

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2021.6.04

毛细管气相色谱法测定巴胺磷溶液含量

杨星, 龚旭昊, 马秋冉, 董玲玲, 赵富华, 彭文绣, 于晓辉*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2020-12-19 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2021) 06-0023-06 [中图分类号] S859.2

[摘要] 建立了毛细管气相色谱法测定巴胺磷溶液含量的方法。试验采用 6% 氰丙基苯基-94% 二甲基硅氧烷为固定相的毛细管柱, 柱温 240 °C, 进样口温度 250 °C, FID 检测器温度 250 °C, 载气为氮气, 流速 3 mL/min, 进样量 1 μ L, 分流比 15:1, 内标物质为邻苯二甲酸二丁酯。在该色谱条件下, 巴胺磷峰与内标物质峰分离度良好, 方法平均回收率为 103.5% ($n=9$, $RSD=1.7\%$), 重复性 RSD 为 0.6%, 定量限为 2.5 μ g/mL, 巴胺磷在 0.025~0.5 mg/mL 浓度范围内呈良好的线性关系 ($r^2=0.9999$), 不同色谱柱、柱温、流速、进样口温度、检测器温度耐用性良好。结果表明, 建立的方法专属性好、快速、准确, 可用于测定巴胺磷溶液的含量。

[关键词] 毛细管气相色谱法; 氢火焰离子化检测器; 巴胺磷溶液; 含量测定

Determination of Propetamphos in Propetamphos Solution by Capillary Gas Chromatography

YANG Xing, GONG Xu-hao, MA Qiu-Ran, DONG Ling-ling,

ZHAO Fu-hua, PENG Wen-xiu, YU Xiao-hui*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: YU Xiao-hui, E-mail: Shuilon0220@sina.com

Abstract: A method for determination of propetamphos in propetamphos solution by capillary gas chromatography was developed. The capillary column with 6% cyanopropyl phenyl-94% dimethyl polysiloxane as stationary phase was used. The column temperature was 240 °C, the inlet temperature was 250 °C, FID was used as detector and the temperature was 250 °C, the carrier gas was nitrogen, the flow rate was 3 mL/min, the injection volume was 1 μ L, the split ratio was 15:1, and the internal standard material was dibutyl phthalate. In this chromatographic condition, a good separation was accepted between propetamphos and the internal standard material. The average recovery of the method was 103.5%, and the RSD was 1.7% ($n=9$). The RSD of repeatability was 0.6%. The limit of quantitation was 2.5 μ g/mL. Propetamphos showed good linear relationship within the range of 0.025~0.5 mg/mL ($r^2=0.9999$). The robustness of different column, oven temperature,

作者简介: 杨星, 助理研究员, 从事兽用化学药品检验工作。

通讯作者: 于晓辉。E-mail: Shuilon0220@sina.com

flow rate, inlet temperature and detector temperature was good. In conclusion, this method is specific, rapid and accurate for the determination of propetamphos in propetamphos solution.

Key words: capillary gas chromatography; FID; propetamphos solution; determination of content

巴胺磷是一种有机磷杀虫药,主要通过触杀、胃毒起作用,不仅能灭杀家畜体表寄生虫如螨、蜱,还能杀灭卫生害虫如蚊、蝇等。市场上的制剂有巴胺磷溶液,主要用于驱杀绵羊体表螨、虱、蜱等^[1]。巴胺磷溶液作为兽用制剂收载于《兽药质量标准》(2017年版化学药品卷)中,其含量测定方法为填充柱气相色谱法^[2],在如今的检测条件下方法适用性较差,给检验工作带来较大困扰。目前国内外文献主要采用气相色谱-火焰光度检测法、气相色谱-氮磷检测法、气相色谱-串联质谱法、超高效液相色谱-串联质谱法等方法检测蔬菜、大米、污水、水果、纺织品、豆粕中的巴胺磷残留,针对巴胺磷溶液的含量测定方法的研究未见报道,各国药典也未收载巴胺磷溶液质量标准^[3-9]。为了更好地控制巴胺磷溶液的质量,参考气相色谱法的相关文献^[10-11],本研究拟建立毛细管气相色谱-氢火焰离子化检测法测定巴胺磷溶液含量的方法,以期为兽用制剂巴胺磷溶液含量的测定提供技术支持。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 气相色谱仪:美国安捷伦公司,Agilent 7890A,配氢火焰离子化检测器(FID);电子分析天平:瑞士梅特勒-托利多集团,XS 205,精度0.01 mg。

1.2 试剂 巴胺磷对照品来源/批号/含量:农业部环境质量监督检验测试中心/GBW(E)081342/1000.0 μg/mL;邻苯二甲酸二丁酯内标物质来源/批号/含量:上海源叶生物科技有限公司/A22D6L7951/99.8%;巴胺磷溶液规格/批号:40%/20190401、20190402、20190403;色谱级丙酮来源/批号:Fisher/182067。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱:Supelco SPB-624 毛细管柱(固定相:6% 氰丙基苯基-94% 二甲基硅氧烷,规格:30 m × 0.25 mm × 1.4 μm,柱编号:24255);

柱温:240 ℃;进样口温度:250 ℃;检测器(FID)温度:250 ℃;载气:氮气;流速:3 mL/min;进样量:1 μL;分流比:15:1。

2.2 溶液制备

2.2.1 内标溶液的制备 取邻苯二甲酸二丁酯约30 mg,精密称定,置50 mL量瓶中,用丙酮溶解并稀释至刻度,摇匀(含内标0.6 mg/mL)。

2.2.2 供试品储备液的制备 取供试品约125 mg(约相当于巴胺磷50 mg),精密称定,置50 mL量瓶中,用丙酮稀释至刻度,摇匀(含巴胺磷1 mg/mL)。

2.2.3 对照品溶液的制备 精密量取1 mL巴胺磷对照品(含巴胺磷1 mg/mL)、1 mL内标溶液与2 mL丙酮,混匀(含巴胺磷0.25 mg/mL + 内标0.15 mg/mL)。

2.2.4 供试品溶液的制备 精密量取1 mL供试品储备液、1 mL内标溶液与2 mL丙酮,混匀(含巴胺磷0.25 mg/mL + 内标0.15 mg/mL)。

2.2.5 系统适用性试验溶液的制备 精密量取(0.8 mL巴胺磷对照品 + 2.2 mL丙酮、1 mL巴胺磷对照品 + 2 mL丙酮、1.2 mL巴胺磷对照品 + 1.8 mL丙酮),分别与1 mL内标溶液混匀,制成相当于80%、100%和120%的对照品溶液。

2.2.6 线性溶液的制备 精密量取(0.1 mL巴胺磷对照品 + 2.9 mL丙酮、0.5 mL巴胺磷对照品 + 2.5 mL丙酮、0.8 mL巴胺磷对照品 + 2.2 mL丙酮、1 mL巴胺磷对照品 + 2 mL丙酮、1.2 mL巴胺磷对照品 + 1.8 mL丙酮、2 mL巴胺磷对照品 + 1 mL丙酮),分别与1 mL内标溶液混匀,制成含巴胺磷分别为0.025、0.125、0.2、0.25、0.3、0.5 mg/mL的标准线性系列溶液。

2.2.7 回收率供试品溶液的制备 精密量取(0.5 mL供试品储备液 + 0.3 mL巴胺磷对照品 + 2.2 mL丙酮、0.5 mL供试品储备液 + 0.5 mL巴胺磷

对照品 +2 mL 丙酮、0.5 mL 供试品储备液 +0.7 mL 巴胺磷对照品 + 1.8 mL 丙酮), 分别与 1 mL 内标溶液混匀, 制成相当于 80%、100%、120% 浓度水平的回收率供试品溶液, 每种浓度各配制 3 份。

2.2.8 定量限溶液的制备 精密量取 0.01 mL 巴胺磷对照品 + 3 mL 丙酮, 与 1 mL 内标溶液混匀, 制成巴胺磷色谱峰信噪比约为 10 的定量限溶液。

2.2.9 检测限溶液的制备 精密量取 4 μ L 巴胺磷对照品 + 3 mL 丙酮, 与 1 mL 内标溶液混匀, 制

成巴胺磷色谱峰信噪比约为 3 的检测限溶液。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性 分别精密量取丙酮、2.2.1 项内标溶液、2.2.3 项对照品溶液、2.2.4 项供试品溶液各 1 μ L, 照 2.1 项色谱条件测定。结果显示, 在该色谱条件下, 巴胺磷主峰的理论板数大于 31000, 巴胺磷主峰与内标邻苯二甲酸二丁酯主峰的分离度大于 17.0, 且与溶剂峰、辅料峰等其他色谱峰均能完全分离, 巴胺磷的测定不受干扰, 方法专属性强(图 1)。

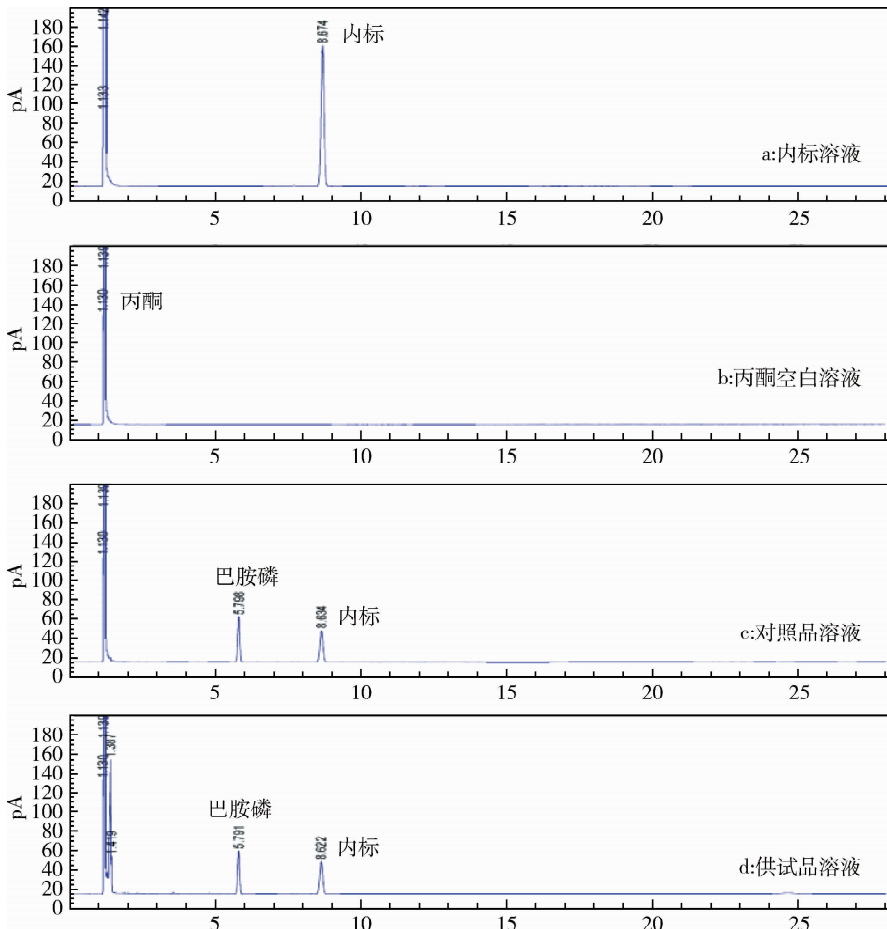


图 1 专属性溶液色谱图

Fig 1 The chromatogram of solutions for specificity

2.3.2 线性关系考察 分别精密量取 2.2.6 项标准线性系列溶液各 1 μ L, 照 2.1 项色谱条件测定。以巴胺磷峰面积与内标邻苯二甲酸二丁酯峰面积的比值(y)为纵坐标, 相应巴胺磷浓度(x)为横坐标, 绘制标准曲线, 得回归方程为 $y = 3.8151x +$

0.0048 , $r^2 = 0.9999$, 表明巴胺磷在 0.025 ~ 0.5 mg/mL 的浓度范围内线性关系良好。

2.3.3 重复性试验 精密量取 2.2.5 项 80%、100% 和 120% 的对照品溶液各 1 μ L, 分别进样 2 次, 按内标法计算平均校正因子, RSD 为 0.6%; 取

1 批巴胺磷溶液,平行制备 6 份供试品溶液进行测定,计算巴胺磷的含量,*RSD* 为 0.6%。结果表明,色谱系统和供试品测定的重复性均良好。

2.3.4 回收率试验 采用加标回收率试验测定准确度。分别精密量取 2.2.7 项回收率供试品溶液各 1 μL ,照 2.1 项色谱条件测定,采用内标法计算测定结果,结果见表 1。

表 1 巴胺磷添加回收率测定结果

Tab 1 The results of the recovery rate of added propetamphos

加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	<i>RSD</i> /%
0.3000	0.3064	102.1		
0.3000	0.3154	105.1		
0.3000	0.3062	102.1		
0.5000	0.5331	106.6		
0.5000	0.5124	102.5	103.5	1.7
0.5000	0.5124	102.5		
0.7000	0.7310	104.4		
0.7000	0.7105	101.5		
0.7000	0.7322	104.6		

2.3.5 定量限与检测限 以巴胺磷峰信噪比 *S/N* 约为 10 和 3 的巴胺磷浓度作为定量限与检测限,结果分别为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 和 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.6 耐用性试验 对该方法进行了流速 $\pm 0.3 \text{ mL/min}$ 、柱温 $\pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ 、进样口温度 $\pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ 、检测器温度 $\pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$ 、更换不同色谱柱等方面的耐用性考察,结果如表 2 所示,不同流速、柱温、进样口温度、检测器温度、色谱柱的色谱条件下,巴胺磷理论板数均大于 25000,巴胺磷与内标邻苯二甲酸二丁酯分离度均大于 15.0,方法耐用性良好。

2.3.7 溶液稳定性试验 取 1 份供试品溶液,室温放置,分别于 0、2、4、8、12、24 h 后采集色谱图,考察巴胺磷峰面积、邻苯二甲酸二丁酯峰面积以及两者峰面积比值的变化情况,*RSD* 分别为 1.9%、1.9%、0.2%。结果表明,由于采用丙酮作为溶剂,溶液容易挥发,随着放置时间增加,巴胺磷峰面积和邻苯二甲酸二丁酯峰面积逐渐增大,但 24 h 内两峰面积的比值稳定,不会对测定结果造成干扰。

2.3.8 样品测定 取 3 批供试品进行含量测定,含巴胺磷分别为标示量的 97.3%、97.6%、97.1%,*RSD* 分别为 0.6%、0.4%、0.1%。

表 2 方法耐用性结果

Tab 2 The results of robustness test

色谱条件	巴胺磷保留时间/min	巴胺磷拖尾因子	巴胺磷与邻苯二甲酸二丁酯分离度	巴胺磷理论塔板数
流速 2.7 mL/min	6.142	0.98	18.7	37576
流速 3.0 mL/min	5.781	0.97	18.0	34426
流速 3.3 mL/min	5.474	0.99	17.1	31584
柱温 230 $^\circ\text{C}$	7.292	0.99	18.9	33225
柱温 250 $^\circ\text{C}$	4.698	0.98	16.7	35926
进样口温度 240 $^\circ\text{C}$	5.781	0.99	17.9	34048
进样口温度 260 $^\circ\text{C}$	5.775	0.98	17.9	34357
检测器温度 240 $^\circ\text{C}$	5.779	0.99	17.9	34406
检测器温度 260 $^\circ\text{C}$	5.779	0.98	17.9	34801
30 m \times 0.320 mm \times 1.80 μm DB-624 毛细管柱	4.889	0.99	15.7	25194
60 m \times 0.320 mm \times 1.80 μm DB-624 毛细管柱	12.577	1.00	22.6	52522

3 讨论与结论

3.1 色谱柱 《兽药质量标准》(2017 年版化学药品卷)中,巴胺磷溶液含量测定方法以非极性的 100% 甲基聚硅氧烷为固定相,本研究考察了与填充柱相同类型的 SE - 30 毛细管柱、非极性的 DB - 1 毛细管柱、强极性的 HP - INNOWAX 毛细管柱和中等级性的 SPB - 624 毛细管柱。结果显示,非极性的 SE - 30、DB - 1 毛细管柱巴胺磷峰与内标峰的峰型较差,强极性的 HP - INNOWAX 毛细管柱巴胺磷峰与内标峰不能完全基线分离,中等级性的 SPB - 624 毛细管柱巴胺磷峰与内标峰的峰型对称,两者基线完全分离,适合于巴胺磷的含量测定。

3.2 柱温 经考察,柱温越高,巴胺磷和内标保留时间越小,测定耗时越短,同时巴胺磷峰与内标峰基线能完全分离,但为了避免过高的温度对色谱柱填料造成损坏,柱温不宜超过 SPB - 624 毛细管柱的最大使用温度 250 ℃。

3.3 检测器 目前气相色谱用于巴胺磷残留量测定的检测器主要有火焰光度检测器、氮磷检测器和质谱检测器,这些检测器适用于样品中痕量或微量分析,而巴胺磷溶液含量测定为常量分析,氢火焰离子化检测器作为高灵敏度通用型检测器,各实验室配备率高,适用性更强。

3.4 内标法与外标法 采用丙酮作为溶剂,溶液容易挥发,随着放置时间增加,巴胺磷峰面积和内标峰面积逐渐增大。采用外标法测定,测定结果的准确度和重复性容易受到干扰,采用内标法测定,巴胺磷峰与内标峰峰面积随着溶剂挥发同比例变化,不会对测定结果造成干扰。

本研究建立了毛细管气相色谱法测定巴胺磷溶液的含量,该方法操作简便,具有专属性强、快速准确、耐用性好等特点,对现有质量标准中填充柱气相色谱法测定巴胺磷溶液含量进行了改善,适用于巴胺磷溶液含量的质量控制。

参考文献:

[1] 中国兽药典委员会. 兽药使用指南(化药卷)[M]. 2010 年. 北京: 中国农业出版社.

Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Guidelines for use of veterinary chemical drugs [M]. 2010 Edition. Beijing: China Agriculture Press.

[2] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准(化学药品卷)[M]. 2017 年. 北京: 中国农业出版社.

Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Quality standards of veterinary chemical drugs [M]. 2017 Edition. Beijing: China Agriculture Press.

[3] 张晓林,陈溪,刘莹,等. 加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱净化用于食品中有机磷的检测[J]. 化学通报, 2012, 75(6): 552 - 556.

Zhang X L, Chen X, Liu Y, *et al.* Determination of organic phosphorus in vegetable using GC with ASE - GPC clean - up [J]. Chemistry, 2012, 75(6): 552 - 556.

[4] 杨大进,张莹,方从容. 大米中有机磷和氨基甲酸酯农药残留毛细管气相色谱测定法[J]. 卫生研究, 1994, 23(2): 97 - 100.

Yang D G, Zhang Y, Fang C R. Capillary gas chromatography method for determination of organophosphorus and carbamate pesticide residues in rice [J]. Journal of Hygiene Research, 1994, 23(2): 97 - 100.

[5] Villarosa L, McCormick M J, Carpenter P D, *et al.* Determination of trace levels of diazinon and propetamphos in water and sewage by solid phase extraction [J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 1994, 54(2): 93 - 103.

[6] NYT 1380 - 2007. 蔬菜、水果中 51 种农药多残留的测定 气相色谱-质谱法[S].

NYT 1380 - 2007. Determination of 51 pesticides residues in fruits and vegetables GC - MS[S].

[7] 孙剑,郭长虹,余晓志,等. GC - MS 测定纺织品中有机磷农药含量检测方法研究[J]. 广东化工, 2014, 41(13): 259 - 261.

Sun J, Guo C H, Yu X Z, *et al.* Study on GC - MS determination method for detection of organophosphorus pesticide residues in textiles [J]. Guangdong Chemical Industry, 2014, 41(13): 259 - 261.

[8] 唐晓萍,张磊,郑如兰,等. 快速溶剂萃取-气质联用法同时测定纺织品中 12 种有机磷农药[J]. 分析实验室, 2015, 34(4): 421 - 424.

Tang X P, Zhang L, Zheng R L, *et al.* Simultaneous determination of twelve organophosphorus pesticides in textiles by accelerated solvent extraction - gas chromatography - mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2015, 34(4): 421 - 424.

- [9] 徐丽佳,张秀芹,刘笑,等. 超高效液相串联质谱法测定豆粕中有机磷类药物残留量的研究[J]. 新农业, 2018, (23):7-10.
Xu L J, Zhang X Q, Liu X, *et al.* Study on UPLC-MS determination method for detection of organophosphorus drug residues in soybean meal [J]. Journal of New Agriculture, 2018, (23):7-10.
- [10] 田恺,张浩然,张亦菲,等. 毛细管柱气相色谱法测定精制马拉硫磷溶液含量[J]. 中国兽药杂志, 2020, 54(8):41-46.
Tian K, Zhang H R, Zhang Y F, *et al.* Determination of malathion in purified malathion solution by capillary column gas chromatography [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2020, 54(8):41-46.
- [11] 韩宁宁,于晓辉,戴青,等. 阿维菌素残留溶剂气相色谱检测方法的建立[J]. 中国兽药杂志, 2018, 52(9):42-45.
Han N N, Yu X H, Dai Q, *et al.* Establishment of the method for determination of the residual of avermectin by gas chromatography [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2018, 52(9):42-45.

(编辑:侯向辉)