

固相萃取-气相色谱法检测金银花中9种拟除虫菊酯农药残留

田丽梅, 孙志勇, 向 明, 宋春满, 杨叶昆, 李雪梅*
(云南中烟工业有限责任公司技术中心, 云南 昆明 650106)

摘 要: 采用固相萃取净化, 气相色谱电子捕获检测器检测, 建立了金银花中9种拟除虫菊酯农药残留量的检测方法。金银花样品经正己烷涡旋振荡提取、TPH固相萃取柱净化后, 用气相色谱检测。9种拟除虫菊酯农药的线性范围在0.01~0.8 mg/L, 平均回收率为82.8%~104.6%, 相对标准偏差为3.5%~5.7%, 检出限为0.002~0.005 mg/L。该方法灵敏、准确, 适用于金银花中9种拟除虫菊酯类农药残留量分析。

关键词: 气相色谱; 固相萃取; 拟除虫菊酯; 农药残留; 金银花

Determination of 9 Pyrethroid Pesticide Residues in Honeysuckle by Solid Phase Extraction and Gas Chromatography

TIAN Limei, SUN Zhiyong, XIANG Ming, SONG Chunman, YANG Yekun, LI Xuemei*
(Technology Center, China Tobacco Yunnan Industrial Co. Ltd., Kunming 650106, China)

Abstract: A method was developed for the determination of 9 pyrethroid pesticide residues in honeysuckle with solid-phase extraction and gas chromatography. The results showed that average recoveries of 9 pesticides spiked at 0.02, 0.1 and 0.5 $\mu\text{g/g}$ were in the range of 82.8%–104.6% with relative standard deviation (RSD) of 3.5%–5.7%. The linear range of the presented method was 0.01–0.8 mg/L, and the limits of detection (LOD) were 0.002–0.005 mg/L. The method is sensitive and suitable for the analysis of pyrethroid pesticide residues in honeysuckle.

Key words: gas chromatography; solid-phase extraction; pyrethroid; pesticide residue; honeysuckle

中图分类号: R914

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)20-0239-03

doi:10.7506/spkx1002-6630-201520046

近年来随着世界各国对天然药物需求的日益扩大, 许多中药材被广泛地人工种植。中药材在种植过程中, 农药使用较为频繁, 因其直接关系到患者的身体健康, 中药材中的农药残留不容忽视。金银花自古被誉为清热解毒的良药, 既能宣散风热, 又善清解血毒, 是药食两用的地道药材^[1], 用量多, 用途广, 严格控制其中的农药残留显得尤为重要。测定中药材中拟除虫菊酯农药残留的方法主要有液相色谱法^[2]、气相色谱法^[3-12]、气相色谱-质谱联用法^[13-19]、气相色谱-串联质谱法^[20]。液相色谱法检测拟除虫菊酯农药残留灵敏度不及气相色谱好, 气相色谱-质谱联用仪利用电子电离源时, 对拟除虫菊酯农药的灵敏度也不够理想, 而气相色谱-串联质谱法作为高端方法不易普及, 气相色谱电子捕获检测器作为选择性检测器, 检测拟除虫菊酯农药残留, 仍有其优势。固相萃取作为一种简便的前处理方法在农药残留检测中被广泛采用。固相萃取可采用单一填料的固相萃取小柱进行,

也可将不同类型填料的固相萃取小柱串联进行, 近年来还出现了将不同类型填料混合装填的固相萃取小柱^[19]。本实验采用混合填料的固相萃取柱净化, 气相色谱电子捕获检测器检测, 建立了金银花中9种拟除虫菊酯农药残留量的分析方法。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

9种金银花样品分别购自云南省昆明市、广西省柳州市、四川省广元市、山东省东营市、河北省邢台市、浙江省丽水市、湖南省怀化市、贵州省毕节市、河南省新乡市。

正己烷、丙酮(均为农残级) 美国天地公司; 标准品七氟菊酯(CAS: 79538-32-2)、联苯菊酯(CAS: 82657-04-3)、甲氰菊酯(CAS: 64257-84-7)、氯氟

收稿日期: 2014-12-22

基金项目: 云南中烟工业有限责任公司科技计划项目(2013JC03)

作者简介: 田丽梅(1974—), 女, 助理工程师, 本科, 研究方向为农药残留分析。E-mail: 571962751@qq.com

*通信作者: 李雪梅(1971—), 女, 研究员, 博士, 研究方向为烟草安全性评价。E-mail: xmlikm@126.com

氰菊酯 (CAS: 91465-08-6)、氯菊酯 (CAS: 52645-53-1)、氟氯氰菊酯 (CAS: 68359-37-5)、氯氰菊酯 (CAS: 52315-07-8)、氰戊菊酯 (CAS: 51630-58-1)、溴氰菊酯 (CAS: 52918-63-5)、灭蚊灵 (CAS: 2385-85-5, 内标) 均购自百灵威公司, 纯度均大于99.0%, 以正己烷配制, 并稀释成合适质量浓度的混合标准工作液。

1.2 仪器与设备

Hamilton MicroLab 500配液系统 瑞士Hamilton公司; 7890气相色谱仪 (配备微池电子捕获检测器)、Florisil固相萃取柱、TPH固相萃取柱 (500 mg/6 mL) 美国Agilent公司; PrepLinc SPEi自动固相萃取仪 美国J2 Scientific公司; 多管旋涡混合仪 美国Talboys公司; SK5200H超声波萃取仪 上海科导超声仪器有限公司; DryVap定量浓缩仪 美国Horizon公司。

1.3 方法

1.3.1 溶液配制

分别称取9种拟除虫菊酯农药标准物质0.01 g置10 mL容量瓶中, 精确至0.000 1 g, 用正己烷定容, 配制质量浓度为1 000 mg/L每种农药的单一标准储备液。然后移取每种农药的单一标准储备液1 mL置100 mL容量瓶中, 用正己烷稀释定容, 得到每种农药质量浓度为10 mg/L的混合储备液, -20℃保存, 有效期6个月。

称取0.01 g灭蚊灵标准物质于100 mL容量瓶中, 精确至0.000 1 g, 用正己烷定容, 得到质量浓度为100 mg/L的内标储备液。移取1 mL内标储备液于100 mL容量瓶中, 用正己烷定容, 得到质量浓度为1 mg/L的内标工作液。

1.3.2 样品处理

金银花样品置于旋风磨中粉碎, 过850 μm筛, 作为实验样品。称取2.0 g样品于50 mL离心管中, 加入15 mL正己烷 (含内标灭蚊灵0.01 mg/L), 旋涡混合5 min, 再加5 g无水硫酸镁, 旋涡混合2 min, 过滤, 残渣用10 mL正己烷分2次洗涤, 合并滤液, 于定量浓缩仪上40℃浓缩近干, 用2 mL正己烷复溶, 待净化。

用5 mL正己烷-丙酮 (9:1, V/V) 预淋固相萃取柱, 然后加入提取液, 用10 mL正己烷-丙酮 (9:1, V/V) 洗脱, 收集洗脱液, 浓缩近干, 用1 mL正己烷溶解后上机检测。

1.3.3 分析条件

色谱柱: DB-5MS (30 m×0.25 mm, 0.25 μm) 毛细柱; 载气: 高纯He, 恒压方式, 压力: 2.9 kPa; 进样口温度290℃, 检测器温度350℃; 不分流进样, 进样量2 μL。

柱温程序: 初温80℃, 以25℃/min由80℃升至150℃, 再以4℃/min由150℃升至280℃, 保持25 min至样品全部流出。

1.3.4 定性定量方法

采用农药标准品的保留时间定性, 内标法标准曲线法定量。

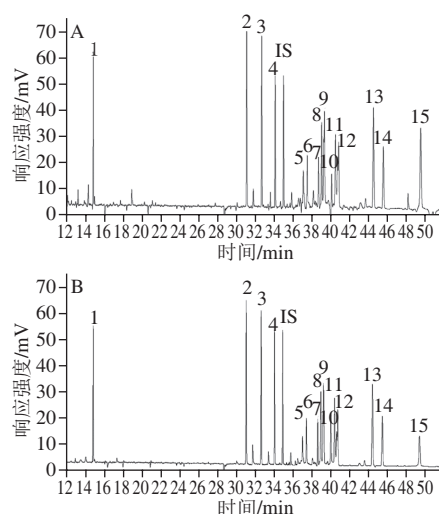
2 结果与分析

2.1 萃取液的选择

拟除虫菊酯农药残留提取一般采用石油醚-丙酮^[4-6]、石油醚^[7-8]、正己烷-丙酮^[9-11]、乙酸乙酯-环己烷^[12-16,21]、乙腈^[19-20,22-23]等作为萃取溶剂。石油醚、石油醚-丙酮、乙酸乙酯-环己烷、正己烷-丙酮等溶剂提取杂质相对较多。乙腈虽然穿透力强、提取效果好, 但在后续过程中不易浓缩。实验发现, 正己烷也能满足提取要求, 且提取的杂质较少, 因此实验采用正己烷作为提取溶剂。

2.2 固相萃取柱的选择

净化拟除虫菊酯农药残留样品, 一般选用Florisil固相萃取小柱^[4-7, 9-10], 实验比较了Florisil固相萃取小柱和复合填料 (Florisil+GCB) TPH固相萃取小柱^[19]的净化效果。金银花样品经2种固相萃取柱净化后, 回收率均能满足农药残留分析要求。Florisil固相萃取小柱净化后的样品仍残留一定的色素, TPH固相萃取小柱净化后的淋出液基本无色, 杂质相对较少 (图1), 因此实验选用TPH固相萃取小柱。



1.七氟菊酯; 2.联苯菊酯; 3.甲氰菊酯; 4.氟氯氰菊酯; 5.氯菊酯A; 6.氯菊酯B; 7.氟氯氰菊酯A; 8.氟氯氰菊酯B; 9.氟氯氰菊酯C; 10.氯氰菊酯A; 11.氯氰菊酯B; 12.氯氰菊酯C; 13.氰戊菊酯A; 14.氰戊菊酯B; 15.溴氰菊酯; IS.内标。

图1 Florisil固相萃取小柱 (A) 和TPH固相萃取小柱 (B) 净化的样品色谱图

Fig.1 Chromatograms of spiked sample (at 0.02 mg/kg) cleaned up by Florisil SPE cartridge (A) and TPH SPE cartridge (B)

2.3 方法的准确度与精密度实验结果

以正己烷配制9种拟除虫菊酯农药标准品的不同质量浓度的混合标准溶液, 得出9种农药的校准曲线及其相关系数, 9条校准曲线的 R^2 均大于0.999。结果见表1, 本方法对9种拟除虫菊酯农药残留量的检出限为0.002~0.005 mg/L。

选用金银花样品, 分别按0.02、0.10、0.50 mg/kg添

加拟除虫菊酯农药进行回收实验,在3个加标水平上,9种拟除虫菊酯农药的平均回收率在82.8%~104.6%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)在3.5%~5.7%之间,说明本方法对9种拟除虫菊酯农药残留有较好的回收率和精密度,能满足多残留分析要求。

表1 方法的回收率、精密度与检测限

Table 1 Recoveries and relative standard deviations of 9 pyrethroid pesticides

农药	添加量/ (mg/kg)						检出限/ (mg/L)
	0.02		0.10		0.50		
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	
七氟菊酯	89.2	4.5	90.6	4.2	94.5	3.8	0.002
联苯菊酯	90.8	4.4	91.2	4.2	95.1	3.9	0.005
甲氧菊酯	98.4	4.6	97.9	4.5	99.8	4.5	0.005
氯氟氰菊酯	84.8	3.6	88.3	3.7	89.5	3.5	0.003
氯菊酯	82.8	5.2	84.1	5.0	87.5	3.9	0.005
氟氯氰菊酯	95.7	5.7	94.8	4.8	97.6	4.5	0.004
氯氰菊酯	97.2	5.4	99.0	5.2	101.2	4.9	0.005
氰戊菊酯	98.6	4.8	98.0	4.5	100.1	3.8	0.003
溴氰菊酯	103.2	5.6	99.6	5.0	104.6	4.8	0.004

2.4 样品检测结果

表2 9个不同产地金银花农药残留含量

Table 2 Pesticide residue contents of honeysuckle from 9 growing areas

农药	mg/kg								
	云南省昆明市	广西省柳州市	四川省广元市	山东省东营市	河北省邢台市	浙江省丽水市	湖南省怀化市	贵州省毕节市	河南省新乡市
七氟菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
联苯菊酯	ND	ND	ND	0.02	ND	ND	ND	ND	ND
甲氧菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氟氯氰菊酯	0.04	ND	ND	0.15	0.03	0.06	ND	0.05	0.04
氯菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氟氯氰菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氯氰菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氰戊菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
溴氰菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.40	ND

注:ND.未检出。

9个不同产地金银花样品的检测结果见表2,其中云南省昆明市样品检出氟氯氰菊酯,含量为0.04 mg/kg;山东省东营市样品检出氟氯氰菊酯和联苯菊酯,含量分别为0.15 mg/kg和0.02 mg/kg;河北省邢台市样品检出氟氯氰菊酯,含量为0.03 mg/kg;浙江省丽水市样品检出氟氯氰菊酯,含量为0.06 mg/kg;贵州省毕节市样品检出氟氯氰菊酯和溴氰菊酯,含量分别为0.05 mg/kg和0.40 mg/kg;河南省新乡市样品检出氟氯氰菊酯,含量为0.04 mg/kg。广西省柳州市样品和四川省广元市样品均未检出9种拟除虫菊酯类农药残留。《中华人民共和国药典(2010版)》仅规定了3种有机氯农药残留限量,未明确规定拟除虫菊酯类农药残留限量。参照GB 2763—2014《食品中农药最大残留限量》对饮料类茶叶中拟除虫菊酯类农药残留限量要求^[24],检测的9个产地金银花相对安全,符合中药饮片使用要求。

3 结论

本实验采用涡旋振荡提取、自动固相萃取仪净化、气相色谱法同时测定了金银花中9种拟除虫菊酯类农药残留。虽然定性不及GB/T 23200—2008《桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中488种农药残留量的测定:气相色谱-质谱法》使用的气相色谱-质谱法^[19],但其精确度和精密度仍能满足农药多残留的分析要求。在不具气相色谱-质谱联用仪条件下,或是仅需要测定拟除虫菊酯类农药残留时,本方法仍然不失其实用性。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 205.
- [2] 周卿, 周旭美. 分散液液微萃取-高效液相色谱法测定金银花中拟除虫菊酯类农药残留[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(20): 70-73.
- [3] 王冬梅. 气相色谱测定金银花中6种杀虫剂和拟除虫菊酯类农药[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(2): 267-268.
- [4] 程寿峰, 张明时, 夏品华, 等. 黔产中药材饮片拟除虫菊酯农药残留量分析[J]. 湖北大学学报:自然科学版, 2013, 35(2): 197-199.
- [5] 夏品华, 张明时, 王兴宁, 等. 气相色谱法测定中药材中拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 257-259.
- [6] 瞿伟旗, 杜斌. 气相色谱法测定中药材中拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 化工技术与开发, 2010, 39(10): 43-46.
- [7] 詹雁, 谭镭, 肖锦, 等. GC法测定中药材中有机氯及拟除虫菊酯类农药残留[J]. 华西药理学杂志, 2010, 25(6): 323-325.
- [8] 翁淑琴, 李俊荣, 程心玲, 等. 固相萃取气相色谱内标法测定桔梗中拟除虫菊酯的农药残留[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(15): 1184-1185.
- [9] 刘童, 王永林, 王爱民, 等. 荭草药材中12种有机氯及拟除虫菊酯农药残留分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 47-49.
- [10] 郑杨, 程景. 茶叶中7种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留检测技术研究[J]. 农药科学管理, 2011, 32(3): 34-37.
- [11] 冯浩, 汤桦, 陈大舟, 等. 茶叶中9种有机氯和拟除虫菊酯农药残留的前处理方法研究[J]. 分析测试学报, 2010, 29(10): 1041-1047.
- [12] 郑征伟, 毛秀红, 苗水, 等. 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[J]. 药学报, 2010, 45(3): 353-358.
- [13] 何芳, 孔祥虹, 何强, 等. 气相色谱-质谱法检测中药材中81种农药残留[J]. 化学分析计量, 2013, 22(3): 9-11.
- [14] 何睿, 张春玲, 常育. 中药材中7种拟除虫菊酯类农药残留的检测方法研究[J]. 西北药学杂志, 2014, 29(2): 132-134.
- [15] 庄婉娥, 弓振斌, 叶江雷, 等. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱-质谱法同时测定金银花中33种农药残留组分[J]. 分析化学, 2010, 38(6): 811-816.
- [16] 罗逢健, 陈宗懋, 汤富彬, 等. 固相萃取和气相色谱-质谱法测定茶叶中34种农药残留[J]. 农药, 2010, 49(5): 363-366.
- [17] 刘洪波. 气质联用测定杭白菊等3种中药中5种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 浙江农林大学学报, 2015, 32(1): 110-115.
- [18] 刘洪波, 赵晓芳, 石贵英, 等. 浊点萃取反萃取-气质联用测定金线莲中5种拟除虫菊酯类农药残留[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(15): 2859-2861.
- [19] 国家质量监督检验检疫总局. GB/T 23200—2008 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中488种农药残留量的测定:气相色谱-质谱法[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [20] 程志, 张蓉, 刘伟华, 等. 气相色谱-串联质谱快速筛查测定中药材中144种农药残留[J]. 色谱, 2014, 32(1): 57-68.
- [21] 杨晓凤, 谢淋, 韩梅, 等. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱法测定茶叶中30种有机氯及拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 理化检验:化学分册, 2011, 47(6): 698-700.
- [22] 卢剑, 武中平, 高巍, 等. 气相色谱双柱法测定茶叶中多种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 食品科学, 2009, 30(24): 401-404.
- [23] 杨晓凤, 谢淋, 韩梅, 等. GC-ECD法测定茶叶中30种有机氯及菊酯类农药残留[J]. 西南农业学报, 2010, 23(3): 764-767.
- [24] 国家卫生和计划生育委员会. GB 2763—2014 食品中农药最大残留限量[S]. 北京:中国标准出版社, 2014.