

# 高效液相色谱法测定竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚和联苯

何淑娟, 范斌\*, 李润岩, 俞婧, 张京

(河北省食品质量监督检验研究院, 河北省食品安全重点实验室, 河北 石家庄 050051)

**摘要:** 建立高效液相色谱测定竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯的方法。以甲醇为提取溶剂, 用索氏提取法提取竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚和联苯3种保鲜剂。以甲醇-水(体积比 70:30)为流动相, 流速 1.0 mL/min, 采用 C<sub>18</sub> 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm)分离, 紫外检测器检测, 检测波长 247 nm, 进样量 20 μL。方法的相关系数均大于 0.999, 最低检出限为 0.01 μg/mL, 平均回收率为 95.8%~97.1%, 相对标准偏差为 1.4%~2.6%。应用所建立的方法测定一次性竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯的残留量, 结果表明: 该方法样品处理简单, 色谱分离完全, 结果准确可靠, 适于竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚和联苯的分析检测。

**关键词:** 高效液相色谱; 竹筷; 噻苯咪唑; 邻苯基苯酚; 联苯

## Determination of Thiabendazole, O-phenylphenol and Diphenyl Residues in Chopsticks by High Performance Liquid Chromatography

HE Shu-juan, FAN Bin\*, LI Run-yan, YU Jing, ZHANG Jing

(Key Laboratory of Food Safety of Hebei, Hebei Institute of Food Quality Supervision Inspection and Research, Shijiazhuang 050051, China)

**Abstract:** A high performance liquid chromatography method was developed for determining three fungicides including thiabendazole (TBZ), o-phenylphenol (OPP) and diphenyl (DP) residues in chopsticks. The residues were extracted with methanol by Soxhlet extraction, separated on Cosmosil C<sub>18</sub> column by using a mixture of methanol and water (70:30) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL/min and detected at 247 nm. The correlation coefficient and detection limit of this method were 0.999 μg/mL and 0.01 μg/mL, respectively. The recovery rates and relative standard deviations for TBZ, OPP and DP in a blank sample across three spike levels were 95.8%—97.1% and 1.4%—2.6%, respectively. This method proved simple, fast, highly efficient and accurate.

**Key words:** high performance liquid chromatography; chopsticks; thiabendazole (TBZ); o-phenylphenol (OPP); diphenyl (DP)

中图分类号: TS207.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0312-03

噻苯咪唑别名 2-(4-噻唑基)-苯并咪唑、杀菌灵、涕必灵, 为广谱性抗真菌剂, 具有内吸性, 即它可通过蒸腾流而在整个植物内运转分布, 具有很长的残效。它可控制感染, 而且可抑制芽孢发芽、干扰菌丝体的生长, 并影响分生孢子的形成。可用于水果保鲜, 具体应用可制成胶悬剂、液剂等供浸果, 也可制成果酱和烟薰剂, 用于柑橘、香蕉、等贮藏期防腐。邻苯基苯酚又名 2-羟基联苯或 2-苯基苯酚, 为白色薄片或块

状物或淡红色粉末, 极易溶于水。邻苯基苯酚是用途十分广泛的有机化工产品, 广泛应用于杀菌防腐<sup>[1-3]</sup>、合成纤维的染色载体<sup>[4]</sup>, 合成新型塑料、树脂和高分子材料的稳定剂和阻燃剂<sup>[5]</sup>等领域。

噻苯咪唑(TBZ)、邻苯基苯酚(DPP)、联苯(DP)3种杀菌剂具有高效广谱的杀菌防霉作用。已广泛应用于采收后的水果和蔬菜的防腐保鲜<sup>[6-12]</sup>。但过量使用对人体有致癌性、致畸性, 并可造成肝脏和肾脏严重受损<sup>[13]</sup>。

收稿日期: 2010-11-01

作者简介: 何淑娟(1982—), 女, 工程师, 硕士研究生, 研究方向为食品及相关产品的检测技术。E-mail: heshuj@163.com

\*通信作者: 范斌(1979—), 男, 工程师, 硕士研究生, 研究方向为仪器分析。E-mail: fbin2006@126.com

近年来,人们对防霉剂的研究越来越重视,主要以气相色谱和液相色谱法为主<sup>[14-20]</sup>。在竹制、木制卫生筷生产、运输过程中,常有过量加入杀真菌剂的情况。我国是竹筷消费和出口大国,因此,建立一种准确、快速的检验方法具有重大意义。

本实验采用高效液相色谱法同时测定竹簇中的噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯, 通过对样品提取和色谱条件的优化, 使回收率有很大的提高。方法分辨率高、灵敏度高、精密度好, 适用于竹簇中噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯的检测。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

竹筷为河北省内以原竹为材料，经加工而成的一次性筷子；甲醇(色谱纯) 中国迪马公司；噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯(标准品) 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司。

## 1.2 仪器与设备

Agilent 1200 超快速液相色谱仪(配有自动进样器、二元泵、紫外检测器) 美国 Agilent 公司; KQ-250DV 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司; 3K15 离心机 美国 Sigma 公司; N-EVAP 111 氮吹仪 美国 OA-SYS 公司; B-811 索氏提取器 瑞士步琪公司; XH-B 旋涡混匀器 江苏康健医疗用品有限公司。

### 1.3 方法

### 1.3.1 标准溶液的配制

标准储备液：分别准确称取适量的噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯标准品，用甲醇溶解并定容至 100mL，配置成噻苯咪唑 100 μg/mL、邻苯基苯酚 100 μg/mL、联苯 100 μg/mL 的储备液。

标准工作液：根据需要用甲醇将上述3种储备液混合后稀释成20、40、60、80、100 μg/mL。

### 1.3.2 样品前处理

从抽取的实验室样品中取样,把附在试样上的竹屑或碎片等清除干净。再将样品劈成厚约1mm、长小于1cm的竹条,精密称取1g(准确至0.001g)试样置于索氏提取装置中,加入150mL甲醇到接收瓶中,温度设置为90~95℃,抽提4h。用氮吹仪将提取液吹干,准确加入5.0mL甲醇溶解,样液用0.45μm微孔滤膜过滤至自动进样瓶中,供仪器分析用。

### 1.3.3 色谱分析条件

色谱柱: C<sub>18</sub> 柱(250mm × 4.6mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-水(体积比 70:30); 流速 1.0mL/min; 检测波长: 247nm; 进样量: 20 μL; 柱温: 25℃。

## 2 结果与分析

## 2.1 样品预处理的选择与优化

实验在相同色谱条件下, 对不同提取方式、提取溶剂和提取时间进行分析。结果表明: 以甲醇为提取溶剂, 采用索氏提取法连续不断地萃取样品中的噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯 4 h, 能够得到更有效的提取, 得到了很好的分离效果和峰形。采用索氏提取法, 回收率也较前两种方法有明显提高, 详见表 1、2。

表1 不同样品处理的结果

Table 1 Comparison among different sample pre-treatment methods

处理		提取方式		提取溶剂			提取时间/h			
类型	索氏抽提	振荡	超声	甲醇	乙醇	乙腈	乙醚	2	4	6
分离度	好	一般	一般	好	一般	一般	一般	一般	好	好

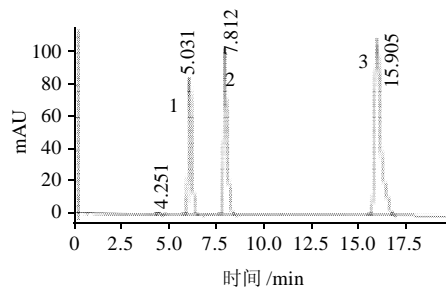
表2 不同提取方法回收率比较

**Table 2 Comparison of recovery rates of different extraction methods for TBZ, OPP and DP**

组分	超声萃取法/%	振荡萃取法/%	索氏抽提法/%
噻苯咪唑	81.5~92.6	80.2~91.8	95.8~96.5
邻苯基苯酚	81.2~92.8	80.5~91.4	96.2~97.0
联苯	82.1~92.3	80.2~91.6	96.3~97.1

## 2.2 色谱条件的优化

分别以甲醇-水及十二烷基磺酸钠-甲醇-乙腈-水-磷酸两组流动相体系进行色谱分析,结果显示:用这两个系统进行色谱分析,都能得到较好的峰形和分离度。但乙腈是一种神经性毒剂,毒性比甲醇大,可经皮肤、消化道吸收。其蒸气则可经呼吸道侵入体内。因此,利用甲醇-水为流动相,更为简单低毒高效,操作简便快捷。试验还分别以甲醇、甲醇-水=80:20、甲醇-水=70:30、甲醇-水=60:40、甲醇-水=1:1为流动相进行色谱分析,结果表明:当以甲醇-水的体积比为70:30为流动相时得到了分离度和峰形均较好的结果(图1)。



甲醇-水体积比 70:30 为流动相。

图1 噻苯咪唑(1)、邻苯基苯酚(2)、联苯(3)的标准色谱图  
Fig.1 Standard chromatograms of TBZ, OPP and DP

### 2.3 工作曲线和最低检出限

将 100  $\mu\text{g/mL}$  的噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯标准

储备液稀释成质量浓度 20、40、60、80、100  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作液, 每种质量浓度平行测 3 次, 取平均值, 用标品的质量浓度对色谱峰面积绘制标准曲线, 求得 3 种物质标准曲线回归方程和相关系数, 见表 3。

表 3 线性关系和检出限

Table 3 Linear equations and detection limits of the method for TBZ, OPP and DP

组分	线性关系	相关系数	最低检出限 ( $\mu\text{g/mL}$ )
噻苯咪唑	$Y=47.6621X + 25.5699$	$r=0.99979$	0.01
邻苯基苯酚	$Y=71.4573X - 21.2754$	$r=0.99994$	0.01
联苯	$Y=129.4788X - 49.9570$	$r=0.99991$	0.01

表 3 结果表明, 噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯在 20~100  $\mu\text{g/mL}$  的质量浓度范围内其峰面积与质量浓度呈良好的线性关系, 按 3 倍信噪比得出方法检出限为 0.01  $\mu\text{g/mL}$ 。

#### 2.4 精密度和回收率

选择未检出噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯的竹筷为基体, 分别添加质量浓度为 5、10、50  $\text{mg/kg}$  的噻苯咪唑、邻苯基苯酚、联苯标准液, 每个质量浓度水平重复测定 7 次, 求得加标回收率及精密度, 结果见表 4。

表 4 回收率和相对标准偏差的测定结果( $n=7$ )Table 4 Spike recovery rates and relative standard deviations of the method for TBZ, OPP and DP ( $n=7$ )

组分	添加量 ( $\text{mg/kg}$ )	平均回收率 /%	RSD/%
噻苯咪唑	5	96.5	1.4
	10	95.8	1.6
	50	96.2	2.5
邻苯基苯酚	5	97.0	1.7
	10	96.7	2.0
	50	96.2	2.3
联苯	5	96.8	2.6
	10	97.1	2.1
	50	96.3	1.5

### 3 结 论

本实验对检测一次性竹筷中噻苯咪唑、邻苯基苯酚及联苯残留量的方法进行研究。本实验通过对样品前处理方法和流动相的选择进行优化, 通过精密度、分离度和回收率实验, 结果表明, 该方法具有操作简便、重复性和准确度高等特性, 各项技术指标均完全满足检测需要。

#### 参考文献:

- [1] 季汉国. 邻苯基苯酚的生产与用途[J]. 广东化工, 2007, 34(12): 72-74.
- [2] 倪克, 吴杭军. 奥朴-1 号消毒液的杀菌试验[J]. 化学工业与工程技术, 1996, 17(4): 9-11.
- [3] MITCH EUGENE L. *O*-phenylphenol/alkoxylated amine wood protection compositions: US, 10/900835[P]. 2006-02-02.
- [4] HIDEAKI N, HYOGO-KEN H S. Color-stabilized monomer, process for producing the same: EP, 850916[P]. 1998-03-25.
- [5] BUYSCH H J, GLOCK V, GRIEHSSEL B, et al. Process for preparing 6-oxo-(6*H*)-dibenz-[c,e][1,2]-oxaphosphorins(ODOPS): US, 5650530[P]. 2000-07-26.
- [6] 沈静, 李明, 艾尔肯·依不拉音, 等. 高效液相色谱法测定果蔬中残留的噻苯咪唑、邻苯基苯酚及联苯[J]. 药物分析杂志, 2007, 27(6): 153-156.
- [7] NAKI Y, YUMI A, KIYOSHI T. Rapid simultaneous determination of *o*-phenylphenol, diphenyl, thiabendazole, imazalil and its major metabolite in citrus fruits by liquid chromatography-mass spectrometry using atmospheric pressure photoionization[J]. Chromatogr A, 2004, 1022(1/2): 145-150.
- [8] PROUSALIS K P, POLYGENIS D A. Determination of carbendazim, thiabendazole, and *o*-phenyl phenol residues in lemons by HPLC following sample clean-up by ion-pairing[J]. Anal Bioanal Chem, 2004, 379(3): 458-463.
- [9] WARDOWSKI W F, TING S V. Diphenyl residues in Florida grapefruit and oranges following actual and simulated long export shipments [J]. J Amer Soc Horticul Sci, 1979, 104(4): 440-443.
- [10] ITO Y, GOTO T. Simple and rapid determination of thiabendazole, imazalil, and *o*-phenyl phenol in citrus fruit using flow-injection electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 2003, 51(4): 861-866.
- [11] VERMA P, DASHORA L K. Post harvest physiconutritional changes in Kagzi limes(*Citrus aurantifolia* Swingle) treated with selected oil emulsions and diphenyl[J]. Plant Foods Hum Nutr, 2000, 55 (4): 279-284.
- [12] HU Y, YANG X. Determination of carbendazim and thiabendazole in tomatoes by solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography and fluorescence detection[J]. Se Pu, 2005, 23(6): 581-584.
- [13] RODRIGUEZ R, PICO Y, FONT G, et al. Analysis of post-harvest fungicides by micellar electrokinetic chromatography[J]. J Chromatogr A, 2001, 924(1/2): 387-396.
- [14] 牛增元, 包艳, 叶曦雯, 等. 高效液相色谱法测定水性涂料中的酚类防腐剂[J]. 分析试验室, 2008, 27(3): 48-50.
- [15] 马贺伟, 熊燕, 陈燕, 等. HPLC 测定皮革中防腐剂 TCMTB 的含量[J]. 中国皮革, 2010, 39(7): 45-47.
- [16] 牛增元, 包艳, 汤志旭, 等. 高效液相色谱法测定涂料中乙酸苯基汞防腐剂[J]. 分析试验室, 2007, 26(12): 80-82.
- [17] 张凤桦, 索有瑞, 王洪伦, 等. 毛细管气相色谱内标法测定防腐剂中丙酸[J]. 分析测试技术与仪器, 2007, 13(1): 67-69.
- [18] 张凤桦, 齐朝富, 涂杰, 等. 毛细管气相色谱内标法测定防腐剂中富马酸二甲酯[J]. 粮食储藏, 2007, 36(1): 40-42.
- [19] 杨林海, 刘金表, 龙玉珍, 等. 饲料防腐剂防霉效果判定的三种检测方法比较[J]. 广东饲料, 2009(4): 42-43.
- [20] 王卉卉, 叶曦雯, 于世涛, 等. 橡胶及橡胶制品中 4 种酚类防腐剂的高效液相色谱法测定[J]. 分析测试学报, 2010, 29(3): 226-231.