

中药材中 20 种农药残留的检测方法研究

何睿, 刘雪峰, 刘海静*

(1. 陕西中医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西省食品药品检验所, 陕西 西安 710061)

摘要 目的: 建立中药材中 20 种农药残留同时检测方法, 为中药材安全使用标准的建立提供科学依据。方法: 20 种农药残留同时检测方法中样品以丙酮超声提取, 并采用凝胶渗透色谱(GPC)的方法进行净化, 选用气相色谱-质谱串联技术(GC/MS)在 DB-17MS 毛细管柱上用程序升温技术分离, 采用选择离子检测方式, 以保留时间和特征离子进行目标成分的定性定量测定, 以内标法对样品进行测定。结果: 20 种农药可在 34 min 内完全分离, 工作曲线在 $10 \sim 1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内有良好的线性关系, 相关系数在 0.9970 ~ 0.9999 的范围内, 检测限为 $0.5 \sim 2.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 3 个水平添加回收率在 70% ~ 120% 之间, 相对标准偏差小于 11% ($n=9$)。结论: 本方法灵敏度高, 重现性好, 可用于中药材中 20 种农药的残留检测。

关键词: 中药材; 农药残留; 凝胶渗透色谱; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2011)11-2164-04

Research on determination of 20 kinds of pesticide residues in Chinese herbs

HE Rui, LIU Xue-feng, LIU Hai-jing*

(1. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Shanxi Institute For Food And Drug Control, Xian 710061, China)

Abstract Objective: To establish an analytical method for the simultaneously determination of 20 pesticide residues in traditional Chinese herbs. To offer the evidence for the standard of safety to use of traditional Chinese herbs.

Methods: The sample was extracted with acetone, and the extract was cleaned using GPC, concentrated using nitrogen blow. Based on GC/MS the pesticides were separated on a DB-17MS column using a temperature program and were detected with a mass selective detector in selective ion monitoring (SIM) mode. The target pesticides were identified by comparing their retention times and characteristic ions with reference, used the internal reference method to determination. **Results:** 20 Pesticides were separated within 34 minutes. Linearities of the 20 kinds pesticide were good ($r=0.9970-0.9999$) in ranges of $10-1000 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The minimum determination limited range is $0.5-2.4 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. The average spiked recoveries in three levels were 70% - 120% with relative standard deviation (RSD) below 11% ($n=9$). **Conclusion:** The method is sensitive for the residue analysis of 20 pesticides in traditional Chinese herbs.

Key words: Chinese traditional herbs; pesticide residue; GPC; GC/MS

目前, 我国农药产量居世界第一, 大面积使用农药对药材的安全使用日益突出, 上世纪八十年代开始我国逐渐建立了中药农药残留检测方法的研究。孔朝辉等^[1], 周燕^[2], 祝贺^[3], 袁兰^[4]等^[5]都曾对农药残留检测方法有过研究, 但我国目前一般只检测农药母体^[6], 而发达国家检测母体、代谢物、环境降解产物、工业品杂质等, 与国外发达国家还有一定差距。在 1972 年《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》中将 9 种有机氯类农药作为对人体最具危害的有

机化合物加以控制。《中国药典 2000 年版》一部对部分农药进行检测并加以控制。笔者采用 GC/MS 方法利用 GPC 进行分离净化, 对 20 种农药分别进行了检测。该方法操作简便, 准确性高, 干扰小, 能快速方便地对多种药材中农药残留情况进行测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 METTLER AE240 电子天平; KQ-250DE 型医用数控超声波清洗器(昆山市超声仪器

* 通讯作者 Tel/Fax: (029) 85363272; E-mail: liuhaijing1@163.com.cn

有限公司); Agilent GC-MS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪(美国), 色谱柱为 DB-17MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); LCTech GPC-1122 凝胶渗透色谱仪(德国), 填料为 Bio-Beads S-X3(200-400 目)。

1.2 对照品 敌敌畏, 乙酰甲胺磷, 四氯硝基苯, 六氯苯, α-六六六, 五氯硝基苯, γ-六六六, β-六六六, δ-六六六, 艾氏剂, 毒死蜱, 马拉硫磷, 环氧七氯, 腐霉利, pp'-DDE, OP'-DDT, PP'-DDD, PP'-DDT, 甲氧 DDT, 三氯杀螨砒均为 100 ppm 的丙酮溶液。以上对照品均购自国家标准物质研究中心和 Chem Service。

1.3 药材与试剂 中药材(人参、甘草、白芷、菊花、银杏叶)购于陕西药材市场; 所用丙酮为重蒸馏后使用, 乙酸乙酯、环己烷为农残级。

2 实验方法

2.1 对照品储备液的制备 精密称取上述各农药适量, 分别加丙酮溶解, 并稀释制成每 1 mL 含 100 μg 的溶液, 作为对照品储备溶液。

2.2 内标溶液的配制 精密称取三苯基磷酸酯适量, 加丙酮制成每 1 mL 含 10 μg 的溶液, 即得。

2.3 混合对照品溶液的制备 分别精密量取各农药对照品储备溶液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 用丙酮稀释至刻度, 摇匀, 作为混合对照品储备溶液 1000 μg · L⁻¹。分别精密量取适量, 加内标溶液一定量, 加乙腈制成含内标浓度为 200 μg · L⁻¹, 含各对照品为 10 ~ 1000 μg · L⁻¹ 不同浓度系列的混合对照品溶液, 即得。

2.4 样品处理 精密称取供试品粉末 10 g, 置 100 mL 锥形瓶中, 精密加入丙酮 100 mL, 超声 30 min; 提取液通过铺有少量无水硫酸钠的漏斗滤过, 滤液中加适量无水硫酸钠, 放置 30 min。精密量取提取液 40 mL, 减压浓缩至近干, 加入少量环己烷: 乙酸乙酯(1:1) 溶液溶解样品并定量稀释至 10 mL, 摇匀, 滤过, 滤液经凝胶渗透色谱(GPC) 净化, 进样 5 mL, (GPC 主要参数: 填料 Bio-Beads S-X3 200-400 目, 净化柱 2.5 mm × 40 cm, 洗脱参数: pre run 940 s, main run 1200 s, tail run 300 s), 以环己烷: 乙酸乙酯(1:1) 为流动相洗脱, 收集洗脱液, 减压浓缩至近干, 加少量乙腈, 加内标溶液 20 μL, 氮吹至近干, 加乙腈定容至 1 mL, 即得。

2.5 色谱分析条件 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) DB-17 MS, 载气为高纯氦气, 柱流速 1.3 mL · min⁻¹; 进样口温度为 230 °C, 高压

不分流进样。升温程序: 初始温度 60 °C, 以 30 °C/min 升至 120 °C, 以 10 °C/min 升至 200 °C, 以 2 °C/min 升至 230 °C, 以 30 °C/min 升至 300 °C, 保持 10 min。

EI 测定条件: 70 eV, 离子源温度 230 °C, 接口温度 250 °C。

3 实验结果

3.1 GPC 洗脱后的回收率试验 将提取后的滤液经凝胶渗透色谱(GPC) 净化, 计算 20 种农药 GPC 洗脱后的回收率, 结果见表 1, 20 种农药的总离子流见图 1。

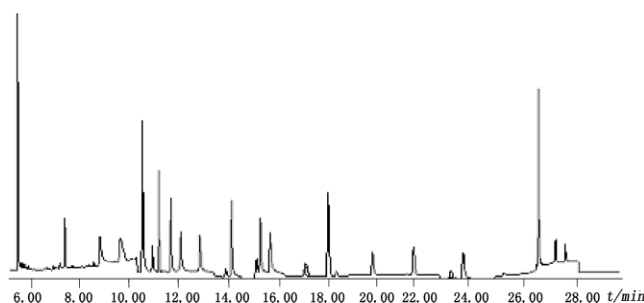


图 1 20 种农药的总离子流

Fig 1 20 kinds of pesticide TIC

3.2 线性关系考察 将浓度为 1000 μg · L⁻¹ 的农药混合标样逐级稀释为 5 ~ 1000 μg · L⁻¹ 的系列浓度, 用上述色谱条件进行气质分析, 以浓度(μg · L⁻¹) 为横坐标, 峰面积(A) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明在一定范围内, 标准曲线线性关系良好, 相关系数均 ≥ 0.9970, 结果见表 2。

3.3 检测限试验 分别以信噪比 3 倍作为指标, 考察 20 种农药的检测限(LOD), 结果表明在上述样品预处理方法和色谱条件下, 各农药的方法检测限(LOD) 在 0.5¹ ~ 2.4 μg · kg⁻¹ 之间, 结果见表 2。

3.4 精密度试验 取浓度为 1000 μg · L⁻¹ 的农药混合标样, 按以上气相色谱-质谱分析条件连续进样 6 次, 测定峰面积, 结果 RSD 均小于 3% (n = 6), 结果见表 2。

3.5 加样回收率试验 分别取上述中药材各 10 g, 以 250 ng, 1000 ng 和 2500 ng 三个添加水平进行回收试验, 计算 20 种农药回收率, 每个水平平行测定 3 次, 平行回收率和相对标准偏差 RSD (n = 9) 列于表 3。

4 讨论

4.1 人参, 白芷, 银杏叶 中均未检测出农药, 甘草中测出 α-六六六, 其含量是 20.91 μg · kg⁻¹, 菊花中测出 γ-六六六, 其含量是 32.83 μg · kg⁻¹。

表 1 20 种农药 GPC 洗脱后的回收率
Tab 1 20 kinds of pesticide recovery after the GPC elution

编号 (No.)	农药 (pesticide)	保留时间 (retention time) /min	定量、定性离子 (qualitative and quan titative ion) /m/z	对照品峰面积 (peak area of reference substance)	GPC 净化后峰面积 (GPC peak area after purification)	回收率 (recovery) /%
1	敌敌畏(dichlorvos)	5.50	109 185 79 145	944818	834085	88.28
2	乙酰甲胺磷(acephate)	8.82	136 94 95 126	565180	473274	83.74
3	四氯硝基苯(tecnazene)	9.66	261 203 215 178	266907	260555	97.62
4	六氯苯(hexachlorbenzene)	10.60	284 286 282 249	226144	215086	95.11
5	α -六六六(α -BHC)	11.06	219 181 221 111	458257	464673	101.40
6	五氯硝基苯(quintozene)	11.81	237 249 295 214	135888	116157	85.48
7	γ -六六六(γ -BHC)	12.24	219 181 109 79	513753	476660	92.78
8	β -六六六(β -BHC)	12.93	219 181 254	118838	102415	86.18
9	δ -六六六(δ -BHC)	14.04	219 181 217 254	116856	98498	84.29
10	艾氏剂(aldrin)	14.34	263 293 193 220	66205	55222	83.41
11	毒死蜱(chlorpyrifos)	15.53	314 286 258 197	242782	212216	87.41
12	马拉硫磷(malathion)	15.82	173 143 158 125	110841	97019	87.53
13	环氧七氯(heptachlor-epoxide)	16.89	353 355 351 263	233098	186385	79.96
14	腐霉利(procymidone)	18.34	283 285 255	257510	234926	91.23
15	PP'-DDE(p p'-DDE)	20.18	246 318 248 316	152270	137363	90.21
16	OP'-DDT(o p'-DDT)	23.37	235 165 199 237	496190	489194	98.59
17	PP'-DDD(p p'-DDD)	23.88	235 165 199 237	345032	312461	90.56
18	PP'-DDT(p p'-DDT)	25.55	235 165 199 237	501966	461156	91.87
19	甲氧 DDT(methoxychlor)	27.68	227 212 228	410980	385047	93.69
20	三氯杀螨砜(Tetradifon)	27.98	227 159 356 229	342741	328586	95.87

表 2 20 种农药的线性范围、回归方程、相对标准偏差、检出限及进样精密度

Tab 2 The linear range of 20 kinds of pesticides the regression equation ,
the relative standard deviation detection limit and precision injection

编号 (No.)	农药 (pesticide)	线性范围 (linear range) / $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	回归方程 (regression equation)	RSD /%	LOD / $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	RSD /%
1	敌敌畏(dichlorvos)	10 ~ 1000	$Y = 375.11X - 3820.20$	0.9999	2.4	1.65
2	乙酰甲胺磷(acephate)	10 ~ 1000	$Y = 707.61X - 2984.31$	0.9989	1.2	2.79
3	四氯硝基苯(tecnazene)	10 ~ 1000	$Y = 174.32X - 6151.73$	0.9993	2.3	2.80
4	六氯苯(hexachlorbenzene)	10 ~ 1000	$Y = 133.13X - 6044.80$	0.9970	2.4	2.68
5	α -六六六(α -BHC)	10 ~ 1000	$Y = 407.89X - 14320.52$	0.9991	1.4	3.00
6	五氯硝基苯(quintozene)	10 ~ 1000	$Y = 170.32X - 1654.19$	0.9985	0.5	2.68
7	γ -六六六(γ -BHC)	10 ~ 1000	$Y = 236.77X - 6508.95$	0.9990	1.8	2.50
8	β -六六六(β -BHC)	10 ~ 1000	$Y = 112.57X - 3353.15$	0.9996	1.2	2.74
9	δ -六六六(δ -BHC)	10 ~ 1000	$Y = 117.24X - 1710.78$	0.9989	1.0	2.65
10	艾氏剂(aldrin)	10 ~ 1000	$Y = 42.99X - 1282.82$	0.9997	1.2	2.87
11	毒死蜱(chlorpyrifos)	10 ~ 1000	$Y = 271.81X - 14117.51$	0.9992	2.2	1.92
12	马拉硫磷(malathion)	10 ~ 1000	$Y = 118.12X - 3818.26$	0.9999	2.4	2.83
13	环氧七氯(heptachlor-epoxide)	10 ~ 1000	$Y = 57.03X - 3449.25$	0.9997	2.3	2.88
14	腐霉利(procymidone)	10 ~ 1000	$Y = 196.11X - 16784.91$	0.9975	1.2	2.45
15	PP'-DDE(p p'-DDE)	10 ~ 1000	$Y = 42.31X - 1841.62$	0.9985	2.2	2.75
16	OP'-DDT(o p'-DDT)	10 ~ 1000	$Y = 254.06X - 18393.81$	0.9994	1.2	3.00
17	PP'-DDD(p p'-DDD)	10 ~ 1000	$Y = 467.75X - 1066.43$	0.9999	0.5	2.05
18	PP'-DDT(p p'-DDT)	10 ~ 1000	$Y = 660.48X - 7747.32$	0.9996	0.9	1.97
19	甲氧 DDT(methoxychlor)	10 ~ 1000	$Y = 301.61X - 5600.52$	0.9976	1.5	2.08
20	三氯杀螨砜(Tetradifon)	10 ~ 1000	$Y = 178.02X - 4951.18$	0.9993	2.5	2.76

表 3 20 种农药的回收率测定结果(%)
Tab 3 The recovery of 20 kinds of Pesticide residues

编号 (No.)	农药 (pesticide)	人参 (ginseng)		甘草 (licorice)		白芷 (angelica)		菊花 (chrysanthemum)		银杏叶 (ginkgo biloba)	
		回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
		(recovery)		(recovery)		(recovery)		(recovery)		(recovery)	
1	敌敌畏(dichlorvos)	98.94	9.73	83.00	4.75	83.37	4.90	94.92	21.74	102.89	5.52
2	乙酰甲胺磷(acephate)	74.94	9.63	98.14	3.08	66.24	9.30	72.21	8.40	75.21	8.26
3	四氯硝基苯(tecnazene)	106.49	8.19	93.75	3.22	105.41	4.32	95.77	10.14	76.19	10.6
4	六氯苯(hexachlorbenzene)	111.08	10.51	112.47	6.16	108.40	4.61	99.10	9.69	74.41	7.75
5	α -六六六(α -BHC)	109.23	8.82	110.70	5.32	76.36	3.60	77.17	10.75	92.88	15.4
6	五氯硝基苯(quintozene)	98.40	6.13	111.86	4.80	86.90	9.51	97.33	8.97	103.48	2.31
7	γ -六六六(γ -BHC)	105.62	4.35	75.44	6.49	77.68	6.37	96.65	6.50	70.82	3.86
8	β -六六六(β -BHC)	91.62	4.24	106.91	5.98	84.70	8.71	72.73	10.34	101.83	1.84
9	δ -六六六(δ -BHC)	95.76	6.09	108.23	6.08	88.57	8.63	101.71	9.22	105.33	2.05
10	艾氏剂(aldrin)	102.54	9.57	101.04	5.22	99.87	8.92	106.44	6.92	78.37	2.32
11	毒死蜱(chlorpyrifos)	99.12	3.18	113.44	4.54	89.52	8.74	97.92	7.13	100.21	2.86
12	马拉硫磷(malathion)	103.17	8.98	103.56	7.85	91.96	7.46	95.13	8.90	103.74	5.06
13	环氧七氯(heptachlor-epoxide)	102.94	8.28	109.41	7.27	105.8	88.03	83.25	8.33	105.82	2.94
14	腐霉利(procymidone)	103.43	6.84	116.8	93.33	94.83	7.68	107.72	6.12	91.62	1.13
15	PP'-DDE(p,p'-DDE)	101.28	9.79	114.80	6.44	103.76	7.44	94.32	9.16	106.38	3.76
16	OP'-DDT(o,p'-DDT)	102.91	9.16	89.50	6.26	86.39	8.80	103.27	10.33	102.73	2.45
17	PP'-DDD(p,p'-DDD)	100.15	5.24	111.74	3.72	96.66	8.14	104.15	8.66	105.2	2.07
18	PP'-DDT(p,p'-DDT)	96.75	3.59	115.03	2.43	92.97	5.27	101.90	7.95	97.68	2.95
19	甲氧 DDT(methoxychlor)	107.00	9.29	87.47	3.18	95.16	9.88	83.18	7.41	104.02	4.5
20	三氯杀螨砜(Tetradifon)	91.40	8.25	113.30	8.29	102.24	5.38	106.34	6.83	94.85	4.1

4.2 通过对根、茎、叶、花等植物药用部位利用 GPC 分离净化后通过 GC/MS 进行测定,与其它检测方法相比较具有操作简便、准确性高、干扰小等优点。Quches 法虽然快速,成本低,但一些农药回收率不稳定,而且净化效果略差,相比之下,本法较好。

4.3 在中药材的提取过程中应注意减压浓缩至近干的温度,因为部分农药的热稳定性较差,浓缩时温度不宜过高。对于一些含叶绿素及色素较多的中药材,在提取的过程中建议在 GPC 净化之后再使用石墨炭柱进行净化,以便达到较好的净化效果,但应注意回收率的考察。

4.4 通过本法在高低浓度的加标回收实验与其它检测方法相比较,可认为本研究的准确度和精密度较高,超过或与其它检测方法相当。

5 结论

本研究建立的 20 种农药同时测定的方法,灵敏度、准确度、精密度良好,又具有比其它检测方法更可靠的定性定量能力,适合在有条件的情况下推广。

参考文献

- 1 KONG Zhao-hui(孔朝辉),ZHANG Hui-fang(张慧芳). Study on development of pesticide residues in chinese traditional herbs(中药中

农药残留的研究进展). *Mod Prevent Med* (现代预防医学) 2008, 35(24): 4894

- 2 ZHOU Yi(周昱),LIN Li-yi(林立毅). GC and GC/MS determination of triadimefon residues in fruits(水果中三唑酮残留量的气相色谱和气相色谱-质谱分析). *J Anal Chem* (分析化学) 1997, 25(5): 500
- 3 ZHU He(祝贺),SONG Ai-hua(宋爱华),TIAN Yang(田洋) *et al.* GC/MS determination of 29 kinds of pesticide residues in Chinese herbs (GC/MS 法同时测定中药材中 29 中农药残留量). *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报) 2007, 24(6): 342
- 4 YUAN Lan(袁兰),CHEN Qiu-li(陈秋丽),WANG Ya-li(王雅丽) *et al.* CGC determination of residual for quintozone benzex isomer in Panax(毛细管气相色谱法测定人参中五氯硝基苯及六六六异构体残留量). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药) 1994, 25(10): 519
- 5 GU Li-hong(顾利红),ZHENG Qing-yuan(郑清源),QIAN Hao-quan(钱浩泉). SPE-GC-ECD determination of 20 organochlorine pesticides residue in Chinese medicinal products (SPE-GC-ECD 法测定中成药制剂中 20 种有机氯类农药残留量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志) 2008, 28(11): 1945
- 6 SNT 1957-2007 Test Method for Residual of Quintozone in Tradional Chinese Medicinal Materrials and Its Preparation Imports and Exports (出口中药材及其制品中五氯硝基苯残留量检测方法) GC/MS (气相色谱-质谱法)

(本文于 2011 年 4 月 7 日收到)