

28 份包装标注为敌草快成分的除草剂检测分析

杨一红 刘洪波 李彩侠 张泓 王海梅 闫敏 刘杰

作者单位: 236000 安徽阜阳, 阜阳市人民医院急诊科 (杨一红、刘洪波、李彩侠、王海梅、闫敏)

230022 安徽合肥, 安徽医科大学第一附属医院急诊医学科 (张泓)

311722 浙江杭州, 杭州汉库医学检验所有限公司 (刘杰)

通信作者: 张泓, Email: zhanghong20070703@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2021.01.013

【摘要】 目的 分析国内市场销售的包装标注为敌草快除草剂的确切成分并检测其有效成分浓度, 为指导临床急性敌草快中毒的精准化诊治提供实验依据。**方法** 购置 28 份国内市场销售的包装标注浓度为 200.0 g/L 的敌草快除草剂, 应用高效液相色谱质谱 (HPLC-MS) 检测样品的确切成分和浓度, 并对检测结果以及样品来源进行统计分析。**结果** 28 份包装标注为敌草快的除草剂中有 23 份 (占 82.14%) 含有敌草快成分, 5 份 (占 17.86%) 检测出百草枯成分, 未检测出同时含有敌草快和百草枯的样品。含有敌草快成分的样品检测浓度明显高于含有百草枯成分的样品浓度 (g/L : 164.7 ± 27.5 比 79.4 ± 57.0 , $P < 0.05$)。23 份含有敌草快的样品中有 5 份浓度达标 ($\geq 200.0 \text{ g/L}$), 其余样品均不达标。5 份含有百草枯的样品中检出最高浓度为 179.0 g/L, 其余 4 份均显著低于 200.0 g/L。按检出浓度不同将样品分为 4 组, 其中 $< 50.0 \text{ g/L}$ 组检出 1 份百草枯样品, 50.0 ~ 99.9 g/L 组检出 3 份百草枯样品, 100.0 ~ 149.9 g/L 组检出 6 份敌草快样品, $\geq 150.0 \text{ g/L}$ 组检出 17 份敌草快样品和 1 份百草枯样品。检测出含有敌草快成分的除草剂生产企业分布于山东省 (9 家)、河北省 (4 家)、河南省 (3 家)、安徽省 (2 家)、江苏省 (2 家)、重庆市 (2 家)、广西壮族自治区 (1 家)。检测出的含百草枯成分的 5 家除草剂生产企业分布于安徽省、河北省、广西壮族自治区、浙江省和广东省各 1 家。**结论** 国内销售包装标注为敌草快的除草剂部分商品确切成分为百草枯, 无论是敌草快和百草枯成分, 大部分商品的浓度均低于标注的 200.0 g/L。我国目前有部分企业存在生产假冒伪劣敌草快除草剂的现象, 要实现急性敌草快中毒的精准化诊疗, 毒物检测分析必不可少, 可以降低该类中毒的误诊率。

【关键词】 敌草快; 百草枯; 除草剂; 高效液相色谱质谱法

基金项目: 安徽省医学会急诊临床研究项目 (Ky2018014)

Detection and analysis of 28 herbicides labeled as diquat in packaging

Yang Yihong, Liu Hongbo, Li Caixia, Zhang Hong, Wang Haimei, Yan Min, Liu Jie. Department of Emergency, Fuyang People's Hospital, Fuyang 236004, Anhui, China (Yang YH, Liu HB, Li CX, Wang HW, Yan M); Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui, China (Zhang H); Hangzhou Hanku Medical Laboratory Limited, Hangzhou 311722, Zhejiang, China (Liu J)

Corresponding author: Zhang Hong, Email: zhanghong20070703@163.com

【Abstract】 Objective To analyze the exact components of herbicide labeled as diquat in the domestic market and detect the concentration of its effective components, so as to provide experimental basis for the accurate diagnosis and treatment of acute diquat poisoning. **Methods** The 28 copies of diquat herbicide with concentration of 200.0 g/L in the domestic market were purchased, high performance liquid chromatography mass spectrometry (HPLC-MS) was used to determine the exact composition and concentration of the samples, and the detection results and sample sources were statistically analyzed. **Results** Among the 28 samples of herbicides labeled as diquat, 23 samples (82.14%) contained diquat, 5 samples (17.86%) contained paraquat, and no sample containing both diquat and paraquat was detected. The detected concentration of diquat was significantly higher than that of paraquat (g/L : 164.7 ± 27.5 vs. 79.4 ± 57.0 , $P < 0.05$). Among the 23 samples containing diquat, 5 samples reached the standard ($\geq 200.0 \text{ g/L}$), and the rest were not up to the standard. The highest concentration in 5 paraquat samples was 179.0 g/L, and the concentration of remaining 4 samples was significantly lower than 200.0 g/L. The samples were divided into 4 groups according to different concentration. One paraquat sample was detected in $< 50.0 \text{ g/L}$ group, 3 paraquat samples were detected in 50.0–99.9 g/L group, 6 diquat samples were detected in 100.0–149.9 g/L group, 17 diquat samples and 1 paraquat sample were detected in $\geq 150.0 \text{ g/L}$ group. The herbicide production enterprises containing diquat were detected in 9 enterprises in Shandong Province,

4 in Hebei Province, 3 in Henan Province, 2 in Anhui Province, 2 in Jiangsu Province, 2 in Chongqing City and 1 in Guangxi Zhuang Autonomous Region. The manufacturers producing herbicide with paraquat were distributed in Anhui Province, Hebei Province, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Zhejiang Province and Guangdong Province respectively. **Conclusions** In the domestic market, the exact component of some herbicides labeled as diquat in packaging is paraquat. The concentration of most the products is lower than 200.0 g/L of the marked content. At present, some enterprises in our country produce fake and inferior diquat herbicide. In order to realize the accurate diagnosis and treatment of acute diquat poisoning, it is necessary to detect and analyze the poison, which can reduce the misdiagnosis rate of this kind of poisoning.

【Key words】 Diquat; Paraquat; Herbicide; High performance liquid chromatography mass spectrometry

Fund program: Emergency Clinical Research Project of Anhui Medical Association (Ky2018014)

我国自 2016 年起禁止生产和销售百草枯水剂,而敌草快具有和百草枯相似的除草效果,而且遇到泥土失活,不会对农作物的根茎造成伤害,因此逐渐替代百草枯成为国内主要使用的除草剂之一。随着敌草快的广泛应用,相关中毒事件的发生率也在逐年上升。根据我国农药毒性分级标准,敌草快属于中等毒性农药,低于百草枯(剧毒农药)。国内有学者统计,急性敌草快中毒的病死率高达 60%,明显高于国外报道的病死率(43%)^[1]。针对这种情况,有专家分析包装标注为敌草快的商品中可能掺杂了百草枯。由于敌草快的生产成本高于百草枯,国家虽然已经禁止百草枯水剂销售,但一些企业可能还会有部分积压的百草枯商品,因而出现一些不法商家铤而走险,将百草枯包装为敌草快投入市场。如果患者接触的毒物恰好是这种假冒伪劣敌草快商品,则中毒后即会表现出百草枯的中毒特点,增加了患者的病死率。目前市场上是否确实存在这种现象尚缺乏循证医学的证据。本研究通过购置国内市场销售的包装标注为敌草快的除草剂,利用高效液相色谱质谱法(high performance liquid chromatography mass spectrometry, HPLC-MS)检测和分析其确切成分和浓度,旨在为指导急性敌草快中毒的精准化诊治提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 样品来源 检测样品为从全国范围内随机购置的 28 份市场销售包装标注为敌草快的除草剂,包装标注浓度均为 200.0 g/L。28 份检测样品均来自不同的敌草快生产企业,覆盖华中、华北、华东和华南地区主要的农业生产省份。生产日期为 2019 年 2 月—2020 年 4 月,所有样品均在有效期内。

1.1.1 纳入标准 ① 样品包装标注为敌草快,不混有其他除草剂成分;② 包装标注浓度为 200.0 g/L,均在有效期内。

1.1.2 排除标准 ① 敌草快检测样品的包装上标注含有其他除草剂混合成分;② 包装有破损;③ 样品不在有效期内。

1.1.3 伦理学 本研究符合医学伦理学要求,并通过本院伦理审批(审批号:20190306)。

1.2 检测条件和方法

1.2.1 检测仪器 Waters Acquity UPLC I-Class 高效液相色谱质谱仪购自沃特世科技(上海)有限公司。

1.2.2 检测方法 采用 HPLC-MS 法检测 28 份市售包装为敌草快的除草剂样品。

1.2.3 色谱条件 采用 Acquity UPLC BEH HILIC 色谱柱(1.7 μm , 2.1 mm $\times$ 100 mm);流动相为 0.1% 甲酸乙腈-0.1% 甲酸 10 mmol/L 乙酸铵水溶液;梯度洗脱程序:0.1% 甲酸乙腈的起始比例为 80%,保持 1 min,至 2.5 min 降为 25%,保持至 3.5 min,至 4 min 时恢复为 80%,保持至 5 min;流速为 0.35 mL/min;进样量为 5 μL 。

1.2.4 质谱条件 电离模式为 ESI⁺,采用多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM),毛细管电压为 3.0 kV,源温度为 150 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气温度为 500 $^{\circ}\text{C}$,脱溶剂气流速为 850 L/h,锥孔气流速为 50 L/h,其他参数见表 1。

表 1 高效液相色谱质谱(HPLC-MS)参数

除草剂	离子对(m/z)	锥孔电压(V)	碰撞能量(V)
百草枯	186/171 ^a	30	20
	186/144 ^a	30	20
敌草快	184/106 ^a	50	25
	183/130 ^a	50	35

注:^a表示定量离子

1.3 统计学方法 使用 SPSS 16.0 统计软件分析数据,符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两独立样本比较采用 t 检验;计数资料以百分比表示,样本量较小($n<40$)时,采用 Fisher 确切概率法检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 敌草快和百草枯的专属性 在 HPLC-MS 检测条件下,敌草快的母离子为 184,子离子为 106 时,峰形图保留时间为 2.74 min(见图 1)。百草枯的母离子为 186,子离子为 171 时,峰形图保留时间为 2.76 min(见图 2)。两者分离度良好,不受杂质干扰。

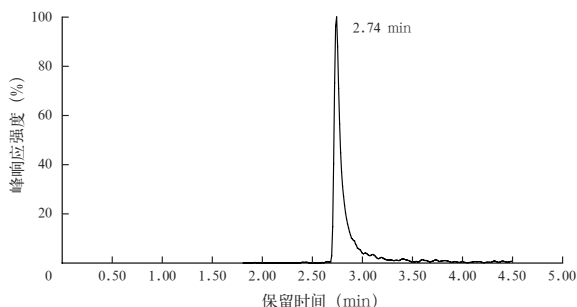


图 1 敌草快高效液相色谱质谱(HPLC-MS)图

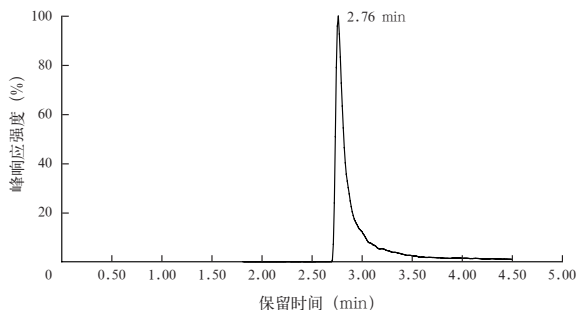


图 2 百草枯高效液相色谱质谱(HPLC-MS)图

2.2 除草剂样品确切成分检测结果 28 份包装标注为敌草快的样品中检测出 23 份含有敌草快成分(占 82.14%);有 5 份检测出百草枯成分(占 17.86%)。未发现同时含有敌草快和百草枯成分样品。

2.3 样品有效成分浓度检测结果 23 份检测出敌草快成分的样品有效成分浓度为 (164.7 ± 27.5) g/L, 5 份检测出百草枯成分的样品中有效成分浓度为 (79.4 ± 57.0) g/L,远低于检出敌草快的样品有效成分浓度,比较差异具有统计学意义($t=5.122, P=0.000$)。23 份含敌草快的样品中有 5 份有效成分浓度达标(≥ 200.0 g/L),占 21.74%,其余样品有效成分浓度均不达标。5 份检出百草枯的样品中有效成分最高浓度为 179.0 g/L,其余 4 份有效成分浓度与标注浓度(200.0 g/L)相差较大。按不同检出浓度将样本分为 4 组,不同浓度组的敌草快和百草枯样品数量比较差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

2.4 除草剂生产企业省份分布 23 份检测出含敌草快成分样品的生产企业分布于山东省(9 家)、河北省(4 家)、河南省(3 家)、安徽省(2 家)、江苏省(2 家)、

重庆市(2 家)、广西壮族自治区(1 家);检测出 5 份含百草枯样品的生产企业分布于安徽省、河北省、广西壮族自治区、浙江省和广东省,各 1 家。见图 3。

表 2 敌草快和百草枯不同检出浓度样品数比较

浓度(g/L)	样品数(份)	敌草快(份)	百草枯(份)
<50.0	1	0	1
50.0~99.9	3	0	3
100.0~149.9	6	6	0
≥ 150.0	18	17	1

注:采用 Fisher 精确检验, $P=0.001$

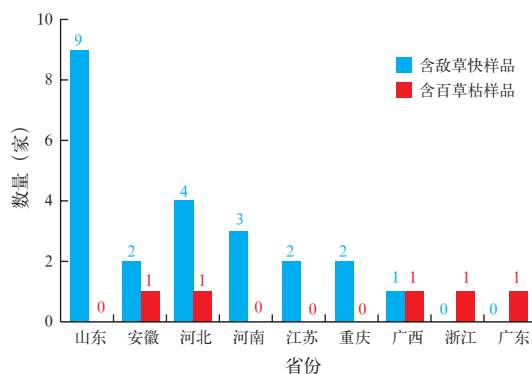


图 3 除草剂样品生产企业的省份分布

3 讨论

敌草快和百草枯都属于联吡啶类除草剂。敌草快进入人体后在各组织和体液中分布不均,其中在肝脏和肾脏内浓度较高,临床上导致急性肾损伤和肝损伤较为常见。由于其不符合肺多胺摄取系统底物的结构要求,肺脏不是吸收和储存敌草快的主要器官^[2]。动物实验表明,敌草快可以对 I 型肺泡细胞造成轻度和可逆的损伤,但一般不损伤 II 型肺泡细胞,鲜有进展为肺纤维化的病例^[3-4]。曾有学者对急性敌草快中毒死亡患者进行病理解剖,也证实了患者仅有肺损伤而未出现肺纤维化^[5-8]。百草枯与二胺、多胺等物质具有结构上的相似性,可以被肺泡 I 型和 II 型细胞摄取,肺脏是主要累及的靶器官,中毒后其最高浓度可以达到血浆中的 90 倍。同时百草枯还具有较大的肝毒性^[9]。百草枯中毒患者的主要死因是通过氧化还原反应和脂质过氧化,加剧肺损伤和肺纤维化,最终导致急性呼吸窘迫综合征(acute respiratory distress syndrome, ARDS)和呼吸衰竭^[10]。根据笔者收治的急性敌草快中毒患者以及国内其他学者报道的中毒病例^[11-12],部分患者的临床特点与百草枯中毒较为符合,因此推测这些中毒患者接触的敌草快毒物可能含有百草枯成分,但是该结论尚缺乏循证医学证据。

通过本次检测, 28 份包装标注为敌草快的除草剂中有 5 份含有百草枯成分, 而且都是百草枯单一成分, 完全不含有敌草快, 如果中毒患者接触的是这类假冒伪劣商品, 其中毒特点就会与百草枯吻合, 而不符合敌草快的中毒特点, 增加了患者的病死率。检测结果显示, 包装标注为敌草快的除草剂都是以敌草快或百草枯单一成分存在, 未发现同时混合有敌草快和百草枯成分的商品。分析其原因可能有以下几方面: ① 敌草快的除草效果与百草枯相差甚小, 生产企业没有必要再混合百草枯成分提高除草效果; ② 如果用敌草快混合百草枯, 可能会增加商家的成本, 降低了经济效益; ③ 敌草快和百草枯中毒的严重程度与摄入量和毒物浓度呈正相关性, 如果敌草快同时混合百草枯, 不仅提高生产成本, 也增加了商品的毒性, 一般不会有厂家主动去这样做; ④ 本研究检测的样本数有限, 也可能有个别生产企业在百草枯为主要成分的假冒伪劣商品中加入少量的敌草快以应对质检单位的检测, 下一步需要更大样本量和多中心的检测。

本研究结果表明, 敌草快只有 5 份浓度含量达标 (≥ 200.0 g/L), 其余 18 份敌草快和 5 份百草枯样品的浓度均 < 200.0 g/L, 同时百草枯的含量远低于敌草快。分析其原因可能为: ① 生产企业通过降低含量, 减少生产成本; ② 由于购置的个别敌草快样品比较黏稠, 稀释后的溶液样品浓度含量不均, 导致抽取样品溶液检测时, 存在抽样和检测误差; ③ 生产和销售成分为百草枯的假冒伪劣敌草快除草剂属于违法行为, 生产厂家通过减少其含量可以降低这类除草剂中毒的病死率。从敌草快生产企业分布来看, 部分省份存在生产假冒伪劣敌草快商品的现象。

本研究临床检测应用的是 HPLC-MS, 其灵敏度高, 选择性好, 简便快速^[13], 且能同时检测样品中的百草枯和敌草快成分, 并实现定性和定量分析, 是较为可靠的一种检测方法。国内也有其他学者用该方法对敌草快或百草枯中毒患者进行检测, 取得了理想的效果^[14-15]。HPLC-MS 的缺点为检测设备价格昂贵, 而且对操作技术要求较高, 需要专业的技术人员团队, 在国内大多基层医院尚未普及。也有学者将百草枯检测方法(连二亚硫酸钠还原法)应用于敌草快, 如果患者尿液样本中有敌草快成分, 标本就会发生变化并呈绿色, 这种方法的优点就是方便快捷^[16], 其缺点是如果样品中混有敌草快和百草枯两种成分, 颜色就会很难辨认。另外连二亚硫酸

钠还原法属于半定量检测, 根据样本的颜色与比色卡对比, 估算其浓度, 无法实现精准定量分析。

综上所述, 本研究结果显示, 国内市场确实有假冒伪劣的敌草快除草剂在售, 其成分为百草枯。在我国目前国情下, 开展敌草快毒物检测分析必不可少, 可以显著降低急性敌草快中毒的误诊率。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- 1 吴雨璇, 张劲松, 乔莉, 等. 43 例成分标注为敌草快的除草剂急性中毒临床观察 [J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28 (10): 1287-1291. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.10.021.
- 2 MAGALHÃES N, CARVALHO F, DINIS-OLIVEIRA R J. Human and experimental toxicology of diquat poisoning: toxicokinetics, mechanisms of toxicity, clinical features, and treatment [J]. Hum Exp Toxicol, 2018, 37 (11): 1131-1160. DOI: 10.1177/0960327118765330.
- 3 LAM H F, TAKEZAWA J, GUPTA B N, et al. A comparison of the effects of paraquat and diquat on lung compliance, lung volumes and single breath diffusing capacity in the rat [J]. Toxicology, 1980, 18 (2): 111-123. DOI: 10.1016/0300-483x(80)90074-8.
- 4 MANABE J, OGATA T. The toxic effect of diquat on the rat lung after intratracheal administration [J]. Toxicol Lett, 1986, 30 (1): 7-12. DOI: 10.1016/0378-4274(86)90172-4.
- 5 JONES G M, VALE J A. Mechanisms of toxicity, clinical features, and management of diquat poisoning: a review [J]. J Toxicol Clin Toxicol, 2000, 38 (2): 123-128. DOI: 10.1081/clt-100100926.
- 6 SCHMIDT D M, NEALE J, OLSON K R. Clinical course of a fatal ingestion of diquat [J]. J Toxicol Clin Toxicol, 1999, 37 (7): 881-884. DOI: 10.1081/clt-100102471.
- 7 HANTSON P, WALLEMACQ P, MAHIEU P. A case of fatal diquat poisoning: toxicokinetic data and autopsy findings [J]. J Toxicol Clin Toxicol, 2000, 38 (2): 149-152. DOI: 10.1081/clt-100100930.
- 8 JOVIĆ-STOSIĆ J, BABIĆ G, TODOROVIĆ V. Fatal diquat intoxication [J]. Vojnosanit Pregl, 2009, 66 (6): 477-481. DOI: 10.2298/vsp0906477j.
- 9 毕红英, 付建宇, 唐艳, 等. 集成血液净化治疗百草枯中毒肝衰竭患者的临床体会 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24 (6): 660-662. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.06.024.
- 10 程友林, 冯恩民, 刘光增, 等. “水化疗法”治疗重度急性百草枯中毒 [J]. 中华危重病急救医学, 2020, 32 (7): 846-849. DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200506-00362.
- 11 袁丽玲, 麦子健, 杨志前, 等. 急性敌草快中毒 6 例临床分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2019, 37 (6): 468-470. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9391.2019.06.017.
- 12 刘露, 吴霜, 蔡舒, 等. 急性敌草快中毒的胸部 CT 表现 [J]. 现代预防医学, 2018, 45 (16): 3048-3051, 3068.
- 13 苗娜, 张占英, 刘纪松. 高效液相色谱-串联质谱法测定人血清中万古霉素的浓度 [J]. 实用检验医师杂志, 2019, 11 (4): 231-233. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2019.04.012.
- 14 张丽娟, 闫峻峰, 陈璐, 等. 同时测定百草枯和敌草快血浆浓度的高效液相色谱方法的建立 [J]. 药物不良反应杂志, 2018, 20 (2): 103-109. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-5734.2018.02.005.
- 15 王佳嫒, 郑书发, 陈瑜. 人血浆百草枯高效液相色谱-串联质谱法的建立与评价 [J]. 临床检验杂志, 2019, 37 (3): 177-182. DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2019.03.04.
- 16 赵旭明, 刘励军, 季兵, 等. 连二亚硫酸钠在敌草快中毒床旁快速检测中的应用 [J]. 中国急救医学, 2020, 40 (3): 260-262. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2020.03.016.

(收稿日期: 2020-10-16)

(本文编辑: 邵文)