

· 研究论文 ·

白芍和黄连中十五种有机氯和拟除虫菊酯类 农药的多残留分析方法

吴加伦*, 邹耀华, 李丽青

(浙江大学 农药与环境毒理研究所, 浙江 杭州 310029)

摘要:建立了白芍和黄连两种中药材中六六六、滴滴涕、艾氏剂、五氯硝基苯、甲氰菊酯、氯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯等农药的多残留气相色谱分析方法。在索氏提取器中以石油醚(60~90℃)为溶剂提取样品,提取液经氧化铝与弗罗里硅土的混合柱净化,采用农残分析专用柱农残柱分离,GC-ECD检测器检测农药的残留量。方法的最小检出量(LOD)为0.0005~0.0060 ng,最低检测浓度(LOQ)为0.005~0.050 mg/kg;3个添加水平农药的平均回收率为79.8%~114.6%,相对标准偏差(RSD)均小于10%(n=6)。

关键词:中药材;白芍;黄连;有机氯;拟除虫菊酯;农药多残留分析

中图分类号:O657.71

文献标识码:A

文章编号:1008-7303(2006)01-0065-06

Multi-residue Analysis of Fifteen Organochlorine and Pyrethroid Insecticides in Radix paeoniae Alba and Rhizoma coptidis

WU Jia-lun*, ZOU Yao-hua, LIL i-qing

(Institute of Pesticide and Environmental Toxicology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: A method for rapid determination of fifteen organochlorine and pyrethroid insecticide residues (included γ -HCH, δ -HCH, α -HCH, β -HCH, p,p'-DDE, o,p'-DDT, p,p'-DDD, p,p'-DDT, PCNB, aldrin, fenprothrin, permethrin, cypermethrin, fenvalerate, deltamethrin) in two kinds of Chinese crude drugs (Radix paeoniae Alba and Rhizoma coptidis) were developed. The sample was extracted in Soxhlet with petroleum ether (60~90℃) and cleaned up with the mixture of aluminum oxide-florisil (5 g and 7 g), detected by GC-ECD. The limit of detection (LOD) of 15 organochlorine and pyrethroid insecticides were 0.0005~0.0060 ng, and the limit of quantitation (LOQ) of the method for 15 organochlorine and pyrethroid insecticides in Radix paeoniae Alba and Rhizoma coptidis were 0.005~0.050 mg/kg, and fortified recovery of pesticides at three levels were 79.8%~114.6%, the RSD were below 10% (n=6).

Key words: Chinese crude drug; Radix paeoniae Alba; Rhizoma coptidis; organochlorine; pyrethroid; pesticide multi-residue analysis

有机氯农药由于其杀虫效果显著,曾是各国
用量最大的杀虫剂。其中六六六和滴滴涕使用历

史长、范围广、用量大,虽已禁用多年,但由于其半
衰期长、不易降解和代谢,所以仍长期积存于土壤

收稿日期:2005-08-08;修回日期:2005-11-15.

作者简介: *吴加伦(1956-),男,通讯作者,浙江嘉兴人,副教授,硕士生导师,主要从事农药环境毒理和农药残留分析研究工作。联系电话:
0571-86971221; E-mail: jlwu@zju.edu.cn

和植物中,几乎在所有土壤和中药材样品中都有检出^[1~6]。有报道显示,川芎、丹参、人参、黄芪、白芍、甘草、菟丝子中的六六六总残留量达 11.91~493.40 mg/L^[6]。拟除虫菊酯是目前用量较大的一类农药,该类农药有一定的蓄积性,部分品种对人体有致畸、致突变作用^[7]。因此,关于有机氯和拟除虫菊酯两类农药在食品和中药材中的残留一直是人们比较关注的问题。中药材中六六六、DDT或其他单个有机氯^[1~6]及拟除虫菊酯类^[8~10]农药残留的检测方法已有报道,但对多种有机氯和多种拟除虫菊酯类农药残留同时检测的研究报道较少,主要集中在食品方面^[11~14],对中药材中的多种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留同时检测的报道就更少。Dhananjay等^[15]报道了中药材中硫丹、三氯杀螨醇、氯菊酯、氯氰菊酯和溴氰菊酯等几种农药的检测方法,其中未包括六六六、DDT等重要异构体和五氯硝基苯;万益群等^[16]报道了中药材中多种有机氯和拟除虫菊酯类农药的检测方法,但未包括我国药典和我国外贸部提出的“药用植物及制剂进出口绿色行业标准”中规定需要检测的五氯硝基苯和欧盟要求的氯菊酯等农药。随着我国加入 WTO 后中药材及其制剂出口贸易的进一步扩大,产品的农药残留问题日趋突出。笔者根据药典和“药用植物及制剂进出口绿色行业标准”的要求,以及欧盟、日本等国对我国中药材及汉方制剂出口产品中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留检测的要求,开发了白芍和黄连中六六六及滴滴涕的重要异构体和艾氏剂、五氯硝基苯、甲氰菊酯、氯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯等农药的多残留分析方法,以期我国的中药材及其制剂出口提供经济、有效、可靠的农药残留检测方法。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及药剂

1.1.1 试剂 所有试剂均为分析纯。石油醚(沸程 60~90,国药集团化学试剂有限公司);无水硫酸钠(兰溪中星化工试剂有限公司,用前在 450 烘 4 h);佛罗里硅土(温州市化学用料厂)。石油醚和乙酸乙酯均经全玻璃装置重蒸;氧化铝

和佛罗里硅土在 650 活化 4 h 后,加质量分数为 5%的水灭活,用前在 130 下烘 4 h。

1.1.2 农药标准品 甲体六六六(-HCH)、乙体六六六(-HCH)、丙体六六六(-HCH)、丁体六六六(-HCH)、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,对滴滴依(p,p-DDE)、五氯硝基苯(PCNB)、艾氏剂(aldrin)、甲氰菊酯(fenpropathrin)、氯菊酯(permethrin)、氯氰菊酯(cypermethrin)、氰戊菊酯(fenvalerate)、溴氰菊酯(deltamethrin),所有标准品均购于中国标准技术开发公司标样部,浓度均为 100 μg/mL,纯度 99%。

1.1.3 混合标样的配制 根据各种农药标准品在气相色谱仪上的响应值不同,用移液管分别吸取适当体积的各农药标准品,用石油醚稀释,使其在混合标样溶液中的浓度(单位 mg/L)分别为: -HCH 0.1、-HCH 0.3、-HCH 0.1、-HCH 0.1、p,p-DDD 0.1、o,p-DDT 0.3、p,p-DDD 0.3、p,p-DDT 0.3、PCNB 0.3、艾氏剂 0.1、甲氰菊酯 0.5、氯菊酯 1.0、氯氰菊酯 0.5、氰戊菊酯 0.5、溴氰菊酯 0.5。再取适当体积的混合标样溶液,分别稀释 2、4、8、16 倍,用于线性范围测定以验证方法的可靠性。配制好的标样放于冰箱中 4 保存备用。

1.1.4 待测样品 白芍 Radix paeoniae Alba 和 黄连 Rhizoma coptidis (由上海养和堂饮片厂提供)。

1.1.5 主要仪器 FULI 9790 气相色谱仪(浙江温岭),带⁶³Ni的 ECD 检测器;AT.RPA II 农残分析专用柱 30 m ×0.53 mm (id) ×0.33 μm (中国科学院兰州化学物理研究所色谱研究开发中心);N2000 色谱工作站(浙江大学智能信息研究所制造)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理 将中药材干样品粉碎,过 20 目筛。取 5 g 样品用滤纸包好放入索氏提取器,加 110 mL 石油醚,加热回流 6 h。提取液经旋转蒸发脱溶浓缩到 2 mL 左右,过佛罗里硅土氧化铝混合净化柱(玻璃层析柱长 25 cm,内径 1.5 cm,上端具 30 mL 的储液杯,层析柱从下至上依次加 2 cm 无水硫酸钠、7 g 佛罗里硅土和 5 g 氧化铝混合物、2 cm 无水硫酸钠),用 30 mL 乙酸乙酯石油醚

(5:95, 体积比, 下同) 预淋, 当溶剂液面到达柱吸附层表面时, 立即倒入样品溶液, 用 100 mL 乙酸乙酯-石油醚淋洗, 收集淋洗液于 K.D. 浓缩器中浓缩至近干, 改用氮气吹干, 用石油醚定容至 1 mL 待测。

1.2.2 气相色谱检测条件 进样口温度: 280 ; 检测器温度: 300 ; 不分流进样。载气: 高纯氮气 (纯度 99.99%, 杭州气体公司提供), 流速 35 mL/min, 尾吹 20 mL/min。升温程序: 初始温度 160 , 保持 5 min; 10 /min 升至 175 , 保持 1.5 min; 40 /min 升至 190 , 保持 3 min; 40 /min 升至 230 , 保持 3.5 min; 最后以 40 /min 升至 260 , 保持 11 min。进样体积: 1 μ L。

2 结果与分析

2.1 仪器精密度试验

在连续测定中药材样品中农药残留的过程中, 准确吸取混合标样溶液 1 μ L, 重复进样 8 次, 用峰面积定量, 得到 γ -HCH、PCNB、 α -HCH、艾氏

剂、 γ -HCH、 α -HCH、p,p'-DDE、o,p'-DDT、p,p'-DDD、p,p'-DDT、甲氰菊酯、氯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯峰面积的 RSD (%) 分别为 3.42、2.14、4.53、4.75、3.25、2.67、2.89、4.68、5.64、1.51、4.85、1.68、2.64、5.60、3.54, 符合国家标准要求, 表明分析仪器具有较好的精密度。

2.2 线性回归方程与最小检出量

用所配好的 5 个浓度的混合标样做线性回归分析, 以峰面积定量, 得到有机氯和拟除虫菊酯类农药的线性回归方程、相关系数及最小检出量 (见表 1)。

2.3 方法的验证及空白样品测定

准确称取白芍和黄连样品, 分别加入一定量混合标准溶液, 共设 3 个添加水平, 每个添加水平重复 6 次, 按“1.2.1”和“1.2.2”项操作进行测定, 计算回收率及相对标准偏差, 结果见表 2。标准品和白芍相应样品的色谱图见图 1~3, 黄连的色谱图与白芍类似, 略去。

Table 1 Standard curve equation, correlation coefficient, limit of detection and limit of quantitation

Pesticides	Standard curve equation	Correlation coefficient	Limit of detection (LOD) / ng	Limit of quantitation (LOQ) / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
γ -HCH	$Y = 546.183.26x + 7.021.51$	0.9993	0.0005	0.005
PCNB	$Y = 512.083.4.83x - 29.659.25$	0.9982	0.0002	0.015
α -HCH	$Y = 856.732.2.36x + 111.97.45$	0.9969	0.0005	0.005
Aldrin	$Y = 785.659.0.10x + 909.4.33$	0.9983	0.0005	0.005
δ -HCH	$Y = 201.023.3.19x - 598.4.20$	0.9961	0.0020	0.015
β -HCH	$Y = 604.052.7.52x - 586.9.04$	0.9972	0.0005	0.005
p,p'-DDE	$Y = 433.557.8.49x + 965.6.33$	0.9914	0.0005	0.005
o,p'-DDT	$Y = 275.102.6.59x - 336.33.04$	0.9971	0.0020	0.015
p,p'-DDD	$Y = 229.421.2.47x + 104.4.00$	0.9939	0.0020	0.015
p,p'-DDT	$Y = 303.083.4.48x - 654.8.70$	0.9956	0.0020	0.015
Fenprothrin	$Y = 134.996.2.32x + 794.8.00$	0.9882	0.0040	0.025
Permethrin	$Y = 686.840.75x + 113.00.20$	0.9974	0.0060	0.050
Cypermethrin	$Y = 200.204.0.64x + 164.8.62$	0.9932	0.0040	0.025
Fenvalerate	$Y = 218.204.9.03x - 248.8.00$	0.9933	0.0040	0.025
Deltamethrin	$Y = 265.788.3.48x - 249.44.12$	0.9839	0.0040	0.025

Note: Y means the peak of the standard, x means the concentration of the standard, and the linearity of standard curve equation was well in three fortified concentration.

Table 2 Fortified recovery of pesticides and pesticide residues in tested controlling samples (n = 6)

Pesticides	Radix paeoniae Alba						Rhizoma coptidis									
	Recovery		RSD		Recovery		RSD		Recovery		RSD		Recovery		RSD	
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
- HCH	88.0	3.6	98.1	5.2	95.6	3.8	ND	90.1	3.6	95.9	6.3	102.1	5.1	0.010		
PCNB	90.3	1.6	98.8	6.5	80.8	8.6	ND	86.2	4.5	79.8	3.0	95.6	0.6	ND		
- HCH	92.5	3.3	99.3	1.5	108.4	6.3	ND	88.5	4.8	103.9	1.8	95.3	1.1	ND		
Aldrin	89.4	5.7	95.0	3.9	99.4	8.0	ND	91.5	7.2	106.2	4.3	92.4	2.5	ND		
- HCH	82.5	6.9	100.1	2.7	105.1	4.5	0.015	96.4	6.4	90.1	5.5	101.2	2.6	0.018		
- HCH	90.2	5.4	97.4	2.3	103.6	5.1	ND	100.6	4.2	99.1	5.0	85.9	4.2	0.006		
p, p - DDE	96.6	7.5	88.5	6.6	100.5	6.2	0.005	100.5	3.5	86.5	4.8	95.3	1.5	0.005		
o, p - DDT	98.3	3.8	104.0	5.5	90.4	5.3	ND	98.6	6.7	100.5	3.2	86.9	2.4	ND		
p, p - DDD	96.6	5.1	89.5	3.4	106.2	3.9	ND	84.4	2.5	92.5	5.1	98.5	3.4	ND		
p, p - DDT	103.9	4.5	98.5	2.9	101.2	5.1	ND	95.5	2.8	90.2	5.9	100.5	4.2	ND		
Fenprothrin	88.7	6.5	90.4	4.3	82.4	9.4	ND	100.3	1.1	103.9	4.1	102.0	3.1	ND		
Permethrin	80.3	3.9	90.5	8.5	86.4	3.5	ND	98.6	2.3	105.1	3.4	99.2	5.8	ND		
Cypermethrin	105.5	5.9	95.5	6.1	88.3	6.1	ND	94.6	1.8	105.9	3.1	99.5	7.0	ND		
Fenvalerate	100.6	5.8	88.4	6.8	90.6	5.0	ND	92.5	6.9	112.3	2.6	95.8	3.6	ND		
Deltamethrin	100.6	5.2	106.4	7.5	100.6	2.9	ND	96.8	2.8	114.6	5.1	102.5	1.9	ND		

Note: Fortified concentration of , , means samples were fortified mixed standards 5.00, 0.50 and 0.25 mL, ND means not detected. B blank means pesticide residues of controlling samples, and the units was mg/kg.

3 讨论

以石油醚为溶剂,采用索氏抽提器提取样品,提取液经氧化铝与弗罗里硅土混合柱净化,通过配备农残分析专用柱(农残柱)、带电子捕获检测器(ECD)的气相色谱仪检测白芍和黄连中有机氯和拟除虫菊酯类农药的残留量,该方法的最小检出量(LOD)为0.0005~0.0060 ng,最低检测浓度(LOQ)为0.005~0.050 mg/kg,3个添加水平农药的平均回收率为79.8%~114.6%,相对标准偏差均小于10%(n=6)。从表2中的测定结果看,供试样品中均能检出有机氯农药六六六和滴滴涕,说明尽管有机氯农药早已被停用,但因其化学性质稳定,在土壤中不易降解,所以还需要不断地监测这些农药的残留状况。

按文献方法,笔者对两种不同溶剂和两种不同净化方法进行了比较,分别采用石油醚^[3]及石油醚和丙酮的混合溶剂提取^[2,4,5],弗罗里硅土^[13]及弗罗里硅土和中性氧化铝^[9]的混合柱净化。结果表明,两种提取方法都能将残留农药提取出来,但是混合溶剂提取的杂质成分较多,采用上述两

种柱净化,效果均不十分理想。单独采用石油醚提取后经弗罗里硅土柱净化,效果也不理想,但采用弗罗里硅土和中性氧化铝的混合柱净化,效果较好,回收率较高,能达到农药残留分析的要求。在淋洗液的选择中,选用乙酸乙酯-石油醚(5:95,体积比)淋洗^[13]效果较理想,加大乙酸乙酯在混合溶剂中的比例,虽然回收率较好,但杂质峰干扰较大。本实验分别对HP-5毛细管石英柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)和农残分析专用柱(农残柱,30 m × 0.53 mm × 0.33 μm)的分离效果进行了比较,结果显示,虽然HP-5柱和农残柱均能达到农药残留分析的要求,但农残柱柱径大,出峰快,分析时间比较短。

我国有中药材品种一万多种,在医疗保健及对外贸易中起着重要的作用,从目前大量种植的情况来看,农药残留问题将是影响中药材质量和出口的重要因素之一。本研究建立的白芍和黄连中15种有机氯和拟除虫菊酯类农药多残留的毛细管气相色谱测定方法,对其他中药材中有机氯和拟除虫菊酯类农药的多残留检测将具有一定的参考价值。

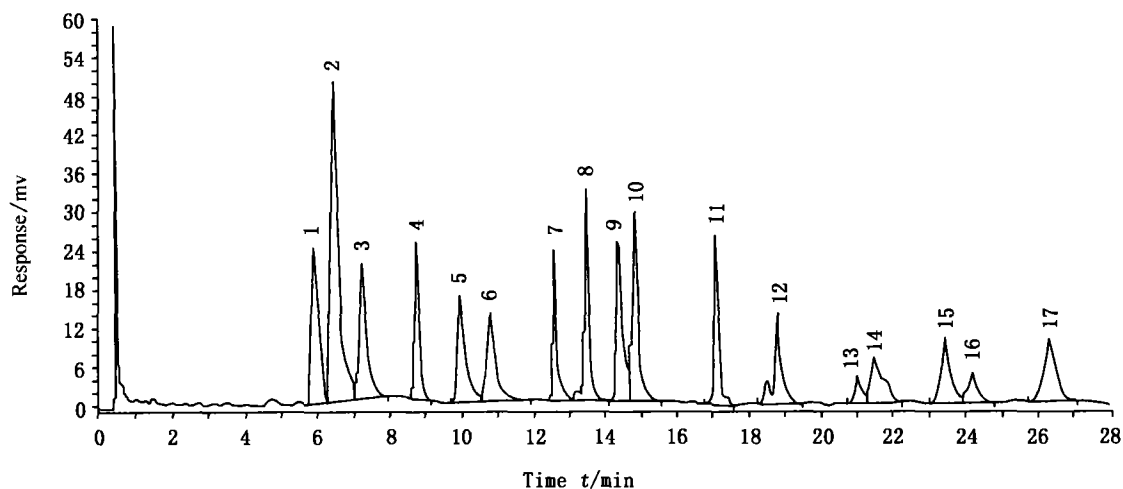


Fig 1 Standard chromatogram of fifteen organochlorine and pyrethroid insecticides

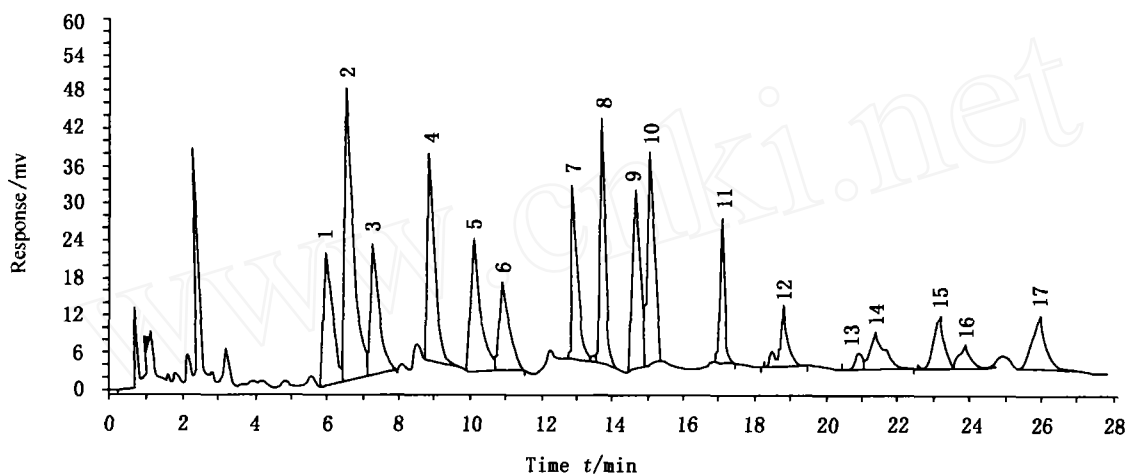


Fig 2 Chromatogram of fortified recovery of pesticides in *Radix paeoniae Alba*

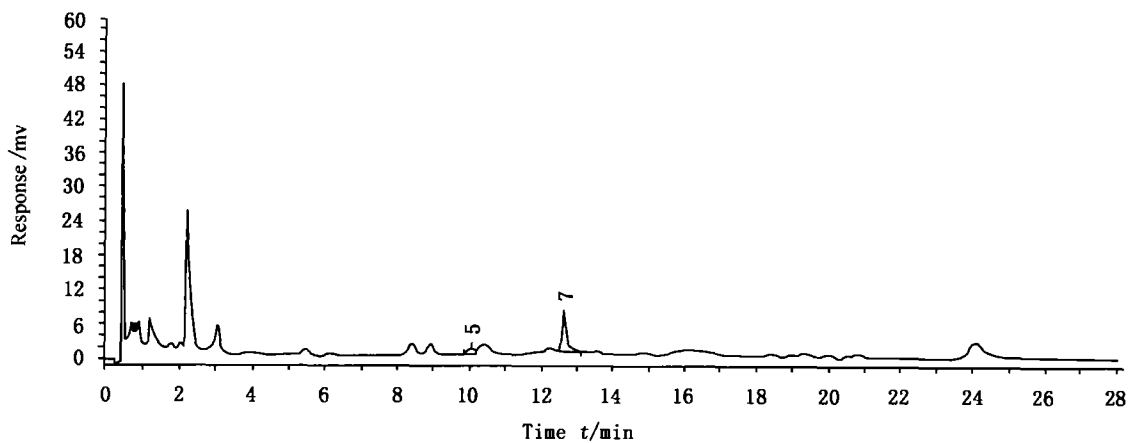


Fig 3 Control chromatogram of *Radix paeoniae Alba* sample

1. γ -HCH; 2. PCNB; 3. α -HCH; 4. Aldrin; 5. β -HCH; 6. δ -HCH; 7. p, p'-DDE; 8. o, p'-DDT; 9. p, p'-DDD; 10. p, p'-DDT; 11. fenprothrin; 12. permethrin; 13, 14. cypermethrin and derivative of cypermethrin; 15, 16. fenvalerate and derivative of fenvalerate; 17. deltamethrin.

参考文献:

- [1] YOU Yuan-hang (游远航), QI Shi-hua (祁士华), YE Qin (叶琴), et al 土壤环境有机氯农药残留的研究进展 [J]. Resources Environ & Engin (资源环境与工程), 2005, 19 (2): 115-118.
- [2] FAN Guang-ping (范广平), HONG Xiao-kun (洪筱坤), WANG Zhi-hua (王智华), et al 几种进口药材中有机氯类农药的残留分析 [J]. Chinese Patent Medicines (中成药), 1996, 18 (11): 40-41.
- [3] ZHOU Chang-zheng (周长征), YANG Chun-shu (杨春澍), WANG Jia-lin (王嘉琳), et al 气相色谱法测定细辛道地药材中有机氯类农药残留量 [J]. China J Chin Materia Medica (中国中药杂志), 1998, 23 (10): 588-590.
- [4] WANG Hui-li (王会丽), CHEN Jian-min (陈建民), ZHANG Shu-ming (张曙明). 黄芪、甘草中有机氯农药残留量的气相色谱检测 [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1998, 18 (5): 325-329.
- [5] YAN Zheng (阎正), ZHANG Ya-li (张亚莉), FENG Tian-zhu (冯天铸). 毛细管气相色谱法测定 5 种中草药中有机氯农药的残留量 [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2003, 31 (1): 95-98.
- [6] YANG Shu-liang (杨书良), LIN Ning-sheng (凌宁生), ZHONG Hong-guo (钟宏国), et al GC 法测定川芎等 7 味中药材中六六六的残留量 [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs (中草药), 2002, 33 (5): 423-424.
- [7] ZHENG Wei-hua (郑伟华), ZHAO Jian-zhuang (赵建庄), MA De-ying (马德英), et al 溴氰菊酯的毒性和致突变性的研究进展 [J]. J Beijing Agric College (北京农学院学报), 2004, 19 (1): 77-80.
- [8] GAO Tian-bing (高天兵), ZHANG Shu-ming (张曙明), TIAN Jin-gai (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]. J Instrumental Anal (分析测试学报), 1999, 18 (2): 6-9.
- [9] GAO Tian-bing (高天兵), ZHANG Shu-ming (张曙明), TIAN Jin-gai (田金改). 中药材中拟除虫菊酯类农药残留的毛细管气相色谱测定方法 [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 1999, 19 (5): 313-316.
- [10] TANG Feng (汤锋), YUE Yong-de (岳永德), HUA Rimao (花日茂), et al 板蓝根中三种拟除虫菊酯杀虫剂的残留分析 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2001, 3 (1): 69-72.
- [11] LIU Yong-bo (刘永波), JIA Li-hua (贾立华), NIU Shu-yan (牛淑妍), et al 固相萃取气相色谱质谱联用法快速检测蔬菜水果中 44 种有机氯和拟除虫菊酯多残留的研究 [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2005, 33 (2): 290.
- [12] LI Ying (李樱), CHU Xiao-gang (储晓刚), ZHONG Wei-ke (仲维科), et al. 凝胶渗透色谱气相色谱同时测定糙米中拟除虫菊酯有机氯农药和多氯联苯的残留量 [J]. Chin J Chromatography (色谱), 2004, 22 (5): 551-554.
- [13] ZHANG Rong-jie (张榕杰), LIU Hong-li (刘红丽), ZHAO Bao-zhen (赵宝珍). 有机氯和拟除虫菊酯类农药多组份残留的毛细管柱气相色谱分析 [J]. Chin J Health Lab Tech (中国卫生检验杂志), 1997, 7 (6): 354-355.
- [14] Colum é A, C ádenas S, Gallego M, et al. Semiautomatic multiresidue gas chromatographic method for the screening of vegetables for 25 organochlorine and pyrethroid pesticides [J]. Analytica Chimica Acta, 2001, 436 (1): 153-162.
- [15] Dhananjay K T, Vipin K, Adarsh S. Leaching of pesticides in herbal decoction [J]. Chemical Health & Safety, 2004, 11 (4): 25-29.
- [16] WAN Yi-qun (万益群), YAN Ai-ping (鄢爱平), XIE Ming-yong (谢明勇). 中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留量的测定 [J]. Chin J Anal Chem (分析化学), 2005, 33 (5): 614-618.

(Ed. TANG J)