

中药中有机磷农药残留量的毛细管 气相色谱测定方法^{*}

张曙明¹ 田金改² 高天兵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. 中国药品生物制品检定所 北京 100050)

摘 要 建立了同时测定中药中 8 种有机磷农药残留量的前处理及其毛细管气相色谱测定法, 选用氮磷检测器和 SPB-1701 毛细管柱, 以丙酮-石油醚混合溶剂提取残留农药。结果表明: 敌百虫、敌敌畏、甲胺磷、二嗪农、乐果、马拉硫磷、甲基对硫磷和对硫磷 8 种农药在 25 min 内有良好的分离; 3 个不同浓度的标准添加, 其回收率范围为 74.96% ~ 116.8%, 相对标准偏差范围为 0.71% ~ 16.91%; 检出限范围为 1.1×10^{-2} ~ 3.36×10^{-1} pg。该法具有灵敏度高、选择性强、操作简便、重现性好、适用性广等特点, 有着良好的应用前景。

关键词 中药, 有机磷, 农药, 残留量, 毛细管气相色谱法

有机磷农药是第二次世界大战后迅速发展起来的一类农药, 具有品种多、药效高、用途广的特点, 它能抑制昆虫体内神经组织中“乙酰胆碱酯酶 AChE”和“胆碱酯酶 ChE”的活性而引起一系列急性中毒症状, 直至死亡。由于该类农药具有急性毒性, 故在中药(尤其是鲜药)中有机磷农药残留量的检测显得更有必要。

有关中药中有机磷农药残留量检测的报道较少^[1~5], 目前中国药典、中药标准中均没有收载有机磷农药残留量的测定方法, 主要原因是中药成分复杂, 而农药残留含量通常在 ng ~ pg 级, 使得农药的前处理(提取、分离、净化与富集)困难。为了提高中药质量, 使中药走向世界, 我们选择在国内应用范围广, 涵盖有机磷 5 类不同化学结构类型的 8 种农药, 建立了同时测定中药中敌百虫、敌敌畏、甲胺磷、二嗪农、乐果、马拉硫磷、甲基对硫磷和对硫磷的前处理及其毛细管气相色谱(GC)法, 为中药的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: 敌百虫(99.4%)、二嗪农(96.10%)、乐果(95.0%)和对硫磷(99.0%)购于农业部药检所; 敌敌畏(99.0%)、甲胺磷(99.0%)、马拉硫磷 1.00 g/L (97.0%)和甲基对硫磷(98.8%)购于国家标准物质研究中心。上面括号内数字均为质量分数。

样品: 被测样品均购于药材市场, 由张继主管药师鉴定; 成药由有关药厂提供。

1.2 仪器与试剂

美国 PE-AutoSystem 气相色谱仪(包括氮-磷检测器), SPB-1701 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, 美国 Supelco 公司), SP 3200 超声清洗仪(上海必能信超声有限公司), Heidolph WB 2000 旋转蒸发器(德国 Heidolph), SPB-1 无噪音无油空气压缩机(北京色谱分析技术研究所), SPH-3600 全自动氢气发生器(北京色谱分析技术研究所)。

丙酮、石油醚(60~90℃)和乙酸乙酯均为分析纯, 全部经过全玻璃蒸馏装置重蒸馏(其中石油醚收集 62~64℃馏分), 经气相色谱法确认为符合残留检测的要求。

1.3 色谱条件

进样口温度 220℃; 检测器温度 280℃; 柱升温程序: 初始温度 50℃, 保持 1 min, 以 10℃/min 升至 230℃, 保持 10 min; 载气: 高纯氮(纯度 > 99.999%); 柱前压: 138 kPa; 氢气流量为 2 mL/min, 空气流量为 100

^{*} 国家中医药管理局科学基金资助课题(95A3413)

收稿日期: 1999-05-05; 张曙明, 男, 34 岁, 副研究员

mL/min; 采用不分流进样, 外标法定量。

1.4 供试品溶液的制备

精密称取适量样品粉末(≈ 1.0 g) 置于 100 mL 磨口三角瓶中, 加入 50 mL 石油醚- 丙酮(体积比 2: 1) 混合液, 浸泡过夜, 超声处理 10 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 磨口三角瓶中, 加入适量无水硫酸钠脱水后, 于 100 mL 旋转蒸发瓶中, 在 40~ 45 $^{\circ}\text{C}$ 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。

2 结果与讨论

2.1 毛细管柱分离与检测条件的选择

据文献报道, 有机磷类农药的气相色谱分析中, 因其结构类型和性质不同, 色谱柱所采用的固定相有: SE- 30、OV- 1701、SE- 54、OV- 17 等。 本研究所选农药涵盖了有机磷农药所有 5 类化学结构类型: 磷酸酯(敌敌畏), 一硫代磷酸酯(对硫磷, 甲基对硫磷, 二嗪农), 二硫代磷酸酯(马拉硫磷, 乐果), 麟酸酯(敌百虫) 和硫代磷酸酯(甲胺磷)。 由于结构差异, 导致了其在色谱柱上的行为有所不同。 我们曾应用 Ultra I, Ultra II 毛细管柱, 即使在程序升温下, 其响应和分离效果也不理想, 因而选用 SPB- 1701 柱, 在程序升温下, 达到预期目的。 由于甲胺磷、敌百虫等农药对温度敏感, 故选用了较低的起始温度, 运用程序升温手段, 使标准品达到良好分离。

2.2 样品前处理方法的选择

作者曾采用丙酮、乙酸乙酯以及丙酮- 水、丙酮- 水- 二氯甲烷、乙酸乙酯- 石油醚、丙酮- 石油醚等不同比例提取, 经浓缩后直接进样, 或过层析柱后进样。 结果表明本文采用的方法简便, 杂质少。

2.3 标准曲线的绘制

分别精密称取敌百虫 1.80 mg、甲胺磷 1.42 mg、乐果 1.71 mg 和甲基对硫磷 1.68 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中用石油醚- 乙酸乙酯混合液(体积比 7: 3) 溶解并稀释至刻度, 制成标准品储备液(1); 分别精密称取敌敌畏 3.88 mg 和对硫磷 5.76 mg, 分别置于 2 mL 量瓶中用混合液溶解并稀释至刻度, 混匀, 分别再精密吸取 1 mL, 且分别置于 10 mL 量瓶中, 用混合液溶解并稀释至刻度, 混匀, 制成标准品储备液(2); 精密称取二嗪农 22.23 mg 置于 10 mL 量瓶中, 用混合液溶解并稀释至刻度, 混匀, 准确吸取 0.2 mL 置于 10 mL 量瓶中, 制成标准品储备液(3); 精密吸取马拉硫磷 1 mL 置于 10 mL 量瓶中, 加混合液溶解并稀释至刻度, 制成储备液(4)。

分别精密吸取一定体积上述各农药储备液于 10 mL 量瓶中, 用混合液稀释成混合标准品溶液, 使得敌百虫、敌敌畏、甲胺磷、二嗪农、乐果、马拉硫磷、甲基对硫磷和对硫磷的质量浓度分别为 5.40、1.94、2.84、2.22、3.42、5.00、3.36 和 2.88 mg/L。 精密吸取混合标准品溶液, 依次用混合液稀释成 1、5、25、125、625 和 1250 倍共 6 个质量浓度梯度的混合标准品稀释液, 依 1.3 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(图 1)。 以峰面积计算, 得到相应农药的回归方程(表 1), 其中 X 为含量(μg), Y 为峰面积。

2.4 精密度考察

选取混合标准品溶液 1 μL 注入气相色谱仪, 重复 5 次, 测定相应峰面积, 计算得到敌百虫、敌敌畏、甲胺磷、二嗪农、乐果、马拉硫磷、甲基对硫磷和对硫磷的相对标准偏差(s_r) 分别为: 8.58%, 4.88%, 4.78%, 2.27%, 9.27%, 7.58%, 5.80% 和 4.15%。 尽管其 s_r 较大, 但完全符合农药残留量分析要求。

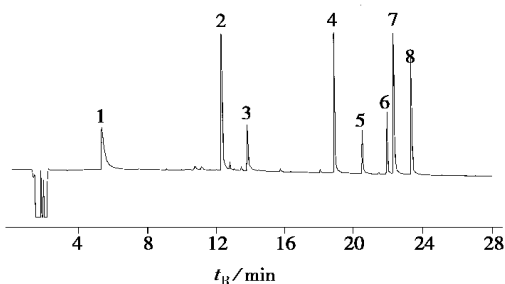


图 1 有机磷对照品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of organophosphorus standards
1. 敌百虫(trichlorfon); 2. 敌敌畏(dichlorvos); 3. 甲胺磷(methamidophos); 4. 二嗪农(diazinon); 5. 乐果(dimethoate); 6. 马拉硫磷(malathion); 7. 甲基对硫磷(methyl parathion); 8. 对硫磷(parathion)

表 1 回归方程及检出限
Table 1 Regression equation and detection limit of 8 organophosphorous pesticides

Pesticide	t_R /min	Regression equation	r	Detection limit/ μg
Trichlorfon(敌百虫)	5. 49	$Y= 4. 75\times 10^2 + 1. 48\times 10^6 X$	0. 999 3	$1. 1\times 10^{-2}$
Dichlorvos(敌敌畏)	12. 33	$Y= 2. 94\times 10^2 + 6. 37\times 10^6 X$	0. 999 9	$1. 94\times 10^{-1}$
Methamidophos(甲胺磷)	13. 78	$Y= 5. 33\times 10^2 + 1. 15\times 10^6 X$	0. 999 9	$7. 40\times 10^{-2}$
Diazinon(二嗪农)	18. 91	$Y= 1. 62\times 10^2 + 4. 34\times 10^6 X$	0. 998 1	$1. 11\times 10^{-2}$
Dimethoate(乐果)	20. 53	$Y= 1. 49\times 10^2 + 6. 03\times 10^6 X$	0. 998 8	$8. 60\times 10^{-2}$
Malathion(马拉硫磷)	21. 93	$Y= 9. 77\times 10^2 + 8. 54\times 10^6 X$	0. 999 9	$1. 00\times 10^{-1}$
Methyl_parathion(甲基对硫磷)	22. 32	$Y= 1. 16\times 10^2 + 3. 18\times 10^6 X$	0. 999 8	$3. 36\times 10^{-1}$
Parathion(对硫磷)	23. 32	$Y= 1. 56\times 10^2 + 1. 02\times 10^7 X$	0. 999 9	$7. 2\times 10^{-2}$

2.5 加标回收试验

对市售中药三七、白芍、黄芪、西洋参、甘草、银杏、党参、当归、新癪片、八宝丹分别进行了加标回收试验。精密称取样品 15 份，每份 1.0 g，按 10 ng、20 ng、200 ng 3 个水平添加混合标准品稀释液，每水平重复 5 次；混匀，自然晾干后，依 1.5、1.3 项操作并计算回收率(R) 和相对标准偏差(s_r)。其 R 范围为 74.96% ~ 116.8%， s_r 范围为 0.71% ~ 16.91%；本法对该 8 种有机磷农药的回收率较理想。

2.6 方法的实用性

经过对不同品种、不同产地的生药和成药样品的分析测定表明：本法是一种实用性强的快速、简便的检测手段，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。由于本法选用 NPD 检测器，各生产厂家商品仪器配置的 NPD 检测器性能差异较大，特别是陶瓷铷珠的使用寿命有限，有待深入研究。

参 考 文 献

1 韩桂茹, 陈太平, 杨建红等. 中药中有机磷农药残留量的研究. 中国中药杂志, 1996, 21(12): 723
2 曹志强, 杨风媚, 陶进贤等. 薄层层析法定性分析人参叶中的农药残留量. 人参研究, 1992(1): 26
3 徐宏喜, 陈瑞华, 张炯炯. 中药中有机磷农药的残留量研究. 中草药, 1990, 21(3): 107
4 杨昌金, 门泉录, 宋京都. 气相色谱法测定当归中甲基异柳磷与克线磷残留量. 药物分析杂志, 1991, 11(4): 231
5 虞云龙, 陈尊三, 樊德方等. 中草药中农药多残留分析方法探究. 第八届全国色谱学术报告会, 大连, 1991, 110~ 111

Determination of Organophosphorous Pesticide Residues in Medicinal Plants and Traditional Chinese Preparations by Capillary Gas Chromatography

Zhang Shuming¹, Tian Jingai², Gao Tianbing², Chen Jianmin¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100094, 2. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050)

Abstract An analytical method is described for the quantitative determination of residues of 8 organophosphorous pesticides in medicinal plants and traditional Chinese preparations: trichlorfon, dichlorvos, methamidophos, diazinon, dimethoate, malathion, methyl_parathion and parathion. The pesticides in samples were extracted with acetone- petroleum ether(volume ratio 1: 1, 50 mL, 2 times), and the concentrated extract was determined directly. The residues were determined by capillary gas chromatography with nitrogen- phosphorous detector and a SPB- 1701 column (30 m× 0.32 mm× 0.25 μm). All those 8 pesticides were well separated in 25 min. The range of recovery and RSD of the pesticides spiked with 3 levels are 74.96% ~ 116.8% and 0.71% ~ 16.91%, respectively. The range of detection limits is $1.1\times 10^{-2} \sim 3.36\times 10^{-1}$ μg . This method is sensitive, selective, repeatable, and easy in operation.

Keywords Medicinal plant, Traditional Chinese preparation, Organophosphorous pesticide, Residue,

Capillary gas chromatography