

固相萃取法测定金银花中 11 种有机磷农药的残留量

向增旭^{1*}, 赵维佳², 高山林¹

(¹中国药科大学中药学院, 南京 210038; ²江苏省产品质量监督检验中心所, 南京 210029)

【摘要】 目的: 寻找一次性快速检测金银花中 11 种有机磷农药残留量的方法。方法: 选用脉冲式硫磷检测器(PFPD)和 HP-1701 毛细管柱, 以丙酮为提取溶剂, 超声波提取 10 min, C₁₈柱和硅胶柱固相萃取。采用气相色谱检测。结果: 11 种有机磷农药(敌敌畏, 敌百虫, 甲胺磷, 甲拌磷, 久效磷, 乐果, 马拉硫磷, 倍硫磷, 对硫磷, 甲基对硫磷, 乙酰甲胺磷)能够在 30 min 内完全分离, 最低检测限为 4.0~12.8 μg/L。前处理方法的添加回收率在 85.38%~91.35% 之间, 相对标准偏差 2.8%~6.1%。结论: 本方法适合于多种农药残留量的分析。

【关键词】 金银花; 农药残留; 有机磷农药; 气相色谱; 固相萃取

【中图分类号】 TQ460.72 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000—5048(2005)04—0334—04

药材农药残留问题日益引起世界各国的重视, 国际上从 1970 年起开始研究药材农药残留问题, 1980 年世界卫生组织将农药残留测定单独列为检测项目, 近年来成为世界性的研究热点^[1]。我国目前除将微生物检查列入部颁标准外, 其余各项检查尚在研究之中, 缺乏与国际接轨的质量标准^[2]。我国大部分中草药都依赖人工栽培, 频繁地使用化学农药, 使得原料药、中成药中存在不同程度的农药污染, 农药残留问题已经成为我国中药材出口的瓶颈^[3]。

有关中药中有机磷农药残留量检测的报道较少^[3,4], 目前中国药典、中药标准中均没有收载有机磷农药残留量的测定方法, 主要原因是中药成分复杂, 而农药残留量通常处于微量水平, 使得农药的前处理十分困难^[5,6]。

金银花是传统的清热解毒中药, 用量大, 用途广, 严格控制农药残留量显得尤为重要。本文选取金银花为研究对象, 采用超声波提取法, 固相萃取、液液分配的净化方法, 毛细管气相色谱仪检测, 同时测定金银花中 11 种有机磷农药的残留量, 方法操作简便, 重复性好, 为中药的质量控制提供了科学的检测方法和依据。

1 实验部分

1.1 材料

农药标准品: 敌敌畏(DDVP), 敌百虫(trichlorphon), 甲胺磷(methamidophos), 甲拌磷(phorate), 久

效磷(monocrotophos), 乐果(dimethoate), 马拉硫磷(malathion), 倍硫磷(fenthion), 对硫磷(parathion), 甲基对硫磷(parathion-methyl), 乙酰甲胺磷(acephate), 纯度均大于 99%, 购自国家标准物质中心。

金银花采于山东省平邑县流镇和河南省封丘县, 前者自然晒干, 后者土坑烘干。

1.2 仪器与试剂

GC-3 800 气相色谱仪(Varian, 美国), 配有脉冲式硫磷检测器(PFPD), 自动进样器(8410), 数字处理机(Star toolbar), 色谱柱为 HP-1701(30 m×0.32 mm×0.25 μm); 高纯氢气发生器 SGH-300(北京精华苑技术研究所); 12 管 SPE 固相萃取装置(北京康林公司); R-205 旋转蒸发仪(Buchi, 瑞士); KQ-250DB 超声波仪(昆山市超声仪器有限公司); C₁₈型和硅胶型固相小柱(Supelco 公司)。丙酮为分析纯。

1.3 色谱条件

气化室温度: 270 °C; 检测室温度: 300 °C; 柱温为程序升温: 60 °C(2 min), 然后以 10 °C/min 加温到 200 °C(0.5 min), 然后以 2 °C/min 升温至 250 °C; 载气为高纯氮气, 流速为 1.5 mL/min, 氢气 14 mL/min, 空气-1 流速为 17 mL/min, 空气-2 流速为 10 mL/min; 分流比为 1:10。

1.4 农药混合标准样品的配制

根据各种农药在色谱仪上响应值的不同, 以丙

* 【收稿日期】 2004-12-30 【*通讯作者】 Tel: 025—85391083, E-mail: xiangzengxu1972@163.com

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

丙酮为溶剂, 将农药配制成混合标准样品, 各种农药的浓度见表 1。

Tab. 1 Concentrations of 11 kinds of standard pesticides in acetone

Pesticide	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Pesticide	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
DDVP	11.50	Dimethoate	10.46
Trichlorphon	10.25	Fenthion	10.82
Methamidophos	10.43	Parathion	11.08
Phorate	10.64	Parathion-methyl	11.12
Monocrotophos	10.90	Acephate	10.65
Malathion	10.37		

1.5 样品前处理

将金银花粉碎, 称取 10 g 于锥形瓶中, 加入丙酮 50 mL, 放入匀浆机中匀浆 3 min, 超声 10 min, 过滤, 用丙酮 15 mL 多次冲洗滤渣。

C_{18} 柱和硅胶柱固相萃取。将 C_{18} 柱串联于硅胶柱之上, 将滤液上柱, 滤瓶用丙酮 15 mL 多次冲洗, 收集流出液, 旋转浓缩至干, 定容到刻度试管中, 备用。

2 样品测定

分别选取山东省平邑县流域镇(样品 1~5)和河南省封丘县城郊(样品 6~10)5 个不同地点的金银花, 用以上方法对样品进行了有机磷农药的残留量测定, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 在分析的

Tab. 2 Results of 11 organophosphate pesticide residues in Flos Lonicera from two sources ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Pesticide	Samples									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DDVP	—	—	5.8	—	7.4	—	—	—	—	6.7
Trichlorphon	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Methamidophos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Phorate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Monocrotophos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Dimethoate	6.1	8.4	—	—	10.5	—	—	7.9	—	—
Malathion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Fenthion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Parathion	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Parathion-methyl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Acephate	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

“—” : Not found

10 个样品中, 11 种有机磷农药大部分未检出或残留量较低^[8]。分析原因, 金银花在生长期间发生的虫害主要是棉铃虫、蚜虫, 主要是用有机磷农药来

防治, 有机磷农药分子中含有酯键, 性质不稳定, 遇碱、高温都易分解。而金银花在采摘后药农普遍采用晒干或在土炕上加热烘干的方法处理, 这一过程加速了有机磷农药的分解。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

由于多残留检测需要在同一次进样中多种不同分子量和极性的化合物良好地分离, 因此色谱条件的选择很重要^[7]。本研究采用 HP-1701 毛细管柱, 程序升温的条件, 能够将 11 种有机磷农药完全分离(图 1)。将农药混合标样依次稀释 5 个浓度, 用上述气相色谱条件进行气相色谱分析, 以浓度($c, \text{mg/L}$)为横坐标, 峰面积(A)为纵坐标, 绘制标准曲线(见表 3), 标准曲线线性关系良好, 相关系数(r)为 0.993 2~0.999 8, 最低检测限为 4.0~12.8 $\mu\text{g/L}$ 。

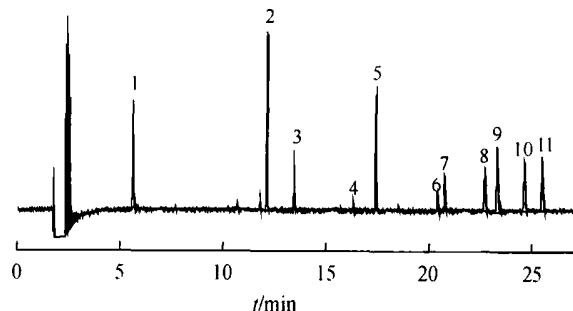


Fig. 1 Chromatogram of 11 kinds of standard organophosphate pesticide
1: Trichlorphon; 2: DDVP; 3: Methamidophos; 4: Acephate; 5: Phorate; 6: Monocrotophos; 7: Dimethoate; 8: Malathion; 9: Fenthion; 10: Parathion-methyl; 11: Parathion

3.2 前处理方法的选择

本研究采用丙酮为提取溶剂, 超声波提取 10 min, 固相萃取的净化方法。比较了振荡提取 12 h 和超声波提取 10 min 两种提取方法, 结果表明, 两种方法的添加回收率基本相当, 但超声波提取法使用时间少, 操作简便, 故本文采用超声波提取的方法。由于中草药成分比较复杂, 含有较多的植物油、糖苷、皂苷和生物碱等, 一般的净化方法难以达到满意的效果。本文选用的固相萃取法克服了一般柱层析和液液萃取的缺点, 既可以最大限度地去除杂质, 又可以节约大量的时间和溶剂, 得到较高的回收率。

3.3 添加回收率试验

将金银花粉碎, 称取10 g于锥形瓶中, 在粉碎的金银花中添加由标准贮备液稀释1 000倍的11

种有机磷农药的混合标准样品, 加入丙酮50 mL, 放入匀浆机中匀浆3 min, 超声10 min, 过滤, 用丙酮15 mL多次冲洗滤渣。

Tab. 3 Regression equation, retention time (t_R) and detection limits of 11 organophosphate pesticides

Pesticide	Regression equation	r	t_R (min)	Detection limit($\mu\text{g/L}$)
DDVP	$A = 4.540 \times 10^5 c + 1.260 \times 10^3$	0.9998	12.055	4.0
Trichlorphon	$A = 2.254 \times 10^5 c + 6.695 \times 10^3$	0.9869	5.547	7.2
Methamidophos	$A = 1.371 \times 10^5 c + 2.283 \times 10^2$	0.9980	13.378	5.5
Phorate	$A = 4.098 \times 10^5 c + 1.029 \times 10^4$	0.9932	17.345	5.8
Monocrotophos	$A = 4.515 \times 10^4 c + 8.512 \times 10^2$	0.9936	20.375	15.4
Dimethoate	$A = 1.377 \times 10^5 c + 2.065 \times 10^3$	0.9940	20.721	5.0
Malathion	$A = 1.581 \times 10^5 c + 1.113 \times 10^3$	0.9945	22.648	8.0
Fenthion	$A = 3.829 \times 10^5 c + 4.313 \times 10^3$	0.9966	23.275	6.2
Parathion	$A = 3.025 \times 10^5 c + 4.571 \times 10^3$	0.9939	25.468	5.8
Parathion-methyl	$A = 3.168 \times 10^5 c - 9.855 \times 10^3$	0.9845	24.597	7.5
Acephate	$A = 1.745 \times 10^5 c + 3.431 \times 10^3$	0.9955	16.264	12.8

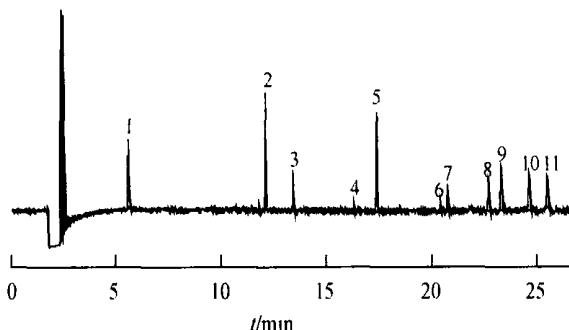


Fig. 2 Chromatogram of 11 kinds of pesticide added to Flos Lonicera
1: Trichlorphon; 2: DDVP; 3: Methamidophos; 4: Acephate; 5: Phorate; 6: Monocrotophos; 7: Dimethoate; 8: Malathion; 9: Fenthion; 10: Parathion-methyl; 11: Parathion

C_{18} 柱和硅胶柱固相萃取。将 C_{18} 柱串联于硅胶柱之上, 将滤液上柱, 滤瓶用丙酮15 mL多次冲洗, 收集流出液, 旋转浓缩至干, 定容到刻度试管中, 待检测。按照上述方法依次在金银花中添加3个浓度水平的混合农药标准溶液, 分别为由标准贮备液稀释10倍、100倍和1 000倍的11种有机磷农药的混合标准溶液, 每个浓度水平重复5次, 计算平均添加回收率。金银花中添加由标准贮备液稀释1 000倍的11种有机磷农药的混合标准溶液的回收浓度见表4, 3个浓度水平的混合标样的平均添加回收率和标准偏差见表5。由两表可以看出, 平均添加回收率在85.38%~91.35%, 相对标准偏差2.8%~6.1%, 说明本实验的前处理方法重现性较好, 符合多种农药残留的分析要求。

Tab. 4 The pesticide concentration added to Flos Lonicera and average recovery concentration

Pesticide	Concentration added to Flos Lonicera (mg/L)	Average recovery concentration (mg/L)
DDVP	0.0115	0.0080
Trichlorphon	0.0103	0.0083
Methamidophos	0.0104	0.0088
Phorate	0.0106	0.0082
Monocrotophos	0.0109	0.0084
Malathion	0.0104	0.0084
Dimethoate	0.0105	0.0083
Fenthion	0.0108	0.0089
Parathion	0.0111	0.0089
Parathion-methyl	0.0111	0.0090
Acephate	0.0106	0.0088

Tab. 5 Average recovery of 11 pesticides ($n=15$)

Pesticide	Average recovery (%)	RSD (%)	Pesticide	Average recovery (%)	RSD (%)
DDVP	85.38	3.2	Dimethoate	87.46	6.1
Trichlorphon	89.16	2.8	Fenthion	91.35	4.6
Methamidophos	90.37	4.7	Parathion	88.64	5.6
Phorate	86.12	5.1	Parathion-methyl	87.64	3.7
Monocrotophos	88.29	4.9	Acephate	89.13	5.0
Malathion	87.46	3.8			

3.4 讨论

固相萃取法(SPE)克服了一般液液萃取及柱层析的缺点, 与液液萃取相比, 可节约时间和溶剂约90%, 减少杂质的引入, 对操作者更安全, 重现性好, 可避免液液萃取中乳化现象的产生。SPE实

际上是色谱技术应用的另一种形式。根据柱中填料, 大致可分为吸附型(如硅胶、大孔吸附树脂等)、分配型(如 C₈小柱、苯基柱等)和离子交换型。对水样和其他液体样品(如牛奶、饮料、血浆、尿等), 在选择合适的萃取柱和洗脱液及其他优化条件后, 可萃取、富集、净化一步完成, 然后直接进行 GC 或 HPLC 分析。根据需要, 净化时可以单柱使用, 也可以多个柱串联使用。另一种增强净化效力的方式是使用混合型柱。它可以利用多种界面效应来分离和纯化分析组分。一种是将各种不同的填料经机械混合装入同一 SPE 柱, 另一种是将这些带不同性质官能团的物质, 化学键和到同一骨架树脂上, 将其制成 SPE 柱。应该注意的是本实验中采用硅胶柱和 C₁₈柱串联的净化方法, 这样能够最大程度的去除样品中的杂质, 并且减少了农药的损失, 能够得到较高的回收率, 是一种快速高效的前处理方法。

4 结 论

本研究采用固相萃取的净化方法, 配有 PFPD 的毛细管柱气相色谱仪检测, 对金银花中 11 种有机磷农药有较高的回收率, 方法操作简便, 重复性好, 能够节约大量的有机溶剂和时间, 适合大批量

样品农药残留量的检测。

【参 考 文 献】

- [1] 张俊清(Zhang JQ), 刘明生(Liu MS), 邢福桑(Xing FS), 等. 近年来中药材农药残留的研究概况[J]. 中国药学杂志(*Chin Pharm J*), 2003, 38(1): 7—9.
- [2] 何迎春(He YC), 吴新正(Wu XZ). 我国中药材农药污染状况研究[J]. 江西中医学院学报(*J Jiangxi Coll Tradit Chin Med*), 2003, 15(3): 41—44.
- [3] 李淑芬(Li SF), 全 灿(Quan C), 王幼君(Wang YJ), 等. 中药材中农药残留的洗脱与检测技术[J]. 中草药(*Chin Tradit Herb Drugs*), 2004, 35(2), 232—234.
- [4] 冯秀琼(Feng XQ), 汤庆勇(Tang QY). 中草药中 14 种有机磷农药残留量的同时测定——微波辅助提取法[J]. 农药学学报(*Chin J Pestic Sci*), 2001, 3(3): 45—52.
- [5] 张曙明(Zhang SM), 田金改(Tian JG), 高天兵(Gao TB), 等. 中药中有机磷农药残留量的毛细管气相色谱测定方法[J]. 分析测试学报(*J Instrum Anal*), 1999, 18(5): 15—17.
- [6] 韩贵茹(Han GR), 陈太平(Chen TP), 杨建红(Yang JH), 等. 中药中有机氯农药残留量的研究[J]. 中国中药杂志(*China J Chin Mater Med*), 1996, 21(10): 591—594.
- [7] 赵维佳(Zhao WJ), 高 巍(Gao W), 陈如东(Chen RD), 等. 青菜中多种农药残留量的分析方法[J]. 南京农业大学学报(*J Nanjing Agric Univ*), 2004, 27(1): 105—107.
- [8] 吕洪飞(Lu HF). 绿色中药材的栽培及其环境质量评价[J]. 中国中药杂志(*China J Chin Mater Med*), 1999, 24(8): 499—502.

Determination of 11 Kinds of Organophosphate Pesticide Residues in Flos Lonicerae by Solid-Phase Extraction

XIANG Zeng-Xu¹, ZHAO Wei-Jia², GAO Shan-Lin¹

¹School of TCM, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038;

²Jiangsu Quality Supervision Bureau, China Pharmaceutical University, Nanjing 210029, China)

【ABSTRACT】 AIM: To establish an analytical method for the determination of 11 kinds of organophosphate pesticide residues in Flos Lonicerae. METHODS: The pesticides in samples were extracted with acetone by ultrasonic wave assistant extraction(UAE), purified by solid-phase extraction(SPE) and determined by GC with HP-1701 column. RESULTS: All of the 11 pesticides (DDVP, trichlorphon, methamidophos, phorate, monocrotophos, dimethoate, fenthion, parathion, parathion-methyl, acephate) were separated in 30 minutes. The detection limit was 4.0~12.8 μg/kg. The range of recovery and RSD was 85.38%~91.35% and 2.8%~6.1%, respectively. CONCLUSION: The method meets the requirements of multipesticide residue analysis.

【KEY WORDS】 Flos Lonicerae; Pesticide residue; Organophosphate; GC; Solide-phase extraction