

荭草药材中 12 种有机氯及拟除虫菊酯农药残留分析

刘童, 王永林, 王爱民, 兰燕宇*

(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立荭草中 12 种有机氯和拟除虫菊酯的固相萃取-毛细管气相色谱的分析法。方法: 样品以正己烷-丙酮为提取剂, 采用超声提取, Florisil 固相萃取柱净化。采用 HP-5 弹性石英毛细管色谱柱(0.32 mm ×30 m, 0.25 μm) 程序升温, 电子捕获检测器检测, 内标法定量。结果: 12 种农药能在 31min 内获得良好分离, 9 种有机氯农药标准品在 1 ~200 μg·L⁻¹, 3 种拟除虫菊酯在 5 ~1 000 μg·L⁻¹ 线性关系良好, 相关系数(*r*) 均大于 0.996, 低、中、高 3 个添加水平的回收率分别为 82.0% ~104.4%, 79.1% ~106.8%, 82.1% ~106.4%, 相对标准偏差(RSD) 为 0.2% ~7.9%, 0.8% ~6.1%, 0.7% ~6.1%, 检出限为 0.15 ~13 μg·kg⁻¹。对 15 个批次的样品测定结果均未检出有机氯及拟除虫菊酯农药残留。结论: 本方法简便快速, 适合荭草中痕量的有机氯及拟除虫菊酯农药残留的同时测定。

[关键词] 荭草; 有机氯及拟除虫菊酯; 农药残留

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2010)18-0047-03

Analysis of 12 Organochlorine and Pyrethroid Pesticide Residues in Polygonum Orientale

LIU Tong, WANG Yong-lin, WANG Ai-min, LAN Yan-yu*

(School of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** The solid phase extraction and capillary gas chromatography were introduced for determining 12 organochlorine and pyrethroid pesticide residues in polygonum orientale. **Method:** The organochlorine and pyrethroid pesticides were extracted with n-hexane and acetone by ultrasonic method and cleaned up by Florisil solid-phase extraction (SPE) column. Then, the extract was separated by capillary column HP-5 (0.32 mm ×30 m, 0.25 μm) and detected by (electron capture detector, ECD). The internal standards were used for quantitative determination. **Result:** A mixed standard solution prepared from primary standards of 9 organochlorine and 3 pyrethroid pesticide. The calibration curve for each of 12 organochlorine and pyrethroid pesticide was prepared covering the concentration ranges of 1 to 200 or 5 to 1 000 μg·L⁻¹. The average recoveries and RSD were in the range of 82.0% -106.8% and 0.2% -7.9% at three organochlorine and pyrethroid pesticides levels respectively. The limits of detection were 0.15-13 μg·kg⁻¹. There were no organochlorine and pyrethroid pesticide detected in 15 batches samples. **Conclusion:** This method was effective, fast and accurate. It has good repeatability and suitable for the analysis of organochlorine and pyrethroid pesticide in polygonum orientale.

[Key words] polygonum orientale; organochlorine and pyrethroid; pesticide residues

[收稿日期] 20100626(022)

[基金项目] 国家科技重大专项重大新药创制项目(2008ZX09101-021); 国家自然科学基金项目(30860366); 贵州省科技重大专项项目(黔科合重大专项字[2007]6010号)

[通讯作者] * 兰燕宇, Tel: 13809470100

有机氯农药曾经被广泛使用, 其化学性质稳定, 在环境中难以进行化学和生物降解, 残效期长, 有生物蓄积作用, 在我国从 1980 年开始禁用, 但至今仍存在于自然界中, 可通过食物途径对人类造成危害。作为有机氯农药的替代品之一, 拟除虫菊酯类农药在农业生产中得到了广泛应用, 这类农药施用量较

小、易生物降解、残留期较短,对病菌、害虫、杂草等具有很强的杀伤作用,但该类农药也有一定的蓄积性,部分对人有致畸、致突变作用^[1]。

荭草药材为蓼科植物荭草 *Polygonum orientale* L. 的干燥果穗及带叶茎枝,收载于《贵州省中药材、民族药材质量标准》2003 年版,具有清热解毒,祛风除湿,活血消肿,临床用于风湿性关节炎,冠心病,心胃气痛等症^[2]。以荭草为主药研制的治疗心血管疾病的注射剂获国家食品药品监督管理局批准并已完成了 1 期临床研究,同时以荭草为主药研制治疗心血管疾病的荭叶心通软胶囊也获国家食品药品监督管理局批准进入临床研究。目前还没有对荭草的农药残留进行研究的文献报道,基于提高荭草药材及制剂安全性的目的,本文建立了对荭草药材进行有机氯及拟除虫菊酯农药残留测定的方法。

本法在超声波辅助下,用正己烷-丙酮混合溶剂对样品中残留农药进行提取,以固相萃取法净化,采用气相色谱法(ECD)对药材中 9 种有机氯和 3 种拟除虫菊酯类农药同时测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 美国 Agilent 7890A 气相色谱仪,配备电子捕获检测器(μ -ECD);Agilent ChemStation 工作站;GRACE Alltech Vacuum Manifold 多功能固相萃取装置;旋转蒸发仪。

1.2 试剂 正己烷、丙酮均为分析纯,经气相色谱分析无干扰;无水硫酸钠为分析纯,临用前于 700℃ 下灼烧 4 h;Agilent SimpilQ Florisil 固相萃取小柱(6 mL \times 1 000 mg)。

1.3 标准品: γ -六六六(γ -BHC), δ -六六六(δ -BHC), ϵ -六六六(ϵ -BHC), 五氯硝基苯(PCNB), 环氧七氯(Heptachlor epoxide), 对,对-滴滴涕(p,p-DDT), 邻,对-滴滴涕(o,p-DDT), 对,对-滴滴涕(p,p-DDD), 对,对-滴滴涕(p,p-DDE)、氯氰菊酯(cypermethrin)、氰戊菊酯(fenvalerate)、溴氰菊酯(deltamethrin) 标准储备液均购置于农业部环境保护科研监测所,浓度均为 100 mg·L⁻¹,纯度大于 99%。

1.4 样品 荭草药材由贵州益佰制药有限公司提供,并由贵阳医学院药学院生药学教研室龙庆德副教授鉴定为蓼科植物荭草 *P. orientale* 的带叶嫩枝。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 HP-5 石英毛细管柱(0.32 mm \times 30

m, 0.25 μ m);载气(N₂)流量:60 kPa(恒压);进样口温度 200℃,检测器(μ -ECD)温度 320℃;分流比为 1:2;升温程序 100℃ 保持 2 min,以 20℃·min⁻¹ 升至 160℃ 保持 2 min,以 10℃·min⁻¹ 升至 250℃ 保持 5 min,以 6℃·min⁻¹ 升至 280℃ 保持 8 min;尾吹流量 60 mL·min⁻¹;进样量 1 μ L。如图 1。

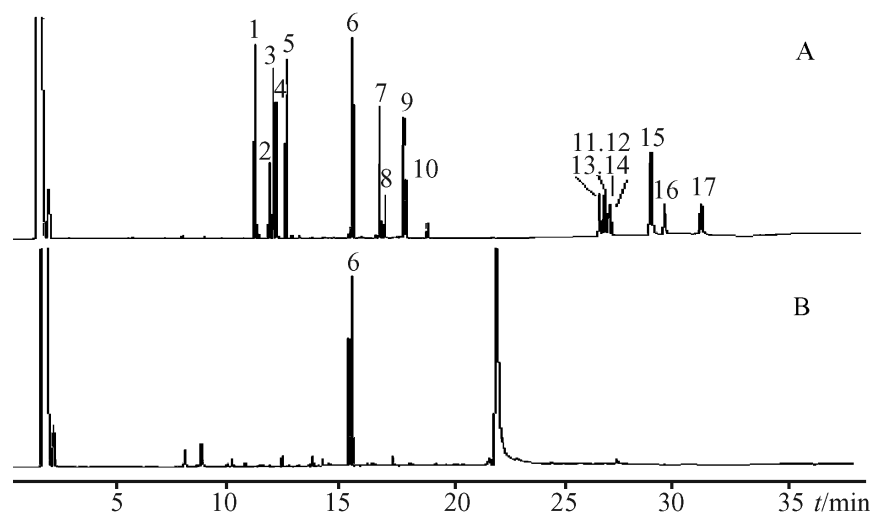


图 1 对照品混合溶液(A) 1. γ -BHC; 2. δ -BHC; 3. ϵ -BHC; 4. δ -BHC; 5. PCNB; 6. 环氧七氯(is); 7. p, p-DDT; 8. o, p-DDT; 9. p, p-DDD; 10. p, p-DDE; 11. 12. 13. 14 氯氰菊酯; 15. 16 氰戊菊酯; 17. 溴氰菊酯; 荭草药材样品(B)

2.2 对照品溶液的制备 先配制 γ -BHC, δ -BHC, ϵ -BHC, δ -BHC, PCNB, p, p-DDT, o, p-DDT, p, p-DDD, p, p-DDE、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯等农药浓度各为 10 mg·L⁻¹ 的储备液。再用正己烷配制有机氯农药浓度为 400 μ g·L⁻¹ 以及拟除虫菊酯农药浓度为 2 000 μ g·L⁻¹ 的对照品混合溶液。

2.3 供试品溶液的制备 荭草药材供试品经 60℃ 干燥 4 h, 粉碎(过 40 目筛), 取粉末约 1 g, 精密称定, 至 100 mL 锥形瓶中, 加超纯水 20 mL, 浸泡过夜(12 h), 加 40 mL 丙酮, 超声处理 30 min, 放冷; 加正己烷 30 mL, 再超声处理 15 min 后静置 30 min, 分取正己烷层至干燥的 100 mL 锥形瓶中, 加入 5 g 无水硫酸钠脱水, 然后转移至 100 mL 梨形烧瓶中, 于 50℃ 旋转蒸发至干, 立即取下, 残渣加入 10 mL 正己烷溶解, 然后用移液管精密量取 5 mL 于已活化好的 Florisil 固相萃取小柱[先用 5 mL 正己烷-丙酮(9:1) 预洗, 然后再用 5 mL 正己烷润洗]上, 置于多功能真空样品处理器上, 用 10 mL 正己烷-丙酮混合溶液(9:1) 洗脱, 收集流出液, 在 40℃ 用氮气吹干, 用含内标环氧七氯浓度为 50 μ g·L⁻¹ 的正己烷溶液精密定容至 1 mL^[3], 于漩涡振荡器上充分溶解即得供试品溶液。

2.4 线性关系及定量检测限考察 取 2.2 项下 12 种农药对照品混合溶液, 配置成含有机氯农药浓度分别为 1, 5, 10, 50, 100, 200 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以及含拟除虫菊酯浓度分别为 5, 25, 50, 250, 500, 1 000 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的工作曲线溶液, 以环氧七氯为内标浓度均为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别进样 1 μL , 记录色谱图, 以进样浓度与内标浓度比值为横坐标 (X)、各峰峰面积与内标峰峰面积比值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线, 计算线性回归方程和相关系数, 其中氯氰菊酯和氰戊菊酯为多个峰峰面积之和代入计算, 并且以 $S/N=3$ 计算检出限并换算, 结果见表 1。

表 1 12 种有机氯和拟除虫菊酯农药线性关系及检出限

名称	线性范围 / $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	回归方程	r	检出限 / $\text{ng}\cdot\text{kg}^{-1}$
-BHC	1 ~200	$Y=0.925X+0.0141$	0.9999	1.5×10^{-4}
-BHC	1 ~200	$Y=0.345X+0.0226$	0.9999	1.5×10^{-4}
-BHC	1 ~200	$Y=0.797X+0.0164$	0.9999	1.5×10^{-4}
PCNB	1 ~200	$Y=0.652X+0.0191$	0.9999	1.5×10^{-4}
-BHC	1 ~200	$Y=0.796X+0.0187$	0.9998	1.5×10^{-4}
pp-DDE	1 ~200	$Y=0.701X+0.0140$	0.9999	1.5×10^{-4}
op-DDT	1 ~200	$Y=0.194X+0.027$	0.9968	1.5×10^{-4}
pp-DDD	1 ~200	$Y=0.694X+0.0287$	0.9999	4.0×10^{-4}
pp-DDT	1 ~200	$Y=0.423X-0.0193$	0.9984	5.0×10^{-3}
氯氰菊酯	5 ~1 000	$Y=0.284X+0.0137$	0.9999	6.0×10^{-3}
氰戊菊酯	5 ~1 000	$Y=0.265X+0.0359$	0.9999	2.0×10^{-3}
溴氰菊酯	5 ~1 000	$Y=0.101X+0.0194$	0.9990	1.3×10^{-2}

2.5 精密度实验 将有机氯农药浓度为 10 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、拟除虫菊酯农药浓度为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液, 按 2.3 项下色谱条件连续进样 6 次, 计算各农药峰面积与内标峰面积比值的 RSD 值。结果 -BHC, -BHC, -BHC, -BHC, PCNB、pp-DDT, op-DDT, pp-DDD, pp-DDE、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯的 RSD 分别为 0.5%, 0.7%, 0.8%, 0.7%, 2.1%, 2.0%, 1.8%, 0.9%, 2.8%, 2.7%, 2.5%, 2.2%。

2.6 加标回收率试验 称取 9 份荳草药材样品, 每份 1g, 精密称定, 分为 3 个水平分别加入一定量的标准品溶液, 按供试品溶液制备方法制备, 测定, 计算回收率。结果表明 12 种有机氯和拟除虫菊酯农药平均回收率为 -BHC 90.4% ~ 95.9%, -BHC 82.1% ~ 88.6%, -BHC 88.3% ~ 93.7%, PCNB 85.2% ~ 99.4%, -BHC 85.7% ~ 100.2%, pp-DDE 99.5% ~ 106.8%, op-DDT 82.0% ~ 105.2%, pp-

DDD 89.7% ~ 104.4%, pp-DDT 88.0% ~ 93.1%, 氯氰菊酯 93.1% ~ 99.7%, 氰戊菊酯 79.1% ~ 106.4%, 溴氰菊酯 99.8% ~ 104.3%。RSD 为 0.2% ~ 7.9%。符合痕量分析的要求。

2.7 样品测定结果 对 15 个批次的荳草药用部位进行测定, 结果均未检出 12 种有机氯和拟除虫菊酯农药残留。

3 讨论

《中国药典》2005 年版及 2010 年版对中药农药残留的限量没有明确规定, 只在黄芪、甘草等少数几位药中规定了有机氯农药残留的限度, 对拟除虫菊酯没有限度规定。本实验考察了方法的线性、检出限、精密度、准确度, 结果均能满足样品测定要求, 测定结果显示, 15 批荳草药材中的 12 种有机氯及拟除虫菊酯农药均未检出。

本方法考察了用正己烷提取、正己烷-丙酮同时超声提取、正己烷-丙酮分别超声提取等 3 个提取方法, 结果显示, 如果只用正己烷进行提取, 极性较大的拟除虫菊酯类农药提取效率不高, 回收率不理想; 而用正己烷-丙酮提取时, 采用先丙酮后正己烷提取结果比用正己烷-丙酮混合溶液提取效率较高。

有机氯农药的极性较小, 用正己烷就可以很好的洗脱, 而拟除虫菊酯农药的极性稍大, 需要用极性较大的溶剂洗脱, 经反复试验发现, 干扰测定结果的杂质极性也较大, 如果洗脱溶液极性过大的话, 无疑将更多的杂质洗脱下来, 严重影响定量和定性, 故最终确定以正己烷-丙酮混合比例为 9:1。同时本试验考察了该规格固相萃取小柱吸附能力的最大值, 考察结果显示当实际上柱量超过 0.5 g 药材时, 固相萃取小柱无法完全吸附样品中过多的杂质, 故最终确定上柱量为 0.5 g 药材。

[参考文献]

- [1] 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.
- [2] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准 [M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 2003: 267.
- [3] 邓鸣, 郭青, 王佳静, 等. 固相萃取-毛细管气相色谱法测定黄芪中多种有机氯农药残留量 [J]. 药物分析杂志, 2007, 27(7): 1113.

[责任编辑 顾雪竹]