

中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留量的测定

万益群^{*1,2} 鄢爱平² 谢明勇¹

¹ (南昌大学食品科学教育部重点实验室, 南昌 330047) ² (南昌大学分析测试中心, 南昌 330047)

摘 要 建立了中草药中 11 种有机氯农药和 8 种拟除虫菊酯农药的残留气相色谱分析方法。样品用含 30% 丙酮的乙腈提取, 用正己烷进行液液分配, 提取液用弗罗里硅土柱净化, 采用兰州化物所的农残 号毛细管柱分离, 用 GC-ECD 同时检测。在两个水平添加时的回收率 ($n=5$) 分别为 78.6% ~ 119.7% 和 86.5% ~ 114.0%, 相对标准偏差分别为 3.6% ~ 8.7% 和 4.4% ~ 10.2%。该方法的检出限为: 有机氯农药 0.005 mg/kg, 拟除虫菊酯农药 0.01 mg/kg。方法用于江西中草药样品中农药残留测定, 结果满意。

关键词 有机氯农药, 拟除虫菊酯农药, 残留测定, 中草药

1 引言

我国约有 80% 的中药材来自人工栽培, 因此, 就很有可能使中药材受到农药的污染。所以, 加强中药中有机农药残留量检测方法研究十分必要。近年来, 国内虽有这方面的研究工作报道^[1~4], 但多集中在六六六、滴滴涕等有机氯农药的检测, 而其它类型农药检测方法研究较少。而对于拟除虫菊酯类农药残留量检测的研究, 主要集中在茶叶等食品中^[5,6], 对中药材中的残留研究的不多。本实验根据日本、东南亚、欧盟等国的食品中有关农药残留检测项目^[7], 建立了同时测定中药中多种农药残留量的方法, 取得了较好的效果。相对传统的分析方法^[8,9], 提高了分析速度, 简化了操作步骤, 节约了试剂。由于中草药的基体都有一定的颜色, 因此对农药残留量分析, 净化尤为重要, 可根据颜色的深浅, 调节净化柱中中性氧化铝的用量, 必要时可加少量活性炭。由于中草药成分较为复杂, 有可能对农药残留检测产生一定影响。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪 (美国 Agilent 公司), 配 ⁶³Ni-ECD 检测器; DS-1 高速组织捣碎机 (上海标本模型厂); DSY- 型自动快速浓缩仪 (北京金科精华苑技术研究所); RE-52A 旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂); TDL-5-A 低速大容量离心机 (上海安亭科学仪器厂); XK96-A 快速混匀器 (姜堰市新康医疗器械有限公司); AS20500A Ultrasonic Cleaner; α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、 p,p' -滴滴伊、 p,p' -滴滴涕、 o,p' -滴滴涕、 p,p' -滴滴滴、艾氏剂、狄氏剂、七氯、联苯菊酯、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、氟胺氰菊酯、溴氰菊酯等农药标准品 (以上标准品均由农业部环境保护科研监测所研制, 100 mg/L); 高氰戊菊酯 (德国 RDH 公司); 乙腈、正己烷、丙酮、乙醚、石油醚、氯化钠均为分析纯; 正己烷、石油醚、乙醚均须重蒸, 其中石油醚收集 67 ~ 69 馏分; 无水硫酸钠 (分析纯, 使用前 650 灼烧 4 h); Florisil (农残级, 使用前 650 灼烧 4 h 后转到 130 烘箱保持 5 h); 中性氧化铝 (农残级, 使用前 650 灼烧 4 h)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准工作储备液配制 称取高氰戊菊酯标准品 0.0100 g 于 100 mL 容量瓶内, 用石油醚溶解并稀释至刻度, 此溶液高氰戊菊酯浓度为 100 mg/L, 将 100 mg/L 的 α -六六六、 β -六六六、 γ -六六六、 δ -六六六、 p,p' -滴滴伊、 p,p' -滴滴涕、 o,p' -滴滴涕、 p,p' -滴滴滴、艾氏剂、狄氏剂、七氯、联苯菊酯、甲氰菊酯、三氟氯氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、氟胺氰菊酯、溴氰菊酯和高氰戊菊酯用石油醚配制而成。

2004-01-15 收稿; 2004-11-29 接受

本文系江西省自然科学基金资助项目 (No. 0420039)

0.5×10^{-6} 有机氯农药和 1.0×10^{-6} 拟除虫菊酯的混合标准工作储备液。

2.2.2 色谱条件 兰州农残 号毛细管柱, 25.0 m $\times$ 530 μ m $\times$ 1.00 μ m (膜厚)。色谱柱温度: 60 (2 min) $\xrightarrow{15^\circ/\text{min}}$ 270 (8 min); 检测器温度: 300 ; 进样口温度: 250 。载气为高纯 N_2 : 3 mL/min (恒流); 尾吹气 (高纯 N_2): 60 mL/min。进样量 1.0 mL; 定量方法: 峰面积外标法定量, 其中氯氰菊酯、氟胺氰菊酯的峰面积以各异构体的峰面积之和计。

2.2.3 样品提取 取市面上中药材样品自然阴干, 用组织捣碎机捣碎后过 0.45 mm 粒径筛, 称取粉碎样品 1.0 g 于 20 mL 离心试管中, 加 2 mL 含 30% 丙酮的乙腈溶液, 于快速混匀器上混匀, 超声提取 15 min, 加入 2 mL 5% 的氯化钠溶液, 混匀, 再加入 2 mL 正己烷提取液, 于快速混匀器混匀, 超声提取 15 min, 于 3600 r/min 离心 5 min, 小心移取上层有机相于 10 mL 刻度离心管中, 水相分别用 2 mL 正己烷重复提取一次, 合并有机相, 在快速浓缩仪上浓缩至 2 mL 左右。

2.2.4 提取液净化 层析柱自上而下装填 1 cm 无水硫酸钠, 1 g 中性氧化铝, 5 g 弗罗里硅土和 1 cm 无水硫酸钠, 用橡胶棒轻轻振击, 装填均匀, 用 20 mL 正己烷预淋洗层析柱后, 倒入浓缩液, 用含 20% 乙醚的正己烷洗脱, 每 min 1 ~ 2 mL, 共收集 30 mL 洗脱液, 于旋转蒸发仪减压浓缩至干, 用正己烷定容到 1.00 mL, 取 1.0 μ L 按 2.2.2 色谱条件进行测定。

3 结果与讨论

3.1 色谱柱的选择

本实验选取 DB-1701 毛细管柱和兰州化物所的农残 号毛细管柱对上述农药进行分离。结果表明, DB-1701 柱的分离效果较好, 但所需时间较长; 而兰州化物所的农残 号柱的分离效果比较满意 (见图 1), 并且所需时间较短。因此, 选择兰州化物所的农残 号毛细管柱进行色谱分离。

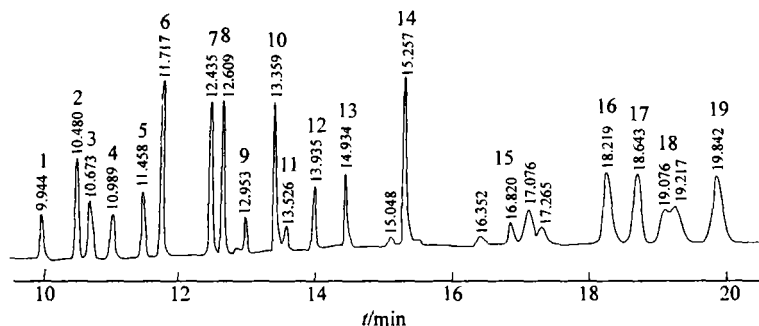


图 1 农药标准品色谱图

Fig 1 Chromatogram of pesticides standards

1. α -六六六 (α -benzenehexachloride); 2. γ -六六六 (γ -benzenehexachloride); 3. 七氯 (heptachlor); 4. 艾氏剂 (aldrin); 5. β -六六六 (β -benzenehexachloride); 6. δ -六六六 (δ -benzenehexachloride); 7. p, p' 滴滴伊 (p, p' -dichlorodiphenyl dichloroethane); 8. 狄氏剂 (dieldrin); 9. α, p' 滴滴涕 (α, p' -dichlorodiphenyl trichloroethane); 10. p, p' 滴滴涕 (p, p' -dichlorodiphenyl dichloroethane); 11. p, p' 滴滴涕 (p, p' -dichlorodiphenyl trichloroethane); 12. 联苯菊酯 (bifenthrin); 13. 甲氰菊酯 (fenpropathrin); 14. 三氟氯氰菊酯 (λ -cyhalothrin); 15. 氯氰菊酯 (cypermethrin); 16. 氰戊菊酯 (fenvalerate); 17. 高氰戊菊酯 (s -fenvalerate); 18. 氟胺氰菊酯 (T-fluvalinate); 19. 溴氰菊酯 (deltamethrin)。

3.2 提取方法的选择

3.2.1 索氏提取 称取 5.0 g 粉碎后的中草药样品, 添加 0.5 mL 混合标准储备液, 用 100 mL 丙酮-乙腈混合提取液加热回流 6 ~ 8 h, 浓缩至干, 用 10 mL 正己烷溶解残渣, 浓缩至 2 mL, 净化后用正己烷定容至 5 mL, 取 1 mL 按 2.2.2 色谱条件进行测定, 回收率为 80.8% ~ 112.3%, 但索氏提取用时较长, 消耗溶剂也较多。

3.2.2 均质提取 称取 1.0 g 粉碎后的中草药样品, 添加 0.1 mL 混合标准储备液, 加 2 mL 丙酮-乙腈

混合提取液均质提取 5 min,再加 2 mL 5% NaCl溶液和 2 mL 正己烷,均质提取 5 min,离心分离取出正己烷,水相分别用 2 mL 正己烷重复提取两次,合并正己烷提取液并浓缩至 2 mL,净化后用正己烷定容至 1 mL,取 1 mL 按 2 2 2 色谱条件进行测定,所得回收率为 87. 6% ~ 120. 7%,回收率较为稳定,但对于均质提取,清洗较为麻烦,且易造成交叉污染。

3 2 3 超声波提取 称取 1. 0 g 粉碎样品,添加 0. 1 mL 混合标准储备液,加 2 mL 含 30%丙酮的乙腈溶液,混匀,超声提取 15 min。加入 2 mL 5%的 NaCl溶液和 2 mL 的正己烷,混匀,超声提取 15 min后,于 3600 r/min离心 5 min,取出正己烷,水相分别用 2 mL 正己烷重复提取一次,合并正己烷提取液并浓缩至 2 mL,净化后用正己烷定容至 1 mL,取 1 mL 按 2 2 2 色谱条件进行测定,所得回收率为 78. 6% ~ 119. 7%,回收比较稳定,操作强度小,且试剂用量小,无交叉污染,故本文采用超声波提取。

3 3 标准曲线绘制

将混合标准储备液(0. 5 mg/L 有机氯农药 + 1. 0 ×mg/L 拟除虫菊酯农药)配制成 0. 005、0. 01、0. 05、0. 1、0. 2、0. 5 mg/L 的有机氯标准工作液和 0. 01、0. 02、0. 1、0. 2、0. 4、1. 0 ×10⁻⁶的拟除虫菊酯标准工作液,按选定的色谱条件进样,以吸收峰面积对浓度作标准曲线,得 19 种农药的线性方程及相关系数。有机氯农药在 0. 005 ~ 0. 5 mg/L 之间,拟除虫菊酯类农药在 0. 01 ~ 1. 0 mg/L 之间线性关系良好(见表 1)。

表 1 19 种农药线性方程及相关系数
Table 1 The linear equation and correlation coefficient

农药 Pesticides	线性方程 Linear equation	相关系数 Correlation coefficient
α六六六 α-Benzenehexachloride (α-BHC)	y = 109179x - 5094	0. 9992
γ六六六 γ-Benzenehexachloride (γ-BHC)	y = 102023x - 4229	0. 9983
七氯 Heptachlor	y = 837173x - 2376	0. 9989
艾氏剂 Aldrin	y = 707258x - 2162	0. 9990
β六六六 β-Benzenehexachloride (β-BHC)	y = 274734x - 714	0. 9996
δ六六六 δ-Benzenehexachloride (δ-BHC)	y = 541523x - 1075	0. 9994
p, p 滴滴伊 p, p 'Dichlorodiphenyl dichloroethene (p, p 'DDE)	y = 585040x - 1751	0. 9991
狄氏剂 Dieldrin	y = 591820x - 1807	0. 9998
α, p 滴滴涕 α, p 'Dichlorodiphenyl trichloroethane (α, p 'DDT)	y = 270935x - 1736	0. 9985
p, p 滴滴滴 p, p 'Dichlorodiphenyl dichloroethane (p, p 'DDD)	y = 526631x - 1252	0. 9998
p, p 滴滴涕 α, p 'Dichlorodiphenyl trichloroethane (p, p 'DDT)	y = 313257x - 2789	0. 9972
联苯菊酯 Bifenthrin	y = 118582x - 913	0. 9997
甲氰菊酯 Fenpropathrin	y = 153643x - 2692	0. 9990
三氟氯氰菊酯 λ-Cyhalothrin	y = 349552x - 6774	0. 9986
氯氰菊酯 Cypermethrin	y = 591820x - 1807	0. 9989
氰戊菊酯 Fenvalerate	y = 159958x - 3835	0. 9981
高氰戊菊酯 s-Fenvalerate	y = 252283x - 6886	0. 9987
氟胺氰菊酯 T-Fluvalinate	y = 245188x - 7960	0. 9958
溴氰菊酯 Deltamethrin	y = 127981x - 2620	0. 9979

3 4 方法回收率、精密度及检出限测定

在已知不含农药残留的白术样品中分别加入 1. 00 mL 和 100 μL 混合标准工作储备液,按选定方法提取、净化和检测,以峰面积计算各种农药在 2 种添加水平的回收率。重复实验 5 次,计算各种农药的平均回收率及相对标准偏差(见表 2)。逐渐降低添加农药混合标准工作储备液的体积,测定其回收率,有机氯农药添加在 0. 005 mg/kg 水平回收率为 89. 1% ~ 125. 4%;拟除虫菊酯农药在 0. 01 mg/kg 水平的回收率为 67. 3% ~ 87. 5%。由此得方法实际检出限有机氯农药均可达到 0. 005 mg/kg,菊酯类农药均可达到 0. 01 mg/kg,基本满足中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯类农药残留量的检测要求。

3 5 样品检测

将江西产的栀子、白术、丹参和板兰根等中药材用组织捣碎机捣碎过 0. 45 mm 粒径筛,准确称取一定量样品,按选定实验方法进行测定。根据峰面积外标法定量,计算样品中农药残留量,结果见表 3。从表中可以看出,由于有机氯农药的稳定性好,半衰期长,虽然在我国禁用已有近 20 年,但在上述 4 种

中药中仍有一定的残留 ,而拟除虫菊酯类农药在上述 4种中药种植过程中未发现大量使用。

表 2 回收率实验结果 (n = 5)
Table 2 Results of recovery tests (n = 5)

农药 Pesticides	0. 05 mg/kg有机氯农药 + 0. 1 mg/kg拟除虫菊酯农药 0. 05 mg/kg organochlorines + 0. 1 mg/kg pyrethroids		0. 5 mg/kg有机氯农药 + 1. 0mg/kg拟除虫菊酯农药 0. 5 mg/kg organochlorines + 1. 0 mg/kg pyrethroids	
	回收率 (%) Recovery	RSD (%)	回收率 (%) Recovery	RSD (%)
α六六六 α-BHC	119. 7	5. 37	98. 6	6. 23
γ六六六 γ-BHC	110. 5	3. 99	102. 4	5. 28
七氯 Heptachlor	90. 6	5. 69	103. 9	8. 27
艾氏剂 Aldrin	105. 6	7. 17	107. 5	4. 82
β六六六 β-BHC	112. 3	4. 69	92. 3	7. 15
δ六六六 δ-BHC	95. 4	8. 14	95. 8	6. 48
p, p 滴滴伊 p, p ʹDDE	95. 3	6. 17	100. 2	6. 23
狄氏剂 Dieldrin	95. 4	4. 69	97. 6	6. 90
α, p 滴滴涕 α, p ʹDDT	100. 7	5. 14	107. 4	4. 38
p, p 滴滴滴 p, p ʹDDD	95. 2	3. 64	96. 9	6. 29
p, p 滴滴涕 p, p ʹDDT	112. 1	8. 45	114. 0	5. 62
联苯菊酯 Bifenthrin	100. 7	4. 78	113. 6	7. 56
甲氰菊酯 Fenpropathrin	97. 6	4. 58	100. 9	6. 74
三氟氯氰菊酯 λ-Cyhalothrin	95. 8	6. 04	95. 5	4. 79
氯氰菊酯 Cypermethrin	113. 2	8. 73	102. 7	9. 97
氰戊菊酯 Fenvalerate	97. 8	5. 62	103. 4	7. 53
高氰戊菊酯 s-Fenvalerate	93. 4	5. 36	86. 5	6. 58
氟胺氰菊酯 ʹ-Fluvalinate	78. 6	8. 74	89. 8	10. 24
溴氰菊酯 Deltamethrin	90. 8	6. 12	96. 2	5. 24

表 3 中药中农药残留量测定结果 (mg/kg)
Table 3 Determination results of pesticide residues in Chinese herbal medicines (mg/kg)

农药 Pesticides	测定结果 Determination results(mg/kg)			
	栀子 <i>Fructus gardeniae</i>	白术 <i>Rhizoma atractylodi- s macrocephalae</i>	丹参 <i>Salvia miltiorrhizabunge</i>	板兰根 <i>Radix Isatidis</i>
α六六六 α-BHC	-	0. 007	0. 013	-
γ六六六 γ-BHC	-	-	-	-
七氯 Heptachlor	-	0. 076	-	0. 009
艾氏剂 Aldrin	0. 005	0. 213	0. 005	-
β六六六 β-BHC	0. 010	-	-	0. 009
δ六六六 δ-BHC	-	-	-	-
p, p ʹ- 滴滴伊 p, p ʹDDE	0. 020	-	-	-
狄氏剂 Dieldrin	-	-	-	-
α, p 滴滴涕 α, p ʹDDT	0. 007	0. 051	0. 012 -	-
p, p 滴滴滴 p, p ʹDDD	0. 011	0. 005	-	-
p, p 滴滴涕 p, p ʹDDT	0. 021	0. 028	0. 009	-
联苯菊酯 Bifenthrin	-	0. 01	0. 01	-
甲氰菊酯 Fenpropathrin	-	0. 02	-	-
三氟氯氰菊酯 λ-Cyhalothrin	-	-	-	-
氯氰菊酯 Cypermethrin	-	-	0. 10	-
氰戊菊酯 Fenvalerate	-	-	-	-
高氰戊菊酯 s- Fenvalerate	-	-	-	-
氟胺氰菊酯 ʹ- Fluvalinate	-	-	-	-
溴氰菊酯 Deltamethrin	-	-	-	-

注 (note): “ - ”表示未检出或小于方法检出限 (not detected or lower than limits of detection)

References

1 Cong Xiaodong(丛晓东), Li Ying(李 颖), Fang Wei(方 卫), Chen Bilian(陈碧莲), Yu Jianping(俞建平). *Journal of*

- China Pharmaceutical University* (中国药科大学学报), 1999, 30(2): 103 ~ 107
- 2 Zhang Shuming(张曙明), Guo Huaizhong(郭怀忠), Chen Jianmin(陈建民). *China Journal of Chinese Materia Medica*(中国中药杂志), 2000, 25(7): 402 ~ 405
- 3 Zhang Shuming(张曙明), Guo Huaizhong(郭怀忠), Chen Jianmin(陈建民). *Acta Pharmaceutica Sinica* (药学报), 2000, 35(8): 596 ~ 600
- 4 Gao Tianbing(高天兵), Zhang Shuming(张曙明), Tian Jingai(田金改). *Journal of Instrumental Analysis* (分析测试学报), 1999, 18(2): 6 ~ 8
- 5 Li Yongjun(李拥军), Huang Zhiqiang(黄志强), Dai Hua(戴 华), Zhang Ying(张 莹). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2002, 30(7): 865 ~ 868
- 6 Zhang Ying(张 莹), Huang Zhiqiang(黄志强), Li Yongjun(李拥军), Xiong Fang(熊 芳). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), 2002, 30(3): 377
- 7 Lin Weixuan(林维宣). *The Compilation of Residue Limits Standards for Pesticides and Veterinary Drugs in Foodstuffs in the World* (各国食品中农药兽药残留限量规定). Dalian (大连): Dalian Maritime University Press(大连海事大学出版社), 2003: 18 ~ 1225
- 8 Editorial Group of State Administration Commodity Inspection(国家商检局编写组). *The Comprehensive Compilation of Analysis for Foodstuffs, Vol 1* (食品分析大全 (第一卷)). Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社), 1997: 249 ~ 335
- 9 Fan Defang(樊德芳). *The Analysis and Determination of Pesticide Residues* (农药残留量分析与检测). Shanghai(上海): Shanghai Science Press(上海科学出版社), 1982

Determination of Organochlorine and Pyrethroid Pesticide Residues in Chinese Herbal Medicines

Wan Yiqun^{*1,2}, Yan Aiping², Xie Mingyong¹

(The Key Laboratory of Food Science of Ministry of Education¹, Center of Analysis and Testing²,

Nanchang University, Nanchang 330047)

Abstract A new method for multiresidue analysis of eleven organochlorines and eight pyrethroids in Chinese herbal medicines in Jiangxi province is proposed. Pesticide residues were extracted from Chinese herbal medicine samples with *n*-hexane followed by acetone-acetonitrile (3/7, V/V). Extracts were cleaned-up by alumina neutral-florisil column. Analytical screening was determined by gas chromatography using pesticide residue capillary column equipped with electron-capture detector. The recoveries obtained from Chinese herbal medicine samples ($n=5$) at two concentration levels were in the ranges of 78.6% ~ 119.7% and 86.5% ~ 114.0%, with relative standard deviations of 3.6% ~ 8.7% and 4.4% ~ 10.2%, respectively. Limits of detection were 0.005 mg/kg for organochlorines and 0.01 mg/kg for pyrethroids. A satisfactory result was obtained in the determination of organochlorines and pyrethroids in Chinese herbal medicines of Jiangxi province.

Keywords Organochlorine pesticide, pyrethroid pesticide, residue analysis, Chinese herbal medicine

(Received 15 January 2004; accepted 29 November 2004)