

灵芝、茯苓中5种拟除虫菊酯农药残留分析

王平¹, 王旗^{2*}, 刘庆², 金红宇³, 林瑞超³

(1. 北京中医药大学东直门医院, 北京 100700; 2. 北京大学公共卫生学院, 北京 100083;
3. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

[摘要] 目的: 比较研究不同来源真菌类中药材灵芝、茯苓中5种拟除虫菊酯农药残留。方法: 收集不同地区流通品种, 规范化GAP基地栽培及野生的药材, 灵芝、茯苓各10批次, 用石油醚-丙酮混合溶剂超声提取, 固相萃取法净化, 用气相色谱-电子捕获检测器(ECD)测定。结果: 10批次灵芝样品中, 9批次灵芝均未检出5种拟除虫菊酯农药残留, 仅有1批检出氰戊菊酯, 并未超标; 10批次茯苓样品均未检出5种拟除虫菊酯农药残留。结论: 真菌类中药材灵芝、茯苓基本无拟除虫菊酯农药残留问题。

[关键词] 拟除虫菊酯; 农药残留; 灵芝; 茯苓

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)01-0005-03

Analysis of 5 Pyrethroid Pesticide Residues in Ganoderma, Poria

WANG Ping¹, WANG Qi^{2*}, LIU Qing², JIN Hong-yu³, LIN Rui-chao³

(1. Dongzhimen Hospital Affiliated to Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100700, China;
2. School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China;
3. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the levels of 5 pyrethroid pesticide residues in two types Chinese traditional medicines, i. e. *Ganoderma* and *Poria*. **Methods:** A sum of 20 batches of *Ganoderma* and *Poria*(10 batches each) samples were collected and identified. The 5 pyrethroid pesticide residues in samples were extracted by ultrasonic washing machine with organic solvent, cleaned up by solid-phase extraction to remove the interferences of co-extractives, and then were analyzed by gas chromatograph (GC) equipped with an electron capture detector, quantified by the external standard method. **Results:** The 5 pyrethroid pesticide residues were not detected in 10 batches samples of *Poria*, Among 10 batches samples of *Ganoderma*, the 5 pyrethroid pesticide residues were not detected in 9 batches samples, and fenvalerate was detected in 1 batch sample without exceeding the limit. **Conclusion:** The result suggested that most of the *Ganoderma* and *Poria* were not contaminated by the residues of 5 pyrethroid pesticides.

[Key words] pyrethroids; pesticide residue; *Ganoderma*; *Poria*

灵芝是一种名贵的药材, 茯苓是常用的传统中药, 二者同属真菌类, 又是传统出口药材, 主要来自人工栽培。在栽培过程中, 为防治病虫害可能使用

农药。国际上(如欧盟)对茶叶等食品中农药残留规定了严格的限量标准, 对中药也采用食品标准。灵芝、茯苓药材中农药残留量问题既影响用药安全, 又限制药材进入国际市场^[1,2]。

拟除虫菊酯农药是一类高效广谱杀虫剂, 现替代有机氯农药在药材种植中广泛应用。根据拟除虫菊酯化学结构是否含有 α 氰基将其分为I型和II型, 常用于杀虫的拟除虫菊酯农药为含 α 氰基的II

[收稿日期] 2006-05-08

[基金项目] 国家“十五”科技攻关课题(2001BA701A57)

[通讯作者] * 王旗, Tel: (010) 82801527, E-mail: wangqi@bjmu.edu.cn

型,为中等毒性,近年研究发现也是内分泌干扰物,应加强对拟除虫菊酯农药残留量的检测^[3-5]。真菌类中药灵芝和茯苓的农药残留研究,仅见茯苓中有机氯农药残留的研究^[6,7],至今尚未见有拟除虫菊酯农药残留的文献报道。菊酯类农药有多种异构体存在,中药成分复杂,基质干扰严重,且菊酯类农药施药量小,残留量低,检测难度大。本文用建立的气相色谱-电子捕获检测法,对收集的不同地区流通品种,规范化 GAP 基地栽培及野生的茯苓、灵芝药材(各 10 批次)进行了 5 种常用菊酯类农药残留量的检测,以了解茯苓、灵芝药材中菊酯类农药残留情况。

1 仪器与试剂

1.1 仪器与试剂 Agilent 6890N 气相色谱仪带电子捕获(⁶³Ni-ECD)检测器;Alltech 固相萃取装置;RE-52A 旋转蒸发器;甲氰菊酯(Fenpropathrin)、氯氰菊酯(Cypermethrin)、氰戊菊酯(Fenvalerate)、溴氰菊酯(Deltamethrin)(纯度>99.0%),购自农业部农药检定所,氯氟氰菊酯(Cyhalothrin)美国 Chemservice 公司产品;正己烷、乙腈、丙酮、乙酸、乙酯、石油醚(60~90℃)均为色谱纯;无水硫酸钠为分析纯,Florisil(60~100目)填料购自 Alltech 公司。

1.2 药材供试品收集 由中国药品生物制品检定所中药室统一采购并鉴定。按照《中华人民共和国药典》2005 年版规定^[8]:灵芝为多孔菌科真菌赤芝或紫芝的干燥子实体,茯苓为多孔菌科真菌茯苓的干燥菌核。10 批灵芝供试品分别从北京饮片厂(3 批)、陕西西安药市(3 批)、江西樟树市场、吉林敦化、四川和湖南市场收集。10 批茯苓供试品分别从陕西西安药市(3 批)、湖南 GAP 基地(2 批)、安徽亳州药市(2 批)、江西樟树市场、四川和贵州市场收集。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Agilent 石英毛细管柱 DB-5(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm);进样口温度 300℃;检测器温度 340℃;程序升温:初始 250℃,保持 30 min,以 10℃/min 升至 270℃,保持 10 min。载气流速 1 mL/min;分流比 1:20,进样量 1.0 μL。

2.2 对照品储备液的制备 精密称取甲氰菊酯、氯氟氰菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯对照品适量,分别置 50 mL 棕色量瓶中,用正己烷溶解,制成每 1 mL 分别含 1.0 mg 上述菊酯农药的溶液。

混合对照品储备液的制备 分别精密量取上述各对照品储备液适量,置 10 mL 棕色量瓶中,用正己烷稀释至刻度,摇匀,即得。

供试品溶液的制备 灵芝、茯苓药材供试品于 60℃干燥 4 h,粉碎成细粉(过 60 目筛),取 1~2 g,精密称定,置 100 mL 具塞锥形瓶中,加入 30 mL 石油醚(60~90℃)-丙酮(4:1)混合液,超声处理 10 min,过滤,收集滤液,残渣再加 30 mL 石油醚-丙酮混合液,重复上述操作两次后,合并滤液于 100 mL 旋转蒸发瓶中,在 50℃水浴下,减压浓缩至近干,再用 5 mL 正己烷替换并浓缩至近干。残渣用 2.5 mL 正己烷溶解,转移至固相萃取(SPE)小柱上。SPE 小柱(从上至下依次为 1.5 g 无水硫酸钠、1.5 g Florisil 和 1.5 g 无水硫酸钠),预先分别用 5 mL 石油醚-乙酸乙酯(9:1)洗脱液和 5 mL 正己烷活化,用洗脱液 10 mL(分 4 次)洗脱,收集全部洗脱液,转移至 25 mL 旋转蒸发瓶中,在 50℃水浴下,减压浓缩至近干,再用 2.5 mL 正己烷替换并浓缩至近干,精密加入正己烷 0.5 mL 使溶解,供色谱分析。

2.3 菊酯农药残留测定 分别取供试品溶液和混合对照品溶液各 1.0 μL,自动进样分析,按峰面积外标法计算供试品中 5 种菊酯农药残留量,其中氯氰菊酯的峰面积以 4 种异构体的峰面积之和计。

2.4 供试品中菊酯农药的定性确认 图 1 为农药对照品色谱图,图 2,图 3 分别为供试品和对照品的代表性色谱图。结果表明,5 种菊酯农药对照品和供试品中各被测成分基本达到基线分离。菊酯类农药存在多种异构体,氯氰菊酯在选定的实验条件下展开成 4 个连绵峰,峰形复杂,结果以 4 种异构体之和计算。中药化学成分复杂,仅以保留时间定性,有可能误判,我们用气相色谱-质谱联用(GCMS-QP2010)进行了定性确认。

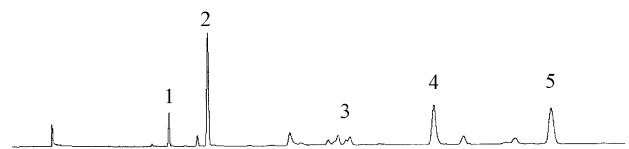


图 1 菊酯农药对照品色谱图

1-甲氰菊酯; 2-氯氟氰菊酯; 3-氯氰菊酯;
4-氰戊菊酯; 5-溴氰菊酯

2.5 线性关系和定量检测限 精密量取不同体积的上述混合对照品储备液,用正己烷制成每 1 mL 分别含 0~1 000 ng 甲氰菊酯、氯氟氰菊酯,0~2 000 ng 氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯的系列溶液,各取 1.0

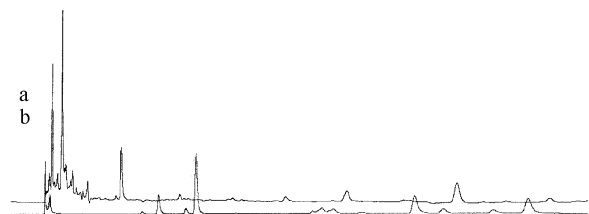


图 2 灵芝供试品(a)和对照品(b)色谱图

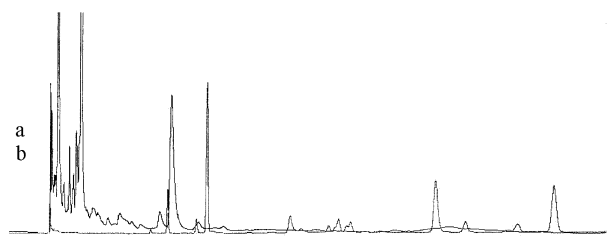


图 3 茯苓供试品(a)和对照品(b)色谱图

μL 溶液进样分析, 分别以 5 种菊酯农药浓度为横坐标, 以相应峰面积为纵坐标, 计算回归方程; 定量检测限按信噪比 10: 1 计算。5 种菊酯农药的线性关系及定量限见表 1。结果提示, 5 种菊酯农药在 10~1 000(或 20~ 2 000) μg/L 之间线性关系良好; 检测灵敏度能满足中药材中菊酯类农药残留量检测的限量标准要求。

2.6 加标回收率 取真菌类代表性药材灵芝供试品(约 1 g)精密称定, 定量加入混合对照品溶液, 按上述方法制备供试品溶液, 进行测定, 计算加标回收率。灵芝样品中 5 种菊酯农药的加标回收率分别为: 甲氰菊酯 82.35~ 92.80%, 氯氟氰菊酯 84.36~ 109.7%, 氯氰菊酯 87.61~ 92.11%, 氰戊菊酯 87.34~ 99.18%, 溴氰菊酯 82.44~ 96.98%, 符合痕量分析的要求。

表 1 5 种菊酯类农药的线性关系及定量限

样品	线性回归方程	相关系数	定量检测限 (mg/kg)	欧盟茶叶限量标准 (mg/kg)
甲氰菊酯	$Y = 3.078X - 23.60$	0.999 7	0.01	0.02
氯氟氰菊酯	$Y = 13.363X - 193.46$	0.998 8	0.005	0.1
氯氰菊酯	$Y = 3.301X - 70.00$	0.997 7	0.02	0.1(各异构体总量)
氰戊菊酯	$Y = 6.330X + 311.28$	0.998 1	0.05	0.1
溴氰菊酯	$Y = 7.165X + 23.32$	0.995 8	0.005	0.5

2.7 灵芝、茯苓药材菊酯类农药残留量检测结果 不同来源的灵芝样品(10 批次: 樟树市场 1 批, 吉林敦化 1 批, 四川 1 批, 北京饮片厂 3 批, 西安药市 3 批, 湖南 1 批)菊酯类农药残留量检测, 结果 10 批次灵芝样品中, 9 批次灵芝均未检出 5 种拟除虫菊酯农药残留, 仅有 1 批检出氰戊菊酯(含量 0.033 mg/

kg), 按照欧盟茶叶限量标准(氰戊菊酯 0.1 mg/kg)并未超标; 收集的 10 批次茯苓样品均未检出 5 种拟除虫菊酯农药残留。可见, 真菌类中药材灵芝、茯苓基本无拟除虫菊酯农药残留问题。

3 讨论

目前灵芝、茯苓药材质量标准仍以外观性状等常规检查、鉴定项目为主(药典规定: 灵芝化学成分灵芝多糖不少于 0.5%), 缺少农药残留、有害重金属等质控指标。美国药典(USP29, 2006 年版)附录中(561)植物药中除虫菊酯类农药残留限量标准: 氯氰菊酯(及异构体) 1.0 mg/kg, 氰戊菊酯 1.5 mg/kg, 溴氰菊酯 0.5 mg/kg, 苄氯菊酯 1.0 mg/kg, 菊酯类总量 3.0 mg/kg。国家外经贸部 2001 年颁布的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》制订了重金属和一些农药残留检测限量标准, 但没有菊酯类农药残留测定及限量标准; 《中华人民共和国药典》2005 年版只在附录 IX Q 中增加了拟除虫菊酯类农药(氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯)残留量测定方法, 尚未制订中药中菊酯类农药残留限量的国家标准。应完善灵芝、茯苓的质量标准, 制订与国际接轨的农药残留限量标准, 以保障用药安全, 提高灵芝、茯苓药材在国际市场的竞争力。

[参考文献]

- [1] 王克勤, 方红, 苏玮, 等. 茯苓规范化种植及产业化发展对策[J]. 世界科学技术——中药现代化, 2002, 4(3): 69.
- [2] 林树钱, 刘亚凯, 钱友安, 等. 灵芝 GAP 有机栽培及其环境质量的研究[J]. 海峡药学, 2005, 17(5): 69.
- [3] 薛健, 杨世林, 陈建民, 等. 我国中药材农药残留污染现状与对策[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(9): 637.
- [4] Soderlund D M, Clark J M, Sheets L P, et al. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment[J]. Toxicology, 2002, 171: 3.
- [5] 高天兵, 张曙明, 田金改. 三七、白芍及西洋参中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的残留量测定[J]. 药物分析杂志, 1999, 19(5): 313.
- [6] 马长清, 彭彦, 向一. 中药茯苓和银杏叶中有机氯农药残留量的研究. 华中科技大学学报(医学版)[J]. 2002, 31(1): 30.
- [7] 卢平, 宋宝安, 金林红, 等. 超声波及固相萃取法检测茯苓中有机氯农药残留[J]. 农药, 2005, 44(3): 120.
- [8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部, 北京: 化学工业出版社, 2005. 130, 166.