

湖南省部分市售药材中有机氯农药残留情况研究

马虹英^{1,2}, 李新中^{1,2}, 徐平声¹, 饶燕² (1. 中南大学湘雅医院药剂科, 湖南 长沙 410008; 2. 中南大学药学院, 湖南 长沙 410078)

摘要:目的 考察湖南省部分市售药材中有机氯农药:六六六(BHC),滴滴涕(DDT),五氯硝基苯(PCNB)残留量情况。方法 采用毛细管气相色谱法,样品用石油醚提取,以浓硫酸磺化,采用 DM-1701 毛细管柱(0.53 mm×30 m,1 μm)及电子捕获检测器(ECD),外标法计算含量。结果 高、中、低 3 个浓度的平均加样回收率为 89.31%~102.46%,RSD 为 0.5%~8.9%。结论 本方法快速简便,适用于药材中有机氯农药残留量的测定。

关键词:中药材;有机氯农药残留量;气相色谱法;电子捕获检测器

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:1001-2494(2005)16-1260-04

Studies on determination of organochlorine pesticide residues in parts of medicinal plants in Hunan market

MA Hong-ying^{1,2}, LI Xin-zhong^{1,2}, XU Ping-sheng¹, RAO Yan² (1. Department of Pharmacy, Xiangya Hospital, Central Southern University, Changsha 410008, China; School of Pharmaceutical Sciences, Central Southern University, Changsha 410078, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To determine the residues of organochlorine pesticide BHC, DDT, PCNB in Chinese herbal medicine by GC for investigating the residues in the parts of herbs in Hunan market. **METHODS** The samples were extracted by petroleum ether and purified with sulfuric acid. The column was DM-1701(0.53 mm×30 m, 1 μm). The electron capture detector(ECD) and the external standard method were used. **RESULTS** The average recoveries and RSDs ranged from 89.31% to 102.46% and 0.5% to 8.9% at the high, middle and low concentrations, respectively. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and has good separation.

KEY WORDS: Chinese herbal medicine; organochlorine pesticide residues; GC; ECD

有机氯类农药作为一类广谱杀虫剂曾在农业上广泛使用,由于长期在水域,土壤中储存,造成全球性的环境污染,目前在某些中药材中也能检测出^[1-7]。为了解中药材农药污染情况,世界上的一些国家早已着手该方面的研究工作。中国药典 2000 年版已首次将有机氯农药残留量检测方法收载于附录之中^[8],并对甘草和黄芪规定了限量标准。药典收载的方法操作步骤较繁琐,笔者建立了一种新的简便快速准确的分析方法,并对部分湖南省市售药材中有机氯农药残留量进行测定。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

日本岛津 GC-14B 气相色谱仪(⁶³Ni 电子捕获检测器),江申工作站,KS-6000 超声波清洗仪(宁波科生仪器厂)。

1.2 农药对照品

六六六(BHC)包括 α-BHC, β-BHC, γ-BHC, δ-BHC 4 种异构体;滴滴涕(DDT)包括 p, p'-DDE, p, p'-DDD, o, p-DDT, p, p'-DDT 4 种异构体;五氯硝基

苯(PCNB),以上 9 个对照品溶液质量浓度均为 0.1 g·L⁻¹(国家标准物质研究中心)。

1.3 实验样品

湖南部分市售药材(百合,玉竹,白术,丹皮,土茯苓,乌药,香附,鱼腥草,西洋参,西蒙叶,金钱草,重楼,甘草,金银花,连翘,茵陈,玄参,厚朴,黄芩,黄精,三七粉等)。经本院李新中主任药师鉴定为正品。

1.4 试剂

石油醚(60~90℃),加入少量固体 NaOH 重蒸馏并用无水硫酸钠脱水后备用。其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

DM-1701 弹性石英毛细管柱(0.53 mm×30 m, 1 μm),进样口温度 250℃,检测器温度 260℃,升温程序为初始温度 220℃,保持 4 min,以 5℃·min⁻¹速率升至 260℃,保持 5 min,柱前压 50 kPa,载气为高纯 N₂。尾吹气 50 mL·min⁻¹,不分流进样,进样量 2 μL。在此色谱条件下,各农药的出峰顺序见图 1。

基金项目:湖南省中医管理局项目(204102)

作者简介:马虹英,女,硕士,主管药师 Tel:(0731)4327265

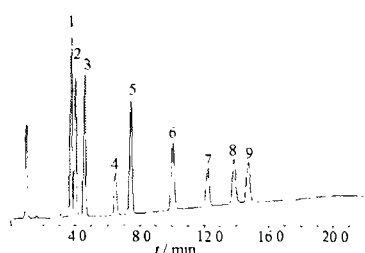


图1 9种农药混合对照溶液($\rho = 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)气相色谱图
1- α -BHC;2-PCNB;3- γ -BHC;4- β -BHC;5- δ -BHC;6- p, p' -DDE;7- o, p -DDT;8- p, p' -DDD;9- p, p' -DDT

Fig 1 Chromatograms of pesticide standards($\rho = 100 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)
1- α -BHC;2-PCNB;3- γ -BHC;4- β -BHC;5- δ -BHC;6- p, p' -DDE;7- o, p -DDT;8- p, p' -DDD;9- p, p' -DDT

2.2 工作曲线的绘制

精密量取各农药对照品溶液,用石油醚稀释分别制成 $\rho = 5 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品贮备液。分别量取适量的对照品储备液,用石油醚逐步稀释成 ρ 为 1, 5, 10, 50, 100, 250 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列的混合农药对照稀释溶液。依“2.1”色谱条件分析,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得到相应回归方程,结果见表 1。

表 1 9 种有机氯农药回归方程

Tab 1 Calibration data of 9 organochlorine pesticides

农药	回归方程	r	线性范围/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
α -BHC	$A = 41\ 878\rho - 238\ 643$	0.998 8	1 ~ 250
PCNB	$A = 65\ 754\rho - 108\ 012$	0.999 9	1 ~ 250
γ -BHC	$A = 50\ 108\rho - 321\ 352$	0.998 5	1 ~ 250
β -BHC	$A = 23\ 787\rho - 83\ 247$	0.999 5	1 ~ 250
δ -BHC	$A = 42\ 502\rho - 301\ 099$	0.997 6	1 ~ 250
p, p' -DDE	$A = 50\ 207\rho - 248\ 752$	0.999 1	1 ~ 250
o, p -DDT	$A = 29\ 874\rho - 117\ 971$	0.999 6	1 ~ 250
p, p' -DDD	$A = 35\ 797\rho - 173\ 170$	0.999 0	1 ~ 250
p, p' -DDT	$A = 29\ 717\rho - 171\ 458$	0.998 6	1 ~ 250

2.3 样品溶液的制备

取药材于 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥 4 h,粉碎成细粉,取约 1.0 g,精密称定,置装有 5 mL 石油醚的离心管中,浸泡过夜后超声提取 1 h,离心。取上清液于另一离心管中,残渣再用少量石油醚振荡洗涤 5 次,每次 2 mL,合并提取液,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 以下用氮气吹至近干后自然挥干。残渣用 1 mL 石油醚溶解,并用 0.3 mL 浓 H_2SO_4 磺化,离心,取上清液,进样 2 μL 。

3 结果

3.1 方法的最低检出限

配制一系列低浓度溶液进样,以信噪比($S/N = 3$)测得 α -BHC, PCNB, γ -BHC, β -BHC, δ -BHC, p, p' -DDE, o, p -DDT, p, p' -DDD, p, p' -DDT 最低检测浓度($\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$)分别为 0.2, 0.2, 0.2, 0.6, 0.2, 0.4, 0.6, 0.6, 0.6。

3.2 精密度实验

精密吸取 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 混合对照液 2 μL ,连续进
中国药杂志 2005 年 8 月第 40 卷第 16 期

样 5 次,按“2.1”色谱条件测定,得到 α -BHC, PCNB, γ -BHC, β -BHC, δ -BHC, p, p' -DDE, o, p -DDT, p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 峰面积值的 RSD(%)分别为 2.6, 1.9, 1.9, 2.3, 2.0, 1.8, 1.0, 2.3, 3.2。

3.3 重复性实验

称取三七粉样品 1.0 g,共 5 份,按“2.3”项操作,按“2.1”项色谱条件测定,得到 α -BHC, PCNB, γ -BHC, β -BHC, δ -BHC, p, p' -DDE, o, p -DDT, p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 的 RSD(%)分别为 4.4, 2.4, 5.0, 4.1, 3.3, 3.4, 2.2, 4.7, 2.2。

3.4 加样回收率实验

取金钱草药材粉碎样品各 9 份,每份约 1.0 g,精密称定,分 3 个水平添加混和对照品溶液,每水平重复 3 次,混匀,自然晾干,按“2.3”项下操作测定,所得结果扣除样品中各农药残留量,计算加样回收率,结果见表 2。

表 2 加样回收率实验结果, $n = 3$

Tab 2 Recoveries and RSDs of 9 organochlorine pesticides. $n = 3$

农药	加入量/ $\text{ng} \cdot \text{g}^{-1}$	平均回收率/%	RSD/%
α -BHC	10	99.95	5.9
	50	94.59	2.9
	100	97.15	1.8
PCNB	10	98.29	5.1
	50	94.34	2.4
	100	97.98	4.2
γ -BHC	10	93.06	8.4
	50	93.24	3.4
	100	95.67	1.1
β -BHC	10	92.20	6.2
	50	94.96	4.1
	100	93.35	1.2
δ -BHC	10	89.31	8.9
	50	89.74	6.6
	100	89.73	1.4
p, p' -DDE	10	100.86	6.0
	50	98.28	1.8
	100	100.30	0.5
o, p -DDT	10	98.68	5.7
	50	99.83	1.9
	100	101.03	1.8
p, p' -DDD	10	98.53	6.5
	50	90.91	2.1
	100	97.41	1.9
p, p' -DDT	10	93.53	6.3
	50	98.01	2.3
	100	102.46	1.7

3.5 样品的测定

准确称取各药材样品,按“2.3”项下操作测定,结果见表 3。

4 讨论

4.1 中药农药残留的检测方法有多种,但气相色谱法是农药残留测定的主要分析手段。有机氯农药分析可选用 SE-54^[2,5,8], HP-608^[3], DB-1^[6], OV-

表 3 样品中 BHC, DDT 和 PCNB 残留量测定结果, $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=3$

Tab 3 Contents of BHC, DDT and PCNB in samples, $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$, $n=3$

药材名称	α -BHC	γ -BHC	β -BHC	δ -BHC	总 BHC	p, p' -DDE	o, p -DDT	p, p' -DDD	p, p' -DDT	总 DDT	PCNB
玉竹	-	-	7.0	-	7.0	-	-	-	-	-	-
百合	-	-	5.5	-	5.5	8.3	6.3	9.9	7.5	32.0	16.8
白术	-	6.6	3.9	-	10.5	7.5	4.1	-	-	11.6	10.7
丹皮	-	-	7.9	-	7.9	9.2	-	-	-	9.2	2.9
西蒙	-	6.5	8.6	-	15.1	8.4	5.9	-	7.7	22.0	15.5
乌药	-	-	-	-	-	6.3	-	33.0	-	39.3	22.6
香附	-	20.2	-	12.2	32.4	-	-	6.3	-	6.3	18.8
土茯苓	-	6.5	-	-	6.5	5.6	-	-	8.0	13.6	38.1
鱼腥草	-	7.3	-	-	7.3	-	-	-	-	-	16.8
西洋参	-	-	-	203.7	203.7	8.2	-	-	-	8.2	3167.0
金钱草	5.9	6.6	5.7	9.1	27.3	6.8	5.2	6.4	-	18.4	4.2
重楼	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37.0
甘草	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
金银花	1.2	1.0	1.4	1.4	5.0	40.7	49.0	13.2	295.0	397.9	-
连翘	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
茵陈	-	2.2	-	-	2.2	-	-	-	1.2	1.2	-
玄参	-	-	-	-	-	-	-	2.2	-	2.2	-
厚朴	1.1	-	-	-	1.1	-	-	-	2.7	2.7	-
黄芩	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
黄精	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47.0
三七粉	5.2	1.0	2.8	22.0	31.0	144.8	133.9	12.3	437.3	728.3	898.0

注: - 表示未检出

Note: - below the detection limit

1701^[7]等毛细管柱。本实验通过比较,发现 SE-54 毛细管柱两种口径规格(0.53 和 0.32 mm)对 9 种农药分离不好,HP-1 毛细管柱(0.53 mm)对 BHC 的 4 个异构体的分离不好,国产 OV-1701 毛细管柱(0.53 mm)不能将 p, p' -DDD 和 p, p' -DDT 分离开,而 DM-1701 毛细管柱,可在 15 min 完成 9 种有机氯农药的分析,绝大多数农药达到基线分离。药典和多数文献均采用不同规格的 SE-54 毛细管柱,本实验结论与文献^[7]一致,在分析有机氯农药时选择 OV-1701 毛细管柱较理想。

4.2 本实验曾比较过另两种提取方法:一种是用水和丙酮浸泡药材,再用正己烷提取 3 次,此方法提取率很低;另一种是中国药典 2000 年版的方法,此方法操作繁琐,费时,溶剂消耗大,容易造成农药的损失。由于有机氯农药多为弱极性化合物,在石油醚中有较大的溶解度,含水较少的样品可直接用石油醚振荡提取,直接提取节约了时间,减少了提取步骤,从而减少测定误差,因此本实验采用石油醚少量多次振荡提取的方法,操作简便且能够提取完全。同时通过以下比较:①加入石油醚中直接超声 1 h;②石油醚浸泡过夜后超声 0.5 h;③石油醚浸泡过夜后超声 1 h;④石油醚浸泡过夜后超声 2 h。发现石油醚浸泡过夜后超声 1 和 2 h 提取率最高,因此选择③。

4.3 有机氯农药提取后净化方法主要是在 Stei-

wandter 基础上建立起来的磺化法^[4]。BHC, DDT, PCNB 结构稳定,不易被浓硫酸氧化,而中药材中脂溶性成分一般可被浓硫酸氧化。采用磺化法可除去提取液中的色素、脂肪等脂溶性杂质,加上采用高选择性检测器 ECD,中药材中其他成分干扰测定的可能性较小。实验的提取和净化均在离心试管中进行,去掉了分液漏斗的操作,避免了严重的乳化现象及大量有机试剂造成的环境污染,提高了实验的准确性。

4.4 实验中所用试剂均为分析纯,但石油醚作为溶剂可能含有杂质,在样品处理过程中需要将提取液浓缩,所以杂质也会逐渐浓集,对测定产生干扰。实验前将石油醚加少量固体 NaOH 进行重蒸馏,按实验比例浓缩后进样,不含影响测定的杂质峰。为减少实验过程中水产生的干扰,应将石油醚加入无水硫酸钠脱水。

4.5 中药材中农残分析为痕量分析,浓度在 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 级,实验采用外标法,因此回收率实验中 10 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ 的添加水平 RSD 相对较大,某些回收率也有所偏低。

4.6 中国药典 2000 年版规定甘草、黄芪的总 BHC、总 DDT 含量不得高于 200 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$,PCNB 含量不得高于 100 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[8],参照此标准,本实验所测药材大部分符合药典规定。其中金银花的总 DDT 残留量超标,西洋参中总 BHC,PCNB 残留量超标,三七粉中

人丹质量标准的研究

毛秀红, 吴赵云, 季申* (上海市药品检验所, 上海 200233)

摘要:目的 建立人丹的质量控制标准。方法 对制剂中砂仁、茴香、甘草、胡椒采用显微鉴别法, 并采用薄层色谱法对制剂中肉桂、丁香、木香进行定性鉴别; 同时采用气相色谱法测定制剂中薄荷脑、冰片的含量, 以高效液相色谱法测定儿茶中儿茶素和表儿茶素的含量。结果 薄荷脑、冰片的平均回收率分别为 98.4%, RSD 为 1.76% ($n=6$) 和 97.7%, RSD 为 0.77% ($n=6$); 儿茶素、表儿茶素的平均回收率分别为 99.0%, RSD 为 0.86% ($n=6$) 和 98.2%, RSD 为 1.26% ($n=6$)。显微特征明显, 薄层图谱斑点清晰, 空白无干扰。结论 方法简便、准确、重现性好, 可作为该制剂的质量控制标准。

关键词:人丹; 质量控制; 鉴别; 含量测定

中图分类号:R917 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-2494(2005)16-1263-04

Study on the quality specification of Rendan pill

MAO Xiu-hong, WU Zhao-yun, JI Shen* (Shanghai Institute for Drug Control, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To establish the quality specification of Rendan pill. **METHODS** Fructus Amomi, Fructus Anisi Stellati, Radix Glycyrrhizae and Fructus Piperis were identified by microscopic identification, and Cortex Cinnamomi, Flos Caryophylli and Radix Aucklandiae were identified by TLC. Borneolum syntheticum and mentholum were determined by GC, catechu was determined by HPLC. **RESULTS** The average recovery rate of paeoniflorin were 98.4%, 99.0% and 98.2%, RSD were 0.77%, 0.86% and 1.26%. The microscopic characteristics were obvious. The TLC spots developed were fairly clear, and the blank test showed no interference. **CONCLUSION** The method developed is simple and accurate with good reproducibility, and the method can be used for quality control of the Rendan pill.

KEY WORDS Rendan pill; quality control; identification; determination

人丹处方由砂仁、八角茴香、甘草、胡椒、肉桂、丁香、木香、薄荷脑、冰片、儿茶等 11 味中药组成, 生产工艺采用全生药粉(儿茶除外)与儿茶糯米粉浆制成的糊丸, 临床上用于晕船、晕车、轻度中暑及积食等。为了有效地控制产品质量, 笔者建立了砂仁、八角茴香、甘草、胡椒的显微鉴别, 肉桂、丁香、木香的薄层色谱鉴别, 并采用气相色谱法测定薄荷脑、冰片

及高效液相色谱法测定儿茶素、表儿茶素含量的全面的质量控制方法。结果表明, 建立的方法具有简便、准确、重现性好的优点, 可用于控制人丹的内在质量。

1 仪器与试剂

气相色谱仪: 岛津 GC-15A, FID 检测器; 高效液相色谱仪: Agilent 1100, 二极管阵列检测器。

总 DDT, PCNB 残留量超标。因为有机氯农药脂溶性大, 西洋参、三七含有相当数量的挥发油, 且均为多年生根类, 易受有机氯农药污染, PCNB 残留量尤其高, 可能与西洋参种植过程中常用 PCNB 作土壤消毒剂有关^[5]。本实验测定的各种药材仅一批, 结果仅供参考。

4.7 本实验通过改变有机氯农药测定过程中前处理方法, 缩短分析时间, 节省试剂用量, 方法精密度好、重现性好, 准确快速, 适合推广应用。

参考文献

[1] 韩桂茹, 陈太平, 杨建红, 等. 中药中有机氯农药残留量的研

究[J]. 中国中药杂志, 1996, 21(10): 591.

[2] 张曙明, 郭怀忠, 陈建民. 黄芪、三七和西洋参中多种有机氯农药残留量分析[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 402.

[3] 万绍晖, 赵春杰, 岳淑梅. 毛细管气相色谱法测定当归中有机氯农药[J]. 中国药理学杂志, 2004, 39(1): 22.

[4] Steinwandter H. Fresenius' s universal 5-min on-line method for extracting and isolating pesticide residues and industrial chemicals[J]. J Anal Chem, 1985, 332: 754.

[5] 张曙明, 郭怀忠, 陈建民. 黄芪、三七和西洋参中多种有机氯农药残留量分析[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(7): 402.

[6] 赵春杰, 郝桂明, 李欢欣. 毛细管气相色谱法测定党参中有机氯类农药残留量[J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(7): 527.

[7] 陈建民, 张曙明, 刘慧灵, 等. 中药中有机氯农药残留量检测方法及其限量标准研究[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(2): 79.

[8] 中国药典 2000 年版. 一部[S]. 2000: 附录 IX Q.

(收稿日期: 2004-12-20)

作者简介: 毛秀红, 女, 主管药师

* 通讯作者: 季申, 女, 主任药师

Tel: (021)64829529

Fax: (021)64829529

E-mail: ji_shen@sohu.com

中国药理学杂志 2005 年 8 月第 40 卷第 16 期

Chin Pharm J, 2005 August, Vol. 40 No. 16 • 1263 •