

一柱两用——蔬菜及动物性食品中环丙氨嗪的提取与检测

背景

环丙氨嗪又名灭蝇胺，是一种选择性昆虫生长调节剂，目前同时存在 NY/T 1725-2009 蔬菜中灭蝇胺残留量的测定和 GB 31658.12-2021 动物性食品中环丙氨嗪残留量的测定。这两个方法用到的色谱分析方法都是 HILIC 亲水相互作用体系，但色谱柱规格差别较大，曾有客户提出是否两个标准可以合并在一个色谱柱条件下进行分析，针对这一热点需求，纳谱分析在国标方法的指导原则框架下对环丙氨嗪检测的整体解决方案进行了探索性研究，选择 ChromCore HILIC-CM 环丙氨嗪专用柱 4.6×150 mm 3 μm，可以有效解决客户的问题，加快分析效率。

适用范围

动物性食品：参照 GB 31658.12-2021 食品安全国家标准 动物性食品中环丙氨嗪残留量的测定 高效液相色谱法，适用于羊和禽肌肉、脂肪、肝脏及羊肾脏组织中环丙氨嗪的提取与检测。

蔬菜：参考农业部标准 NY/T 1725-2009 蔬菜中灭蝇胺残留量的测定 高效液相色谱法，优化了样品提取方法和固相萃取方法。本方法适用于豇豆、黄瓜、番茄、菜豆、甘蓝、大白菜、芹菜、萝卜等蔬菜中环丙氨嗪残留量的测定。

实验步骤

1、溶液配制

1.1 2.5 mmol/L 乙酸铵溶液：称取乙酸铵 0.19 g，加水 1000 g 使溶解，用乙酸调 pH 至 5.0；

1.2 1%三氯乙酸溶液：取三氯乙酸 1 g，用水溶解并稀释至 100 mL；

1.3 动物性食品提取液：取 1%三氯乙酸溶液 15 mL，用乙腈稀释至 100 mL；

1.4 蔬菜提取液：吸取 200 mL 甲醇，使用盐酸溶液（吸取 8.5 mL 盐酸至 1 L 容量瓶中，用水定容至刻度线）定容至 1 L 容量瓶中。

1.5 0.1 mol/L 盐酸溶液：取盐酸 9 mL，用水稀释至 1000 mL；

1.6 5%氨水甲醇溶液：取氨水 5 mL，用甲醇稀释至 100 mL；

1.7 流动相：称取 2.5 mmol/L 乙酸铵溶液 40 g，乙腈 758.4 g，混合均匀。

2、样品制备

2.1 动物性食品：取试料 5 g ± 0.02 g，于 50 mL 离心管，加提取液（1.3）15 mL，高速均质使均匀分散，以 5000 rpm 离心 5 min，取上清液于 100 mL 分液漏斗中，残渣加提取液（1.3）10 mL，重复提取 1 次，合并上清液，加正己烷 30 mL，振摇 2 min，静置使分层。收集下层液于 100 mL 鸡心瓶中，50 °C 水浴旋转蒸发至 1 mL（需控制真空度防止爆沸），转至 10 mL 刻度离心管中，用提取液淋洗鸡心瓶 2 次，每次 2 mL，合并提取液，以 10000 rpm 离心 5 min，取上清液，备用。

2.2 蔬菜：称取样品 20 g（准确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，加入提取液（1.4）30 mL，高速匀浆 2 min，以 5000 r/min 离心 15 min，取上清液，残渣和离心管再加提取液（1.4）30 mL，高速匀浆 2 min，以 5000 r/min 离心 15 min，取上清液，残渣和离心管再加提取液（1.4）20 mL，高速匀浆 2 min，以 5000 r/min 离心 15 min，取上清液，合并三次上清液，使用提取液定容至 100 mL 容量瓶中，混匀备用。

3、净化

3.1 动物性食品

SelectCore MCX 固相萃取柱 60 mg/3 mL：

（1）活化：依次用甲醇 3 mL 和水 3 mL 活化；

- (2) 上样：取 2.1 中上清液过柱，控制滴速一秒一滴；
- (3) 淋洗：依次用甲醇 3 mL、0.1 mol/L 盐酸溶液 3 mL、水 3 mL 和甲醇 3 mL 淋洗，抽干小柱；
- (4) 洗脱：用 5%氨水甲醇溶液 5 mL 洗脱，收集洗脱液，于 50 °C 氮气吹干，用 1.0 mL 流动相复溶，涡旋 30 s，滤膜过滤，供高效液相色谱仪测定。

3.2 蔬菜

SelectCore SCX 固相萃取柱 500mg/6mL；

- (1) 活化：依次使用 5.0 mL 甲醇、5.0 mL 水活化；
- (2) 上样：准确吸取 2.2 中制备好的上清液 10 mL，转移至固相萃取柱上，弃去流出液；
- (3) 淋洗：依次使用 5.0 mL 水、5.0 mL 甲醇淋洗，弃去淋洗液，并抽干小柱；
- (4) 洗脱：用 6.0 mL 5%氨水甲醇溶液洗脱，收集全部洗脱液；洗脱液于 50 °C 氮气下吹干，用 1 mL 流动相溶解残余物，涡旋混匀，过 0.45 μm 微孔有机滤膜，供高效液相色谱仪测定。

4、高效液相色谱法测定

实验条件：

Column: ChromCore HILIC-CM 环丙氨嗪专用柱 3 μm

Dimension: 4.6×150 mm

Mobile Phase: 96/4 v/v 乙腈/2.5 mM 乙酸铵溶液, pH5.0

Flow rate: 1 mL/min

Temperature: 30 °C

Injection: 20 μL

Detection: UV 214 nm

实验谱图及加标回收率数据

实验谱图

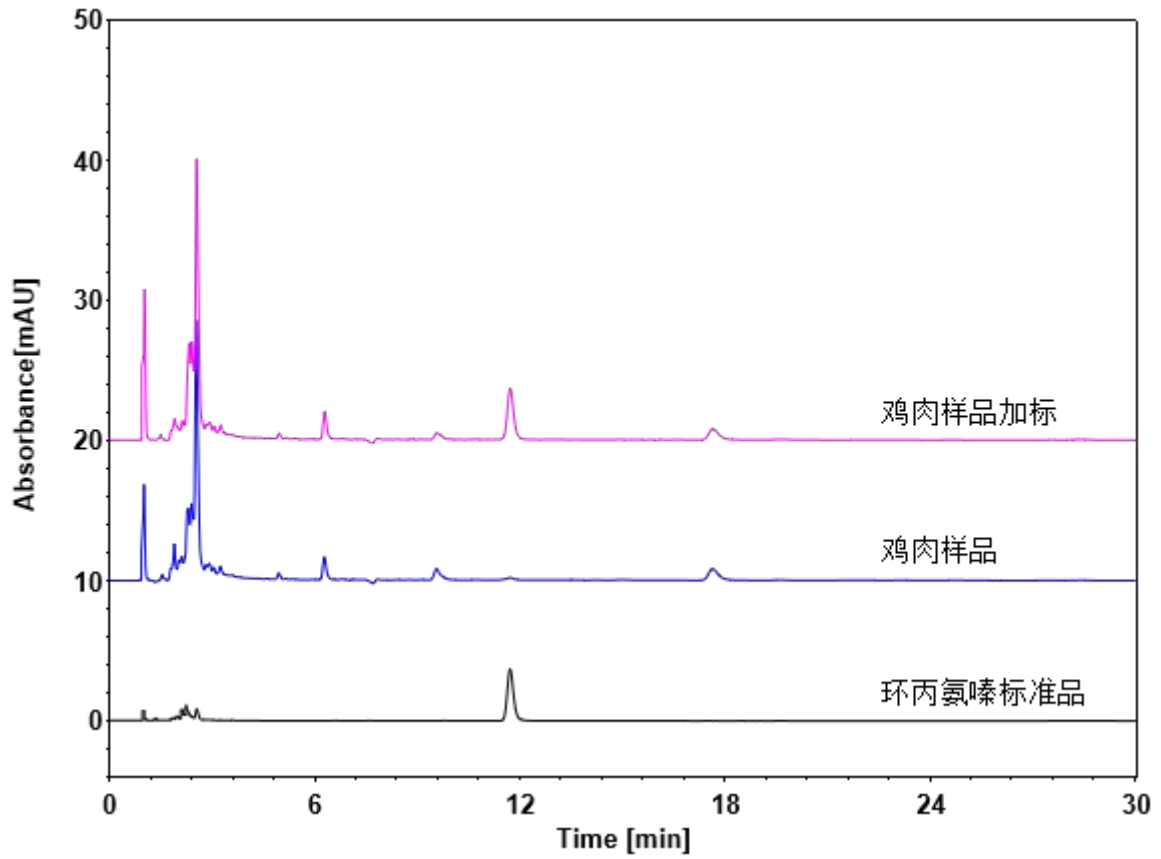


图 1 环丙氨嗪标准品、鸡肉样品、鸡肉样品加标（50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）对比图

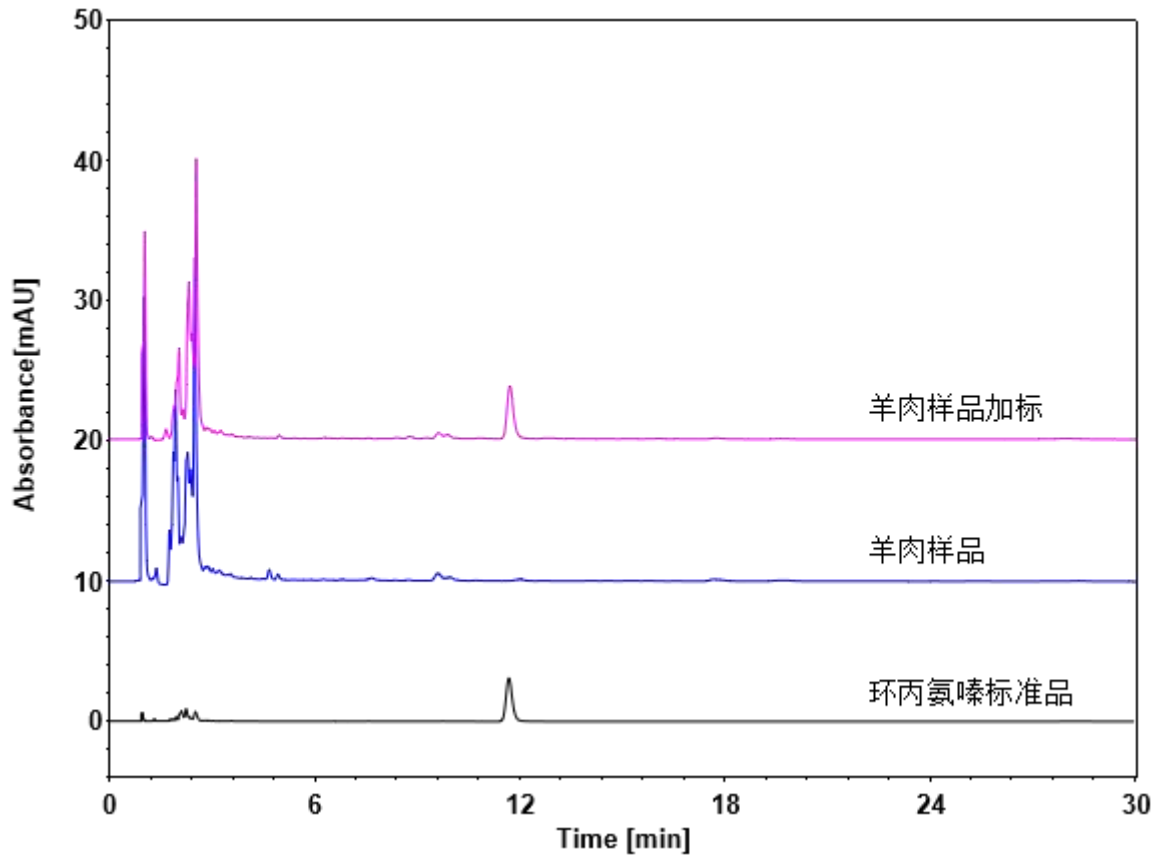


图 2 环丙氨嗪标准品、羊肉样品、羊肉样品加标（50 µg/kg）对比图

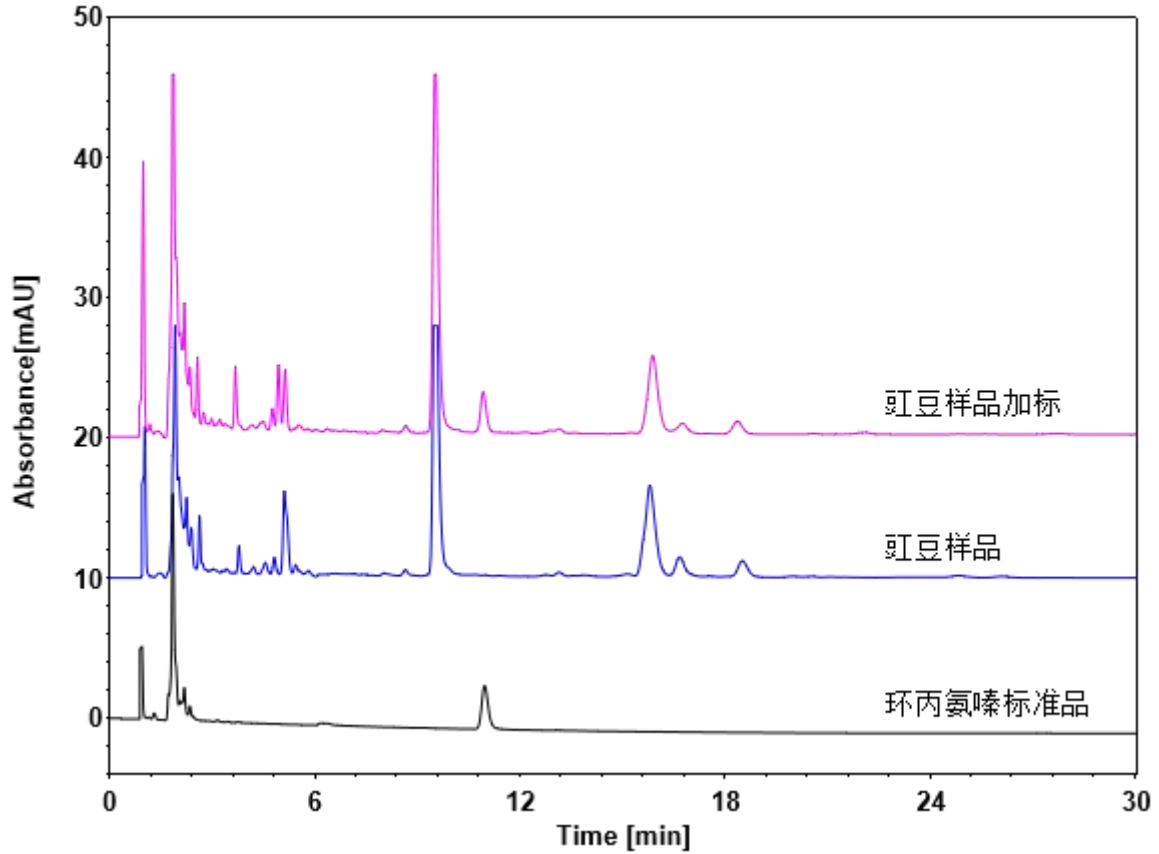


图 3 环丙氨嗪标准品、豇豆样品、豇豆样品加标（200 µg/kg）对比图

加标回收率数据

样品	加标量	回收率
羊肉	50 µg/kg	85.36%
鸡肉	50 µg/kg	87.21%
豇豆	200 µg/kg	96.52%

实验结果及讨论

由此可见，动物性食品经 SelectCore MCX 固相萃取柱净化后，植物源性食品在 SelectCore SCX 固相萃取柱净化后，在同一根 ChromCore HILIC-CM 环丙氨嗪专用柱 4.6×150 mm 3 µm，都可以实现样品基质杂质不干扰环丙氨嗪的检测，加标回收率满足检测要求。

根据客户反馈，国标标准规定的 2.1mm 内径色谱柱对液相色谱仪管路及流通池的要求较高，一般推荐用半微量流通池来进行分析，而如果没有选择，容易出现峰形异常，分离度较差等问题。相比之下，4.6 mm 内径色谱柱更适用在常规液相色谱仪上并实现该检测方法的耐用性更好，可以在不同的色谱仪器上达到测试结果重现。因此，我们最终选择 4.6×150 mm, 3 µm 这个规格的分析柱进行分析测定。

订购信息

产品描述	规格	货号
ChromCore HILIC-CM 环丙氨嗪专用柱		
SelectCore MCX 固相萃取柱	60mg/3mL	MCX060-030060-1
SelectCore SCX 固相萃取柱	500mg/6mL	SCX060-060500-1