

## GC 法检测黄芩中三种农药残留量

李翠苓<sup>1</sup>, 刘德智<sup>2</sup>, 王金龙<sup>1</sup>, 孙 维<sup>3</sup>

1. 杭州海王生物工程有限公司, 浙江 杭州 311101

2. 浙江金利源药业有限公司, 浙江 绍兴 312369

3. 长春师范学院, 吉林 长春 130032

**摘要:** 目的 建立黄芩中的六六六(BHC)、滴滴涕(DDT)和五氯硝基苯(PCNB)3种农药残留量的毛细管气相色谱测定方法。方法 样品采用丙酮-二氯甲烷为提取溶剂,以超声法提取,采用磺化法净化。检测使用弹性毛细管柱为分离柱,电子捕获检测器(ECD)检测。结果 3种成分在25 min内得到良好的分离;两个色谱峰之间的分离度最小为1.57,峰与峰之间达到良好分离;该法中9个农药残留物组分的线性关系良好,其平均加样回收率为72.20%~116.18%,RSD值为0.55%~7.81%。结论 该法准确,灵敏度高,易操作,重复性良好。

**关键词:** 毛细管气相色谱法;黄芩;农药;残留量

中图分类号: R927.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2012)06-0443-04

## Determination of pesticide residues in *Scutellariae Radix* with GC

LI Cui-ling<sup>1</sup>, LUI De-zhi<sup>2</sup>, WANG Jin-long<sup>3</sup>, SUN Wei<sup>4</sup>

1. Hangzhou Neptunus Bicengineering Co. Ltd, Hangzhou 311101, China

2. Zhejiang Kingliyan pharmaceutical Co. Ltd, Shaoxing 312369, China

3. Changchun Normal University, Changchun 130032, China

**Abstract: Objective** To establish a capillary gas chromatographic (GC) method to determine residues of benzene hexachloride (BHC), dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT), and pentachloronitrobenzene (PCNB) in *Scutellariae Radix*. **Methods** The pesticide in samples was extracted online with acetone-dichloromethane as extraction solvent, using ultrasonic extraction and sulfonating purification, petroleum ether as final solvent. Capillary column was used as detached dowel, and the determination was carried out by electron capture detector. **Results** The three pesticides were separated fully in 25 min. The number of theoretical plates complied with requirements in *Chinese Pharmacopoeia*; the minimum resolution is 1.571, any peaks were separated completely. There was a good linear relationship among the nine pesticide residues. The average recovery rate was 72.20%—116.18%, and RSD values were 0.55%—7.87%. **Conclusion** The method is accurate, highly sensitive, easy in operation, and has good reproducibility.

**Key words:** capillary gas chromatograph; *Scutellariae Radix*; pesticide; residue

中药材成分复杂而农药在中药中的残留量很低,属痕量范畴;且中药制剂剂型多样,使得农药的提取、分离、纯化与富集难度增大,严重影响农药残留量的测定,故较食品与农作物中农药残留量的检测更为复杂。我国早在20世纪80年代初就开始针对中药农药残留物问题进行研究。

近几年,由中国食品药品检定研究院、中国医学科学院药用植物研究所、北京市药品检验所和广州市药品检验所参加的国家中医药管理局重点课题“50种中药农药残留量检测方法与限量标准研究”已完成,其中有机氯农药测定方法经有关专家审核,

已刊登于药典通讯<sup>[1]</sup>,且收入2000年版《中国药典》附录。

国外早在20世纪60年代便开始这方面研究并就结果进行了总结,但直到20世纪90年代正式颁布的中药农药残留限量标准也很少。随着中国加入WTO的需要,2001年发布的《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》,为我国中药打入国际市场奠定了基础。

有机氯农药是一类曾被世界各国广泛使用的高效广谱杀虫剂,属于神经毒物和实质脏器毒物,可致癌。这类农药化学性质稳定,脂溶性强,半衰期

收稿日期: 2012-06-14

作者简介: 李翠苓(1974—),女,吉林省通化市人,长期从事中药生产工艺及成分的研究。

Tel: 13429176145 Fax: (0571)89190232 E-mail: licuiling1974@163.com

长, 易在体内脂肪中蓄积, 造成慢性中毒, 而且还可能致癌, 严重危及人体健康<sup>[2]</sup>。由于它的性质稳定, 致使在禁用多年后, 仍能在水域、土壤和生物体内测到较高的残留量。水源和土壤中的有机氯农药残留会在植物体内富集, 导致在中药材中检出, 甚至中成药也有不同程度的污染<sup>[3]</sup>。因此, 对中药材及其制剂进行有机氯类农药残留量测定, 已经成为中药材及其制剂安全性评价的一项重要内容。本研究建立了黄芩中六六六(BHC)、滴滴涕(DDT)和五氯硝基苯(PCNB)3种农药残留量的毛细管气相色谱测定方法, 以期为黄芩药材及其制剂的质量控制提供参考。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

日本岛津 GC-17A 气相色谱仪; Ni<sup>63</sup>-ECD 电子捕获检测器; Gcsolution 工作站(日本岛津); 旋转蒸发仪(东京理化公司); 离心机(上海医疗器械集团有限公司手术器械厂); 超声波清洗机(上海科导超声仪器有限公司); 小型粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); AE-240 电子分析天平(Mettler, 瑞士)。

### 1.2 试药

丙酮, 二氯甲烷, 石油醚(农残级), 无水硫酸钠, 浓硫酸(分析纯)购自天津市科密欧化学试剂开发中心; 氯化钠(天津永大化学试剂开发中心); 去离子水(天津理化分析测试中心)。

### 1.3 农药对照品

六六六(BHC), 包括  $\alpha$ -BHC (90218)、 $\beta$ -BHC (00506)、 $\gamma$ -BHC (71210)、 $\delta$ -BHC (10818) 4 种异构体; 五氯硝基苯(PCNB, 91680); 滴滴涕(DDT), 包括 PP'-DDE (00331)、PP'-DDD (80718)、OP'-DDT (80820)、PP'-DDT (80820) 4 种异构体。以上对照品均购自国家标准物质研究中心。

### 1.4 样品

黄芩购自天津蓟县, 批号 02091605、02091808、02092303, 样品保存于天津中新药业药材公司青光仓库实验室, 经李跃武研究员鉴定为黄芩 *Scutellaria baicalensis* Georgi 的干燥根茎。

## 2 方法与结果

### 2.1 色谱条件

弹性石英毛细管 CBP-M25-025 (25 m $\times$ 0.22 mm, 0.25  $\mu$ m); 升温程序: 初始温度 100  $^{\circ}$ C, 以 10  $^{\circ}$ C/min 升至 220  $^{\circ}$ C, 再以 8  $^{\circ}$ C/min 升至 250  $^{\circ}$ C,

保持 10 min。进样口温度为 230  $^{\circ}$ C, 检测器温度为 300  $^{\circ}$ C, 采用分流进样, 分流比 12:1。毛细管体积流量 0.4 mL/min, 总体积流量 6 mL/min, 总压力 59 kPa, 电流 1 nA, 进样量 1.0  $\mu$ L, 理论塔板数按  $\alpha$ -BHC 峰计算为 393 449.5; 两个相邻色谱峰分离良好, 分离度最小为 1.57。

### 2.2 混合对照品溶液的制备

精密量取各对照品储备液 0.5 mL 置 10 mL 量瓶中, 用石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)稀释至刻度, 即得各对照品溶液,  $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC、 $\delta$ -BHC、PP'-DDE、PP'-DDD、OP'-DDT、PP'-DDT、PCNB 的质量浓度分别为 16、200、150、190、190、188、196、200、217  $\mu$ g/L。

### 2.3 供试品溶液制备

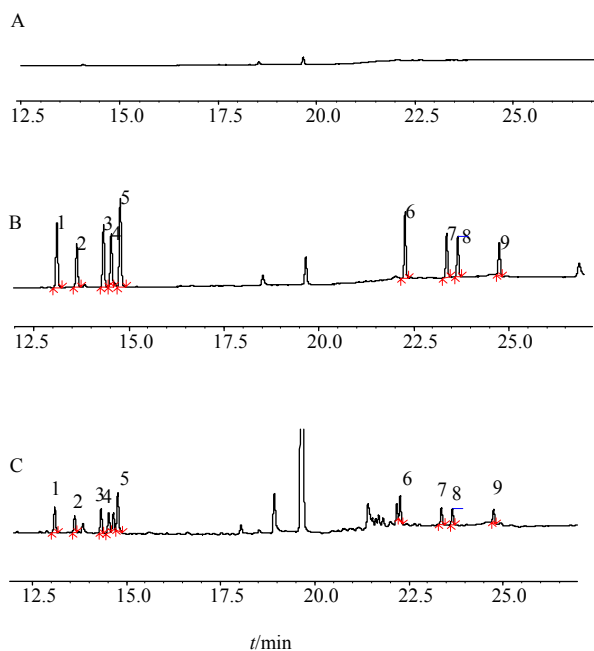
取黄芩药材于 60  $^{\circ}$ C 干燥 4 h, 粉碎成细粉, 称取 2 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加水 20 mL 浸泡过夜, 加 40 mL 丙酮, 称定质量, 超声处理 30 min, 放冷至室温, 用丙酮补足减失的质量, 再加氯化钠约 6 g 及二氯甲烷 30 mL, 称定, 超声处理 15 min, 用二氯甲烷补足减失的质量, 静置使分层, 将有机相迅速移入装有适量无水硫酸钠的 100 mL 具塞锥形瓶中, 用二氯甲烷定容, 放置 4 h。精密量取 35 mL, 于 40  $^{\circ}$ C 水浴减压浓缩至近干, 加石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)约 15 mL, 如前反复操作至二氯甲烷及丙酮除净, 用石油醚(60~90  $^{\circ}$ C)溶解并转移至 10 mL 具塞刻度离心管中, 加石油醚至 5 mL。加入硫酸 1 mL, 振摇 1 min, 3 000 r/min 离心 10 min。精密量取上清液 2 mL 置具刻度的浓缩瓶中, 连接旋转蒸发器, 40  $^{\circ}$ C 下将溶液浓缩至适量(约 0.90 mL), 精密稀释至 1 mL, 即得。

### 2.4 方法学考察

**2.4.1 干扰实验** 取对照品、供试品及溶剂(石油醚)进样, 按色谱条件测定, 结果表明溶剂在对照品 BHC、DDT、PCNB 出峰位置上无干扰峰。溶剂、对照品及供试品色谱图见图 1。

**2.4.2 线性关系考察** 分别精密吸取一定量对照品储备液, 用石油醚进行稀释, 制成系列质量浓度的对照品溶液, 分别取 1.0  $\mu$ L 进样, 以各色谱峰峰面积对质量浓度做标准曲线, 得回归方程, 见表 1。

**2.4.3 精密度实验** 精密吸取浓度为 20 ng/mL 的混合对照品溶液, 重复进样 5 次, 每次进样 1  $\mu$ L, 按上述色谱条件测定峰面积, 计算其 RSD 分别为,  $\alpha$ -BHC 1.94%、 $\beta$ -BHC 1.59%、 $\gamma$ -BHC 1.25%、 $\delta$ -BHC



1-  $\alpha$ -BHC; 2-  $\beta$ -BHC; 3-  $\gamma$ -BHC; 4-  $\delta$ -BHC; 5- PCNB; 6- PP'-DDE;  
7- PP'-DD; 8- OP'-DDT; 9- PP'-DDT

图1 空白溶剂(A)、对照品(B)和供试品(C)的GC图  
Fig. 1 GC chromatogram of blank solvent (A), reference substances (B), and test sample (C)

表1 标准曲线回归方程表

Table 1 Regression equation of standard curve

农药	标准曲线	$r$	线性范围/ ( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
$\alpha$ -BHC	$Y=1\ 682.8X-1\ 754.4$	0.999 8	0.825~165
$\beta$ -BHC	$Y=771.86X+936.38$	0.999 9	2.5~200
$\gamma$ -BHC	$Y=3\ 571.2X-2\ 653.6$	0.999 9	0.75~150
$\delta$ -BHC	$Y=1\ 001.3X-1\ 732.7$	0.999 8	2.375~190
PP'-DDE	$Y=1\ 283.2X-24.58$	1.000 0	0.95~190
PP'-DDD	$Y=757.74+1\ 214.4$	0.999 8	2.35~188
OP'-DDT	$Y=868.97X+695.35$	0.999 9	2.3~196
PP'-DDT	$Y=725.06X-444.43$	0.999 8	2.5~200
PCNB	$Y=2\ 494X+1\ 802.6$	0.999 9	1.085~217

0.76%、PCNB 1.72%; PP'-DDE 1.05%、PP'-DDD 1.90%、OP'-DDT 1.91%、PP'-DDT 1.87%，仪器的精密度良好。

**2.4.4 重复性实验** 称取适量样品5份，精密称定，制备供试品溶液，平行测定各农药的量。测定各农药残留物平均结果及RSD分别为 $\alpha$ -BHC (1.594 ng/g, 2.39%)、 $\beta$ -BHC (2.948 ng/g, 5.52%)、 $\gamma$ -BHC (0.518 ng/g, 1.95%)、 $\delta$ -BHC (2.369 ng/g, 4.82%)、PCNB (未检出)、PP'-DDE (5.114 ng/g, 1.26%)、PP'-DDD (0.977 ng/g, 8.20%)、OP'-DDT (1.296

ng/g, 6.94%)、PP'-DDT (2.690 ng/g, 4.89%)，5份样品的农药残留物量差异很小，结果重复性好，提取方法可信。

**2.4.5 稳定性实验** 精密吸取黄芩供试品溶液，每隔1 h进样1.0  $\mu\text{L}$ ，按上述色谱条件测定峰面积，计算RSD分别为： $\alpha$ -BHC 2.58%、 $\beta$ -BHC 5.24%、 $\gamma$ -BHC 3.63%、 $\delta$ -BHC 3.05%、PCNB 未检出；PP'-DDE 2.41%、PP'-DDD 1.67%、OP'-DDT 3.44%、PP'-DDT 3.91%，农药残留物各组分在5 h内稳定。

**2.4.6 空白回收率实验** 不取药材，按“2.3”项下方法操作，制备6份，分别加入一定量对照品，测定峰面积，计算其回收率，结果见表2。样品的空白回收率较好，说明农药残留物在提取过程中损失少，方法可信。

**2.4.7 加样回收率实验** 按“2.3”项下方法，制备黄芩5份，分别加入一定量对照品，测定峰面积，计算平均加样回收率，结果见表3。样品加样回收率较好，说明农药残留物在提取过程中损失少，方法可靠。

表2 空白回收率

Table 2 Coefficient of recovery in blank sample

成分	回收率/%	RSD/%
$\alpha$ -BHC	89.3	1.69
$\beta$ -BHC	82.38	1.87
$\gamma$ -BHC	91.70	2.04
$\delta$ -BHC	94.10	1.54
PCNB	80.83	2.37
PP'-DDE	82.66	0.88
PP'-DDD	88.28	7.48
OP'-DDT	79.16	8.01
PP'-DDT	73.65	2.60

表3 加样回收率

Table 3 Coefficient of recovery

成分	平均回收率/%	RSD/%
$\alpha$ -BHC	84.96	0.55
$\beta$ -BHC	72.20	2.87
$\gamma$ -BHC	74.52	1.53
$\delta$ -BHC	85.82	7.33
PCNB	88.79	1.62
PP'-DDE	116.18	2.39
PP'-DDD	92.29	2.51
OP'-DDT	111.00	7.81
PP'-DDT	111.20	5.54

**2.4.8 最小检测限** 按前述对照品溶液配制方法配出一系列对照品溶液，进样1.0  $\mu\text{L}$ ，分别测出 $\alpha$ -BHC、 $\beta$ -BHC、 $\gamma$ -BHC、 $\delta$ -BHC、PP'-DDE、

PP'-DDD、OP'-DDT、PP'-DDT、PCNB 的最小检测限, 结果见表 4。

表 4 BHC、DDT、PCNB 最小检测限  
Table 4 Minimum detection limit of BHC, DDT, and PCNB

名 称	最小检测限 / (ng·mL <sup>-1</sup> )
α-BHC	0.050 0
β-BHC	0.005 0
γ-BHC	0.012 5
δ-BHC	0.012 5
PCNB	0.500 0
PP'-DDE	0.012 5
PP'-DDD	0.012 5
OP'-DDT	0.250 0
PP'-DDT	0.012 5

## 2.5 样品测定

按“2.3”项下方法操作, 平行制得 3 份样品溶液, 每份样品进样 2 次, 每次 1.0 μL, 用 20.0 ng/mL 标准品溶液作随行标准, 用外标法定量测定结果。测定依下法计算, 结果见表 5。黄芩的 3 批样品中均含有微量的 BHC 和 DDT, 但均小于《中国药典》2010 年版所规定的限量标准。

$$C_{\text{样}}/C_{\text{标}} = A_{\text{样}}/A_{\text{标}}$$

$$\text{各 BHC 异构体量} = A_{\text{样}}/A_{\text{标}} \times C_{\text{标}} \times V/M \times K \times r/R$$

$A_{\text{样}}$  为供试品中农药检测的峰面积;  $A_{\text{标}}$  为对照品中农药检测的峰面积;  $C_{\text{标}}$  为对照品浓度 (ng/mL);  $M$  为称样量 (g);  $r$  为 35 mL;  $K$  为浓缩倍数, 其值为 2;  $R$  为 70 mL

表 5 供试品中农药的量  
Table 5 Content of pesticide in samples

农 药	黄芩中农药量/(ng·g <sup>-1</sup> )		
	I	II	III
α-BHC	2.358	2.569	1.639
β-BHC	3.918	7.06	4.449
γ-BHC	1.691	1.784	0.649
δ-BHC	4.609	5.413	3.063
总 BHC	12.58	16.83	9.8
PCNB	—	—	—
PP'-DDE	3.802	3.997	2.707
PP'-DD	1.096	1.829	1.057
OP'-DDT	0.918	2.75	0.933
PP'-DDT	1.732	5.279	1.457
总 DDT	7.548	13.86	6.154

“—” 表示未检出

“—” refers to being not detected

## 3 讨论

### 3.1 样品前处理方法的选择

曾采用石油醚提取, 无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 小柱除水, 但因其极性小, 不易穿透药材的组织细胞, 提取效率较低。且使用无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 小柱除水速度慢, 有机相可能残留于柱中, 农药残留物有损失。因此, 选用了本文所述的方法。

### 3.2 溶剂的选择

对二氯甲烷、丙酮、环己烷、氯仿、石油醚作为农残溶剂进行了比较, 发现二氯甲烷提取效率高, 但对样品色素溶解度较大; 丙酮提取效率高, 但不适于 ECD 检测; 石油醚提取效果不好, 但对农药残留物的溶解度大, 对杂质溶解度小, 且价格便宜; 氯仿对样品提取效率低, 且毒性大。故选用石油醚为农残溶剂。

### 3.3 样品的纯化

农药残留物对浓硫酸稳定, 而干扰物多为对硫酸不稳定的有机物质, 故本实验采用磺化法净化, 除杂完全, 操作简便。

### 3.4 在线提取法

该法的主要原理是采用电解质的作用, 根据盐析的原理, 使农药从水相进入有机相。本实验以丙酮作为提取剂, 在丙酮萃取液中加入固体氯化钠, 在分离农药的同时, 加入二氯甲烷进行液-液分配, 提取和分离在同一个锥形瓶中进行。该方法的优点在于不需要对样品进行多次提取和滤过, 液-液分配也不需要转移到分液漏斗中进行。样品提取液中的水经无水硫酸钠干燥后, 不会影响测定结果, 同时减少了农药的损失。

## 参考文献

- [1] Steimwandter H. Universal 5-min online method for extracting and isolating pesticide residues and industrial chemicals [J]. *J Anal Chem*, 1985, 332: 754.
- [2] 李艳霞, 邹图德, 万益群. 气相色谱法测定中药材中有机氯农药的残留量 [J]. 南昌大学学报, 2005, 29(6): 514-517.
- [3] 马虹英. 中药中有机氯农药残留提取方法的现状及进展 [J]. 中南药学, 2006, 4(2): 143-146.