

毛细管气相色谱法测定中药材中 19 种有机氯类农药残留

杨立新^{1,2}, 张永欣^{1,2}, 张启伟^{1,2}, 王智民^{1,2*}

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 中药质量控制技术国家工程实验室, 北京 100700)

[摘要] 目的: 建立中药材中 19 种有机氯农药残留的毛细管气相色谱分析方法。方法: 样品用醋酸乙酯超声提取并经串联 Carbon-GCB-Florisil 固相萃取柱净化, 以不分流进样方式, 用 DB-35 弹性石英毛细管柱, 程序升温 (柱初始 80 °C, 40 °C·min⁻¹ 升至 200 °C, 5 °C·min⁻¹ 升至 300 °C, 保持 2 min), 进样口温度 300 °C, 并用电子捕获检测器进行检测, 检测器温度 300 °C, 外标法计算含量。结果: 方法的平均回收率为 80.06% ~ 124.0%, RSD 3.5% ~ 10.7%。所测定的苦参、延胡索、菊花、钩藤、郁金 5 种中药材均含有不同程度的农药残留。结论: 该方法快速、简便、准确, 适用于中药中有机氯类农药残留的检测。

[关键词] 中药材; 有机氯农药; 毛细管气相色谱法; 电子捕获检测器

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0096-04

Detection and Determination of 19 Organochlorine Pesticide Residues in Chinese Herbal Medicines by Capillary Gas Chromatography

YANG Li-xin^{1,2}, ZHANG Yong-xin^{1,2}, ZHANG Qi-wei^{1,2}, WANG Zhi-min^{1,2*}

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

2. National Engineering Laboratory for Quality Control Technology of Chinese Herbal Medicines, Beijing 100700, China)

[Abstract] **Objective:** To develop a capillary gas chromatographic method for detection and determination of 19 organochlorine pesticide residues in Chinese herbal medicines. **Method:** Sample was extracted with ethyl acetate using an ultrasonic bath, and cleaned up with solid phase extraction cartridges, Carbon-GCB-Florisil in series. Analysis was carried out on a fused silica capillary column (DB-35, 0.53 mm × 30 m, 0.25 μm film). The temperature program was as follows: initial temperature at 80 °C, the 40 °C·min⁻¹ to 200 °C, then 5 °C·min⁻¹ to 300 °C, and kept for 2 min. The injection port temperature was set at 300 °C. The injection mode was splitless. The temperature of electron capture detector was set at 300 °C. The content was calculated with external standard method. **Result:** The average recoveries of 19 organochlorine pesticides were from 80.06% to 124.0%, and RSD values were from 3.5% to 10.7%. The content of the organochlorine pesticides in five Chinese herbal medicines, Uncariae Ramulus Cuneus, Chrysanthemi Flos, Sophorae Flavescentis Radix, Corydalis Rhizoma and Curcumae Radix, was determined. **Conclusion:** The method was simple, fast, accurate, and can be used for detection and determination of organochlorine pesticide residues in Chinese herbal medicines.

[Key words] Chinese herbal medicines; organochlorine pesticide; capillary gas chromatography; electron capture detector

[收稿日期] 20120830(504)

[基金项目] 重大新药创制项目(2009ZX09301-005; 2009ZX09308-003); 中药质量控制技术国家工程实验室资助课题(2009ZX09308-003); 中国中医科学院自主课题(Z02063)

[第一作者] 杨立新, 副主任技师, 从事中药质量标准研究, Tel: 010-84042451, E-mail: ayblcx@126.com

[通讯作者] * 王智民, 研究员, Tel: 010-84014128, E-mail: zhmw123@263.net

有机氯类农药是一类高效广谱杀虫剂,在我国虽已禁用20余年,但其挥发性低,化学性质稳定,不易分解,在土壤中残留时间长,而且在人体内可引起积蓄性中毒,因此,中药材中有机氯类农药残留量的监控与检测越来越受到关注。中药材本身化学成分复杂,其中很多化学成分的极性 or 相对分子质量大小,都与待测有机氯类农药成分接近,均可造成对有机氯农药残留测定极难排除的干扰,故选择一个能够尽可能多的除去干扰杂质,又避免待测有机氯类农药成分损失的样品前处理方法显得尤为重要。《中国药典》^[1] 记载的有机氯农药残留量测定方法,通过磺化反应,有效的去除植物性成分中色素、油脂类的干扰,净化效果好,适用于一些对酸稳定的六六六、滴滴涕类的农药测定,但对狄氏剂、异狄氏剂等对酸不稳定的农药有破坏作用,因此该方法的使用受到了一定的限制。目前中药农药残留测定常用的样品前处理方法有磺化法及固相萃取法^[2-13]。本文采用串联固相萃取小柱净化,GC-ECD法对中药中19种有机氯农药进行测定。由于异狄氏剂类成分在检测过程中易分解为异狄氏剂醛和异狄氏剂酮,本方法对这两种成分进行了测定。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 7890A型气相色谱仪,自动进样器,ECD检测器。Florisil固相萃取柱、Carbon-GCB固相萃取柱(Supelco公司),KQ-300DA型数控超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司),LABOROTA4003型旋转蒸发仪。

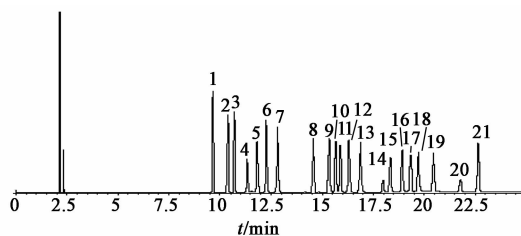
1.2 试剂 正己烷、醋酸乙酯、石油醚、丙酮均为农残级(CNW Technologies GmbH)。

农药对照品:五氯硝基苯及20种农药混标,六六六包括 α -BHC, β -BHC, γ -BHC和 δ -BHC4种异构体;滴滴涕包括pp'-DDE,pp'-DDD,pp'-DDT3种同系物;艾试剂,七氯,环氧七氯,异狄氏剂,狄氏剂,顺硫丹,反硫丹,异狄氏剂醛,异狄氏剂酮,硫丹硫酸酯,甲氧滴滴涕,均购自Dr Ehrenstorfer GMBH,标示纯度均 $<98\%$ 。苦参、延胡索、菊花、钩藤、郁金5种中药材均为市售。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 DB-35弹性石英毛细管柱(0.53 mm \times 30 m,0.25 μ m),升温程序,初始温度80 $^{\circ}$ C,40 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升至200 $^{\circ}$ C,5 $^{\circ}$ C \cdot min⁻¹升至300 $^{\circ}$ C,保持2 min;载气高纯氮气($>99.99\%$),载气流速1.0 mL \cdot min⁻¹,恒流方式;进样器温度300 $^{\circ}$ C,检测器温度300 $^{\circ}$ C,尾吹气30 mL \cdot min⁻¹;进样量1 μ L。进样

方式为不分流进样。见图1。



1. α -六六六; 2. 五氯硝基苯; 3. γ -六六六; 4. β -六六六;
5. 七氯; 6. δ -六六六; 7. 艾试剂; 8. 环氧七氯; 9. 反氯丹;
10. 顺氯丹; 11. 硫丹 I; 12. pp'-DDE; 13. 狄氏剂; 14. 异狄氏剂;
15. pp'-DDD; 16. 硫丹 II; 17. pp'-DDT; 18. 异狄氏剂醛
19. 硫丹硫酸酯; 20. 甲氧滴滴涕; 21. 异狄氏剂酮

图1 21种农药对照品的GC色谱

2.2 供试品溶液的制备 取样品粉碎,过4号筛,取约2 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入醋酸乙酯20 mL,密塞,称定质量,超声(250 W, 50 kHz)提取30 min,取出,放至室温,再称定质量,用醋酸乙酯补足减失的质量,摇匀,滤过。精密吸取续滤液10 mL,于40 $^{\circ}$ C以下减压蒸至近干,残渣加醋酸乙酯1 mL使溶解,通过Carbon-GCB-Florisil串联固相萃取柱,用丙酮-石油醚(1:9)混合溶液10 mL进行洗脱,收集洗脱液,于40 $^{\circ}$ C以下减压蒸至近干,精密加正己烷1 mL使溶解,即得。

2.3 对照品溶液及标准曲线的制备 分别精密称取上述21种对照品适量,加正己烷制成每1 mL各约含4 μ g的对照品储备液,精密量取上述混合对照品储备液用正己烷梯度稀释成每1 mL含1,4,8,40,100 ng的混合对照品溶液。按2.1项下,分别精密吸取1 μ L注入气相色谱仪,测定各成分峰面积。以对照品浓度($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标(X),对照品峰面积为纵坐标(Y),绘制标准曲线,各成分的回归方程见表1,线性范围为1~200 $\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$,其相关系数在0.9956~0.9999,线性关系良好。

2.4 精密度试验 取同一混合对照品溶液(40 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$),连续进样6次,得到21种农药峰面积的RSD 0.9%~2.0%。

2.5 检测限及定量限 取2.3项下对照品混合溶液,用正己烷依次稀释,进样测定,直至信噪比约为10,3时的浓度。上述21种成分的检测限和定量限见表1。

2.6 稳定性试验 取同一混合对照品溶液,在0,2,4,6,24 h分别进样1 μ L,测定各成分的峰面积,计算得各成分峰面积的RSD 1.5%~3.6%,结果表明,溶液在24 h内基本稳定。

表 1 21 种有机氯的回归方程、相关系数

成分	回归方程	相关系数	检测限 /ng·L ⁻¹	定量限 /ng·L ⁻¹
α-BHC	Y = 525.5X - 754.1	0.999 8	0.073 9	0.305
五氯硝基苯	Y = 435.0X + 11.28	0.999 9	0.004 78	0.094 7
γ-BHC	Y = 465.5X - 600.9	0.999 8	0.091 6	0.333
β-BHC	Y = 214.8X - 383.2	0.998 9	0.093 3	0.359
七氯	Y = 343.5X - 786.5	0.999 4	0.060 8	0.256
δ-BHC	Y = 441.0X - 569.7	0.999 8	0.076 9	0.330
艾试剂	Y = 465.8X - 536.4	0.999 8	0.062 52	0.281
环氧七氯	Y = 406.5X - 348.1	0.999 8	0.067 8	0.294
反氯丹	Y = 417.8X - 378.6	0.999 8	0.0721	0.314
硫丹 I	Y = 397.5X - 290.9	0.999 8	0.0763	0.295
顺氯丹	Y = 377.8X - 327.7	0.999 8	0.072 2	0.298
pp'-DDE	Y = 401.7X - 586.0	0.999 8	0.074 2	0.308
狄氏剂	Y = 401.7X - 585.9	0.999 8	0.063 9	0.238
异狄氏剂	Y = 105.1X - 589.3	0.995 6	0.202	1.703
pp'-DDD	Y = 270.6X - 317.6	0.999 8	0.092 1	0.433
硫丹 II	Y = 347.1X - 393.5	0.999 8	0.003 92	0.023 6
pp'-DDT	Y = 302.4X - 636.8	0.999 6	0.095 5	0.389
异狄氏剂醛	Y = 358.9X - 303.8	0.999 8	0.006 11	0.039 8
硫丹硫酸酯	Y = 339.6X - 402.7	0.999 8	0.082 8	0.342
甲氧滴滴涕	Y = 101.9X - 284.6	0.999 2	0.023 0	1.438
异狄氏剂酮	Y = 417.9X - 640.2	0.999 7	0.075 8	0.321

2.7 加样回收率试验 精密称取已知含量的同一批样品(苦参)1.0 g,分别加入 20,80,200 ng·L⁻¹的混合对照品,每个浓度 3 份,照 2.2 项下操作,进样分析,计算回收率。结果平均回收率 80.1% ~ 124.0%,结果表明,本方法准确度良好。见表 2。

2.8 样品测定 对收集的市售苦参、延胡索、菊花、钩藤、郁金 5 种中药材按上述方法测定,结果见表 3。

3 讨论

中药所含成分复杂,农残测定干扰很大,因此对样品前处理提出很高要求。试验中选用 SPE-C₁₈, SPE-C₈, Carbon-GCB, Florisil 等固相萃取小柱进行样品前处理,结果表明 Carbon-GCB 与 Florisil 串联,以丙酮-正己烷(1:9)混合溶液洗脱 10 mL 效果最好。

对 DB-1, DB-35, DM-1701 不同极性的色谱柱进行比较,结果 DB-35 对 19 种有机氯农药和 2 种降解成分分离效果较好。

样品测定结果表明 5 种中药均检出不同程度的

表 2 21 种有机氯的平均回收率

No	成分	平均回收率/%
1	α-BHC	86.6
2	PCNB	102.3
3	γ-BHC	122.4
4	β-BHC	91.9
5	七氯	122.7
6	δ-BHC	105.2
7	艾试剂	90.9
8	环氧七氯	90.1
9	反-氯丹	81.8
10	硫丹 I	98.4
11	顺-氯丹	106.0
12	PP'-DDE	94.0
13	狄试剂	106.4
14	异狄试剂	106.1
15	PP'-DDD	105.7
16	硫丹 II	106.2
17	PP'-DDT	108.9
18	异狄试剂醛	80.06
19	硫丹硫酸酯	124.0
20	甲氧滴滴涕	89.07
21	异狄试剂酮	113.4

表 3 5 种中药材中农药残留的测定(n=2) μg·kg⁻¹

成分	苦参	菊花	延胡索	钩藤	郁金
α-BHC	-	4.2	-	-	-
PCNB	3.7	-	-	-	-
γ-BHC	-	3.1	11.8	3.1	-
β-BHC	12.8	-	-	-	11.4
七氯	-	7.7	-	-	-
δ-BHC	6.2	10.6	9.0	-	-
艾试剂	-	-	2.7	-	-
PP'-DDE	-	13.3	-	-	-
PP'-DDD	-	-	-	8.9	-
PP'-DDT	-	4.2	-	-	-
异狄试剂醛	-	4.5	-	-	-
异狄试剂酮	6.5	4.8	-	17.3	-

注: - 表示未检出。

农药残留,但均未超过药材的限量标准。为防止出现假阳性,用质谱进行了进一步确定。

在 5 种药材中均未检出异狄试剂,但在苦参、菊花和钩藤中检出了异狄试剂的降解产物异狄试剂醛

HPLC 测定大血藤药材中绿原酸的含量

丁越, 张永, 丁文平*, 张彤, 陶建生, 荣蓉
(上海中医药大学, 上海 201203)

[摘要] 目的: 建立大血藤药材中绿原酸的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, Diamonsil ODS-C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相乙腈-4% 磷酸水(11:89), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 327 nm, 柱温 25 °C。结果: 绿原酸在 0.000 102 ~ 0.010 2 mg 线性关系良好。加样回收率为 102.4%, RSD 1.7% (n=6)。结论: 采用 HPLC 测定大血藤药材中绿原酸的含量, 样品处理方法便捷, 测定方法简单, 结果准确可靠, 可用于大血藤饮片、大血藤制剂的质量控制。

[关键词] 绿原酸; 高效液相色谱法; 含量测定; 大血藤

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)04-0099-04

Determination of Chlorogenic Acid in *Sargentodoxa cuneata* by High Performance Liquid Chromatography

DING Yue, ZHANG Yong, DING Wen-ping*, ZHANG Tong, TAO Jian-sheng, RONG Rong
(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the determination method of chlorogenic acid in *Sargentodoxa*

[收稿日期] 20120104(022)

[基金项目] 上海市科委资助项目(09dZ1975500); 上海市人才发展基金项目(20111015); 上海市教委基金项目(10SG40, J50302)

[第一作者] 丁越, 高级实验师, 博士在读, 从事中药制药技术与中药制剂研究, Tel: 13564146474, E-mail: dingyue-2001@hotmail.com

[通讯作者] * 丁文平, 副主任药师, 从事中药学质量控制研究, Tel: 13901853669, E-mail: dingwp08@163.com

和异狄试剂酮, 因此这两个指标的检测是有必要的。

[参考文献]

[1] 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; 附录 57.

[2] 朱宝安, 蒋木庚, 金林红, 等. 毛细管气相色谱法分析中药半夏中有机氯农药的残留[J]. 农药, 2004, 43(2): 92.

[3] 祝贺, 宋爱华, 田杨, 等. GC-MS 法同时测定中药材中 29 种农药残留量[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(6): 342.

[4] 吴剑威, 徐荣, 赵润怀, 等. QuEChERS-气相色谱法快速检测五十种中药材中九种有机氯农药残留的方法研究[J]. 分析科学学报, 2011, 27(2): 167.

[5] 郑征伟, 毛秀红, 苗水, 等. 气相色谱双塔双柱法同时测定中药材中 56 种有机氯类及拟除虫菊酯类农药残留量[J]. 药科学报, 2010, 45(3): 353.

[6] 郭青, 吕霞, 谭力, 等. 固相萃取 GC-ECD 法同时测定中药材中 5 种中药材中 26 种有机氯和拟除虫菊酯农药残留量[J]. 中国天然药物, 2009, 7(3): 210.

[7] 李耿, 杨洪军, 边宝林. 中药农药残留的研究现状评述[J]. 中国实验方剂学杂志, 2005, 11(4): 71.

[8] 荣维广, 郭华, 杨红. 我国中药材农药残留污染研究现状[J]. 农药, 2006, 45(5): 302.

[9] 苗水, 陆继伟, 郑征伟, 等. 气相色谱-质谱联用法同时测定中药材中 53 种农药残留方法[J]. 中国药学杂志, 2010, 45(16): 1263.

[10] 赫丽丽, 薛健. 银杏叶中 18 种有机氯农药的多残留分析[J]. 分析化学, 2006, 34(2): 231.

[11] 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(12): 28.

[12] 刘童, 王永林, 王爱民, 等. 荜苳药材中 12 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 47.

[13] 曾小星, 万益群, 谢明勇, 等. 气相色谱-电子捕获检测器同时测定茶叶中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留[J]. 分析科学学报, 2008, 24(6): 636.

[责任编辑 顾雪竹]