

顶空气相色谱法测定当药提取物中大孔树脂残留物

常增荣*, 傅欣彤, 刘颖
(北京市药品检验所, 北京 100035)

[摘要] 目的: 建立当药提取物中大孔树脂残留物的检测方法。方法: 采用顶空气相色谱法测定当药提取物中大孔树脂残留物(正己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙基苯及二乙烯苯)含量。结果: 7 种成分均获得较好的分离, 且呈良好线性关系(r 为 0.994 0~0.999 7), 平均回收率 93.4%~98.4%, 精密度 RSD 均 < 10%, 3 批样品中均未检测出 7 种树脂残留物。结论: 该方法简便快速、准确、重复性好, 可用于大孔树脂有机溶剂残留量的测定。

[关键词] 大孔树脂残留物; 当药提取物; 顶空气相色谱法; 标准加入法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)16-0153-03

[doi] 10.11653/syjf2013160153

Determination of Macroporous Resin Residues in Extract of *Swertia pseudochinensis* by Headspace Gas Chromatography

CHANG Zeng-rong*, FU Xin-tong, LIU Ying
(Beijing Institute For drug Control, Beijing 100035, China)

[收稿日期] 20130203(006)

[通讯作者] * 常增荣, 硕士, 主任药师, 从事中药质量控制研究, Tel: 010-83221414, E-mail: chzr100@sina.com

规定鹿角胶中铬元素 $\leq 2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 市售 11 批样品中有 6 批样品铬元素超过限量, 不合格率达 55%, 5 号和 6 号样品中铬元素含量分别高达 161.38, 113.20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 超过限量 50 多倍, 高于阿胶中铬元素含量^[4]。

中药中重金属及有害元素的测定多采用原子吸收法, 但该方法检测效率较低^[9-11]。电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)虽检测效率高, 但成本也高, 因此普及率较低。ICP-AES 具有简便、快速等优点^[12], 检测成本也较 ICP-MS 低, 但在 2010 年版《中国药典》中应用极少, 本实验建立了 ICP-AES 技术检测鹿角胶中重金属及有害元素含量的方法, 可为该方法在中药质量控制与评价中应用提供借鉴。

[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: 302.
[2] 曹春林. 鹿角胶的制法及其质量探讨[J]. 中成药研究, 1980, 3(1): 7.
[3] 庄兰英. 胶类药材的氨基酸分析及鹿茸皮的利用试探[J]. 中成药研究, 1982, 5(5): 27.

[4] 石岩, 肖新月, 石上梅, 等. 微波消解-石墨炉原子吸收法测定阿胶中铬含量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(8): 1527.
[5] 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准[S]. GB2762-2005, 2005.
[6] 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准[S]. GB6783-94, 1994.
[7] 中华人民共和国发展和改革委员会. 中华人民共和国轻工行业标准[S]. QB 2354-2005, 2005.
[8] 国家食品药品监督管理局. 阿胶中铬(Cr)含量检查的补充检验方法[S]. 2011.
[9] 杨健, 王宏洁, 边宝林, 等. 中药材鲜地黄中砷、汞、铅和镉的含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(4): 33.
[10] 李奇豫, 张贵军, 李素丽. 桂蚕沙的氨基酸组分和金属元素及有害元素分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(4): 139.
[11] 陈磊, 刘怡. 不同产地栀子重金属含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(23): 68.
[12] 何晋浙. ICP-AES 法在元素分析测试中的应用技术[J]. 浙江工业大学学报, 2006, 34(1): 48.

[责任编辑 全燕]

[Abstract] Objective: To Establish a method for detecting residues of macroporous resin in extract of *Swertia pseudochinensis*. **Method:** Headspace-GC was used to determine the content of macroporous resin residues of n-hexane, benzene, methylbenzene, dimethylbenzene, phenylethylene, diethylenzene, divinylbenzene in extract of *S. pseudochinensis*. **Result:** All of seven residues were separated and good linear responses were obtained in the mass concentration with r between 0.994 0 to 0.999 7. The average recoveries of these 7 residues were in the range of 93.4% -98.4% with RSD < 10% , these 7 residues were not detected in three batches of samples. **Conclusion:** This analytical method was convenient and accurate with good repeatability, it could be used to determine organic solvents residues in macroporous resin.

[Key words] macroporous resin residues; extract of *Swertia pseudochinensis*; headspace gas chromatography; standard addition method

当药提取物为当药提取后经大孔树脂分离纯化制得。大孔树脂具有吸附量大、再生简单、效果可靠的特点,近年被广泛用于中药有效成分的分离、纯化^[1-4]。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,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、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯苯进行检测,并对残留量加以控制。目前检测上述残留溶剂的方法主要为顶空进样法^[5-12]。本实验拟建立毛细管柱气相色谱法,配以顶空进样方式测定 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

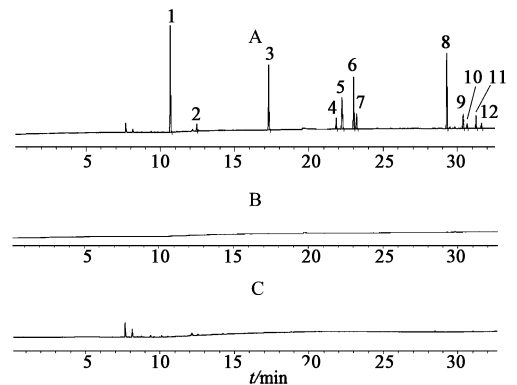
Agilent 6890N 型气相色谱仪(美国安捷伦公司)。

正己烷对照品(天津市四友精细化学品有限公司,批号 20090720),苯对照品(北京化工厂,批号 20110306),甲苯对照品(北京现代东方精细化学品有限公司,批号 20060902),二甲苯、苯乙烯对照品(北京化学试剂公司,批号分别为 021210,041012),二乙烯苯对照品(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 20001118),二乙基苯(1,3-二乙基苯)对照品(富鲁卡公司,批号 022793/6),*N,N*-二甲基甲酰胺(色谱纯,天津市四友生物医学技术有限公司),当药提取物(北京同仁堂研究院提供,批号分别为 110308,110309,110310),水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 SPB-1 毛细管色谱柱(0.32 mm × 60 m,0.25 μm),检测器 FID,载气高纯氮,柱流速 1.0 mL·min⁻¹,柱温为程序升温(起始温度 35 °C,保持 10 min,以 5 °C·min⁻¹速率升至 150 °C,保持 3 min),进样口温度 200 °C,分流进样,分流比 5:1,顶空进样,顶空瓶平衡温度 85 °C,平衡时间 30 min,

进样量 1 mL。理论板数按甲苯峰计算不低于 4 万。



A. 对照品;B. 0.1% 二甲基甲酰胺溶液;C. 供试品;
1. 正己烷;2. 苯;3. 甲苯;4,5,7. 二甲苯;
6. 苯乙烯;8. 二乙基苯;9,10,11,12. 二乙烯苯

图 1 当药提取物 GC

2.2 贮备液的制备 分别精密称取正己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯苯对照品适量,加二甲基甲酰胺制成正己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯苯质量浓度均为 2 g·L⁻¹,苯 0.2 g·L⁻¹的混合对照品贮备液,备用。

2.3 供试品溶液的制备 取本品 0.5 g,精密称定,置 20 mL 顶空进样瓶中,精密加入水 5 mL 与二甲基甲酰胺 5 μL,密封,振摇使溶解,摇匀,即得。

2.4 对照品溶液的制备 取当药提取物 0.5 g,精密称定,置 20 mL 顶空进样瓶中,精密加入水 5 mL 与混合对照品贮备溶液 5 μL,密封,振摇使溶解,摇匀,即得。

2.5 方法学考察

2.5.1 精密度试验 精密量取同一对照品溶液,按 2.1 项下方法测定,连续进样 6 次,结果各成分色谱峰峰面积的 RSD 均 < 10%,符合测定要求。

2.5.2 线性关系考察 分别精密量取混合对照品贮备液 0.2,0.4,1.0,2.0,4.0,10.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,加二甲基甲酰胺稀释至刻度,摇匀,备用。

按 2.4 项下方法制备系列质量浓度对照品溶液,按 2.1 项下方法测定,以对照品质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行回归分析,得回归方程,见表 1。

表 1 线性关系考察及方法的检测限

成分	回归方程	线性范围		<i>r</i>	检测限 /mg·L ⁻¹
		/mg·L ⁻¹			
正己烷	$Y = 119.69X - 24.21$	0.425	~21.26	0.999 6	0.010 0
苯	$Y = 79.00X - 0.282$	0.0429	~2.15	0.999 7	0.008 0
甲苯	$Y = 75.91X + 7.179$	0.419	~20.96	0.999 5	0.010 5
二甲苯	$Y = 70.984X + 11.861$	0.428	~21.38	0.999 1	0.018 7
苯乙烯	$Y = 51.498X + 13.044$	0.426	~21.30	0.998 4	0.013 0
二乙基苯	$Y = 0.435X + 22.691$	0.435	~21.76	0.998 0	0.008 5
二乙烯苯	$Y = 32.812X + 10.183$	0.439	~21.94	0.994 0	0.066 9

2.5.3 重复性试验 平行取同批样品 6 份,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定溶剂残留含量,结果均未检出 7 种溶剂的残留。

2.5.4 加样回收率试验 称取样品 6 份,每份 0.5 g,分别置于 20 mL 顶空瓶中,精密加入水 5 mL 与对照品贮备液(正己烷、苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯苯质量浓度分别为 1.939 4, 0.195 6, 1.943 4, 1.900 6, 1.937 6, 1.852 2, 1.844 6 g·L⁻¹) 5 μL,密封,振摇使溶解,摇匀,按上述方法测定,计算 7 种溶剂的平均回收率分别为 97.2%, 96.5%, 95.4%, 98.4%, 94.7%, 97.1%, 93.4%, RSD 依次为 3.0%, 1.3%, 1.3%, 2.0%, 3.3%, 3.2%, 5.5%。

2.5.5 检测限 根据对照品溶液色谱图中各成分峰高折算,配制对照品溶液,采用递减稀释法依次测定,以检测峰高为基线噪声约 3 倍的检测量作为最低检测限,其中二甲苯和二乙烯苯以混合物中最高峰的峰高与基线噪声比较,测得各成分最低检出质量浓度见表 1。

2.6 样品测定 取 3 批当药提取物,按 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定溶剂残留含量,结果 3 批样品中均未检出限定的 7 种树脂残留物。

3 讨论

采用 5% ~ 20% 的二甲基甲酰胺溶液溶解样品,结果溶剂在正己烷色谱峰位置有干扰^[4-12]。因此,拟以水为溶剂溶解试样,但正己烷、苯、甲苯等树脂残留成分在水中溶解性较差,故对照品先用二甲基甲酰胺溶解,再加水稀释。

曾尝试采用外标法测定各成分含量,结果检测成分回收率较低,尤其二乙基苯及二乙烯苯,回收率仅约 60%。考虑到不同基质对基质效应的影响,故采用标准加入法测定,有效地消除了顶空进样分析

时,因供试品与对照品处于不完全相同基质中所致的气-液平衡过程中基质效应的影响,7 种树脂残留成分均可取得较准确的测定结果。

预试验选择 HP-INNOWAX 毛细管柱,结果对照品溶液各检测组分分离效果良好,供试品中未检出苯、甲苯、二甲苯、苯乙烯、二乙基苯、二乙烯苯,但在正己烷色谱峰位置出现其他色谱峰^[1-12]。通过改变起始柱温和升温程序,均不能使该峰与正己烷峰分离。考虑到 7 种残留物中正己烷沸点较低,在其他成分未检出情况下检出正己烷,可能性较小,故改用 SPB-1 毛细管柱,结果取得了较好的分离效果。

[参考文献]

- [1] 魏冬青,陈绍民,苗建武,等.丹参总酚酸大孔树脂纯化工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):42.
- [2] 王雅琦,龚慕辛,王智民,等.吴茱萸汤大孔树脂精制工艺[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(5):1.
- [3] 于国峰,丁嘉信,王超,等.红花总黄酮大孔树脂纯化工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):39.
- [4] 柯小温,陈磊,宋汉涛,等.大孔树脂与 ZTC 联用纯化白子草总黄酮的研究[J].中国中药杂志,2012,37(9):1219.
- [5] 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,2010:368,379.
- [6] 常增荣,张小茜.中药制剂及提取物中的大孔吸附树脂残留物限量检查研究[J].中国中药杂志,2004,29(6):585.
- [7] 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[J].河南大学学报:医学版,2009,28(2):81.
- [8] 吴诗惠,陈帅,谢霖,等.顶空气相色谱法测定丹酚酸 B 提取物中的树脂残留物[J].华西药学杂志,2010,25(1):121.
- [9] 黄牧童,戚可人,曹建英,等.H-103 型大孔树脂苯系列残留物的分析研究[J].中国当代医药,2012,19(29):68.
- [10] 李仙义,张雷,袁海龙,等.顶空气相色谱法检测茵陈黄提取物中苯系列残留物[J].中国中药杂志,2003,28(7):672.
- [11] 胡洋叶,周洪伟,乔晓强,等.参知健脑胶囊中大孔树脂残留物的气相检测方法研究[J].中医药信息,2012,29(5):29.
- [12] 刘冬,杨敬芝,杜守颖,等.顶空气相色谱法测定大孔树脂提取物中的残留溶剂研究[J].药物分子杂志,2009,29(11):1877.

[责任编辑 仝燕]