

甘草中有机氯类农药残留量的毛细管气相色谱测定

张曙明¹, 郭怀忠², 陈建民^{1*}

(1. 中国医学科学院、中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 保定市药品检验所, 河北 保定 071051)

摘要: 目的 对甘草中 15 种有机氯农药的毛细管气相色谱测定方法的研究。方法 样品经有机溶剂超声提取、Florisil 硅土色谱柱净化后, 采用不分流进样方式, 用 DB-5 弹性石英毛细管柱经柱程序升温技术分离, 并用电子捕获检测器检测, 外标法计算含量。结果 三水平的平均回收率为 74.7%~119.2%, RSD 为 0.7%~18.9%; 被测样品中均含有不同程度的农药残存。结论 本法简便, 重复性及净化效果好, 可用于甘草中 15 种有机氯农药的残留量检测。

关键词: 甘草; 有机氯类农药; 毛细管气相色谱

中图分类号: R927.2; S481.8; R282.71 文献标识码: A 文章编号: 0513-4870(2000)08-0596-05

有机氯类农药 (organochlorine pesticides, OCPs) 化学性质稳定, 脂溶性大, 残效期长, 易在脂肪组织中蓄积, 造成慢性中毒, 严重危及人体健康。尽管我国已在 1983 年禁止使用六六六、滴滴涕等有机氯农药, 但由于其残效期长, 至今在土壤、地下水等环境中仍有残存。而药材的种植期较长, 尤其是多年生的根类药材, 易受有机氯农药的污染。

药材中有机氯农药的检测目前主要为六六六的 4 个主要异构体、滴滴涕类 4 种以及五氯硝基苯等少数几个品种^[1-6]。磺化法净化样品虽简单快速, 效果也理想, 但只能用于测定对酸稳定的少数几种有机氯农药。本文建立了药材中 15 种有机氯农药的超声提取、Florisil 硅土柱色谱净化及气相色谱检测方法, 旨在扩大中药材中有机氯农药测定的品种, 使中药达到安全、可控之质量标准提供科学依据。

实验部分

1 仪器、试剂及材料

美国 Varian 6000 气相色谱仪 (包括⁶³Ni 电子捕获检测器, Varian 4290 积分仪), DB-5 弹性石英毛细管柱 (15 m × 0.32 mm × 0.25 μm, J & W Co., 美国), Elmatrans Sonic 310 超声波清洗仪 (德国), EYELA 旋转蒸发仪 (日本), K-D 浓缩器等。

丙酮、石油醚 (30~60℃) 和二氯甲烷均为分析纯, 且全部经过全玻璃蒸馏装置重蒸馏 (其中石油醚收集 50~52℃馏分), 经气相色谱法确认符合农药残留量检测的要求; 无水硫酸钠 (研细, 130℃干燥过夜) 和氯化钠均为分析纯。所用试剂均为北京化工厂产品; 农药级石油醚 (简称 PE, 美国 Fisher)。

Florisil (Alltech, 60~100 目, 使用前 650℃活化)。洗脱液: 二氯甲烷—石油醚 (3:7)。

色谱柱: 长 20 cm, 内径 1 cm 的玻璃色谱柱, 柱底垫少量玻璃棉, 将含水 3% 的 Florisil 硅土 5 g 干法装柱 (柱高约 10 cm), Florisil 硅土层上下各有 1~1.5 cm 高的无水 Na₂SO₄ 层, 石油醚 20 mL 预洗。

农药标准品: 六六六 (benzenehexachloride, BHC) 包括 α-BHC, β-BHC, γ-BHC 和 δ-BHC 4 种异构体 (各 1.0 mg·mL⁻¹); 滴滴涕 (DDT) 类包括 *p*, *p'*-DDE (*p*, *p'*-dichlorodiphenyl dichloroethylene), *p*, *p'*-DDD (*p*, *p'*-dichlorodiphenyl dichloroethane), *o*, *p'*-DDT (*o*, *p'*-dichlorodiphenyl trichloroethane) 和 *p*, *p'*-DDT 4 种同系物 (各 0.1 mg·mL⁻¹); 均购自国家标准物质研究中心, 纯度 > 97%; 五氯硝基苯 (pentachloronitrobenzene, PCNB), 纯度 99.0%, 购自美国 Chemservice Co.; 艾氏剂 (aldrin, ALD), 纯度 > 99%, 购自农业部农药检定所; 狄氏剂 (dieldrin, DIE)、七氯 (heptachlor, HEPT) 环氧七氯 (heptachlor epoxide, HCE)、五氯苯胺 (pentachloraniline, PCL) 及甲基五氯苯基硫醚 (methyl-pentachlorophenyl sulfide, MPCPS), 均由中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所提供。

收稿日期: 1999-09-02

* 联系人 Tel: (010) 62899730, Fax: (010) 62896313,

E-mail: chenjianmin@hotmail.com

甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) 样品: 宁夏皮甘草, 市售; 宁夏盐池(三年栽培); 宁夏盐池(野生); 新疆乌鲁木齐, 市售; 河南荣阳牛口峪, 栽培; 内蒙古赤峰, 市售; 内蒙古呼和浩特市药材公司皮甘草, 市售。由中国医学科学院、中国协和医科大学药用植物研究所高光耀副研究员鉴定。

2 气相色谱条件

进样口温度 240 °C, 检测器温度 320 °C, 柱升温程序: 初始温度 100 °C, 保持 0.5 min, 以 20 °C·min⁻¹ 升至 210 °C 保持 0.5 min, 以 8 °C·min⁻¹ 升至 240 °C 保持 10 min; 载气: 高纯氮; 柱前压: 58.84 kPa; 采用不分流进样, 进样量为 1 μL; 衰减: 64; 纸速: 1.0 cm·min⁻¹。

3 洗脱条件选择

取浓度为 10 ng·mL⁻¹ 的上述 15 种农药混合标准液 1.0 mL 加于 Florisil 色谱柱上, 用二氯甲烷—石油醚(3:7) 洗脱, 流速为 2 mL·min⁻¹, 收集流出液, 以 10 mL 为收集单位, 分别用氮气吹至近干, 再用 PE 2 mL 溶解并吹至近干以除去二氯甲烷(重复 2~3 次), 并用 PE 稀释至 1.0 mL, 按上述色谱条件进样, 以峰高计算各农药的洗出率, 结果发现: 各农药的流出均集中在前 30 mL 流出液中, 除 δ-BHC, *o*, *p'*-DDT 主要集中在 11~20 mL 外, 其余的农药均集中于 0~10 mL。曾用石油醚直接洗脱, 则农药的流出较为分散(约 60 mL), 且个别农药洗出率不理想。故本研究采用二氯甲烷—石油醚(3:7) 洗脱, 为降低样品间差异可能造成的农药损失并尽量降低

测定干扰, 收集前 40 mL 流出液作为样品液。

4 标准曲线

分别精密称取五氯硝基苯、艾氏剂、七氯、环氧七氯、狄氏剂、五氯苯胺及甲基五氯苯基硫醚适量, 用 PE 溶解并制成标准储备液。分别移取一定体积的上述各标准储备液, BHC 4 种异构体及滴滴涕类 4 种的标准品溶液, 用 PE 分别制成含 α-BHC, β-BHC, γ-BHC, DDT 类 4 种、七氯、狄氏剂、五氯苯胺、甲基五氯苯基硫醚的浓度为 1.0 μg·mL⁻¹, β-BHC、五氯硝基苯、艾氏剂、环氧七氯浓度为 1.30, 1.12, 0.72 和 1.02 μg·mL⁻¹ 的混合标准液。取适量上述混合标准液用 PE 逐步稀释成 6 个浓度梯度的混合标准稀释液, 按上述气相色谱条件分析。化合物的出峰顺序由单一农药标准液在同样条件下予以确证。以峰高计算, 得到各农药的回归方程(*Y* 为峰高, *X* 为进样量 μg) 见表 1, 色谱图见图 1A。

5 供试品溶液的制备

样品提取方法参照文献^[1,2]。用二氯甲烷—石油醚(3:7) 洗脱液多次溶解样品提取物并小心转移于色谱柱上, 按洗脱条件项, 收集流出液 40 mL, 置于 100 mL 旋转蒸发瓶中, 在 40~45 °C 水浴中浓缩近干, 再加入 PE 约 2 mL 并浓缩至近干, 重复 2~3 次, 使样品中的二氯甲烷及少量丙酮完全除去, 用少量 PE 多次溶解并转移于 K-D 浓缩瓶中, 吹氮气浓缩至 1.0 mL(可按样品含量具体情况适当浓缩或稀释) 为供试品溶液。

Tab 1 Calibration data of 15 organochlorine pesticides

Pesticide	<i>t_R</i> / min	Regression equation	<i>γ</i>	Linear range/ ng·mL ⁻¹	Detection limit/ pg (S/N=3)
α-BHC	5.87	Y=2473.1X+2940.2	0.9993	1.0~100.0	2.8×10 ⁻²
β-BHC	6.17	Y=619.4X-150.7	0.9998	1.3~130.0	1.1×10 ⁻¹
γ-BHC	6.22	Y=2657.2X-1382.2	0.9995	1.0~100.0	3.8×10 ⁻²
PCNB	6.29	Y=2176.3X-238.6	0.9995	1.1~112.0	1.3×10 ⁻¹
δ-BHC	6.67	Y=2399.7X-1220.9	0.9996	1.0~100.0	3.4×10 ⁻²
PCL	6.91	Y=1480.2X-1617.6	0.9993	1.0~100.0	7.0×10 ⁻²
HEPT	7.33	Y=2676.7X+2721.2	0.9992	1.0~100.0	3.4×10 ⁻²
MPCPS	7.65	Y=3298.9X+1430.2	0.9999	1.0~100.0	2.6×10 ⁻²
ALD	7.90	Y=2346.3X-765.1	0.9999	0.7~70.0	4.6×10 ⁻²
HCE	8.60	Y=2476.1X-1987.3	0.9996	1.0~100.0	3.6×10 ⁻²
<i>p</i> , <i>p'</i> -DDE	9.56	Y=1739.7X-651.7	0.9997	1.0~100.0	6.9×10 ⁻²
DIE	9.68	Y=169.9X+457.6	0.9993	1.0~100.0	4.2×10 ⁻¹
<i>p</i> , <i>p'</i> -DDD	10.36	Y=1372.3X-2394.1	0.9992	1.0~100.0	9.6×10 ⁻²
<i>o</i> , <i>p'</i> -DDT	10.41	Y=1047.1X-597.2	0.9999	1.0~100.0	1.1×10 ⁻¹
<i>p</i> , <i>p'</i> -DDT	11.19	Y=941.2X-35.2	0.9993	1.0~100.0	3.1×10 ⁻¹

PCNB: pentachloronitrobenzene; ALD: aldrin; DIE: dieldrin; HEPT: heptachlor; HCE: heptachlor epoxide; BHC: benzenehexachloride; PCL: pentachloraniline; MPCPS: methylpentachlorophenyl sulfide; DDE: dichlorodiphenyl dichloroethylene; DDD: dichlorodiphenyl dichloroethane; DDT: dichlorodiphenyl trichloroethane

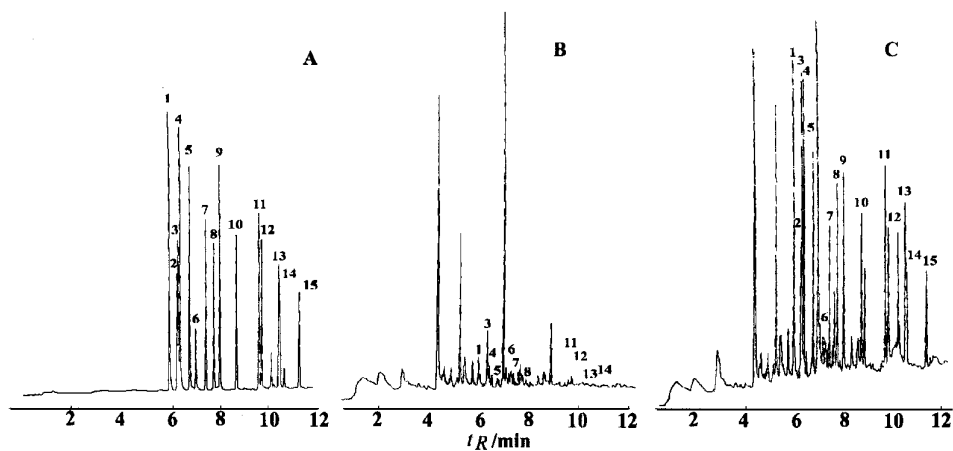


Fig 1 Chromatograms of 15 pesticide standards (A) , sample extraction (B) and spiked mixed pesticide standards in sample (C)

1. α -BHC; 2. β -BHC; 3. γ -BHC; 4. PCNB; 5. δ -BHC; 6. PCL; 7. HEPT; 8. MPCPS; 9. ALD; 10. HCE; 11. p, p' -DDE; 12. DIE; 13. p, p' -DDD; 14. o, p' -DDT; 15. p, p' -DDT

6 精密度试验

取 4 项下 20 倍混合标准稀释液重复进样 5 次, 得到 α -BHC, β -BHC, γ -BHC, PCNB, δ -BHC, 五氯苯胺, 七氯, 甲基五氯苯基硫醚, 艾氏剂, 环氧七氯, p, p' -DDE, 狄氏剂, p, p' -DDD, o, p' -DDT 和 p, p' -DDT 的相对标准偏差 RSD(%) 分别为 1.2, 2.9, 6.2, 3.4, 2.2, 5.1, 5.1, 4.2, 6.7, 4.5, 6.1, 2.5, 6.9, 5.9 和 5.9。

7 回收率试验

精密称取样品 9 份, 分 3 个水平添加混合标准品溶液, 每水平重复 3 次, 混匀, 自然晾干后, 按上述条件提取、净化、测定并计算回收率, 结果见表 2。

8 样品测定

取甘草样品制备供试品溶液, 按上述气相色谱条件测定, 以外标法峰高计算, 得到甘草 7 个样品中 15 种有机氯农药的含量, 见表 3。

Tab 2 Recoveries and RSD of 15 organochlorine pesticides ($n = 3$)

Pesticide	Added/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	Found/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	Recovery/ %	RSD/ %
α -BHC	50	53.5	95.9	2.8
	100	106.3	100.7	3.3
	150	174.5	112.6	5.3
β -BHC	65	65.5	100.7	9.8
	130	133.7	102.8	2.9
	195	190.0	97.5	17.8
γ -BHC	50	54.5	96.9	7.7
	100	109.3	103.3	5.2
	150	147.1	94.0	3.9
PCNB	56	58.2	97.7	11.0
	112	112.7	97.5	5.3
	168	169.1	98.6	5.4
δ -BHC	50	47.4	91.9	7.5
	100	97.9	96.5	5.1
	150	135.0	89.1	2.8
PCL	50	49.6	92.5	14.8
	100	105.5	102.1	3.8
	150	151.6	98.8	3.5
HEPT	50	100.7	96.8	3.1
	100	152.1	99.8	3.4
	150	204.2	101.3	0.7

Continued

Pesticide	Added/ ng·g ⁻¹	Found/ ng·g ⁻¹	Recovery/ %	RSD/ %
MPCPS	50	49.5	95.7	10.0
	100	102.5	100.9	2.5
	150	180.5	119.2	5.6
ALD	36	26.9	74.7	11.7
	72	66.5	92.4	7.7
	108	114.0	105.5	8.8
HCE	51	38.3	75.1	10.4
	102	94.7	92.9	3.4
	153	168.6	110.2	4.3
<i>p, p'</i> -DDE	50	53.4	84.4	8.7
	100	105.6	94.4	2.5
	150	180.9	113.1	4.7
DIE	50	61.5	96.5	2.4
	100	107.9	94.7	8.3
	150	157.7	96.3	5.8
<i>p, p'</i> -DDD	50	53.0	95.1	10.9
	100	100.8	95.4	2.8
	150	146.6	94.1	5.3
<i>o, p'</i> -DDT	50	56.9	91.4	5.2
	100	113.8	102.6	5.6
	150	175.7	109.7	18.9
<i>p, p'</i> -DDT	50	44.4	88.8	6.5
	100	88.1	88.1	2.0
	150	153.6	102.4	3.6

Tab 3 Contents of 15 organochlorine pesticides in samples

Sample No.	Pesticide/ mg·kg ⁻¹															
	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	PCNB	δ -BHC	PCL	HEPT	MPCPS	ALD	HCE	<i>p, p'</i> -DDE	DIE	<i>p, p'</i> -DDD	<i>o, p'</i> -DDT	<i>p, p'</i> -DDT	
1	35.2	6.3	14.0	-	-	9.6	34.9	3.7	1.1	0.9	2.9	2.9	1.5	3.0	33.9	
2	14.1	19.3	11.2	-	3.5	8.0	22.9	3.1	2.1	-	5.7	15.6	3.9	25.4	3.6	
3	4.4	7.9	3.4	2.2	-	-	16.6	0.9	1.1	-	1.9	-	0.9	-	4.4	
4	5.9	3.5	4.1	9.6	1.5	-	16.5	5.9	2.0	-	1.5	8.0	1.1	2.0	2.4	
5	5.6	-	6.1	3.5	1.4	3.4	52.3	1.6	-	-	11.2	13.2	5.5	11.2	-	
6	1.4	1.8	1.3	1.4	-	-	9.2	-	1.1	-	0.6	-	-	0.7	1.5	
7	4.1	12.3	4.4	3.4	-	0.7	18.5	-	2.0	-	3.1	-	0.8	3.5	8.6	

1. Ningxia; 2. Yanchi, Ningxia (cultivated for 3 years); 3. Yanchi, Ningxia (wildness); 4. Wulumuqi, Xinjiang; 5. Rongyang, Henan (cultivated); 6. Chifeng, Neimenggu (cultivated); 7. Huhehot, Neimenggu

讨 论

有机氯农药分析方法, 可选用 SE-30, SE-54, SPB-608, SPB-1701 等毛细管柱, 以克服使用填充柱的弊端(分离效果不好, 且易将五氯硝基苯与 BHC 异构体混淆)。本文所选用的 DB-5 石英毛细管柱, 可在 12 min 内完成 15 种有机氯农药的分析, 绝大多数农药达到基线分离。作者曾用 SPB-608 柱对这 15 种农药进行分离, 但效果不理想。SPB-1701 柱也可取得满意效果。

本文采用超声处理的在线农药提取法, 样品的

提取与液液分配在同一器皿中完成, 且只需取出部分有机相, 简化了操作, 提高了效率, 减少了损失; 净化过程也十分简单。研究表明, 本法具有灵敏度高、重复性好的特点, 值得推广应用。

REFERENCES:

- [1] Wang HL, Chen JM, Zhang SM. GC-ECD determination of residual organochlorine pesticides in American ginseng (*Panax quinquefolium*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (in Chinese), 1998, 29(6): 381 - 384.
- [2] Wang HL, Chen JM, Zhang SM. Determination of residue of organochlorine pesticides in *Radix Astrali* and

- Radix Glycyrrhizae* [J]. *Chin J Pharm Anal* (in Chinese) , 1998 ,**18**(5) :325 - 329 .
- [3] Wang YH, Rong H. Determination of organic chloride pesticide residues in Ginseng with capillary gas chromatography[J]. *Chin J Anal Chem*(in Chinese) , 1994 ,**22**(9) :931 - 934 .
- [4] Jing YQ, Zhang JJ, Yu HW, *et al.* Analysis of organochlorine pesticide residues in cultivated medicinal plants[J]. *Chin Pharm J*(in Chinese) , 1989 ,**24**(9) :529 - 531 .
- [5] Lino CM, Silverira MIN. Extraction and clean-up methods for the determination of organochlorine pesticide residues in medicinal plants[J]. *J Chromatogr A* , 1997 , **769**(2) :275 - 283 .
- [6] Molto JC, Lejellne B, Prognon P, *et al.* GC-MS determination of organochlorine pesticides in five medicinal plants[J]. *Int J Environ Anal Chem* , 1994 ,**54**(1) :81 - 91 .

DETERMINATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDE RESIDUES IN *GLYCYRRHIZA URALENSIS* FISCH. BY CAPILLARY GAS CHROMATOGRAPHY WITH ELECTRON CAPTURE DETECTOR(CGC-ECD)

ZHANG Shu ming¹ , GUO Huaizhong² , CHEN Jiar min¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development , Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College , Beijing 100094 , China ; 2. Baoding Institute for Drug Control , Baoding 071051 , China)

ABSTRACT: **AIM** To determine 15 organochlorine pesticide residues in *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. by capillary gas chromatography with electron capture detector(CGC-ECD) . **METHODS** Samples were extracted with mixed solvents by ultrasonic , then cleaned up by a column packed with Florisil . The capillary column was DB-5(15 m × 0.32 mm × 0.25 μm) ; injector temperature was 240 °C ; detector temperature was 320 °C ; the column temperature program : initial 100 °C(hold 0.5 min) , rate of 20 °C • min⁻¹ to 210 °C(hold 0.5 min) , rate of 8 °C • min⁻¹ to 240 °C(hold 5 min) . The column head pressure was 58.84 kPa . The pesticide residues were calculated by external standard method . **RESULTS** The average recoveries and RSD ranged from 74.7 % to 119.2 % and 0.7 % to 18.9 % respectively , at three spiked mixed organochlorine pesticide levels . **CONCLUSION** The method is easy in operation and has good separation and repeatability .

KEY WORDS: *Glycyrrhiza uralensis* ; organochlorine pesticides ; capillary gas chromatography