

# 高效液相色谱法测定人参中多菌灵农药残留含量

彭方<sup>1</sup>, 田金改<sup>2</sup>, 金红宇<sup>2</sup>, 杜庆鹏<sup>2</sup> (1. 武汉市药品检验所, 武汉 430012 2. 中国药品生物制品检定所, 北京 100050)

**摘要:** 目的 建立了测定中药材人参中多菌灵农药残留量方法。方法 采用 RP-HPLC法, Diamonsil C<sub>18</sub>色谱柱。流动相为甲醇-四氢呋喃-水 (43: 2: 55), 检测波长为 277 nm。结果 平均回收率人参茎叶 83.94%, RSD为 2.42% (n=6); 平均回收率人参根 87.38%, RSD为 2.68% (n=6)。多菌灵在 1.926~192.6 ng时, r=1.0000 呈良好的线性关系。结论 本方法简便、快速、适合同类中药材中多菌灵农药残留量测定与安全监控。

**关键词:** 人参; 多菌灵; 农药残留; 高效液相色谱法

中图分类号: R969 文献标识码: A 文章编号: 1001-2494(2007)06-0475-03

## Determination of Residual Carbendazim in Chinese Traditional Medicine of Ginseng by HPLC

PENG Fang<sup>1</sup>, TIAN Jin-gai<sup>2</sup>, JIN Hong-yu<sup>2</sup>, DU Qing-peng<sup>2</sup> (1. Wuhan Institute for Drug Control, Wuhan 430012 China 2. National Institute for the Control of Pharmaceutical and Biological Products, Beijing 100050, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish a HPLC method for the determination of residual carbendazim in Chinese Traditional Medicine of ginseng. **METHODS** The mobile phase constituted of methanol+tetrahydrofuran-water (43: 2: 55). A Diamonsil C<sub>18</sub> column was used and carbendazim was determined at the detection wavelength of 277 nm. **RESULTS** The average recovery and RSD of ginseng stems and leaves were 83.94% and 2.42% (n=6), respectively. The average recovery and RSD of ginseng radix were 87.38% and 2.68% (n=6), respectively. The standard curve of carbendazim was linear in the range of 1.926~192.6 ng (r=1.0000). **CONCLUSION** This method is simple, rapid and reliable. It is suitable for the determination and safe control of residual carbendazim in this kind of Chinese Traditional Medicine.

**KEY WORDS** Ginseng; carbendazim; residual pesticide; HPLC

农药在现代人类经济,特别是农业经济的发展中起着重要作用,这是农药作为农业生产资料属性的反映。然而,农药又是毒物和化学有害物质,会对人、畜、环境生物和水、大气、土壤等环境要素产生危害和污染,这是农药另一属性的反映。本研究属后者范畴即控制人参药材中农药安全使用,提出同类中药材中农药安全施用方案,使人参药材产品质量

提高,保证临床用药安全有效。

栽培人参是多年(一般4年以上)生植物,在每年春季出苗展叶期容易染立枯病(*Rhizoctonia solani* Kuhn),1~3年生人参发病较重,受害参苗在土表下干湿土交界的茎部呈褐色环状缢缩,幼苗折倒死亡。对人参的种植生产的品质影响较大。多菌灵农药是苯并咪唑衍生物类(氨基甲酸酯类),其功效高,内

统下首先选用了Alltech公司Alltima氰基柱与Agilent公司Zorbax氰基柱试验,但发现盐酸帕洛诺司琼对色谱柱的选择性较强,且样品在氰基柱中保留性较差。我们又采用迪马C<sub>18</sub>柱、Alltech公司Alltima C<sub>18</sub>柱与岛津公司VP-ODS C<sub>18</sub>柱测定,结果均获得良好的峰形与分离度,说明在本实验流动相条件下,盐酸帕洛诺司琼对C<sub>18</sub>柱有很好的适用性。

### 3.3 测定波长的选择

综合分析DAD等高图(Iso Plot)、三维图谱(3D

Plot)和平面光谱图,发现盐酸帕洛诺司琼在254 nm和末端波长处有最大吸收。考虑到末端波长处基线噪音较大,故我们选择254 nm作为含量测定检测波长。

### REFERENCES

- [1] RUBENSTEIN E B. Palonosetron: A unique 5-HT<sub>3</sub> receptor antagonist indicated for the prevention of acute and delayed chemotherapy-induced nausea and vomiting [J]. *Clin Adv Hematol Oncol*, 2004, 2(5): 284-288.
- [2] *Ch. P* (2005) Vol. (中国药典 2005年版二部) [S]. 2005: 85-86. (收稿日期: 2006-01-20)

基金项目: 国家科技部科研院所社会公益项目 (2004DAB17039)

作者简介: 彭方,男,药师 Tel (027) 82936109 E-mail wuw\_o@tm.com

吸, 广谱。对于囊菌纲的病原菌和半知菌类的大多数病原真菌有效。现栽培人参、西洋参等植物均普遍施多菌灵农药进行杀菌。已有文献报道用 HPLC 测定西洋参中其残留量<sup>[3]</sup>, 本实验沿用了 HPLC 测人参中其残留量。

## 1 仪器与试剂

日本岛津 LC-10AT 型高效液相色谱仪; SPD-10AD 紫外可见检测器; SIL-10AD 自动进样器; SCL-10A 系统监控器; 甲醇、四氢呋喃(色谱纯); 水为高纯水; 其他试剂(分析纯)。

对照品: 多菌灵对照品(BW 3441)(国家标准物质中心); 人参(新鲜的整株)药材由吉林省西洋参集团有限公司采集提供并由中国药品生物制品检定所田金改副主任药师鉴定。

## 2 方法与结果

### 2.1 液相色谱条件及系统适应性实验

色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇-四氢呋喃-水(43: 2: 55); 流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>; 检测波长为 277 nm。理论塔板数为 5 000 分离度为 2.1。在此色谱条件下的人参茎叶及根色谱图见图 1。

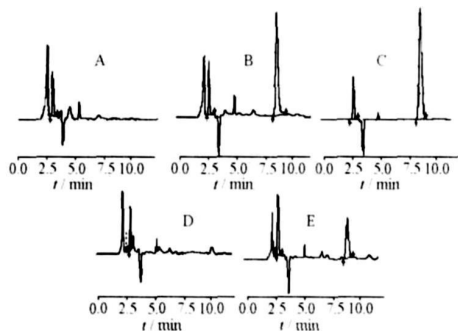


图 1 人参茎叶及根色谱图

A-茎叶空白样品; B-茎叶样品; C-对照品; D-根空白样品; E-根样品

Fig 1 Chromatogram of the stems leaves and roots in Ginseng

A- negative sample of stems and leaves B- sample of stems and leaves C- standard reference D- negative sample of radix E- sample of radix

### 2.2 供试品溶液制备

将所采样品按茎叶和根分别匀浆, 称取样品适量(茎叶 5 g 根 10 g), 置于 50 mL 具塞三角瓶中, 依次用 30, 30, 20 mL 丙酮超声 30, 15, 15 min 过滤, 滤液合并后用真空旋转浓缩器于 35 °C 浓缩至约 10 mL, 加入 2% 氯化钠溶液 50 mL, 摇匀后加 2 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸溶液 10 mL, 摇匀, 并转移置分液漏斗中, 加 20 mL 二氯甲烷萃取脱色(颜色深时可萃取 2 次), 二氯甲烷层用 1 mol · L<sup>-1</sup> 盐酸 10 mL 反萃取一次, 弃去二氯甲烷液, 酸液用 2 mol · L<sup>-1</sup> 氢氧化钠调节 pH 至 7~8 再用二氯甲烷萃取 3 次(30, 20, 20

mL), 合并二氯甲烷提取液, 于 50 °C 水浴中蒸干, 残渣用甲醇溶解, 稀释并定容至 2 mL, 摇匀, 即得。

### 2.3 标准曲线的制备

精密称取多菌灵对照品 9.63 mg 用甲醇稀释成质量浓度为 96.3 mg · L<sup>-1</sup> 的溶液, 再精密吸取该溶液 10, 5, 1, 0.5, 0.1 mL 分别置 100 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 分别吸取 20 μL, 注入液相色谱仪, 测定。以对照品浓度为横坐标, 对照品峰面积为纵坐标, 结果经回归分析, 多菌灵在 1.926~192.6 ng 内有良好的线性关系, 回归方程为  $Y = 76.237X - 110.5$   $r = 1.0000$

### 2.4 精密度实验

精密吸取多菌灵对照品溶液 20 μL, 连续进样 5 次, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.10%。

### 2.5 稳定性实验

取新鲜配制的样品溶液, 在 0, 2, 4, 8, 16, 24 h 分别进样 20 μL, 测定峰面积, 结果 RSD 为 0.36%, 表明样品溶液在 24 h 内保持稳定。

### 2.6 重复性实验

取同一批样品 6 份, 按“2.2”项下分别制成供试品溶液, 测定峰面积, RSD 为 1.96%。

### 2.7 加样回收率实验

精密称取未喷撒农药的人参样品(经检测不含多菌灵)约 5 g 分别加入一定量的(3 个梯度浓度)多菌灵对照品溶液, 按“2.2”的制备方法及“2.1”项条件, 进行测定。人参茎叶、人参根含(包含表面附着)的农药量差别较大, 其回收率分别测定, 结果: 人参茎叶 83.94%, RSD 为 2.42%; 人参根 87.38%, RSD 为 2.68%。见表 1, 2。

表 1 人参茎叶回收率

Tab 1 Recovery of carbendazim in Ginseng stems and leaves

No	Sample quantity / μg	Reference standard / μg	Total quantity / μg	Recovery / %	Average recovery / %	RSD / %
1	4.8008(0)	1.926	1.6925	87.87	84.32	2.42
	4.8008(0)		1.7053	88.54		
2	4.8116(0)	1.926	1.6171	83.96		
	4.8116(0)		1.6069	83.43		
3	4.6711(0)	3.852	3.2575	84.57		
	4.6711(0)		3.2652	84.77		
4	4.8657(0)	3.852	3.1244	81.11		
	4.8657(0)		3.2209	83.62		
5	4.8985(0)	7.704	6.4748	84.04		
	4.8985(0)		6.4363	83.54		
6	5.2595(0)	7.704	6.4300	83.46		
	5.2595(0)		6.3874	82.91		

## 3 结果与讨论

### 3.1 本实验以未施多菌灵农药的人参作为空白样

表 2 人参根回收率

Tab 2 Recovery of carbendazim in Ginseng radix

No	Sample quantity/ $\mu\text{g}$	D reference standard/ $\mu\text{g}$	Total quantity/ $\mu\text{g}$	Recovery %	A verage recovery %	RSD %
1	4 945 7(0)	1 926	1 696 6	88 09		
	4 945 7(0)		1 663 3	86 36		
2	5 041 8(0)	1 92 6	1 712 3	88 90		
	5 041 8(0)		1 757 9	91 27		
3	4 950 3(0)	3 852	3 505 0	90 99		
	4 950 3(0)		3 443 1	89 39		
4	4 978 3(0)	3 852	3 348 5	86 93	87 38	2 68
	4 978 3(0)		3 334 1	86 56		
5	5 070 3(0)	7 704	6 495 4	84 31		
	5 070 3(0)		6 531 2	84 78		
6	5 055 1(0)	7 704	6 593 4	85 58		
	5 055 1(0)		6 580 9	85 42		

品,理论塔板数以多菌灵色谱峰计,分离度为多菌灵色谱峰与其前面杂质峰分离度。

3.2 由于多菌灵农药属胺基甲酸酯类热稳定性差,故选用 HPLC法。参考查阅的有关文献<sup>[1-6]</sup>经实验摸索最终其色谱条件选定色谱柱为 Diamonsil C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ );流动相:甲醇-四氢呋喃-水(43:2:55);流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长为 277 nm。

3.3 建立本检测方法的目的是为了考察多菌灵在人参中的动态降解趋势,因施药后的初始残留量和降解过程中的残留量成较大倍数递减趋势,需要的线性范围(从低浓度到高浓度)较宽,故在考察线性时,选择了较宽的线性考察范围,结果表明在 1.926 ~ 192.6 ng 内有良好的线性关系。

3.4 建立农药残留量测定方法是否符合要求和可行,主要以方法的灵敏度、准确度和精确度作为重要的衡量指标。通常灵敏度以方法的最低检出浓度表示。即检测极限,一般的检测极限(LPL)最低检出浓度应低于最高残留限量(MRL)值一个数量级(10倍)。多菌灵的 MRL 为 0.5  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,本方法最低检出浓度为 0.005 778  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,检测限为 0.577 8 ng,定量限为 1.926 ng,准确度和精确度均符合农药残留量测定方法要求。

3.5 鉴于样品提取净化方法是较关键的一环,经实验对比,丙酮较三氯甲烷等溶剂回收率高,故选择丙酮为溶剂。净化过程系根据多菌灵易溶于酸水、不溶于碱水的化学特性,在酸性条件下用二氯甲烷脱去脂溶性杂质,在碱性条件下用二氯甲烷萃出多菌灵,从而达到净化样品的目的。样品的浓缩过程是较关键的一个步骤,经常会因为操作不当,导致回收率偏低。第一次丙酮提取液浓缩采用了真空旋转浓缩,为避免浓缩过干,导致损失,此步操作保留约 10 mL 丙酮液。第 2 次二氯甲烷萃取液的浓缩采用直接在水浴中 50 °C 浓缩,可以避免真空浓缩时过干导致的损失,同时便于定容。

3.6 因多菌灵在强碱性条件下会缓慢降解,故在样品处理中调节 pH 时最好控制在 7~8。

3.7 考虑本实验为动态降解试验即人参叶茎动态降解从高浓度到低浓度到接近无,而人参根是吸收从少到多然后又降解。为增加其方法的适应性,对回收率分叶茎和根两部分进行,分别添加 1.926 3.852 7.704  $\mu\text{g}$  3 个浓度的多菌灵,其回收率结果均在 83% 以上。

#### REFERENCES

- [1] LU Y H. Institution of the rate degradation about profenofbs in the soil [ J ]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 19(5): 377-378.
- [2] BU SHWAY R J HURSTH L, KUGABALASSOR IAR J. Determination of carbendazim in blueberries by RP-HPLC [ J ]. *Chromatogr*, 1991, 589(2): 321-322.
- [3] XUE J CHEN JM, GE X, et al. Institution of residue of carbendazim in folium isatidis [ J ]. *Environ Chem* (环境化学), 1995, 14(5): 156-168.
- [4] CHEN JM, XUE J WANG C L, et al. RP-HPLC determination of residue of carbendazim in panax quinquefolium [ J ]. *Environ Chem* (环境化学), 1995, 14(6): 541-545.
- [5] GLVYDIS DM, WALTERS S M. Ion-pairing liquid chromatographic determination of benzimidazole fungicide in foods [ J ]. *Assoc Anal Chem*, 1990, 73(5): 753-754.
- [6] CANO P, DELA-PLAZA J L, MUNZO-DELGADO L. Determination and persistence of several fungicides in postharvest-treated apples during their cold storage [ J ]. *Agric Food Chem*, 1987, 35(1): 144-146.

(收稿日期: 2005-11-12)

## 全国药物临床试验机构资格认定高级培训班将在京召开

为进一步规范药物临床试验机构的管理,提高药物临床试验设计水平,确保药物临床试验数据的准确性与科学性,国家食品药品监督管理局药品认证管理中心与中国药学会将于 2007 年 4 月 25 日 - 27 日在北京京东宾馆联合举办“全国药物临床试验机构资格认定高级培训班”。本次培训班的主要内容有:药物临床试验的监督管理、药物临床试验的质量控制、药物 I 期临床试验的设计、药物 II 期临床试验的设计、药物临床试验的伦理问题、药物临床试验标准操作规程(SOP)的制定及实施、药物临床试验不良事件、药物临床试验与统计学、药物临床试验的监查等内容。相关事宜可查询国家食品药品监督管理局药品认证管理中心网站 <http://www.ccl.org.cn> 和中国药学会网站 <http://www.cpa.org.cn>。

[本刊讯]