

中空纤维液相微萃取 - 气相色谱法测定白芍中 20种农药残留

沈旭, 陈晓辉, 果德安, 张舒婷, 毕开顺

(沈阳药科大学药学院, 沈阳 110016)

摘要 目的: 建立白芍中 20种有机氯和拟除虫菊酯类农药的检测方法。方法: 采用中空纤维液相微萃取 - 气相色谱法, 色谱柱为 HP- 5 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 柱温 (程序升温): 150℃ 为起始温度, 以 5℃ · min⁻¹ 的升温速率升至 250℃, 保持 1 min, 再以 2℃ · min⁻¹ 的升温速率升至 270℃, 保持 5 min; 进样口温度: 230℃; ECD 检测器温度: 280℃; 载气为氮气, 测定白芍中 20种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量。结果: 有机氯和拟除虫菊酯类农药分别在 0.4~40 μg · L⁻¹ 和 0.8~80 μg · L⁻¹ 范围内呈良好线性关系, *r* 值范围为 0.9970~0.9998, 平均回收率 (*n* = 9) 为 82.5% ~ 109.2% (RSD < 10%)。结论: 该方法操作简便快速, 灵敏度高, 准确度高, 可作为中药材中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的测定方法。

关键词: 中空纤维液相微萃取; 气相色谱法; 白芍; 有机氯和拟除虫菊酯类农药

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)10-1745-04

Determination of 20 pesticide residues in *Radix paeoniae Alba* by hollow fiber-based liquid phase microextraction coupled with gas chromatography

SHEN Xu, CHEN Xiao-hui, GUO De-an, ZHANG Shu-ting, BIKai-shun

(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract Objective To establish a method for detecting the 20 organochlorine and pyrethroid pesticide residues in *Radix paeoniae Alba*. **Methods** Hollow fiber-based liquid phase microextraction GC with HP-5 column (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) was used to determine 20 organochlorine and pyrethroid pesticide residues in *Radix paeoniae Alba*; The column temperature programming was initial temperature 150℃, with the increasing rate of 5℃ · min⁻¹ to 250℃ (hold 1 min), then with the increasing rate of 2℃ · min⁻¹ to 270℃ (hold 5 min); The injector temperature was 230℃ and ECD detector temperature was 280℃; The carrier gas was nitrogen. **Results** The calibration curves were linear over the concentration range of 0.4~40 μg · L⁻¹ for organochlorine pesticides and 0.8~80 μg · L⁻¹ for pyrethroid pesticides (*r* was in the range of 0.9970~0.9998). The average recoveries (*n* = 9) of 20 pesticides were 82.5% ~ 109.2% (RSD < 10%). **Conclusion** The method is simple, accurate and sensitive. It can be used for the determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Chinese herbal medicines.

Key words hollow fiber-based liquid phase microextraction; GC; *Radix paeoniae Alba*; organochlorine and pyrethroid pesticide

白芍为毛茛科多年生草本植物芍药 (*Paeonia lactiflora* Pall.) 的根, 属根类药材, 易被农药污染^[1]。对中药中污染程度较高的有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的测定, 传统的前处理方法烦琐, 且有机试剂消耗量大^[2,3]。中空纤维液相微萃取法 (HF-LPME) 集萃取、净化、浓缩于一体, 具有萃取效率高、消耗有机溶剂少、快速、灵敏等优点, 是一种

环境友好的萃取方法^[4], 有文献报道应用 HF-LPME 法测定水中的农药残留, 未见到应用本法测定中药材中农药残留的报道。本文采用中空纤维液相微萃取 - 气相色谱法对白芍中残留的 20 种有机氯和拟除虫菊酯类农药进行检测, 将中空纤维液相微萃取法应用于中药材农药残留研究, 得到了比较满意的效果。

1 仪器与试剂

Agilent-6890N 毛细管气相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 配 ^{63}Ni -ECD 检测器, HP CORE 色谱工作站; 集热式恒温磁力搅拌器 (巩义市予华仪器有限责任公司); 聚丙烯中空纤维, 内径 1 mm, 壁厚 150 μm , 孔径 0.2 μm (天津膜天膜工程技术有限公司)。

对照品: 六氯苯 (hexachlorobenzene)、 α -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、七氯 (heptachlor)、艾氏剂 (aldrin)、环氧七氯异构体-B (heptachlor epoxide isomer BHCe)、反式-氯丹 (γ -chlordane)、狄氏剂 (dieldrin)、异狄氏剂 (endrin)、2,4'-DDT、4,4'-DDT, 美国 SUPELCO 公司 (纯度 > 99.0%); 联苯菊酯 (bifenthrin)、甲氰菊酯 (fenpropathrin)、三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin)、氯菊酯 (permethrin)、氟氯氰菊酯 (cyfluthrin)、氯氰菊酯 (cypermethrin)、氰戊菊酯 (fenvalerate)、溴氰菊酯 (decamethrin), (均购于天津农业部环境质量监督检验测试中心 (纯度 > 99.0%))。样品: 白芍药材 *Radix paeoniae Alba* (安徽等 5 个产地), 经沈阳药科大学孙启时教授鉴定。试剂: 甲醇 (色谱纯, 山东禹王实业有限公司); 正己烷、环己烷、甲苯、丙酮均为分析纯, 天津市大茂化学试剂厂; 氯化钠 (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂)。

2 方法与结果

2.1 溶液制备

2.1.1 对照品溶液 精密称取各有机氯类农药对照品适量, 精密量取各拟除虫菊酯类农药对照品适量, 分别置 50 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 配制成浓度为 100 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的各有机氯类农药对照品储备液和浓度为 5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的各拟除虫菊酯类农药对照品储备液。分别精密量取上述对照品储备液适量, 置 100 mL 量瓶中, 加甲醇稀释并定容至刻度, 摇匀, 配制成有机氯类农药浓度为 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 拟除虫菊酯类农药浓度为 200 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品储备液。

2.1.2 供试品溶液 取白芍药材粉末 (过 40 目筛) 约 2.0 g 精密称定, 置 50 mL 锥形瓶中, 精密加入 20 mL 甲醇-水溶液 (4:1) (NaCl 浓度为 10 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 称定重量, 超声提取 30 min 放冷, 再称定重量, 用甲醇-水溶液补足减失的重量, 摇匀, 过滤。精密量取 12 mL 滤液于样品瓶中。将中空纤维在丙酮中超声清洗 5 min 以便去除污染物, 风干后截取 11 cm, 然后将中空纤维在甲苯中浸泡 5 min 使纤维壁微孔中充满甲苯。用微量进样针向中空纤维

中注入 40 μL 甲苯, 两端用热镊子夹死。将中空纤维浸入上述样品瓶中, 在室温 (25 $^{\circ}\text{C}$)、搅拌速度为 500 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下萃取 20 min。然后将中空纤维取出并剪开, 用微量进样针抽出萃取溶液置于 EP 管中, 供进样分析。实验装置见图 1。

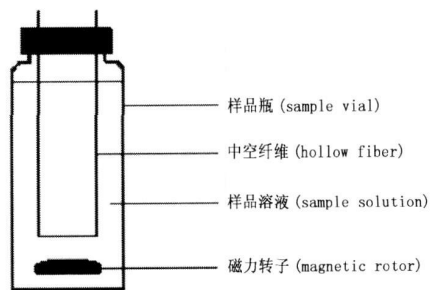


图 1 HF-LPME 实验装置

Fig 1 Instrumental setup of HF-LPME

2.2 色谱条件 采用 HP-5 毛细管色谱柱 (30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$); 柱温: 程序升温, 150 $^{\circ}\text{C}$ 为起始温度, 以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的升温速率升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min 再以 2 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的升温速率升至 270 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 进样口温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; ECD 检测器温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 载气: 氮气; 流速: 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样方式: 分流; 分流比: 3:1; 进样量: 1 μL 。混合对照品和样品色谱图见图 2。

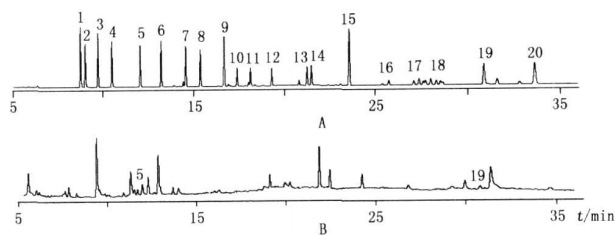


图 2 20 种农药混合对照品 (A) 和白芍样品 (B) 气相色谱图

Fig 2 GC chromatogram of 20 pesticides standard (A) and *Radix paeoniae Alba* sample (B)

1 α -BHC 2 六氯苯 (hexachlorobenzene) 3 γ -BHC 4 δ -BHC 5 七氯 (heptachlor) 6 艾氏剂 (aldrin) 7 环氧七氯异构体-B (HCE) 8 反式-氯丹 (γ -chlordane) 9 狄氏剂 (dieldrin) 10 异狄氏剂 (endrin) 11 2,4'-DDT 12 4,4'-DDT 13 联苯菊酯 (bifenthrin) 14 甲氰菊酯 (fenpropathrin) 15 三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin) 16 氯菊酯 (permethrin) 17 氟氯氰菊酯 (cyfluthrin) 18 氯氰菊酯 (cypermethrin) 19 氰戊菊酯 (fenvalerate) 20 溴氰菊酯 (decamethrin)

2.3 线性关系考察 精密量取不同体积上述混合对照品储备液, 配制有机氯类农药浓度分别为 0.4 0.8 4 8 16 40 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 拟除虫菊酯类农药浓度分别为 0.8 1.6 8 16 32 80 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品系列溶液。以浓度 X ($\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 为横坐标, 各对照品

峰面积 Y 为纵坐标, 绘制标准曲线并进行回归计算。结果表明: 有机氯类农药浓度在 $0.4 \sim 40 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 拟除虫菊酯类农药浓度在 $0.8 \sim 80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内与峰面积呈良好的线性关系。结果见表 1。

表 1 20 种农药的回归方程和相关系数
Tab 1 Regressive equation and correlation coefficient of 20 pesticides

农药 (pesticide)	回归方程 (regressive equation)	r
α -BHC	$Y = 539.2X + 214.5$	0.9985
六氯苯 (hexachlorobenzene)	$Y = 894X + 272.4$	0.9994
γ -BHC	$Y = 506.1X - 227.7$	0.9997
δ -BHC	$Y = 493.3X - 247.0$	0.9997
七氯 (heptchlor)	$Y = 543.9X - 238.9$	0.9997
艾氏剂 (aldrin)	$Y = 719.9X - 196.6$	0.9998
环氧七氯异构体 - B (HCE)	$Y = 632.5X - 517.6$	0.9987
反式 - 氯丹 (γ -chlordane)	$Y = 576.0X - 332.9$	0.9989
狄氏剂 (dieldrin)	$Y = 734.8X - 455.0$	0.9992
异狄氏剂 (endrin)	$Y = 378.4X - 291.0$	0.9978
2,4'-DDT	$Y = 302.7X - 221.6$	0.9981
4,4'-DDT	$Y = 315.6X - 331.3$	0.9970
联苯菊酯 (bifenthrin)	$Y = 140.9X + 101.0$	0.9990
甲氰菊酯 (fenpropathrin)	$Y = 213.1X - 386.3$	0.9986
三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin)	$Y = 376.6X + 301.2$	0.9974
氯菊酯 (permethrin)	$Y = 126.8X - 188.3$	0.9988
氟氯氰菊酯 (cyfluthrin)	$Y = 280.3X + 401.2$	0.9988
氯氰菊酯 (cypermethrin)	$Y = 190.9X + 104.8$	0.9976
氰戊菊酯 (fenvalerate)	$Y = 249.0X - 197.2$	0.9998
溴氰菊酯 (decamethrin)	$Y = 232.9X + 120.4$	0.9993

2.4 精密度试验 精密吸取同一浓度混合对照品溶液 (有机氯类农药浓度为 $40 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 拟除虫菊酯类农药浓度为 $80 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), 在上述色谱条件下重复进样 6 次, 测得 20 种农药峰面积的 RSD 在 1.5% ~ 5.3% 之间。

2.5 重复性试验 精密称取同一产地白芍药材粉末 6 份, 分别精密加入相同体积混合对照品溶液, 按“2.1.2”项下方法操作, 在上述色谱条件下进行分析, 20 种农药峰面积的 RSD 在 2.9% ~ 7.5% 之间。

2.6 加样回收率试验 称取同一产地白芍药材粉末 9 份, 每 3 份为一组, 每份约 2.0 g 精密称定, 置 50 mL 锥形瓶中, 分别精密加入混合对照品溶液, 使有机氯类农药添加的浓度分别为 5, 20, 50 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 拟除虫菊酯类农药添加的浓度分别为 10, 40, 100 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 按“2.1.2”项下操作, 在上述色谱条件下进样分析, 计算回收率。20 种农药的平均回收率分别为 92.7%, 85.3%, 87.0%, 99.2%, 90.8%,

85.0%, 96.1%, 99.7%, 87.5%, 86.9%, 104.6%, 82.5%, 93.3%, 83.9%, 87.6%, 88.3%, 95.3%, 109.2%, 94.6%, 95.7%; RSD 分别为 4.0%, 3.9%, 5.1%, 4.8%, 4.6%, 7.2%, 3.5%, 6.5%, 5.4%, 4.7%, 4.2%, 5.2%, 3.7%, 3.8%, 4.8%, 8.2%, 5.2%, 4.8%, 6.7%, 5.8%。

2.7 最小检出量和最低检测浓度 有机氯和拟除虫菊酯类农药的最小检出量 ($SN = 3$) 分别为 $3.125 \times 10^{-4} \text{ ng}$ 和 $6.250 \times 10^{-4} \text{ ng}$ 。两类农药的最低检测浓度分别为 $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.8 富集倍数 富集倍数是指萃取后有机溶剂中分析物的浓度与萃取前样品中分析物浓度的比值, 在本实验选定的最佳萃取条件下 20 种农药的富集倍数在 25~40 之间。

2.9 样品测定 取白芍样品约 2.0 g 精密称定, 按“2.1.2”项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进行 GC 分析, 采用外标法计算农药残留量, 结果见表 2。

表 2 白芍样品 20 种农药残留量 ($\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)
Tab 2 Contents of 20 pesticides in *Radix paeoniae Alba*

农药 (pesticide)	山西 (Shanxi)	湖北 (Hubei)	贵州 (Guizhou)	江西 (Jiangxi)	安徽 (Anhui)
α -BHC	—	—	—	—	—
六氯苯 (hexachlorobenzene)	—	—	—	—	—
γ -BHC	—	—	—	—	—
δ -BHC	—	—	—	—	—
七氯 (heptchlor)	12.30	—	10.50	—	—
艾氏剂 (aldrin)	—	—	6.426	—	—
环氧七氯异构体 - B (HCE)	—	—	10.36	—	—
反式 - 氯丹 (γ -chlordane)	—	—	—	9.11	—
狄氏剂 (dieldrin)	—	8.41	—	12.04	—
异狄氏剂 (endrin)	—	—	—	51.00	—
2,4'-DDT	—	—	—	12.80	—
4,4'-DDT	—	—	22.60	—	—
联苯菊酯 (bifenthrin)	—	—	—	—	—
甲氰菊酯 (fenpropathrin)	—	—	—	—	—
三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin)	—	—	—	—	—
氯菊酯 (permethrin)	—	—	—	—	—
氟氯氰菊酯 (cyfluthrin)	—	—	—	—	—
氯氰菊酯 (cypermethrin)	—	—	—	—	—
氰戊菊酯 (fenvalerate)	15.79	—	—	—	—
溴氰菊酯 (decamethrin)	—	—	—	—	—

注 (note): “—”指未检测到或低于最低检测浓度 (“—” means not found or under the LOQ)

3 讨论

3.1 中空纤维液相微萃取(HF-LPME)技术,是以多孔的中空纤维为微萃取溶剂的载体,通过有机溶剂在纤维壁微孔中形成的液膜进行传质,在多孔的中空纤维中进行萃取,大分子、颗粒杂质等不能通过纤维壁孔。该方法集萃取、净化、浓缩于一体,具有萃取效率高、消耗有机溶剂少、快速、灵敏等优点,但重现性稍差。

3.2 本实验采用农药对照品的保留时间定性,并用另一根气相色谱柱 DB-17 进行了确证。

3.3 本实验优化了中空纤维液相微萃取的条件。考察了正己烷、环己烷和甲苯对所测农药的萃取效果。并考察了萃取时间、搅拌速度、盐浓度对所测农药的萃取效率的影响。结果发现以甲苯作萃取溶剂,盐浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、搅拌速度为 $500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,萃取 20 min 萃取效率最高。

3.4 本实验建立了中空纤维液相微萃取-气相色谱法测定白芍中残留的有机氯和拟除虫菊酯类农药的方法,将中空纤维液相微萃取法应用于中药材农药残留研究,方法简便、快速、准确,有机试剂消耗量少。安徽产白芍没有农药检出。山西等产地白芍所检出的农药中拟除虫菊酯类农药的检出率相对较低,原因可能是有机氯类农药使用历史长、范围广、用量大,虽已禁用多年,但由于其半衰期长、不易降解和代谢,所以仍长期积存于土壤和植物中。对于

白芍中农药残留限量,中国药典没有相关要求,本实验参考国家标准《食品中农药最大残留限量》和欧洲药典 2008 年版,所测农药的最低检测浓度均低于相关的残留限量,除江西产白芍异狄氏剂超标外,其他均未超标。

参考文献

- 1 XUE Jian (薛健), JIN Hong-yu (金红宇), TIAN Jin-gai (田金改), *et al* Study and thought on issues of pesticide residues in Chinese materia medica(中药农药残留问题研究与思考). *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2007, 38(10): 1578
- 2 WAN Yi-qun(万益群), YAN Ai-ping(鄢爱平), XIE Ming-yong(谢明勇). Determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Chinese herbal medicines(中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留量的测定). *Chin J Anal Chem* (分析化学研究报告), 2005, 33(5): 614
- 3 WU Jia-lin(吴加仑), ZOU Yao-hua(邹耀华), LI Li-qing(李丽青). Multi-residue analysis of fifteen organochlorine and pyrethroid insecticides in *Radix paeoniae Alba* and *Rhizoma optilis*(白芍和黄连中十五种有机氯和拟除虫菊酯类农药的多残留分析方法). *Chin J Pestic Sci*(农药学报), 2006, 8(1): 65
- 4 XIAO Xiao-hua(肖小华), YIN Yi(尹怡), HU Yu-ling(胡玉玲), *et al* Determination of trace estrogens in cosmetic water by liquid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography(液相微萃取-高效液相色谱联用分析化妆品中痕量的雌激素). *Chin J Chromatogr*(色谱), 2007, 25(2): 234

(本文于 2008 年 11 月 26 日收到)