

高效液相色谱法分离和检测尿中三种有机磷农药

张洪兰

(军事医学科学院毒物药物研究所 北京 100850)

张苑

(广州军区医学高等专科学校 广州 510315)

摘要 本文采用高效液相色谱法,对尿中三种有机磷农药进行了分离和检测,在所建立的方法下,三种农药在线性范围5~25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 之间,尿中水胺硫磷最低检测限为100ng,回收率为73.65 \pm 2.70%,日内误差为2.7%,日间误差为13.22%;尿中甲基毒虫畏最低检测限为50ng,回收率为72.31 \pm 10.15%,日内误差为10.15%,日间误差为22.19%;尿中伏杀硫磷最低检测限为50ng,回收率为61.55 \pm 5.11%,日内误差为5.11%,日间误差为4.58%。

关键词 高效液相色谱法 分离 检测 尿 有机磷农药

1 前言

长期以来有机磷农药被广泛地应用于农业生产中,但投毒,误服,自杀的现象也时有发生,为了给中毒病人的临床诊断提供参考数据,必须建立临床诊断分析方法,根据文献报道,分析方法有薄层层析法^[1],气相色谱法^{[2][3]},高效液相色谱法^[4]等,本文采用高效液相色谱法较好地对三种有机磷农药进行了分离与检测,本文操作流程短,处理简单,测定迅速,结果正常稳定。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

2.1.1 Hp1050 高效液相色谱仪,配四元泵, Hp1040 色谱工作站,二极管阵列检测器。

2.1.2 甲醇为国产优级纯试剂,蒸馏水为双蒸水。

2.1.3 水胺硫磷:纯度98%,由农牧渔业部农药检定所提供。

伏杀硫磷:纯度94.2%,同上。

甲基毒虫畏:纯度不少于99%,同上。

2.1.4 国产C18微型预处理柱,河北津杨沪材厂生产。

2.2 实验条件的选择

2.2.1 色谱条件

色谱柱: ODS 柱 (150mm \times 2.0mmID), 流动相: 甲醇:水=75:25 (V:V), 流速: 0.2ml/min。检测波长: 215 \pm 4nm, 254 \pm 4nm, 280 \pm 4nm, 参比波长: 450 \pm 80nm, 阈值: 2.0, 吸收波长范围: 215nm~400nm。

2.2.2 样品预处理

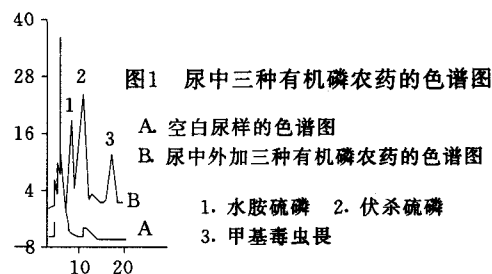
取5ml尿样,以5ml/min速度通过C₁₈柱,水洗,抽干水分,用1ml甲醇洗脱,待用。

3 结果与讨论

3.1 定性与定量计算

图1为三种有机磷农药标准品的色谱图,对尿样采用加入法进行定性。

用外标法进行定量测定,以标准曲线法,用峰面积计算尿样中有机磷农药的含量。



取经预处理后三种样品进行测定,结果见表1。

表 1 尿中三种有机磷农药的测定结果

农药名称	保留时间 (分)	回收百分率 (n=8, %)				S _x ±X (%)	CV%
水胺硫磷	5.610	76.47	75.08	70.80	72.27	2.70±73.65	3.67
		74.08	77.85	70.29	72.33		
伏杀硫磷	8.050	61.44	64.89	51.40	58.80	5.11±61.55	8.30
		66.14	65.78	65.29	58.68		
甲基毒虫畏	17.114	61.91	63.47	80.66	88.35	10.15±72.31	14.04
		69.77	72.49	71.58	64.23		

从表 1 可知:三种有机磷农药的回收百分率:水胺硫磷 70%以上,伏杀硫磷 50%以上,甲基毒虫畏 60%以上。

3.2 线性范围

取 5, 10, 15, 20, 25μg/ml 的三种标准溶液进行测定,进样 10μl,以峰面积对有机磷农药的浓度做工作曲线(见图 2)。结果表明,在给定的浓度范围内,三者的相关系数均大于 0.99(见表 2)。

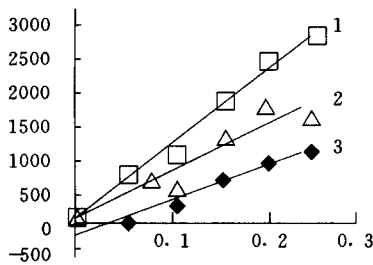


图 2 三种有机磷农药的标准工作曲线
1. 甲基毒虫畏 2. 水胺硫磷 3. 伏杀硫磷

表 2 三种有机磷农药的线性回归方程

农药名称	回归方程	相关系数
水胺硫磷	$Y=0.0117X+0.001$	0.9991
伏杀硫磷	$Y=0.0489X+0.002$	0.9938
甲基毒虫畏	$Y=0.0100X+0.001$	0.9937

3.3 精密度与最低检测限

测得三种有机磷农药最低检测限,隔日对样品进行测定,得日间误差(见表 3)。

表 3 尿中三种有机磷农药的精密度和最低检测限

农药名称	日内误差 (%)	日间误差 (%)	最低检测限 (ng)
水胺硫磷	2.70	13.22	100
伏杀硫磷	5.11	4.58	50
甲基毒虫畏	10.15	22.19	50

从表 3 可知:日间误差较大,样品不宜放置太久。

4 小结

1. 建立了高效液相色谱法分离鉴定尿中三种有机磷农药的分析方法。
2. 该法采用 C₁₈微型预处理柱进行固相提取,方法简便快速,灵敏度高,尿空白无干扰。
3. 该法测定的灵敏度,水胺硫磷为 2μg/ml 尿,伏杀硫磷为 2μg/ml 尿,甲基毒虫畏为 1μg/ml 尿。

参考文献

- [1] 农牧渔业部农药检定所等合编:农药分析,化学工业出版社出版,1990年9月,128~189
- [2] J. chromatography, 503 (1990), 316~319
- [3] J. chromatography, 389 (1987), 87~94
- [4] 王俊德等编,高效液相色谱法,中国石化出版社,1992. 3. 333

(下转第 22 页)

参考文献

- [1] 钟玉旭,李复兰,邹立家等,动物脑水解物研究概况,中国生化药物杂志;17(4):77
[2] 吴永佩,许冀陕,刘渊等,脑活素的临床疗效评价,中

国新药杂志;1995.4(2):77

- [3] 孔祥苓,李海生,李华龙等,氨基酸含量与折光率的比较,第甲届中日药品分析技术研究会,论文集;1997:85~94
[4] 日本药局方第十二改正,缓冲液项下。

Chromatogram of the Peptide and Molecular Weight Determination of Cerebrolysis

Abstract In this article the peptide chromatograms and molecular weight distribution of Cerebrolysis Injection from the EBEWE CO in Austria and 8 domestic manufactures were analyzed and compared with. The result indicated that all the molecular weights were less than 10000, their composition and distribution were different. It has been shown that the technology used by those factories was different, so it is recommended that the relevant Units should organize unified inspection and formulate corresponding quality standard.

Key words Cerebrolysis Chromatogram of peptide Molecular weight

(上接第 29 页)

Separation and Detection of Three Organophosphorus Pesticides in Urine by High Performance Liquid Chromatography

Zhang Honglan Zhang Yuan

(Institute of Toxicology and Pharmacology, Academy of Military Sciences Beijing 100850)

Abstract A reversed phase HPLC method was developed for the simultaneous determination of three organophosphorus pesticides in urine. Chromatographic separation was achieved with ODS column(150 × 2mm, ID) and effluent was monitored at 215 ± 4, 254 ± 4, 280 ± 4nm. The assay was linear over the urine range of 5.0~50μg/ml. Inter and intro day precision (RSD) for three organophosphorus pesticides did not exceed 22.19% in these range.

The urine sample was extracted with PT-C₁₈ cartridge and eluted with methanol before use. The minimum detectable limit was 50~100ng. The method is simple, rapid, and highly sensitive.

Key words Organophosphorus pesticide urine detection solid phase extract HPLC