素主要成分在番茄中的残留[J]. 农药, 2010, 49(7): 512-513.
- [2] 齐明芳. 氯吡脞在甜瓜果实中的残留分析[J]. 江苏农业科学, 2010, 39(6): 486-487.
- [3] 聂磊, 刘鸿先. 植物生长调节剂影响沙田柚内源激素水平的研究[J]. 生态科学, 2001, 20(3): 44-50.
- [4] 边庆花, 文辉, 侯士聪, 等. 1-(2-氯-4-吡啶基)-3-苯基脞的高效液相色谱分析[J]. 化学试剂, 2005, 27(6): 361-362.
- [5] 张锋锋, 苟金萍, 姜瑞. 氯吡脞在设施甜瓜中的消解动态与残留测定[J]. 中国农学通报, 2011, 27(25): 200-204.

- [6] 孙大利,郑尊涛,叶火春,等. 氯吡啶在葡萄中的残留分析方法及消解动态[J]. 农药,2011,50(10):751-753.
- [7] 高立明,王广成,吴春先,等. 氯吡啶的高效液相分析方法[J]. 农药科学与管理,2007,25(2):9-12.
- [8] Liu Q, Gong D X, Peng X C, et al. Determination of forchlorfenuron dissipation and residue in cucumbers and red soil[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2010, 17(1): 27-31.
- [9] 陈长龙,李建中,王会利,等. 氯吡啶在土壤和西瓜中的残留分析[J]. 环境化学,2006,25(6):789-792.
- [10] 徐永,寿林飞,虞森,等. 超高效液相色谱-串联四级杆质谱联用法测定水果中多效唑、氯吡啶和咪鲜胺的残留[J]. 农药学报,2012,14(1):61-66.
- [11] 姜欣,周宁. 调吡啶的气相色谱分析[J]. 农药,1996,35(9):21-22.
- [12] Suarez-Pantaleon C, Mercader J V, Agullo C, et al. Production and characterization of monoclonal and polyclonal antibodies to forchlorfenuron [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2008, 56(23): 11122-11131.
- [13] 张莹,鹿毅,杨涛,等. 高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬中7种植物生长促进剂残留[J]. 分析测试学报,2012,31(4):442-447.
- [14] 郝开拓,孔祥虹,杜宝中,等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法分析蕨菜、黑米中53种农药残留量[J]. 分析实验室,2011,30(6):69-74.
- [15] 刘浩,周芳,李月娥. 分散固相萃取法对果蔬中农药残留前处理的优化[J]. 环境科学与管理,2008,33(5):137-140.
- [16] 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啶[J]. 色谱,2007,25(3):441-442.
- [17] 毛建奎,雷绍荣,郭灵安,等. QuEChERS 前处理快速测定豆芽中氯吡啶残留[J]. 西南农业学报,2012,25(4):1432-1438.
- [18] 张立金,王晓. 基质固相分散-气相色谱-质谱法检测水果中的农药多残留[J]. 食品科学,2009,30(16):262-265.
- [19] 雷绍荣,郭灵安,毛建奎,等. 氯吡啶残留检测技术进展及趋势[J]. 中国测试,2011,37(6):53-56.

## Determination of Forchlorfenuron in Garden Stuff by Flow Injection-chemiluminescence with Dispersive Solid-Phase Extraction

GAO Xiang-yang<sup>1,2</sup>, WANG Ying-ying<sup>1</sup>, WANG Shan<sup>2</sup>

(1. Department of Food Science and Engineering, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou, Henan 450064; 2. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou, Henan 450002)

**Abstract:** Taking watermelon, strawberry, grape, kiwifruit, tomato, cucumber as materials, a new method was established for determination of forchlorfenuron in garden stuff by flow injection-chemiluminescence with dispersive solid-phase extraction. Forchlorfenuron was extracted with acetonitrile and purified with primary secondary amine. Since forchlorfenuron could enhanced the reaction between luminol and potassium periodate, it could be detected by flow injection-chemiluminescence method. The results showed that the linear ranges was  $1.0 \times 10^{-11} \sim 1.0 \times 10^{-5}$  mol/L, the correlation coefficient was 0.9993, the detection limit was 0.163 ng/g, the relative standard deviation (RSD) was 1.5% for 11 parallel determination, and the recovery between 89.7%~98.9%. This method has been successfully applied to the determination of forchlorfenuron in garden stuff samples because of the wide linear ranges and high sensitive.

**Key words:** dispersive solid-phase extraction; flow injection-chemiluminescence; garden stuff; forchlorfenuron

## 欢迎订阅《大豆科学》

《大豆科学》是由黑龙江省农业科学院主管主办的大豆专业领域学术性期刊,也是被国内外多家重要数据库和文摘收录源收录的重点核心期刊。主要刊登有关大豆遗传育种、品种资源、生理生态、耕作栽培、植物保护、营养肥料、生物技术、食品加工、药用功能及工业用途等方面的学术论文、科研报告、研究简报、国内外研究述评、学术活动简讯和新品种介绍等。

《大豆科学》主要面向从事大豆科学研究的科技工作者、大专院校师生、各级农业技术推广部门的技术人员及科技种田的农民。

《大豆科学》为双月刊,16开本,每期144页。国内外公开发行,国内每期订价:10.00元,全年60.00元,邮发代号:14-95。国外每期订价:10.00美元(含邮资),全年60美元,国外代号:Q5587。全国各地邮局均可订阅,也可向编辑部直接订购。

热忱欢迎广大科研及有关企事业单位刊登广告,广告经营许可证号:2301030000004。

地址:哈尔滨市南岗区学府路368号《大豆科学》编辑部(邮编:150086)

电话:0451-86668735

网址:www.haasep.cn

E-mail: dadoukx@sina.com ddkexue@126.com