

薄层扫描测定中药材中西维因及其降解产物研究

王香凤* 安慧梅 贾蕊 朱若华** 刘润

(首都师范大学化学系 北京 100037)

摘要 本文主要采用薄层色谱-荧光检测法对中药材中西维因及其降解产物-萘酚的残留量进行测定。采用环己烷-丙酮-正丙醇-苯=13:2:2:3(V/V)作为展开剂,西维因和-萘酚的 R_f 值分别为0.44和0.72,在313nm条件下进行荧光测定,在0.004~0.0804mg/mL和0.0006~0.0057mg/mL的浓度范围内,线性相关系数均为0.999,检测限分别为80.48ng和3.46ng。用本方法测定地骨皮样品,西维因和-萘酚的加标回收率分别为83.3%和100%,适于西维因及其降解产物的含量测定和质量控制。

关键词 中药材 西维因 -萘酚 薄层色谱

引言

氨基甲酸酯类农药(NMCs)是一类光谱杀虫剂,具有杀虫谱广,用药量少,药效快等优点,在农作物种植及中草药栽培中被广泛使用。西维因是氨基甲酸酯类农药的一种,它的最大特点是低毒,而且只在植物中短暂停留,在施用后很短的时间内就可被降解成代谢产物-萘酚。此类农药在农作物中残留量的检测方法,在20世纪80年代已有较多报道,多采用高效液相色谱-紫外或荧光来进行检测^{1,2},另外室温磷光法^{3,4}、荧光法⁵、酶联免疫法⁶、毛细管气相色谱法⁷等方法也用于食品等样品中西维因的检测。而有关中药材中残留量的测定方法却很少见⁸。国外有文献报道用薄层色谱法⁹测定生物样品中的西维因,但还未见国内有用薄层色谱法测定的报道。

本文在前述工作¹⁰的基础上,主要是对中药材中的西维因及其降解产物-萘酚的残留量的同时测定进行研究。采用混和溶剂为展开剂,分离效果好,加标回收和样品测定结果满意,为其质量控制提供一种有效的农药残留量检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

1.1.1 仪器 CX-250型超声波清洗机、80-1电动离心机、CS-930型双波长薄层扫描仪(日本岛津)、微量进样器(上海医用激光仪器厂)、KD浓缩器、硅胶G板购自青岛海洋化工厂分厂。

1.1.2 试剂 西维因、-萘酚购自北京百灵威化学

试剂公司,地骨皮购自生物药品检定所,其它试剂均为分析纯。

准确称取0.0081g西维因标准品,加丙酮溶解,定容到100mL,配制成 4×10^{-4} mol/L的溶液;准确称取0.0006g的-萘酚标准品,加丙酮溶解,定容到100mL,配制成 4×10^{-5} mol/L的溶液。将西维因标准溶液与-萘酚标准溶液以1:1(V/V)混和制成混和溶液。

1.2 样品溶液的配制

准确称取0.50g粉碎后过60目的地骨皮样品,置于100mL锥形瓶中,加入10mL(环己烷-丙酮=1:1(V/V))的混合溶剂,浸泡30min后,在超声振荡器上振荡20min,转移至离心管中,于离心管上以转速为2000r/min离心20min,取出离心管,用混合溶剂洗涤,离心分离20min,合并两次离心液,转移到KD浓缩器上浓缩至1mL,用丙酮溶解,再转移到离心管中离心分离后,清液定容到50mL。

2 结果与讨论

2.1 展开剂的选择

本文选择环己烷-丙酮=6:1;环己烷-丙酮=4:1;环己烷-丙酮=3:1三种体系对西维因和-萘酚混和溶液进行展开,发现第三种体系能使西维因和-萘酚展开的 R_f 值适中,所以将其选择为展开剂。根据¹¹计算得混合溶剂的极性参数为1.425,根据溶剂的选择性分组¹²,选择三种极性相差较大的溶剂:组溶剂正丙醇、组溶剂丙酮、组溶剂苯,然后以环己烷作为极性调节剂,再根据Gajch¹³

*研究生,女,1978年,主要从事环境及药物分析。

**通讯联系人,博士,硕士。E-mail:zhurh@mail.cnu.edu.cn.

提出的最优化三角形法选择以下 7 种展开剂(见表 1)。

表 1 展开剂的优化

| 编号 | 环己烷 | 丙酮 | 正丙醇 | 苯 | $\bar{R}_f(n=3)$ | |
|----|-----|----|-----|----|------------------|------|
| | | | | | 西维因 | -萘酚 |
| 1 | 75 | 25 | — | — | 0.61 | 0.62 |
| 2 | 68 | — | 32 | — | — | 0.94 |
| 3 | 53 | — | — | 47 | — | 0.22 |
| 4 | 71 | 13 | 16 | — | 0.56 | 0.93 |
| 5 | 60 | — | 16 | 24 | 0.39 | 0.89 |
| 6 | 63 | 13 | — | 24 | 0.77 | 0.62 |
| 7 | 65 | 8 | 11 | 16 | 0.39 | 0.75 |

其中,第七组的展开效果最佳,峰型较好,进而将第七组展开剂进行微调,分别配制环己烷 丙酮 正丙醇:苯 = 65 10 8 17(V/V)和环己烷 丙酮 正丙醇 苯 = 13 2 2 3(V/V)为展开剂进行测定,发现后者效果更好,干扰较少,能将西维因和 -萘酚很好地分开(西维因 $R_f = 0.44$; -萘酚 $R_f = 0.72$),所以本文选用环己烷 丙酮 正丙醇 苯 = 13 2 2 3(V/V)作为展开剂。用此展开剂将西维因和 -萘酚混和溶液展开色谱图(见图 1)。

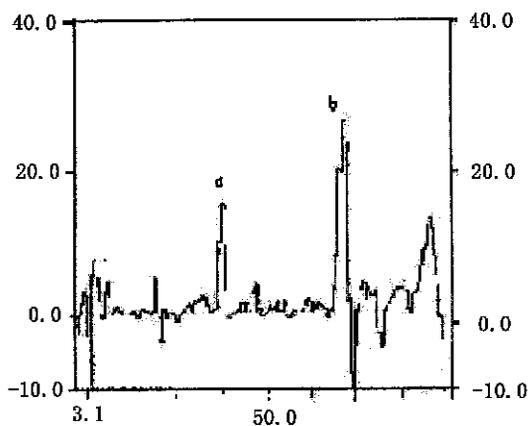


图 1 西维因和 -萘酚混和溶液色谱图
a. 西维因(2×10^{-4}); b. -萘酚(2×10^{-5})

2.2 薄层板的优化

在 CS-930 型双波长薄层扫描仪上,发现薄层板本身的荧光背景值较高,而且本身不是很均匀,所以薄层板使用之前先在 110 烘箱中活化 1h,再用有机溶剂展开,将薄层板上可能的杂质带到薄层板的前沿,降低荧光板本身的背景荧光值和杂质的干扰。本文分别用三氯甲烷、1,2-二氯乙烷、丙酮和所选用的展开剂进行展开处理,发现用三氯甲烷展开过的薄层板效果好,因此实验中均使用三氯甲烷处理过的薄层板。将在三氯甲烷中展开的薄层板放在 75 烘箱中烘干后,放干燥器中备用。

2.3 烘干温度对西维因荧光强度的影响

考察将薄层板展开之后,在烘箱中烘干温度对西维因荧光强度的影响(见图 2),从图 2 可以看出在 75 时西维因的荧光强度最大,选择为烘干温度。

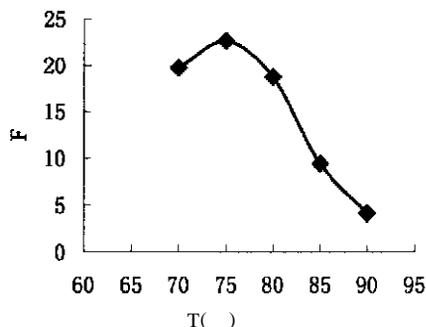


图 2 烘干温度对西维因荧光强度的影响

2.4 扫描条件

根据西维因、-萘酚在 RF-540 上测得的荧光数据,西维因的最大激发和发射波长分别为 310nm、347nm, -萘酚的分别为 335nm、373nm,由于二者的最大激发波长均在汞灯的较强发射波长(253.6nm, 313.0nm, 365.0nm, 404.7nm, 435.8nm, 546.1nm)中的 313.0nm 附近,因此选用照射波长为 313nm,在 CS-930 上采用单波长荧光式锯齿形扫描,用第一块滤光片。光斑:6 × 1.2mm。

2.5 工作曲线和检出限

按优化实验进行荧光测定,西维因和 -萘酚的荧光强度与溶液的浓度分别在 0.004mg/mL ~ 0.0804mg/mL 和 0.0006mg/mL ~ 0.0057mg/mL 范围内线性良好(点样量为 10μL),线性回归方程分别为 $Y = 0.033 + 4.452 \times 10^{-4} X$ 和 $Y = -0.686 + 4.393 \times 10^5 X$,线性相关系数均为 0.999,检测限分别为 80.48ng 和 3.46ng。西维因及 -萘酚标准曲线(见图 3):

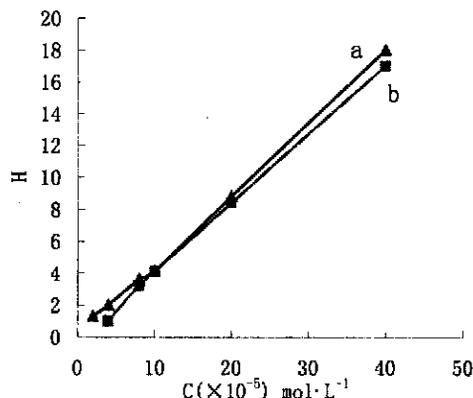


图 3 西维因(a)和 -萘酚(b)的工作曲线

2.6 回收率和样品测定

取 10mL 处理好的地骨皮样品溶液分别加入西

维因和 -萘酚 0.402mg 和 0.029mg。依法点样,展开,在 75 °C 的烘箱中烘烤 5min 后于薄层扫描仪上测定。测定结果为西维因和 -萘酚的回收率分别为 83.3% 和 100%,样品中西维因和 -萘酚的含量分别为 0.67mg/g 和 0.019mg/g。

3 结论

本文建立薄层扫描荧光法同时测定中药材中西维因及其降解产物 -萘酚残留量的新方法。具有方便、快捷、操作简单等特点,有较好的应用前景。

参考文献

- Hidalgo c., Roig-Navarro A., Hernandez F., Sancho JV, Chromatographia [J], 1998, 47(9~10): 596~600
- Yibrah T. Gebreegzi, Gregorg D. Foster, Shahamat U. Khan J. Agric. Food Chem. [J], 2000, 48: 5165~5168
- A. Segura-Carretero, C. Cruces-Blanco, B. Canabate-Diaz, J. F. Fernandez-Sanchez, A. Fernandez-Gutierrez, Anal. Chim. Acta [J], 2000, 417: 19~30

- Ghauch A., Fresenius J. Anal. Chem [J], 2000, 367(6): 545~550
- Motoshi, NAKAMURA, Hiroshi TANIGUCHI, Bunseki, Kagaku [J], 1999, 48(9): 841~846
- G. S. Nunes, M. P. Marco, M. Fare, D. Barcelo, Anal. Chim. Acta [J], 1999, 387: 245~253
- 梁祈, 颜庆嫦. 分析测试学报 [J], 1999, 18(2): 66~68
- 董顺岭, 胡家焱, 何志强, 杨仲元. 药物分析杂志, 2002, 22(3): 178
- Murlidhar T. Sevalkar, Vitthal B. Patil, and Manchak V. Garad, J. Planar Chromatography [J], 2000, 13: 235~237
- 胡秋菊, 朱若华等. 首都师范大学学报(自然科学版), 2004, 25(2): 38
- Murlidhar T. Sevalkar, Vitthal B. Patil, and Manchak V. J. Planar Chromatography, 2000, 13: 235~237
- 孙敏庆. 薄层扫描法及其在药物分析中的应用 [M], 北京: 人民卫生出版社, 1990
- 马广慈主编. 药物分析方法与应用 [M], 北京: 科学出版社, 2000

The synchronous determination of carbaryl and its degradation product residue in Chinese herbs by thin layer chromatography with fluorescence detection

Wang Xiangfeng An Huimei Jia Rui Zhu Ruohua Liu Run

(Department of Chemistry, Capital Normal University, 100037 Beijing, China)

Abstract In this thesis, solid surface fluorescence analysis was used to detect carbaryl and its degradation product residue in Chinese herbs. Carbaryl and -naphthol could be well separated with R_f value of 0.44 and 0.72 when cyclohexane:acetone:n-propyl:benzene = 13:2:2:3 (v/v) was used as eluting solution. The fluorescence intensity was determined at the excitation wavelength of 313nm. The concentration of Carbaryl and -naphthol was linear in the range of 0.004~0.0804mg mL⁻¹ and 0.006~0.0057mg mL⁻¹ with the fluorescence intensity, respectively, and with the correlation coefficient both of 0.999. The absolute detection limit of two compounds was 80.48ng and 3.46ng, respectively. The method was applied to analysis of the Digupi sample, the recoveries for carbaryl and -naphthol were 83.3% and 100%, respectively. It was appropriate for the content determination and quality control of Carbaryl and -naphthol.

Key words Chinese herbs Carbaryl -naphthol Thin layer chromatography

(下接第 30 页)

含量并不高,但是在猪油中的锡含量非常高,尤其是 3# 中的锡竟高达 1614μg/g,远远高于普通猪油。

3.3 综合分析

由于中毒死亡人体肝脏中锡的含量不高,而猪油中锡的含量很高,所以无机锡中毒的可能性不大,应

是有机锡中毒,即在猪油中锡是以有机锡的形式存在。气相色谱分析结果,也证明有有机锡的峰存在。

参考文献

- 王世俊. 金属中毒,北京:人民卫生出版社,1988年,第二版

Application of ICP-AES in the liver and lard

Wang Chunmei Wang Yi Chu Lianqing Wang Jingang Li Jing Meng Dalei

(The 46th Institute of Chinese Electronic Science and Technology Group Company, Tianjin, 300192)

Abstract In this article, ICP-AES was adopted to analyse poisoning elements in the livers of people who died and in the lard. The concentration of Sn in liver is not very high, but the concentration of Sn in the lard is much high.

Key words ICP-AES Liver Lard Tin