

GC-ECD 法分析金银花中有机氯和拟除虫菊酯类农药的残留状况

顾 炎¹, 薛 健^{1*}, 金红宇², 马双成²

(1. 中国医学科学院北京协和医学院, 药用植物研究所, 北京 100193; 2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050)

摘要: **目的** 建立气相色谱-电子捕获检测器 (GC-ECD) 法分析金银花 *Lonicera japonica Flos* 中有机氯及拟除虫菊酯类农药的残留状况。**方法** GC-ECD 法同时测定 42 批样品中 29 种有机氯和 8 种拟除虫菊酯类农药, 并进行风险分析。**结果** 所有样品均检出农药残留, 共有 16 种。其中, 有机氯类 10 种, 拟除虫菊酯类 6 种, 前者整体检出率低于后者, % ADI 为 0.001% ~0.555%。**结论** 金银花中农药的检出率较高, 但均在可接受范围内, 需尽快建立金银花中农药的最大残留限量标准以及安全使用规则。

关键词: 金银花; 农药; 有机氯; 拟除虫菊酯; 残留状况; 风险分析; % ADI; GC-ECD

中图分类号: R284.1 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2016)06-1325-05

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2016.06.025

Analysis of residual dynamics of organochlorine and pyrethroid pesticides in *Lonicera japonica Flos* by GC-ECD

GU Yan¹, XUE Jian^{1*}, JIN Hong-yu², MA Shuang-cheng²

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Science and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China; 2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

ABSTRACT: **AIM** To establish a gas chromatography with electron capture detection (GC-ECD) method for analyzing the residual dynamics of organochlorine and pyrethroid pesticides in *Lonicera japonica Flos*. **METHODS** GC-ECD was applied to simultaneously determining twenty-nine organochlorine and eight pyrethroid pesticides in forty-two batches of samples, then risk analysis was made. **RESULTS** The residues of pesticides were detected in all the samples, totally containing sixteen kinds. Among them, ten of them were organochlorine, and six of them were pyrethroid, the overall detection rate of the former was lower than that of the latter. The allowable daily intakes (% ADI) were 0.001% – 0.555%. **CONCLUSION** The detection rates of pesticides are relatively high in *Lonicera japonica Flos*, all of which are within acceptable ranges. The maximum residue limit standards and safety application regulations of pesticides in *Lonicera japonica Flos* should be set as soon as possible.

KEY WORDS: *Lonicera japonica Flos*; pesticides; organochlorine; pyrethroid; residual dynamics; risk analysis; % ADI; GC-ECD

近年来, 中药材农药残留问题备受重视, 而金银花作为常用的大宗药材, 毫无疑问成为被关注的种类之一。

有机氯类农药曾被世界各国广泛使用, 虽然大部分品种已经被全面禁止生产和使用, 但是由于其

化学性质稳定、难于分解, 至今土壤^[1-2]、水体^[3]、中药材^[4-5]中仍有检出, 近年来也有金银花中检出该物质的报道^[6]。拟除虫菊酯类农药是广谱性杀虫剂, 因其高效、低毒等特点, 在金银花上的应用十分普遍。《中国药典》2015 版收录了 22

收稿日期: 2016-02-01
基金项目: “重大新药创制” 科技重大专项 (2014ZX09304307-002)
作者简介: 顾 炎 (1991—), 女, 硕士生, 从事中药分析研究。Tel: (010) 57833097, E-mail: bpxzgy203@126.com
* 通信作者: 薛 健 (1964—), 女, 硕士, 研究员, 从事中药有效成分分析及农药残留重金属研究。Tel: (010) 57833097, E-mail: xuejian200@sina.com

种有机氯类以及 3 种拟除虫菊酯类农药的测定方法^[7]，而实际上，还有其他一些品种（氯氟氰菊酯等）也有检出^[8]。

为了解金银花中有机氯及拟除虫菊酯类农药的残留状况，本实验以《中国药典》2015 版为基础，结合常用及报道已检出的种类，建立气相色谱-电子捕获检测器（GC-ECD）法同时测定该植物中 29 种有机氯和 8 种拟除虫菊酯类农药。并从药材市场、公司等渠道采集 42 批样品，对农药残留进行测定和暴露风险评估，以期对相关监管提出合理建议。

1 仪器与实验材料

1.1 仪器设备 Agilent 7890 型气相色谱分析仪（配备电子捕获检测器）、HP-5 型色谱柱（30 m × 0.32 mm × 0.25 μm，包括 G4513A 自动进样器）（美国 Agilent 公司）；PL203/01 型电子天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；WH-1 型涡旋混合仪（上海沪西分析仪器厂）；LABOROTA4000/4 型旋转蒸发

器（德国海道夫公司）；Feb-80 型离心沉淀器（金坛市医疗仪器厂）；SGK-5LB 型低噪音空气泵（北京东方精华苑科技有限公司）。

1.2 试剂 乙腈、甲苯为分析纯（北京化工厂）；丙酮为色谱纯（美国 Fisher Scientific 公司）。五氯苯、α-六六六、六氯苯、β-六六六、γ-六六六、五氯硝基苯、δ-六六六、七氯、艾试剂、异丙甲草胺、三氯杀螨醇、环氧七氯、反式氯丹、A-硫丹、顺式氯丹、己唑醇、狄氏剂、pp-DDE、异狄氏剂、B-硫丹、pp-DDD、op-DDT、硫丹硫酸盐、pp-DDT、异狄氏剂酮、啉虫脒、甲氧 ddt、联苯菊酯、甲氰菊酯、灭蚁灵、氯氟氰菊酯、哒螨灵、氯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯 1、氰戊菊酯 2、溴氰菊酯标准品（100 μg/mL，农业部环境保护科研监测所）；石墨化碳/氨基固相萃取柱（500 mg/6 mL，美国 Supelco 公司）。

1.3 金银花样品 42 批样品的信息见表 1。

表 1 样品信息
Tab. 1 Information of samples

序号	采集地	采集渠道	序号	采集地	采集渠道	序号	采集地	采集渠道
1	山东	基地	15	湖南	药材市场	29	四川	药店
2	山东	基地	16	四川	药材市场	30	山东	药店
3	山东	基地	17	河北	药材市场	31	江苏	药店
4	河南	基地	18	河北	药材市场	32	江苏	药店
5	河南	基地	19	重庆	药材市场	33	河南	药店
6	四川	药材公司	20	广西	药材市场	34	辽宁	药店
7	河北	药材公司	21	安徽	药材市场	35	辽宁	药店
8	湖北	药材公司	22	山东	药材市场	36	河南	药房
9	湖北	药材公司	23	安徽	药材市场	37	北京	药房
10	浙江	药材公司	24	安徽	药材市场	38	北京	药房
11	山东	药材公司	25	河北	药材市场	39	湖南	饮片厂
12	北京	药材公司	26	河北	药材市场	40	重庆	饮片厂
13	河南	药材公司	27	湖南	药店	41	山东	饮片厂
14	湖南	药材市场	28	四川	药店	42	北京	饮片厂

2 方法与结果

2.1 标准溶液的配制 取标准品各 0.5 mL，置于 50 mL 量瓶中，丙酮定容至刻度，摇匀，即得 1.0 μg/mL 混合标准贮备液。精密量取适量，丙酮稀释至所需质量浓度，摇匀，即得。

2.2 样品制备 样品粉碎，过药典 3 号筛，精密称取样品 1.0 g，置于 10 mL 具塞试管中，加入乙腈 5 mL，涡旋提取 5 min，3 500 r/min 离心 15 min，取上清液，置于梨形瓶中，5 mL 乙腈提取一次，合并提取液，减压浓缩至 1 mL 左右。

固定石墨化碳/氨基固相萃取柱，5 mL 乙腈：甲苯（3：1）溶液预淋洗，当液面到达柱面顶部时，将上述浓缩液加入柱中，1 mL 左右乙腈洗涤梨

形瓶 3 次，洗涤液加入固相萃取柱。20 mL 乙腈：甲苯（3：1）溶液洗脱，梨形瓶收集淋洗液，减压浓缩至近干，取出，置于刻度试管中，加丙酮定容至 1 mL，进入 GC-ECD 分析。

2.3 仪器条件 HP-5 色谱柱（30 m × 0.32 mm × 0.25 μm）；进样口温度 250 ℃，不分流进样；检测器温度 300 ℃；载气氮气，体积流量 1 mL/min；进样量 1 μL；升温程序为初始 100 ℃，以 10 ℃/min 速率升到 180 ℃，保持 1 min，以 3 ℃/min 速率升到 220 ℃，保持 2 min，以 8 ℃/min 速率升到 270 ℃，保持 5 min。该条件下分离效果良好，标准色谱图见图 1（编号 1 ~ 37 分别为五氯苯、α-六六六、六氯苯、β-六六六、γ-六六六、五氯硝基

苯、δ-六六六、七氯、艾试剂、异丙甲草胺、三氯杀螨醇、环氧七氯、反式氯丹、A-硫丹、顺式氯丹、己唑醇、狄氏剂、pp-DDE、异狄氏剂、B-硫丹、pp-DDD、op-DDT、硫丹硫酸盐、pp-DDT、异狄氏剂酮、啉虫脒、甲氧 ddt、联苯菊酯、甲氰菊酯、灭蚁灵、氯氟氰菊酯、哒螨灵、氯菊酯、氯氰菊酯、氰戊菊酯 1、氰戊菊酯 2、溴氰菊酯)。

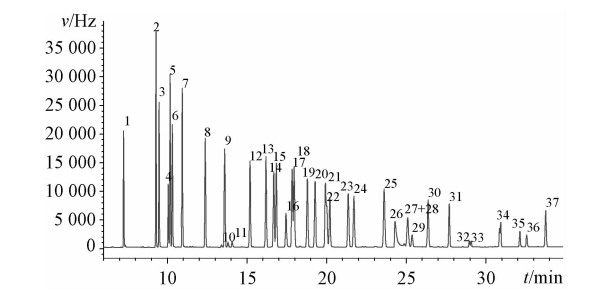


图1 GC-ECD 色谱图
Fig.1 GC-ECD chromatogram

2.4 方法学考察

2.4.1 线性关系 根据 37 种农药的最低定量限，设定线性最低点为 10 ng/mL；综合考虑农药的最大残留限量，设定线性最高点为 500 ng/mL。取“2.1”项下混合标准贮备液，配成 10、20、50、100、200、500 ng/mL 溶液。以峰面积为纵坐标 (y)，样品质量浓度为横坐标 (x) 绘制标准曲线，进行回归计算，结果见表 2，在 10 ~ 500 ng/mL 范围内线性关系良好。

2.4.2 精密度和检出限 取 200 ng/mL 混合标准溶液进样 6 次，测定各农药 RSD 值。以信噪比 (S /N) 为 3 测定检出限 (LOD)，信噪比 (S /N) 为 10 测定定量限。结果见表 2。

2.4.3 加样回收率 精密称取样品 1.0 g，加入适量标准品制成 20、50、200 ng/g 样品，平行 3 次，按“2.2”、“2.3”项下条件和方法进行测定，结果见表 2，均符合农药残留测定的要求^[9]。

表 2 方法学考察结果
Tab.2 Results of methodological studies

农药	回归方程	R ²	定量限/ (ng·mL ⁻¹)	20 ng/g		50 ng/g		200 ng/g	
				回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
五氯苯	y = 250.33x - 1 961.4	0.999 2	0.404	85.6	2.4	76.0	2.4	71.5	2.6
α-六六六	y = 491.72x - 5 071.1	0.998 8	0.269	103.9	7.9	91.6	5.0	77.2	6.7
六氯苯	y = 344.53x - 2 636.5	0.999 2	0.318	68.8	8.2	60.3	10.8	76.0	9.4
β-六六六	y = 152.64x - 1 134.7	0.999 3	0.755	80.9	6.4	85.6	2.8	81.2	3.7
γ-六六六	y = 442.26x - 7 168.1	0.995 6	0.322	71.8	4.2	66.4	5.1	72.5	12.0
五氯硝基苯	y = 308.38x - 1 916.2	0.999 6	0.369	117.5	11.0	79.9	12.0	96.8	6.4
δ-六六六	y = 432.39x - 4 808.0	0.998 6	0.374	75.9	2.8	73.0	7.4	70.3	5.6
七氯	y = 346.22x - 3 418.0	0.999 0	0.533	78.8	1.9	77.3	5.0	90.6	10.1
艾试剂	y = 344.60x - 2 146.2	0.999 6	0.477	69.2	1.7	67.0	4.9	77.0	4.5
异丙甲草胺	y = 16.388x + 163.72	0.997 4	7.519	117.4	10.0	87.4	4.2	80.7	2.7
三氯杀螨醇	y = 19.166x + 252.52	0.992 6	5.848	104.3	2.5	83.0	2.3	95.3	3.2
环氧七氯	y = 319.96x - 2 234.9	0.999 6	0.590	89.7	3.1	74.8	6.5	78.4	5.0
反式氯丹	y = 357.62x - 3 066.3	0.999 3	0.611	69.6	4.8	70.4	4.1	79.2	6.3
a-硫丹	y = 294.49x - 1 679.6	0.999 7	0.677	113.0	3.8	69.7	5.8	70.3	4.7
顺式氯丹	y = 339.62x - 2 657.3	0.999 4	0.614	84.9	3.2	68.5	3.6	79.7	4.7
己唑醇	y = 147.59x - 1 344.4	0.999 0	1.592	78.9	6.2	80.2	2.2	89.8	2.9
狄氏剂	y = 325.50x - 2 415.9	0.999 6	0.693	100.1	6.1	69.6	6.4	71.3	5.0
pp-DDE	y = 339.56x - 2 653.4	0.999 5	0.672	115.1	3.9	69.5	6.2	74.3	3.9
异狄氏剂	y = 301.98x - 2 639.3	0.999 2	0.789	102.1	5.8	96.0	1.3	89.3	5.3
b-硫丹	y = 288.08x - 1 832.2	0.999 6	0.743	101.3	2.5	76.6	5.6	78.2	4.5
pp-DDD	y = 294.99x - 2 718.3	0.999 1	0.858	90.3	5.5	77.1	5.3	91.7	4.0
op-DDT	y = 151.78x - 1 415.4	0.999 0	1.229	75.4	11.2	74.0	9.7	83.6	4.8
硫丹硫酸盐	y = 251.80x - 1 723.2	0.999 5	0.978	113.6	8.1	70.5	3.2	77.9	4.4
pp-DDT	y = 249.37x - 3 333.6	0.997 9	0.880	114.7	11.4	83.4	2.8	84.9	5.4
异狄氏剂酮	y = 304.78x - 1 647.5	0.999 7	1.361	89.3	2.3	75.2	4.9	79.7	9.4
啉虫脒	y = 277.14x - 15 247	0.993 0	0.818	110.5	3.2	100.4	3.6	119.6	3.8
甲氧滴滴涕 + 联苯菊酯	y = 174.55x - 1 604.8	0.998 6	1.647	89.1	7.1	91.4	4.5	88.7	6.0
甲氰菊酯	y = 61.926x - 536.45	0.998 5	3.413	93.2	4.2	88.4	6.4	105.3	3.0
灭蚁灵	y = 220.74x - 1 554.9	0.999 3	0.917	98.4	8.2	73.8	7.3	98.1	6.6
氯氟氰菊酯	y = 169.19x - 1 996.8	0.998 3	1.395	88.2	5.4	89.6	9.9	87.5	4.8
哒螨灵	y = 19.191x - 55.181	0.999 9	5.435	85.1	4.2	79.3	8.8	81.6	3.1
氯菊酯	y = 19.825x - 53.700	0.999 9	5.208	75.4	3.7	74.6	10.5	90.9	6.4
氯氰菊酯	y = 58.570x - 675.42	0.997 8	2.865	88.2	2.1	100.8	13.0	107.9	9.9
氰戊菊酯 1	y = 62.359x - 573.49	0.998 3	3.049	97.5	5.2	102.0	4.0	92.7	4.5
氰戊菊酯 2	y = 50.543x - 440.55	0.998 3	3.831	109.4	6.9	102.6	7.1	95.6	4.1
溴氰菊酯	y = 174.14x - 1 961.0	0.998 5	1.618	94.0	2.1	69.5	2.1	77.6	4.4

2.5 农药残留量测定 按“2.2”、“2.3”项下条件和方法,对 42 份样品进行测定。结果,所有样品均检出有农药残留较高,但数量和含有量并不高,总体上和大多数农作物相似。其中,检出 10 种农药的有 1 个,5~9 种的有 24 个,少于 5 种的有 17 个。

另外,37 种农药中检出 16 种,其中有机氯类 10 种,拟除虫菊酯类 6 种。前者总体检出量比较低,滴滴涕和六六六极少,但啉虫脒较高,达 61.9%,而且最大检出量达到了 0.491 mg/kg;后者氯氰菊酯、氯氟氰菊酯、氰戊菊酯检出率较高,检出量大多在 0.05~0.5 mg/kg 范围内,少数超过 0.5 mg/kg。

2.6 风险分析 由于摄入量差异,同一农药在不同食品上的暴露风险存在很大差异。目前,国内外对农药残留风险评估最常用的指标是慢性污染物膳食暴露风险评估(%ADI)^[10-12]。%ADI≤100%,说明风险水平尚可接受;%ADI>100%,说明处于不安全状态,需采取相应风险管理措施。

参考对应的计算方法^[13],对金银花中检出的 16 种农药进行 ADI% 计算。其中,ADI 值按照 GB 2763-2012^[14]中的有关规定,STMR(规范试验残留中值)取平均残留值,居民日均金银花消耗量参考《中国药典》2015 版中推荐使用量^[15]的最大值(15 g),结果见表 3。由表可知,16 种农药的%ADI 在 0.001%~0.555%之间,均远小于 100%,说明其在金银花中的暴露风险水平均在可接受范围内。

表 3 风险分析结果 (%)

Tab. 3 Results of risk analysis (%)

农药	% ADI	农药	% ADI
γ-六六六	0.003	啉虫脒	0.025
五氯硝基苯	0.008	氯氟氰菊酯	0.555
异丙甲草胺	0.001	哒螨灵	0.001
三氯杀螨醇	0.014	氯菊酯	0.002
a-硫丹	0.007	氯氰菊酯	0.243
己唑醇	0.159	氰戊菊酯 1	0.068
b-硫丹	0.008	氰戊菊酯 2	0.067
硫丹硫酸盐	0.001	溴氰菊酯	0.002

3 讨论

3.1 测定方法的选择

在方法建立过程中,考虑到两类农药极性差距较大,故选择对大部分农药具有良好提取效果的乙腈作为提取溶剂。为简化操作,缩短前处理时间,参考经典 QuEChERS 方法^[16],选择涡旋震荡提取、

离心分离的提取方式;样品净化采用操作简便、适用性广的固相萃取法;考虑到金银花色素以及有机酸含有量高的特点,选择了对这些成分去除效果好的石墨化碳/氨基固相萃取柱;检测方法选择了具有专属性响应的 GC-ECD,其对研究涉及的两类农药选择性好,而且灵敏度高,可以满足测定需要。

结果显示,整个方法操作便捷,耗时较短,降低成本的同时,也提高了测定效率,适用于金银花中有机氯类及拟除虫菊酯类农药的残留测定。

3.2 市售金银花中农药残留状况 42 批样品来自药材市场、公司、种植基地、药店、医院药房、饮片厂 6 个渠道,以及辽宁、山东、四川、河南等 13 个省和直辖市,覆盖面较广,能基本代表金银花的整体情况。

结果显示,氯氰菊酯、氯氟氰菊酯、氰戊菊酯和啉虫脒检出率较高。通过实地调研和查阅文献[17-20]可知,各地金银花种植过程中的虫害十分普遍,尤以蚜虫、尺蠖、天牛等更严重,因此常用杀虫剂的施用几乎不可避免,导致了金银花中这几种常用杀虫剂被频繁检出。

3.3 金银花农药残留监管建议

3.3.1 建立针对金银花的农药最大残留限量标准

最大残留限量作为药材质量指标之一,可以倒逼生产企业主动采取措施控制农药使用,防止滥用,而且比较直观,利于监管。目前,国内尚没有针对金银花的相关标准,为了更好地对该植物中的农药残留进行有效监控和管理,尤其是氯氰菊酯、高效氯氟氰菊酯、氰戊菊酯、啉虫脒等检出率及含有量较高的农药,应尽快推进限量标准的制定。

3.3.2 建立针对金银花的农药安全使用规范 金银花虫害高发,为有效控制害情,保障其质量和产量,当前情况下高效低毒杀虫剂的使用依然是不可避免的。为保障农药安全使用,防止种植过程中农药的误用滥用导致残留污染状况加剧,针对金银花的农药安全使用规范也是势在必行的。

参考文献:

[1] 颜 慧,张文丽,蒋家骁,等.加速溶剂萃取-气相色谱/串联质谱法测定土壤中 20 种有机氯农药[J].分析试验室,2015,34(6):722-726.

[2] 邓 力,余铁松.同位素稀释-高分辨气相色谱-高分辨质谱法测定土壤和沉积物中 27 种有机氯农药[J].理化检验:化学分册,2015,51(7):907-913.

[3] 谢文平,朱新平,郑光明,等.广东罗非鱼养殖区水体和鱼体中重金属、HCHs、DDTs 含量及风险评价[J].环境科

[4] 吕 斐, 苏远科, 王志宏. 不同产地赤芍中重金属和有机氯类农药残留的色谱法分析研究[J]. 中国卫生产业, 2015(13): 120-121.

[5] 李妮娜, 王举涛. 气相色谱法对丹参中有机氯农药残留的分析研究[J]. 安徽医药, 2015(4): 656-659.

[6] 陈骁鹏, 叶 慧, 仇雅静, 等. 泰州地区 7 种中药材中的有机氯农药残留量的测定[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(7): 1196-1199, 1204.

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版四部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 2341.

[8] 金红宇, 王 莹, 兰 钧, 等. 气相色谱-质谱联用法测定金银花中 192 种农药多残留[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(8): 613-619.

[9] NY/T 788-2004, 农药残留试验准则[S].

[10] Organization F A. Submission and evaluation of pesticide residues data for the estimation of maximum residue levels in food and feed [R]. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2009.

[11] 张志恒, 汤 涛, 徐 浩, 等. 果蔬中氯吡脞残留的膳食摄入风险评估[J]. 中国农业科学, 2012, 45(10): 1982-1991.

[12] 钱永忠, 李 耘. 农产品质量安全风险评估: 原理、方法和应用[M]. 北京: 中国标准出版社, 2007.

[13] 聂继云, 李志霞, 刘传德, 等. 苹果农药残留风险评估[J]. 中国农业科学, 2014, 47(18): 3655-3667.

[14] GB 2763-2012, 食品安全国家标准—食品中农药最大残留限量[S].

[15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 2015 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 221.

[16] Anastassiades M, Lehotay S J, Štajnbaher D, *et al.* Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce[J]. *J AOAC Int*, 2003, 86(2): 412-431.

[17] 向玉勇, 朱园美, 赵怡然, 等. 安徽省金银花害虫种类调查及防治技术[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2012, 38(3): 291-295.

[18] 吴朝峰, 马雪梅. 河南金银花病虫害防治现状及对策[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(13): 2732-2735.

[19] 李正茂, 夏永刚, 周 刚, 等. 湖南金银花病虫害防治现状及对策[J]. 中国农村小康科技, 2010(12): 66-68.

[20] 郑 娟, 徐新生, 王光明. 金银花的主要病虫害防治技术[J]. 农业科技通讯, 2010(10): 195-196.