

羊毛脂中游离羊毛醇和残留农药的含量测定

丁银蒙¹, 刘晶¹, 马青修¹, 柳文媛^{1,2*} [1.中国药科大学药学院, 南京 210009; 2.浙江省原料药安全研究中心(工艺技术创新平台), 杭州 310018]

摘要: 目的 采用气相色谱法测定羊毛脂中游离羊毛醇以及残留农药的含量, 并评价方法可能性。方法 使用凝胶渗透色谱(gel permeation chromatography, GPC)进行前处理, 分别采用气相色谱-火焰离子化检测器法(GC-FID)与气相色谱-质谱联用法(GC-MS)测定游离羊毛醇及残留农药的含量, 以保留时间定性, 总峰面积定量。结果 GPC 前处理系统的回收率均符合要求。在建立的 2 种方法下, 各待测物分离良好; 线性关系良好(相关系数均>0.999 5); 平均回收率为 90.49%~102.78%($n=6$)。3 个批次的羊毛脂中游离羊毛醇含量均<2.84%, 另外 1 个批次的羊毛脂中有顺氯菊酯和反氯菊酯检出, 其他残留农药均未检出。结论 本实验建立的 GPC-GC/FID 和 GPC-GC/MS 法专属性良好, 精密度、准确度较高, 耐用性好, 可用于羊毛脂中游离羊毛醇和 6 种有机磷和拟除虫菊酯类残留农药的含量测定。同时, 本研究可为羊毛脂质量控制提供参考。

关键词: 凝胶渗透色谱; 气相色谱; 羊毛脂; 羊毛醇; 残留农药

中图分类号: R917 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)14-1976-07

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20220905

引用本文: 丁银蒙, 刘晶, 马青修, 等. 羊毛脂中游离羊毛醇和残留农药的含量测定[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(14): 1976-1982.

Determination of Free Lanolin Alcohol and Residual Pesticides in Lanolin

DING Yinmeng¹, LIU Jing¹, MA Qingxiu¹, LIU Wenyuan^{1,2*} [1.School of Pharmacy, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China; 2.Zhejiang Center for Safety Study of Drug Substances(Industrial Technology Innovation Platform), Hangzhou 310018, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the content of free lanolin alcohol and residual pesticides in lanolin by gas chromatography, and to evaluate the feasibility of the established method. **METHODS** Gel permeation chromatography(GPC) was used for pretreatment, and the contents of free lanolin alcohol and residual pesticides were determined by GC-FID and GC-MS, respectively. And the qualitative analysis was conducted based on the retention time and quantitative analysis was conducted by total peak area. **RESULTS** The recovery of GPC pretreatment system met the requirements. Under the two established methods, the determinand were well separated; the satisfactory linearity with good correlation coefficients >0.999 5 were obtained; and the average recoveries were in the range of 90.49%–102.78%($n=6$). The content of free lanolin alcohol in 3 batches of lanolin was <2.84%, cis-permethrin and trans-permethrin were determined in lanolin and the other residual pesticides were not detected. **CONCLUSION** The GPC-GC/FID and GPC-GC/MS method established in the study have good specificity, high precision, accuracy and robustness, which can be used for the separation and determination of free lanolin alcohol and six organophosphorus and pyrethroid residual pesticides in lanolin. At the same time, this study can provide reference for the quality control of lanolin.

KEYWORDS: gel permeation chromatography; gas chromatography; lanolin; lanolin alcohol; residual pesticides

羊毛含脂量 9%~12%, 中国作为产羊毛大国, 每年可供回收的羊毛脂约有万余吨, 为羊毛脂的加工利用提供了丰富的原料市场^[1-3]。羊毛脂具有很好的乳化及渗透作用, 被广泛应用于化妆品、医药、皮革以及其他精细化工领域^[4], 尤其作为化妆品和医药乳膏基质有很大的使用和发展空间^[5-6]。羊毛脂中含有的羊毛醇成分复杂, 是脂肪族单醇、甾醇、三萜醇和少量碳氢化合物和氧化产物的混

合物, 但不少研究表明其为致敏成分, 可引起严重的过敏性皮炎^[7-10]; 其次, 在羊生长和羊毛储存过程为防治细菌、病毒和寄生虫会使用亲脂性杀虫剂, 这些杀虫剂大多数会对人体健康和生态环境造成危害, 如有机氯农药具有潜在致癌性, 有机磷农药会破坏神经系统, 拟除虫菊酯类农药会对人的皮肤乃至神经系统造成伤害。使用者接触后累积在体内, 造成长期危害^[11-14]。美国药典和

作者简介: 丁银蒙, 女, 硕士生 E-mail: 1355465549@qq.com

*通信作者: 柳文媛, 女, 博士, 教授 E-mail: liuwenyuan@cpu.edu.cn

欧洲药典中对于游离羊毛醇和有机磷类、有机氯类以及拟除虫菊酯类农药的残留量都有明确限量规定^[15-16],而中国对于羊毛脂的研究起步较晚,中国药典对于羊毛脂的指标仅限于性状、鉴别、酸碱度、氯化物等检查^[17],无其他标准方法可供参考。鉴于国内对于羊毛脂中羊毛醇以及残留农药的提取、富集和测定方法研究甚少,本研究参考有关文献,采用凝胶渗透色谱法(gel permeation chromatography, GPC)提取和富集羊毛脂中的待测物,建立气相色谱-火焰离子化检测器法(GC-FID)测定游离羊毛醇,浓缩倍数高;建立 GC-MS 同时测定 6 种残留农药,为国内羊毛脂产品质量控制提供参考。

1 仪器与试剂

岛津 GC-2030 气相色谱仪(含 AOC i+s 自动进样器和 FID 检测器)、岛津 QP-2020 气相色谱仪(含 MS 质谱检测器)均来自日本岛津公司;中压玻璃层析柱(上海厦美生化科技发展有限公司);SQP 电子天平(赛多利斯科学仪器有限公司)。

乙酸乙酯(色谱纯,批号:20210112;纯度 $\geq 99.9\%$)、二氯甲烷(色谱纯,批号:20210906;纯度 $\geq 99.5\%$)、正己烷(色谱纯,批号:20211122;纯度 $\geq 99.9\%$)均购自永华化学股份有限公司;环己烷(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,色谱纯,批号:J2028110;纯度 $\geq 99.9\%$);二嗪农标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)、乙硫磷标准品(250 mg, 1 mL)、顺氯菊酯标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)、反氯菊酯标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)、氯氰菊酯标准溶液($1\text{ }000\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)、溴氰菊酯标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)、茚- d_{12} 标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 1 mL)均购自北京曼哈格生物科技有限公司;Bio-Beads SX-3 和 SX-8 凝胶填料[Bio-Rad 伯乐生命医学产品(上海)有限公司];羊毛脂标准品(20 g,批号:R100E0)、羊毛醇标准品(5 g,批号:GOC421)购自北京北方伟业计量技术研究院;羊毛脂供试品(某企业,批号:A1#, A2#, A3#)。

2 方法和结果

2.1 羊毛脂中游离羊毛醇含量测定

2.1.1 GPC 及 GC 条件 凝胶填料为 Bio-Beads 多孔交联聚苯乙烯聚合物 S-X8;柱高及内径:85 cm $\times$ 16 mm;洗脱剂为二氯甲烷;流速:5 mL $\cdot\text{min}^{-1}$;上样量:2 mL;待测物收集体积为 63~133 mL。Aglient DB-1 色谱柱(30 m $\times$ 0.32 mm,

0.52 μm);载气: N_2 ;色谱柱流量:1.00 mL $\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 1.0 μL ,不分流进样,进样口温度为 290 $^{\circ}\text{C}$;柱温程序:起始温度为 230 $^{\circ}\text{C}$;以 12 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 290 $^{\circ}\text{C}$,维持 50 min;FID 检测器温度为 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.1.2 羊毛醇标准溶液的制备 精密称取羊毛醇标准品适量,加正己烷溶解并稀释至刻度,摇匀,即得羊毛醇标准溶液。

2.1.3 羊毛脂标准品溶液的制备 精密称取羊毛脂标准品 5 g,置于 50 mL 量瓶中,加二氯甲烷溶解并稀释至刻度,摇匀,即得羊毛脂标准品溶液。

2.1.4 羊毛脂供试品溶液的制备 精密称取羊毛脂供试品 1 g,置于 10 mL 量瓶中,加二氯甲烷溶解并稀释至刻度,摇匀,即得供试品溶液。

2.1.5 系统适用性试验 精密移取 2 mL “2.1.3”项下羊毛脂标准品溶液注入 GPC 系统,收集前 63 mL 于圆底烧瓶中,旋蒸浓缩,试验平行进行 3 次,按照公式(1)计算羊毛脂标准品回收率,平均回收率为 91.49%,RSD 为 0.70%;精密移取 2 mL “2.1.2”项下羊毛醇标准溶液注入 GPC 系统,收集 63~133 mL 于圆底烧瓶中,旋蒸浓缩,正己烷复溶后定容至 2 mL。取上述溶液,按“2.1.1”项下气相色谱条件测定,按外标法以总峰面积计算羊毛醇的回收率,试验平行进行 3 次。结果表明,羊毛醇的平均回收率为 107.21%,RSD 为 1.39%。在规定收集体积内,羊毛脂与羊毛醇的回收率较高,此凝胶系统适用。

$$R' = \frac{w_i - w_o}{w} \times 100\% \quad (1)$$

式中: w_i , 收集 0~63 mL 组分旋蒸浓缩后圆底烧瓶的质量; w_o , 圆底烧瓶原始质量; w , 羊毛脂标准品上样质量。

2.1.6 专属性试验 分别取空白溶剂正己烷、洗脱溶剂二氯甲烷、羊毛醇标准溶液和过 GPC 柱后的羊毛脂样品溶液,按“2.1.1”项下气相色谱条件进样并记录色谱图。结果见图 1,空白溶剂在羊毛醇标准溶液和过 GPC 柱后的羊毛脂样品溶液色谱峰相应位置上无干扰。

2.1.7 检测限与定量限 将“2.1.2”项下羊毛醇标准溶液逐级稀释,按“2.1.1”项下气相色谱条件进样,记录信噪比。当信噪比约为 10:1 时,羊毛醇定量限浓度为 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$;当信噪比约为 3:1 时,羊毛醇的检测限浓度为 2 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。定量

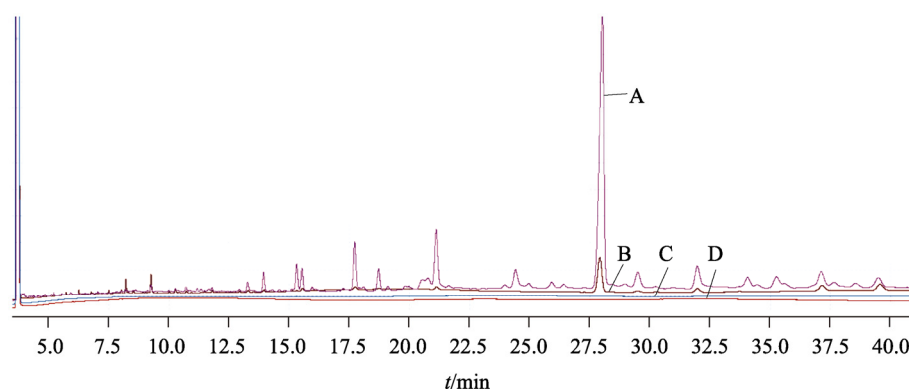


图1 GC 色谱图

A-羊毛脂样品溶液; B-羊毛醇标准溶液; C-洗脱溶剂二氯甲烷; D-空白溶剂正己烷。

Fig. 1 GC chromatograms

A-lanolin sample solution; B-lanolin alcohol reference standard solution; C-elute solution dichloromethane; D-blank solvent *n*-hexane.

限溶液连续进样 6 针, 总峰面积 RSD 为 6.61% (<10.0%)。

2.1.8 进样精密度试验 精密吸取“2.1.2”项下羊毛醇标准溶液, 按“2.1.1”项下气相色谱条件连续进样 6 次。羊毛醇总峰面积 RSD 为 2.61%, 表明进样精密度良好。

2.1.9 线性关系考察 精密称取羊毛醇标准品 10 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 加正己烷溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的羊毛醇储备液。精密移取相应储备液置于量瓶中, 配制成 2% ($0.01 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 50% ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 100% ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 150% ($0.75 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$), 200% ($1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 系列浓度的对照品溶液。分别按“2.1.1”项下气相色谱条件进样, 记录峰面积。以羊毛醇标准溶液浓度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)为横坐标(x), 羊毛醇总峰面积为纵坐标(y)绘制标准曲线。其线性方程为 $y=1165678.60x-13439.39$, $r=0.9995$ 。表明羊毛醇在 $0.01 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 内线性关系良好。

2.1.10 准确度试验 分别精密称取羊毛醇标准品 4, 5, 6 mg, 置于 10 mL 量瓶中, 移取“2.1.3”项下羊毛脂标准品溶液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得 80%, 100%, 120% 供试品加样溶液。分别精密移取上述溶液按“2.1.1”项下经 GPC 前处理后, 进样, 记录总峰面积, 并计算回收率及 RSD, 结果见表 1。

2.1.11 耐用性考察 精密移取“2.1.4”项下羊毛脂供试品溶液, 按“2.1.1”项下 GPC 前处理后于气相色谱进样, 记录峰面积。分别改变参数起始柱温(230 ± 5) $^{\circ}\text{C}$ 、进样口温度(290 ± 5) $^{\circ}\text{C}$ 和检测器温度(300 ± 5) $^{\circ}\text{C}$, 考察对含量检测结果的影响。在各变动色谱条件下, 羊毛醇测得含量的 RSD 分别为

表1 准确度试验结果($n=3$)

Tab. 1 Results of accuracy tests($n=3$)

样品浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	加入浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	测得浓度/ $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	回收率/ %	平均值/ %	RSD/%
0.933 4	0.437 0	1.408 9	102.81		
0.933 4	0.437 0	1.409 5	102.85		
0.933 4	0.437 0	1.409 5	102.85		
0.933 4	0.500 5	1.449 5	101.09		
0.933 4	0.500 5	1.457 9	101.68	102.59	1.06
0.933 4	0.500 5	1.448 2	101.00		
0.933 4	0.632 0	1.622 8	103.67		
0.933 4	0.632 0	1.621 3	103.57		
0.933 4	0.632 0	1.625 3	103.83		

3.25% ($n=6$), 2.70% ($n=6$), 1.98% ($n=6$); 所有色谱条件下羊毛醇含量的 RSD 为 2.43%, 证明此方法耐用性良好。

2.1.12 样品含量测定 按“2.1.4”项下方法配制供试品溶液, 分别对 3 个批次羊毛脂样品中羊毛醇的含量进行检测, 批号分别为 A1#, A2#和 A3#。分别取羊毛醇标准溶液和各批次供试品溶液按“2.1.1”项下 GPC 前处理后于气相色谱进样, 记录总峰面积。各批次羊毛醇含量结果见表 2。

表2 样品含量测定结果($n=6$)

Tab. 2 Results of sample content determination($n=6$) %

样品批号	检测结果	RSD
A1#	2.84	5.23
A2#	1.05	2.08
A3#	1.22	3.96

2.2 羊毛脂中残留农药的测定

2.2.1 GPC 及 GC 条件 凝胶填料为 Bio-Beads 多孔交联聚苯乙烯聚合物 S-X3; 柱高及内径: $40 \text{ cm} \times 26 \text{ mm}$; 洗脱溶剂为乙酸乙酯: 环己烷=1:7; 流速: $6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 上样量: 5 mL; 待测物收

集体积范围为 130~400 mL; 岛津 SH-Rxi-5ms 色谱柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm); 载气: He; 色谱柱流量: 1.75 mL·min⁻¹, 进样量 1.0 μL, 不分流进样, 进样口温度为 300 ℃; 柱升温程序: 初始温度 50 ℃, 保持 1 min, 以 25 ℃·min⁻¹ 的速率升到 200 ℃, 再以 10 ℃·min⁻¹ 的速率升到 300 ℃, 保持 10 min; 质谱: 采用 EI 电离方式, 电离能 70 eV, 离子源温度为 250 ℃, 接口温度为 250 ℃, 溶剂延迟时间 6 min, 扫描模式为 SIM。

2.2.2 混合标准溶液的制备 分别精密移取乙硫磷标准品、二嗪农标准溶液、顺氯菊酯标准溶液、反氯菊酯标准溶液、氯氰菊酯标准溶液、溴氰菊酯标准溶液和茚-d12 标准溶液适量, 加洗脱剂制成每 1 mL 含 0.5 μg 的 6 种农药和内标的溶液, 作为混合标准溶液。

2.2.3 羊毛脂标准品溶液的制备 精密称取羊毛脂标准品适量, 置于 50 mL 量瓶中, 加洗脱剂溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.1 g·mL⁻¹ 羊毛脂标准品溶液。

2.2.4 羊毛脂供试品溶液的制备 精密称取羊毛脂供试品 1 g, 置于 10 mL 量瓶中, 加洗脱剂溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得供试品溶液。

2.2.5 系统适用性试验 精密移取 5 mL “2.2.3”项下羊毛脂标准品溶液注入 GPC 系统, 收集前 130 mL 于圆底烧瓶中, 旋蒸浓缩, 试验平行进行 3 次, 按照公式(1)计算羊毛脂标准品回收率, 平均回收率为 99.91%, RSD 为 2.61%; 精密移取 5 mL “2.2.2”项下混合标准溶液注入 GPC 系统, 收集 130~400 mL 于圆底烧瓶中, 旋蒸浓缩, 正己烷复溶后定容至 2 mL。取上述回收溶液, 按 “2.2.1”

项下气相色谱条件测定, 按内标法以公式(2)计算 6 种残留农药的回收率, 试验平行进行 3 次, 结果见表 3。在规定收集体积内, 羊毛脂与 6 种残留农药的回收率较高, 此凝胶渗透系统适用。

$$R = \frac{2 \times A / A'}{5 \times A_1 / A_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A 表示回收溶液中各组分的峰面积; A' 表示回收溶液中茚-d12 内标的峰面积; A_1 表示混合标准溶液中各组分峰面积; A_2 表示混合标准溶液中茚-d12 内标的峰面积。

表 3 系统适用性试验结果

名称	回收率	RSD
二嗪农	102.08	4.33
乙硫磷	105.56	3.98
顺氯菊酯	102.41	1.07
反氯菊酯	103.93	1.03
氯氰菊酯	94.68	3.14
溴氰菊酯	91.03	0.34

2.2.6 专属性试验 精密移取空白洗脱剂、经 “2.2.1” 项下 GPC 处理后的羊毛脂空白基质和 “2.2.2” 项下的混合标准溶液经 “2.2.1” 项下气相色谱-质谱方法进行测定, 记录色谱图。结果显示, 空白溶剂无干扰, 空白基质无干扰, 二嗪农、乙硫磷、顺氯菊酯、反氯菊酯、氯氰菊酯、溴氰菊酯和茚-d12 内标物之间分离度良好, 相互之间无干扰, 见图 2。

2.2.7 检测限与定量限 将 “2.2.2” 项下的混合标准溶液逐级稀释, 经 “2.2.1” 项下方法进行测定, 记录信噪比, 以信噪比约为 3:1 时为检测限,

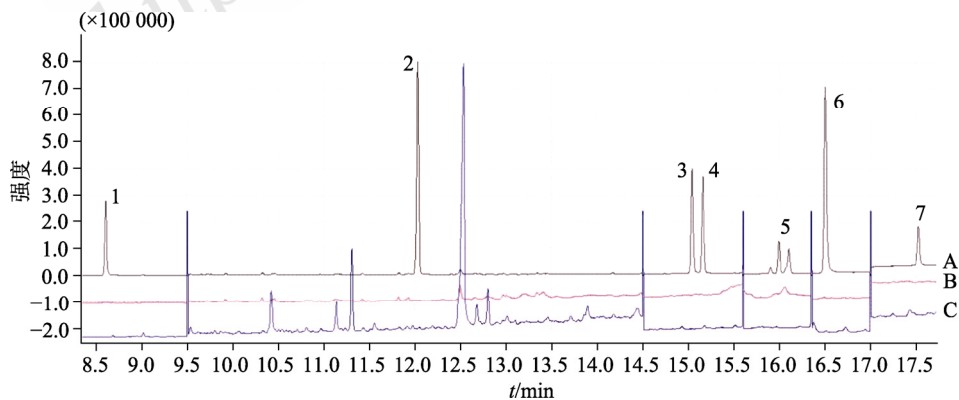


图 2 GC-MS 色谱图

A—混合标准溶液; B—空白溶剂; C—羊毛脂空白基质溶液; 1—二嗪农; 2—乙硫磷; 3—顺氯菊酯; 4—反氯菊酯; 5—氯氰菊酯; 6—茚-d12; 7—溴氰菊酯。

Fig. 2 GC-MS chromatograms

A—reference standard solution; B—blank solvent; C—lanolin blank matrix solution; 1—diuron; 2—ethion; 3—cis-permethrin; 4—trans-permethrin; 5—cypermethrin; 6—perylene-d12; 7—deltamethrin.

以信噪比约为 10 : 1 时为定量限。二嗪农检测限浓度为 $0.01 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 乙硫磷检测限浓度为 $0.001 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.004 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 顺氯菊酯检测限浓度为 $0.01 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 反氯菊酯检测限浓度为 $0.01 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.03 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 氯氰菊酯检测限浓度为 $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; 溴氰菊酯检测限浓度为 $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限浓度为 $0.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

2.2.8 进样精密度试验 将“2.2.2”项下的混合标准溶液在气相色谱-质谱系统中连续进样 6 次, 6 种残留农药色谱峰的保留时间和峰面积的 $\text{RSD} \leq 2.20\%$, 表明进样精密度良好。

2.2.9 线性关系考察 分别精密移取适量乙硫磷标准品、二嗪农标准溶液、顺氯菊酯标准溶液、反氯菊酯标准溶液、氯氰菊酯标准溶液、溴氰菊酯标准溶液置于 10 mL 量瓶中, 加空白溶剂稀释至刻度, 摇匀, 即得 6 种农药待测物浓度约为 $1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 储备液。分别精密移取 0.3, 0.5, 0.8, 1, 1.5 mL 上述储备液和 10 μL 内标溶液, 置于 2 mL 量瓶中, 加空白溶剂稀释至刻度, 摇匀, 即得系列质量浓度的混合标准溶液。将上述线性溶液按“2.2.1”项下气相色谱-质谱条件测定, 以浓度为横坐标(x), 6 种农药待测物与内标物峰面积比值($A/A_{\text{内}}$)为纵坐标(y), 进行线性回归, 各残留农药在 $0.015\sim 0.75 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的回归方程和相关系数见表 4, 线性关系良好。

2.2.10 准确度试验 分别精密移取适量各农药待测物与内标物标准溶液, 移取“2.2.3”项下羊毛脂标准品溶液并稀释至刻度, 摇匀, 即得 80%,

100%, 120%供试品加样溶液。分别按照“2.2.1”项下分析方法进行 GPC 前处理, 注入气相色谱-质谱仪进行测定, 以 6 种农药待测物与内标物峰面积比值($A/A_{\text{内}}$)计算回收率。试验平行进行 6 次。二嗪农回收率为 90.49%, RSD 为 4.34%; 乙硫磷回收率为 104.02%, RSD 为 3.67%; 顺氯菊酯回收率为 98.32%, RSD 为 3.57%; 反氯菊酯回收率为 99.18%, RSD 为 2.91%; 氯氰菊酯回收率为 102.78%, RSD 为 3.17%; 溴氰菊酯回收率为 97.06%, RSD 为 3.11%。说明本法准确度良好。

2.2.11 样品测定 取 A1#、A2#、A3# 3 批羊毛脂样品按“2.2.4”项下方法配制样品溶液。将待测样品溶液分别按照“2.2.1”项下分析方法进行 GPC 前处理, 注入气相色谱-质谱仪进行测定, 记录峰面积和色谱图, 按照公式(3)计算, 含量计算结果见表 5, 供试品溶液的 GC 色谱图见图 3。

表 4 回归方程和相关系数结果
Tab. 4 Results of regression equations and correlation coefficients

名称	回归方程	相关系数
二嗪农	$y=0.2004x-0.0109$	0.9998
乙硫磷	$y=0.9161x-0.0385$	0.9999
顺氯菊酯	$y=0.6334x-0.0065$	0.9999
反氯菊酯	$y=0.6402x-0.0087$	0.9998
氯氰菊酯	$y=0.2879x-0.0088$	0.9998
溴氰菊酯	$y=0.1469x-0.0059$	0.9997

表 5 样品含量测定结果($n=3$)
Tab. 5 Results of sample content determination($n=3$)
 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

批号	二嗪农	乙硫磷	顺氯菊酯	反氯菊酯	氯氰菊酯	溴氰菊酯
A1#	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A2#	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
A3#	N.D.	N.D.	0.52	0.86	N.D.	N.D.

注: N.D.表示未检出。
Note: N.D. meant not detected.

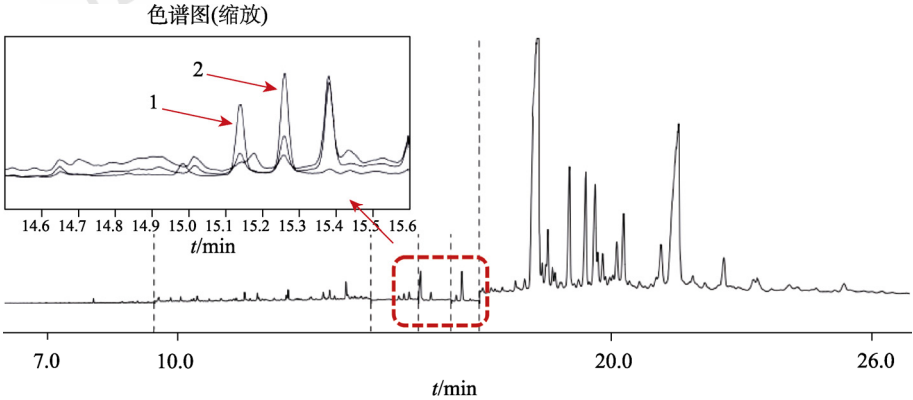


图 3 供试品 A3# GC-MS 色谱图
1-顺氯菊酯; 2-反氯菊酯。
Fig. 3 GC-MS chromatograms of A3# sample solution
1-cis-permethrin; 2-trans-permethrin.

$$X = \frac{C_1}{C} \times \frac{2 \times A' / A'_2}{5 \times A_1 / A'_1} \quad (3)$$

式中, X , 羊毛脂中各农药残留组分的含量, 单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; C , 羊毛脂样品的浓度, 单位为 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; C_1 , 混合标准溶液中各组分浓度, 单位为 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; A' , 样品溶液中测得的各组分峰面积; A'_2 , 样品溶液中苾-d12 内标的峰面积; A_1 , 混合标准溶液中各组分峰面积; A'_1 , 混合标准溶液中苾-d12 内标的峰面积。

3 讨论

3.1 前处理方法的建立

羊毛脂基质比较复杂, 为了能快速建立一个较为适用的前处理方法, 本研究参考了美国药典(USP) 2016 版“Modified Lanolin”和欧洲药典(EP) 2012 版“Wool Fat”项下的凝胶渗透色谱前处理方法。首先对羊毛醇标准溶液进行 GPC 前处理, 对流出的组分进行分段收集, 将收集到的组分浓缩后经 GC-FID 分析, 通过与标准溶液的色谱图对比, 逐步缩小收集范围, 确定在 63~133 mL 的收集范围内, 羊毛醇可以得到充分的洗脱和较好的回收率, 其次, 将羊毛脂样品溶液经 GPC 上样后, 收集 0~63 mL 流出组分于圆底烧瓶, 旋蒸浓缩至圆底烧瓶质量不再变化, 记录圆底烧瓶前后质量差, 计算羊毛脂回收率, 在 0~63 mL 的羊毛脂洗脱较为充分。

另外, 对 6 种农药混合标准溶液进行 GPC 前处理, 对流出的组分进行分段收集, 将收集到的组分浓缩后经 GC-MS 分析, 通过与混合标准溶液的色谱图对比, 逐步缩小收集范围, 确定在 130~400 mL 的收集范围内, 6 种农药待测物可以得到较为充分的洗脱和较好的回收率。其次, 收集经 GPC 处理后的羊毛脂样品溶液的 0~130 mL 的流出组分于圆底烧瓶, 旋蒸浓缩至圆底烧瓶质量不再变化, 记录圆底烧瓶前后质量差, 计算羊毛脂回收率, 在 0~130 mL 的羊毛脂洗脱较为充分。

因此最终确定了 63~133 mL 和 130~400 mL 收集体积内可以实现羊毛脂与游离羊毛醇和 6 种农药待测物的良好洗脱和富集效果, 以供进一步分析。

3.2 游离羊毛醇测定方法及结果分析

国内对于羊毛脂中羊毛醇的杂质前处理以及检测方法研究较少。USP 收录的“Modified Lanolin”品种下将 5 mL $0.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的样品溶液进行 GPC 前处理, 收集洗脱组分于 100 mL 量瓶后

定容。本研究建立的方法将 2 mL 同样浓度的样品溶液进行 GPC 前处理, 收集洗脱组分于圆底烧瓶, 精密移取 2 mL 溶剂洗瓶定容。相比 USP, 待测样品溶液的浓度提高了 20 倍, 浓缩倍数提高, 因此检测限更低, 更利于游离羊毛醇的检测。本研究建立了 GPC-GC/FID 方法, FID 检测器灵敏度高, 对于羊毛醇的检测下限可达到羊毛脂质量的 0.002%, 精密度和准确度高, 耐用性好。USP 中规定羊毛脂中游离羊毛醇的含量不得>6%, 在测定的 3 批羊毛脂样品中, 含量分别为 2.84%, 1.05% 和 1.22%, 均在限定值以下, 质量达标。

3.3 残留农药测定方法的分析

USP 中对于羊毛脂中有机磷农药和拟除虫菊酯类单种农药的最大限度为 $1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 总农药残留量不超过 $3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$; 相较而言, EP 中对于羊毛脂中的农药残留量限度更低, 限定单种有机氯农药残留量不得> $0.05 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 其他单个种类的农药残留量不得> $0.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 总农药残留量不得> $1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。测定的 3 批羊毛脂样品中有 1 批样品显示顺氯菊酯与反氯菊酯的含量超出限度, 需要注意此批羊毛脂后续使用对于接触者的健康影响。

区别于 USP 和 EP 标准方法中分别使用 FID 与 ECD 检测器分别测定有机磷和拟除虫菊酯类残留农药, 本研究采用 GC-MS 联用的方法快速地同时测定羊毛脂中 6 种残留农药。就灵敏度和抗羊毛脂基质的干扰性方面来说, 此方法定性定量准确度高, 灵敏度高, 对于单种农药检测限可达 ng 级别, 抗干扰能力强, 重复性和耐用性好。因此, 此方法可满足羊毛脂中 6 种有机磷和拟除虫菊酯类残留农药的检测需要。

REFERENCES

- [1] ZAKARIA EL-SAYED H E D, MOWAFI S, ABOU EL-KHEIR A, et al. A comprehensive critique on wool grease extraction, properties and applications[J]. Egypt J Chem, 2018, 61(6): 840-850.
- [2] WANG G Z. Study on the processes of separation of lanolin saponification resultants and extraction of cholesterol[D]. Sichuan: Sichuan University, 2004.
- [3] CHEN X L, LIN M, HU J, et al. Further develop the lanolin[J]. Huaxue Shijie Chem World(化学世界), 2000, 41(1): 8-12.
- [4] 曹钢, 陈安国, 李俐. 亚硫酸化羊毛脂加脂剂的合成与应用[J]. 中国皮革, 1992, 21(9): 27-31.
- [5] WANG L Q, XIA H R. Cosmetics application of wool grease and its derivatives[J]. Liaoning Chem Ind(辽宁化工), 2001,

30(4): 166-168.

- [6] 沈鸿, 张继明. 乳膏基质不同处方的筛选[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(9): 877.
- [7] FELLINGER C, HEMMER W, WANTKE F, et al. Severe allergic dermatitis caused by lanolin alcohol as part of an ointment base in propolis cream[J]. Contact Dermat, 2013, 68(1): 59-61.
- [8] NGUYEN J C, CHESNUT G, JAMES W D, et al. Allergic contact dermatitis caused by lanolin(wool) alcohol contained in an emollient in three postsurgical patients[J]. J Am Acad Dermatol, 2010, 62(6): 1064-1065.
- [9] RACHEL M. Diagnosis and prevalence of lanolin allergy: A prospective study[J]. J Am Acad Dermatol, 2013, 68(4): AB81.
- [10] KNIJP J, BRUYNZEEL D P, RUSTEMEYER T. Diagnosing lanolin contact allergy with lanolin alcohol and amerchol L101[J]. Contact Dermatitis, 2019, 80(5): 298-303.
- [11] WANG H. Study of chromatographic technology in the determination of pesticide residues in greasy wool[D]. Shanghai: East China Normal University, 2009.
- [12] LÓPEZ-MESAS M, CRESPI M, BRACH J, et al. Analysis of pesticides in lanolin by gel permeation chromatography and gas chromatography[J]. Analusis, 2000, 28(2): 159-162.
- [13] JOVER E, BAYONA J M. Trace level determination of organochlorine, organophosphorus and pyrethroid pesticides in lanolin using gel permeation chromatography followed by dual gas chromatography and gas chromatography-negative chemical ionization mass spectrometric confirmation[J]. J Chromatogr A, 2002, 950(1/2): 213-220.
- [14] NIU C E, XIONG L, YANG B H, et al. Determination of 4 pyrethroid pesticide residues in greasy wool based on gas chromatography[J]. J Text Res(纺织学报), 2013, 34(5): 1-6.
- [15] United States Pharmacopeia. Modified Lanolin[S]. 2016: 4781.
- [16] European Pharmacopeia. Wool fat[S]. 2012: 134.
- [17] 中国药典. 四部[S]. 2020: 662.

收稿日期: 2022-03-18
(本文责编: 李艳芳)