

文章编号: 1006 - 2858(2010)03 - 0220 - 06

分散固相萃取 - 气相色谱法测定山茱萸中 20种农药残留

张舒婷, 陈晓辉, 于治国, 沈 旭, 勾 萌, 毕开顺

(沈阳药科大学 药学院, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 目的 建立分散固相萃取气相色谱法测定山茱萸中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的方法。方法 选用乙腈为提取溶剂, 丙基乙二胺 (PSA) 为分散净化剂; 采用 Hp - 5 毛细管气相色谱柱分离, 电子捕获检测器进行检测。结果 有机氯和拟除虫菊酯分别在 $5 \sim 500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \sim 1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 内呈良好线性关系, 相关系数均大于 0.997 8; 检出量限为 $1 \sim 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 平均回收率为 78.32% ~ 112.80%, RSD 为 3.2% ~ 9.4%。结论 本方法适用于中药材中的农药多残留的测定与安全监控。
关键词: 分散固相萃取法; 丙基乙二胺; 气相色谱法; 有机氯; 拟除虫菊酯; 山茱萸
中图分类号: R 917 **文献标志码:** A

分散固相萃取法 (dispersive solid phase extraction, DSPE) 是美国农业部最新颁布的农药残留前处理方法, 该法直接在试样的提取液中加入固相吸附剂以去除基质中的杂质, 同时完成对样品待测组分的提取和净化, 耗时短、溶剂用量少。目前该方法在国外已应用于果蔬中多种农药残留测定的前处理过程中^[1-5], 但在中药材中的应用报道较少。本文作者以山茱萸为研究对象, 选用乙腈为提取溶剂, 丙基乙二胺 (primary secondary amine, PSA) 分散固相萃取 (DSPE) 进行净化, 建立了同时测定中药中多种农药残留成分的方法。

1 仪器与试剂

Agilent - 6890N 毛细管气相色谱仪 (配 63Ni - ECD 检测器, HP CORE 色谱工作站, 美国 Agilent 公司), BP210S 电子天平 (德国 Sartorius 公司), XW - 80A 型漩涡混合器 Q/DAAK2 - 2000 (山海医大仪器厂), HC - 2516 高速离心机 (科大创新股份有限公司中佳分公司)。

对照品: 滴滴涕 2 种异构体 (p, p' -DDT, o, p' -DDT)、六六六 3 种异构体 (α -BHC, γ -BHC, δ -BHC)、艾氏剂 (aldrin, AD)、狄氏剂 (dieldrin)、异狄氏剂 (endrin)、七氯 (heptachlor, HEPT)、反式 - 氯丹 (γ -chlordane)、六氯苯 (hexachlorobenzene)、

五氯苯胺 (pentachloroaniline) 和环氧七氯异构体 - B (heptachlor epoxide isomer B, HCE) (美国 Supelco 公司, 纯度质量分数为 99%), 联苯菊酯 (bifenthrin)、甲氰菊酯 (fenpropathion)、三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin)、氯菊酯 (permethrin)、氟氯氰菊酯 (cyfluthrin)、氯氰菊酯 (cypemethrin)、氰戊菊酯 (fenvalerate) 和溴氰菊酯 (deltamethrin) (购于天津农业部环境质量监督检验测试中心提供, 纯度质量分数为 99%)。

试剂: 乙腈 (色谱纯, 山东禹王实业有限公司), 无水 MgSO_4 和 NaCl (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂), 正己烷 (重蒸, 分析纯, 天津市大茂化学试剂厂), 重蒸水 (自制), 丙基乙二胺 (PSA) 吸附剂 (河南默克色谱科贸有限公司)。

样品: 山茱萸药材 (湖南等 5 个同产地, 由沈阳药科大学孙启时教授鉴定)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

Hp-5 弹性石英毛细管柱 ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm}$, $0.25 \mu\text{m}$), ECD 检测器, 进样口温度: 230°C , 检测器温度: 320°C , 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 载气: 高纯氮, 进样分流比: 3:1, 进样量: $1 \mu\text{L}$, 升温程序: 初始柱温 150°C , 以 $5^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 250°C 保持

收稿日期: 2009 - 04 - 28

作者简介: 张舒婷 (1983 -), 女, (汉族), 黑龙江齐齐哈尔人, 硕士研究生, E-mail: zstzwz-3@163.com; 毕开顺 (1956 -), 男 (汉族), 河北唐山人, 教授, 主要从事中药质量标准化、中药药效物质基础的研究, Tel: 024 - 23986296, E-mail: ksbi@mail.sy.ln.cn.

1 min,以 $2\text{ }\cdot\text{min}^{-1}$ 升至 $270\text{ }\cdot\text{min}^{-1}$ 保持 5 min。

2.2 混合对照品储备液制备

分别精密称取各有机氯农药对照品适量,精密量取各拟除虫菊酯农药对照品适量,分别置于 25 mL 量瓶中,加正己烷溶解并定容至刻度,制得各有机氯对照品溶液质量浓度为 $200\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和各拟除虫菊酯对照品溶液质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。精密量取上述对照品溶液适量,置于 100 mL 量瓶中,加正己烷溶解并定容至刻度,配制有机氯类农药质量浓度为 $500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和拟除虫菊酯类农药质量浓度为 $1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的混合对照品储备液。

2.3 供试品溶液制备

取山茱萸粉末(过 $630\text{ }\mu\text{m}$ 筛) 2.5 g ,精密称定,置 100 mL 具塞离心管中,精密加入 7.5 mL 水和 10 mL 乙腈,涡旋 1 min,加入 4.0 g 无水 MgSO_4 和 1.0 g NaCl ,涡旋 1 min,以

$4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,上清液备用。精密量取上清液 1.0 mL 于 1.5 mL EP管中,加入 300 mg PSA和 50 mg 无水 MgSO_4 ,涡旋 1 min,以 $12\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min,取上清液,供气相色谱测定。

2.4 线性关系考察

精密量取不同体积对照品混合溶液,配制有机氯 $5、10、50、100、200、500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和拟除虫菊酯 $10、20、100、200、400、1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 6个质量浓度系列混合对照品溶液。取上述混合对照品系列溶液 $1\text{ }\mu\text{L}$ 进样,在上述色谱条件下进行分析。以对照品质量浓度 $X(\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ 为横坐标,峰面积 Y 为纵坐标,绘制标准曲线并进行回归分析,有机氯和拟除虫菊酯类农药的线性回归方程、相关系数(见表 1),结果表明:有机氯和拟除虫菊酯在 $5\sim 500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10\sim 1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 内成良好线性。

Table 1 Calibration data of organochlorine and pyrethroid pesticides

Pesticide	Standard curve equation	<i>r</i>
α -BHC	$Y=31.30X+49.19$	0.999 8
Hexachlorobenzene	$Y=22.84X+140.1$	0.999 2
γ -BHC	$Y=23.59X+23.41$	0.997 8
δ -BHC	$Y=28.56X+59.48$	0.999 9
Heptachlor	$Y=17.58X+68.82$	0.999 4
Aldrin	$Y=23.42X-42.72$	0.999 8
HCE	$Y=19.39X-9.11$	1.000 0
γ -chlordane	$Y=18.64X-57.76$	0.999 7
Dieldrin	$Y=23.49X-76.55$	0.999 7
<i>o,p'</i> -DDT	$Y=8.32X+30.86$	0.999 3
Endrin	$Y=15.25X+29.30$	0.999 9
<i>p,p'</i> -DDT	$Y=7.846X+17.27$	0.999 1
Bifenthrin	$Y=8.38X+50.16$	0.999 8
Fenpropathion	$Y=9.10X+40.07$	0.999 6
Cyhalothrin	$Y=26.39X-86.3$	0.999 8
Permethrin	$Y=4.119X+53.12$	0.999 4
Cyfluthrin	$Y=18.35X+127.1$	0.998 1
Cypermethrin	$Y=13.98X+73.80$	0.998 2
Fenvalerate	$Y=18.04X+11.82$	0.999 6
Deltamethrin	$Y=17.82X+10.65$	0.999 1

2.5 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 $50\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,拟除虫菊酯类农药质量浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),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

0.9%~5.8%之间。

2.6 方法精密度试验

精密称取同一产地药材粉末 5 份,分别精密加入相同体积混合对照品溶液,按“2.3”条方法操作,在上述色谱条件下进行分析,20 种农药含

量的 RSD 分别为 3.6%、5.7%、3.9%、4.0%、3.2%、4.4%、4.9%、4.0%、5.3%、3.8%、4.9%、4.3%、4.1%、3.7%、5.0%、7.7%、6.0%、9.1%、5.2%、5.1%、6.6%。

2.7 定量限

将混合对照品溶液逐级稀释,分别进样测定,至信噪比 $S/N=10$ 时,有机氯和拟除虫菊酯类农药定量限为 $1\sim5\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.8 加样回收率试验

精密称取湖南产地山茱萸药材粉末 9 份,每 3 份为一组,每份约 2.5 g,精密称定,置离心管中,分别精密加入混合对照品溶液,使有机氯类农药添加的质量分数分别为 5%、10%、50% ($\times 10^{-8}$),拟除虫菊酯类农药添加的质量分数分别为 1%、2%、10% ($\times 10^{-9}$),按“2.3 条操作,在上述色谱条件下进样分析,计算回收率,结果见表 2。

Table 2 Recoveries and RSD of organochlorine and pyrethroid pesticides(n =9)

Pesticide	$w_{\text{original}}/\%$ ($\times 10^{-7}$)	$w_{\text{added}}/\%$ ($\times 10^{-7}$)	$w_{\text{found}}/\%$ ($\times 10^{-7}$)	Recovery/%	$\bar{x}/\%$	RSD/%
α -BHC		50.6	41.39	81.80	82.4	4.4
		100.1	84.90	84.90		
		506.0	407.80	80.60		
Hexachlorobenzene		52.2	51.05	97.80	98.9	3.2
		104.4	104.60	100.20		
		522.0	514.70	98.60		
γ -BHC		50.9	38.69	76.03	83.3	5.1
		101.8	92.60	91.00		
		509.0	392.10	77.04		
δ -BHC		46.3	34.97	75.55	81.4	6.7
		92.6	87.00	93.90		
		463.0	372.40	80.40		
Heptachlor		50.9	47.85	94.00	95.1	4.5
		101.8	93.90	92.20		
		509.0	503.90	99.00		
Aldrin	38.60	50.0	39.09	78.18	90.0	5.0
	38.60	100.0	107.70	107.70		
	38.60	500.0	420.50	84.10		
HCE		51.0	46.05	90.30	88.9	4.9
		102.0	87.50	85.80		
		510.0	461.60	90.50		
γ -chlordane		48.4	42.30	87.40	87.9	8.2
		96.8	91.20	94.20		
		484.0	398.30	82.30		
Dieldrin		49.8	43.72	87.80	88.6	5.2
		99.6	100.10	100.50		
		498.0	385.90	77.48		
<i>o,p'</i> -DDT		49.2	38.16	77.57	78.32	8.5
		98.4	75.86	77.12		
		492.0	395.10	80.30		
Endrin		49.5	41.23	83.30	80.0	5.3
		99.0	79.29	80.10		
		495.0	379.70	76.70		

(to be continued)

Continued table 2						
Pesticide	w _{original} /% ^a	w _{added} /% ^a	w _{found} /% ^a	Recovery/%	$\bar{x}$ /%	RSD/%
p, p'-DDT		50.3	44.82	89.1	82.1	6.9
		100.6	75.75	75.3		
		503.0	412.5	82.0		
Bifenthrin		100.0	119.9	119.9	112.8	4.1
		200.0	237.9	119.0		
		1 000.0	996.1	99.6		
Fenpropathion		100.0	119.1	119.1	108.3	7.7
		200.0	196.6	107.3		
		1 000.0	974.3	98.4		
Cyfluthrin		146.3	100.0	107.3	107.3	104.0
		146.3	200.0	111.7		
		146.3	1 000.0	93.1		
Permethrin		100.0	88.5	88.5	96.0	5.7
		200.0	228.6	114.3		
		1 000.0	852.8	85.3		
Cyfluthrin		100.0	103.7	103.7	98.5	7.7
		200.0	211.4	105.7		
		1 000.0	861.8	86.2		
Cypemethrin		100.0	104.8	104.8	97.7	9.2
		200.0	204.0	102.0		
		1 000.0	863.1	86.3		
Fenvalerate	43.74	100.0	98.7	98.7	100.5	6.6
		200.0	214.8	107.4		
		1 000.0	954.4	95.4		
Deltamethrin		100.0	88.1	88.1	99.7	9.4
		200.0	226.2	113.1		
		1 000.0	979.7	98.0		

2.9 样品测定

法定量,计算样品中农药残留量,结果见表 3,混合对照品溶液和代表性样品色谱图见图 1。

取山茱萸各产地干燥药材粉末,精密称定,按“2.3 条操作,在上述色谱条件下测定,根据外标

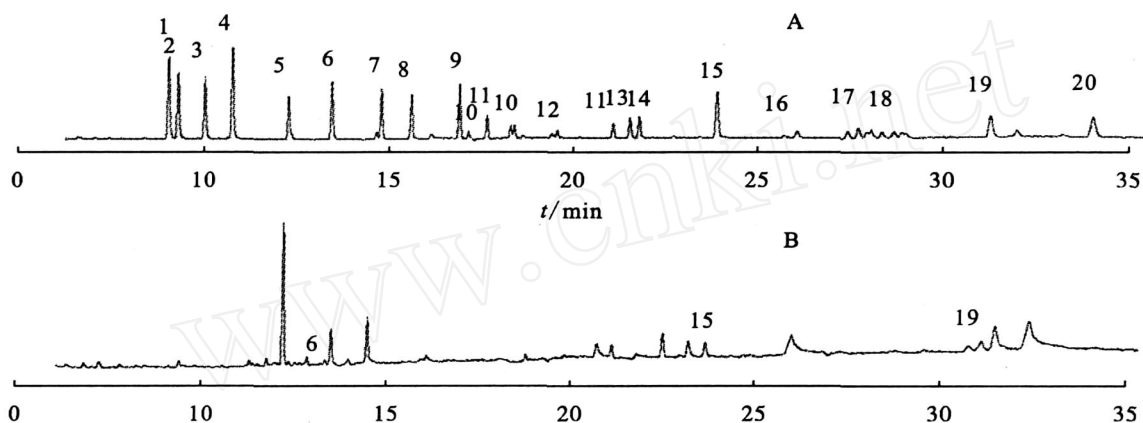
Table 3 Determination results for pesticide residues in Cornus officinalis(×10⁻⁷)

Pesticide	w _{zhejiang No.1} /%	w _{zhejiang No.2} /%	w _{hunan} /%	w _{henan} /%	w _{shanxi} /%
α-BHC	-	-	-	52.58	-
Hexachlorobene	-	-	-	-	-
γ-BHC	-	-	-	-	-
δ-BHC	-	-	-	-	-
Heptachlor	-	-	-	-	-
Aldrin	-	12.93	38.60	22.49	-
HCE	-	-	-	-	12.93
γ-chlordane	37.51	-	-	33.41	-
Dieldrin	44.28	42.90	-	67.64	-

(to be continued)

Continued table 3

Pesticide	W zhejiang No. 1 /%	W zhejiang No. 2 /%	W hunan /%	W henan /%	W shanxi /%
<i>o, p</i> 'DDT	76. 70	42. 32	-	-	90. 4
Endrin	-	15. 01	-	-	17. 60
<i>p, p</i> 'DDT	-	-	-	-	-
B ifenthrin	-	-	-	-	-
Fenp ropathion	-	-	-	-	-
Cyhalothrin	63. 06	15. 82	146. 3	-	-
Permethrin	-	-	-	-	-
Cyfluthrin	-	-	-	-	-
Cypemethrin	-	-	-	-	-
Fenvalerate	-	-	43. 74	-	277. 2
Deltamethrin	-	-	-	-	-



1— α -BHC; 2—Hexachlobenzene; 3— γ -BHC; 4— δ -BHC; 5—Heptachlor; 6—aldrin; 7—Heptachlor epoxide isomer B; 8— γ -chlordane; 9—dieldrin; 10—*o, p* 'DDT; 11—Endrin; 12—*p, p* 'DDT; 13—B ifenthrin; 14—Fenp ropathion; 15—Cyhalothrin; 16—Permethrin; 17—Cyfluthrin; 18—Cypemethrin; 19—Fenvalerate; 20—Deltamethrin

Fig 1 GC chromatograms of mixed pesticides standard (A) and *Cornus officinalis* sample (B)

3 讨论

常用样品前处理方法繁琐,有机试剂消耗量大,污染严重,已远远满足不了现代中药材中农药残留分析的要求。本研究中,作者采用分散固相萃取法将提取和净化一步完成,简化了样品前处理的步骤,并减少了有机试剂的消耗,环境污染小,符合农药残留检测分析技术的发展方向 and 趋势。

中药成分复杂,难于选择内标;依据《中国药典》2005年版附录 Q 农药残留测定方法项下“有机氯类农药残留量测定和拟除虫菊酯类农药残留量测定”采用外标法进行测定。

本文作者以 PSA 为分散固相萃取中净化剂,其具有弱的阴离子交换能力,有利于吸附样品基质中的有机酸、糖以及色素等杂质。本文作者对

PSA 用量进行考察,结果表明:用量过少,不能除去杂质;用量过多,待测物回收率降低;综合考虑回收率和杂质去除因素,本实验选择 PSA 用量为 300 mg。同时对净化时间进行考察,结果表明:随着净化时间的增加,无明显的脱色效果,且待测物的回收率下降,样品净化时间为 1 min 时,回收率较好,杂质干扰较少。

本文作者应用分散固相萃取气相色谱法对 5 个产地山茱萸药材中残留的 20 种有机氯和拟除虫菊酯类农药进行研究,所测样品中有部分农药被检出,拟除虫菊酯类农药比有机氯类农药检出率低。DDT、BHC 的含量低于《中华人民共和国药典》2005 年版(一部)所规定限量,对于其它农药,《中华人民共和国药典》没有相关的限量要求;浙江 2 和河南产地山茱萸中 aldrin 和 dieldrin 的总量超过《欧洲药典》2008 年版所规定的相关

农药限量。

参考文献:

- [1] 袁宁,余彬彬,张茂升,等.微波辅助萃取 - 固相微萃取 - 气相色谱法同时测定茶叶中的有机氯和拟除虫菊酯农药残留 [J]. 色谱, 2006, 24 (6): 636 - 640
- [2] 张潇潇,陈晓辉,董婷霞,等.固相萃取 - 毛细管气相色谱法测定党参、龙胆中 15 机氯农药的残留量 [J]. 沈阳药科大学学报, 2006, 3 (12): 776
- [3] 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
- [4] FRANK J S, STEVEN J L. Does further clean-up reduce the matrix enhancement effect in gas Chromatographic analysis of pesticide residues in food? [J]. Journal of Chromatography A, 2000, 868 (1): 51 - 61.
- [5] DIEZ C, TRAAG W A, ZOMMER P, et al Comparison of an acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" method with classical multi-residue methods for the extraction of herbicide residues in barley samples [J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1131 (1 - 2): 11 - 23

Determination of twenty pesticide residues in Cornus officinalis by gas chromatography using dispersive solid phase extraction

ZHANG Shu-ting, CHEN Xiao-hui, YU Zhi-guo, SHEN Xu, GOU Meng, BI Kai-shun
(School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography method for simultaneous determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in Cornus officinalis by dispersive solid phase extraction (DSPE).

Methods Pesticides were extracted with acetonitrile and the primary secondary amine (PSA) was chosen as the adsorbent. The gas chromatography was used with electron capture detector and the separation was performed on an Hp-5 column. The pesticide residues were calculated by external standard method. **Results** Good linear relation was obtained over the range of 5 - 500 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for organochlorine and 10 - 1 000 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ for pyrethroid. The limit of detection was 1 - 5 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The average recoveries of organochlorine and pyrethroid were 78.32% - 112.80% with corresponding RSD of 3.2% - 9.4%.

Conclusions The sample and rapid method is applied to pesticide residues detection and security monitoring and control.

Key words: dispersive solid phase extraction; primary secondary amine; gas chromatography; organochlorine; pyrethroid; *Cornus officinalis*