[药材资源]

三七中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂及其代谢物残留量测定

兰 岚^{1,2}, 周 恒^{1,2}, 袁佳佳^{1,2}, 陈 铭^{1,2}, 苗 水^{1,2}, 季 申^{1,2*}

(1. 上海市食品药品检验所, 上海 201203; 2. 国家药品监督管理局中药质量控制重点实验室, 上海 201203)

摘要: 目的 测定三七中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂及其2种残留物乙撑硫脲和丙撑硫脲的含有量。方法 采用顶空气相色谱-串联质谱(HS/GC-MS)分析二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂的残留总量(以二硫化碳计), 乙撑硫脲和丙撑硫脲的残留量采用QuEChERS/超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)测定。结果 在优化的前处理方法下, 二硫化碳在0.02~4.0 μg范围内线性关系良好($r=0.9963$), 加样回收率及RSD均符合农残检测要求, 方法定量限为0.02 mg/kg。2种代谢物在0.005~0.4 mg/L范围内线性关系良好($r>0.9900$), 回收率80.4%~92.6%, RSD均小于10%, 方法定量限均为0.005 mg/kg。结论 该方法可用于三七中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂及乙撑硫脲和丙撑硫脲残留的日常检验。

关键词: 三七; 二硫代氨基甲酸酯(盐); 乙撑硫脲; 丙撑硫脲; HS/GC-MS; QuEChERS/UPLC-MS/MS

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2656-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.023

Determination of fungicidal dithiocarbamates and the metabolites in *Panax notoginseng*

LAN Lan^{1,2}, ZHOU Heng^{1,2}, YUAN Jia-jia^{1,2}, CHEN Ming^{1,2}, MIAO Shui^{1,2}, JI Shen^{1,2*}

(1. Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China; 2. NMPA Key Laboratory for Quality Control of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

ABSTRACT: AIM To determine the content of dithiocarbamates, and the metabolites ethylenethiourea (ETU) and propylenethiourea (PTU) in *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen. **METHODS** The total residue of dithiocarbamates was determined as carbon disulfide (CS₂) by headspace gas chromatography-mass spectrometry (HS/GC-MS). Residual analysis of ETU and PTU were performed by the method of QuEChERS combined with ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS). **RESULTS** Under optimized conditions, CS₂ showed good linear relationships within the range of 0.02–4.0 μg ($r=0.9963$). The recoveries and RSDs met the requirements of pesticide residue detection. The limit of quantification (LOQ) was 0.02 mg/kg. The two metabolites showed good linear relationships within the range of 0.005–0.4 mg/L ($r>0.9900$). The recoveries were 80.4%–92.6% with the RSDs of less than 10%. The LOQs of ETU and PTU were both 0.005 mg/kg. **CONCLUSION** This method can be used for the residual evaluation of dithiocarbamates and the metabolites in the routine analysis.

KEY WORDS: *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; dithiocarbamates; ethylenethiourea; propylenethiourea; HS/GC-MS; QuEChERS/UPLC-MS/MS

收稿日期: 2019-10-14

基金项目: 国家中药标准化项目(ZYBZH-C-GX-09); 国家药品医疗器械审评审批制度改革课题(ZC2016-2-02); 上海市科技人才计划项目(17YF1417100); 2018上海科委研发平台专项(18DZ2292200)

作者简介: 兰 岚(1986—), 女, 博士, 主管药师, 从事中药中外源性有毒有害物质检测技术研究。Tel: (021) 38839900, E-mail: lanlan1896@aliyun.com

*通信作者: 季 申(1963—), 女, 博士, 主任药师, 从事中药质量控制与安全性研究。Tel: (021) 38839900, E-mail: jishen2013@163.com

三七为五加科植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 的干燥根和根茎,是我国传统名贵中药材,现已成为中成药制剂的大宗药材,是扬名中外的中成药“云南白药”“片仔癀”的主要原料。三七种植年限长达3年,其间易遭受病虫害侵袭,伴随用量需求的增长,农药的使用和残留情况日益凸显。前期通过对三七种植基地的调研和考察发现,二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂(Dithiocarbamates, DTCs)在三七种植中被广泛、大量和定期喷洒,用于防治三七黑斑病^[1]、白粉病^[2]、炭疽病^[3]和霜霉病^[4]等。DTCs按化合物结构类型可分为乙撑二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂(EBDs)、甲基乙撑二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂(PBDs)、二甲基二硫代氨基甲酸酯(DMDs),其中EBDs和PBDs具有低或中等急性哺乳动物毒性^[5],但在有水分和氧气存在的情况下,或含EBDs和PBDs的农作物在加热烹饪过程中,可分别降解成乙撑硫脲(ETU)和丙撑硫脲(PTU)^[6],有甲状腺富集的倾向,还具有潜在的致畸、致癌、致突变和免疫毒性^[7-8],故亟需建立有效的检测二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂原型及其有害代谢产物的方法。

多数DTCs难溶于水 and 有机溶剂,难以直接测定,目前主要通过衍生反应测定其甲基化产物^[9-11],或通过酸解反应测定生成的二硫化碳来达到测定DTCs的目的,其中测定生成的二硫化碳可以计算DTCs的残留总量,与许多现行国际法规限度要求一致,因此本研究采用二硫化碳法测定三七中DTCs的残留总量。针对2种代谢物的检测分析,以液相色谱^[12]、气相色谱^[13]、液相色谱-串联质谱^[14-16]为主,但色谱法易产生干扰,且溶剂消耗量大、检出限高;现有的液相色谱-串联质谱法研究基质多为较简单的蔬菜水果,不适用于化学成分复杂的中药材。目前,三七中2种代谢物的残留方法研究尚未见报道,本研究通过建立耗时短、灵敏度高的顶空气相色谱-串联质谱(HS/GC-MS)及超高效液相色谱-串联质谱(UPLC-MS/MS)检测方法,分别检测三七中乙撑硫脲和丙撑硫脲的残留量,以期了解其在三七中的残留状况,更好地保证该药材安全性。

1 材料

1.1 仪器 Agilent 7890A/7000B 气相色谱-质谱联用仪(配EI离子源)、Agilent GC Sampler 80型顶空进样系统、Agilent PoraPLOT Q-HT 气相色谱柱

(25 m×0.32 mm, 10 μm)、Agilent1290 超高效液相色谱仪、0.22 μm 滤膜(美国Agilent公司);恒温振荡水浴锅(德国Julabo公司);20 mL 顶空瓶(带瓶盖,天津Agela公司);API 5500 三重四极杆串联质谱仪(美国AB SCIEX公司,配置AB SCIEX 数据处理软件、ESI+电喷雾源);Sartorius MSU225P-ICE-DU 和 Sartorius CP224S 型电子分析天平(德国Sartorius公司);Milli-Q 超纯水仪(美国Millipore公司);振荡仪(美国FLUK公司);涡旋仪(德国IKA公司);氮气吹干仪(美国OISYS公司);Centrifuge 5810R 型离心机(德国Eppendorf公司);Exsil Pure 120 Fluoro 液相色谱柱(德国Dr. Maisch公司)。

1.2 试剂与药物 甲酸、乙腈(色谱纯,德国Merck公司);氯化钠、无水硫酸镁、硫酸、盐酸(国药集团化学试剂有限公司);二水合氯化亚锡(上海凌峰化学试剂有限公司);N-丙基乙二胺(PSA)、硅胶、C₁₈、石墨化碳黑(天津博纳艾杰尔科技有限公司);二硫化碳[梯希爱(上海)化成工业发展有限公司,纯度98%];福美锌(德国Dr. E公司,纯度88.0%);乙撑硫脲、丙撑硫脲和同位素内标氘代莠去津(德国Dr. Ehrensterfer GmbH公司)。

从三七道地产区云南采集代表性样品60批,主要集中在西双版纳、文山(红地/邱北/厚德)、红河(卢西)、石林、曲靖、玉溪、建水、砚山等地,部位包括主根、剪口、筋条和大根,主根规格包括20~200头不等。

2 方法与结果

2.1 DTCs 总量测定

2.1.1 顶空自动进样器条件 加热平衡温度90℃;加热平衡时间10 min;进样量250 μL。

2.1.2 色谱条件 分流进样,分流比10:1;程序升温(初始温度120℃,保持5 min,以10℃/min,升到220℃,保持2 min);载气高纯氮气;体积流量2 mL/min。

2.1.3 质谱条件 进样口温度200℃;EI电离能量70 eV;离子源温度230℃;传输线温度280℃;选择离子测试模式(SIM),定量离子76,定性离子78、44;外标法定量。

2.1.4 溶液制备

2.1.4.1 二硫化碳对照品溶液 精密称取二硫化碳对照品50 mg,置50 mL量瓶中,甲醇溶解并稀释至刻度,即得每1 mL含二硫化碳1 000 μg的贮

备液。精密量取适量，甲醇分别稀释成每 1 mL 含二硫化碳 0.2、0.4、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0、40.0 μg 的对照品溶液。-20 ℃ 避光保存，临用现配。

2.1.4.2 福美锌对照品溶液 精密称取福美锌对照品 10 mg，置 50 mL 量瓶中，甲醇溶解并稀释至刻度，即得每 1 mL 含福美锌 200 μg 的贮备液。精密量取适量，甲醇分别稀释成每 1 mL 含福美锌 4.0、8.0、16.0 μg 的对照品溶液，-20 ℃ 避光保存。

2.1.5 样品前处理 取三七细粉约 1.0 g，精密称定，置于 20 mL 顶空进样瓶中，精密加入 1.5% 氯化亚锡-4.5 mol/L 硫酸溶液 9.9 mL 和甲醇 100 μL，迅速密封，涡旋 30 s，置 75 ℃ 恒温振荡水浴锅中反应 1.5 h，取出，冷却至室温，即得，待顶空 GC-MS 检测。

2.2 代谢物 ETU、PTU 测定

2.2.1 色谱条件 Exsil Pure 120 Fluoro 液相色谱柱(4.6 mm×150 mm, 3 μm)；流动相 0.1% 甲酸(A)-乙腈(B)，梯度洗脱(0~6.00 min, 90%~66% A；6.00~9.00 min, 66%~0A；9.00~12.00 min, 0A；12.00~18.00 min, 90% A)；体积流量 0.40 mL/min；柱温 35 ℃；进样量 5.0 μL；内标法定量。

2.2.2 质谱条件 电喷雾离子源；正离子扫描；多反应监测模式；电喷雾电压 5 500 V；雾化气压力 50.0 psi (1 psi = 6.895 kPa)；辅助气压力 50.0 psi；气帘气压力 20.0 psi；碰撞气压力 7.0 psi；离子源温度 350 ℃；扫描时间 50 min；碰撞室入口电压 10 V；碰撞室出口电压 12 V。

2.2.3 对照品溶液制备

2.2.3.1 对照品贮备液 准确称取适量 ETU、PTU 标准物质，乙腈制成 1 000 mg/L 贮备液，-20 ℃ 避光保存。

2.2.3.2 基质混合对照品使用液 移取一定体积的贮备液于 50 mL 量瓶中，乙腈定容至刻度，得到 1 mg/L 溶液，取适量加入空白基质溶液并定容至 1 mL，得到 5、10、50、100、200、400 μg/L 基质

混合对照品使用液。以 2 种农药对照品溶液的质量浓度为横坐标 (X)，各物质的定量离子对峰面积为纵坐标 (Y)，绘制基质匹配标准曲线。

2.2.3.3 内标溶液 准确称取适量氘代莠去津，乙腈逐级稀释成 15 mg/L 内标溶液。

2.2.4 样品前处理

2.2.4.1 提取 将样品粉碎，取约 3.0 g (准确至 0.01 g)，置于 50 mL 塑料离心管中，精密加入 15 mg/L 内标溶液 100 μL、1% 氨水乙腈 15 mL，涡旋混匀，置振荡器上剧烈振荡 30 min (500 次/min)，再加入氯化钠与无水硫酸镁的混合粉末 (2:1) 6 g，立即摇散，置振荡器上剧烈振荡 3 min (500 次/min)，冰浴中冷却 5 min，4 000 r/min 离心 5 min，上清液净化。

2.2.4.2 净化和浓缩 精密移取上清液 9 mL 至预先称量好的装有分散固相萃取吸附剂的 15 mL 离心管中 (含硅胶 900 mg、C₁₈ 300 mg、石墨化炭黑 90 mg、无水硫酸镁 900 mg)，涡旋 30 s 充分混匀，振荡器上剧烈振荡 5 min (500 次/min) 净化完全，4 000 r/min 离心 5 min，精密吸取上清液 5 mL 至氮吹仪上吹至约 0.4 mL，乙腈定容至 1 mL，涡旋混匀，0.22 μm 微孔滤膜过滤，取续滤液，待 LC-MS/MS 检测。

2.3 方法学考察

2.3.1 线性关系考察 按优化的实验条件，DTCs 在二硫化碳添加量为 0.02~4 μg 的范围内线性关系良好，ETU、PTU 在 5~400 μg/L 范围内线性良好，*r* 均大于 0.990 0。空白样品中加入二硫化碳和 ETU、PTU 对照品溶液，按样品前处理方式制备线性最低点的定量限样品溶液，实际检测到定量定性峰且信噪比均大于 10 的最低浓度为最低定量浓度。以二硫化碳计，DTCs 残留量的定量限为 0.02 mg/kg，2 种代谢物定量限均为 0.005 mg/kg，方法灵敏度较高，可以较好地满足检测要求。相关参数见表 1~2。

2.3.2 稳定性试验 取避光保存的福美锌对照品溶液 (8 μg/mL)、ETU 和 PTU 混合对照品溶液 (50 μg/L)，按优化的前处理方式及色谱条件，于

表 1 DTCs 方法学考察结果 (加样以福美锌计)

Tab. 1 Methodological study results of DTCs (spiked with ziram)

化合物	<i>t_R</i> /min	回归方程	<i>r</i>	加样回收率(RSD)/%		
				0.4 mg/kg	0.8 mg/kg	1.6 mg/kg
DTCs(以二硫化碳计)	10.3	$Y=8\ 559\ 122.355\ 503X+69\ 851.081\ 210$	0.996 3	75.8(4.1)	65.3(4.6)	57.3(2.3)

表2 乙撑硫脲和丙撑硫脲的质谱参数及方法学考察结果

Tab. 2 MS parameters and methodological study results of ETU and PTU

化合物	t_R/min	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	回归方程	r	加样回收率(RSD)/%		
						0.01 mg/kg	0.05 mg/kg	0.10 mg/kg
ETU	4.8	103	44.0*, 85.9, 60.0	$Y=27\ 116.326\ 93X+10\ 656.387\ 57$	0.999 7	80.4(2.3)	82.9(3.2)	91.1(6.1)
PTU	5.0	117	58.0*, 72.0, 41.1	$Y=48\ 646.5X+11\ 245.517\ 61$	0.999 8	85.6(4.2)	84.5(5.1)	92.6(8.2)
内标	11.8	221	178.8*, 101.1	-	-	-	-	-

注: *为定量离子。

0、1、2、4、8、12、16、24 h 进样测定, 测得峰面积 RSD 均小于 5%, 表明农药对照品溶液稳定性良好。

2.3.3 加样回收率试验 DTCs 以福美锌为典型农药用于加样回收率试验, 3 个加样水平分别为 0.4、0.8、1.6 mg/kg (分别约相当于二硫化碳 0.2、0.4、0.8 mg/kg); ETU 和 PTU 的 3 个加样水平分别为 0.01、0.05、0.10 mg/kg, 每个加样水平各平行测定 7 份, 测得 DTCs 加样回收率为 57.3% ~ 75.8%, ETU 和 PTU 加样回收率均在 80.4% ~ 92.6% 范围内, RSD 均小于 10% ($n=7$)。由此可知, 方法的准确度和精密性均符合农药残留分析要求, 重复性良好, 结果见表 1~2。

2.3.4 基质效应考察 二硫化碳法测定 DTCs 总量采用了顶空进样的方式, 进入检测器的成分较少, 受基质干扰较小。以三七空白基质、溶剂二硫化碳的标准曲线进样, 以公式 $M_i = [(\text{基质匹配标准曲线的斜率}/\text{溶剂标准曲线的斜率}) - 1] \times 100\%$ 来量化评价基质效应, 结果, 表现为基质增强效应, 基质效应仅为 2.1%。

制备系列 ETU 和 PTU 乙腈溶剂混合对照品溶液, 与净化前后的三七空白基质匹配的混合对照品溶液一同进样检测, 分别绘制标准曲线。结果, 乙撑硫脲和丙撑硫脲均表现为基质抑制效应, 2 种残留物经过净化后抑制率分别为 7.7%、3.0%, 净化效果较为理想。因此, 定量时仍采用空白基质匹配标准曲线, 以减少基质效应的影响。

2.4 样品测定结果 按“2.2”项下前处理方法、色谱及质谱条件, 检测 60 批不同产地、植株部位、规格三七中 DTCs 的总残留量及代谢产物 ETU 和 PTU 的残留量。结果, 81.7% 样品检出 DTCs, 检出量 0.1~2.4 mg/kg (以二硫化碳计), 其中 2 批三七主根的 DTCs 总量超过《美国药典》规定的限度 (2.0 mg/kg), 而且均为三七主根部位, 表明 DTCs 有在该药用部位积蓄的可能; 仅 2 批检出乙撑硫脲, 而且检出浓度较低 (略低于定量限浓

度), 其原因可能为 60 批样品均经过水洗或干燥处理, 多数 DTCs 难溶于水, 难以通过水洗去除, 而 ETU、PTU 具有一定的水溶性, 2 种残留物可能已水洗除去, 但仍应注意鲜品三七中乙撑硫脲和丙撑硫脲的残留可能造成的风险隐患。

3 讨论

3.1 DTCs 总量测定方法 通过酸性氯化亚锡水解生成二硫化碳的方法测定 DTCs 总量, 是现行国内外法规测定食品、烟草等基质中 DTCs 总量的标准方法, 但该方法在中药材中的应用研究尚不深入。本研究比较了 1.5% 氯化亚锡的 9 mol/L 盐酸及 4.5 mol/L 硫酸的反应流动相, 在 30 min、1 h、2 h 分别测定与等量福美锌反应生成的二硫化碳的量, 结果表明 4.5 mol/L 硫酸流动相下能更快更稳定地反应。盐酸为挥发性酸, 顶空平衡条件下挥出的氯化氢气体对色谱柱及仪器维护不利, 因此本研究使用含 1.5% 氯化亚锡的 4.5 mol/L 硫酸溶液作为流动相。

制备 0.4、0.8、4.0、8.0、16.0、32.0、64.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 福美锌对照品溶液, 与 0.2、0.4、2.0、4.0、8.0、16.0、20.0、40.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 二硫化碳对照品溶液一同按优化的方法进样 (未加三七粉末), 分别绘制标准曲线, 计算纯溶液反应条件下福美锌转化率达 99.2%, 表明它可在本研究方法下完全反应生成二氧化硫, 但加入 1.0 g 三七粉末后其 3 个加样水平回收率仅为 57.3% ~ 75.8%。为寻找回收率偏低的可能原因, 提高了反应温度, 在 105 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中反应 1.5 h, 结果加样回收率略有降低, 推测升温对该反应没有促进作用; 延长了反应时间, 75 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴振荡 3 h, 加样回收率未见提高; 改变三七粉末称样量, 分别比较 2.0、1.0、0.5 g 三七粉末取样量下福美锌加样回收率, 结果显示 2.0 g 称样量下加样回收率降低, 称样量为 1.0、0.5 g 时回收率一致; 以较简单的大米作反应基质, 福美锌的平均加样回收率达到 95.0%。由此表明, 三七基质对二硫化碳的生成具有抑制作

用,将该方法应用在其他中药材基质上时,不同基质种类对二硫化碳反应的抑制程度不同,整体加样回收率(以福美锌计)均偏低。

3.2 代谢物 ETU、PTU 测定方法 目前报道的关于乙撑硫脲和丙撑硫脲的提取溶剂主要使用乙腈^[14-15]和甲醇^[17-19],其中乙腈有较强的渗透作用,对乙撑硫脲和丙撑硫脲均有很好的提取效果,共萃物少。本实验在提取溶液的优化中使用了乙腈、含不同比例氨水(0.5%、1.0%、1.5%、2.0%)的乙腈,结果乙撑硫脲和丙撑硫脲的最优提取溶剂略有不同,为兼顾两者提取效率,采用1%氨水乙腈作为提取溶剂。

采用 QuEChERS 方法考察了 PSA、硅胶、C₁₈、石墨化碳黑对三七中皂苷类、黄酮类、糖类等成分的净化效果,以及对乙撑硫脲和丙撑硫脲回收率的影响。本研究中无水硫酸镁的用量为 900 mg,旨在除去乙腈提取液中的水,保证其他净化填料的吸附效果。在三七空白样品中添加 0.10 mg/kg 乙撑硫脲和丙撑硫脲,引入硅胶作为净化填料,可以去除容易沉积在进样口和色谱柱上的糖类及强极性物质,有利于数据的稳定性及仪器维护。分别考察了添加硅胶 300、600、900、1 200 mg 的回收率,发现 2 种残留物的平均回收率在 900 mg 下最佳。石墨化碳黑对甾醇和色素类杂质吸附性较好,考察了添加 0、30、90、180 mg 的回收率,发现 2 种残留物的平均回收率在 90 mg 下最佳。C₁₈ 可有效去除基质中的脂类等非极性杂质,但对乙撑硫脲和丙撑硫脲的回收率影响较小,加入 300 mg 作为组合净化剂可整体降低背景干扰。最终,净化配比确定为硅胶 900 mg, C₁₈ 300 mg, 石墨化碳黑 90 mg, 无水硫酸镁 900 mg。

通过对比甲醇-水、乙腈-水流动相下乙撑硫脲和丙撑硫脲的灵敏度和峰形发现,乙腈-水洗脱时 2 种代谢物峰形更尖锐,响应更好。进一步考察了乙腈-水溶液、乙腈-0.1% 甲酸、乙腈-0.1% 甲酸(均含 5 mmol/L 甲酸铵)流动相下的响应,结果表明乙腈-0.1% 甲酸洗脱时 2 种代谢物的峰形更好,响应更高,推测甲酸的加入可改善峰形,提高离子化效率,而甲酸铵与乙撑硫脲和丙撑硫脲竞争电离,又降低了 2 种代谢物的离子化效率。

考察了 HSS T3、Poroshell 120 EC-C₁₈、Kinetex Hilic、Exsil Pure 120 Fluoro 色谱柱的分离效果,发现由于乙撑硫脲和丙撑硫脲极性较大,水溶性良好,前 3 种色谱柱对 2 种代谢物的保留较弱,2 min 前即

出峰,易受基质干扰;两者在 Exsil Pure 120 Fluoro 色谱柱上的保留时间分别为 4.8、5.0 min,具有更好的分离度和灵敏度,故选用该色谱柱。

3.3 加强监控 DTCs 及其代谢物在中药材中的残留情况 DTCs 作为生产使用较早的一类杀菌剂,在中药材种植中应用范围广,尤以易受病菌侵染的多年生根茎类、叶类药用植物使用频率最高,故该类农药及其代谢物的残留不容忽视。目前,对中药材中 DTCs 的检测仍缺乏深入研究,其基质较为复杂的特点也影响了衍生反应的效率,故仍需要更专业的研究来完善相关测定。

4 结论

本实验建立了三七中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂的顶空气相色谱-串联质谱、及其 2 种残留物乙撑硫脲和丙撑硫脲的 UPLC-MS/MS 的检测方法,研究了该类杀菌剂及其有毒代谢产物在的残留情况,并初步筛查了不同产地、规格、部位的样品共 60 批。结果显示,该方法稳定性好、灵敏度高,可用于三七中二硫代氨基甲酸酯(盐)类杀菌剂及乙撑硫脲和丙撑硫脲残留的日常检验。

参考文献:

- [1] 陈荣华,曾东强.三七病虫害化学防治与农药残留[J].广西植保,2017,30(2):27-30.
- [2] 杨 朔.浅谈田七的种植和病虫害防治技术[J].南方农业,2015,9(27):20-21.
- [3] 徐文虹.三七农药残留测定方法的研究及展望[J].轻工科技,2018,34(9):126-127;138.
- [4] 王 芬.文山三七病虫害综合防控技术试验示范报告[J].农家参谋,2018,22(37):42.
- [5] Fernandez O L, Otero R R, Barreiro C G, et al. Surveillance of fungicidal dithiocarbamate residues in fruits and vegetables[J]. Food Chem, 2012, 134(1): 366-374.
- [6] Watts R R, Storherr R W, Onley J H, et al. Effects of cooking on ethylenebisdithiocarbamate degradation to ethylene thiourea [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1974, 12(2): 224-226.
- [7] Rubino F M, Mrema E J, Colosio C. Encyclopedia of food safety (volume 3) [M]. 2014.
- [8] Vettorazzi G, Almeida W F, Burin G J, et al. International safety assessment of pesticides: dithiocarbamate pesticides, ETU, and PTU-a review and update [J]. Teratog Carcinog Mutagen, 1995, 15(6): 313-337.
- [9] 张 悦,张正海,李爱民,等.甲基化衍生-高效液相色谱法检测北五味子中的代森锰锌[J].湖北农业科学,2015,54(12):3000-3002.
- [10] 马婧玮,潘灿平,张军锋.衍生化-高效液相色谱法测定水稻中的代森锰锌[J].农药,2008,47(6):440-442.
- [11] 马婧玮,董姝君,游文字,等.甲基化衍生-高效液相色谱

- 法检测代森锰锌在花生中的残留量[J]. 农药学报, 2007, 9(3): 297-300.
- [12] 韦 婕, 宋世明, 李雪生. 高效液相色谱法检测番茄中乙撑硫脲和丙撑硫脲的残留[J]. 农药, 2016, 55(12): 912-914.
- [13] 石利利, 单正军, 金 怡, 等. 荔枝中代森锰锌及其代谢产物乙撑硫脲残留量的气相色谱测定[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 92-94; 97.
- [14] 冯义志, 潘金菊, 刘 伟. 超高效液相色谱质谱联用检测苹果和土壤中丙撑硫脲的残留分析方法[J]. 农药科学与管理, 2015, 36(1): 31-33.
- [15] 叶孟亮, 聂继云, 徐国锋, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定水果中乙撑硫脲残留[J]. 分析测试学报, 2015, 34(11): 1276-1280.
- [16] Ripolles C, Sancho J V, Lopez F J, et al. Liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry for the residue determination of ethylenethiourea (ETU) and propylenethiourea (PTU) in water [J]. *J Chromatogr A*, 2012, 1243(22): 53-61.
- [17] Lemes V R R, Martins-Junior H A, de Souza S V C J, et al. Ethylenethiourea in fruits: optimization and in-house validation of a method by liquid chromatography tandem mass spectrometry, occurrence and dietary exposure assessment [J]. *Food Control*, 2014, 42(1): 321-328.
- [18] 叶 倩, 黄聪灵, 高毓文, 等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中乙撑硫脲残留 [J]. 中国食品卫生杂志, 2018, 30(4): 382-386.
- [19] Tran K, Mactal L P, Cromer M R, et al. Development and validation of ethylenethiourea determination in foods using methanol-based extraction, solid-phase extraction cleanup and LC-MS/MS [J]. *Food Chem*, 2013, 140(1-2): 340-342.

不同储藏年限地黄化学成分分析

宋琳琳, 薛淑娟, 王利丽, 张 飞, 陈随清*
(河南中医药大学药学院, 河南 郑州 450046)

摘要: 目的 分析不同储藏年限地黄的化学成分。方法 对地黄中氨基酸含有量进行分析, 硫酸-苯酚法测定地黄总多糖含有量, HPLC 法测定毛蕊花糖苷、环烯醚萜苷类、单糖、寡糖含有量。结果 随着储存时间增加, 总氨基酸含有量下降, 其中碱性氨基酸赖氨酸和精氨酸幅度较大; 棉籽糖、水苏糖、总多糖含有量逐年降低, 果糖、葡萄糖、蔗糖、甘露三糖含有量呈现先增后减的趋势, 蜜二糖含有量基本平稳; 单糖中半乳糖、甘露糖、阿拉伯糖随着储存时间的增加含有量逐年增加, 环烯醚萜苷类成分梓醇、地黄苷 D、地黄苷 A、益母草苷随着储藏年限的延长, 成分逐渐降低; 毛蕊花糖苷含有量也是下降的。结论 随着地黄储藏年限的增加, 断面越来越黑, 大多数成分含有量在储藏 3 年后趋于平稳。

关键词: 地黄; 化学成分; 储藏年限; 硫酸-苯酚法; HPLC

中图分类号: R284.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2020)10-2661-09

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.024

Analysis of chemical constituents from *Rehmannia glutinosa* with different storage years

SONG Lin-lin, XUE Shu-juan, WANG Li-li, ZHANG Fei, CHEN Sui-qing*

(School of Pharmacy, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT: **AIM** To analyze the chemical constituents from *Rehmannia glutinosa* Libosch with different storage years. **METHODS** The content of amino acids in *R. glutinosa* was analyzed, and the content of total

收稿日期: 2019-10-05

基金项目: 国家自然科学基金 (81973477)

作者简介: 宋琳琳 (1994—), 女, 硕士生, 从事中药学研究。Tel: 15236333805, E-mail: 15236333805@163.com

* 通信作者: 陈随清 (1962—), 男, 博士, 教授, 从事中药资源与中药质量评价研究。Tel: (0371) 65676686, E-mail: suiqingchen@163.com