

复合型固相萃取-离子对反相液相色谱法测定蔬菜中的灭蝇胺残留

王成龙, 刘佳*, 王宇, 黄小清, 林泽珊, 赵金利, 谭锦萍, 黄松
(广州市食品检验所 广州 511400)

摘要 为建立复合型固相萃取-离子对反相液相色谱(IS-RPLC)快速、准确测定蔬菜中灭蝇胺残留的方法,采用碳酸氢铵溶液多次超声萃取方式提取目标物,经复合型固相萃取小柱净化,结合离子对反相液相色谱系统分离、测定。在 0.1~2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性范围呈线性(相关系数大于 0.998),方法检出限(LOD)达 0.012 mg/kg ,满足各类蔬菜基质对灭蝇胺残留的监管判定要求。通过加标验证,回收率在 77.7%~87.0% 范围,相对标准偏差(RSD)为 1.6%~3.7%。方法解决了灭蝇胺萃取回收率低、净化困难的问题,结合离子对试剂的 C8 色谱柱反相保留,使灭蝇胺出峰良好,抗干扰强。

关键词 离子对反相液相色谱;复合型固相萃取;灭蝇胺;蔬菜

文章编号 1009-7848(2022)09-0285-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.09.030

灭蝇胺(Cyromazine)为三嗪类化合物,属低毒类昆虫生长调节剂,常用于抵御菜豆、黄瓜、韭菜等蔬菜上的美洲斑潜蝇和潜叶蝇^[1-2]。灭蝇胺在许多国家获准登记并作为农药使用^[3]。在豆类蔬菜与瓜果类水果中,欧盟和美国的最大残留限量为 0.01 mg/kg ,我国明确规定灭蝇胺的最大残留限量不超过 0.5 mg/kg 。由于种植方式和农药施用不当等原因,使得灭蝇胺的滥用与违规添加现象时有发生^[4-6]。国家市场监督管理总局近年均有通报食用农产品豇豆中灭蝇胺残留超标的案例^[7]。灭蝇胺具有极性亲水、强内吸性的特点,易通过生物链富集作用,对人体的生殖系统、免疫系统、神经系统、内分泌系统造成损害,而滥用或违规添加可能会引发潜在的食品安全风险^[8-10]。

目前,针对灭蝇胺的检测方法主要有液相色谱法^[11]、液相色谱-串联质谱法^[12-16]、气相色谱-串联质谱法^[17]、分子印迹快检技术^[18-19]等。液相色谱-串联质谱法一般采用有机溶剂萃取,灭蝇胺极性大,方法的提取效率不高,且检测成本高昂、不易推广;气相色谱-串联质谱法需要对化合物衍生处理,前处理繁琐,测定干扰大;分子印迹技术存在一定的假阳性,在食品监管中存在结果的可靠性风险。依据《食品安全国家标准食品中农药最大残

留限量》^[20]的最新规定,灭蝇胺的指定判定检验方法为《蔬菜中灭蝇胺残留量的测定 高效液相色谱法》NY/T 1725-2009^[21],然而,该方法存在净化效果差,回收率偏低的缺点。该方法采用正相色谱柱——氨基柱进行分离,柱键合相氨基易脱落,导致柱寿命较短,柱的维护与储存难度大,分析平衡时间长,不适于批量检测。

本研究基于灭蝇胺检测方法,前处理采用复合型固相萃取净化,在目标物的提取与除杂上兼顾非极性保留与离子保留,改善净化效果并增强方法的选择性。色谱分析时,采用以硅胶基质固定相、离子对试剂为流动相的离子对反相液相色谱法,以使灭蝇胺这类强极性化合物有较好的保留,并期望建立起一个快速、高效、特异性好的检测方法以克服当下蔬菜基质灭蝇胺残留定性、定量相对复杂的监管痛点,为后续检测技术标准的整合更新提供技术参考。

1 材料与方 法

1.1 样品与试剂

豆角、黄瓜、大白菜、豇豆等具有代表性的蔬菜采买于广州市市场,并置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

灭蝇胺标准品,德国 Dr. Ehrenstorfer 公司;盐酸、碳酸氢胺、磷酸、氨水、氯化铵、乙酸锌、亚铁氰化钾、三氯乙酸,广州化学试剂厂;庚烷磺酸钠,美国 REGIS 科技公司;三乙胺,上海安谱实验科技公司;乙腈、甲醇、乙酸乙酯、丙酮(均为色谱纯),

收稿日期: 2022-05-09

基金项目: 广州市科技计划项目(202102080615);广州市市场监督管理局科技创新项目(2022kj38)

作者简介: 王成龙(1991—),男,学士,工程师

通信作者: 刘佳 E-mail: 275895324@qq.com

德国 Merck 公司;MCX 复合型阳离子萃取柱、WCX 弱阳离子萃取小柱、HLB 固相萃取柱,美国 waters 公司;SCX 强阳离子萃取小柱、C18 固相萃取柱,上海安谱实验科技公司;实验用水为去离子水(经 Milli-Q 超纯水机制备)。

1.2 仪器与设备

ACQUITY 高效液相色谱仪、配 PDA detector 紫外检测器,美国 waters 公司;Poroshell C8 色谱柱(4.6 mm×150 mm,2.7 μm),美国 Agilent 科技公司;Kintex PFP 色谱柱(4.6 mm×150 mm,2.6 μm),美国 Phenomenex 公司;BEH C18 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.7 μm)、HSS T3 色谱柱(2.1 mm×100 mm,1.8 μm)、BEH Amide (2.1 mm×100 mm,1.7 μm),均为美国 waters 公司;UW6200H 型电子天平,日本岛津仪器有限公司;BackManX-30R 型离心机,美国贝克曼库尔特有限公司;MS3-control 涡旋混合器,德国 IKA 集团;N-EvAP 氮吹仪,美国 Organomation 仪器公司;Milli-Q 纯水机,美国 Millipore 公司;2600TH 超声波清洗机、0.22 μm 水相针式滤膜,上海安谱实验科技公司。

1.3 方法

1.3.1 标准溶液的配制 准确称取 25 mg 灭蝇胺于小烧杯中,用去离子水溶解并转移至 25 mL 规格的容量瓶中,定容至刻度,配成 1 mg/mL 灭蝇胺标准储备溶液,于 4 °C 冰箱冷藏保存。用去离子水逐级稀释标准储备液,得到 0.1,0.2,0.5,1,2 μg/mL 系列纯溶剂标准工作溶液。

1.3.2 样品前处理 称取 10 g (精确至 0.01 g)蔬菜样品于 50 mL 具塞离心管中,加入 7 mL 20 mmol/L 碳酸氢胺溶液,以 100 kHz 的频率超声提取 10 min。分别于离心管中加入 1 mL 220 g/L 乙酸锌溶液和 1 mL 109 g/L 亚铁氰化钾溶液的组合沉淀剂,涡旋振荡 3 min,以 8 000 r/min 转速离心 3 min。离心后,转移清液于 25 mL 容量瓶中后,以 7 mL 20 mmol/L 碳酸氢胺溶液重复提取 2 次,合并提取液,以碳酸氢胺溶液定容至刻度。分取 10 mL 定容液,待净化。

依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化萃取小柱,将待净化液分 2 次(5 mL/次)上样至萃取小柱中。随后添加 5 mL 0.1 mol/L 盐酸溶液于小柱,再分别用 5 mL 去离子水、5 mL 甲醇淋洗,最后以 8 mL 5%(体积分数)氨水-甲醇洗脱,收集洗脱液。将洗脱液于 40 °C 下氮吹至近干,以 1 mL 去离子水复溶,涡旋混匀 3 min 后将复溶液过 0.22 μm 滤膜,上机测定。

1.3.3 色谱条件 采用 C8 色谱柱分离(4.6 mm×150 mm,2.7 μm);紫外检测波长为 215 nm;进样体积 10 μL;柱温 40 °C;流动相 A 为离子对试剂(庚烷磺酸钠溶液:吸取 7 mL 磷酸于 200 mL 水中,加入 1 g 庚烷磺酸钠,溶解,再加入 10 mL 三乙胺,用去离子水稀释至 1 000 mL),流动相 B 为乙腈,流动相比比例 $V_A:V_B=95:5$,等度洗脱;流速 1 mL/min;分析时间 12 min。灭蝇胺标准出峰图及紫外吸收全光谱见图 1。

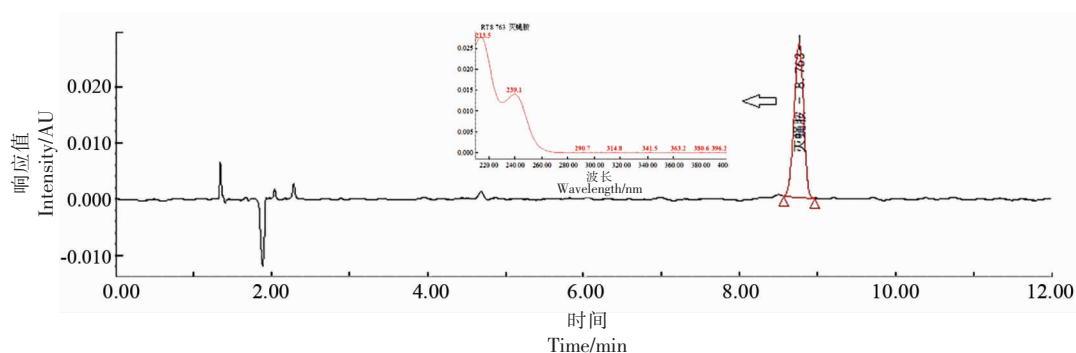


图 1 灭蝇胺标准化合物色谱出峰及其紫外吸收全光谱图

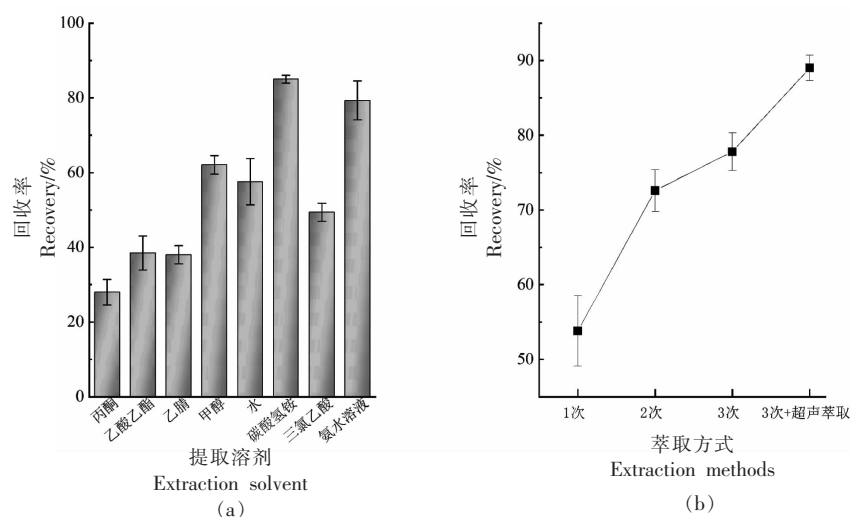
Fig.1 The chromatogram and full spectrum of ultraviolet absorption of cyromazine

2 结果与分析

2.1 提取溶剂与提取方式优化结果

灭蝇胺作为极性农药,其 $pK_a=5.2$,具有可离

子化的官能团氨基($-NH_2$)与环丙氨基($-C_3H_6N$)^[22]。比较碳酸氢胺溶液与前处理常用的甲醇、乙腈等萃取溶剂的提取效果,见图 2。



注:提取溶剂分别为 25 mmol/L 碳酸氢铵水溶液、1%三氯乙酸水溶液、5%氨水溶液,丙酮、乙酸乙酯、甲醇、乙醇均为色谱纯。

图 2 不同萃取溶剂及萃取方式对灭蝇胺提取回收率的影响

Fig.2 Effects of different extraction solvents and methods on the recovery of cyromazine

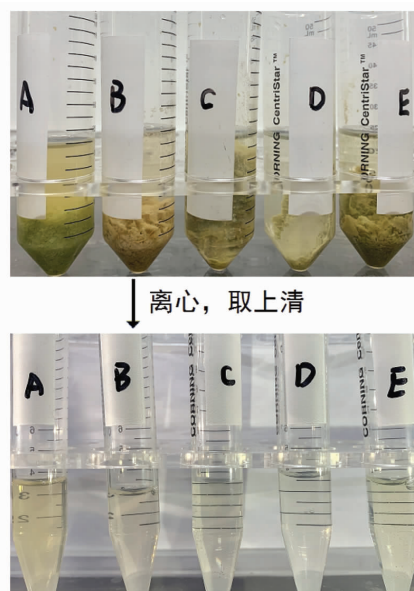
如图 2a 所示,灭蝇胺极性高、脂溶性差,采用有机溶剂提取时回收率均较低。而直接用水提取目标物或采用 1%三氯乙酸水溶液提取时,回收率均低于 60%。由酸式解离方程^[23]可知,当采用 25 mmol/L 碳酸氢铵溶液 (pH=8.5) 提取时,溶剂体系的 pH 值与灭蝇胺的 pK_a 值相差大于 2,目标化合物灭蝇胺呈中性态,官能团未离子化,此时提取溶剂穿透力强,有利于目标物的提取,且碳酸氢铵水溶液还具有比氨水稳定性更好的优点。本研究采用碳酸氢铵溶液作为提取溶剂。

由图 2b 可见,采用多次萃取合并提取液方式虽能有效提高灭蝇胺的萃取效率,而反复萃取操作使试验过程繁琐且不利于后续提取液的浓缩。超声辅助萃取通过超声波空化作用增加样品溶剂渗透并加速目标物迁移^[24]。采用碳酸氢铵溶液对样品萃取 3 次,并在萃取过程中应用超声辅助技术优化,克服了灭蝇胺常规方法前处理提取回收率偏低的问题。本试验采用超声辅助萃取 3 次。

2.2 沉淀剂优化结果

测定蔬菜基质中的农药残留,可以通过沉淀植物蛋白、色素等干扰物提高结果的准确性。本研究参照灭蝇胺检测标准^[21]、研究文献^[25-26]中常用的沉淀剂浓度及用量,比较在前处理中采用不同沉淀剂的沉淀效果,见图 3。

图 3 结果显示:相较于 A 组空白对照组,其余



注:A:空白对照;B:0.5 mol/L 硫酸锌溶液;C:20%碱性乙酸铅溶液;D:220 g/L 乙酸锌溶液 109 g/L 亚铁氰化钾溶液组合;E:10%三氯乙酸溶液。

图 3 基于不同沉淀剂的沉淀效果

Fig.3 Effect of various precipitants on vegetable matrices

组加入沉淀剂,各提取液澄清度均有明显改善,起到沉淀蛋白与部分色素杂质干扰的作用。D 组乙酸锌、亚铁氰化钾溶液组合沉淀剂的沉淀效果最佳,溶液呈澄清透明,且不影响后续测定回收率,故采用乙酸锌、亚铁氰化钾作为前处理方法中的沉淀剂。

2.3 固相萃取净化方法优化结果

蔬菜中豇豆基质相对较复杂, 含有大量的色素、植物蛋白、皂甙、生物碱等测定干扰物, 对样品的除杂与净化有较高要求, 同时豇豆也是果蔬中灭蝇胺农药残留的“重灾区”^[6], 因此选择豇豆做试验样品。分别考察 SCX 强阳离子、MCX 混合阳离子、WCX 弱阳离子、C18、HLB 固相萃取小柱 (SPE), 各 SPE 的填料官能团、净化机理、生产厂见表 1。其中, 在 MCX 小柱的使用上, 上柱后淋洗

过程中, 通过盐酸调节 pH 值, 达到不损失目标化合物的前提下, 能分别清除豇豆基质中离子型、极性和非极性干扰物, 较好地实现离子交换与非极性保留的优势互补, 详见图 4。

在 0.5 mg/kg 加标质量浓度下, 各 SPE 小柱加标回收率见图 5。仅 MCX 固相萃取柱满足国标 GB/T 27404^[27] 的要求, 因此选择 MCX 复合型固相萃取柱为方法净化柱。

表 1 5 种商品化固相萃取柱填料官能团与净化机理

固相萃取柱	填料官能团	净化机理	生产厂
SCX	对丙基苯磺酸	离子交换	Waters
MCX	N-乙基吡咯烷酮与苯磺酸共聚物	离子交换与非极性保留复合	CNW
WCX	羧酸基	离子交换	Waters
C18	十八烷基碳	非极性保留	CNW
HLB	改性二乙烯基苯聚合物	非极性保留	Waters

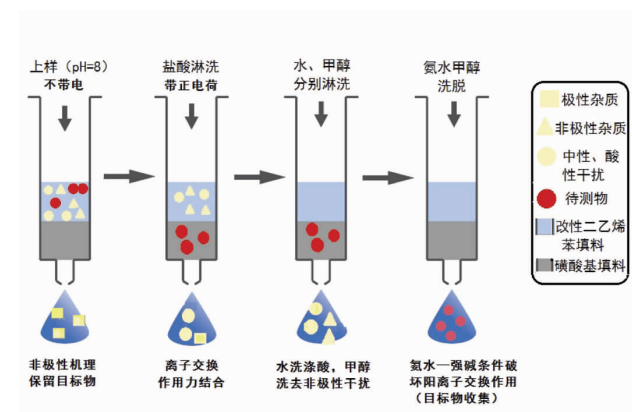


图 4 MCX 固相萃取小柱复合型用法示意图

Fig.4 Instruction diagram of MCX composite solid phase extraction column

2.4 色谱柱优化结果

针对灭蝇胺化合物极性较强, 在反相色谱柱中驻留时间短, 出峰较快, 难以与极性杂质分开。因此, 在使用常规 C18 色谱柱 (BEH C18) 分析之余, 考察结合离子对试剂保留的 C8 柱 (poroshell C8), 基于灭蝇胺三嗪环结构特点选取的五氟苯基柱 (kintex PFP), 针对极性化合物键合三官能团 C18 烷基的 T3 柱 (HSS T3) 以及正相色谱柱氨基柱 (BEH Amide), 先通过优化各柱流动相比比例等色谱参数获得灭蝇胺的最佳洗脱条件, 再综合比

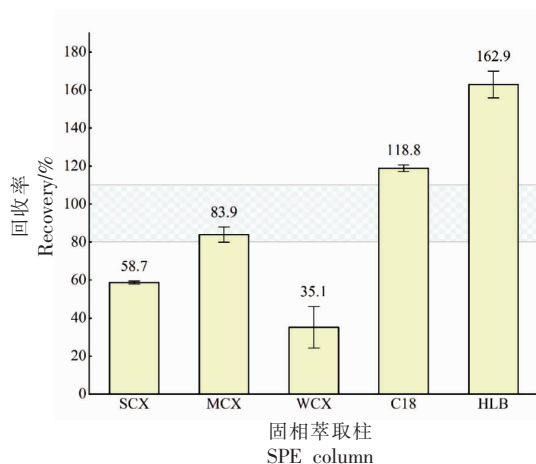
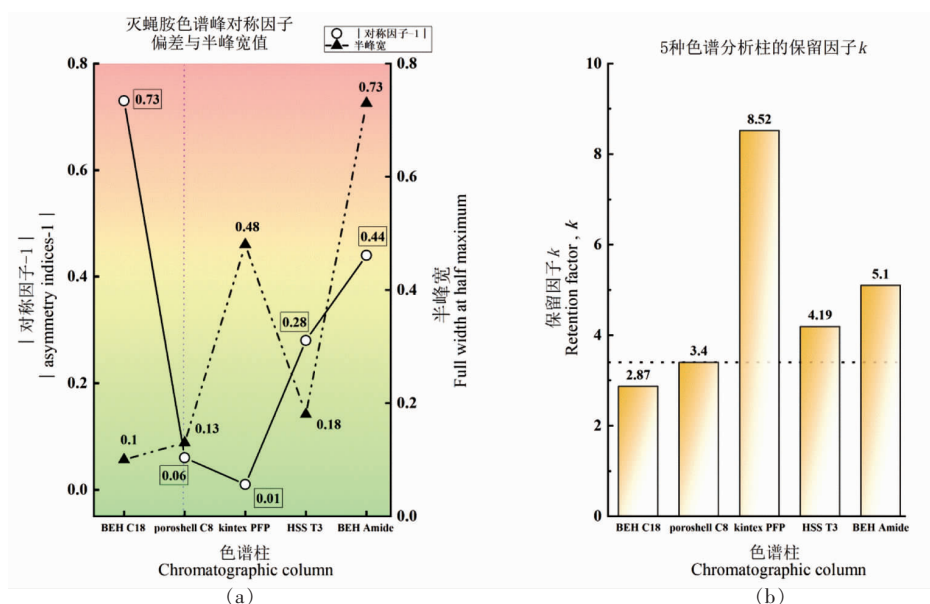


图 5 不同 SPE 小柱净化的回收率比较

Fig.5 Comparison of recovery rates of different SPE columns

对各色谱柱对灭蝇胺化合物的保留能力 (保留因子 k')、出峰峰宽 (半峰宽值)、峰形对称性 (1 对称因子 -1), 结果见图 6。

上图中其余色谱柱保留能力均优于常规 C18 分析柱, 唯有结合离子对试剂保留的 C8 柱于半峰宽与 1 对称因子 -1 的指标上均能处于低值, 即灭蝇胺的出峰达到狭窄、尖锐、对称、不拖尾等要求。本研究选择庚烷磺酸钠为离子对试剂, 以 C8 色谱柱结合的离子对反相色谱分离体系测定目标化合物灭蝇胺。



注:保留因子 $k^{[20]}=(t-t_0)/t_0$, 其中 t 为灭蝇胺保留时间, t_0 为灭蝇胺死时间(反相柱以尿嘧啶的出峰时间近似计算, 正相柱选择四氯乙烯的出峰时间)。

图 6 灭蝇胺在各色谱柱上的保留能力、峰宽与峰形对称性

Fig.6 Retention capacity, peak width and peak shape symmetry of cyromazine on each chromatographic column

2.5 线性范围及检出限

灭蝇胺标准工作液质量浓度分别为 0.1, 0.2, 0.5, 1, 2 $\mu\text{g/mL}$, 按 1.3.3 节所述色谱条件测定, 计算峰面积, 用最小二乘法进行回归分析。在 0.1~2 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围的回归方程为 $y = 1.20 \times 10^5 + 1.25 \times 10^3 x$ (y : 峰面积响应; x : 质量浓度), 相关系数 R^2 为 0.99871。分别以方法 3 倍信噪比 ($S/N=3$) 与 10 倍信噪比 ($S/N=10$) 计算检出限 (LOD) 为 0.012 mg/kg, 定量限 (LOQ) 为 0.040 mg/kg。

2.6 加标回收与精密度试验

国标^[20]规定灭蝇胺在豇豆中的最大残留限量为 0.5 mg/kg。选取豆角、黄瓜、大白菜以及不合格、风险较高的豇豆样品作为 4 种代表性蔬菜(样品已用国标方法检测为阴性样品), 按 1.3.2 节方法做加标试验, 其中每种蔬菜选取 3 个加标浓度, 各浓度测定 6 个样品, 结果见表 2。

如表 2 所示, 各基质平均回收率在 77.7%~87.0% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 在 1.6%~3.7%, 说明方法稳定可靠, 精密度与准确度良好, 满足实际测定要求。

2.7 实际样品测定

将建立的方法应用于测定豆角、豇豆等实际检出率较高的样品。从本地农贸市场随机抽取 30

表 2 加标回收率和精密度试验 ($n=6$)

Table 2 Recovery rate and precision experiment ($n=6$)

样品	加标量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	平均回收率/ %	RSD/%
豆角	0.05	79.7	3.1
	0.1	81.5	1.6
	0.5	83.4	2.4
黄瓜	0.05	82.1	2.0
	0.1	83.4	1.3
	0.5	86.0	2.1
大白菜	0.05	85.3	2.5
	0.1	85.5	1.2
	0.5	87.0	1.6
豇豆	0.05	77.7	2.8
	0.1	79.8	2.2
	0.5	80.4	3.7

份该类样品, 近半样品中检出灭蝇胺, 其含量在 0~1.3 mg/kg 范围, 存在超标违规现象, 继而引发相关的食品安全风险。

3 结论

采用碳酸氢铵溶液结合超声萃取的方式提取灭蝇胺, 用复合型固相萃取小柱净化, 回收率好, 克服了灭蝇胺这类强极性化合物萃取、净化困难

的问题。通过优化色谱条件,采用结合离子对试剂保留的 C8 色谱柱分离,使灭蝇胺出峰尖锐、对称,方法特异性好,抗干扰强。本方法相较于现行监管判定方法^[21],具有灵敏度高、精密度与重现性好的优点,且对复杂基质的除杂效果更为突出。方法的前处理简便、高效,单样测定成本低廉,有利于推广应用,为蔬菜中灭蝇胺残留监管提供技术支持。

参 考 文 献

- [1] TAYLOR D B, FRIESEN K, ZHU J J, et al. Efficacy of cyromazine to control immature stable flies (Diptera: Muscidae) developing in winter hay feeding sites[J]. *J Econ Entomol*, 2012, 105(2): 726-31.
- [2] PUSCHNER B, POPPENGA R H, LOWENSTINE L J, et al. Assessment of melamine and cyanuric acid toxicity in cats[J]. *J Vet Diagn Invest*, 2007, 19(6): 616-624.
- [3] 李巧, 朱明, 王珣, 等. 中国与欧盟美国日本等国三嗪类农药残留限量法规差异性研究[J]. *农业与技术*, 2021, 41(3): 24-29.
LI Q, ZHU M, WANG M, et al. Study on the differences between China and EU, the United States, Japan and other countries in the limit regulations of triazine pesticide residues[J]. *Agriculture and Technology*, 2021, 41(3): 24-29.
- [4] 毛江胜, 李慧冬, 陈子雷, 等. 噻虫胺和灭蝇胺在韭菜中的消解动态及初步膳食风险评估[J]. *山东农业科学*, 2019, 51(3): 118-123.
MAO J S, LI H D, CHEN Z L, et al. Dissipation dynamics and preliminary dietary risk assessment of clothianidin and cyromazine in Chinese chives [J]. *Shandong Agricultural Sciences*, 2019, 51(3): 118-123.
- [5] 刘少伟, 阮赞林. 灭蝇胺超标豇豆[J]. *质量与标准化*, 2018(8): 37.
LIU S W, RUAN Z L. Cyromazine residues exceeding the allowed figure in cowpea [J]. *Quality and Standardization*, 2018(8): 37.
- [6] ROOT D S, HONGTRAKUL T, DAUTERMAN W C. Studies on the absorption, residues and metabolism of cyromazine in tomatoes[J]. *Pestic Sci*, 1996, 48(1): 25-30.
- [7] 李建. 市场监管总局通告 5 批次食品不合格情况[N]. *中国消费者报*, 2022-01-13(4).
LI J. Notification of 5 batches of unqualified food by State Administration for Market Regulation [N]. *China Consumer News*, 2022-01-13(4).
- [8] 田培, 赵慧宇, 刘之炜, 等. 杨梅中灭蝇胺及其代谢物检测方法 with 风险评估[J]. *浙江农业学报*, 2021, 33(3): 534-540.
TIAN P, ZHAO H Y, LIU Z W, et al. Analysis and risk assessment of cyromazine and its metabolites in bayberry[J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2021, 33(3): 534-540.
- [9] 罗秋红, 韩颖, 胡蓓, 等. 超高效液相色谱-四极杆/静电场轨道阱质谱测定猪尿中环丙氨嗪及其代谢物残留量[J]. *分析测试学报*, 2021, 40(12): 1784-1789.
LUO Q H, HAN Y, HU B, et al. Determination of residual cyromazine and its metabolite melamine in pig urine samples using ultrahigh performance liquid chromatography coupled with quadrupole-orbitrap mass spectrometry[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2021, 40(12): 1784-1789.
- [10] YU H, TAO Y, CHEN D, et al. Development of a high performance liquid chromatography method and a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method with pressurized liquid extraction for simultaneous quantification and confirmation of cyromazine, melamine and its metabolites in foods of animal origin[J]. *Anal Chim Acta*, 2010, 682(1/2): 48-58.
- [11] 赵馨. QuEChERS 方法在 HPLC 测定豇豆中灭蝇胺残留量的应用研究[J]. *福建农业科技*, 2020(8): 7-12.
ZHAO X. Application of QuEChERS method in the determination of cyromazine residues in cowpea by HPLC[J]. *Fujian Agricultural Science and Technology*, 2020(8): 7-12.
- [12] WANG P C, LEE R J, CHEN C Y, et al. Determination of cyromazine and melamine in chicken eggs using quick, easy, cheap, effective, rugged and safe (QuEChERS) extraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2012, 752: 78-86.
- [13] CHEN D W, ZHAO Y F, MIAO H, et al. A novel dispersive micro solid phase extraction using PCX as

- the sorbent for the determination of melamine and cyromazine in milk and milk powder by UHPLC-HRMS/MS[J]. *Talanta*, 2015, 134: 144-152.
- [14] MENG Z, SHI Z H, LIANG S X, et al. Rapid screening and quantification of cyromazine, melamine, ammeline, ammeline, cyanuric acid, and dicyandiamide in infant formula by ultra-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry and triple quadrupole mass spectrometry[J]. *Food Control*, 2015, 55: 158-165.
- [15] XIU P Z, LIN M, LAN Q H, et al. The optimization and establishment of QuEChERS-UPLC-MS/MS method for simultaneously detecting various kinds of pesticides residues in fruits and vegetables[J]. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 2017, 1060: 281-290.
- [16] 代艳娜, 刘青海, 蒲继锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测芹菜和土壤中灭蝇胺及其代谢物三聚氰胺残留[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(15): 5020-5026.
- DAI Y N, LIU Q H, PU J F, et al. Determination of cyromazine and its melamine residues in celery and its soil by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2020, 11(15): 5020-5026.
- [17] HU X, WANG S, LIU Q, et al. Determination of residues of cyromazine and its metabolite, melamine, in animal-derived food by gas chromatography-mass spectrometry with derivatization[J]. *J Agric Food Chem*, 2009, 57(23): 11075-11080.
- [18] GE X S, WU X Q, WANG J M, et al. Highly sensitive determination of cyromazine, melamine, and their metabolites in milk by molecularly imprinted solid-phase extraction combined with ultra-performance liquid chromatography[J]. *J Dairy Sci*, 2015, 98(4): 2161-2171.
- [19] 巩碧钊, 胡秋辉, 苏安祥, 等. 三嗪类虚拟模板分子印迹聚合物的制备及其应用[J]. *食品科学*, 2021, 42(12): 281-287.
- GONG B C, HU Q H, SU A X, et al. Preparation and application of triazine-based dummy template molecularly imprinted polymer [J]. *Food Science*, 2021, 42(12): 281-287.
- [20] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 中华人民共和国农业农村部, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763-2021[S]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- National Health Commission of the PRC, Ministry of Agriculture and Rural Affairs of The People's Republic of China, State Administration for Market Regulation. National food safety standard-maximum residue limits for pesticides in food; GB 2763-2021 [S]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2021.
- [21] 中华人民共和国农业部. 蔬菜中灭蝇胺残留量的测定高效液相色谱法: NY/T 1725-2009[S]. 北京: 中国农业出版社, 2009.
- Ministry of Agriculture of the PRC. Determination of cyromazine residue in vegetables by HPLC; NY/T 1725-2009 [S]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2009.
- [22] ZHANG P, ZHAO R, ZHANG C, et al. Thermodynamic analysis and correlation of cyromazine in three (acetic acid, propanoic acid or ethylene glycol+water) binary solvents at different temperatures [J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2018, 272: 158-169.
- [23] PELLETT J, LUKULAY P, YUN M, et al. "Orthogonal" separations for reversed-phase liquid chromatography[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1101(1/2): 122-135.
- [24] 江玮, 赵源, 刘慧琳. 超声辅助提取茶叶中高效氯氟氰菊酯的富集条件优化[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(4): 254-260.
- JIANG W, ZHAO Y, LIU H L. Optimization of enrichment conditions of λ -cyhalothrin in tea by ultrasonic assisted extraction[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(4): 254-260.
- [25] 霍玉鑫, 甘番露, 王玉晶, 等. 不同沉淀剂对酚抽法提取植物蛋白质效果比较分析[J]. *热带作物学报*, 2021, 42(10): 3008-3016.
- HUO Y X, GAN P L, WANG Y J, et al. Comparative analysis of the effects of different precipitation agents on extraction of plant protein by phenol extract[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(10): 3008-3016.
- [26] 胡贝, 李丽霞, 李晓健, 等. 发酵豆制品中脱氢乙酸检测方法的优化[J]. *中国酿造*, 2019, 38(8): 168-172.
- HU B, LI L X, LI X J, et al. Optimization of detection method of dehydroacetic acid in fermented

- soybean products[J]. *China Brewing*, 2019, 38(8): 168-172.
- [27] 中国国家标准化管理委员会. 实验室质量控制规范 食品理化检测: GB/T 27404-2008[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- China National Standardization Management Committee. Criterion on quality control of laboratories—Chemical testing of food: GB/T 27404-2008[S]. Beijing: Standards Press of China, 2008.
- [28] 陆静, 象丽丽, 季旻, 等. 固定相优化液相色谱法对候选新药雷公藤衍生物进行有关物质检查[J]. *分析化学*, 2011, 39(8): 1266-1269.
- LU J, XIANG L L, JI W, et al. Application of phase optimized liquid chromatography for related substances detection in new drug candidate of tripterygiumforrestii derivative[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2011, 39(8): 1266-1269.

Determination of Cyromazine Residues in Vegetables by Composite Solid-phase Extraction and Reverse Phase ion-pair High Performance Liquid Chromatography

Wang Chenglong, Liu Jia*, Wang Yu, Huang Xiaoqing, Lin Zeshan, Zhao Jinli, Tan Jinping, Huang Song
(Guangzhou Institute for Food Inspection, Guangzhou 511400)

Abstract A rapid and accurate method for the determination of cyromazine residues in vegetables by composite solid-phase extraction and reversed phase ion-pair liquid chromatography (IS-RPLC) was established. The target was extracted by multiple ultrasonic extraction with ammonium bicarbonate solution, purified by composite solid-phase extraction column, and separated and determined by IS-RPLC. The calibration curve showed good linearity in the range of 0.1-2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the correlation coefficient greater than 0.998, and the limit of detection (LOD) of the method reaches 0.012 mg/kg , which can meet the regulatory and judgment requirements for the residue of cyromazine. Recovery experiments show that the recovery range is 77.7%~87.0%, and the relative standard deviation (RSD) is 1.6%~3.7%. The problems of low extraction recovery and difficult purification in the determination of cyromazine were effectively solved. The chromatographic peak shape of cyromazine which separated by C8 column combining with the ion-pair reagent was sharp and anti-interference.

Keywords reversed phase ion-pair liquid chromatography; composite solid-phase extraction; cyromazine; vegetables