

气相色谱法快速测定杜仲叶中有机氯菊酯类农药残留

王素方¹, 张西安², 张东飞³, 郭俊峰¹, 孙雨安³, 王国庆³

(1.河南出入境检验检疫局检验检疫技术中心, 河南 郑州 450003; 2.开封教育学院自然科学系, 河南 开封 475004; 3.郑州轻工业学院材料与化学工程学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 为了建立 ASE-DSPE-GC 测定此类农药残留的方法。将加速溶剂萃取(accelerated solvent extraction, ASE)与分散固相萃取(dispersive solid phase extraction, DSPE)结合, 用于杜仲叶中有机氯菊酯类农药残留的同时提取净化, 用气相色谱法(gas chromatography, GC)检测。采用该法对杜仲叶中 14 种有机氯菊酯类农药进行测定, 目标物平均回收率为 76.8%~118.9%, 相对标准偏差(RSD)为 2.6%~13.9%, 定量检出限为 10ng/g, 线性范围为 2~100ng/ml, 标准工作曲线线性相关系数 $R \geq 0.998$ 。结果表明, ASE-DSPE 样品前处理效率高, 该法可用于同时测定杜仲叶中的有机氯菊酯类农药残留的提取和净化。

关键词: 加速溶剂萃取(ASE); 分散固相萃取(DSPE); 气相色谱法(GC); 有机氯菊酯

Rapid Gas Chromatographic Determination of Multi-residue of Organochlorine Pyrethroid Pesticides in *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves

WANG Su-fang¹, ZHANG Xi-an², ZHANG Dong-fei³, GUO Jun-feng¹, SUN Yu-an³, WANG Guo-qing³

(1. Inspection and Quarantine Technology Centre, Henan Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhengzhou 450003, China; 2. Department of Natural Science, Kaifeng Institute of Education, Kaifeng 475004, China; 3. School of Material and Chemical Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: A rapid multi-residue method based on accelerated solvent extraction (ASE) combined with dispersive solid-phase extraction (DSPE) followed by gas chromatography with electron-capture detection (GC-ECD) was developed for the determination of 14 organochlorine pyrethroid pesticides in *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves. The average fortified recoveries of the pesticides at three levels of 10, 20 and 50 ng ranged from 76.8% to 118.9%, with a RSD between 2.6% and 13.9%. The quantitative detection limit of this method was 10 ng/g. In the concentration range of 2–100 ng/ml, most of the pesticides displayed a good linearity with peak area, with a correlation coefficient (R) higher than 0.998. The combination of ASE and DSPE gives a highly effective pretreatment for the rapid GC-ECD detection of multi-residue of organochlorine pyrethroid pesticides in *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves.

Key words: accelerated solvent extraction (ASE); dispersive solid-phase extraction (DSPE); gas chromatography (GC); organochlorine pyrethroid pesticide

中图分类号: O657.7; S481.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)18-0323-04

杜仲叶属杜仲科植物, 具有补肝肾、降血糖、降脂肪的功效^[1-3], 其提取物能促进肌体中胶原蛋白的新陈代谢, 增强细胞活力, 对肌体的体液、细胞的免疫有明显的增强作用^[4]。近年来, 农药已经在中药种植中广泛应用, 造成了中药(包括杜仲叶)特别是未加工原材料

中的农药残留^[5-6]。因此中药或天然产物在使用前, 有必要进行农药残留的测定。杜仲叶成分复杂, 传统的中药农残检测方法使用氟罗里硅土柱对提取物进行净化处理, 时间长、使用溶剂量大、成本高、效率低^[7]。加速溶剂萃取(accelerated solvent extraction, ASE)是一

收稿日期: 2009-02-04

基金项目: 中国国家认证认可监督管理委员会支持项目(2007B533r); 河南省高校科技创新人才支持计划项目(HASTIT)

作者简介: 王素方(1966—), 女, 工程师, 博士, 研究方向为化学品残留分析。E-mail: wangsf0319@foxmail.com

种新型的提取方法,和传统的索氏萃取法相比,具有提取效率高、速度快、消耗溶剂少等优点^[8],已经广泛应用于不同基质中的农残测定^[9-13],但ASE提取物尚需进一步处理以减少其他共提物对目标物测定的干扰。分散固相萃取(dispersive solid phase extraction, DSPE)具有操作简单、价格便宜等优点^[12],石墨化炭黑可以有效除去大分子的色素干扰,同时不影响待测农药的回收率^[14]。本实验将ASE与分散固相萃取技术相结合,完成杜仲叶中的多种有机氯菊酯类农药残留的同时提取和净化,再用GC-ECD进行定量测定,以期简化样品预处理步骤,探索杜仲叶中有机氯菊酯类农药残留同时提取净化测定的新方法。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

杜仲(叶)为市场购买,产自河南省洛阳市汝阳县。
 p,p' -DDD、 p,p' -DDE、 o,p' -DDT、 p,p' -DDT、 α -666、 β -666、 γ -666、 δ -666、六氯苯、艾氏剂、狄氏剂、异狄氏剂、五氯硝基苯、高氰戊菊酯标准物质(各标准物质用正己烷溶解配制成10mg/L的储备液,用时稀释) 德国Dr. Ehrenstorfer公司;正己烷、丙酮、二氯甲烷(均为色谱纯) 美国Fisher公司;石墨化炭黑粉 北京八方世纪公司;氟罗里硅土吸附剂(粒径0.15~0.25mm)、石墨化炭黑柱(500mg, 3ml)、氟罗里硅土柱(1000mg, 6ml) 美国Bestown公司。

1.2 仪器与设备

Agilent 7890A 气相色谱仪[配电子捕获检测器(μ -ECD)、CTC PAL 自动进样器、HP-5 毛细管色谱柱(30m \times 0.25mm, 0.32 μ m)] 美国安捷伦公司; ASE 200 加速溶剂提取仪 美国Dionex公司; 旋转蒸发仪 瑞士Buch公司; 组织捣碎机 Philips公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

气相色谱柱: HP-5 毛细管色谱柱; 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; 升温程序: 初始温度80 $^{\circ}$ C, 保持2min, 以30 $^{\circ}$ C/min的速率升温至150 $^{\circ}$ C, 以6 $^{\circ}$ C/min的速率, 升温至240 $^{\circ}$ C, 保持1min, 以30 $^{\circ}$ C/min升温至280 $^{\circ}$ C, 保持2min; 载气: 氮气(纯度99.999%); 流量: 3ml/min; 尾吹气流量: 60ml/min; 进样量: 1 μ l; 进样方式: 不分流进样。

1.3.2 样品处理方法

1.3.2.1 样品制备

取500.00g有代表性的样品,用组织捣碎机粉碎,装入样品袋,标明标记,于-18 $^{\circ}$ C冷冻存放,备用。

1.3.2.2 ASE-DSPE 提取净化

先将纤维素膜放入萃取池的底部,依次放入0.5g的石墨化炭黑粉、1g氟罗里硅土吸附剂和1g杜仲叶样品于萃取池中。ASE条件为:萃取剂为正己烷-丙酮(95:5, V/V),萃取温度为60 $^{\circ}$ C,压力为10.34MPa(1500psi),每个样品循环萃取3次(静态萃取5min),每次萃取用池体积60%的萃取剂进行冲洗,最后用氮气吹扫,萃取溶液被收集于60ml带有聚四氟乙烯塞的瓶中,将收集的提取液转移至鸡心瓶中,用少量萃取剂洗涤60ml瓶,洗液转移入鸡心瓶中。在40 $^{\circ}$ C条件下旋转蒸发至近干,用1ml正己烷振荡溶解,过0.22 μ m的有机滤膜,供气相色谱分析。

2 结果与分析

2.1 ASE-DSPE 条件优化

2.1.1 净化方式选择

采用ASE-DSPE方法,将样品的提取和净化同时进行,提取净化示意图如图1所示。

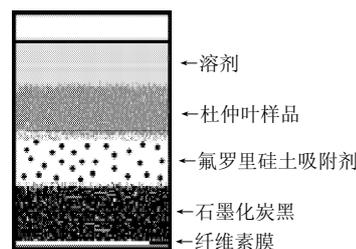


图1 ASE-DSPE 提取净化示意图

Fig.1 Scheme of ASE-DSPE extraction and purification

用所选择的萃取剂直接萃取,ASE萃取物中除了包含有机氯菊酯类农药残留外还会有杜仲叶中的色素和其他一些复杂的成分,干扰成分中不少挥发半挥发性物质,这为ASE提取物的直接分析检测带来困难,须净化处理后再做色谱分析。

本实验考察了采用氟罗里硅土柱、中性氧化铝柱、石墨化炭黑柱等单一SPE柱的净化效果,结果发现,样品通过石墨化炭黑柱净化后,有较大的干扰峰,同时回收率也较低,净化后提取物的GC-ECD分析色谱图如图2所示;采用氟罗里硅土柱、中性氧化铝柱等进行净化,净化效果比较理想,但有个别的回收率偏高(表1),且较为费时和占用人力。因此,本方法通过氟罗里硅土柱等净化手段相比,净化效果更好,ASE-DSPE同时提取净化是杜仲叶中有机氯菊酯类农药残留测定时较为理想的样品预处理方法,其本质是在溶剂萃取的基础上以石墨化炭黑和氟罗里硅土吸附剂为复配净化剂,利用石墨化炭黑除去大分子的色素,氟罗里硅土除去非极性脂肪酸以及其他干扰物质。

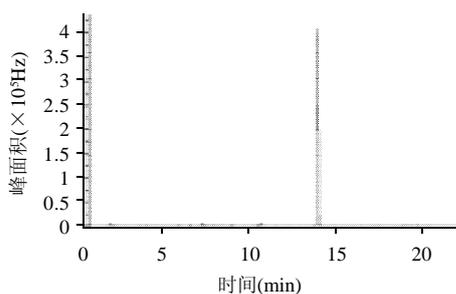


图2 过石墨化炭黑柱后的色谱图

Fig.2 GC-ECD chromatogram of organochlorine pyrethroid pesticides extracted from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves after clean-up using graphitized carbon black column

表1 过氟罗里硅土柱的14种有机氯农药残留的回收率

Table 1 Recoveries of the 14 organochlorine pyrethroid pesticides extracted from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves after clean-up using Florisil column

农药	回收率(%)		
	10ng/g	20ng/g	50ng/g
α -666	125.4	115.4	113.2
六氯苯	87.8	65.6	84.6
γ -666	102.4	82.8	85.4
β -666	131.5	91.9	94.6
五氯硝基苯	124.3	122.2	107.1
δ -666	91.2	118.8	113.8
艾式剂	78.5	92.8	89.8
<i>p,p'</i> -DDE	91.2	86.2	94.1
狄式剂	136.8	121.9	111.4
<i>p,p'</i> -DDD	91.2	95.4	112.1
<i>o,p'</i> -DDT	89.2	94.1	80.0
<i>p,p'</i> -DDT	161.1	150.2	134.7
异狄式剂	146.8	140.6	130.3
高氯戊菊酯	112.4	114.7	114.8

2.1.2 提取溶剂的选择

以14种待测有机氯菊酯类农药测定的平均回收率和相对标准偏差(RSD)为指标考察提取溶剂的提取效果。分别考察比较正己烷、正己烷-丙酮(95:5, V/V)、正己烷-丙酮(75:25, V/V)3种不同溶剂作提取剂,14种有机氯农药的平均回收率分别为56.5%(RSD=32.9%)、96.1%(RSD=15.3%)、143.1%(RSD=36.4%)。可以看出,正己烷单一溶剂提取效率较低,随着丙酮在混合溶剂中比例的提高,样品提取的回收率上升,但丙酮的量过大时则可能会将某些杂质一起洗脱下来,污染样品。因此本实验中选用正己烷-丙酮(95:5, V/V)混合溶剂作为提取剂,此时目标化合物洗脱效率较高,不同目标化合物的回收率较为理想而且变动范围较小。图3为有机氯菊酯类农药标准对照品混合后用本法处理(实线)与不含有有机氯菊酯类农药的杜仲叶样品(虚线)测定时的色谱图,从图3中可以看出,杜仲叶中其他被提取物在测定条件下对有机氯菊酯类农药测定无干扰。

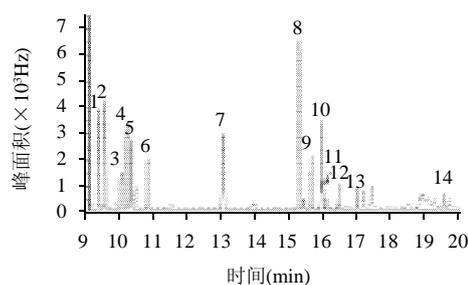


图3 ASE-DSPE净化杜仲叶以及杜仲叶添加回收样品的气相色谱图
Fig.3 GC-ECD chromatograms of the 14 organochlorine pyrethroid pesticides extracted from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves after ASE-DSPE clean-up with (solid line) and without (dashed line) the fortification of the standards

2.2 方法考察

2.2.1 精密度测定

对市售脱水杜仲叶添加不同量的农药对照品,考察本法的精密度,结果如表2所示。

表2 14种有机氯菊酯类农药在杜仲叶中的平均回收率及相对标准偏差(n=6)

Table 2 Average recoveries and RSD of the 14 organochlorine in *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves fortified at three levels (n=6)

农药	10ng/g		20ng/g		50ng/g	
	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
α -666	83.8	8.1	97.4	3.9	105.6	4.2
γ -666	90.2	7.1	80.	9.3	85.9	5.2
β -666	103.2	5.2	89.7	7.7	94.5	4.8
五氯硝基苯	104.8	6.1	107.9	7.4	107.8	5.1
δ -666	105.8	9.0	110.8	2.9	115.4	5.6
<i>p,p'</i> -DDE	90.9	7.4	81.7	9.9	95.4	4.6
<i>p,p'</i> -DDD	87.7	9.7	94.3	9.3	113.9	6.1
<i>o,p'</i> -DDT	113.9	9.3	86.7	7.9	81.8	3.7
<i>p,p'</i> -DDT	106.8	11.3	102.3	6.8	106.8	9.9
高氯戊菊酯	76.8	7.6	94.8	6.1	118.9	6.5
艾式剂	77.4	6.6	84.9	10.2	91.3	2.6
狄式剂	106.3	7.8	109.6	10.2	103.9	5.3
异狄式剂	101.3	13.9	105.1	10.8	107.1	6.2
六氯苯	87.1	5.2	84.1	9.3	85.6	2.6
平均值	95.5	8.2	94.9	8.0	101.0	5.2

从表2可以看出,添加水平为10、20ng/g和50ng/g时,14种有机氯农药测定的平均回收率为76.8%~118.9%,相对标准偏差为2.6%~13.9%,说明本法能够用于杜仲叶中痕量有机氯菊酯类农药残留的测定。

2.2.2 定量检出限

本法进行测定时的线性工作范围、线性范围、线性方程、相关系数如表3所示,定量检出限10ng/g。从表3可以看出在0.002~0.10mg/L范围内,大部分化合

物的相关系数在 0.998 以上, 说明线性关系较好。

表 3 14 种有机氯菊酯类农药的保留时间、线性范围、线性方程以及相关系数

Table 3 Retention time (t_R), linear equations and correlation coefficients (R) for detecting the 14 organochlorine pesticides by the analytical method

化合物名称	保留时间(min)	线性范围(mg/L)	线性方程	相关系数
α -666	9.271	0.002~0.10	$y=206.36x - 374.80$	0.9993
六氯苯	9.463	0.002~0.10	$y=214.92x - 108.79$	0.9998
γ -666	9.942	0.002~0.10	$y=77.19x - 52.86$	0.9998
β -666	10.111	0.002~0.10	$y=180.59x - 378.00$	0.9991
五氯硝基苯	10.237	0.002~0.10	$y=147.43x - 102.41$	0.9998
δ -666	10.735	0.002~0.10	$y=117.56x - 272.53$	0.9977
艾氏剂	12.987	0.002~0.10	$y=194.65x - 242.42$	0.9996
p,p' -DDE	15.240	0.002~0.10	$y=334.71x - 272.65$	0.9996
狄氏剂	15.605	0.002~0.10	$y=95.92x - 208.84$	0.9988
p,p' -DDD	15.890	0.002~0.10	$y=97.44x+24.40$	0.9988
o,p' -DDT	16.038	0.002~0.10	$y=17.71x - 0.98$	0.9998
p,p' -DDT	16.410	0.002~0.10	$y=48.38x - 236.62$	0.9952
异狄氏剂	16.975	0.002~0.10	$y=25.12x+46.15$	0.9968
高氯戊菊酯	19.551	0.002~0.10	$y=32.72x - 13.70$	0.9998

3 结 论

ASE-DSPE 将样品的提取和净化集于一体, 可大大缩短样品前处理的时间, 减少试剂用量, 提高工作效率。将 ASE-DSPE 与 GC-ECD 结合, 能够用于杜仲叶中痕量有机氯菊酯类农药残留的测定。本方法与通过氟罗里硅土柱等净化手段相比, 净化效果好, 在实际样品测定时回收率、精密度、定量检出限等均可满足杜仲叶中的有机氯菊酯类农药残留的测定要求。

参考文献:

- [1] HUNG M Y, TIMOTHY F Y C, SHIH P H, et al. Duzhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) leaves inhibits CCl₄-induced hepatic damage in rats[J]. Food and Chemical Toxicology, 2006, 44: 1424-1431.
- [2] PARK S A, CHOI M S, KIM M J, et al. Hypoglycemic and hypolipidemic action of Du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliver) leaves water extract in C57BL/KsJ-db/db mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2006, 107: 412-417.
- [3] LEE M K, KIM M J, CHO S Y, et al. Hypoglycemic effect of Du-zhong (*Eucommia ulmoides* Oliv.) leaves in streptozotocin-induced diabetic rats[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2005, 67: 22-28.
- [4] 冷向军, 孟晓林, 李家乐, 等. 杜仲叶对草鱼生长、血清非特异性免疫指标和肉质影响的初步研究[J]. 水产学报, 2008, 32(3): 434-440.
- [5] OH C H. Multi residual pesticide monitoring in commercial cerbal crude drug materials in South Korea[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2007, 78: 314-318.
- [6] 周围, 李雪梅. 中药材中拟除虫菊酯类农药残留的微波萃取/气相色谱检测[J]. 分析测试学报, 2007, 26(6): 884-887.
- [7] 孔祥虹, 仇农学, 李建华, 等. 毛细管气相色谱法测定中药材中多种拟除虫菊酯农药残留量[J]. 分析实验室, 2006, 25(4): 89-92.
- [8] WANG W T, MENG B J, LU X X, et al. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and organochlorine pesticides from soils: a comparison between Soxhlet extraction, microwave-assisted extraction and accelerated solvent extraction techniques[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 602(2): 211-222.
- [9] 李翔, 刘汉霞, 李礼, 等. 加速溶剂萃取 - FMS 净化 - 高分辨气相色谱 - 高分辨质谱(HRGC-HRMS)定量测定鱼组织中二(噁)英类多氯联苯[J]. 分析测试学报, 2007, 26: 269-272.
- [10] CHO S K, EL-ATY A M A, PARK Y S, et al. A multiresidue method for the analysis of pesticide residues in polished rice (*Oryza sativa* L.) using accelerated solvent extraction and gas chromatography and confirmation by mass spectrometry[J]. Biomed Chromatogr, 2007, 21: 602-609.
- [11] PANG G F, LIU Y M, FAN C L, et al. Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography-mass spectrometry or liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Anal Bioanal Chem, 2006, 384: 1366-1408.
- [12] 张东飞, 王素方, 孙雨安, 等. 果蔬产品多农药农药残留的同时快速测定与高通量分析方法研究[J]. 郑州轻工业学院学报: 自然科学版, 2008, 23(4): 6-9.
- [13] 郇红建, 蒋新, 常江, 等. 加速溶剂提取 - 气相色谱法测定蔬菜中的有机氯农药[J]. 生态环境, 2007, 16(1): 50-53.
- [14] 纪淑娟, 佐藤元昭. 有色蔬菜农药多残留检测样品预处理方法研究[J]. 食品科学, 2007, 28(7): 411-414.