

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.08.07

毛细管柱气相色谱法测定精制马拉硫磷溶液含量

田 恺,张浩然,张亦菲,徐 汀,华贤辉,商 军*

(上海市兽药饲料检测所,上海 201103)

[收稿日期] 2020-03-21 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 08-0041-06 [中图分类号] S859.795

[摘 要] 建立了毛细管柱气相色谱法测定精制马拉硫磷溶液含量。采用 5% 苯基-95% 甲基聚硅氧烷为固定相的毛细管柱,柱温 230 ℃,进样口温度 250 ℃,检测器温度 265 ℃,载气:氮气;流速:2 mL/min;进样量 1 μL(分流比 50:1),内标物质为邻苯二甲酸二丙酯。在上述实验条件下,马拉硫磷峰与内标物质峰分离好(分离度 > 10);马拉硫磷浓度在 35.2 ~ 52.8 mg/mL 范围内呈良好线性关系, $r = 0.9991$;方法平均回收率为 98.37% ~ 100.08%, RSD 为 0.2% ~ 0.3% ($n = 6$);校正因子 RSD 为 0.5% ($n = 6$);供试品溶液在 10 h 内稳定。本法操作简便、快速、结果准确,应用于实际样品检测,结果满意,可作为精制马拉硫磷溶液含量测定的质控方法。

[关键词] 毛细管柱气相色谱法;精制马拉硫磷溶液;含量测定

Determination of Malathion in Purified Malathion Solution by Capillary Column Gas Chromatography

TIAN Kai, ZHANG Hao-ran, ZHANG Yi-fei, XU Ting, HUA Xian-hui, SHANG Jun*

(Shanghai Institute for Veterinary Drug and Feeds Control, Shanghai 201103, China)

Corresponding author: SHANG Jun, E-mail: sjshvdc@163.com

Abstract: A method for determination of malathion in purified malathion solution by capillary column gas chromatography was developed. The capillary column with 5% phenyl-95% methylpolysiloxane as stationary phase was used. The column temperature was 230 ℃, the inlet temperature was 250 ℃, the detector temperature was 265 ℃, the carrier gas was nitrogen, the flow rate was 2 mL/min, the injection volume was 1 μL (split ratio 50:1), and the internal standard material was dipropyl phthalate. Under above experimental conditions, malathion peak was well separated from the internal standard substance peak (resolution > 10), the calibration curve for malathion was linear in the range of 35.2 ~ 52.8 mg/mL ($r = 0.9991$), the average recovery of the method was 98.37% ~ 100.08%, and the RSD was 0.2% ~ 0.3% ($n = 6$), the correction factor RSD was 0.5% ($n = 6$), the test solution was stable within 10 hours. The results obtained by experimental verification showed that the method is simple, rapid and reliable for determination of malathion in purified malathion solution

作者简介: 田 恺,助理畜牧师,从事兽药饲料检测分析工作。

通讯作者: 商 军。E-mail: sjshvdc@163.com

by capillary column gas chromatography.

Key words: capillary column gas chromatographic; purified malathion solution; determination of content

精制马拉硫磷溶液属于有机磷杀虫药,主要以触杀、胃毒和熏蒸杀灭虫害,具有广谱、低毒、使用安全等特点,多用于牛羊皮毛去虱除虫,其作为兽用杀虫药剂,广泛应用于牛羊产地多的地区。目前国内检测马拉硫磷的方法主要有电化学法^[1-2]、酶联免疫法^[3]、分光光谱法^[4]、气相色谱法^[5-10]、液相色谱法^[11-13]、气质联用法^[14]和液质联用法^[15]等,其中气相色谱法是最通用的检测方法。精制马拉硫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^[8],其含量测定为填充柱气相色谱法,采用该法测定精制马拉硫磷溶液含量的稳定性和准确性均较差,给检验工作带来了诸多麻烦。为了更好地控制精制马拉硫磷溶液质量,本研究建立毛细管柱气相色谱法测定精制马拉硫磷溶液含量,为该制剂的质量控制提供了一种新方法。

1 材料与方法

1.1 材料 气相色谱仪(Agilent 6890N,火焰离子化检测器 FID,美国 Agilent 公司,配 B04.01C 化学工作站);电子天平(AB135-S,瑞士 METTLER TOLEDO 公司,精度为 0.01 mg);马拉硫磷对照品(中国兽医药品监察所,批号 H0671311,含量为 99.0%);邻苯二甲酸二丙酯内标物质(北京曼哈格生物科技有限公司,批号 B0002771,含量为 99.5%);精制马拉硫磷溶液(来源:企业 1,规格:70%,批号:2019042801、2019042802、2019042803;规格:45%,批号:2019042701、2019042702、2019042703;企业 2,规格:20%,批号 20171201、20171202、20171203);精制马拉硫磷原料(企业 1 提供,含量为 96.5%);空白辅料(乳化剂 0202-C,乳化剂 DZ-0248,乳化剂 150,企业 1 和企业 2 提供);丙酮(色谱级,德国默克公司,批号 1404012802)。

1.2 方法

1.2.1 气相色谱条件 色谱柱:Agilent HP-5 毛

细管柱(固定相:5% 苯基-95% 甲基聚硅氧烷,规格:30 m×0.320 mm×0.25 μm);柱温:230℃;进样口温度:250℃;检测器温度(FID):265℃;载气:氮气;流速:2 mL/min;进样体积:1 μL(分流比 50:1)。

1.2.2 溶液制备

1.2.2.1 内标溶液的制备 取邻苯二甲酸二丙酯适量,加丙酮溶解并稀释成每 1 mL 中含 20 mg 的溶液,摇匀,作为内标溶液。

1.2.2.2 对照品溶液的制备 取马拉硫磷对照品约 0.22 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 1.2.2.1 项的内标溶液 5 mL,密塞,振摇使溶解,作为对照品溶液。

1.2.2.3 供试品溶液的制备 分别取规格为 20% 供试品约 1.10 g,规格为 45% 供试品约 0.49 g,规格为 70% 供试品约 0.31 g(约相当于精制马拉硫磷 0.22 g),精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 1.2.2.1 项的内标溶液 5 mL,密塞并振摇使溶解,分别作为规格为 20%、45% 和 70% 的供试品溶液。

1.2.2.4 线性溶液的制备 取马拉硫磷对照品适量,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 1.2.2.1 项的内标溶液 5 mL,分别配制浓度为 35.2、39.6、44.0、48.4、52.8 mg/mL 的标准线性系列溶液。

1.2.2.5 回收率供试品溶液的制备 取空白辅料乳化剂 DZ-0248、乳化剂 150 和精制马拉硫磷原料,按处方比例分别制备成规格为 20% 和 45% 精制马拉硫磷溶液各 6 份;取空白辅料乳化剂 0202-C 和精制马拉硫磷原料制备成规格为 70% 精制马拉硫磷溶液 6 份;取上述制备的供试品适量,精密称定,分别置于具塞锥形瓶中,精密加入 1.2.2.1 项的内标溶液 5 mL,密塞并振摇使溶解,分别作为回收率供试品溶液。

1.2.3 供试品测定 分别取对照品溶液和供试品溶液,按 1.2.1 项的色谱条件操作,分别注入气相色谱仪,得对照品和供试品溶液中马拉硫磷和邻苯二甲酸二丙酯的峰面积,按内标法计算供试品中马

拉硫磷含量。

2 结果与分析

2.1 色谱系统适用性考察 分别取对照品溶液及 20%、45% 和 70% 的供试品溶液,按 1.2.1 项的气相色谱条件操作,分别对马拉硫磷主峰的保留时间、马拉硫磷主峰和邻苯二甲酸二丙酯主峰的分离度、马拉硫磷主峰的理论板数进行考察,结果见表 1

表 1 气相色谱系统适用性试验考察结果 (n = 6)

Tab 1 Results of the chromatographic system suitability (n = 6)					
样品溶液	保留时间 ± SD/min	RSD/%	分离度 ± SD	RSD/%	理论板数 ± SD
对照品溶液	4.507 ± 0.004	0.09	11.06 ± 0.03	0.27	22885 ± 79
20% 供试品溶液	4.503 ± 0.008	0.18	11.04 ± 0.02	0.18	22103 ± 101
45% 供试品溶液	4.505 ± 0.007	0.16	11.04 ± 0.03	0.27	22164 ± 94
70% 供试品溶液	4.503 ± 0.003	0.07	11.05 ± 0.02	0.18	22904 ± 68

和图 1。实验结果表明,对照品溶液和供试品溶液中马拉硫磷主峰保留时间约为 4.5 min,相对标准偏差 (RSD) 在 0.07% ~ 0.18% 之间;马拉硫磷主峰和邻苯二甲酸二丙酯主峰的分离度均大于 10, RSD 均在 0.18% ~ 0.27% 之间;马拉硫磷主峰的理论板数均大于 20000, RSD 在 0.30% ~ 0.46% 之间,具有较好的色谱系统适用性。

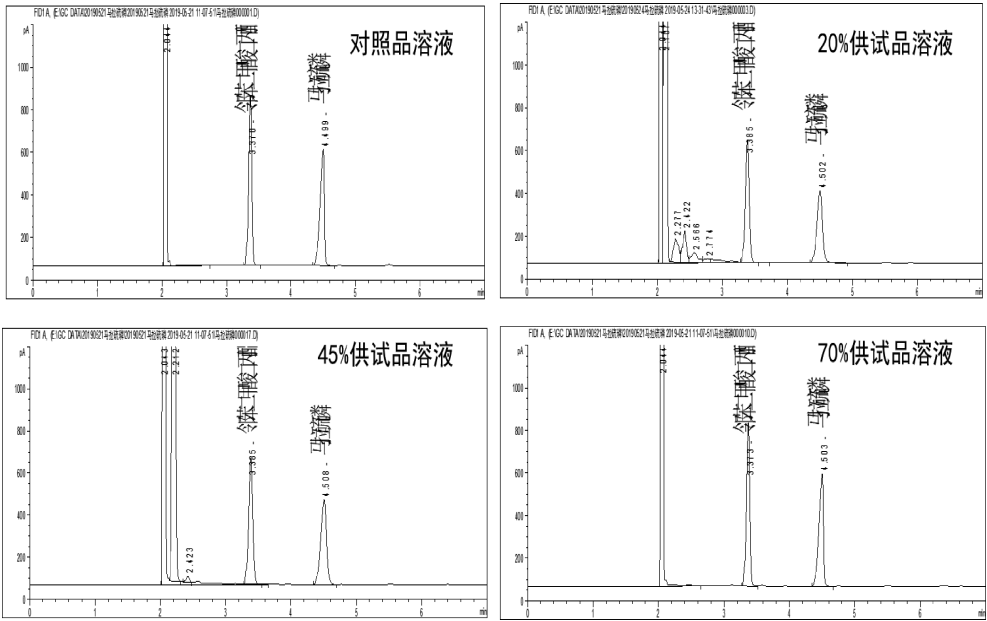


图 1 对照品溶液和供试品溶液气相色谱图

Fig 1 The chromatogram of the standard solution and the sample solution

2.2 线性关系考察 分别取 1.2.2.4 项中标准线性系列溶液 1 μL,注入气相色谱仪,按 1.2.1 项的气相色谱条件操作,计算马拉硫磷峰面积与邻苯二甲酸二丙酯(内标)峰面积的比值,以马拉硫磷浓度 (x) 为横坐标,马拉硫磷峰面积与内标物质峰面积比值 (y) 为纵坐标,绘制标准曲线,结果见表 2。实验

结果表明,在马拉硫磷浓度在 35.2 ~ 52.8 mg/mL 范围内,线性关系良好。

2.3 回收率试验 分别取 1.2.2.5 项中回收率供试品溶液,按 1.2.3 项进行测定,记录色谱图,按内标法计算测定结果,结果见表 3。实验结果表明,制备的 20% 精制马拉硫磷溶液的平均回收率为

99.5%,标准偏差(*SD*)为 0.2%,*RSD* 为 0.2%;制备的 45% 精制马拉硫磷溶液的平均回收率为 99.6%,标准偏差(*SD*)为 0.3%,*RSD* 为 0.3%;制备的 70% 精制马拉硫磷溶液的平均回收率为 98.6%,标准偏差(*SD*)为 0.3%,*RSD* 为 0.3%,方法的准确度较好。

表 2 马拉硫磷的线性关系

Tab 2 Linear relationship of malathion		
浓度/(mg·mL ⁻¹)	峰面积比值	线性回归方程
35.2	0.7385	$y = 0.0218x - 0.0282$ $r = 0.9991$
39.6	0.8310	
44.0	0.9382	
48.4	1.0161	
52.8	1.1248	

表 3 回收率试验测定结果

Tab 3 Method recovery test results					
制备的规格	添加量/g	测得量/g	回收率/%	平均回收率 ± <i>SD</i> /%	<i>RSD</i> /%
20%	0.2231	0.2221	99.55	99.5 ± 0.2	0.2
	0.2221	0.2208	99.41		
	0.2217	0.2207	99.55		
	0.2216	0.2204	99.46		
	0.2205	0.2186	99.14		
	0.2301	0.2297	99.83		
45%	0.2252	0.2243	99.60	99.6 ± 0.3	0.3
	0.2302	0.2288	99.39		
	0.2264	0.2250	99.38		
	0.2245	0.2241	99.82		
	0.2238	0.2240	100.09		
	0.2236	0.2222	99.37		
70%	0.2232	0.2213	99.15	98.6 ± 0.3	0.3
	0.2200	0.2175	98.86		
	0.2206	0.2170	98.37		
	0.2225	0.2191	98.47		
	0.2217	0.2181	98.38		
	0.2237	0.2205	98.57		

2.4 精密度试验

2.4.1 重复性实验 取马拉硫磷对照品溶液 1 份,重复进样 6 次,按内标法计算校正因子,检验系统测定的重复性;取供试品一批,分别制备成供试品溶液 6 份进行测定,计算马拉硫磷和邻苯二甲酸二丙酯峰面积比值,检验供试品测定的重复性,结果见表 4。实验结果表明,校正因子的 *RSD* 为 0.47%;6 份供试品峰面积比值的 *RSD* 为 1.07%,

系统和供试品测定重复性均良好。

2.4.2 中间精密度实验 分别取规格为 20%、45% 和 70% 的供试品各一批,分别于不同日期和不同人员,对上述供试品的含量进行测定,结果见表 5。实验结果表明,不同日期和不同人员对规格为 20% 马拉硫磷含量测定结果的 *RSD* 为 0.20%、规格为 45% 的 *RSD* 为 0.10%、规格为 70% 的 *RSD* 为 0.10%,精密度均较好。

表 4 方法的重复性试验结果

Tab 4 Repeatability test results of the method						
序号	系统重复性			供试品测定重复性		
	校正因子	平均校正因子 ± <i>SD</i>	<i>RSD</i> /%	峰面积比值	平均峰面积比值 ± <i>SD</i>	<i>RSD</i> /%
1	2.46			0.98		
2	2.47			0.97		
3	2.48	2.48 ± 0.01	0.47	0.99	0.98 ± 0.01	1.07
4	2.49			0.98		
5	2.48			0.96		
6	2.49			0.97		

表 5 方法的中间精密度试验结果

Tab 5 Intermediate precision test results of the method						
供试品规格	含量的标示量/%			含量的平均标示量 ± <i>SD</i> /%	<i>RSD</i> /%	
	I	II	III			
20%	101.04	101.23	101.42	101.3 ± 0.2	0.20	
	101.61	101.10	101.35			
45%	102.21	102.14	102.32	102.3 ± 0.1	0.10	
	102.18	102.32	102.41			
70%	103.23	103.25	103.31	103.2 ± 0.1	0.10	
	103.15	103.28	103.24			

2.5 溶液稳定性试验 取规格为 20%、45% 和 70% 的供试品溶液各一批,室温放置,分别于 0、2、4、6、8、10、16、24 h 后采集色谱图,考察马拉硫磷和邻苯二甲酸二丙酯峰面积的变化情况,在 0 ~ 10 h,规格为 20%、45% 和 70% 的供试品溶液测得马拉硫磷和邻苯二甲酸二丙酯峰面积的 *RSD* 均小于 1.5%;在 16 h 后峰面积均存在一定程度的下降。实验结果表明,供试品溶液在 10 h 内稳定。

2.6 供试品含量测定 分别取企业 1 规格为 45% 和 70% 的供试品及企业 2 规格为 20% 的供试品各 3 批,进行含量测定。结果见表 6。实验结果表明,3 个规格 9 批次供试品含量的平均标示量的 *RSD*

均小于 0.5%。

表 6 供试品测定结果 (n=3)

Tab 6 Results of sample determination (n=3)				
来源	规格	批号	含量的平均 标示量/%	RSD/%
企业 1	70%	2019042801	103.24	0.22
		2019042802	102.64	0.17
		2019042803	102.63	0.33
	45%	2019042701	102.21	0.25
		2019042702	102.08	0.19
		2019042703	101.81	0.24
企业 2	20%	20171201	101.03	0.16
		20171202	102.44	0.22
		20171203	103.02	0.16

3 讨论与结论

3.1 方法的选择 目前,从精制马拉硫磷含量测定的文献报道来看,精制马拉硫磷原料可采用 HPLC 法测定^[11-12],结果相对可靠;精制马拉硫磷溶液含量测定有 HPLC 法^[13]和 GC 法^[5,7-8],其中 GC 法含量测定均为填充柱气相色谱法,采用该法测定精制马拉硫磷溶液含量的稳定性和准确性均较差;本实验也参考了文献报道方法^[11-13]对精制马拉硫磷溶液(规格 20%、45% 和 70%)含量测定进行了优化研究,结果表明,对规格为 20% 和 45% 的精制马拉硫磷溶液,由于其辅料组成较规格为 70% 的要复杂,马拉硫磷主峰与杂质峰很难通过优化方法来进行分离,导致含量测定结果的不准确,故 HPLC 法不适用于规格为 20% 和 45% 精制马拉硫磷溶液含量的测定。采用建立的毛细管柱气相色谱法就较好的解决了上述难题,大大缩短了分析时间,且结果可靠、准确。

3.2 检测器的选择 目前气相色谱用于马拉硫磷含量测定的检测器主要有火焰离子化检测器(FID)^[5,7-8]、火焰光度检测器(FPD)^[9]、氮磷检测器(NPD)^[10],其中 FPD 和 NPD 适用于样品中痕量或微量马拉硫磷的测定,精制马拉硫磷溶液的含量测定为常量分析,FID 作为高灵敏度通用性检测器,适用于常量马拉硫磷含量测定,响应快,峰形

好,色谱系统适用性试验结果满意,故选择 FID 是适宜的。

3.3 内标物质的选择 在收载的标准中采用丙体六六六作为内标物质^[8],其不易获得,且其毒性较大,长时间使用会对检测人员及环境造成危害,在研究过程中选择了毒性相对较弱的邻苯二甲酸二丙酯作为内标物质,其色谱峰的位置与马拉硫磷主峰的位置相近,且与精制马拉硫磷溶液中各组分的色谱峰均能完全分离。

3.4 柱温的选择 色谱柱温在 150~250℃ 范围内对样品进行试验,试验结果表明,柱温为 230℃ 的恒温条件下,马拉硫磷主峰、内标物质峰、溶剂峰、杂质峰的分离效果均较好且保留时间的重复性也较好,缩短了分析时间。

采用毛细管柱气相色谱法测定精制马拉硫磷溶液含量,该方法操作简便易行,专属性强、准确性高、重复性好等特点,适用于精制马拉硫磷溶液含量测定的质量控制。

参考文献:

[1] Witold Ciesielski A, Monika Skowron, Piotr Bal czewski, *et al.* Etermination of some thiophosphorus insecticides based on coulometric titration with the anodically generated chlorine: a further insight in the reaction mechanism in aqueous medium[J]. *Talanta*, 2003, 60: 725 - 732.

[2] Mohammad T, Jafari. Determination and identification of malathion, ethion and dichlorovos using ion mobility spectrometry[J]. *Talanta*, 2006, 69: 1054 - 1058.

[3] Marta Garc, Eva M Brun, Rosa Puchades, *et al.* Immunochemical determination of four organophosphorus insecticide residues in olive oil using a rapid extraction process[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 556: 347 - 354.

[4] Guillermo Quint, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia. FT - Raman spectrometry determination of Malathion in pesticide formulations[J]. *Talanta*, 2004, 63: 345 - 350.

[5] United States Pharmacopoeia Commission. United States Pharmacopoeia 40 Edition and National Formulary 35 Edition [S].

[6] 耿玉辉, 郭桂金. 气相色谱法测定粮食中农药残留—马拉硫磷[J]. *粮食与食品工业*, 2007, 14(2): 50 - 51.

Geng Y H, Guo G J. Determination of malathion residues in grain by gas chromatography[J]. *Cereal and Food Industry*, 2007, 14

- (2): 50 - 51.
- [7] 国家石油和化学工业局. HG 3284 - 2000. 45% 马拉硫磷乳油 [S].
State Bureau of Petroleum and Chemical Industry. HG 3284 - 2000 45%. Malathion emulsifiable concentrates[S].
- [8] 中国兽药典委员会. 兽药质量标准, 2017 年版[S].
Chinese Veterinary Pharmacopoeia Committee. Quality Standard of Veterinary Drugs 2017 Edition [S].
- [9] 万丽兵, 王 耀, 谢翠美, 等. GPC 净化 - 毛细管气相色谱法测定渔业水体中马拉硫磷[J]. 广州环境科学, 2010, 25(3): 8 - 11.
Wan L B, Wang Y, Xie C M, *et al.* Determination of Malathion in Cultural Water by GC After Purification with GPC [J]. Guangzhou Environmental Sciences, 2010, 25(3): 8 - 11.
- [10] 张 怡, 史雪岩, 高希武. 气相色谱 - 氮磷检测器法表征家蝇对马拉硫磷的水解代谢[J]. 色谱, 2019, 37(4): 449 - 453.
Zhang Y, Shi X Y, Gao X M. Characterization of hydrolytic metabolism of malathion with *Musca domestica* by gas chromatography with nitrogen - phosphorus detector [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2019, 37(4): 449 - 453.
- [11] European Pharmacopoeia Commission. European Pharmacopoeia Version 9.0 [S].
- [12] British Pharmacopoeia Commission. British Pharmacopoeia 2013 Edition [S].
- [13] 陈向丹, 王 峻, 胡 深, 等. 反相 HPLC 测定精制马拉硫磷溶液方法探讨[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(21): 170 - 172.
Chen X D, Wang J, Hu S, *et al.* Investigation determination of content of purified malathion solution [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(21): 170 - 172.
- [14] 杨卫花, 姜彩仙, 寸宇智, 等. GC - MS 法检测测定大米中马拉硫磷残留[J]. 云南化工, 2019, 46(9): 92 - 95.
Yang W H, Jiang C X, Cun Y Z, *et al.* Determination of Malathion in Rice by GC - MS [J]. Yunnan Chemical Technology, 2019, 46(9): 92 - 95.
- [15] Hiroyuki Nakazawa, Nobuyuki Takahashi, Koichi Inoue, *et al.* Rapid and simultaneous analysis of dichlorvos, malathion, carbar-yl, and 2,4 - dichlorophenoxy acetic acid in citrus fruit by flow - injection ion spray ionization tandem mass spectrometry [J]. Talanta, 2004, 64: 899 - 905.

(编 辑: 侯向辉)