

西洋参中六种农药残留量的 HPLC 分析

王会丽 陈建民 王春兰

中国医学科学院
药用植物研究所, 北京, 100094)
中国协和医科大学

摘 要

本文报道了甲基对硫磷等六种农药在西洋参中多残留的高效液相色谱检测方法. 采用乙醚超声波提取, 经硅胶柱净化, 紫外检测波长采用程序控制, 在检测的时间内自动进行四次改变, 使每一被检测的农药均在其最大紫外吸收波长处被检测. 波长变化为 270nm $\xrightarrow{16.0\text{min}}$ 230nm $\xrightarrow{7.5\text{min}}$ 205nm $\xrightarrow{11.5\text{min}}$ 210nm. 流动相为甲醇-水-乙腈 (30 : 27.5 : 42.5 V/V). 当添加水平在 1.0—3.0 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 时, 回收率大多在 80% 以上.

关键词: 高效液相色谱, 西洋参, 农药残留.

在药用植物的栽培过程中, 常使用农药来防治病虫害, 因而, 农药在药用植物中的残留情况必须引起人们的重视, 以确保天然药物安全和有效地使用. 对于中药材中农药残留量检测的报道已有一些, 如李庆民^[1]报道采用气相色谱法检测人参中六六六的残留量, 陈建民^[2]等用高效液相色谱法检测西洋参中多菌灵的残留量, 以及卫煜英^[3]等用气相色谱法检测金银花中杀螟松的残留量. 本实验旨在研究建立西洋参中甲基对硫磷、对硫磷、异狄氏剂、甲氰菊酯、DDT 及艾氏剂农药残留的分析方法, 为合理使用农药以及制定中药材中农药的残留限度提供一些依据.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Waters 510 型 HPLC 泵, U6K 进样阀, Maxima/Baseline 810 色谱工作台, C₁₈ 色谱柱 (长 25cm, 内径 4mm), Waters 490E 可编程多波长紫外检测器. 超声波清洗器, K-D 浓缩器, 旋转蒸发器.

乙醚、正己烷、氯仿、无水硫酸钠均为分析纯; 乙腈为色谱纯; 甲醇为分析纯, 重蒸; 二次蒸馏水.

农药标准品由农业部农药检定所提供, 纯度均大于 99%. 西洋参产地: 北京.

1.2 样品前处理

取样品 10g, 置于 100ml 具塞三角瓶中, 加入 40ml 乙醚, 超声波提取 30min, 放置过夜, 再超声 15min, 过滤, 残渣依次用 20ml, 15ml 乙醚超声 15min 提取二次, 过滤,

合并滤液, 于 50℃ 水浴浓缩近干, 加入 1ml 氯仿-正己烷-乙腈 (50 : 49.65 : 0.35 V/V) 将浓缩物溶解, 上硅胶柱净化。

取长 30cm, 内径 1.5cm 的玻璃层析柱, 柱底垫少许脱脂棉, 自下而上, 依次装入 1cm 无水 Na₂SO₄, 5g 硅胶, 1cm 无水 Na₂SO₄, 然后以 20ml 洗脱液 [氯仿-正己烷-乙腈 (50 : 46.95 : 0.3 V/V)] 预洗柱子, 弃去。当洗脱液刚刚完全进入硅胶柱时, 将样品加入柱上, 用少量洗脱液洗盛有样品提取液的蒸馏瓶, 反复 2—3 次, 随样品液一起上柱。当样品液进入硅胶柱后, 以 40ml 上述洗脱液洗脱, 收集流出液, 在 60℃ 时减压浓缩至约 1ml, 加入甲醇, 移至 K-D 瓶, 继续浓缩, 定容 1.0ml, 取 20μl 进行分析。

1.3 测定条件

流动相: 甲醇-水-乙腈=30 : 27.5 : 42.5 (V/V)。检测波长: 采用可变波长检测。波长改变由 490E 可编程多波长紫外检测器程序控制。设定程序为: 270nm 16min 230nm 7.5min 205nm 11.5min 210nm。

1.4 标准曲线

分别准确称取六种农药标准品, 用甲醇配成标准溶液: 甲基对硫磷 0.207 mg · ml⁻¹, 对硫磷 0.246mg · ml⁻¹, 异狄氏剂 0.213mg · ml⁻¹, 甲氰菊酯 0.186mg · ml⁻¹, DDT 0.250mg · ml⁻¹, 艾氏剂 0.280mg · ml⁻¹。将各溶液进行一系列稀释, 进样 20μl, 得标准曲线:

农药	标准曲线	相关系数 (<i>r</i>)	线性范围 (μg · ml ⁻¹)
甲基对硫磷	$y=2.10x-0.81$	0.9987	5—50
对硫磷	$y=2.27x-0.35$	0.9979	5—35
异狄氏剂	$y=8.06x-0.015$	0.9992	8—30
甲氰菊酯	$y=6.39x-0.53$	0.9982	2.5—30
DDT	$y=8.0x-0.10$	0.9986	5—35
艾氏剂	$y=7.45x-2.03$	0.9996	8—40

其中 x 为吸收峰面积 × 10⁻⁷ (甲氰菊酯, DDT) 和吸收峰面积 × 10⁻⁶ (甲基对硫磷, 对硫磷, 异狄氏剂, 艾氏剂), y 为标准品的浓度 (μg · ml⁻¹), 用外标法测定农药的含量。

2 结果与讨论

(1) 本实验采用乙醚提取, 硅胶柱净化, 在洗脱液氯仿-正己烷中加少量的乙腈, 效果较为理想。根据紫外吸收谱图, 甲基对硫磷、对硫磷的 UV 吸收最大波长为 270nm, 异狄氏剂为 230nm, 甲氰菊酯、DDT 为 205nm, 艾氏剂为 210nm, 采用程序控制可变波长进行检测, 因使每一标准品都在最大紫外吸收波长处被检测, 故提高了检测的灵敏度, 同时降低了杂质的干扰。本方法的最低检出量及检出浓度见表 1, 色谱图见图 1。

(2) 取空白药材, 加入不同量的标准品, 按上述方法提取、净化、测定农药含量, 并计算回收率, 结果见表 2。

本实验建立了西洋参中六种农药多残留的提取、净化和测定方法, 添加回收率大多在 80% 以上, 基本符合农药残留分析要求, 为制定西洋参中农药残留限量提供了依据。

表 1 六种农药的最低检出量、最低检出浓度及保留时间
Table 1 Detection limits and retention time for 6 pesticides

农药	甲基对硫磷	对硫磷	异狄氏剂	甲氧菊酯	DDT	艾氏剂
保留时间/min	5.49	7.90	17.60	25.50	29.90	42.00
最低检出量/ $\times 10^{-9}g$	1.0	0.5	5.0	1.5	3.0	7.0
最低检出浓度/ $\mu g \cdot g^{-1}$	5	2.5	25	7.5	15	35

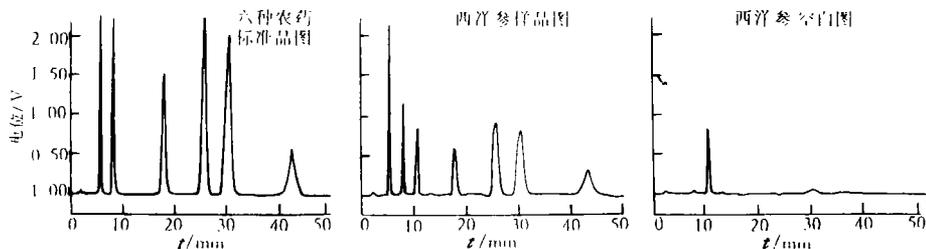


图 1 西洋参中六种农药 HPLC 色谱图

Fig. 1 HPLC chromatogram of 6 pesticides

表 2 六种农药在西洋参中的添加回收率

Table 2 Recovery of 6 pesticides in panax quinquefolium

农药	添加浓度/ $\mu g \cdot g^{-1}$	平均回收率/%	RSD%	农药	添加浓度/ $\mu g \cdot g^{-1}$	平均回收率/%	RSD%
甲基对硫磷	1.0	90.1	5.0	甲氧菊酯	1.0	89.4	3.5
	2.0	92.2	2.0		2.0	89.3	2.4
	3.0	92.5	2.5		3.0	88.2	3.7
对硫磷	1.0	91.0	0.6	DDT	1.0	85.8	3.1
	2.0	96.6	1.4		2.0	86.8	2.5
	3.0	96.3	0.7		3.0	88.2	2.0
异狄氏剂	1.0	86.4	3.8	艾氏剂	1.0	74.9	2.7
	2.0	88.4	3.3		2.0	79.8	3.6
	3.0	90.7	1.1		3.0	85.5	6.5

参 考 文 献

- [1] 李庆民, 张立军, 鲜人参中有机氯农药六六六的测定. 中草药, 1994, 25 (3) : 163
 [2] 陈建民, 薛健, 王春兰, HPLC 法测定西洋参中多菌灵的残留量. 环境化学, 1995, 14 (6) : 541—545
 [3] 卫煜英, 张利民, 柳莺, 气相色谱法测定金银花中杀螟松的残留量. 药物分析杂志, 1988, 8 (5) : 313—314

1996年9月1日收到.

RP-HPLC DETERMINATION OF RESIDUE OF 6 PESTICIDES IN PANAX QUINQUEFOLIUM

Wang Huili Chen Jianmin Wang Chunlan

(Institute of Medicinal Plant, Chinese Academy of Medical Sciences &
Peking Union Medical College, Beijing, 100094)

ABSTRACT

A HPLC method for determination of the residues of 6 pesticides such as Parathion-methyl, Parathion, Endrin, Fenprothrin, DDT and Aldrin in panax quinquefolium L was described, the mixture was extracted with ether, cleaned up on a silica column and determined in different wavelength with program exchanging. The mobile phase was a mixture of methanol-water-acetonitrine (30 : 27.5 : 42.5, V/V). Recoveries at 3 levels of fortification were greater than 80% for most pesticides.

Keywords: HPLC, pesticide residue, Panax quinquefolium.