



气相色谱法测定“生脉饮”及其方剂中 11种残留农药的研究

梁晨¹, 刘雅茹^{1*}, 赵春杰², 郝丽英¹, 刘书源¹

(1. 中国医科大学药学院, 辽宁 沈阳 110001; 2. 沈阳药科大学药学院, 辽宁 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 测定“生脉饮”及其方剂中农药残留量。方法: 采用气相色谱法, OV-1701 弹性石英毛细管柱色谱柱(0.32 mm × 30 m, 0.5 μm), Agilent⁶³Ni 电子捕获检测器, 高纯氮气载气, 流速 60 mL · min⁻¹, 进样口温度 260 °C, 检测器温度 300 °C, 进样方式为不分流进样。结果: 11 种残留农药在测定质量浓度范围内与色谱峰面积线性关系良好, 相关系数不低于 0.996 2, 平均回收率为 83.1% ~ 114.7%。结论: 该方法简单、快速, 为生脉饮的安全使用和农药残留监测提供了一种有效分析方法。

[关键词] 气相色谱法; 生脉饮; 农药残留量

“生脉饮”源自古代经典名方“生脉散”, 首载于张元素所著《医学起源》。由人参、麦冬、五味子 3 药组成。人参甘温不燥, 具有补益肺气、补气生津的作用为君药; 麦冬甘寒生津, 润肺养阴, 与人参相协气阴双补, 相得益彰为臣药; 五味子酸湿收敛, 益气生津, 敛阴止汗, 既可固气津之外泄, 又能复气阴之损耗, 与人参、麦冬相辅相成为佐药。3 药皆入肺经, 一补一润一敛, 既可补气阴之虚, 又可敛气之散, 具有益气复脉、养阴生津、敛肺止汗的功效, 临床应用极为广泛。对“生脉饮”的研究多是药理及有效成分方面, 对其农药残留量的研究目前还没有^[1-2]。有关农药残留量在《中国药典》2010 年版(一部) 规定了有机氯类农药残留量的测定方法^[3], 包括六氯环己烷(六六六, BHC), 双对氯苯基三氯乙烷(DDT)和五氯硝基苯(PCNB)。本实验采用药典规定的气相色谱法测定“生脉饮”及其成方制剂中 *O*, *O*-二甲基-*O*-(2, 2-二氯乙烯基)磷酸酯(敌敌畏, DDVP), α -BHC, β -BHC, pp'-DDE, pp'-DDD, 五氯硝基苯、氯吡硫磷、甲基对硫磷、对硫磷、甲氰菊酯、氯菊酯 11 种农药的残留, 建立“生脉饮”中监测农药残留的方法, 为“生脉饮”的安全使用和监测提供基

础和依据。

1 材料

Agilent 6890 气相色谱仪, Agilent⁶³Ni 电子捕获检测器(美国安捷伦公司); OV-1701 弹性石英毛细管柱(0.32 mm × 30 m, 0.5 μm)(大连中汇达公司); TG332A 型微量分析天平(上海天平仪器厂); 氮气吹扫仪(杭州蓝焰科技有限公司)。

O, *O*-二甲基-*O*-(2, 2-二氯乙烯基)磷酸酯、 α -BHC, β -BHC 2 种同系物(纯度 > 99%), pp'-DDE, pp'-DDD 2 种同系物(纯度 > 98%)、五氯硝基苯(quintozene)、氯吡硫磷(chlorpyrifos)、甲基对硫磷(parathion-methyl)、对硫磷(parathion)、甲氰菊酯(fenprothrin)(纯度 > 99%)、氯菊酯(permethrin)(纯度 > 99%)均购自国家农药标准品中心。2, 4-二硝基氯苯(CDNB)中国公私合营开明化学厂生产。

生脉胶囊(广东环球制药有限公司, 批号 070601, 081204), 生脉饮口服液(湖北纽兰药业, 批号 080701), 生脉颗粒党参方(湖北美宝药业有限公司, 批号 080401), 生脉注射液(山西太行药业, 批号 070701, 080703), 生脉饮(自制, 批号 091004), 党参方生脉饮(自制, 批号 091004)。

2 方法与结果

2.1 对照品储备液的制备

精密称取 DDVP, α -BHC, β -BHC, pp'-DDE, pp'-DDD, 五氯硝基苯、氯吡硫磷、甲基对硫磷、对硫磷、甲氰菊酯、氯菊酯、2, 4-二硝基氯苯各 2.5 mg, 分置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷溶解, 定容, 摇匀, 于 4 °C

[稿件编号] 20100906010

[基金项目] 辽宁省自然科学基金项目(20102295)

[通信作者] * 刘雅茹, 教授, 硕士生导师, 主要从事药物中间体的合成及含量测定研究, E-mail: free1962514@yahoo.com.cn

[作者简介] 梁晨, 硕士研究生, 主要从事中药质量分析研究

保存备用。

2.2 混合对照品储备液的制备

分别精密吸取 DDVP, α -BHC, β -BHC, pp'-DDE, pp'-DDD, 五氯硝基苯、氯吡硫磷、甲基对硫磷、对硫磷、甲氰菊酯、氯菊酯适量置于 50 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 制成每 1 mL 含 DDVP 1.26 μ g, α -BHC 2.08 μ g, β -BHC 0.64 μ g, pp'-DDE 0.46 μ g, pp'-DDD 1.15 μ g, 五氯硝基苯 0.59 μ g, 氯吡硫磷 1.34 μ g, 甲基对硫磷 0.5 μ g, 对硫磷 10.14 μ g, 甲氰菊酯 28.98 μ g, 氯菊酯 2.38 μ g 的混合对照品贮备液。

2.3 供试品溶液制备

2.3.1 样品提取

颗粒剂样品(颗粒剂样品适量, 混匀, 取 4 g, 精密称定)、胶囊剂样品(胶囊剂样品适量, 混匀, 取 4 g, 精密称定)、注射液样品(注射液样品适量, 混匀, 精密量取 4 mL)、生脉饮样品(人参或党参 1 g, 麦冬 2 g, 五味子 1 g, 于 250 mL 圆底烧瓶中浸泡 10 min, 煎煮 50 min, 抽滤, 离心得上清液, 药渣重复操作 1 次, 煎煮 40 min, 合并清上液, 混匀, 精密量取 4 mL) 置 50 mL 锥形瓶中, 加丙酮-水 (7:3) 混合溶液 40 mL, 摇匀, 超声 15 min, 抽滤, 重复操作 1 次, 合并滤液转入 250 mL 分液漏斗中, 加 20 mL 5% NaCl 溶液, 用正己烷萃取 2 次, 每次 60 mL, 合并萃取液, 于 50 ~ 60 $^{\circ}$ C 水浴上旋转蒸发至约 2 mL, 备用。

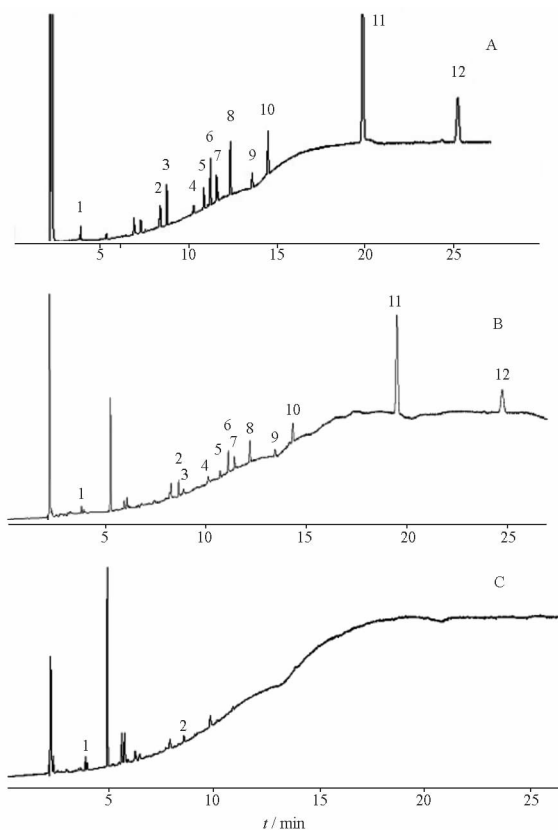
2.3.2 样品净化

将上述旋转蒸发至约 2 mL 萃取液转移到通过 20 mL 正己烷预淋洗的色谱柱(色谱柱由下至上为少许玻璃棉、2 g 无水硫酸钠、5 g 弗罗里硅土、2 g 氧化铝、2 g 无水硫酸钠), 用 35 mL 丙酮-正己烷 (1:4) 溶液进行洗脱, 洗脱液收集于 250 mL 磨口烧瓶中, 旋转蒸发至干, 用正己烷超声溶解并转移至 2 mL 量瓶, 加入内标溶液, 使质量浓度为 1.17 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 氮气吹至刻度, 供气相色谱分析。

2.4 色谱条件

OV-1701 弹性石英毛细管柱 (0.32 mm \times 30 m, 0.5 μ m); 进样口温度 260 $^{\circ}$ C, 检测器温度 300 $^{\circ}$ C, 程序升温: 初始温度 180 $^{\circ}$ C, 以 7 $^{\circ}$ C \cdot min $^{-1}$ 升至 260 $^{\circ}$ C 保持 2 min; 以 15 $^{\circ}$ C \cdot min $^{-1}$ 升至 270 $^{\circ}$ C, 保持 13 min。载气高纯氮, 99.999%; 流速 60 mL \cdot min $^{-1}$; 进样量 1 μ L。色谱图见图 1。

2.5 标准曲线



1. DDVP; 2. α -BHC; 3. 五氯硝基苯; 4. 2,4-二硝基氯苯 (IS); 5. β -BHC; 6. 氯吡硫磷; 7. 甲基对硫磷; 8. 对硫磷; 9. pp'-DDE; 10. pp'-DDD; 11. 甲氰菊酯; 12. 氯菊酯。

图 1 农药对照品(A)、生脉颗粒加对照品(B)、生脉颗粒(C)的气相色谱图

精密吸取上述混合对照品贮备液 0.08, 0.15, 0.31, 0.62, 1.2, 2.5, 5.0 mL 分别置 10 mL 量瓶中, 用正己烷稀释至刻度, 依次加入等体积的 2,4-二硝基氯苯溶液使各溶液中质量浓度均为 1.17 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 常温下氮气流吹干至刻度。按上述色谱条件, 分别精密吸取上述 7 份标准溶液各 1 μ L, 进样, 每份进样 5 次, 以样品峰面积与内标 2,4-二硝基氯苯峰面积的比值为纵坐标, 样品浓度为横坐标, 计算其回归方程, 见表 1。

2.6 精密度试验

精密吸取同一浓度对照品溶液 1 μ L, 重复进样 5 次, 按上述色谱条件下操作得 DDVP, α -BHC, β -BHC, pp'-DDE, pp'-DDD, 五氯硝基苯、氯吡硫磷、甲基对硫磷、对硫磷、甲氰菊酯、氯菊酯的 RSD 分别为 2.9%, 1.2%, 2.2%, 2.2%, 2.0%, 2.2%, 2.8%, 1.9%, 2.1%, 3.3%, 2.0%。



表1 11种农药的回归曲线和相关系数(n=5)

农药	线性方程	r	线性范围 /μg·L ⁻¹
DDVP	Y=7.100X-0.023 8	0.999 3	9.9~633
α-BHC	Y=7.965X-0.100 3	0.998 7	16.3~1 040
五氯硝基苯	Y=48.72X-0.108	0.998 6	4.68~299
β-BHC	Y=24.56X-0.03	0.999 7	5.1~326.4
氯吡硫磷	Y=26.78X-0.051 1	0.999 4	10.5~672
甲基对硫磷	Y=39.68X+0.069	0.997 0	4.02~257.2
对硫磷	Y=4.084X+0.035 4	0.999 9	79.28~5 074
pp'-DDE	Y=32.66X+0.132 4	0.996 2	3.675~235.2
pp'-DDD	Y=37.48X-0.331	0.998 6	9.03~577.9
甲氰菊酯	Y=9.054X-0.203 2	0.997 9	226.4~14 490
氯菊酯	Y=42.35X+0.137	0.998 7	18.69~1 196.2

2.7 重复性试验

准确称取生脉颗粒5份,加入标准曲线第5个质量浓度的农药混合对照品溶液1 mL,放置12 h,按样品制备方法制备样品,按上述色谱条件测定,DDVP,α-BHC,β-BHC,pp'-DDE,pp'-DDD,五氯硝基苯、氯吡硫磷、甲基对硫磷、对硫磷、甲氰菊酯、氯菊酯的RSD分别为9.6%,6.0%,9.0%,4.9%,7.0%,7.7%,7.7%,9.9%,5.4%,8.7%,6.9%。

2.8 回收率试验

精密称取同一批生脉颗粒党参方样品9份,分高、中、低3个水平分别添加标准曲线第3,5,7质量浓度的混合标准品溶液,每水平重复3次,混匀。按样品制备方法项下操作,按上述色谱条件方法测定,并计算11种农药回收率,见表2。

表2 生脉颗粒在不同质量浓度中11种农药的回收率(n=3)

农药	低		中		高		%
	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	平均回收率	RSD	
DDVP	99.8	1.3	86.4	4.1	83.8	2.1	
α-BHC	87.2	7.0	104	6.2	111	7.8	
五氯硝基苯	84.3	6.6	88.8	7.7	83.1	4.3	
β-BHC	93.6	3.7	84.9	4.2	83.1	2.6	
氯吡硫磷	85.1	3.3	97.9	7.6	84.8	3.2	
甲基对硫磷	89.4	8.9	93.7	9.1	92.3	3.9	
对硫磷	83.5	2.7	95.7	5.1	90.2	7.8	
pp'-DDE	95.4	8.0	115	3.5	89.4	7.0	
pp'-DDD	89.4	8.8	85.7	5.7	83.6	4.6	
甲氰菊酯	91.5	7.5	103	7.9	113	6.1	
氯菊酯	89.4	7.7	89.0	8.6	102	7.5	

结果表明,样品加样回收率在83.1%~114.7%,生脉饮及其成方制剂通过该方法测定回收率良好。

2.8 样品的测定

按样品制备方法项下制备样品,按上述色谱条件方法测定,每份样品重复2次,每次进样1 μL,用40 μg·L⁻¹混合标准溶液作随行标准,用内标法定量,见表3。

3 讨论

样品测定结果显示,3个样品中检出有机氯、有机磷农药,拟除虫菊酯类农药未检出。因为有机氯农药的化学结构稳定,半衰期长,虽然在我国禁用已有数10年,但在药品中仍可检出。有机磷农药均是磷酸酯类化合物,因其化学结构中多酯键不稳定,半衰期短,远不如有机氯农药在生物体内残留严重,而

替代了有机氯农药。在中国现行农药使用标准中,将欧洲药典明确规定限量标准的农药如敌敌畏、毒死蜱等有机磷农药列入可使用的农药种类,如果使用不当就可造成农药残留。拟除虫菊酯类农药作为有机氯农药的替代品广泛应用,属于高效农药,特点是用药量小,仅为有机磷农药剂量的10%~20%,且降解较快。在中药材中的残留量低,属于痕量范畴。在《中国药典》2010年版(一部)规定甘草和黄芪限量为总BHC≤0.2 mg·kg⁻¹,总DDT≤0.2 mg·kg⁻¹,PC-NB≤0.1 mg·kg⁻¹。欧洲药典第6版中对药物中农药残留的限量要求是DDVP≤1.0 mg·kg⁻¹,α-BHC≤0.3 mg·kg⁻¹,五氯硝基苯≤1.0 mg·kg⁻¹,氯吡硫磷≤0.2 mg·kg⁻¹。虽然3个样品中检出有机氯农药、有机磷农药,但均低于限量标准。

从检出样品的剂型来看,胶囊剂、颗粒剂2种



表3 8个样品中的农药测得值

mg · L⁻¹

农药	样品批号							
	070601	081204	080701	080401	070701	080703	091004	091004
DDVP	0.034 53	0.010 568	ND	0.000 838	ND	ND	ND	ND
α-BHC	ND	ND	ND	0.003 134	ND	ND	ND	ND
五氯硝基苯	0.163 6	0.0111 1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
β-BHC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氯吡硫磷	0.002 898	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
甲基对硫磷	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
对硫磷	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
pp'-DDE	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
pp'-DDD	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
甲氰菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
氯菊酯	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

注:ND. 低于检测限。

固体剂型均检出农药,而注射剂、口服液、煎煮液3种液体制剂中均未检出农药残留,这可能跟选取的入药药材和药品的制备工艺以及农药在醇中溶解度和稳定性等因素有关。药材方面有2个原因:一个是管理不规范的药材的种植过程中超标使用农药,造成农药残留,另外一个原因是在已经被农药污染的土地上种植药材,致使农药在植物体内蓄积,如果处理不当,农药就会在制剂中残留。因为“生脉饮”的胶囊剂和颗粒剂的制备工艺是用醇提取后,经过

浓缩后制成胶囊剂和颗粒剂,醇提取时就会导致农药残留。

[参考文献]

- [1] 郝丽丽,薛健. 有机氯农药的多残留分析及其在中草药中的应用[J]. 中国中药杂志,2005, 30(6): 405.
- [2] 万益群,鄢埃平,谢明勇. 中草药中有机氯农药和拟除虫菊酯农药残留量的测定[J]. 分析化学研究报告,2005, 33(5): 614.
- [3] 中国药典,一部[S]. 2010: 80, 284,附录 IXQ 57.

Multi-residue determination of 11 pesticides in Shengmaiyin prescription by gas chromatography

LIANG Chen¹, LIU Yaru^{1*}, ZHAO Chunjie², HAO Liying¹, LIU Shuyuan¹

(1. School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110001, China;

2. School of Pharmacy, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the pesticide residues in Shengmaiyin. **Method:** The residues were simultaneously identified and quantified by capillary gas chromatography. The capillary column was OV-1701(0.32 mm × 30 m, 0.5 μm), splitless injection and Agilent ⁶³Ni electron capture detector ECD were adopted. The carrier gas were high-pure nitrogen, the flow rate were 60 mL · min⁻¹, the injector temperature was 260 °C, and the detector temperature was 300 °C. **Result:** It showed a good linear relationship between peak area and pesticide concentration for 11 kinds of pesticides in the detection concentration range. All correlation coefficients were higher than 0.996 2. The average recovery was 83.1% -114.7%. **Conclusion:** A simple and efficient monitoring method of pesticide residues is established which provides the foundation for the safe use and analysis of Shengmaiyin.

[Key words] capillary gas chromatography; Shengmaiyin; pesticide residue

doi:10.4268/cjcm20110810

[责任编辑 马超一]