

文章编号: 1004-4353(2014)03-0273-04

长白山地区高山红景天中红景天苷 含量及农药残留的测定

丁雪¹, 刘贺¹, 敖宇涛¹, 王冬雪¹, 郭建鹏^{1,2*}

(1. 延边大学药学院, 吉林 延吉 133002;

2. 长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室(延边大学), 吉林 延吉 133002)

摘要: 为了解长白山地区高山红景天药材的质量, 对产自长白山地区不同年限的人工栽培和野生高山红景天中的红景天苷含量和农药残留量进行了测定. 在检测波长为 275 nm、色谱柱为 PLATISTLTM C18 柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μ m)、流动相为甲醇-乙酸铵溶液、线性度(r)高于 0.999 8、平均回收率为 96.62%、相对标准偏差为 1.32% 的条件下, 采用高效液相色谱法测定了红景天苷的含量; 在色谱柱为 HP-5 毛细管气相色谱柱 (0.32 mm×30 m×0.25 μ m)、进样口温度为 250 $^{\circ}$ C、Ni63 电子捕获检测器温度为 300 $^{\circ}$ C、尾吹 15 mL/min、柱温以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 220 $^{\circ}$ C 并保持 20 min 条件下, 采用气相色谱法测定了农药残留. 结果表明, 不同年限人工栽培品的红景天苷含量有差异, 且含量均低于野生品, 样品中均无六六六、滴滴涕农药残留.

关键词: 高山红景天; 红景天苷; 农药残留; 高效液相色谱法; 气相色谱法

中图分类号: R927.2

文献标识码: A

Determination of the content of salidroside and pesticide residues of *Rhodiola Sachalinensis* in Changbai Mountains

DING Xue¹, LIU He¹, AO Yutao¹, WANG Dongxue¹, GUO Jianpeng^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China;

2. Key Laboratory of Natural Resources of Changbai Mountain & Functional Molecules
(Yanbian University), Ministry of Education, Yanji 133002, China)

Abstract: To comprehend the quality of *Rhodiola sachalinensis* the content of salidroside and pesticide residues of artificial cultivated and wild *Rhodiola sachalinensis* in Changbai Mountains were measured. High performance liquid chromatography (HPLC) method was established for determination of salidroside content. The detection wavelength was 275 nm. The column PLATISTLTM C18 column (250 mm×4.6 mm, 5 μ m) and mobile phase (methanol; ammonium acetate) were used. The coefficient of correlation (r) exceed 0.999 8, the average recovery and the relative standard deviation were 96.62% and 1.32%, respectively. The amount of pesticide residues was determined by Gas Chromatography (GC). The HP-5 capillary column (0.32 mm×30 m×0.25 μ m) was chosen. The inlet temperature and Ni63 electron capture detector temperature were 250 $^{\circ}$ C and 300 $^{\circ}$ C respectively. The tail blowing was 15 mL/min and the column temperature was raised to 220 $^{\circ}$ C by 10 $^{\circ}$ C/min, then maintained for 20 min. The results showed the salidroside content of artificial cultivated *Rhodiola sachalinensis* in different growing years were distinction, which were lower than that of wild *Rhodiola sachalinensis*. The BHC and DDT pesticide residues not detected in the samples.

Key words: *Rhodiola sachalinensis*; salidroside; pesticide residues; high performance liquid chromatography; gas chromatography

高山红景天(*Rhodiola sachalinensis* A. Bor)是景天科(*Crassulaceae*)红景天属的多年生草本植物,主要分布于长白山地区,是长白山珍稀特色药材之一.高山红景天用作“适应原”样药材,具有抗缺氧、抗衰老、抗肿瘤、抗疲劳、预防高原反应、降血糖等多种功能^[1-3].目前,高山红景天的人工栽培品种尚未形成规模,仅在吉林省临江、敦化、和龙等地的山区有少量栽培,较大的栽培基地正在建设当中,位于吉林省安图县高海拔林下山地.本文采用高效液相色谱法和气相色谱法,对产自长白山地区 3~6 年生的人工栽培高山红景天和 4 年生野生高山红景天中红景天苷含量和农药残留量进行测定,为了解高山红景天药材质量信息以及制定药材标准提供参考.

1 仪器与试剂

仪器有 Agilent 1260 Infinity LC, Agilent 6890 气相色谱仪,配 Ni63 电子捕获检测器(ECD)和 SK5200HP 超声波清洗器;FW100 高速万能粉碎机.红景天苷对照品(中国药品生物制品检验所,批号为 10818-200404),六六六(α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC、 δ -BHC)、滴滴涕(ρ 、 ρ' -DDE、 o 、 ρ' -DDT、 ρ 、 ρ' -DDD 和 ρ 、 ρ' -DDT)标准溶液浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$ (中国国家标准物质研究中心,批号分别为 GBW-060081、GBW060082、GBW060083、GBW060084、GSB05-2280-2008、GSB05-2281-2008、GSB05-2282-2008、GSB05-2283-2008),甲醇、丙酮、正己烷为色谱纯,其余试剂均为分析纯.

①长白山朝鲜一侧 4 年生野生高山红景天;
②长白山安图一侧 4 年生野生高山红景天;③ 6 年生人工栽培高山红景天;④ 5 年生人工栽培高山红景天;⑤ 4 年生人工栽培高山红景天;⑥ 3 年生人工栽培高山红景天.以上红景天均经延边大学药学院吕慧子副教授鉴定.

2 红景天苷含量的测定

2.1 溶液的制备^[4-5]

2.1.1 对照品溶液 取红景天苷对照品,精密称定,加甲醇制成 0.5 mg/mL 溶液.

2.1.2 供试品溶液的制备 精密称取粉末(过

3 号筛)0.5 g,置具塞锥形瓶中,加入甲醇 10 mL,超声提取 30 min;提取液置 10 mL 容量瓶中定容,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,滤液作为供试品溶液.

2.2 色谱条件^[6]

柱温为 25 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱为 PLATISTLTM C18 柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.01 mol/L 乙酸铵溶液(20 : 80, 体积比);检测波长为 275 nm,流速为 1.0 mL/min,进样量为 5 μL ;以外标法定量.对照品及供试品溶液的色谱图如图 1 所示.

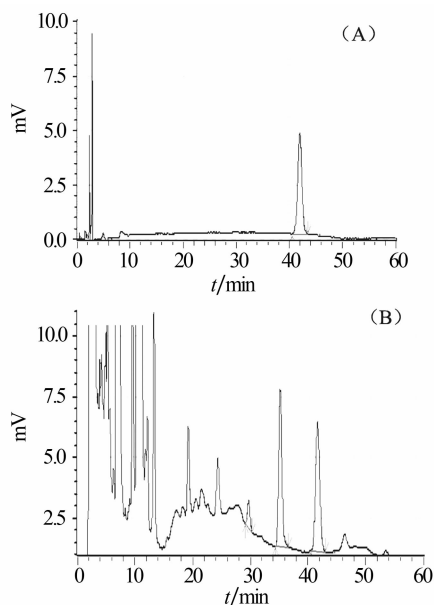


图 1 对照品(A)和供试品(B)溶液的色谱图

2.3 线性关系

将对照品溶液稀释制成系列浓度的标准溶液,以浓度(mg/mL)为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),线性拟合后得到回归方程 $Y = 303.179X - 43\,875$, $r = 0.999\,8$.

2.4 精密度

取对照品溶液并按 2.2 的色谱条件重复进样以测定红景天苷峰面积值,结果显示红景天苷峰面积的 RSD 值为 1.19% ($n = 6$),这表明仪器精密密度良好.

2.5 重复性

取同一供试品溶液,按色谱条件 2.2 测定,结果显示红景天苷的 RSD 值为 1.03% ($n = 6$),这表明该方法的重复性良好.

2.6 稳定性

分别以 0,2,4,8,12,24 h 按色谱条件 2.2 测定供试品溶液,结果显示红景天苷峰面积的 RSD 值为1.37%($n=6$),这表明供试品溶液在 24 h 内稳定.

2.7 回收率

精密称取已知红景天苷含量的样品(1.414 mg/g),定量加入红景天苷对照品,按 2.1.2 中方法制备供试品溶液,按色谱条件 2.2 测定,结果显示平均加样回收率为 96.62%,RSD 值为 1.32%.

2.8 样品测定

将各样品按 2.1.2 中方法制成供试品溶液,按 2.2 的色谱条件测定红景天苷含量,结果见表 1.

表 1 红景天药材中红景天苷含量的测定结果

样品 编号	红景天苷含量/%			平均值/%
	1	2	3	
样品 1	0.862	0.861	0.857	0.860
样品 2	0.652	0.661	0.658	0.657
样品 3	0.344	0.338	0.338	0.340
样品 4	0.246	0.246	0.248	0.247
样品 5	0.227	0.225	0.223	0.228
样品 6	0.265	0.272	0.273	0.270

3 六六六、滴滴涕残留量的测定

3.1 供试品的制备^[7-8]

精密称取粉碎后过 5 号筛的红景天粉末 2.000 0 g,加石油醚 20 mL,振荡 30 min,过滤,浓缩,转移至 10 mL 刻度的试管中,并用石油醚定容至 5 mL.加入 0.5 mL 浓硫酸,漩涡混旋器混旋 0.5 min,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液.

3.2 色谱条件^[9]

毛细管色谱柱为 HP-5(0.32 mm×30 m×

0.25 μm);载气为氮气,流速为 1 mL/min;不分流进样;进样口温度为 250 ℃;检测器温度为 300 ℃;采用程序升温,初始温度为 100 ℃,以 10 ℃/min 升温至 220 ℃,保持 20 min;进样量为 2 μL.以保留时间定性,峰面积外标法定量.

3.3 线性与检出限^[10]

根据 3.2 所列仪器测试条件对六六六(α -HCH, β -HCH, γ -HCH, δ -HCH)和滴滴涕(ρ , ρ' -DDD, ρ , ρ' -DDE、o, ρ' -DDT、 ρ , ρ' -DDT)标准样品进行检测,经分离的 8 种有机氯农药的色谱图见图 2.配制浓度为 5.0、10.0、20.0、50.0、100.0 μg/L 的系列标准溶液,气相色谱分析结果以峰面积对标准浓度进行线性回归.称取已知不含六六六、滴滴涕的红景天供试样品,加入各不同浓度的对照品溶液,以信噪比为 3 的色谱峰作为检测限量,以样品提取方法中的取样量和定容体积计算本方法的检出限.8 种有机氯农药线性回归方程、相关系数及方法检出限的测定结果见表 2.表 2 表明,在 5.0~100.0 μg/L 质量浓度范围内,该方法的线性关系良好,线性相关系数均大于 0.99,8 种农药的最低检出限为 0.6~1.2 μg/L.

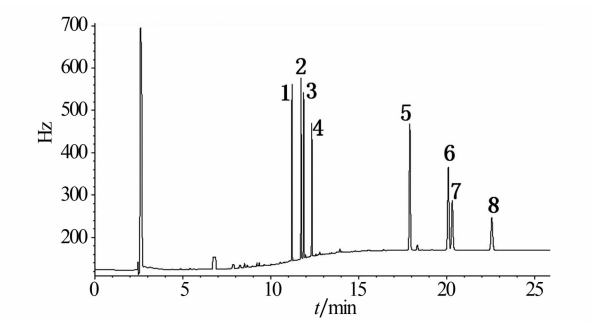


图 2 对照品色谱图

1. α -HCH; 2. β -HCH; 3. γ -HCH; 4. δ -HCH; 5. ρ , ρ' -DDE; 6. ρ , ρ' -DDD; 7. o, ρ' -DDT; 8. ρ , ρ' -DDT

表 2 方法学考察结果

对照品	标准曲线	相关系数	线性范围 /(μg/L)	精密度 RSD /%	检出限 /(μg/L)	回收率/%
α -666	$y=1\,763.5x-194.21$	0.990 4	1~50	1.3	0.6	95.2
β -666	$y=1\,461.7x-70.59$	0.998 3	2~100	2.3	1.2	98.4
γ -666	$y=1\,595.9x-161.97$	0.991 5	1~50	3.4	0.6	92.8
δ -666	$y=965.12x-59.152$	0.991 7	1~25	0.9	0.6	93.7
ρ , ρ' -DDE	$y=9\,104x-709.28$	0.994 7	2~100	3.2	1.2	87.5
ρ , ρ' -DDD	$y=2\,893.6x-161.95$	0.993 3	2~50	2.0	1.2	90.2
o, ρ' -DDT	$y=9\,333.1x-815.7$	0.995 1	2~100	2.1	1.2	102.3
ρ , ρ' -DDT	$y=17\,708x-1\,927.6$	0.992 6	2~100	1.8	1.2	91.3

3.4 回收率和精密度

对同一红景天样品,按照 3.2 方法连续测定加标回收率 5 次,计算其平均回收率和相对标准偏差,结果见表 2.表 2 表明,8 种有机氯农药的加标回收率为 87.5%~102.3%,相对标准偏差(RSD)为 0.9%~3.4%,表明试验方法具有较好的准确度和精确度.

3.5 含量测定

按 3.2 法对 7 种红景天样品进行含量测定,测定结果中均未检测到六六六、滴滴涕农药残留.

4 结论

本文采用高效液相色谱法和气相色谱法,对产自长白山地区 3~6 年生的人工栽培高山红景天和 4 年生野生高山红景天中红景天苷含量和农药残留量进行了测定,实验结果显示,不同产地及年限的高山红景天中红景天苷含量有差异,其中野生品种含量最高,人工栽培品种含量低于野生品种,这与文献[11]的结果相符合.在各样品中均未检出农残六六六和滴滴涕,表明长白山地区高山红景天生药材尚无严重农药污染.

参考文献:

[1] 李金花,于文斌,赵丽茹,等.红景天灵芝胶囊增强

免疫力及抗辐射功能研究[J].长春中医药大学学报,2010,26(6):817-818.

[2] 赵永焕,刘成海,武廷华.红景天的研究与应用[J].中国林副特产,1998,46(3):44-45.

[3] 王洁,杨长青,金贞姬,等.高山红景天总多酚对高脂食物-链脲佐菌素诱导大鼠 2 型糖尿病的影响[J].中国药房,2011,22(23):2125-2127.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:化学工业出版社,2010:附录 IX Q.

[5] 王曙,游心涛,王峰鹏.红景天属植物中红景天甙的高效液相色谱分析[J].药科学报,1992,27(11):849-852.

[6] 国家食药监总局.保健食品中红景天苷的测定等 15 个保健食品功效成分或标志性成分检测方法(征求意见稿)[D].食药监食监三便函〔2013〕143 号. <http://www.sda.gov.cn/wsol/cl0780/94680.html>.

[7] 邵超,齐永安,庞玉娟,等.固相微萃取-气相色谱法测定水中痕量有机氯农药[J].环境监测管理与技术,2007,19(5):26-29.

[8] 汪小勇,姜文,张超兰.气相色谱法测定土壤中六六六残留量[J].中国环境管理干部学院学报,2007,17(3):40-43.

[9] 赵华,胡秀卿,吴珉,等.基质固相分散-加速溶剂萃取-气相色谱法测定土壤中六六六和滴滴涕农药残留[J].浙江农业科学,2008(3):339-341.

[10] 缪霞杭,吴晓云.不同产地白术中六六六和滴滴涕残留的测定[J].浙江中西医结合杂志,2013,23(11):950-951.

[11] 王思宏,金香淑,姚艳红,等.野生和栽培高山红景天的核磁共振指纹图谱的研究[J].延边大学学报:自然科学版,2001,27(4):274-276.