

中药材中农药残留的脱除与检测研究

李淑芬, 全 灿, 王幼君, 田松江

(天津大学化工学院 教育部绿色合成与转化重点实验室, 天津 300072)

中医药是中华民族优秀文化的灿烂结晶, 数千年来, 传统中药因其疗效温和、不良反应少、标本兼治等特点广为人所接受。当前“回归自然”的潮流, 为中医药的发展提供了前所未有的机遇, 也为中药材提供了广阔的世界市场。

20 世纪以来, 人类文明步入空前繁荣的同时, 也带来了严重的环境问题。农药的使用造成了严重的环境污染并直接危害人类健康, 成为影响生态环境的重要污染物。中药材与其他经济作物一样, 需要喷洒农药防治病虫害, 造成了农药在中药材中的残留和对环境的污染。有些杀虫剂, 如有机氯农药因其中等极性、分配系数较小 (3~4)、降解半衰期长、生物富集系数 (BCF) 大, 在日光、高温或酸性环境中均不易分解, 可在自然界中长期残留。这些残留在自然界中的农药经吸收和富集作用积累在中药材中, 食用后会在体内积聚, 对人体造成极大的伤害。因而, 联合国粮农组织 (FAO) 和世界卫生组织 (WHO) 于 1999 年制定了各种食品中农残的最大允许量 (M AL), 许多国家对天然植物产品中的农药残留量也有严格的限制, 如一些欧美国家规定人参中六六六的含量不得超过 $0.1 \mu\text{g/g}$ 。农药残留量偏高已是直接制约中药和植物药进入国际市场的因素之一。

根据不同的分类标准, 农药可以分为许多不同的种类^[1]。不同种类的农药其效用和毒性各不相同, 一般说来, 有机氯类农药容易通过在生物体内积聚引起慢性中毒, 降解半衰期长, 而有机磷农药则容易引起急性中毒但降解半衰期较短。目前, 人们最为关注的农药为有机氯农药以及一些有机磷农药。中药质量的好坏, 直接影响疗效和患者的安全, 为了对广大人民群众的生命健康负责, 大力开展中药材残留农药脱除与痕量检测的研究具有重要的意义。

本文对中药材中农残的脱除以及样品中痕量农残的分析过程中提取、净化预处理和检测等内容进行了述评, 重点介绍了超临界萃取在其中的应用。

1 中药材中农药残留量的脱除

因中药材成分复杂、残留农药种类多样且与生物体细胞常紧密结合, 人们很难在利用有机溶剂脱除中药材中农残的同时, 不损失中药材的有效成分, 也不造成有机溶剂对中药材的二次污染。目前, 中药材的栽培多采用预防性的措施, 如在新开垦的荒地上种植中药材、使用对农药吸收能力相对较弱的植物体有效药用部位入药、选择不适于病虫害发生的季节栽种中药材或利用生物农药等措施来降低农残含量。对中药

药材中残留农药的研究相对集中于检测和分析方面, 而有关脱除中药材中残留农药方法的报道则较少。

目前用于去除中药材残留农药的方法主要有水洗法、炮制法等^[1]。水洗法是用清水或水蒸汽等对中药材进行清洗, 以达到去除残留农药污染物的目的。此法仅适用于污染植株表面及鲜品中药材的水溶性农药, 而对于生物富集系数大、具有较强穿透性易进入植株内部的绝大多数的脂溶性农药则效果较差。炮制法是指将中药材在适当的设备中加热至适当的温度, 在不破坏中药材中有效药用成分的前提下, 使中药材中的残留农药污染物分解或降解为无害的物质, 从而达到去除残留农药的目的。此法适用于脱除分解温度或降解温度不太高的农药。

超临界流体萃取技术 (supercritical fluid extraction, SFE) 是 20 世纪 70 年代末兴起的一种新兴化工分离技术。常用的超临界流体为二氧化碳, 由于无毒、不易燃、无腐蚀、无污染等特性, 是理想的超临界流体。该萃取工艺具有低能耗、无环境污染和操作条件温和、适合于处理热敏性物质等特性, 对脂溶性农药溶解度较大, 使得超临界流体萃取技术特别适合于中药材中残留农药的脱除: 既能脱除中药材中残留农药, 又不会对中药材的有效成分损失过多。因此, 超临界萃取技术在中药材残留农药的脱除方面具有广阔的应用前景。国外用超临界流体萃取技术脱除植物及蔬菜中的残留的有机磷或有机氯农药已有报道^[2]。例如从啤酒花中脱除农残, 利用超临界萃取与吸附相结合的技术, 首先脱除 87% 的农残, 再通过改变超临界萃取条件从啤酒花中提取出其有效成分苦味酸。Ling 等^[3]研究了 SFE 在从中药材中去除有机氯农药方面的应用, 利用 SFE 技术从甘草、苍术、芍药、川芎以及人参等中药材中脱除六六六同分异构体、七氯等农残, 并利用气相色谱-电子捕获检测器进行分析, 实验得到的萃取收率均在 80% 以上。

2 中药材中农残的痕量检测

20 世纪 80 年代初, 中药材中农残的检测就引起了我国有关部门的重视。国家中医药管理局在“七五”、“八五”和“九五”期间组织了多家研究单位进行中药材中残留农药的检测研究, 有机氯农药的测定方法经有关专家评审, 已收入《中华人民共和国药典》2000 年版附录。Schilcher 等在 20 世纪 60 年代便开始这方面的研究, 并就研究结果进行了总结。

中药材成分的复杂性使得痕量农残的提取、分离、净化

* 收稿日期: 2003-05-23

作者简介: 李淑芬 (1945-), 女, 河北省河间市人, 瑞士苏黎世联邦高等工业大学博士, 现为天津大学教授, 博士生导师。

Tel (022) 27408578 E-mail shfl@tju.edu.cn

和富集难度加大,严重干扰了中药材中农残的精确测定。但随着分析化学及其相关技术的发展,人们对样品中痕量目的溶质的提取和检测技术也在不断的进步。

2.1 常用中药材中农残分析方法: 仪器分析是最常用的中药材中农残分析检测方法。常用的仪器分析方法有色谱法。依据流动相的状态色谱法又分为气相色谱法、高压液相色谱法和超临界流体色谱(SFC)等。

气相色谱法中对检测精度影响最大的因素是填充色谱柱(如 V-17, QF 等)。人们针对含氯等电负性较大元素的有机氯农药采用了灵敏度更高的电子捕获检测器,使得以前填充色谱柱的柱效率太低,某些组份的检测峰不能完全分离、检测数据不够准确的情况有了很大改善,使农残的检测可精确到 10%。在此基础上,人们又进行了各种局部的改善。例如王元鸿等^[4]采用高分离效能的毛细管气相色谱检测了六六六、滴滴涕、六氯苯、五氯硝基苯、环氧七氯等有机氯农药残留量,结果表明样品中和对照品中待测组份的保留时间保持一致,各组份检测峰的分离效果令人满意。薄层色谱法在中药材残留农药定量分析中也获得了较为广泛的应用。

近年来 SFC 在分析胺类、芳香油、鸦片碱等的应用日益广泛。开管柱型 SFC 分离胺类、氨基唑啉效果良好;填充柱 SFC 分离内酰胺、安息香类镇静剂等已取得了成功。制备型超临界色谱也已经问世,它可用来纯化饱和脂肪酸。另外,超临界色谱还可以与 GC、HPLC、薄层色谱及质谱等联用,大大拓宽其应用范围。

此外,仪器联用如气-质联用仪、液-质联用仪、酶免疫分析法和毛细管电泳法等,在中药材农药残留量分析中也逐渐增多^[5]。由于痕量残留农药的色谱检测方法比较可靠,是目前比较成功的中药材农残检测的主流方法,被列为国家进出口商品农药残留量检测的标准方法之一。

2.2 中药材中残留农药的提取与净化: 色谱分析样品的预处理,即待测农残的提取与净化,直接影响色谱分析结果,是一个进展缓慢的薄弱环节。由于目标检测药物大都是相对分子质量较高、结构复杂的化合物,它们与中药材基体间存在着较强的束缚作用力(物理和/或化学结合力),使得痕量的农残难以从束缚作用中解脱出来。适当的前处理是必不可少的步骤。至少仍普遍采用的方法为经典有机溶剂萃取方法,如浸取、索氏萃取等。这些方法不仅步骤多、费时、试剂消耗量大,并对操作人员健康和环境造成危害。一般地,完成整个样品分析全过程,分析测定时间仅占 6%,而样品制备时间占 61%^[6]。如何开发使用溶剂量少,尤其是不用有机溶剂的样品制备与预处理技术应是当今痕量分析研究的热点之一。

2.2.1 中药材痕量残留农药的提取: 用于中药材中痕量农残提取的常见方法^[7]有漂洗法、组织捣碎法、振荡法、冷浸法、索氏萃取法、超声法、固相萃取法以及超临界萃取法等。目前比较常用的提取方法主要有振荡法、索氏萃取法、超声法等;萃取剂可以是纯溶剂或混合溶剂。常用的萃取剂有正己烷、石油醚、丙酮、水、乙醇等。

漂洗法是用适当的溶剂将中药材中残留的痕量农药通

过漂洗转移至溶剂中。这种方法较少使用,它只适用于污染中药材表面的易溶农药。

索氏萃取法^[8]是一种比较成熟的分离手段,其最大特色在于通过溶剂的蒸发与回流使得每次与萃取物相接触的萃取剂都是纯溶剂,从而大大提高了溶剂的萃取推动力,达到了提高萃取速度和萃取效率的目的。影响索氏萃取法萃取效率的因素主要有被萃物的粒度、回流频率、萃取时间、溶剂的纯度、溶剂的极性、农残的性质及其与基体的相互作用等。

振荡法^[9]是通过提供一定的振动来萃取溶剂的湍动程度,减小其与被萃物之间的传质界面的厚度,从而达到提高萃取速度与效率的目的。这种方法的优点是溶剂利用率高、萃取效率较高。影响振荡法萃取效果的因素主要有振荡频率、萃取温度、萃取时间、被萃物粒度、溶剂性质和农残的性质及其与中药材的结合特征等。

超声法^[10]是通过超声提取设备提供一定品质的超声波使被“束缚”在中药材生物细胞中的残留农药解脱出来,从而强化萃取的速度和效率。这种方法可以在常温下进行,影响其萃取效率的特征因素有超声波的品质、萃取温度等。

上述的痕量农残提取方法归根到底都是溶剂萃取,都是采用适当极性和纯度的溶剂将目标农残从中药材基体上分配转移到溶剂中去,以便进行后面的净化和定量分析。只不过各种方法都在提高萃取效率上有各自的特色。当萃取剂为有害溶剂时,一般会污染环境并伤害操作人员。

分析型超临界萃取用于痕量药检样品的预处理目前正受到广泛重视。研究表明^[5, 10], CO₂ 超临界萃取对非极性或弱极性的农残(如有机氯农药)有较高溶解度,而对中等极性的有机磷农药及其他强极性农药,溶解度一般都很低,当这些农药残留于待测的基体中时,则它们在 CO₂ 中的溶解度要比其为纯化合物时的净溶解能力还要小得多。为了克服目标检测物与生物基体间较强的束缚作用力,研究者们采取了多种措施:将生物原样破碎成适宜的尺寸或粒度以减少流体与待萃农残在生物基体中传质扩散距离^[11];加入适宜分散剂增加传质表面积;提高萃取压力以增大萃取能力;适当提高温度以便提供待萃农残其脱附时克服能势必需的热能;适当增大流速或 SF 溶剂、原料等。当利用 CO₂ 超临界萃取极性农残化合物时,在 CO₂ 中加入极性夹带剂提高流体的溶解度参数和克服生物基体对待萃物的束缚作用是 SFE 技术的另一常有措施,所加试剂本身在液态时就常是检测物的优良试剂。极性待测农残与极性夹带剂间可能形成某种特殊分子作用力(如 Lewis 酸碱作用力、氢键力、缔合力等)从而利于克服生物基体的束缚作用。加入某些助剂也可使之通过竞争取代待萃成分与基体结合的位置,或通过待萃成分与基体进行络合反应降低药物解吸时的活化能势。

SFE 方法由于萃取率高、分离步骤少且对环境无害而明显优于传统方法,其应用前景十分诱人,正逐步代替某些传统方法。近 10 年来超临界萃取技术用于制备痕量药检样品已有大量文献发表。有关采用超临界萃取对各种基体(如土壤、淤泥、水、植物、蔬菜及生物体等)中的各种农残(如有机

氯农药、有机磷农药、特异性杀虫剂等)提取和痕量检测的综述亦有报道^[12]。

2.2.2 中药材痕量农药提取液的净化:为了除去农药富集样品中对后面的定量分析造成干扰的杂质,常需进行适当的净化。常用的净化方法有液-液分配法、单一或混合填料的固相萃取法、磺化法和低温冷冻法^[1]等。

液-液分配法采用在农药富集样品中加入溶剂的办法分相,而低温冷冻法利用降低样品温度的办法分相。由于目标农药和干扰成分在两相间分配系数不同,达到提取干扰成分的目的。

磺化法是在样品中加入浓硫酸,利用浓硫酸有磺化作用使干扰定量分析的杂质或溶剂形成溶于水的磺化物,通过水洗来达到提取干扰物的目的。磺化法一般适用于较稳定的有机氯农药的净化^[7]。

单一或混合填料的固相萃取法^[13]在本质上就是吸附法,通过填料的选择性吸附来去除样品中的干扰杂质。这种方法可以是选择性吸附目标农药,再用洗脱液洗脱;也可以是对干扰杂质进行选择性的吸附来实现干扰物的去除。此法常用微型柱^[1],填料主要有硅胶、凝胶、 Al_2O_3 、纤维素、活性炭、Celite545等。

3 中药材中农残的脱除和检测展望

虽然针对残留农药的脱除和痕量检测的研究已取得一定进展,但 these 在残留农药污染后采取的补救措施毕竟是被动的。为了有效地控制和降低中药中农药残留量,只有从根本上,即从施用农药的环节上来解决问题才是积极的。在中药材种植过程中,要严格遵守国家颁布的农药安全使用施行标准及有关规定,不使用高毒及降解半衰期长的农药。同时要开发低毒、高效、低残留、易降解的农药以保证在中药材栽培、保护环境、保护国民健康方面取得多重功效。

在今后中药材残留农药的脱除和痕量检测研究中,传统的有机溶剂法由于步骤多、费时、有机溶剂消耗量大且对操作人员健康和环境造成危害等缺点,将会在“绿色化”的潮流中受到更大的冲击,而超临界萃取技术具有萃取率高、分离

步骤少且对环境无害等优点,展示了其诱人的应用前景。随着人们对超临界流体萃取技术的深入研究以及对生物体物质间作用方式及传递方式的进一步深刻认识,超临界萃取无论在中药材残留农药污染物的痕量检测分析技术还是在中药材残留农药污染物脱除工艺的开发中均会发挥其效能,在中药现代化的进程中发挥越来越大的作用。

References

- [1] Reef van der Hoff, Piet van Zoonen. Review trace analysis of pesticide by gas chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 843: 301-322.
- [2] Barnabas I J, Dean J R, Hitchen S M, *et al.* Selective extraction of organ chlorine and organ phosphorus pesticides using a combined solid phase extraction supercritical fluid extraction approach [J]. *Anal Chim Acta*, 1994, 291: 261-267.
- [3] Ling Y C, Teng H C, Cartwright C. Supercritical fluid extraction and clean-up of organ-chlorine pesticides in Chinese herbal medicine [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 835: 145-157.
- [4] Wang Y H, Rong H. Determination of organochlorine pesticide residue in ginseng by capillary gas chromatography [J]. *Chin J Anal Chem* (分析化学), 1994, 22(9): 931-934.
- [5] Vaclav J. Review supercritical fluid extraction in environmental analysis [J]. *J Chromatogr*, 1993, 642: 283-299.
- [6] Li S F, Chen B L. A new technology: determination of trace level drugs in samples with the application of supercritical fluid extraction [J]. *Chem Ind Eng Prog* (化工进展), 1999, 18(3): 55-60.
- [7] Celeste M L, Irene Nomnha da Silverira M. Extraction and clean-up methods for the determination of organochlorine pesticide residues in medicinal plants [J]. *J Chromatogr A*, 1997, 769: 275-283.
- [8] Luque de Castro M D, Graco Aa-Ayuso L E. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future [J]. *Anal Chim Acta*, 1998, 369: 1-10.
- [9] Chen J M, Zhang S M, Liu H L, *et al.* Determination of organochlorine pesticides residue in Chinese medicinal plants [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 2002, 35(2): 79-82.
- [10] Chen J M, Zhang S M. Determination of organochlorine pesticide residue by GC chromatography [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1998, 29(6): 381-383.
- [11] Janusz P. Kinetics model of supercritical fluid extraction [J]. *J Chromatogr Sci*, 1993, 31: 31-37.
- [12] FAO/WHO. *Guide to Codes Recommendations Concerning Pesticides* [M]. Rome: World Health Organization, 1985.
- [13] Wang H B H Y, Lee M R. Solid phase micro extraction for organochlorine pesticides residues analysis in Chinese herbal formulations [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 898: 245-256.

山东药圣生物科技(平邑)有限公司荣誉推出“药圣 1+ 1[®]天然澄清剂”

“药圣 1+ 1[®]天然澄清剂”主要用于: 1. 传统中药“水提醇沉”工艺中乙醇的替代; 2. 传统中药提取物(如银杏叶干浸膏、山楂叶黄酮、叶绿素等)工艺中有机溶媒的水溶媒替代; 3. 中药水针、粉针、冻干粉针的澄清处理; 4. 无菌、无热原的中医药原料、生化原料澄清处理; 5. 中草药、生化药品、保健食品、口服液、果汁、茶饮料、啤酒等产品的澄清处理; 6. 氨基酸类、维生素类、有机酸类、抗生素类发酵液的澄清处理; 7. 对重金属污染的工业废液(水)及其他工业废水的澄清处理; 8. 对出口食品、药品、药材、保健品重金属农药残留超标的有效处理。

收得率分别提高 30% ~ 10倍;含量提高 10% ~ 50%;工厂成本下降 30% ~ 80%;还生产硫酸软骨素、黄连素系列、注射用黄芩苷(95%),双花连翘苷,银杏叶干浸膏、丹参素、丹参川芎浸膏等,以及口服级中药提取物,可根据客户要求生产,亦可进行相应品种的技术转让。

地址: 山东平邑县浚河路 78号

江西公司地址: 江西苍源药业四楼

四川地址: 雅安鸿龙大厦三楼

电话(传真): (0539) 4088727 4089366 13573927737

电话(传真): (0794) 8231658 13307040029

电话(传真): (0835) 7632956 13320931132