

气相色谱双塔双柱法同时测定中药材中 56 种有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量

郑征伟, 毛秀红, 苗 水, 陆继伟, 陈 钊, 王 柯, 季 申*

(上海市食品药品检验所中药天然药物室, 上海 201203)

摘要: 研究中药材中有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量的测定方法。样品经高速均质器均质提取, 依次经凝胶渗透色谱 (GPC) 和固相萃取柱 (SPE) 净化后, 用气相色谱双塔双柱进样, 双电子捕获检测器同时定性、定量测定。在 3 种中药材样品基质、3 水平添加条件下, 56 种农药的回收率大多在 70.0%~110.0%, 相对标准偏差小于 15%, 检测限大多低于 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 符合农药多残留检测的要求。本法净化效果好、基质干扰小、灵敏度高、重现性好, 可用于中药材样品中有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量的检测。

关键词: 有机氯及拟除虫菊酯类农药; 凝胶渗透色谱; 固相萃取; 气相色谱; 双塔双柱

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2010) 03-0353-06

Simultaneous determination of 56 organochlorine and pyrethroid pesticides in traditional Chinese medicines by GC coupled with dual-tower and dual-column

JIA Zheng-wei, MAO Xiu-hong, MIAO Shui, LU Ji-wei, CHEN Ke, WANG Ke, JI Shen *

(Department of Traditional Chinese Medicine, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China)

Abstract: The paper is to report the establishment of a method for the determination of multi-residue organochlorine and pyrethroid pesticides in traditional Chinese medicines (TCMs). Fifty-six pesticides were extracted by high-speed homogenization, and then purified through gel permeation chromatography (GPC) and solid phase extraction (SPE) cartridges. The residues were simultaneously identified and quantified by GC-ECD equipped with dual tower, dual column and two μ -ECD detectors. The analytical performance was demonstrated by the analysis of 3 TCMs samples' extracts, spiked at three concentration levels for each pesticide. In general, the recoveries ranging from 70% to 110%, with relative standard deviations (RSDs) better than 15%, were obtained. The limit of detection (LOD) for most of the targeted pesticides tested was below $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. The method had good extraction efficiency, purification effect and good reproducibility, which could be applied to the determination of organochlorine and pyrethroid pesticide residues in the routine analysis of TCMs.

Key words: organochlorine and pyrethroid pesticide; gel permeation chromatography; solid phase extraction; gas chromatography; dual-tower and dual-column

中药材的质量衡量不仅包括有效成分, 还包括一些外源性的污染物^[1], 如农药、重金属、微生物等。其中农药残留问题特别引起世界各国的高度重视。现行中国药典关于农药残留的收录^[2], 难以满足监测中

药材农药残留的要求。如何提高我国中药材中农药残留的检测水平已成为迫在眉睫的问题。目前, 在残留检测领域中, 色谱-质谱联用技术^[3, 4]正起到越来越重要的作用, 具有灵敏度高、快速准确以及多残留检测的优点; 而色谱法应用历史较长, 技术可靠, 仪器成本相对较低, 若配以专属性较强的检测器, 也能达到较低的检测限, 故其在农药残留检测领域中仍具

收稿日期: 2009-09-16.

*通讯作者 Tel / Fax: 86-21-50798195, E-mail: ji_shen2006@yahoo.com.cn

有一定的潜力和优势。

因此,作者分别采用质谱法和色谱法来测定中药材中的农药残留量,本文主要介绍采用凝胶渗透色谱-固相萃取-气相色谱双塔双柱法测定中药材中56种有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量,其余方法将另文报道。

材料与方法

仪器与试剂 Agilent 6890N 气相色谱仪,配双7683B自动进样器,双Ni63电子捕获检测器(美国Agilent公司);C₁₈固相萃取小柱(1 000 mg/6 mL,封端)和Florisil固相萃取小柱(1 000 mg/6 mL)由北京艾杰尔科技有限公司提供;IKA T25型高速均质器(德国IKA公司);LC-tech GPC 1122型自动凝胶渗透色谱仪(德国LC-tech公司);VisiprepTM DL型固相萃取装置(美国Supelco公司)。

农药对照品购自德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司和美国Chem Service公司;内标物十氯联苯由德国Dr. Ehrenstorfer GmbH公司提供。

气相色谱条件 DB-1弹性石英毛细管柱(30.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm,定量用);DB-17弹性石英毛细管柱(30.0 m × 0.25 mm × 0.25 μm,定性用);进样口温度:240℃;进样方式:不分流进样,0.75 min后开启分流放空阀;进样量:1 μL;柱温箱:采用程序升温,初始80℃保持1 min,以20℃·min⁻¹升温至180℃,保持5 min,然后以2℃·min⁻¹升温至220℃,再以20℃·min⁻¹升至300℃,保持10 min,总运行时间45 min;载气:高纯氮(纯度>99.999%);恒压:17.14 psi(使流速在1.5 mL·min⁻¹);检测器温度:325℃;尾吹+柱流量:60 mL·min⁻¹。

对照品溶液的制备 根据各农药对照品和内标物十氯联苯在检测器上的响应值,精密称取各农药对照品和十氯联苯适量,用乙酸乙酯分别制成100 mg·L⁻¹对照品储备液,其中响应值较低的农药对照品(拟除虫菊酯类、三唑醇等)可适当提高储备液的浓度,然后精密吸取各农药对照品储备液(均以100 mg·L⁻¹计),按表1的农药对照品分组用异辛烷分别制成0.005、0.01、0.025、0.05、0.1和0.25 mg·L⁻¹的共4组混合对照品工作溶液,并分别加入内标储备液适量,使内标物十氯联苯的浓度为0.05 mg·L⁻¹。

供试品溶液的制备

样品提取 称取试样10 g(精确至0.01 g),加入乙腈50 mL,用高速均质器均质提取3 min,4 000 r·min⁻¹离心5 min,上清液倒入盛有10 g无水硫酸钠

的100 mL锥形瓶中,放置30 min,精密量取10 mL提取液置50 mL圆底烧瓶中,在40℃水浴旋转蒸发至约1 mL,提取液转移至10 mL量瓶中,用环己烷-乙酸乙酯(1:1)分次洗涤圆底烧瓶,洗液一并转移至同一量瓶中,加环己烷-乙酸乙酯(1:1)至刻度,摇匀、离心,待净化。

样品净化 取上述上清液供凝胶渗透色谱仪(净化柱:400 mm × 25 mm,内装BIO-Beads S-X3填料;流动相:环己烷-乙酸乙酯(1:1);流速:5.0 mL·min⁻¹;样品定量环:5.0 mL)净化,收集16~36 min的馏分,转移至150 mL圆底烧瓶中,40℃减压浓缩至约1 mL,加少量乙腈替换两次至环己烷及乙酸乙酯除尽,置于C₁₈固相萃取小柱(1 000 mg/6 mL,封端,上样前柱上加无水硫酸钠,高约1 cm,用乙腈10 mL预洗柱)上,用乙腈20 mL洗脱,收集洗脱液,在40℃水浴旋转蒸发至约1 mL,加少量正己烷替换两次至乙腈除尽,置于Florisil固相萃取小柱(1 000 mg/6 mL,上样前依次用正己烷-丙酮(9:1)10 mL和正己烷10 mL预洗柱)上,用正己烷-丙酮(9:1)洗脱15 mL,收集洗脱液。将洗脱液置氮气吹干仪上吹干,加入0.05 mg·L⁻¹的内标工作溶液1 mL,混匀,经0.2 μm滤膜过滤,取续滤液,即得。

结果

1 线性关系

将4组各不同浓度的混合对照品工作溶液注入气相色谱仪,记录各待测组分与内标物的色谱峰面积,以各成分的峰面积与内标峰面积之比为横坐标(x),各成分的浓度与内标浓度比为纵坐标(y),采用线性范围二次拟合的功能,进行回归分析。实验结果表明,各种农药对照品在给定范围内线性关系良好(表1)。

2 精密度与重现性

2.1 精密度 精密吸取0.05 mg·L⁻¹的混合对照品工作溶液注入气相色谱仪,连续进样,记录峰面积,计算相对标准偏差(RSD)值,56种农药的RSD值均在0.96%~9.15%(n=6)。

2.2 重现性 取样品粉末(过三号筛)10 g,一式6份,分别精密加入浓度为1 mg·L⁻¹混合对照品溶液(不含内标)0.25 mL,按“供试品溶液的制备”项下制备加样样品溶液并测定,计算RSD值。56种农药重现性RSD值分别在1.19%~10.22%(白果样品)、1.46%~9.85%(人参样品)、0.87%~9.16%(地龙样品)。

Table 1 Groups, relative retention time, calibration data, correlation coefficients and LODs (studied in a *Semen Ginkgo* sample) of 56 pesticides

Group	No.	Pesticide	t_R (DB-1)	t_R (DB-17)	C/mg·L ⁻¹	Calibration curve	r	LOD/mg·kg ⁻¹
1	1	Tecnazene	0.241	0.285	100	$y = -0.022\ 6\ x^2 + 2.104\ 3\ x + 0.024\ 5$	0.999 99	0.013
	2	Hexachlorobenzene	0.297	0.335	100	$y = -0.021\ 0\ x^2 + 2.072\ 5\ x + 0.037\ 3$	0.999 99	0.001
	3	Quintozene	0.321	0.399	100	$y = -0.026\ 3\ x^2 + 2.075\ 9\ x + 0.029\ 6$	0.999 99	0.017
	4	Pentachloroaniline	0.367	0.497	200	$y = -0.026\ 0\ x^2 + 1.748\ 6\ x + 0.043\ 3$	0.999 98	0.007
	5	S 421	0.425	0.485	100	$y = 0.014\ 5\ x^2 + 3.051\ 2\ x - 0.132\ 9$	0.999 94	0.003
	6	Methyl-pentachlorophenyl sulfide	0.445	0.561	100	$y = -0.029\ 9\ x^2 + 2.293\ 6\ x - 0.038\ 0$	0.999 98	0.004
	7	Triadimefon	0.475	0.589	500	$y = -0.012\ 0\ x^2 + 2.005\ 8\ x + 0.096\ 6$	0.999 94	0.016
	8	Oxy-chlordane	0.534	0.618	100	$y = -0.016\ 7\ x^2 + 1.335\ 1\ x + 0.025\ 2$	0.999 98	0.007
	9	<i>o</i> , <i>p</i> '-DDE	0.580	0.723	200	$y = -0.035\ 0\ x^2 + 2.037\ 9\ x + 0.057\ 6$	0.999 97	0.011
	10	<i>o</i> , <i>p</i> '-DDD	0.648	0.802	200	$y = -0.033\ 0\ x^2 + 2.011\ 5\ x + 0.050\ 5$	0.999 97	0.015
	11	<i>o</i> , <i>p</i> '-DDT	0.729	0.825	200	$y = -0.009\ 1\ x^2 + 1.860\ 6\ x + 0.064\ 3$	0.999 96	0.018
	12	Bromopropylate	0.877	0.874	200	$y = -0.011\ 1\ x^2 + 0.942\ 4\ x + 0.073\ 5$	0.999 82	0.009
	13	Tetradifon	0.891	0.916	100	$y = -0.010\ 0\ x^2 + 0.990\ 5\ x + 0.016\ 1$	0.999 99	0.019
	14	Cyfluthrin	0.967	0.962	500	$y = -0.005\ 4\ x^2 + 3.222\ 0\ x + 0.010\ 4$	0.999 99	0.007
2	15	Fenvalerate	1.013	1.054	500	$y = 0.007\ 0\ x^2 + 2.610\ 6\ x + 0.002\ 8$	1.000 00	0.003
	16	Alpha-HCH	0.279	0.343	100	$y = -0.004\ 2\ x^2 + 1.752\ 5\ x - 0.004\ 3$	0.999 98	0.004
	17	Pentachloranisole (PCA)	0.300	0.359	100	$y = -0.026\ 7\ x^2 + 2.158\ 8\ x + 0.069\ 9$	0.999 95	0.006
	18	Chlorothalonil	0.331	0.519	100	$y = 0.041\ 7\ x^2 + 1.683\ 9\ x - 0.167\ 1$	0.999 79	0.001
	19	Vinclozolin	0.394	0.486	200	$y = -0.015\ 1\ x^2 + 1.450\ 6\ x + 0.059\ 6$	0.999 91	0.008
	20	Dichlofluanid	0.439	0.622	100	$y = 0.014\ 6\ x^2 + 1.313\ 7\ x - 0.015\ 7$	0.999 99	0.006
	21	Chlorthal-dimethyl	0.481	0.585	100	$y = -0.018\ 4\ x^2 + 1.473\ 3\ x + 0.037\ 8$	0.999 95	0.006
	22	Pendimethalin	0.521	0.649	1 000	$y = -0.008\ 7\ x^2 + 1.917\ 1\ x + 0.107\ 3$	0.999 94	0.035
	23	Triadimenol	0.551	0.694	10 000	$y = -0.055\ 8\ x^2 + 3.311\ 7\ x + 0.168\ 3$	0.999 86	0.638
	24	<i>cis</i> -Chlordane	0.597	0.716	100	$y = -0.014\ 4\ x^2 + 1.776\ 0\ x + 0.025\ 6$	0.999 97	0.008
	25	<i>p</i> , <i>p</i> '-DDE	0.640	0.775	100	$y = -0.014\ 4\ x^2 + 1.672\ 2\ x + 0.021\ 9$	0.999 97	0.006
	26	Fenpropathrin	0.886	0.877	200	$y = -0.001\ 8\ x^2 + 0.637\ 8\ x + 0.020\ 5$	0.999 97	0.015
	27	Mirex	0.914	0.911	100	$y = -0.005\ 0\ x^2 + 0.849\ 0\ x + 0.020\ 6$	0.999 98	0.004
	28	Permethrin	0.945	0.944	1 000	$y = -0.006\ 3\ x^2 + 1.087\ 7\ x + 0.071\ 1$	0.999 88	0.050
3	29	Tau-fluvalinate	1.020	1.010	500	$y = 0.018\ 6\ x^2 + 2.584\ 6\ x - 0.050\ 3$	0.999 98	0.004
	30	Beta-HCH	0.292	0.462	200	$y = -0.012\ 8\ x^2 + 1.522\ 0\ x + 0.048\ 0$	0.999 98	0.008
	31	Delta-HCH	0.315	0.518	100	$y = -0.002\ 6\ x^2 + 1.661\ 3\ x + 0.018\ 5$	0.999 99	0.003
	32	Heptachlor	0.415	0.473	100	$y = -0.020\ 6\ x^2 + 1.636\ 6\ x + 0.051\ 6$	0.999 98	0.007
	33	Aldrin	0.470	0.530	100	$y = -0.023\ 5\ x^2 + 2.274\ 2\ x + 0.224\ 1$	0.999 84	0.006
	34	Heptachlor-exo-epoxide (<i>cis</i>)	0.527	0.649	100	$y = -0.018\ 3\ x^2 + 1.344\ 7\ x + 0.047\ 1$	0.999 97	0.006
	35	Procymidone	0.550	0.713	1 000	$y = -0.018\ 2\ x^2 + 1.569\ 2\ x + 0.202\ 8$	0.999 63	0.040
	36	Dieldrin	0.639	0.780	100	$y = -0.027\ 8\ x^2 + 2.006\ 9\ x + 0.046\ 4$	0.999 97	0.005
	37	Endrin	0.673	0.815	200	$y = -0.023\ 5\ x^2 + 1.582\ 8\ x + 0.067\ 6$	0.999 93	0.008
	38	<i>p</i> , <i>p</i> '-DDD	0.712	0.831	200	$y = -0.045\ 8\ x^2 + 3.262\ 8\ x + 0.173\ 7$	0.999 91	0.005
	39	<i>p</i> , <i>p</i> '-DDT	0.798	0.848	100	$y = -0.013\ 6\ x^2 + 4.679\ 3\ x + 0.016\ 8$	0.999 99	0.009
	40	Iprodione	0.862	0.879	1 000	$y = -0.003\ 3\ x^2 + 1.389\ 2\ x + 0.097\ 8$	0.999 88	0.018
	41	Methoxychlor	0.879	0.900	200	$y = -0.007\ 4\ x^2 + 2.064\ 5\ x + 0.093\ 1$	0.999 90	0.007
	42	Flucythrinate	0.985	0.990	500	$y = -0.007\ 9\ x^2 + 2.458\ 5\ x - 0.000\ 6$	1.000 00	0.005
4	43	Deltamethrin	1.032	1.123	500	$y = -0.012\ 0\ x^2 + 3.170\ 3\ x + 0.125\ 9$	0.999 98	0.003
	44	Dicloran	0.285	0.415	100	$y = -0.024\ 7\ x^2 + 1.334\ 5\ x + 0.022\ 2$	0.999 96	0.004
	45	Gamma-HCH	0.309	0.423	100	$y = -0.024\ 8\ x^2 + 1.886\ 8\ x - 0.013\ 7$	0.999 94	0.003
	46	Tefluthrin	0.357	0.321	100	$y = -0.029\ 3\ x^2 + 1.495\ 2\ x - 0.010\ 1$	0.999 96	0.006
	47	Alachlor	0.406	0.509	1 000	$y = -0.018\ 4\ x^2 + 1.407\ 5\ x + 0.091\ 7$	0.999 91	0.032
	48	Dicofol	0.466	0.893	100	$y = -0.025\ 3\ x^2 + 1.395\ 6\ x + 0.109\ 1$	0.999 86	0.004
	49	Heptachlor-endo-epoxide (<i>trans</i>)	0.531	0.668	100	$y = -0.025\ 9\ x^2 + 1.441\ 6\ x + 0.014\ 8$	0.999 97	0.005
	50	<i>trans</i> -Chlordane	0.566	0.689	100	$y = -0.029\ 6\ x^2 + 1.950\ 8\ x - 0.000\ 9$	0.999 96	0.005
	51	Alpha-endosulfan	0.590	0.723	100	$y = -0.030\ 2\ x^2 + 1.605\ 6\ x + 0.006\ 5$	0.999 97	0.010
	52	Beta-endosulfan	0.678	0.835	100	$y = -0.061\ 6\ x^2 + 2.990\ 8\ x + 0.051\ 0$	0.999 97	0.003
	53	Endosulfan sulfate	0.760	0.864	100	$y = -0.038\ 8\ x^2 + 2.187\ 0\ x - 0.000\ 1$	0.999 96	0.004
	54	Bifenthrin	0.887	0.854	500	$y = -0.024\ 8\ x^2 + 1.524\ 5\ x - 0.053\ 9$	0.999 93	0.007
	55	Cyhalothrin	0.923	0.890	100	$y = -0.004\ 6\ x^2 + 0.714\ 1\ x - 0.012\ 2$	0.999 95	0.004
	56	Cypermethrin	0.977	0.987	500	$y = -0.009\ 4\ x^2 + 2.737\ 3\ x - 0.044\ 5$	0.999 98	0.009

The relative retention time of all pesticides was calculated by using decachlorobiphenyl (internal standard) as a reference standard. The retention times of triadimenol and pyrethroids were based on the combined peaks of their isomers, and the retention time of S-421 was represented by the back peak of its decomposition products

3 加样回收率与检测限

取样品粉末 (过三号筛) 10 g, 一式 9 份, 以 3 份为一组, 分别精密加入 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液 1、0.25 和 0.05 mL, 按“供试品溶液的制备”项下制备加样样品溶液, 进样分析, 计算加样回收率。同时以低浓度加样中噪音的 3 倍计算每种农药的检测限。结果见表 1, 56 种农药的回收率分别在 62.0%~100.8% (白果样品)、62.9%~105.9% (人参样品)、66.6%~102.8% (地龙样品), RSD 均小于 15%, 检测限大多低于 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (以白果样品为例), 符合农药残留检测的要求。

4 结果判断

56 种待测农药对照品中三唑醇及大多数拟除虫菊酯类农药均含有异构体, 色谱图上呈现 2~4 个异构体色谱峰, 定量时可将各异构体色谱峰的峰面积合并计算; 此外, 农药对照品八氯二丙醚在进样口温度超过 150°C 时就分解, 色谱图上呈现两个保留时间相差较大的色谱峰, 均为其裂解碎片^[5], 定量时可择

一计算也可将两者合并计算, 本次实验选择保留时间长的色谱峰作定量用。56 种农药对照品在 DB-1 柱和 DB-17 柱上的气相色谱图分别见图 1, 2。

被分析物一旦在 DB-1 柱中检出某种农药成分, 就用 DB-17 柱去验证, 只有可疑成分在两种柱子中均能和农药对照品的保留时间相一致的情况下, 才可判断检出该农药, 如果该农药超出标准允许的限值, 再用质谱进一步验证所测得的农药成分, 以保证结果的真实可靠。

讨论

本实验拟考察的中药材品种为白果、地龙、人参、银杏叶、广藿香、肉桂、红花共 7 种, 分别代表了根茎、全草、种子、皮类、叶类等不同药用部位的中药材样品。它们含有叶绿素、脂质、糖、有机酸等干扰物, 与待测的农药组分掺杂在一起, 对农药残留检测造成一定困难。此外, 不同于蔬菜、水果样品, 中药材一般为固体或半固体, 含水量较少, 样品经提取后

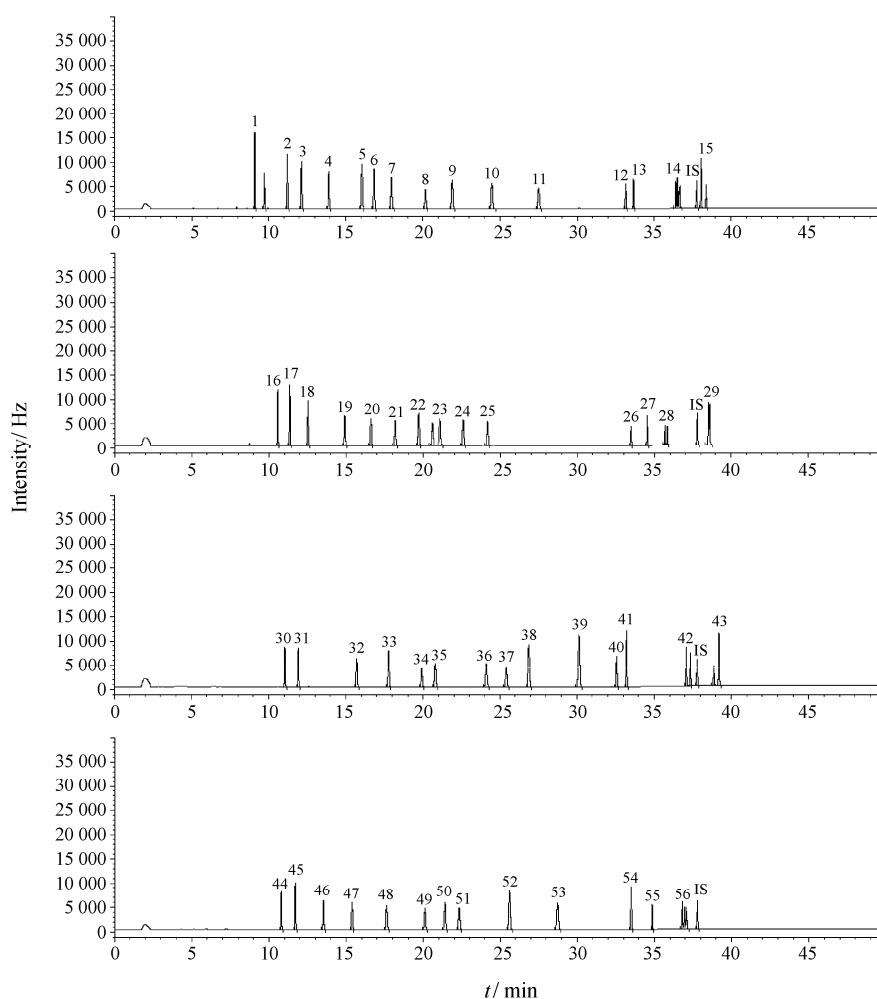


Figure 1 Chromatograms of 56 pesticides and decachlorobiphenyl (IS) separated by DB-1 capillary column (Group one to four, from top to bottom)

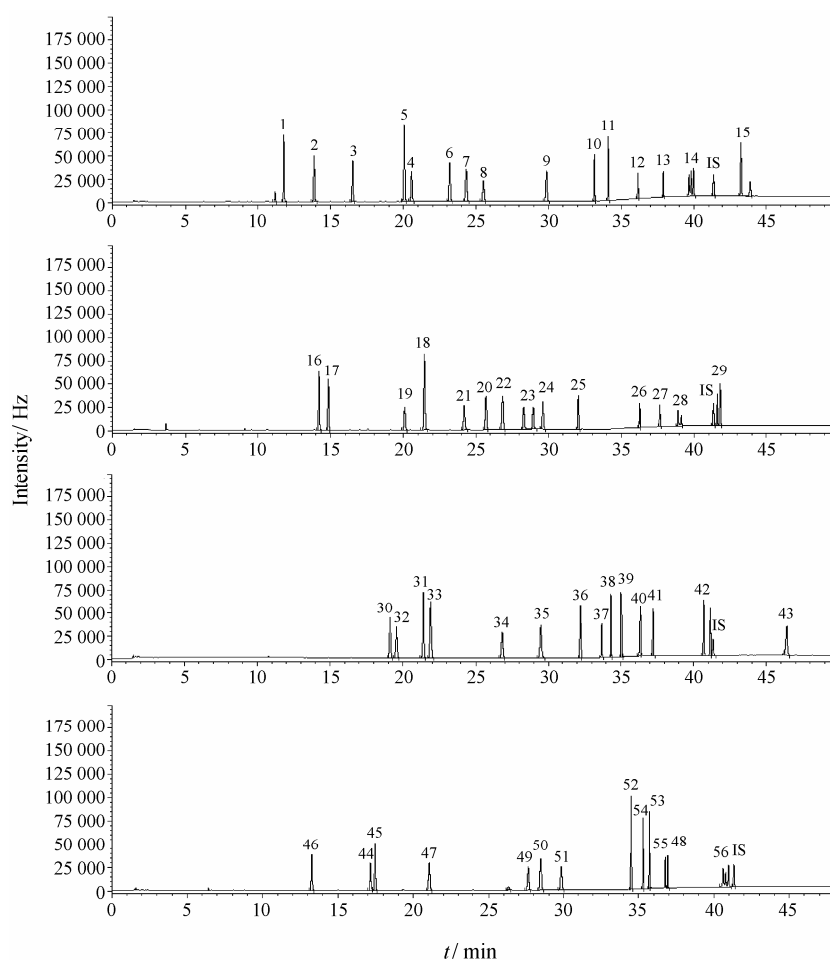


Figure 2 Chromatograms of 56 pesticides separated by DB-17 capillary column (Group one to four, from top to bottom)

其中的干扰组分也相应的放大了, 因而对样品的前处理, 尤其是净化技术, 提出了更高的要求。实验发现, 其中 4 种中药材品种 (红花、银杏叶、广藿香、肉桂) 经前处理后干扰成分仍较多, 它们本身所含的具有吸电子性能的化合物极大地干扰了电子捕获检测器的测定, 不仅增加了背景噪音, 掩盖了待测农药的响应, 而且还会产生较多的假阳性, 增加了质谱确证的工作量。因此, 对于此类中药材品种, 需要进一步优化前处理手段, 除去他们的干扰成分; 或者选用专属性更强的检测器 (电解电导检测器或卤素特殊检测器) 来排除响应干扰, 故暂未将其列入本方法。

由于待测的农药大多为非极性和弱极性的有机氯类农药, 因此首先选取 DB-1 (100% 二甲基聚硅氧烷) 和 DB-5 (5% 苯基-甲基聚硅氧烷) 两根非极性的色谱柱进行考察。实验证明, 各对照品色谱峰在 DB-1 柱上分离效果要优于 DB-5 柱, 且前者的极性更低, 高温下的柱流失相对较小, 色谱柱的使用寿命也较长, 因此选取 DB-1 柱作为定量用色谱柱; 其次, 选取一个极性差别较大的色谱柱作为定性用, 通过比

较各农药对照品色谱峰在 DB-35 (35% 苯基-甲基聚硅氧烷, 中等极性) 和 DB-17 (50% 苯基-甲基聚硅氧烷, 中等极性) 两根中等极性的色谱柱上的分离情况, 决定采用分离效果较优的 DB-17 柱作为定性用色谱柱。

选定的程序升温条件能使各组农药对照品色谱峰在两根色谱柱中均达到分离的要求, 初始柱温设定为 80 °C, 低于溶剂沸点 (异辛烷: 99.3 °C) 约 20 °C, 使溶剂和样品在衬管内气化后于柱头处重新冷凝, 0.75 min 后打开分流放空阀, 使大部分溶剂得以排出, 尽量避免大量溶剂进入色谱柱, 采用恒压模式 (1.5 mL·min⁻¹ 的初始流速设定, 使线速度达到最佳), 可以发挥气相色谱工作站保留时间锁定的功能 (锁定对象: 内标物十氯联苯), 以便于不同次实验的数据比对。鉴于有机氯农药的热稳定性, 可将检测器的温度提升至 325 °C, 高于最高柱温 20 °C 左右, 60 mL·min⁻¹ 的尾吹流量可使色谱峰形达到最佳。

用于气相色谱-电子捕获检测器测定的有机氯类及拟除虫菊酯类农药共 56 种, 根据化合物的保留时

间, 将保留时间接近甚至重叠的农药对照品依次编入不同的组别, 使各组的农药对照品在两根不同极性的色谱柱上均达到基线分离。并对常用的内标物质 1-溴-2-硝基苯、三硫磷、十氯联苯进行考察, 实验证明, 1-溴-2-硝基苯的色谱峰出峰太快, 容易受到样品中基质的干扰; 而三硫磷与待测农药对照品色谱峰有重叠现象, 相比之下, 十氯联苯的保留时间相对较长, 与周围的拟除虫菊酯类农药对照品均能达到有效分离, 受到的基质干扰也相对较小, 故最终采用十氯联苯作为内标物质。

现行的中国药典采用的供试品溶液制备方法大致为: 超声提取、液液分配萃取、硫酸磺化等, 存在提取效率低、操作繁琐等缺点, 虽然硫酸磺化的净化效果较好, 但适用的农药品种却十分有限。鉴于此, 作者对整个供试品溶液制备方法进行了优化, 即采用乙腈高速基质匀浆作为提取方法^[6]。以凝胶渗透色谱结合固相萃取的方法净化样品, 排除干扰物。

凝胶渗透色谱可利用分子筛的原理有效地先将样品中的脂类、色素等大分子化合物去除^[7]。GPC 条件的优化主要是考察前运行与主收集时间段的切割点。按以下条件进行优化: 前运行 14 min, 弃去; 后运行 5 min, 弃去; 主运行自 14 min 后每隔 2 min 收集一个馏分, 共收集 12 个馏分, 进样分析。结果发现: 样品中色素完全流出时间为 20 min, 大部分待测农药组分集中在第 20~32 min 流出, 个别分子质量相对较大的菊酯类农药在 16~20 min 有一部分已经流出, 而在 36 min 以后各种农药已基本无流出。综合考虑净化效果和农药回收率, 确定收集时间段为 16~36 min。

对于基质复杂的中药材样品来说, 尽管采用 GPC 已除去大部分的色素、油脂等大分子杂质, 但还需要 SPE 来做进一步净化以除去剩余的色素和小分子杂质。作者分别对 C₁₈、碱性氧化铝、石墨化碳黑、Florisil 等 4 个 SPE 填料进行考察。结果表明, 采用 C₁₈ 和碱性氧化铝通过吸附性能可以除去样品中剩余的油脂, 两者均能获得满意的回收率, 但 C₁₈ 的净化效果更佳。石墨化碳黑对于色素具有很强的吸附性, 由于其表面具有六边形结构, 使其对含有苯环等平面结构的农药也产生牢固的吸附, 需要在洗脱溶剂中添加类似结构的溶剂 (甲苯) 才能将农药组分替换下来, 但部分农药的回收率仍不理想。由于本方法涵盖的农药品种较多, 作者期望以一个通用性更好的手段来完善本方法。而 Florisil 作为一个 SPE 填料,

广泛应用于有机氯类农药残留的检测, 以去除一些强极性的干扰成分^[8], 同时它对色素也有一定的吸附作用。综合上述试验结果, 选定 C₁₈ 和 Florisil 作为 SPE 净化部分的填料, 既达到净化效果, 又能保证农药的回收率和测定结果的重现性。

总结

本方法综合运用了基质匀浆、凝胶渗透色谱、固相萃取、气相色谱双塔双柱等成熟的检测技术来测定中药材这一复杂基质中 56 种有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量。相比于中国药典原有方法和相关文献的方法, 本方法具有检测指标多、技术可靠、适用范围广、净化效果好的特点, 同时, 还可以结合质谱技术对超出限量的农药品种进行确证, 以排除阳性的结果。

References

- [1] Dai B, Jin HY, Tian JG, et al. Progress achieved in determination method of extrinsic harmful residues in traditional Chinese medicine [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2008, 28: 1014–1019.
- [2] China Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of the People's Republic (中华人民共和国药典) [M]. 2005 ed. Part I. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: appendix 52–54.
- [3] Wan ZK, He J, Kang CA, et al. Application and update progresses of GC-MS in determination of pesticide residues [J]. Anal Test Technol Instrum (分析测试技术与仪器), 2006, 12: 51–58.
- [4] Bo T, Zhan SA, Hu PB, et al. Simultaneously determination of 407 pesticide residues by LC-MS [J]. J Instrum Anal (分析测试学报), 2008, 27: 190–192.
- [5] Ding HY, Xie W, Jiang XY. Gas-chromatographic determination of residual octachloro-dipropyl-ether (S-421) in tea [J]. Phys Test Chem Anal (Part B: Chem Anal) (理化检验—化学分册), 2007, 43: 198–200.
- [6] Zhang Y. Evaluation different extraction solvent in analysis of pesticide residues [J]. Gansu Agric Sci Technol (甘肃农业科技), 2006, 9: 82–83.
- [7] Liu LB, Hi YK, Qin YP, et al. Development of automated online gel permeation chromatography–gas chromatograph mass spectrometry for measuring multiresidual pesticides in agricultural products [J]. J Chromatogr B, 2007, 845: 61–68.
- [8] Liu PY, Ma YS. Application of solid-phase extraction in pesticide residue analysis [J]. J Hebei Univ (Nat Sci Ed) (河北大学学报自然科学版), 2005, 25: 109–115.