

续断中有机氯农药残留的测定

许 靖, 邢 丽, 郑万有, 郑 夺

天津市中心妇产科医院 药剂科, 天津 300052

摘要: 目的 检测续断中有机氯农药残留。方法 采用浓硫酸磺化法, 选择 DB-1701 弹性石英毛细管柱, 不分流进样, 通过柱程序升温手段测定六六六 4 种异构体和滴滴涕 4 种异构体共 8 种有机氯农药残留。结果 最低检测限为 1.5~25 ng/mL, 平均回收率为 92.0%~104.0%, 续断药材中有机氯农药残留远低于《中国药典》标准。结论 建立了一套简便、操作性强的续断中有机氯农药残留的分析方法。

关键词: 续断; 有机氯农药; 残留量; 检出限; GC-ECD

中图分类号: R286.01 文献标志码: B 文章编号: 0253-2670(2011)03-0502-03

Determination of organochlorine pesticide residues in *Dipsaci Radix*

XU Jing, XING Li, ZHENG Wan-you, ZHENG Duo

Department of Pharmacy, Tianjin City Hospital for Gynaecology and Obstetrics, Tianjin 300052, China

Key words: *Dipsaci Radix*; organochlorine pesticide; residue level; limit of determination; GC-ECD

中药材作为一种经济作物, 除部分品种来源于野生外, 多数品种和一些野生资源枯竭的品种都是通过种植获得的, 种植过程中由于病虫害的危害会用到多种农药, 因此中草药存在农药残留^[1-2]问题。

续断作为常用中药, 有补肝肾、续筋骨、调血脉的功效, 用于治腰背酸痛、足膝无力、胎漏、崩漏、带下、遗精、跌打损伤、金疮、痔漏等功效^[3]。妇产科医院经常给有先兆流产症状的孕妇使用保胎中药续断, 该药一般在胎儿生长发育早期使用, 一天的用量为 10~15 g, 该药使用时间较长, 大部分患者需服药 2~3 个月, 有的患者甚至在整个孕期长期服药, 所以更易因农药残留而危害孕妇及胎儿的健康。

在续断的栽培过程中, 春夏有蚜虫为害, 田间常用 6%可湿性六六六粉剂喷杀^[3]。有机氯农药六六六 (benzene hexachloride, BHC), 滴滴涕 (dichlorodiphenyltrichloroethane, DDT) 在历史上曾广泛使用, 而且半衰期特别长, 在土壤中常有广泛残留, 目前仍是国内外农药残留监控的主要对象^[4-6]。有机氯农药属于一种环境激素, 能干扰人体内分泌系统,

DDT 和它的主要代谢产物 DDE 是一种环境雌激素, 在结构上与人体内多种激素相似, 包括内源性雌激素, 可以模拟雌激素效应, 干扰内分泌系统的正常功能, 影响机体整体细胞或分子水平的信号传导作用, 造成对机体的损害。基于上述原因, 本实验拟建立一套简便, 操作性强, 并且适用于续断中有机氯农药 BHC、DDT 残留的检测方法。

1 仪器与材料

美国安捷伦气相色谱仪 6890 系列, μ ECD 检测器, KQ-200KDB 型高功率数控超声波清洗仪 (昆山市超声仪器有限公司); 高速冷冻离心机 (北京京立离心机有限公司)。

药材来源: 续断 1, 产地四川, 天津市中药饮片厂分装; 续断 2, 产地四川, 安国市隆联中药饮片有限公司分装; 续断 3, 产地四川, 亳州市中药饮片厂分装; 续断 4, 产地四川, 祁澳中药饮片有限公司分装; 续断 5, 产地四川, 购自安国市药材市场。以上药材均由天津中医药大学中药学院张坚副教授鉴定为川续断科植物川续断 *Dipsacus asperoides* C. Y. Cheng et T. M. Ai. 的干燥根。

收稿日期: 2010-06-12

基金项目: 天津市卫生局科技基金 (07055)

作者简介: 许 靖 (1974—), 女, 天津人, 本科, 主管药师, 研究方向为中草药的安全性和中草药的质量及真伪鉴别。

Tel: 13920022287 E-mail: xujinn@yahoo.cn

BHC 4 种异构体 (α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC) 和 DDT 4 种异构体 (P,P'-DDE、O,P'-DDT、P,P'-DDD、P,P'-DDT) 对照品均由天津市农业科学院中心实验室提供, 质量分数均 >99.0%。丙酮、正己烷为色谱纯; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 混合对照品储备液的制备

精密称取 BHC 4 种异构体 (α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC) 和 DDT 4 种异构体 (P,P'-DDE、O,P'-DDT、P,P'-DDD、P,P'-DDT) 农药对照品适量, 用丙酮-正己烷 (1:1) 分别制成 20 $\mu\text{g/mL}$ 的对照品储备液。

精密量取上述储备液各 0.5 mL, 置 10 mL 量瓶中, 以石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 稀释至刻度, 摇匀, 即得质量浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$ 的混合对照品储备液。

2.2 混合对照品溶液的制备

精密量取上述混合对照品储备液适量, 用石油醚 (60~90 $^{\circ}\text{C}$) 稀释, 制成质量浓度分别为 0、1、5、10、25、50、100 $\mu\text{g/L}$ 的混合对照品溶液, 备用。

2.3 供试品溶液的制备

取 10.0 g 续断药材干燥粉末, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 先后加入 50 mL 丙酮与 50 mL 石油醚, 超声提取 30 min, 以棉花滤过除去悬浮物后, 滤渣以少许石油醚 (约 5 mL) 洗涤, 合并滤液, 于 5 000 r/min 离心 20 min, 合并上清液置圆底烧瓶中, 减压浓缩近干, 以丙酮-正己烷 (1:1) 定容至 5 mL; 转移至刻度试管中, 缓缓加入 1 mL 浓硫酸, 振摇 1 min, 3 000 r/min 离心 10 min, 用滴管取出上层有机层, 待检测。

2.4 色谱条件

DB-1701 弹性石英毛细管柱 (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 进样口温度 260 $^{\circ}\text{C}$, 后检测器温度 300 $^{\circ}\text{C}$, 不分流进样; 载气 99.999 9% 氮气; 载气流量 2.0 mL/min; 程序升温: 初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$, 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min, 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 260 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 尾吹气 40 mL/min。

2.5 线性关系考察

分别精密吸取上述系列质量浓度混合对照品溶液 1 μL 注入气相色谱仪, 每个质量浓度测定 3 次, 以平均峰高为纵坐标, 质量浓度为横坐标进行线性回归, 得回归方程, 结果见表 1。8 种异构体在 25~100 $\mu\text{g/L}$ 有良好线性关系。

表 1 有机氯农药标准曲线

Table 1 Regression equations of organochlorine pesticide

名 称	回归方程	<i>r</i>
α -BHC	$Y=1.332 X+4.761$	0.996 9
β -BHC	$Y=0.755 X+4.025$	0.998 9
γ -BHC	$Y=1.041 X+3.747$	0.998 5
δ -BHC	$Y=1.980 X-10.55$	0.999 4
P,P'-DDE	$Y=0.997 X+4.452$	0.998 5
P,P'-DDD	$Y=0.773 X+3.247$	0.996 6
O,P'-DDT	$Y=0.541 X+2.214$	0.995 8
P,P'-DDT	$Y=0.485 X+1.008$	0.998 8

2.6 检出限的确定

按照供试品溶液制备方法, 不加中药材制备空白样品溶液; 精密吸取空白样品溶液、有机氯农药混合对照品溶液 (1 $\mu\text{g/mL}$) 1 μL 注入气相色谱仪; 以信噪比 (S/N) 3:1 时的质量浓度为最低检出限, 各种农药检出限测定结果见表 2。

表 2 有机氯农药的最低检出限

Table 2 Minimum limit of determination for organochlorine pesticide

名 称	检出限/(ng $\cdot\text{mL}^{-1}$)	名 称	检出限/(ng $\cdot\text{mL}^{-1}$)
α -BHC	7.0	P,P'-DDE	7.0
β -BHC	5.0	P,P'-DDD	25.0
γ -BHC	5.0	O,P'-DDT	1.5
δ -BHC	25.0	P,P'-DDT	5.0

2.7 精密度试验

精密吸取 (1 $\mu\text{g/mL}$) 对照品溶液 1 μL , 重复进样 5 次, 按色谱条件下操作, 计算得 α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、P,P'-DDE、O,P'-DDT、P,P'-DDD、P,P'-DDT 峰面积的 RSD 分别为 2.46%、1.35%、1.02%、1.96%、2.65%、1.24%、0.98%、1.87%。

2.8 重现性试验

准确称取样品 5 份, 每份 10 g, 制备供试品溶液, 测定, 结果 α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC、P,P'-DDE、O,P'-DDT、P,P'-DDD、P,P'-DDT 质量分数的 RSD 均小于 3%。

2.9 稳定性试验

精密吸取续断 5 供试品溶液 1 μL , 按上述色谱条件 8 h 内间隔进样 5 次, 测定 α -BHC 峰高的 RSD 为 1.56%, 表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.10 回收率试验

称取续断 5 药材粉末 10.0 g, 精密称定, 共 9 份, 分别加入一定量混合对照品溶液, 制备供试品溶液, 依法测定, 计算回收率。结果各异构体的平均回收率为 92.0%~104.0%, RSD 为 2.21%~4.29%, 满足农药残留量分析的要求。

2.11 样品测定

取各续断药材样品, 制备供试品溶液, 测定, 结果见表 3。5 种样品中有 3 种能检测到有机氯农药残留, 但残留量均很低, 远低于《中国药典》2010 年版规定 (总 BHC $\leq$ 200 $\mu\text{g/g}$, 总 DDT $\leq$ 200 $\mu\text{g/g}$) 的参考标准。

表 3 续断药材中 BHC 和 DDT 的残留量
Table 3 Residue levels of BHC and DDT in *Dipsaci Radix*

样 品	残留量/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)							
	α -BHC	β -BHC	γ -BHC	δ -BHC	P,P'-DDE	P,P'-DDD	O,P'-DDT	P,P'-DDT
续断 1	—	—	—	—	—	—	—	—
续断 2	—	—	—	—	—	—	—	—
续断 3	3.652	—	4.325	—	1.658	—	—	—
续断 4	2.866	—	1.586	—	—	—	—	—
续断 5	3.426	—	3.145	—	2.755	—	—	—

— 表示未检出

— not detected

3 讨论

从提取方法看, 本实验采用丙酮-石油醚(1:1)作为提取溶剂来提取续断中的有机氯农药^[7]。有研究^[8]比较了几种测定茶叶中有机氯农药残留的预处理方法。在离心试管中进行分离, 与分液漏斗和三角瓶相比, 减少试剂消耗量、萃取过程分配比造成的损失, 避免了严重的乳化现象及大量有机试剂造成的环境污染, 并提高了实验的准确性, 此外超声波提取技术^[9-10]可以有效地提取环境中有机污染物, 提取时间短, 提取效率高, 设备花费低, 并已广泛应用于农药残留测定的提取方案中。综合以上因素, 本实验选择超声提取, 离心管分离的方法。回收率、精密度试验结果均符合农药残留分析的要求。

从样品测定结果看, 在 GC-ECD 实验中, 在被检测的 5 种续断药材中有两种续断(续断 1、续断 2)无有机氯农药残留, 其余 3 种续断药材中 BHC 4 种异构体和 DDT 4 种异构体的量远远低于标准。说明我国在禁止生产 BHC 和 DDT 后, 中药材中有机氯农药残留量在逐步下降。

参考文献

[1] 段 启, 许冬瑾, 李彩萍. GC-ECD 法测定白术中有机氯农药残留量 [J]. 中草药, 2009, 40(11): 1825-1827.

- [2] 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.
- [3] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006.
- [4] 李 静. 国内外禁用和限用农药概况 [J]. 黑龙江农业科学, 2005(2): 47-48.
- [5] 王丽丽, 夏会龙. 我国中草药中农药残留的特点 [J]. 中草药, 2007, 38(3): 471-474.
- [6] Barbini D A, Vanni F, Girolimetti S, et al. Development of an analytical method for the determination of the residues of four pyrethroids in meat by GC-ECD and confirmation by GC-MS [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 389(6): 1791-1798.
- [7] 郝丽丽, 薛 健. 有机氯农药的多残留分析及其在中药中的应用 [J]. 中国中药杂志, 2005, 6(30): 405-409.
- [8] 林华影, 郑申西, 盛丽娜, 等. 有机氯农药残留量测定前处理方法的改进 [J]. 职业与健康, 2001, 17(6): 5-7.
- [9] 杨玉玲. 超声波技术在农药残留研究中的应用 [J]. 农药研究与应用, 2007, 11(2): 10-14.
- [10] Venkatesan M I, Deleon R P, van Geen A, et al. Chlorinated hydrocarbon pesticides and polychlorinated biphenyls in sediment cores from San Francisco Bay [J]. *Mar Chem*, 1999, 64(1/2): 85-97.