

川芎提取物中大孔树脂残留物的顶空进样法分析

武亚晓¹, 李希^{1,2*}, 冯建安², 黄嫣², 李远辉¹, 王欢¹

(1. 成都中医药大学, 成都 610072; 2. 四川省中医药科学院 中医研究所, 成都 610031)

[摘要] 目的:建立川芎提取物中HPD-300型大孔吸附树脂残留物的测定方法,为大孔树脂的推广提供参考。方法:选择二甲基亚砜溶解川芎提取物,采用顶空进样方式,运用毛细管气相色谱法测定大孔树脂中有机溶剂的残留量,柱温为程序升温(起始温度50℃,保持10min;以5℃·min⁻¹的速率升至70℃,保持16min;以5℃·min⁻¹的速率升至120℃,保持10min),进样口温度220℃,分流比10:1,压力58.799kPa,总流量10.772mL·min⁻¹,H₂流量40mL·min⁻¹,空气流量300mL·min⁻¹,尾吹(N₂)流量30mL·min⁻¹,载气(N₂)流量20mL·min⁻¹。顶空条件为样品温度80℃,阀箱温度100℃,管路温度110℃,平衡时间30min,进样间隔55min,进样量1mL。结果:7种有机溶剂残留物的峰面积与质量浓度呈良好线性关系,相关系数均>0.999,正己烷、环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯及二乙烯苯的平均回收率分别为99.2%,97.3%,103.4%,98.7%,97.0%,101.9%,98.5%。结论:该方法适用于HPD-300型大孔吸附树脂残留物的测定。

[关键词] 大孔吸附树脂; 残留物; 顶空气相色谱法; 川芎提取物

[中图分类号] R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)01-0014-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015010014

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20141113.1504.008.html>

[网络出版时间] 2014-11-13 15:04

Analysis of Benzene Series Residues in Chuanxiong Rhizoma Extract by Headspace-GC WU Ya-xiao¹, LI Xi^{1,2,*}, FENG Jian-an², HUANG Yan², LI Yuan-hui¹, WANG Huan¹ (1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 610072, China; 2. Sichuan Academy of Chinese Medicine Sciences, Institute of TCM, Chengdu 610031, China)

[Abstract] **Objective:** Developing a method for detecting benzene series residues from HPD-300 macroporous resin for Chuanxiong Rhizoma extract, to provide a reference for promotion of macroporous resin. **Method:** Chuanxiong Rhizoma extract was dissolved by dimethyl sulfoxide, headspace sampling method was adopted, residues of organic solvent in macroporous resin was determined by capillary gas chromatography, column was temperature-programmed (initially heated at 50℃ for 10 min; rose to 70℃ with a speed of 5℃·min⁻¹, lasting for 16 min; then rose to 120℃ with a speed of 5℃·min⁻¹, lasting for 10 min), inlet temperature was 220℃, split ratio was 10:1, pressure was 58.799 kPa, total flow was 10.772 mL·min⁻¹, H₂ flow was 40 mL·min⁻¹, air flow was 300 mL·min⁻¹, make-up (N₂) flow was 30 mL·min⁻¹, carrier gas (N₂) flow was 20 mL·min⁻¹. Headspace conditions were: sample temperature at 80℃, manifold temperature at 100℃, pipe temperature at 110℃, balance time of 30 min, sampling interval of 55 min and sample quantity of 1 mL. **Result:** Linear relations between peak area and mass concentration of seven residues were good with $r > 0.999$, average recoveries of *n*-hexane, cyclohexane, benzene, toluene, xylene, styrene, divinyl-benzene were 99.2%, 97.3%, 103.4%, 98.7%, 97.0%, 101.9% and 98.5%, respectively. **Conclusion:** This method can be used for detecting benzene series residues in HPD-300 macroporous resin.

[Key words] macroporous adsorption resin; residues; headspace-GC; Chuanxiong Rhizoma extract

[收稿日期] 20140506(019)

[基金项目] 四川省科研院所科技成果转化项目(100101118)

[第一作者] 武亚晓,在读硕士,从事中药新药的新技术、新工艺及新剂型研究,Tel:18280405053,E-mail:1074824100@qq.com

[通讯作者] *李希,教授,从事中药新药的新技术、新工艺及新剂型研究,Tel:18030897734,E-mail:1836820767@qq.com

川芎为伞形科植物川芎 *Ligusticum chuanxiong* 的干燥根茎^[1],本品性温、味辛,含有挥发油、内酯、生物碱、酚等成分^[2-5],具有活血行气、祛风止痛等功能,常用于治疗月经不调、癥瘕腹痛、风湿痹痛等^[6]。大孔吸附树脂是一种不溶于酸、碱及各种有机溶剂的有机高分子聚合物,在中药和天然药物活性成分和有效部位的分离纯化中应用广泛,但大孔树脂生产和使用过程中使用的有机溶剂可能会残留在药物中^[7]。故为保证川芎提取物的安全性,拟对川芎提取物的大孔树脂残留物进行检测,制定合理的限量并列入质量标准。

在川芎提取物的制备工艺中使用了 HPD-300 型大孔吸附树脂。根据国家食品药品监督管理局药品注册管理对大孔树脂的要求^[8],对于在生产工艺中使用过大孔吸附树脂的制剂或原料,需对其可能带来的正己烷、苯、甲苯等进行检测,并对残留量加以控制。本实验通过建立毛细管柱气相色谱法,配以顶空进样方式,测定正己烷、环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯及二乙烯苯共 7 种溶剂的残留量,为大孔树脂残留溶剂的检测提供参考。

1 材料

7890A 型气相色谱仪(美国安捷伦公司,氢火焰离子检测器),DK-3001B 型半自动顶空进样器(北京中兴分析仪器研究所)。HPD-300 型大孔树脂(沧州宝恩吸附材料科技有限公司),川芎提取物(自制,批号 20131106,20131109,20131114),正己烷、苯、二甲苯(色谱纯,成都金山化学试剂有限公司),环己烷、甲苯、二乙烯苯(成都科龙化工试剂厂),苯乙烯(天津市福晨化学试剂厂),二甲基亚砜(天津市化学试剂一厂)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 ATTM-624 石英毛细管柱(0.32 mm×30 m,1.8 μm),柱温为程序升温(起始温度 50 ℃,保持 10 min;以 5 ℃·min⁻¹的速率升至 70 ℃,保持 16 min;以 5 ℃·min⁻¹的速率升至 120 ℃,保持 10 min),进样口温度 220 ℃,分流比 10:1,压力 58.799 kPa,总流量 10.772 mL·min⁻¹,检测器温度 220 ℃,H₂ 流量 40 mL·min⁻¹,空气流量 300 mL·min⁻¹,尾吹(N₂)流量 30 mL·min⁻¹,载气(N₂)流量 20 mL·min⁻¹。顶空条件为样品温度 80 ℃,阀箱温度 100 ℃,管路温度 110 ℃,平衡时间 30 min,进样间隔 55 min,进样量 1 mL。

2.2 溶液的制备

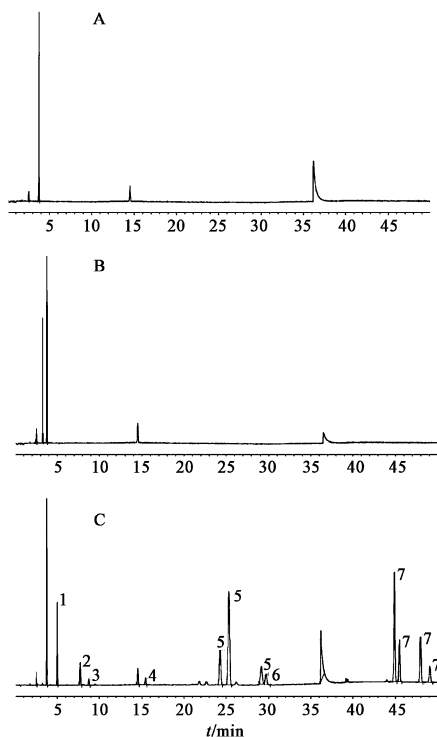
2.2.1 对照品溶液 分别精密吸取正己烷、环己

烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯 0.5,0.2,0.05,2,50,0.5,0.5 μL,混匀,加二甲基亚砜溶解定容于 25 mL 量瓶中,摇匀,密封,即得。

2.2.2 供试品溶液 精密称取川芎提取物 0.5 g,加二甲基亚砜溶解定容于 25 mL 量瓶中,摇匀,密封,即得。

2.3 方法学考察

2.3.1 专属性试验 分别精密吸取空白溶液(二甲基亚砜)、供试品溶液和对照品溶液各 2.0 mL,置于 20 mL 顶空进样瓶中,加盖,密封,按 2.1 项下色谱条件测定,结果见图 1。



A. 空白样品; B. 供试品; C. 对照品; 1. 正己烷; 2. 环己烷; 3. 苯; 4. 甲苯; 5. 二甲苯; 6. 苯乙烯; 7. 二乙烯苯

图 1 川芎提取物顶空 GC 分析

Fig. 1 Headspace-GC analysis of Chuanxiong Rhizoma extract

2.3.2 最低检测限 以 3 倍噪音峰高对应的含量为该方法最低检测限,将含有 7 种溶剂的混合对照品溶液逐步稀释,直到检测峰高约为基线噪音的 3 倍为止,计算各有机溶剂(正己烷、苯、环己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯)的最低检测限分别为 0.003 9,0.005 3,0.014 2,0.011 1,7.311 5,8.512 0,7.684 1 mg·L⁻¹。

2.3.3 线性关系考察 精密吸取 2.2.1 项下对照品溶液 0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 mL,分别加二甲基亚砜稀释至 10 mL 量瓶中,摇匀,密封,得系列对照品溶液,各精密量取 2 mL 置 20 mL 顶空进样瓶中,加

盖,密封,按 2.1 项下色谱条件测定,以质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,得回归方程。

表 1 川芎提取物中 HPD-300 型大孔树脂残留物线性关系考察
Table 1 Linear relationship investigation of benzene series residues from HPD-300 macroporous resin for Chuanxiong Rhizoma extract

有机溶剂	回归方程	r	线性范围/mg·L ⁻¹
正己烷	Y = 14.660X - 0.240	0.999 6	0.692 ~ 3.46
环己烷	Y = 11.190X + 0.070	0.999 3	0.312 ~ 1.56
苯	Y = 6.540X + 0.220	0.999 4	0.088 ~ 0.44
甲苯	Y = 7.970X + 0.970	0.999 8	3.480 ~ 17.40
二甲苯	Y = 33.286X + 8.674	0.999 1	88.00 ~ 440.00
苯乙烯	Y = 12.010X + 1.383	0.999 7	0.99 ~ 4.95
二乙烯苯	Y = 10.450X + 1.973	0.999 3	0.91 ~ 4.55

2.3.4 精密度试验 分别精密吸取 2.2.1 项下对照品溶液 2.0 mL 置 20 mL 顶空进样瓶中,加盖,密封,按 2.1 项下色谱条件重复进样 6 次,计算正己烷、苯、环己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯峰面积的 RSD 分别为 1.8%、2.1%、2.4%、2.2%、1.9%、2.3%、1.7%,表明仪器精密度良好。

2.3.5 稳定性试验 精密吸取 2.2.2 项下供试品溶液 2.0 mL 置 20 mL 顶空进样瓶中,共 6 份,加盖,密封,分别于放置 0,2,4,8,12,24 h 后按 2.1 项下色谱条件测定,计算正己烷、苯、环己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯峰面积的 RSD 分别为 3.7%、2.8%、3.1%、4.8%、2.4%、3.8%、4.7%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.6 加样回收率试验 精密称取已知残留物含量的川芎提取物 0.5 g,共 6 份,分别置于 20 mL 顶空进样瓶中,各精密加入对照品溶液(每 1 mL 含正己烷、环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯及二乙烯苯分别为 0.692,0.312,0.088,3.48,88.00,0.99,0.91 μg) 2 mL,振荡使溶解,按 2.1 项下色谱条件测定,计算平均回收率分别为 99.2%、97.3%、103.4%、98.7%、97.0%、101.9%、98.5%; RSD 分别为 2.7%、3.1%、4.6%、3.9%、4.0%、2.5%、1.9%。

2.3.7 样品测定 精密称取 3 批川芎提取物各 0.5 g,每批 3 份,分别置于 20 mL 顶空进样瓶中,各精密加入二甲基亚砜 2 mL,振荡使溶解,按 2.1 项下的色谱条件测定,结果 3 批样品均未检出正己烷、环己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯及二乙烯苯。

3 讨论

预试验以甲醇为提取溶剂,采用直接进样法,各成分能实现完全分离,但稳定性较差。尝试以水和

N,N-二甲基甲酰胺为提取溶剂,但正己烷、环己烷、苯、甲苯等在水中溶解性较差,N,N-二甲基甲酰胺溶剂峰与甲苯的色谱峰分离效果不好。在查阅相关文献基础上^[8-10],本文选取二甲基亚砜为提取溶剂,采用顶空进样方式,不仅能实现各成分间的完全分离,还提高了分析方法的准确度、精密度及稳定性。

二甲苯及二乙烯苯在本文的色谱条件下进样,分别出现 3,4 个色谱峰,故二甲苯及二乙烯苯的峰面积分别以其对应各峰的面积之和来计算,并以其含量最大组分的检测限作为二甲苯及二乙烯苯的检测限。

采用程序升温能实现将正己烷、环己烷、苯、及甲苯等 7 种有机残留物完全分离,且分离效果良好;采用顶空进样器进样测定,准确可靠、稳定性良好,适用于大孔树脂中残留有机溶剂的含量测定。采用 HPD-300 型大孔树脂分离纯化的川芎有效部位,在本文条件下未检出国家食品药品监督管理局限定的 7 种有机残留物,表明该川芎提取物安全、无毒,可放心食用。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:38.

[2] 李新莹,兰先秋,付超,等. 川芎中主要有效成分的综合提取分离工艺研究[J]. 中成药,2009,31(2):217-220.

[3] 刘金亮,范巧佳,郑顺林,等. HPLC 测定不同采收期川芎药材中 5 种药效成分的含量[J]. 中国中药杂志,2014,39(9):1650-1655.

[4] 汪洋,房存金,毕玉霞. 不同提取方法对川芎挥发油化学成分的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(14):6425-6426.

[5] 李辉,郑伟华,叶波,等. 川芎多糖分离提取的研究[J]. 广西轻工业,2008,24(6):7-9.

[6] 巢锋敬,郑显辉,马麟. 川芎挥发油的提取工艺研究[J]. 临床医学工程,2009,16(6):66-67.

[7] 樊敏伟,秦晶,何红伟,等. 顶空气相色谱法测定贯叶金丝桃提取物中大孔树脂有机溶剂残留物[J]. 中成药,2011,33(10):1748-1750.

[8] 王维,叶强. 顶空气相色谱法检测重楼提取物中大孔树脂残留物的量[J]. 海峡药学,2013,25(3):48-49.

[9] 陈帅,吴诗惠,肖建春,等. 川射干总黄酮中树脂残留物的顶空气相色谱法分析研究[J]. 四川中医,2010,28(3):31-33.

[10] 来国防,程宾,周兰,等. 顶空-GC 法检测灯盏花素中大孔树脂残留物的量[J]. 河南大学学报:医学版,2009,28(2):81-83.

[责任编辑 刘德文]