

有机氯农药残留量的气相色谱检测方法研究

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)

王会丽* 陈建民 张曙明

摘 要 建立了西洋参中有机氯农药残留量的气相色谱的分析方法。样品以丙酮提取,在 NaCl 存在下,以二氯甲烷进行液液分配,提取液以浓 H_2SO_4 净化,采用 SE-54 弹性石英毛细管柱,GC-ECD 检测有机氯(六六六,DDT 异构体及七氯,艾氏剂)农药的残留量,最低检测浓度为 3.2×10^{-2} ng/g~1.4 ng/g,添加回收率在 80%~133.18%,并对北京及东北产西洋参药材进行了实际残留量测定。

关键词 气相色谱 有机氯农药 残留量 西洋参

西洋参作为一种珍贵的药用植物,与其它人工培植的药用植物一样要施以农药防治病虫害,因此,农药的残留量是衡量西洋参的很重要的指标。采用毛细管柱色谱法建立了有机氯农药六六六、DDT、七氯及艾氏剂在西洋参中残留量的测定方法,为中药材中农药残留量监测提供了可行的分析手段。

1 仪器装置、试剂

美国 Varian 6000 气相色谱仪(^{63}Ni 电子捕获检测器);Varian 4270 记录仪。

美国迪马公司 SE-54 弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)。

超声波清洗器,真空旋转浓缩器,K-D 浓缩器。

标准品:α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、七氯(heptachlor)、艾氏剂(Aldrin)、pp'-DDE、pp'-DDD、op'-DDT、pp'-DDT(由秦皇岛商检局提供)。试剂均为分析纯。

2 实验步骤

2.1 提取与净化:准确称取已充分粉碎过的样品粉末 2 g,于 100 mL 具塞三角瓶中,加入 40 mL 丙酮、20 mL 水,超声波提取 60 min,再加入约 6 g NaCl 及 30 mL 二氯甲烷,超声 30 min,静置使水相与有机相完全分层。将有机相移入装有一定量的无水 Na_2SO_4

的 100 mL 具塞三角瓶中,脱水,取 35 mL 干燥过的有机相于 100 mL 旋转蒸发瓶中,于 40 °C 水浴减压浓缩至约 0.5 mL,将浓缩物移入 10 mL 具塞试管中,以 5 mL 正己烷分数次洗涤蒸发瓶,合并洗涤液于试管中。向试管中小心加入约 1 mL 浓 H_2SO_4 ,振摇 1 min,离心(3 000 r/min)10 min。将上清液移入 K-D 瓶中,以正己烷洗涤试管 2 次,合并洗涤液,将溶液浓缩至 1.0 mL,取 1.0 μL 进行 GC 分析。

2.2 测定条件:SE-54 弹性石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)。

载气:高纯氮,柱前压:58.840 kPa。

补充气:高纯氮,流量:22 mL/min。

进样口温度:180 °C,检测器温度:290 °C。

检测器: ^{63}Ni -ECD。

分流时间:从 0.10 min~1.60 min,共 1.5 min。

分流比:15:1。

柱升温程序:初始 140 °C,10 °C/min 升至 210 °C,8 °C/min 升至 250 °C,保持 4 min。

纸速:0.5 cm/min,衰减:8。

进样量:1.0 μL,外标法定量。

* Address: Wang Huili, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing

2.3 标准曲线绘制:农药标准品贮备液: α -BHC: 80 $\mu\text{g/mL}$, β -BHC: 460 $\mu\text{g/mL}$, γ -BHC: 275 $\mu\text{g/mL}$, δ -BHC: 680 $\mu\text{g/mL}$, 七氯: 280 $\mu\text{g/mL}$, 艾氏剂: 378 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDE: 490 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDD: 121 $\mu\text{g/mL}$, op'-DDT: 330 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDT: 270 $\mu\text{g/mL}$ 。吸取一定量标准贮备液,用正己烷稀释至 5.0 mL,使混合溶液中各标准品浓度为: α -BHC: 8×10^{-2} $\mu\text{g/mL}$, β -BHC: 11.96 $\mu\text{g/mL}$, γ -BHC: 1.10 $\mu\text{g/mL}$, δ -BHC: 0.952 $\mu\text{g/mL}$, 七氯: 1.40 $\mu\text{g/mL}$, 艾氏剂: 2.27 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDE: 0.98 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDD: 2.42 $\mu\text{g/mL}$, op'-DDT: 2.64 $\mu\text{g/mL}$, pp'-DDT: 0.270 $\mu\text{g/mL}$ 。分别吸取一定体积的上述混合溶液于 5.0 mL 容量瓶中,用正己烷进行一系列稀释,取 1.0 μL 进样,得标准曲线。见表 1。

3 结果与讨论

3.1 提取、净化:在中药材以及其它植物样品有机氯的残留分析中,常使用的毛细管柱

多为非极性或弱极性的,长度为 25 m~30 m,口径 0.25 mm~0.32 mm,固定液有 OV-101^[1], SE-54^[2], DB-1701^[3]。本实验选用 SE-54 弹性石英毛细管柱,在上述实验条件下,对 10 种有机氯分离较好,分离时间在 16 min 内。将农药标准品溶液稀释成不同浓度进行测定,以 5 倍的噪声作为方法的最低检出量,以 2 g 样品取样计算出最低检出浓度,见表 1。本实验采用的提取方法,主要参考 Steiwandter^[4]提出的在线(on-Line)提取法。本实验以丙酮作为提取剂,在丙酮萃取液中加入固体 NaCl 分离农药的同时,加入 CH_2Cl_2 进行液-液分配,该方法不需对样品进行多次的提取和过滤,液-液分配也不需转移到分液漏斗中进行。样品提取液中的水经无水 Na_2SO_4 干燥后,不影响测定结果,同时可减少农药的损失。图 1 为西洋参经提取、净化后样品及有机氯农药标准品的色谱图。

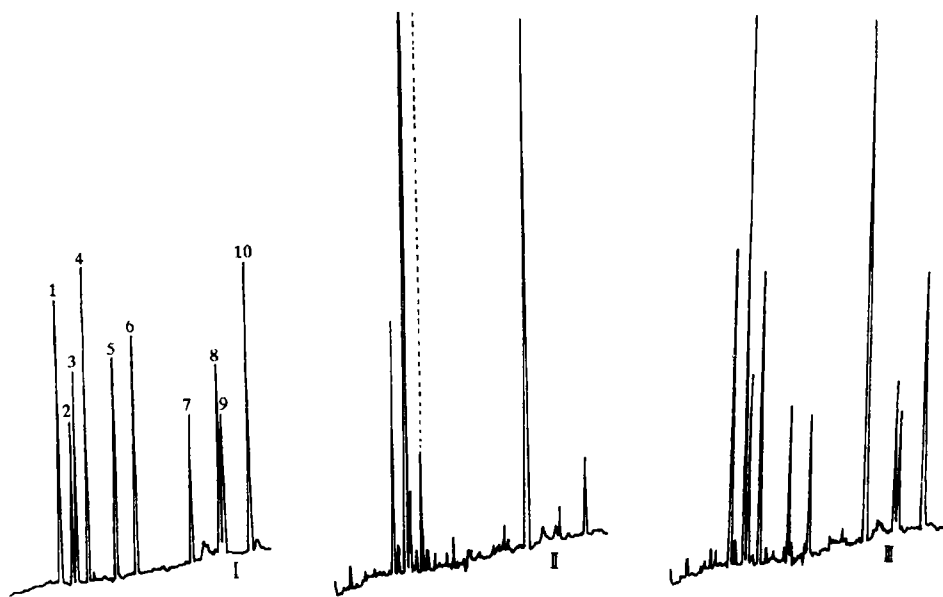


图 1 10 种农药标准品气相色谱图

I - 标准品 II - 西洋参样品 III - 西洋参加标准品

有机氯农药的净化多采用磺化法。本实验采用的磺化法去掉了分液漏斗的操作。直接将浓 H_2SO_4 加入提取浓缩液中,减少了操作步骤,提高了实验准确性。样品提取液加浓

H_2SO_4 磺化 1 次,即可达到净化的目的。

3.2 回收实验:在西洋参样品中,加入一定量的混合标准品溶液进行加样回收实验,按上述提取、净化、测定操作程序进行。标准品

的添加水平、回收率及变异系数见表 2。

3.3 样品测定:准确称取不同产地的药材(粉末),按上述方法处理,其结果见表 3。由以上数据可以看出,六六六、DDT 在不同产地的药材中均有检出,其中东北产西洋参中六六六残留总量为 1 969.35 ng/g,DDT 残留总量为 170.54 ng/g,远远高于国家有关

人参中六六六及 DDT 的残留限量⁽⁵⁾(六六六 $\leq 0.1 \mu\text{g/g}$,DDT $\leq 0.01 \mu\text{g/g}$)。在被检的药材中, β -BHC 的残留量最高。目前我国种植和贮存中药材用来防治其病虫害所选用的农药品种、施用方法、残留限量等诸问题尚无法律性规定,是急待解决的一大问题。

表 1 有机氯农药标准品的保留时间、最低检测限

农药	最低检测量(g)	最低检测浓度(ng/g)	标准曲线	相关系数(r)	线性范围(μg)
α -BHC	3.2×10^{-14}	3.2×10^{-2}	$Y=9.958 \times 10^{-4}$ $X-0.1081$	0.9993	$8 \times 10^{-5} \sim 1.28 \times 10^{-6}$
β -BHC	1.4×10^{-12}	1.4×10^{-2}	$Y=2.037 \times 10^{-3}$ $X-0.1365$	0.9992	$1.84 \times 10^{-6} \sim 2.94 \times 10^{-5}$
γ -BHC	4.4×10^{-13}	0.44×10^{-2}	$Y=1.326 \times 10^{-3}$ $X-0.1085$	0.9989	$1.1 \times 10^{-6} \sim 1.76 \times 10^{-5}$
δ -BHC	5.4×10^{-13}	0.54×10^{-2}	$Y=9.477 \times 10^{-4}$ $X-9.2 \times 10^{-3}$	0.9993	$1.36 \times 10^{-6} \sim 2.72 \times 10^{-5}$
七氯	1.12×10^{-12}	1.12×10^{-2}	$Y=1.342 \times 10^{-3}$ $X-0.0861$	0.9957	$5.6 \times 10^{-6} \sim 2.9 \times 10^{-5}$
艾氏剂	5.12×10^{-13}	0.512×10^{-2}	$Y=2.274 \times 10^{-3}$ $X-0.7424$	0.9967	$2.56 \times 10^{-6} \sim 6.14 \times 10^{-5}$
pp'-DDE	7.80×10^{-13}	0.78×10^{-2}	$Y=2.333 \times 10^{-3}$ $X-0.1467$	0.9992	$1.96 \times 10^{-6} \sim 4.7 \times 10^{-5}$
pp'-DDD	1.90×10^{-13}	0.19×10^{-2}	$Y=5.013 \times 10^{-3}$ $X-0.2186$	0.9995	$4.84 \times 10^{-7} \sim 7.74 \times 10^{-6}$
op'-DDT	9.40×10^{-13}	0.94×10^{-2}	$Y=6.807 \times 10^{-3}$ $X-1.121$	0.9985	$1.98 \times 10^{-6} \sim 8.4 \times 10^{-5}$
pp'-DDT	4.3×10^{-13}	0.43×10^{-2}	$Y=9.809 \times 10^{-4}$ $X-0.011$	0.9986	$1.08 \times 10^{-6} \sim 1.73 \times 10^{-5}$

其中,X 为标准品的峰高,Y 为标准品含量(α -BHC 及 pp'-DDT 为 $\times 10^{-6} \mu\text{g}$,其余为 $\times 10^{-5} \mu\text{g}$)

表 2 添加标准品回收率(n=3)

农药	添加浓度($\mu\text{g/g}$)			回收率%	RSD%
α -BHC	1.2×10^{-3}	2.4×10^{-3}	4.8×10^{-3}	93.1	6.28
β -BHC	1.79×10^{-1}	3.58×10^{-1}	7.18×10^{-1}	85.9	8.27
γ -BHC	1.65×10^{-2}	3.30×10^{-2}	6.60×10^{-2}	95.4	7.99
δ -BHC	1.43×10^{-2}	2.86×10^{-2}	5.71×10^{-2}	89.8	7.06
七氯	2.10×10^{-2}	4.20×10^{-2}	8.40×10^{-2}	90.1	7.41
艾氏剂	3.40×10^{-2}	6.80×10^{-2}	1.36×10^{-1}	89.8	5.12
pp'-DDE	1.47×10^{-2}	2.94×10^{-2}	5.88×10^{-2}	112.3	7.26
pp'-DDD	3.63×10^{-2}	7.26×10^{-2}	1.45×10^{-1}	90.1	10.45
op'-DDT	3.96×10^{-2}	7.92×10^{-2}	1.58×10^{-1}	98.7	5.65
pp'-DDT	4.05×10^{-3}	8.10×10^{-3}	1.62×10^{-2}	99.8	10.66

表 3 不同产地西洋参中有有机氯农药残留量(ng/g)

农药	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	七氯	艾氏剂	pp'-DDE	pp'-DDD	op'-DDT	pp'-DDT
北京	0.657	215.5	6.85	3.16	—	—	19.6	4.89	6.72	0.394
东北	1.15	1960.5	2.67	5.03	—	—	154.8	5.98	8.41	1.35

参考文献

1 袁 兰,等. 中草药,1994;25(10):519

2 王元鸿,等. 分析化学,1994;22(9):931

3 Steven J L. J AOAC Int,1995;78(3):821

4 Steimwandter,H. J Anal Chem,1985;332:754

5 中华人民共和国国家标准 GB/T,15517.1-15517.6 (1995)

(1997-07-21 收稿)

GC-ECD Determination of Residual Organochlorine Pesticides in

American Ginseng (*Panax quinquefolium*)

Wang Huili, Chen Jianmin, Zhang Shuming (Chinese Academy of Medical Science, Peking Union Medical University, Institute of Medicinal Plant Development, Beijing 100094)

Abstract A GC-ECD method for determination of the residual organochlorine pesticides in *Panax quinquefolium* was described using SE-54 column. The residues were extracted from sample with acetone by saturating the extraction solvent with NaCl and simultaneously liquid-liquid partitioning by dichloromethane. The extracts were cleaned up by concentrated H_2SO_4 . The detection limits were 3.2×10^{-2} ng/g ~ 1.4 ng/g. Recoveries of organochlorine pesticides were 80% ~ 133.18%.

Key words GC organochlorine pesticides residues *Panax quinquefolium*

牛黄清脑片中大黄酸、大黄素含量测定

大连中药厂(116023) 姜波* 赵荣国 李明霞 真国辉

摘要 采用薄层扫描法测定牛黄清脑片中大黄酸、大黄素含量。其结果为:大黄酸含量 1.03 mg ~ 2.12 mg/10 片, 大黄素为 0.67 mg ~ 1.14 mg/10 片

关键词 牛黄清脑片 大黄素 大黄酸 含量测定 薄层扫描法

牛黄清脑片为我厂主要产品之一, 具有清脑安神、清热解毒功能。对于高血压症、神经官能症、神经性头痛等有清脑镇静作用, 临床应用效果良好。我们对其中主要成分大黄酸、大黄素作含量测定, 以期为质控标准提供依据(罗文毓, 等. 药物分析杂志, 1989; 9: 259)。

1 实验仪器、试剂及药品

仪器: 日本岛津 CS-930 型双波长薄层扫描仪。

标准品: 大黄酸、大黄素购自中国药品生物制品检定所。

试剂及药品: 所用试剂均为分析纯, 牛黄清脑片(大连中药厂)。

2 方法与结果

2.1 薄层及扫描条件

2.1.1 薄层制备: 硅胶 G 与 0.5% CMC-Na (1: 3) 混合均匀, 铺在 20 mm × 20 mm 玻璃

板上(厚约 0.5 mm), 室温干燥后, 105 °C 活化 1 h, 放干燥器中备用。

2.1.2 展开条件: 甲苯-二氯甲烷-冰醋酸(6: 3: 1)

2.1.3 扫描条件: 锯齿型反射扫描, 测定波长为 440 nm, 参比波长为 550 nm, $S_x = 3$, 狭缝 1.2 mm × 1.2 mm, 灵敏度中。

2.2 标准曲线绘制

2.2.1 标准液配制: 精密吸取大黄酸 5 mg, 置 250 mL 量瓶中, 加 $CHCl_3$ 溶解并至刻度, 使其浓度为 0.02 mg/mL。另精密吸取大黄素对照品 4.5 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加甲醇溶解至刻度, 其浓度为 0.18 mg/mL。

2.2.2 标准曲线绘制: 大黄酸: 精密吸取大黄酸标准液(0.02 mg/mL) 5、10、15、20、25 μ L, 点于同一块薄层板上, 用以上展开系统展开, 展距 15 cm, 取出, 挥干溶剂。按扫描条件在 CS-930 薄层扫描仪上扫描, 根据标准

* Address: Jiang Bo, Dalian Herbal Medicine Factory, Dalian

姜波女, 1992 年毕业于长春中医学院中药系, 硕士学位, 同年分配在大连中药厂工作, 1994 年晋升为工程师, 现负责中药厂化验室工作。自 1992 年以来, 先后在《现代应用药学》、《中国中药杂志》、《中成药》等杂志上发表论文 20 余篇, 并参与编写《中国动物药志》(吉林科学技术出版社)。