

5 μm)。

3.4 供试品溶液制备:实验分别对水、甲醇、95%乙醇超声提取 30 min,水、甲醇、95%乙醇回流提取 2 h 进行了考察。结果表明,乙醇回流提取后所得色谱峰的峰数为最多。后又对 50%、75%、95%乙醇回流 2 h 提取进行试验,发现 3 者之间 50%乙醇出峰峰数较其他各方法多,本实验采用 50%乙醇作为提取溶剂进行回流提取 2 h。

3.5 聚类分析与主成分分析:应用了 PCA 投影法和系统聚类分析法两种化学计量学方法对白芍色谱积分数据进行了模式识别的初探。从整体分类效果上来看,PCA 投影法更为直观,能一目了然地看出各个白芍药材分类样本之间的聚类关系。系统聚类分析法更能体现出分类样本间内在的相互联系,分类结果较 PCA 投影法更为细致。

综合 47 批白芍药材相似度结果分析,表明白芍

原药材与饮片间质量差异巨大,说明所收集的不同白芍原药材之间有一定差异性也有一定相关性。PCA 投影法与欧氏距离聚类分析两种方法在分类结果上是一致的,不存在冲突,同时使用则可相互支持、互为依托。

参考文献:

- [1] 中国药典[S].一部.2005.
- [2] 高小荣,田庚元.白芍化学成分研究进展[J].中国新药杂志,2006,15(6):416-418.
- [3] 张克荣,白丽,徐赞美.RP-HPLC法同时测定白芍中芍药苷和芍药内酯苷的含量[J].药物分析杂志,2003,23(2):222.
- [4] 邹忠梅,徐丽珍,杨世林.芍药总苷高效液相色谱指纹图谱研究[J].药学报,2003,38(1):46-49.
- [5] 谢培山,林巧玲.白芍总苷的薄层色谱指纹图谱实验研究[J].中药新药与临床药理,2004,15(3):171.
- [6] 黎阳,刘素香,张铁军,等.枳实的高效液相色谱指纹图谱研究[J].中草药,2009,40(9):1469-1474.
- [7] 赵强,王文燕,张铁军,等.决明子的 HPLC 指纹图谱及模式识别研究[J].中草药,2009,40(10):1638-1641.

MSPD-GC 法测定黄芪中 20 种农药残留

沈旭,陈晓辉,果德安,张舒婷,勾萌,毕开顺*

(沈阳药科大学药学院,辽宁 沈阳 110016)

摘要:目的 建立黄芪中 20 种有机氯和拟除虫菊酯类农药的检测方法。方法 采用基质固相分散-气相色谱法(MSPD-GC),色谱柱为 PH-5 石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm);柱温(程序升温):150 $^{\circ}\text{C}$ 为起始温度,以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$,保持 1 min,再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 270 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;进样口温度:230 $^{\circ}\text{C}$;ECD 检测器温度:280 $^{\circ}\text{C}$;载气为氮气,测定黄芪中 20 种有机氯和拟除虫菊酯类农药残留量。结果 有机氯和拟除虫菊酯类农药分别在 5~500、10~1 000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 呈良好线性关系, r 为 0.997 9~0.999 7。平均回收率($n=9$)为 83.6%~110.3% ($\text{RSD}<10\%$)。结论 该方法操作简便快速,可作为中药材中有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的测定方法。

关键词:基质固相分散;气相色谱法;黄芪;有机氯;拟除虫菊酯类农药

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)11-1814-04

黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *mongholicus* (Bunge) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根,属根类药材,易被农药污染^[1]。对中药中污染程度较高的有机氯和拟除虫菊酯类农药残留的测定,传统的前处理方法繁琐,且有机试剂消耗量大^[2,3]。基质固相分散法(MSPD)是一种较新的样品前处理技术,可同时完成对样品待测组分的提取和净化,耗时短,溶剂用量少^[4]。已有应用 MSPD 法测定果蔬中农药残留的报道,但在药材中

的应用报道较少,未见到应用 MSPD 法同时测定中药材中有机氯和拟除虫菊酯类农药的报道。本实验采用基质固相分散-气相色谱法(MSPD-GC)对黄芪中残留的 20 种有机氯和拟除虫菊酯类农药进行检测,得到了比较满意的效果。

1 仪器与试剂

Agilent-6890N 毛细管气相色谱仪(美国 Agilent 公司),配⁶³Ni-ECD 检测器,HP COPE 色谱工作站;BP210S 电子天平(Sartorius 公司);玻璃柱(2.5 cm $\times$ 20 cm)。

收稿日期:2009-02-08

作者简介:沈旭(1983—),女,硕士研究生,药物分析专业,研究方向为中药材农药残留研究。

Tel:13591468470 E-mail:shenxv1983@163.com

* 通讯作者 毕开顺 Tel:(024)23986296 E-mail:ksbi@mail.sy.ln.cn

对照品:六氯苯(hexachlorobenzene)、 α -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、七氯(heptachlor)、艾氏剂(aldrin)、环氧七氯异构体-B(heptachlor epoxide isomer B, HCE)、 γ -氯丹(γ -chlordane)、狄氏剂(dieldrin)、异狄氏剂(endrin)、2,4'-DDT、4,4'-DDT(美国 SUPELCO 公司,质量分数 > 99.0%);联苯菊酯(bifenthrin)、甲氰菊酯(fenpropathrin)、三氟氯氰菊酯(cyhalothrin)、氯菊酯(permethrin)、氟氯氰菊酯(cyfluthrin)、氯氰菊酯(cypermethrin)、氰戊菊酯(fenvalerate)、溴氰菊酯(decamethrin)(均购于天津农业部环境质量监督检验测试中心,质量分数 > 99.0%)。

样品:蒙古黄芪药材 *Radix Astragali* (云南等7个产地),由沈阳药科大学孙启时教授鉴定。

试剂:石油醚、丙酮、正己烷(分析纯,经重蒸处理,天津市大茂化学试剂厂);无水硫酸钠(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);弗罗里硅土(国药集团化学试剂有限公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件:HP-5 石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m),升温程序:150 $^{\circ}$ C 为起始温度,5 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保持 1 min,再以 2 $^{\circ}$ C/min 升至 270 $^{\circ}$ C,保持 5 min,进样口温度:230 $^{\circ}$ C,ECD 检测器温度:280 $^{\circ}$ C;载气为氮气,体积流量:1.0 mL/min,采用分流进样,分流比为 3:1,进样量:1 μ L。理论板数按 α -BHC 峰计算不低于 1×10^6 ,按溴氰菊酯峰计算不低于 1×10^5 ,两个相邻色谱峰的分离度大于 1.5。

2.2 混合对照品储备液制备:分别精密称取各有机氯类农药对照品 5.0 mg,精密量取各拟除虫菊酯类农药对照品 0.5 mL,分别置 25 mL 量瓶中,加正己烷溶解并定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 200 mg/L 的各有机氯类农药对照品储备液和质量浓度为 20 mg/L 的各拟除虫菊酯类农药对照品储备液。分别精密量取上述对照品储备液 0.25 mL,各拟除虫菊酯类农药对照品储备液 5 mL,置 100 mL 量瓶中,加正己烷稀释并定容至刻度,摇匀,配制成有机氯类农药质量浓度为 500 μ g/L,拟除虫菊酯类农药质量浓度为 1 000 μ g/L 的混合对照品储备液。

2.3 供试品溶液制备:取黄芪药材粉末(过 40 目筛)约 2.0 g,精密称定,置研钵中,加入 0.2 mL 水,约 4.0 g 弗罗里硅土。充分研磨,使成为均匀的混合物。在玻璃柱下端放一块洁净的脱脂棉,依次填入无水硫酸钠(2 cm)、上述混合物、无水硫酸钠(2

cm),轻轻敲实。用石油醚-丙酮二元混合溶剂淋洗柱子,收集 50 mL 淋洗液,氮气吹干,加正己烷溶解并转移至 1 mL 量瓶中,加正己烷稀释并定容至刻度,供进样分析。

2.4 线性关系考察:精密量取不同体积上述混合对照品储备液,配制有机氯类农药质量浓度分别为 5、10、50、100、200、500 μ g/L,拟除虫菊酯类农药质量浓度分别为 10、20、100、200、400、1 000 μ g/L 的混合对照品系列溶液。分别取上述溶液各 1 μ L 进样分析,以质量浓度(X)(μ g/L)为横坐标,各对照品峰面积(Y)为纵坐标,绘制标准曲线并进行回归计算。结果表明:有机氯类农药在 5~500 μ g/L、拟除虫菊酯类农药在 10~1 000 μ g/L 与峰面积呈良好的线性关系。结果见表 1。

2.5 精密度试验:精密吸取同一质量浓度混合对照品溶液(有机氯类农药为 50 μ g/L,拟除虫菊酯类农药为 100 μ g/L),在上述色谱条件下重复进样 6 次,测得 20 种农药峰面积的 RSD 在 1.1%~5.2%。

2.6 重现性试验:精密称取同一产地黄芪药材粉末 6 份,分别精密加入相同体积混合对照品溶液,按“2.3”项下方法操作,在上述色谱条件下进行分析,20 种农药质量分数的 RSD 在 2.5%~8.1%。

表 1 20 种农药的回归方程和相关系数

Table 1 Regressive equation and correlation coefficient of 20 kinds of pesticides

农药	回归方程	r
α -BHC	$Y=45.61 X-58.43$	0.999 7
六氯苯	$Y=36.06 X-38.56$	0.999 7
γ -BHC	$Y=39.72 X-322.9$	0.999 0
δ -BHC	$Y=40.02 X-171.6$	0.999 7
七氯	$Y=30.50 X-211.9$	0.999 0
艾氏剂	$Y=38.33 X-304.9$	0.998 9
环氧七氯异构体-B	$Y=33.58 X-167.9$	0.999 5
γ -氯丹	$Y=30.53 X-217.3$	0.999 2
狄氏剂	$Y=38.34 X-267.6$	0.999 3
异狄氏剂	$Y=18.46 X-113.3$	0.999 2
2,4'-DDT	$Y=12.65 X-91.8$	0.999 0
4,4'-DDT	$Y=10.47 X-97.6$	0.997 9
联苯菊酯	$Y=7.134 X+11.13$	0.999 5
甲氰菊酯	$Y=8.02 X-4.855$	0.999 5
三氟氯氰菊酯	$Y=24.10 X-402.0$	0.998 6
氯菊酯	$Y=4.026 X+20.21$	0.999 6
氟氯氰菊酯	$Y=17.16 X-135.5$	0.999 3
氯氰菊酯	$Y=13.00 X-65.74$	0.999 4
氰戊菊酯	$Y=17.72 X-69.03$	0.999 2
溴氰菊酯	$Y=19.24 X-213.5$	0.999 1

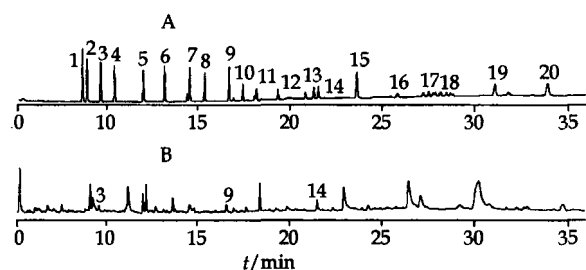
2.7 稳定性试验:取室温放置同一供试品溶液,分别于 0、2、4、8、12、24 h 在上述色谱条件下进样分析。20 种农药峰面积的 RSD 在 1.3%~6.2%。

2.8 加样回收率试验:称取同一产地黄芪药材粉末9份,每3份为一组,每份约2.0 g精密称定,置研钵中,分别精密加入混合对照品溶液,使有机氯类农药添加的量分别为5、20、50 $\mu\text{g}/\text{kg}$,拟除虫菊酯类农药添加量分别为10、40、100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,按“2.3”项下操作,在上述色谱条件下进样分析,计算回收率。20种农药的平均回收率分别为95.0%、109.0%、86.6%、89.7%、105.3%、89.0%、102.2%、95.6%、88.2%、99.5%、107.2%、83.6%、110.3%、103.8%、106.2%、99.1%、97.4%、104.4%、101.0%、85.2%,RSD分别为2.8%、4.4%、4.5%、6.2%、7.0%、7.8%、4.8%、6.3%、7.8%、2.9%、8.1%、6.1%、5.4%、7.9%、6.2%、9.5%、8.3%、7.1%、6.5%、8.4%。

2.9 最小检出量和最低检测浓度:有机氯和拟除虫菊酯类农药的最小检出量($S/N=3$)分别为 3.125×10^{-13} g和 6.25×10^{-13} g。两类农药的最低检测量分别为5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

2.10 样品测定:混合对照品溶液和代表性样品色谱图见图1。取黄芪样品约2.0 g,精密称定,按

“2.3”项下制备供试品溶液,在上述色谱条件下进行GC分析,采用外标法计算农药残留量,结果见表2。



1- α -BHC 2-六氯苯 3- γ -BHC 4- δ -BHC 5-七氯 6-艾氏剂
7-环氧七氯异构体-B 8- γ -氯丹 9-狄氏剂 10-异狄氏剂
11-2,4'-DDT 12-4,4'-DDT 13-联苯菊酯 14-甲氧菊酯
15-三氯氟氰菊酯 16-氯菊酯 17-氟氯菊酯 18-氯氰菊酯
19-氰戊菊酯 20-溴氰菊酯
1- α -BHC 2-hexachlorobenzene 3- γ -BHC 4- δ -BHC 5-heptachlor 6-aldrin 7-HCE 8- γ -chlordane 9-dieldrin 10-endrin
11-2,4'-DDT 12-4,4'-DDT 13-bifenthrin 14-fenprothrin
15-cyhalothrin 16-permethrin 17-cyfluthrin 18-cypermethrin 19-fenvalerate 20-decamethrin

图1 混合对照液(A)和黄芪样品(B)气相色谱图

Fig. 1 GC Chromatograms of mixed pesticides reference substance (A) and sample (B)

表2 黄芪样品20种农药残留量

Table 2 Residues of 20 kinds of pesticides in *Radix Astragali* sample

产地	农药残留量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$									
	α -BHC	六氯苯	γ -BHC	δ -BHC	七氯	艾氏剂	环氧七氯异构体-B	γ -氯丹	狄氏剂	异狄氏剂
云南	—	—	—	—	—	—	—	—	16.67	—
内蒙	—	—	9.48	—	—	—	—	—	12.82	—
山西	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
甘肃	—	—	—	—	—	—	18.91	—	—	—
河南安阳	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
辽宁抚顺	—	—	—	—	—	—	—	—	8.12	—
宁夏	—	—	—	—	—	6.651	—	—	—	—
产地	2,4'-DDT	4,4'-DDT	联苯菊酯	甲氧菊酯	三氯氟氰菊酯	氯菊酯	氟氯菊酯	氯氰菊酯	氰戊菊酯	溴氰菊酯
云南	—	18.94	—	—	—	—	—	—	16.67	—
内蒙	—	—	—	59.13	—	—	—	—	—	—
山西	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
甘肃	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
河南安阳	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
辽宁抚顺	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
宁夏	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

“—”指未测到或低于最低检测浓度

“—” means not found or under LOQ

3 讨论

本实验分别对药材和弗罗里硅土的比例,水和弗罗里硅土的比例,石油醚-丙酮二元混合溶剂中丙酮的体积分数进行了考察。结果发现药材和弗罗里硅土的比例为1:2,水和弗罗里硅土的比例为1:20,丙酮的体积分数为5%时所测农药的回收率较高。

本实验应用 MSPD-GC 法对7个产地黄芪药材

中残留的20种有机氯和拟除虫菊酯类农药进行研究,方法简便、快速,有机试剂消耗量少。山西、河南安阳产黄芪没有农药检出。云南等产地黄芪有部分农药被检出。DDT、BHC的量低于《中国药典》2005年版(一部)所规定的限量,对于其他农药,《中国药典》没有相关的限量要求,本实验参考国家标准《食品中农药最大残留限量》和《欧洲药典》2008年版,

所测农药的最低检测浓度均低于相关的残留限量,且均未超标。

参考文献:

- [1] 薛健,金红宇,田金改,等. 中药农药残留问题研究与思考[J]. 中草药,2007,38(10):1578-1581.
[2] 万益群,鄢爱平,谢明勇. 中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯

农药残留量的测定[J]. 分析化学研究报告,2005,33(5):614-618.

- [3] 吴加仑,邹耀华,李丽青. 白芍和黄连中十五种有机氯和拟除虫菊酯类农药的多残留分析方法[J]. 农药学报,2006,8(1):65-70.
[4] 杨红兵,鲁立良,张玲. 底物固相分散法测定甘草中菊酯类农药残留[J]. 时珍国医国药,2006,17(9):1657-1658.

油松节药材中 α -蒎烯的测定方法研究

刘东静,张林林,薛健*,陈士林

(中国医学科学院北京协和医学院 药用植物研究所,北京 100193)

摘要:目的 研究油松节药材中 α -蒎烯的测定方法,分析不同产地样品的量。方法 采用溶剂超声提取样品、气相色谱法[HP-5 弹性毛细管柱(0.32 mm×30.0 m×0.25 μ m)]测定油松节药材中 α -蒎烯的量。结果 α -蒎烯在 0.01~10.0 mg/mL 呈良好线性关系, $r=0.9999$,平均回收率为 99.7%;20 批样品中 α -蒎烯的平均质量分数为 0.46%。结论 本方法简便、准确,可用于油松节的质量控制。

关键词:油松节; α -蒎烯;气相色谱法

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)11-1817-02

油松节药材为裸子类植物油松 *Pinus tabulaeformis* Carr. 和马尾松 *Pinus massoniana* Lamb. 枝干的结节、分枝节和瘤状物。油松节入药的最早记载是魏晋时期的《名医别录》^[1],距今已有 1 600 多年的历史。油松节主要含纤维素、木质素、少量挥发油和树脂。油松节的挥发油主要为单萜、倍半萜类。目前对于松树药用价值的研究,主要针对的是松花粉^[2]、松针^[3]、松香和松节油,而对于油松节的现代研究很少^[4],更没有关于油松节的质量标准研究。关于 α -蒎烯测定方法研究的文献较多^[5~7],但这些研究多是测定松节油、精油、液态药品或软膏中 α -蒎烯的量。由于上述样品与油松节药材物理性质的差异太大,因此有必要对油松节中 α -蒎烯的测定方法进行研究。本课题组在《中国药典》修订专项基金的资助下进行相关研究。

1 仪器与试剂

Agilent 6890N 气相色谱仪(配备 FID);Agilent HP-5 弹性毛细管柱(0.32 mm×30.0 m×0.25 μ m),天鹏 TP-150 超声波仪[天鹏电子新技术(北京)有限公司];梅特勒 PL203 型分析天平(瑞士梅特勒-托利多国际股份有限公司)。

α -蒎烯对照品,购自中国药品生物制品检定所

(批号:897-200001,供定量测定用);石油醚、乙醇为分析纯,购于北京化学试剂厂。

油松节药材共 20 批,由中国医学科学院药用植物研究所张本刚研究员鉴定。

2 方法与结果

2.1 气相色谱条件:HP-5 弹性毛细管柱(0.32 mm×30.0 m×0.25 μ m),升温程序:柱始温 60 $^{\circ}$ C,保持 5 min,以 5 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 160 $^{\circ}$ C,以 20 $^{\circ}$ C/min 的速率升到 280 $^{\circ}$ C,保持 5 min。进样口温度:200 $^{\circ}$ C;检测器温度:300 $^{\circ}$ C;载气流量为 1.5 mL/min。分流比 5:1。色谱图见图 1。

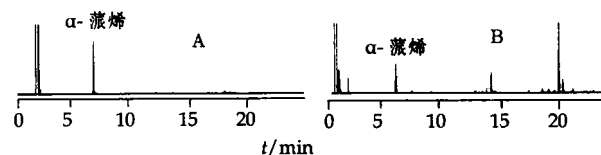


图 1 α -蒎烯对照品(A)和 1 号油松节样品(B)气相色谱图
Fig. 1 GC Chromatograms of α -pinene reference substance (A) and sample (B)

2.2 对照品溶液的制备:取 α -蒎烯对照品适量,精密称定,加乙醇制成 1.0 mg/mL 的 α -蒎烯对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备:取干燥的样品粉末约 2 g (过三号筛),精密称定,置于 100 mL 锥形瓶中,精

收稿日期:2009-01-03

基金项目:《中国药典》2010 版一部标准研究项目(新增中药材油松节质量标准研究,编号:YS-215)

作者简介:刘东静(1984—),女,河北人,在读硕士研究生,研究方向为中药成分分析及污染物研究。

Tel:(010)62895076 E-mail:liudongjing1101@sina.com

* 通讯作者 薛健 Tel:(010)62895076 E-mail:xuejian200@sina.com