

徐 皓,秦公伟,王 哲. GC-MS/MS 法分析不同产地延胡索中有机氯、拟除虫菊酯农药残留[J]. 江苏农业科学,2016,44(5):355-358.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.05.104

GC-MS/MS 法分析不同产地延胡索中 有机氯、拟除虫菊酯农药残留

徐 皓¹, 秦公伟¹, 王 哲²

(1. 陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西汉中 723000; 2. 陕西鹏翔茶业有限公司, 陕西西乡 723500)

摘要:建立了 1 种简便快速的毛细管气相色谱质谱联用方法, 分析不同产地延胡索中有机氯、拟除虫菊酯农药残留, 并对样品中农药提取净化的方法进行比较研究。结果表明: 净化柱中不添加活性炭, 农药残留检出种类和检出效果好, 13 个不同产地的延胡索均符合绿色中药标准。

关键词:延胡索; 有机氯农药; 拟除虫菊酯; 气相色谱联用

中图分类号: TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)05-0355-04

延胡索 (*Corydalis yanhusuo* W. T. Wang) 别称元胡、延胡、玄胡, 为罂粟科 (Papaveraceae) 多年生草本植物延胡索的干燥块茎, 其块茎入药, 有活血散瘀、理气止痛的作用^[1]。延胡索含多种生物碱, 其中延胡索乙素、延胡索丑素为止痛、镇静的主要成分。延胡索主要分布于浙江、江苏、安徽、陕西等地, 其中浙江东阳、磐安、缙云、永康等地, 以及江苏南通地区的栽培面积最大, 近年来陕西汉中的栽培面积也不断扩大^[2]。

我国是中药材生产大国, 然而中药产品的总出口额却仅占世界药品销售量的 1%, 其中一个重要的原因即是农药残留问题。目前较常用的农药品种主要有有机磷类、有机氯类、拟除虫菊酯类和氨基甲酸酯类^[3]。有机氯农药脂溶性强, 难降解, 极易造成土壤、水体和空气的污染, 并通过食物链富集而影响人类健康^[4]。虽然有机氯农药已被禁用, 但目前在中药材中仍有检出^[5-11]。拟除虫菊酯类农药与有机氯农药相比具有高效、低毒、低残留等优点, 是一类广谱杀虫剂, 在近些年的中草药检测中发现, 该类农药的残留水平也较高, 这将使我国的中草药现代化和国际化发展严重滞后, 并危害广大消费者的健康^[12]。

本研究采用气相色谱质谱串联检测并分析比较 13 个不同产地延胡索中含有机氯、拟除虫菊酯农药的种类和含量, 以期考察它们是否符合绿色中药标准, 为 13 个不同产地延胡索的用药安全提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

收稿日期: 2015-04-11

基金项目: 陕西省教育厅重点实验室科研计划 (编号: 13JS020); 陕西理工学院校级科研项目 (编号: slgky13-40); 陕西省科技厅统筹项目 (编号: 2015KTTSSF01-02)。

作者简介: 徐 皓 (1972—), 女, 陕西汉中中人, 硕士, 副教授, 主要研究方向为植物资源开发与利用。Tel: (0916) 2642825; E-mail: xhxbd@126.com。

TRACE GC Ultra 气相色谱仪 (美国赛默飞公司); ITQ900 质谱仪 (北京欧倍尔科学仪器有限公司); DB-17MS 石英毛细管柱 (60 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 美国 Agilent 公司); KSW-12D-11 马弗炉 (沈阳市节能电炉厂); THZ-82 水浴恒温振荡器 (常州国华电器有限公司); ME104E 电子天平 (美国梅特勒公司); MTN-2800D 氮吹仪 (北京花蕊博远科技发展有限公司); 101-3 型电热鼓风干燥箱 (郑州宏朗仪器设备有限公司)。

18 种有机氯和拟除虫菊酯混标: α-六六六 (α-BHC)、五氯硝基苯 (quintozene)、γ-六六六 (γ-BHC)、环氧七氯 (heptachlor epoxide)、β-六六六 (β-BHC)、δ-六六六 (δ-BHC)、p,p'-滴滴伊 (4,4'-DDE)、o,p'-滴滴伊 (0,4'-DDE)、p,p'-滴滴滴 (4,4'-DDD)、p,p'-滴滴涕 (4,4'-DDT)、联苯菊酯 (bifenthrin)、甲氰菊酯 (fenpropathrin)、三氟氯氰菊酯 (cyhalothrin)、氯菊酯 2 (permethrin)、氟氯氰菊酯 3 (cyfluthrin)、氯氰菊酯 3 (cypermethrin)、氰戊菊酯 2 (fenvalerate)、溴氰菊酯 (deltamethrin), 购自 ULTRA 公司 (每支 100 μg/mL); 石油醚、乙酸乙酯、无水硫酸钠为分析纯; 超纯水; 弗罗里硅土 (于 550 °C 灼烧 4 h 后备用, 用前于 140 °C 烘 2 h, 趁热加 5% 水灭活)。

1.2 试验材料

试验材料为 2012 年 4 月初采挖的干燥药材, 购于药材市场。产地分别为湖南新化 (Y1)、辽宁清原 (Y2)、浙江仙居 (Y3)、浙江东阳 (Y4)、浙江磐安 (Y5)、汉中城固 (Y6)、山东泰安 (Y7)、安徽亳州 (Y8)、河南辉县 (Y9)、吉林通化 (Y10)、黑龙江绥化 (Y11)、湖北郧西 (Y12)、广西河池 (Y13)。

1.3 试验方法

1.3.1 提取方法 准确称取 10.0 g 延胡索样品于 100 mL 具塞三角瓶中, 加入 20 mL 石油醚溶液, 将三角瓶放入 30 °C 水浴恒温振荡器中振荡 30 min 以提取农药残留; 完成后将提取液用添加有无水硫酸钠的漏斗过滤到 50 mL 具塞三角瓶中, 在 100 mL 具塞三角瓶中再次加入 10 mL 石油醚, 在水浴恒温振荡器中振荡 30 min, 过滤、合并 2 次提取液; 在 60 °C 干燥箱中浓缩至 2 mL 左右, 待净化^[13]。

1.3.2 样品农药的净化方法 分别对 13 个延胡索样品进行提取和浓缩处理。方法 1:用 20 mL 石油醚活化装有 1 g 无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土、1 g 无水硫酸钠的小柱,将已浓缩的提取液倾倒入毛细管柱内,用 20 mL 石油醚-乙酸乙酯(体积比 85:15)淋洗小柱,将淋洗液收集于 20 mL 离心管中,于 60 ℃用氮吹仪浓缩至 1 mL 以下,用石油醚定容至 1 mL,供气相色谱测定。

方法 2:在装柱过程中按照“1 g 无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土、0.5 g 活性炭、1 g 无水硫酸钠”的顺序填装。试验过程与方法 1 相同。

准确称取 4 份混合延胡索样品,每份 10.0 g,分别加入各组分浓度约为 1 μg/mL 的农药混合标准使用液 100 μL。分别根据方法 1、方法 2 对样品中的有机氯、拟除虫菊酯农药进行提取和净化,进行方法比较研究。

1.3.3 气相色谱条件 色谱柱:DB-17MS 石英毛细管柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm);色谱柱温度:40 ℃,保持 1 min,然后以 30 ℃/min 程序升温至 130 ℃,再以 5 ℃/min 升温至 250 ℃,最后以 10 ℃/min 升温至 300 ℃,保持 5 min;载气:氦气,纯度≥99.99%,流速 1.2 mL/min;进样口温度:290 ℃;进样量:5 μL,无分流进样,1.5 min 后打开阀;电子轰击源:70 eV;离子源温度:230 ℃;GC-MS 接口温度:280 ℃。选择离子监测:每种化合物分别选择 1 个定量离子、2~3 个定性离子。每组所有需要检测离子按照出峰顺序,分时段分别检测。

2 结果与分析

2.1 标准品的制备

取浓度 20 μg/mL 的农药储备液:0.25 mL 8 种有机氯混标、0.2 mL 五氯硝基苯、0.6 mL 氯菊酯 2、0.5 mL 氰戊菊酯 3、0.5 mL 甲氰菊酯、0.5 mL 氯氟氰菊酯 2、0.2 mL 三氟氯氰菊酯、0.5 mL 溴氰菊酯、0.5 mL 联苯菊酯、0.5 mL 氟氯氰菊酯 3,用正己烷定容至 5 mL 容量瓶中,得到浓度为 1 μg/mL 的使用液。

2.2 标准品色谱-质谱的条件

2.2.1 单个标准品的色谱-质谱条件选择 将浓度为 20 μg/mL 的 18 种农药标品单标分别进样,每次进样量 1 μL,获得每种农药标准品在“1.3.3”节色谱条件下的保留时间(RT)。18 种有机氯、拟除虫菊酯农药的名称、美国化学文摘社(CAS)号、各自的保留时间及依据单种标准品各离子碎片在谱库、仪器中响应选择的特征离子见表 1。

表 1 18 种有机氯、拟除虫菊酯农药名称、CAS 号、保留时间和特征离子

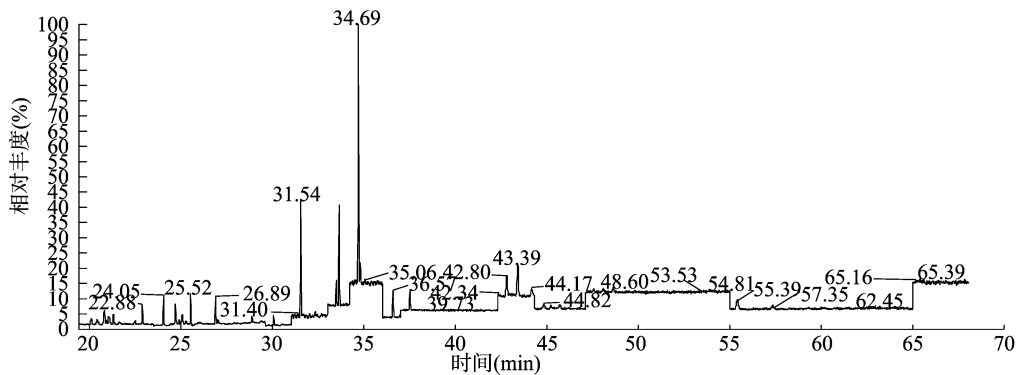
农药名称	CAS 号	RT(min)	特征离子分子量
α-六六六	319-84-6	22.87	183,219,221,254
五氯硝基苯	82-68-8	24.04	214,237,249,295
γ-六六六	58-89-9	24.69	同 α-六六六
β-六六六	319-85-7	25.52	同 α-六六六
δ-六六六	319-86-8	26.90	同 α-六六六
环氧七氯	1024-57-3	30.07	237,263,353,355
p,p'-滴滴伊	72-55-9	31.55	246,248,316,318
o,p'-滴滴伊	789-02-6	33.50	165,199,235,237
p,p'-滴滴滴	72-54-8	33.65	同 o,p'-滴滴伊
联苯菊酯	82657-04-3	34.69	152,165,166,181
p,p'-滴滴涕	50-29-3	34.81	同 o,p'-滴滴伊
甲氰菊酯	39515-41-8	36.60	181,208,265,349
三氟氯氰菊酯	68085-85-8	37.51	141,181,197,209
氯菊酯 2	52645-53-1	42.82,43.44	127,163,183,255
氟氯氰菊酯 3	68359-37-5	44.84,45.25,45.73	163,199,206,226
氯氰菊酯 3	52315-07-8	47.58,48.10,48.65	152,165,181,209
氰戊菊酯 2	51630-58-1	55.46,57.42	167,181,225,419
溴氰菊酯	52918-63-5	65.46	172,181,209,253

注:农药名称后的 2、3 表示该农药有 2 个或 3 个同分异构体。

2.2.2 混和基质标准品的色谱-质谱条件选择 采用相同的选择性离子检测(SIM)起始时间,将浓度为 1 μg/mL 的 18 种有机氯、拟除虫菊酯类农药基质混标进样 5 μL,确定准确的保留时间,并依据离子强度和基质背景从特征离子中选出定量离子,其余 3 个离子则为定性离子。18 种有机氯、拟除虫菊酯农药基质混标中各组分的保留时间和定量离子见表 2,基质混标总离子流见图 1。

表 2 18 种有机氯、拟除虫菊酯农药标准品 SIM 起始时间、保留时间和选择离子

农药名称	SIM 起始时间(min)	混标 SIM 后保留时间(min)	定量离子	定性离子分子量
α-六六六	8.50	22.89	183	219,221,254
五氯硝基苯	23.50	24.05	237	214,249,295
γ-六六六	24.39	24.69	同 α-六六六	同 α-六六六
β-六六六	同上	25.52	同 α-六六六	同 α-六六六
δ-六六六	同上	26.90	同 α-六六六	同 α-六六六
环氧七氯	29.60	30.05	353	237,263,355
p,p'-滴滴伊	31.00	31.52	246	248,316,318
o,p'-滴滴伊	33.00	33.47	235	165,199,237
p,p'-滴滴滴	同上	33.63	同 o,p'-滴滴伊	同 o,p'-滴滴伊
联苯菊酯	34.20	34.67	166	152,165,181
p,p'-滴滴涕	同上	34.78	同 o,p'-滴滴伊	同 o,p'-滴滴伊
甲氰菊酯	36.00	36.56	181	208,265,349
三氟氯氰菊酯	37.00	37.49	181	141,197,209
氯菊酯 2	42.30	42.81,43.39	183	127,163,255
氟氯氰菊酯 3	44.30	44.82,45.24,45.71	206	163,199,226
氯氰菊酯 3	47.10	47.57,48.10,48.64	181	152,165,209
氰戊菊酯 2	55.00	55.45,57.41	225	167,181,419
溴氰菊酯	65.00	65.42	181	172,209,253



图中保留时间对应表2中18种有机氯和拟除虫菊酯农药

图1 18种有机氯和拟除虫菊酯农药混标 SIM 色谱结果(1 μg/mL)

2.3 样品中农药残留的测定

样品提取、净化后,加入 50 μL 内标溶液,定容至 1 mL,每次进样量 5 μL,每个样品进样 3 次,得到不同产地中有机氯、拟除虫菊酯农药残留定量离子的积分面积(表 3)。药残留结果表明:7 个产地延胡索(Y1、Y2、Y3、Y5、Y9、Y10、Y13)样品中,虽然有氯菊酯 2、氰戊菊酯 2 种有机氯农药残留检出,但含量及其微小,氯菊酯含量 < 0.025 0 mg/kg、氰戊菊酯含量均 < 0.050 0 mg/kg,未超出绿色农药标准。

根据相应公式计算农残含量^[14],计算结果扣除空白值。
表 4 农药残留计算结果表明:7 个产地延胡索(Y1、Y2、Y3、Y5、Y9、Y10、Y13)样品中,虽有氯菊酯 2、氰戊菊酯 2 检出,但含量极其微小,氯菊酯 2 含量 < 0.025 0 mg/kg、氰戊菊酯 2 含量 < 0.050 0 mg/kg,未超出绿色农药标准。

3 讨论

本试验在方法 1 用 20 mL 石油醚活化装有 1 g 无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土、1 g 无水硫酸钠的小柱,方法 2 是在 GB/T 5009.146—2008《植物性食品中有机氯和拟除虫菊酯类农药多种残留量的测定》基础上加以改进的新方法,在弗罗里硅土小柱中添加了活性炭。弗罗里硅土可以吸附极性化合物,如颜料和其他干扰成分,弗罗里硅土干扰化合物保留的相互作用主要是由于它们之间的极性官能团,如氢键的作用^[15]。层析柱采用单一填料弗罗里硅土,洗脱液颜色较深,而添加活性炭可以明显减少洗脱液颜色,简化了操作步骤,减少了试剂的用量;但与不加活性炭的检测结果相比,农药残留量较少。这是由于活性炭吸附作用太强,使农药洗脱不完全^[13],一部分

表 3 不同产地中有机氯、拟除虫菊酯农药残留定量离子的积分面积

农药种类	RT (min)	基质混标 (μV)	积分面积(μV·s)						
			Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7
α-六六六	22.89	18 050	/	/	/	/	/	/	/
五氯硝基苯	24.05	12 871	/	/	/	/	/	/	/
γ-六六六	24.69	15 871	/	/	/	/	/	/	/
β-六六六	25.52	/	/	/	/	/	/	/	/
δ-六六六	26.90	6 832	/	/	/	/	/	/	/
环氧七氯	30.05	2 228	15 728,加	135 783,加	137 417,加	185 081,加	168 344,加	/,未加	229 780,加
p,p'-滴滴伊	31.52	93 412	/	/	/	/	/	/	/
o,p'-滴滴伊	33.49	25 032	/	/	/	/	/	/	/
p,p'-滴滴滴	33.63	61 705	/	/	/	/	/	/	/
联苯菊酯	34.69	37 765	/	/	/	/	/	/	/
p,p'-滴滴涕	34.78	12 878	/	/	/	/	/	/	/
甲氰菊酯	36.59	36 539	/	/	/	/	/	/	/
三氟氯氧菊酯	37.50	24 346	/	/	/	/	/	/	/
氯菊酯 2	42.83	21 613	/	/	/	/	/	/	/
	43.42	48 330	77 365	/	/	/	/	/	/
氟氯氧菊酯 3	44.85	12 031	/	/	/	/	/	/	/
	45.25	13 805	/	/	/	/	/	/	/
	45.74	21 277	/	/	/	/	/	/	/
氯氧菊酯 3	47.56	18 868	/	/	/	/	/	/	/
	48.11	23 420	/	/	/	/	/	/	/
	48.64	31 102	/	/	/	/	/	/	/
氰戊菊酯 2	55.45	14 3313	/	63 724	54 198	/	43 565	/	/
	57.42	36 766	/	/	44 528	/	/	/	/
溴氧菊酯	65.42	50 252	/	/	/	/	/	/	/

续表 3

农药种类	RT (min)	基质混标 (μV)	积分面积(μV·s)					
			Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13
α-六六六	22.89	18 050	/	/	/	/	/	/
五氯硝基苯	24.05	12 871	/	/	/	/	/	/
γ-六六六	24.69	15 871	/	/	/	/	/	/
β-六六六	25.52	/	/	/	/	/	/	/
δ-六六六	26.90	6 832	/	/	/	/	/	/
环氧七氯	30.05	2 228	176 197,加	175 620,加	/,未加	191 949,加	/,未加	/,未加
p,p'-滴滴伊	31.52	93 412	/	/	/	/	/	/
o,p'-滴滴伊	33.49	25 032	/	/	/	/	/	/
p,p'-滴滴滴	33.63	61 705	/	/	/	/	/	/
联苯菊酯	34.69	37 765	/	/	/	/	/	/
p,p'-滴滴涕	34.78	12 878	/	/	/	/	/	/
甲氰菊酯	36.59	36 539	/	/	/	/	/	/
三氟氯氰菊酯	37.50	24 346	/	/	/	/	/	/
氯菊酯 2	42.83	21 613	/	/	/	/	/	/
氟氯氰菊酯 3	43.42	48 330	/	/	/	/	/	/
	44.85	12 031	/	/	/	/	/	/
	45.25	13 805	/	/	/	/	/	/
氯氰菊酯 3	45.74	21 277	/	/	/	/	/	/
	47.56	18 868	/	/	/	/	/	/
	48.11	23 420	/	/	/	/	/	/
	48.64	31 102	/	/	/	/	/	/
氰戊菊酯 2	55.45	143 313	/	144 979	49 681	/	/	29 973
	57.42	36 766	/	/	/	/	/	/
溴氰菊酯	65.42	50 252	/	/	/	/	/	/

注:“/”表示未检出;“加”表示加了内标;“未加”表示没有加内标。

表 4 农药残留残计算结果

农药名称	残留量 (mg/kg)
Y1(氯菊酯 2)	0.004 50
Y2(氰戊菊酯 2)	0.002 20
Y3(氰戊菊酯 2)	0.003 86
Y5(氰戊菊酯 2)	0.001 20
Y9(氰戊菊酯 2)	0.003 80
Y10(氰戊菊酯 2)	0.013 20
Y13(氰戊菊酯 2)	0.000 80

残留在层析柱上导致含量偏低。虽然加标混样中农药检出的种类较少,但在方法比较中可以明显发现添加活性炭后,其对农药具有较强的吸附能力。因此可知,没有添加活性炭的试验方法优于添加活性炭的试验方法。通过对 13 个不同产地延胡索样品的进样分析可知,所有样品均未超出绿色农药标准。

参考文献:

[1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:130-131.

[2] 冯自立,周建军,张 涛,等. 高效液相法测定陕西产延胡索中延胡索乙素、原阿片碱的含量[J]. 安徽农业科学,2009,37(21): 9832-9833,9840.

[3] 苗 青,孔维军,魏建和,等. 中药材中农药残留现状及控制措施评析[J]. 农药学报,2012,14(4):363-370.

[4] 黄晓会,薛 健,徐小龙,等. 气相色谱法测定菊花中 25 种有机

氯农药残留量[J]. 分析科学学报,2013,29(3):409-412.

[5] 陈 冲,肖娅萍,宋玉琼,等. 我国中药材中有机氯农药残留量的调查分析[J]. 陕西师范大学学报:自然科学版,2006,34(增刊1):264-271.

[6] 杨雪梅,钟怀宁,严佚琛,等. 气相色谱法检测 9 种药材中有机氯农药的残留量[J]. 南方医科大学学报,2006,26(1):109-110,116.

[7] 梁林军,熊明玲,刘志承,等. 甘草和枸杞中有机氯农药残留量检测研究[J]. 中国药业,2007,16(11):19-20.

[8] 李爱莲,邹美南,郭 彬,等. 西洋参、人参与有机氯农药残留量的快速检测[J]. 中国药业,2008,17(6):29-30.

[9] 马虹英,李新中,徐平声. 西洋参、人参与药材中有机氯农药残留量的测定[J]. 中国医院药学杂志,2006,26(5):533-536.

[10] 万绍晖,赵春杰,岳淑梅,等. 毛细管气相色谱法测定当归中有机氯农药[J]. 中国药理学杂志,2004,39(1):22-23.

[11] 李顺子. 气相色谱法测定人参提取液中有机氯农药残留量[J]. 中国药业,2007,16(8):30.

[12] 田良良,史永富,王 媛,等. 气相色谱法测定虾中有机氯农药和多氯联苯残留量[J]. 分析试验室,2014,33(9):1043-1046.

[13] 陆万平,游飞明,李 鑫,等. 茶叶中有机氯和拟除虫菊酯多种农药残留同时分析的样品前处理研究[J]. 分析测试技术与仪器,2009,15(2):101-105.

[14] GB/T 23200—2008 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 种农药及相关化学品残留量的测定[S].

[15] Zhou T, Xiao X, Li G. Microwave accelerated selective Soxhlet extraction for the determination of organophosphorus and carbamate pesticides in ginseng with gas chromatography/mass spectrometry [J]. Analytical Chemistry, 2012, 84(13):5816-5822.