

# 不同产地黄芪中有机氯农药残留的分析

李辉, 吴虹\*, 沈晨, 陈缙筠

(安徽中医学院药学院, 安徽省中药研究与开发重点实验室, 合肥 230031)

**[摘要]** 目的: 比较研究不同产地黄芪药材中 9 种有机氯农药残留。方法: 随机抽取样品, 经有机溶剂超声提取、以浓硫酸磺化后, 采用不分流进样方式, 用 rtx-5 弹性石英毛细管柱(0.25  $\mu\text{m}$   $\times$  0.25 mm  $\times$  30 m) 经一次程序升温技术分离, 并用电子捕获检测器(ECD)检测, 外标法计算含量。结果: 最低检测限  $< 0.01 \times 10^{-6}$ ; 加样回收率为 86.9% ~ 105.0%, 甘肃、内蒙、山西等主产地黄芪有机氯农药残留远低于《中国药典》2010 年版一部规定要求。结论: 建立了一套简捷、可行性强的检测黄芪药材有机氯农药残留的分析方法。

**[关键词]** 毛细管气相色谱; 有机氯农药; 黄芪; 残留量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0131-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013100131

## Residues of Organochlorine Pesticides in Radix Astragali Samples from Different Field Origins

LI Hui, WU Hong\*, SHEN Chen, CHEN Jin-jun

(School of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230031, China)

**[Abstract]** **Objective:** To program a quality evaluation of organochlorine pesticides residue on *Radix Astragali* produced from different places. **Method:** Samples were extracted with mixed solvents by ultrasonic, then purified with sulfuric acid. The capillary column was rtx-5 (0.25  $\mu\text{m}$   $\times$  0.25 mm  $\times$  30 m), splitless injection and detected by ECD detector. **Result:** The detection limits were less than  $0.01 \times 10^{-6}$ , recoveries of organochlorine pesticides were 86.9% -105.0%. *Radix Astragali*. produced from Gansu, Neimeng, shanxi ect were more lower than the standard of pharmacopeia. **Conclusion:** A simple and handing analytical method to detect the organochlorine pesticides of *Radix Astragali*. has been established.

**[Key words]** capillary gas chromatography; organochlorine pesticides; Radix Astragali.; residue

中药农药残留已成为中药走向国际市场的瓶颈, 严重滞后了我国中药材现代化、国际化的步伐<sup>[1]</sup>。进行中药材 GAP 的规范化种植和管理十分迫切。建立农药残留量有效监测方法是实现 GAP 规范化种植和管理的一个很重要的方面。

有机氯农药是一类曾被世界各国广泛使用的高效广谱杀虫剂, 为神经毒物和实质脏器毒物, 具有致癌性。由于它稳定性高, 在禁用十多年后, 仍能在水域、土壤和生物体内找到残留<sup>[2]</sup>。药材和成药中检

测有机氯农药主要为六六六、滴滴涕及五氯硝基苯等几个品种<sup>[3]</sup>。我国已在 1983 年禁止使用六六六、滴滴涕等有机氯农药, 但是由于药材的种植期较长, 尤其是多年生的根类药材, 易受有机氯农药的污染<sup>[4]</sup>。因此监测中药材中有机氯农药残留, 了解农药残留水平和制定限量标准十分必要。

黄芪为豆科植物膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 和蒙古黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. Var. *mongholicus*

**[收稿日期]** 20120530(007)

**[第一作者]** 李辉, 硕士, 从事中药质量分析与评价方面研究工作, Tel: 15155112425, E-mail: xuxiaojia520@163.com

**[通讯作者]** \* 吴虹, 博士, 教授、硕士生导师, 从事中药药效物质、中药质量分析与评价方面研究工作, Tel: 13485606565, E-mail: wuhong6712@yahoo.com.cn

(Bge.) Hsiao. 的干燥根<sup>[5]</sup>, 主要分布于我国西北、华北和东北等地区, 为“补药之首”<sup>[6-7]</sup>, 其药性甘而微温, 归脾、肺经, 具有健脾补中、升阳举陷、益卫固表、利水消肿、托毒排脓、生肌等功效, 临床应用也十分广泛<sup>[8]</sup>。因此, 保证其质量对于临床安全有效地使用十分重要。

本实验改良了 2010 年版《中国药典》一部有机氯农药残留测定法, 对不同产地的黄芪中有机氯农药残留进行检测, 建立一套简捷、操作性强的分析方法。

### 1 材料

GC2014 型气相色谱仪, 63Ni ECD 型电子捕获检测器(日本岛津), rtx-5 型弹性石英毛细管柱, KQ-200KDB 型超声清洗机(昆山市超声仪器有限公司), RE-32AA 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

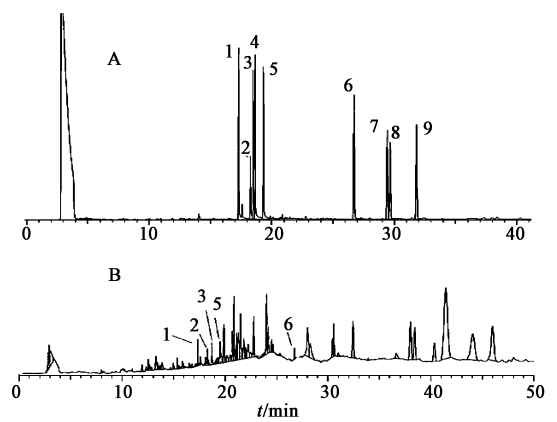
黄芪药材由安徽济人药业提供, 分别产自甘肃(武都、岷县、正宁)、内蒙古(固阳、阿荣旗、兴和)和山西(浑源、广灵、平顺)等地; 农药对照品溶液:  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, P, P'-DDE, P, P'-DDD, O, P'-DDT, P, P'-DDT, 五氯硝基苯(PCNB), 均购于国家标准物质销售中心, 批号分别为 GBW(E) 060081, GBW(E) 060082, GBW(E) 060083, GBW(E) 060084, GBW(E) 060104, GBW(E) 060105, GBW(E) 060102, GBW(E) 060103, GBW(E) 060617。其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** 弹性石英毛细管柱(0.25  $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ) rtx-5, 进样口温度 230  $^{\circ}\text{C}$ , 检测器温度 300  $^{\circ}\text{C}$ , 不分流进样, 程序升温, 初始 105  $^{\circ}\text{C}$ , 每分钟升 6  $\sim 230 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , 保持 15 min, 载气高纯  $\text{N}_2$  (99.99%), 流速 16.6  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在此色谱条件下, 混合对照品和供试品(内蒙固阳)中各农药的出峰顺序见图 1。

#### 2.2 对照品溶液的制备<sup>[5]</sup>

**2.2.1 混合对照品储备液的制备** 精密称取  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,  $\delta$ -BHC, PP'-DDE, PP'-DDD, OP'-DDT, PP'-DDT 及五氯硝基苯(PCNB) 农药对照品适量, 用石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 分别制成每毫升约含 4  $\sim 5 \mu\text{g}$  的溶液, 作为单标储备液。精密量取上述各单标储备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 用石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 稀释至刻度, 摇匀, 得每毫升分别含各成分 0.20  $\sim 0.25 \mu\text{g}$  的溶液, 即为混合对照品储备液。



A. 混合对照品; B. 供试品(内蒙固阳);  
1.  $\alpha$ -BHC; 2.  $\beta$ -BHC; 3.  $\gamma$ -BHC; 4. PCNB; 5.  $\delta$ -BHC;  
6. PP'-DDE; 7. PP'-DDD; 8. OP'-DDT; 9. PP'-DDT

图 1 对照品和供试品气相色谱

**2.2.2 混合对照品溶液的制备** 精密量取上述混合对照品储备液, 用石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 制成每升分别含 0, 1, 5, 10, 50  $\mu\text{g}$  的溶液, 即得。

**2.3 供试品溶液的制备<sup>[3]</sup>** 参考《中国药典》2010 年版一部制备方法: 取黄芪样品于 60  $^{\circ}\text{C}$  干燥 4 h, 粉碎成细粉, 取约 2 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加水 20 mL 浸泡过夜, 精密加丙酮 40 mL, 称定质量, 超声处理(40 kHz, 200 W) 30 min, 放冷, 再称定质量用丙酮补足减失的质量, 再加氯化钠约 6 g, 精密加二氯甲烷 30 mL, 称定质量, 超声处理 15 min, 再称定质量, 用二氯甲烷补足减失的质量, 静置, 将有机相迅速移入装有适量无水硫酸钠的 100 mL 具塞锥形瓶中, 放置 4 h。

精密量取 35 mL, 置 100 mL 圆底烧瓶中, 40  $^{\circ}\text{C}$  旋蒸浓缩至近干, 加少量石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 如前反复操作至二氯甲烷及丙酮除净, 用石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 溶解并转移至 10 mL 具塞刻度离心管中, 加石油醚(60  $\sim 90 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 精密稀释至 5 mL, 小心加入硫酸 1 mL, 振摇 1 min, 离心(3 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ) 10 min。精密量取上清液 2 mL, 置具刻度的浓缩瓶中, 连接旋转蒸发器, 40  $^{\circ}\text{C}$  旋蒸浓缩至适量, 精密稀释至 1 mL, 即得。

**2.4 线性与范围** 分别精密吸取 2.2.2 项下系列浓度混合对照品溶液 1  $\mu\text{L}$  注入气相色谱仪, 每个浓度平行测定 3 次, 以平均峰面积为纵坐标, 浓度为横坐标, 计算回归方程和相关系数。有机氯农药混合对照品溶液在 0  $\sim 50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  线性关系良好, 结果见表 1。

**2.5 精密度试验与稳定性试验** 取 50  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  混合对照液连续进样 6 次,  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC,

表1 有机氯农药线性回归方程

农药名称	回归方程	<i>r</i>
$\alpha$ -BHC	$Y = 1.8 \times 10^5 X$	0.997 9
$\beta$ -BHC	$Y = 1.0 \times 10^5 X$	0.999 5
$\gamma$ -BHC	$Y = 1.1 \times 10^5 X$	0.999 4
PCNB	$Y = 2.6 \times 10^5 X$	0.998 7
$\delta$ -BHC	$Y = 1.2 \times 10^5 X$	0.999 8
PP'-DDE	$Y = 1.6 \times 10^5 X$	0.999 3
PP'-DDD	$Y = 1.2 \times 10^5 X$	0.999 7
OP'-DDT	$Y = 1.1 \times 10^5 X$	0.999 8
PP'-DDT	$Y = 1.4 \times 10^5 X$	0.999 3

PCNB,  $\delta$ -BHC, PP'-DDE, PP'-DDD, OP'-DDT, PP'-DDT 峰面积值的 RSD (%) 均 < 3.0, 方法的精密度符合要求。再取  $50 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  混合对照液在 0, 6, 12, 24, 48 h 不同时间进样测定, 结果表明该溶液在 48 h 内稳定。

**2.6 重复性试验** 称取黄芪样品 2 g, 共 6 份, 按供试液方法制备, 照上述色谱条件测定, 计算药材中农药残留含量, 结果  $\alpha$ -BHC,  $\beta$ -BHC,  $\gamma$ -BHC, PCNB,  $\delta$ -BHC, PP'-DDE, PP'-DDD, OP'-DDT, PP'-DDT 农药残留含量的 RSD (%) 分别为 3.3, 3.0, 3.1, 2.5, 2.1, 3.1, 2.4, 3.3, 2.7, 结果表明该方法具有一定的重复性。

**2.7 方法的最低检出限** 按 2.3 项下制备不加黄芪药材制备空白样品溶液, 精密吸取空白样品溶液、有机氯农药混合对照品溶液 ( $1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )  $1 \mu\text{L}$  注入气相色谱仪, 测得 9 种有机氯农药的最低检测限均  $< 0.01 \times 10^{-6}$ 。

**2.8 加样回收率试验** 称取 9 份黄芪药材 (内蒙古固阳) 2 g, 分成 3 组, 每组分别按高、中、低 3 个浓度水平加入一定量的混合对照品溶液, 按照 2.3 项下方法制备供试品溶液。分别取  $1 \mu\text{L}$  注入气相色谱仪中, 测得含量并计算回收率。结果见表 2。

**2.9 样品测定** 将不同产地的黄芪药材随机抽取 3 批作为样品, 按 2.3 项下方法制备 9 份供试品溶液, 取  $1 \mu\text{L}$  注入气相色谱仪中, 每份供试品测定 3 次。结果分析见表 3。

### 3 讨论

2010 年版《中国药典》一部中有机氯农药残留测定法采用弹性石英毛细管柱 ( $0.25 \mu\text{m} \times 0.32 \text{mm} \times 30 \text{m}$ ) SE-54 (或 DB-1701), 经过 2 次程序升温 (初始  $100 \text{ }^\circ\text{C}$ , 每分钟升  $10 \sim 220 \text{ }^\circ\text{C}$ , 每分钟升  $8 \sim 250 \text{ }^\circ\text{C}$ , 保持 25 min), 实现各有机氯农药的分离测

表2 有机氯农药加样回收率试验

农药名称	样品中	对照品	测得量	平均	RSD
	含量	添加量	/ng	回收率	
	/ng	/ng		/%	/%
$\alpha$ -BHC	3.97	2.00	5.71	87.00	3.1
		4.00	8.10	103.25	5.0
		8.00	10.92	86.88	2.9
$\beta$ -BHC	4.01	2.00	5.90	94.50	5.4
		4.00	7.97	99.00	3.5
		8.00	12.08	100.88	3.9
$\gamma$ -BHC	1.99	2.00	3.86	93.50	5.1
		4.00	6.03	101.00	3.2
		8.00	9.88	98.63	6.1
PCNB	2.01	2.00	4.11	105.00	2.4
		4.00	6.05	101.00	5.2
		8.00	9.82	97.63	3.0
$\delta$ -BHC	4.01	2.00	6.03	101.00	2.9
		4.00	7.86	96.25	2.1
		8.00	11.96	99.38	5.5
PP'-DDE	1.98	2.00	3.98	100.00	6.0
		4.00	5.84	96.50	5.1
		8.00	10.05	100.88	5.6
PP'-DDD	0	2.00	1.94	97.00	1.9
		4.00	3.96	99.00	2.3
		8.00	8.01	100.13	4.5
OP'-DDT	0	2.00	1.99	99.50	2.1
		4.00	4.11	102.75	3.5
		8.00	7.97	99.63	2.0
PP'-DDT	0	2.00	2.05	102.50	5.2
		4.00	3.94	98.50	3.3
		8.00	7.90	98.75	3.8

定, 由于升温斜率变化较大, 导致色谱图基线不平, 从而影响定量的准确性。同时, 按这种条件, 需要提供较大的载气流速 (一般  $> 100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ), 不符合节能减排的要求。本实验一方面采用弹性石英毛细管柱 ( $0.25 \mu\text{m} \times 0.25 \text{mm} \times 30 \text{m}$ ) rtx-5, 分离效果有较大的改善; 另一方面, 只经过一次程序升温过程, 且升温梯度变化平缓, 色谱图基线平直, 定量准确性大大提高。同时流速较低, 在与药典法同等分离效力下, 载气消耗明显降低。

供试品溶液的制备参考 2010 年版《中国药典》一部方法, 提取方法比较了超声提取法和索氏提取法, 结果显示两者提取的效果没有明显差别。由于超声提取快速、简单, 故本实验采用超声提取。

由于溶剂的挥发导致测量的差异不可避免, 为了减少差异, 本实验所用到的溶液均现配现用和低

表 3 不同产地黄芪中有机氯农药的含量(ppb, n = 27)

产地	$\alpha$ -BHC	$\beta$ -BHC	$\gamma$ -BHC	PCNB	$\delta$ -BHC	PP'-DDE	PP'-DDD	OP'-DDT	PP'-DDT
甘肃武都	1.2	1.4	0.8	0.4	1.2	0.1	0.2	0.4	-
甘肃岷县	1.0	0.9	1.2	-	1.0	0.2	0.1	-	0.2
甘肃正宁	0.7	1.1	0.9	0.8	1.1	-	-	0.2	-
内蒙固阳	2.1	1.6	1.9	-	1.6	0.5	-	-	-
内蒙阿荣旗	1.6	2.4	1.5	2.5	1.9	1.2	-	0.2	0.1
内蒙兴和	1.8	1.8	1.6	2.1	2.3	1.6	0.5	-	0.3
山西浑源	2.9	2.7	3.5	1.2	1.9	1.1	0.6	0.3	-
山西广灵	2.7	3.2	3.0	0.6	2.3	0.7	-	0.3	-
山西平顺	3.1	2.7	2.5	0.4	2.0	1.2	-	0.5	-

温保存。溶液的稳定性是指在低温(4℃左右)下保存,48 h 稳定。

测定结果表明,在所选的样品中有机氯农药残留量都很低,远低于《中国药典》(2010年版)一部的规定<sup>[5]</sup>(总 BHC 不得过千万分之二;总 DDT 不得过千万分之二;PCNB 不得过千万分之一)。不同产地黄芪中有机氯农药残留量的差别较大,即使在一个省,不同地方产区也存在较大的产别。这种现象,一方面可能与当地的土壤、空气有关,另一方面也与黄芪的种植规范化程度有关。因此监测黄芪中有机氯农药残留对于保证其质量十分必要。

内蒙古阿荣旗和兴和的黄芪为野生黄芪,内蒙古固阳的是人工栽培品种;其他各产地的均为人工栽培品种。结果野生黄芪也存在有机氯农药残留,且比人工栽培品种高。由此可见,农药残留是一种及其稳定的污染,可以随生态随生态系统循环扩大和延长作用程度。实行 GAP 认证,科学的人工化种植可以降低这种残留污染,提高品种质量。

[参考文献]

[1] 何佩雯,赵海誉,杜钢,等. 气相色谱技术在中药农药

残留检测中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):126.

[2] 郝丽丽,薛健. 有机氯农药的多残留分析及其在中草药中的应用[J]. 中国中药杂志,2005,30(6):405.

[3] 杨健,李鹏跃,边宝林. 气相色谱法测定鲜地黄中有机氯类农药残留量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(2):28.

[4] 朱日然,瀚海洋,朱宗民. 黄芪中有机氯类农药残留量的毛细管气相色谱测定[J]. 齐鲁药事,2009,28(11):662.

[5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:283,附录 IXQ.

[6] 段立军,孙博航. 黄芪有效部位的复合型纯化工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(19):25.

[6] 韩亮,余楚钦,林华庆. UPLC-DAD 技术快速分析黄芪药材及制剂中主要黄酮成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):115.

[8] 周萍,周滢. 黄芪的不同配伍应用体会[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(10):275.

[责任编辑 顾雪竹]