

中药材中拟除虫菊酯类农药残留量的毛细管气相色谱测定方法^{*}

高天兵¹ 张曙明² 田金改¹

(1. 中国药品生物制品检定所 北京 100050,

2. 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)

摘 要 首次建立了中药材中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的提取、净化及其毛细管气相色谱测定法。运用混合溶剂提取, 填有 Florisil 和氧化铝的层析柱净化。样品中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的添加回收率分别为 94.30% ~ 99.34%, 95.17% ~ 101.53% 和 89.12% ~ 100.97%; RSD 分别为 4.02% ~ 8.22%, 1.90% ~ 8.04% 和 3.75% ~ 5.09%。结果表明, 被测样品中除白芍外均含有氰戊菊酯, 个别样品中含溴氰菊酯。实验表明, 该法具有灵敏度高、选择性强、操作简便、净化效果好、适用性广等特点。

关键词 中药材, 拟除虫菊酯, 农药, 残留量, 气相色谱

中药的质量问题包括有效和安全两个方面。随着环境科学的进步, 药品中残存农药对人体健康的危害已被进一步认识。然而, 中国药典、中药标准中均没有收载农药的测定方法, 目前国内外也尚未制定出中药中农药残留量的检测方法和限量标准; 中药的出口检验及中药新药报批中缺少农药残留量的检测项目, 难以与国际接轨, 使得大量中药出口受阻。为了提高中药质量, 使中药走向世界, 建立中药中农药残留量的分析方法, 监测与评价其残留状况显得十分必要。

拟除虫菊酯类农药具有高效、毒性中等, 在防治中药材中同翅目、鳞翅目等害虫有良好效果, 在食品及环境方面, 其残留测定已有一些报道^[1, 2]。但有关中药材中残留量检测的报道很少^[3]。由于中药材成分复杂, 其中农药残留含量往往在 ng ~ pg 级, 使得农药的提取、分离、净化与富集的难度加大。本文建立了一种中药材样品前处理, 使样品净化并富集氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯及用毛细管气相色谱 (CGC) 测定法, 为中药材质量控制提供科学的检测方法和依据。

1 实验部分

1.1 实验材料

农药标准品: 氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯均购于农业部药检所, 纯度大于 95%。

样品: 被测样品均购于药材市场。

1.2 仪器与试剂

美国 PE- Autosystem XL 气相色谱仪 (包括 ⁶³Ni 电子捕获检测器), PE- 5 弹性石英毛细管柱 (30 m 0.32 mm 0.25 μm) (美国 PE 公司), SP3200 超声清洗仪 (上海必能信超声有限公司), Heidolph WB2000 旋转蒸发器 (德国 Heidolph 公司), 玻璃层析柱 (15 cm 1.5 cm)。

丙酮、石油醚 (60 ~ 90 °C) 和乙醚均为分析纯, 且全部经过全玻璃蒸馏装置重蒸馏 (其中石油醚收集 62 ~ 64 °C 馏分), 经气相色谱法确认为符合残留检测的要求。无水硫酸钠和氧化铝均为分析纯, (以上试剂均为国产), Florisil (硅酸镁载体) 购于 Supelco 公司。

1.3 气相色谱条件

进样口温度 270 °C; 检测器温度 320 °C; 柱升温程序: 初始温度 160 °C, 保持 1 min, 以 10 °C/min 升至

^{*} 国家中医药管理局科学基金课题 (95A3413)

收稿日期: 1998-05-14; 高天兵, 男, 30 岁, 药师

240 保持 0.5 min, 以 5 /min 升至 270 保持 15 min; 载气: 高纯氮(纯度> 99.999 9%); 柱前压: 138 kPa; 采用不分流进样: 不分流时间为 3 min, 3 min 后开始分流(分流比为 1:20); 衰减: 1。采用外标法定量。

1.4 标准曲线的绘制

分别精密称取氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯 5、5 和 7.5 mg, 置 50 mL 量瓶中, 加石油醚溶解并稀释至刻度; 再精密吸取 1 mL 置 50 mL 量瓶中, 加石油醚稀释至刻度, 制成储备液。分别精密吸取 5 mL 储备液于 50 mL 量瓶中, 用石油醚稀释成混合标准品溶液。依次精密吸取混合标准品溶液制成 1、5、25、125 倍的稀释液, 按上述色谱条件测定。其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。以峰面积计算, 得到相应农药的回归方程(表 1)。其中 Y 为含量(μg), X 为峰面积。其色谱图见图 1A。

表 1 氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的标准曲线
Table 1 Calibration data of cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin

Pesticide	t_R/min	Regression equation	r
Cypermethrin(氯氰菊酯)	18.35	$Y = -22\,755.45 + 19\,116.98X$	0.999 8
Fenvalerate(氰戊菊酯)	20.27	$Y = -23\,579.78 + 16\,680.02X$	0.999 8
Deltamethrin(溴氰菊酯)	22.77	$Y = -57\,768.66 + 18\,900.95X$	0.999 3

1.5 供试品溶液的制备

1.5.1 样品前处理 精密称取适量样品粉末(1.0 g)于 100 mL 磨口具塞三角瓶中, 加入 30 mL 石油醚-丙酮(体积比为 4:1)混合液, 浸泡过夜, 超声处理 5 min, 过滤, 收集滤液, 滤渣再加 30 mL 混合液, 重复两次, 合并滤液于 100 mL 磨口具塞三角瓶中, 加入适量无水硫酸钠脱水, 于 100 mL 旋转蒸发瓶中, 在 40~45 水浴下浓缩近干, 再用 3~4 mL 石油醚替换并浓缩近干, 重复 2~3 次, 使样品中的丙酮完全除去, 备用。

1.5.2 净化与富集 取 1.5.1 项下样品溶液用石油醚-乙醚(体积比为 4:1)洗脱液转移至经洗脱液处理过的玻璃层析柱(从上至下依次为适量的无水硫酸钠、1 g 氧化铝、4 g Florisil 和适量无水硫酸钠), 并用 90 mL 洗脱液淋洗, 收集全部淋洗液, 于 100 mL 旋转蒸发瓶中, 在 40~45 水浴下浓缩近干, 再用 3~4 mL 石油醚替换并浓缩近干, 重复 2~3 次, 用石油醚溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 作为供试品溶液。

2 结果与讨论

2.1 毛细管柱分离与检测条件选择

拟除虫菊酯类农药分析方法中, 最常用的固定相多为中等极性和弱极性的, 如 OV-1701、SE-54、OV-17 等, 本文选用 PE-5 石英毛细管柱, 在程序升温下, 标准品和样品中各被测成分基本达到了基线分离, 同时两者欲测组分的保留时间相应很好, 以保留时间来定性, 加之使用毛细管柱, 可以克服使用填充柱的弊端(柱效低和分离效果差)。至于样品中的未知成分, 有条件的可采用气相色谱-质谱联用予以定性。

2.2 样品前处理方法的选择

样品的提取: 作者曾采用正己烷-丙酮超声提取两次, 每次 15 min, 滤过, 合并滤液, 置于分液漏斗中, 加入硫酸钠、氯化钠溶液萃取两次, 合并有机相, 浓缩, 除去丙酮至 2 mL。与本法比较, 虽然各色谱峰与经柱层析净化处理的样品基本一致, 但操作繁琐, 故选用本法。

样品的净化: 曾先后选用硅胶、国产硅藻吸附剂、氧化铝、Sep-pak C-18 等进行净化处理, 但去除杂质、消除干扰效果都较差, 考虑到不同类型样品的分离效果及方法的回收率, 选用上述 Florisil, 结果见图 1。

2.3 重复性考察

取混合标准品溶液 1 L 注入气相色谱仪, 测定峰面积, 计算得: 氯氰菊酯 RSD 为 1.15%, 氰戊菊酯 RSD 为 2.60%, 溴氰菊酯 RSD 为 1.50% ($n=5$)。

2.4 加标回收试验

精密称取样品 5 份, 加入 1 mL 混合标准品稀释液(溴氰菊酯 300 g/L、氯氰菊酯 200 g/L 和氰戊菊酯 200 g/L), 混匀, 自然晾干后, 依 1.5、1.3 项操作并计算回收率(表 2)。表 2 结果表明, 本法对 3 种菊酯类农药

的回收率较理想,说明了该法在检测中药材中这 3 种拟除虫菊酯农药的可靠性。

2.5 精密度考察

取甘草样品适量,精密称定,按 1.5、1.3 项操作并计算,其 RSD 为 1.91% ($n=5$)。从 2.3~2.5 项中可以看出本法是可行的。

2.6 样品中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的含量测定结果

按上述操作,经计算得到 4 种中药材共 14 个样品中氯氰菊酯、氰戊菊酯、溴氰菊酯的含量(见表 3)。结果表明,被测样品中除白芍外均含有氰戊菊酯,个别样品中含有溴氰菊酯。根据国家标准原粮含量氰戊菊酯 $0.2\text{ mg/kg}^{[4]}$ 和溴氰菊酯 $0.5\text{ mg/kg}^{[5]}$ 和 FAO/WHO 标准氯氰菊酯 0.2 mg/kg 、氰戊菊酯 2.0 mg/kg 、溴氰菊酯 $1.0\text{ mg/kg}^{[6]}$,上述各药材中 3 种农药均未超标。造成氰戊菊酯污染的原因主要有:(1)中药材种植过程喷施农药中获得并富集;(2)氰戊菊酯结构相对稳定。建议在防治药材病虫害时,必须注意安全、有效和合理地使用农药,采用交替或混合使用农药,一方面可以延缓害虫抗药性的产生,另一方面又可以减少农药使用量,以达到降低药材中残留农药的含量,以提高药材的质量。

2.7 方法的实用性

经过对不同品种、不同产地的中药材样品的分析测定表明:可一次同时测定 3 种拟除虫菊酯。本法是一种实用性强的快速、简便的提取、净化及检测手段,具有灵敏度高、回收率较理想、重复性好的特点,值得推广应用。

有的拟除虫菊酯类农药有异构体(如氰戊菊酯),本试验中所用农药标准品由于纯度较高,未发现有明显的异构体存在。标准品图谱中的杂质峰是否为其异构体尚有待今后试验证明。

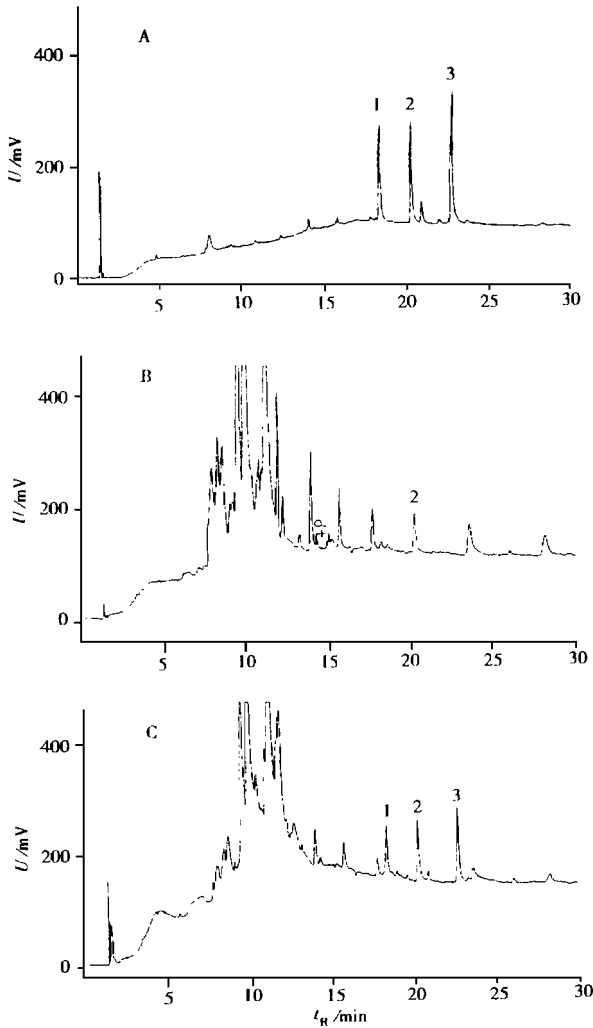


图 1 标准品(A)、三七样品(B)和 加入对照品的三七样品(C)的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of pesticide standards(A), Sanchi(B) and Sanchi added the standards(C)

1 氯氰菊酯(cypermethrin); 2 氰戊菊酯(fenvalerate); 3 溴氰菊酯(deltamethrin)

表 2 氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的回收率 ($n=5$)
Table 2 Recoveries of cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin ($n=5$)

Sample	Cypermethrin		Fenvalerate		Deltamethrin	
	Recovery	RSD	Recovery	RSD	Recovery	RSD
	$R/\%$	$s_r/\%$	$R/\%$	$s_r/\%$	$R/\%$	$s_r/\%$
Liquorice Root(甘草)	94.30	8.22	96.69	6.78	94.88	5.09
Milkvetch Root(黄芪)	96.59	5.12	95.28	8.04	89.12	3.75
White Peony Root(白芍)	99.34	4.02	95.17	1.90	99.27	4.18
Sanchi(三七)	94.75	5.59	101.55	4.52	100.97	4.13

表 3 样品中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯的含量
Table 3 The contents of cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin in samples n= 3, w/10⁻⁹

Sample	Place of origin	Cypermethrin	Fenvalerate	Deltamethrin
Liquorice Root(甘草)	陕西(统 [*]) I(Shanxi)	—	26. 93	—
	内蒙古(统 [*]) (Inner Mongolia)	—	45. 90	—
	包头(Baotou)	—	71. 42	—
	陕西(统 [*]) 2(Shanxi)	—	16. 39	—
	呼和浩特(Huhehote)	—	77. 36	—
Milkvetch Root(黄芪)	内蒙古(统 [*]) (Inner Mongolia)	—	56. 84	—
	山西(统 [*])(Shanxi)	—	72. 30	—
	包头(Baotou)	—	55. 14	—
Sanchi(三七)	昆明硯山(Yanshan Kunming)	—	64. 41	9. 41
	昆明文山(Wenshan Kunming)	—	53. 70	—
	云南(统 [*])(Yunnan)	—	65. 79	—
White Peony Root(白芍)	浙江盘安(Panan Zhejiang)	—	—	—
	山西繁峙(Farzhi Shanxi)	—	—	—
	陕西阜平(Fuping Shanxi)	—	—	—

* 统货(gradeless and unifomly _priced goods)

参 考 文 献

1 Chapman R A, simmons H S. Gas- liquid chromatography of picogram quantities of pyrethroid insecticides. J Ass Offic Anal Chem, 1977, 60(4): 977

2 Talekar N S. Gas- liquid chromatographic determination of _cyano_3_ phenoxybenzyl _isopropyl_ 4_ chlorophenylacetate residues in cabbage. J Ass Offic Anal Chem, 1977, 60(4): 908

3 王敏娟, 袁纭芝, 余 洪等. 庆余肾气丸、复方丹参片中氰戊菊酯分析方法的研究. 中成药, 1995, 17(5): 34

4 杜学勤, 徐继康, 张临夏. GB14928. 5- 94 食品中氰戊菊酯最大残留限量标准. 食品卫生国家标准汇编: 3. 北京: 中国标准出版社, 1995. 85

5 徐继康, 杜学勤, 张临夏. GB14928. 4- 94 食品中溴氰菊酯最大残留限量标准. 食品卫生国家标准汇编: 3. 北京: 中国标准出版社, 1995. 84

6 庄无忌主编. 各国食品和饲料中农药兽药残留量大全. 北京: 中国对外经济贸易出版社, 1995. 842~ 861

Determination of Cypermethrin, Fenvalerate and Deltamethrin Residues in Chinese Herbal Medicines by Capillary Gas Chromatography

Gao Tianbin¹, Zhang Shuming², Tian Jingai¹

(1. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050

2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100094)

Abstract A method for the extraction, clean- up and determination of cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin residues in Chinese herbal medicines has been developed. The pesticides determination was performed by electron capture gas chromatography with a PE- 5 capillary column. Purification of the pesticides was performed by a column(15 cm 1. 5 cm) packed with 4 g Florisil and 1 g Al₂O₃. The results indicated the recovery of cypermethrin, fenvalerate and deltamethrin was 94. 30% ~ 99. 34%, 95. 17% ~ 101. 55% and 89. 12% ~ 100. 97%, RSD was 4. 02% ~ 8. 22%, 1. 90% ~ 8. 04% and 3. 75% ~ 5. 09%, respectively. Fenvalerate was found in each sample except *Paeonia lactiflora* Pall. Cypermethrin was found in some samples. The method has high sensitivity, repeatability and selectivity.

Keywords Chinese herbal medicine, Pyrethroid, Pesticide, Residue, Gas chromatography