

炉内消解-石墨炉原子吸收法测定 明胶空心胶囊中铬的含量

刘童^{1,2}, 王爱民^{1,2}, 关焕玉^{1,2}, 周雯^{1,2}, 张洁^{1,2}, 李勇军^{1,2*}

(1. 贵阳医学院药学院, 贵阳 550004; 2. 贵州省药物制剂重点实验室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立一种石墨炉炉内消解-原子吸收光谱法测定明胶空心胶囊中铬含量测定方法, 并与微波消解方法比较。方法: 分别将明胶空心胶囊用微波消解后的溶液与水直接溶解后的溶液注入原子吸收光谱仪的石墨炉中, 采用不同的升温程序测定铬的含量。结果: 两种方法铬元素浓度在 4~40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时线性关系良好, 相关系数均为 0.999 9, 炉内消解直接进样方法的回收率为 96.2%~101.2%, RSD 1.8%~3.3%, 微波消解方法的回收率为 97.51%~103.1%, RSD 3.4%~5.3%, 炉内消解直接进样的供试品溶液在 4 h 以内稳定。结论: 石墨炉炉内消解-原子吸收光谱法与微波消解方法测定的结果一致, 该方法简便、准确、快速, 适合大批量明胶空心胶囊中铬含量超标的筛查。

[关键词] 明胶空心胶囊; 石墨炉-原子吸收光谱; 炉内消解; 铬

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0108-04

[doi] 10.11653/zgsyfyjxzz2013070108

Determination of Chromium in Gelatin Empty Capsules by Furnace Digestion-AAS

LIU Tong^{1,2}, WANG Ai-min^{1,2}, GUAN Huan-yu^{1,2}, ZHOU Wen^{1,2}, ZHANG Jie^{1,2}, LI Yong-jun^{1,2*}

(1. School of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China;

2. Key Laboratory of Pharmaceutical of Guizhou Province, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination of chromium in gelatin empty capsules which were digested in furnace by AAS. **Method:** The solution of gelatin empty capsules which digested by microwave or dissolved directly with water was injected into the graphite furnace of AAS, and determined the content of chromium with different temperature-programmed. **Result:** The calibration curves of both methods for chromium standard solution were prepared covering the concentration ranges of 4 to 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. The correlation coefficients were all 0.999 9. The average recoveries of furnace digestion were in range of 96.2% to 101.2% and the RSD were 1.8% to 3.3%. The average recoveries of microwave digestion were in range of 97.51% to 103.1% and the RSD was 3.4% to 5.3%. The sample solution which would be injected directly and digested in furnace was stable within 4 hours. **Conclusion:** The results which determined by graphite furnace digestion and microwave digestion were consistent. This new method is easy, accurate and suitable for screening the exceeded content of chromium in the large quantities of gelatin empty capsules.

[Key words] gelatin empty capsules; atomic absorption-graphite furnace; furnace digestion; chromium

[收稿日期] 20120704(010)

[基金项目] 贵州省中药现代化专项基金项目(黔科合中药字[2011]5081号);贵阳市科学技术计划项目([2009]筑科中合同字第9-3-04号);省科技厅科技计划项目(黔科合计工字[2009]4001)

[第一作者] 刘童, 硕士, 讲师, 从事药物分析研究, Tel: 13985178005, E-mail: onizukacus@qq.com

[通讯作者] *李勇军, 教授, 从事天然药物化学和天然药物质量控制研究, Tel: 0851-6908468, E-mail: liyongjun026@126.com

明胶空心胶囊以明胶为原料,同时根据药品需求的差异,加入一些增塑剂、色素、遮光剂(二氧化钛)等^[1]。随着国外胶囊生产企业进入国内市场,国内竞争加剧,并且国内明胶原料价格不断上涨,部分明胶空心胶囊生产企业在利益的驱动下,非法使用工业明胶(含铬皮胶,俗称蓝矾皮)生产空心胶囊,一旦这些劣质胶以及劣质辅料中的铬元素过量摄入人体而无法全部代谢,将给用药安全带来严重隐患。

根据《中国药典》2010年版二部的规定^[2]以及中国食品药品检定研究院2012年4月21日发布的《明胶药用空心胶囊铬检测方法指导原则》中规定的方法,进行了相关试验,微波消解法对明胶空心胶囊进行消解处理后,用原子吸收-石墨炉法测定铬的含量,结果准确、可靠,但由于采用微波消解处理样品需要进行预消解、微波消解、放冷、赶酸、转移等步骤,操作较为繁琐,在处理过程中容易造成样品溶液的损失,且由于操作流程时间长,一批样品消解至定容的时间超过4 h,并且还受微波消解仪罐数的限制,因此对于大批量的样品筛查较为困难。本文建立了一种不需消解的前处理方法,即用水溶解明胶空心胶囊后,直接注入原子吸收-石墨炉中,依靠设定的石墨炉自身加热程序将样品在石墨管中消解后直接测定铬含量。

1 仪器与试剂

1.1 仪器 Perkin-Elmer AA-800 原子吸收光谱仪(配置 THGA 横向加热石墨炉原子化器,纵向 Zeeman 效应背景校正器),YY-3 型高灵敏度石墨管(北京友谊丹诺科技有限公司,供 AA-800 原子吸收分光光度计专用),ETHOSA 微波消解仪(12 罐位,消解罐体积为 100 mL,意大利 Milestone 公司),EH20A plus 数显电热板(莱伯泰科有限公司),实验室超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司),AE-240 型电子分析天平(瑞士 METTLER 公司),实验用所有器材均用 10% 硝酸浸泡 24 h,超纯水冲净晾干备用。

1.2 试剂 铬标准溶液,1 000 mg·L⁻¹(GSB-04-1723-2004,购自国家有色金属及电子材料分析中心,定值日期 2011 年 11 月),硝酸镁(分析纯,广东汕头西陇化工),硝酸(优级纯,国药集团化学试剂有限公司,批号 T20121209),氢氟酸(优级纯,上海申博化工有限公司,批号 0804101),高纯氩气(99.999%,贵阳申建气体有限公司),实验用水均为超纯水,实验用明胶空心胶囊 20 批来源于国内不

同空心胶囊生产企业。

2 方法与结果

2.1 标准储备溶液和工作液的制备 精密量取质量浓度为 1 000 mg·L⁻¹的铬标准溶液 0.2 mL 至 100 mL 聚乙烯量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,得 2 mg·L⁻¹的铬标准储备液,于 4 ℃ 下保存。精密量取铬标准储备液 2 mL,置 100 mL 聚乙烯量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,得浓度为 40 μg·L⁻¹的工作液,临用前配制,实验时由仪器自动进样器稀释为 4, 8, 16, 30, 40 μg·L⁻¹的溶液。

2.2 基体改进剂溶液的配制 取硝酸镁用水配制 0.2% 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液制备

2.3.1 直接溶解进样供试品溶液制备 取明胶空心胶囊(囊体和囊帽成对称取)0.5 g,精密称定,置 50 mL 量瓶中,加水约 40 mL,70 ℃ 水浴加热 30 min,再超声处理至完全溶解,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3.2 微波消解法供试品溶液制备 取明胶空心胶囊(囊体和囊帽成对称取)0.5 g,置微波消解罐中,精密称定,加硝酸 5 mL,置电热板上 120 ℃ 预消解 15 min,放冷后加硝酸 2 mL,氢氟酸 0.5 mL,加水 1 mL,进行第 1 次微波消解(消解程序为 10 min 升温至 120 ℃,保持 5 min,10 min 升温至 140 ℃,保持 15 min)。冷却,泄压放气,随后再密闭进行第 2 次消解(消解程序为 10 min 升温至 150 ℃,保持 5, 10 min 升温至 185 ℃,保持 15 min),放冷,置电热板上 150 ℃ 赶酸至 1~2 mL,冷却后将消解液用水少量多次转入 50 mL 聚丙烯量瓶中,水稀释至刻度,摇匀,即得。同时制备空白溶液^[3]。

2.4 仪器参数及石墨炉升温程序

2.4.1 仪器参数 仪器测定采用塞曼效应背景校正,狭缝宽度 0.7 nm,灯电流 15 mA,保护气为氩气,读数时间 5.0 s,进样量 20 μL,基体改进剂注入量 3 μL。

2.4.2 石墨炉升温程序

2.4.2.1 微波消解样品石墨炉升温程序 干燥温度 110 ℃(30 s)/130 ℃(30 s),灰化温度 1 500 ℃(20 s),原子化温度 2 300 ℃(5 s),净化温度 2 500 ℃(5 s)。

2.4.2.2 直接溶解进样石墨炉升温程序 干燥温度 110 ℃(30 s)/130 ℃(30 s)/250 ℃(10 s),灰化温度 500 ℃(10 s)/1500 ℃(20 s),原子化温度 2 300 ℃(5 s),净化温度 2 500 ℃(5 s)。

2.5 线性关系考察及定量限考察 将浓度为 0, 4, 8, 16, 30, 40 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的铬标准曲线溶液与 3 μL 基体改进剂混合依次注入石墨炉, 照 2.4 项下运行与微波消解法和直接进样法对应的石墨炉升温程序, 每个浓度分别进样 3 次测定, 以吸光度的平均值 A 为纵坐标, 浓度 C 为横坐标, 进行线性回归, 得 (1) 微波消解法石墨炉程序的线性方程: $A = 0.024 1C + 0.042 51 (r = 0.999 9)$; (2) 直接溶解进样法石墨炉程序的线性方程: $A = 0.023 3C + 0.008 7 (r = 0.999 9)$ 。2 种方法线性范围为 4 ~ 40 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$, 定量限均为 0.4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.6 精密度试验 同一编号明胶空心胶囊样品按照微波消解法和直接进样法制备供试品溶液, 分别连续测定 6 次, 计算吸光度, 2 种方法 RSD 均在 0.2% ~ 1.1%。

2.7 重复性试验 分别称取同一编号样品每份 0.5 g, 精密称定, 照 2.3.1 和 2.3.2 项下分别制备供试品溶液各 6 份后进行测定, 微波消解法处理的样品测定结果为 1.95 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, RSD 4.1%; 直接溶解进样法测定结果为 2.06 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, RSD 3.6%。

2.8 回收率试验

2.8.1 微波消解法回收率试验 取空心胶囊 0.25 g (含铬元素 1.95 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), 共 9 份, 分为 3 组, 每组分别加入样品中铬含量的 50%、100% 和 200%, 按 2.3.2 项下方法制备供试品溶液, 测定, 结果见表 2。

2.8.2 直接溶解进样法回收率试验 分别称明胶空心胶囊样品 (含铬 2.06 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 9 份, 每份 0.25 g, 精密称定, 分成 3 组, 每组分别加入样品中铬含量的 50%、100%、200%, 照 2.3.1 项下制备供试品溶液后进行测定, 结果见表 3。

表 2 微波消解法回收率试验

No.	称样量/g	含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.246 6	0.480 9	0.25	0.720 2	95.72	97.51	5.3
2	0.254 9	0.497 1	0.25	0.755 4	103.3		
3	0.250 8	0.489 1	0.25	0.722 8	93.48		
4	0.250 1	0.487 7	0.50	1.009	104.3	100.2	4.5
5	0.248 2	0.484	0.50	0.989 3	101.1		
6	0.253 8	0.494 9	0.50	0.971 5	95.30		
7	0.251 6	0.490 6	1.0	1.517	102.6	103.1	3.4
8	0.254 2	0.495 7	1.0	1.564	106.8		
9	0.249 6	0.486 7	1.0	1.486	99.93		

表 3 直接溶解进样法回收率试验

No.	称样量/g	含量/ μg	加入量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
1	0.250 2	0.515 4	0.25	0.761 6	98.48	96.19	3.3
2	0.252 9	0.521 0	0.25	0.764 8	97.52		
3	0.256 3	0.528 0	0.25	0.759 4	92.56		
4	0.254 7	0.524 7	0.50	1.013	97.56	98.68	2.1
5	0.250 1	0.515 2	0.50	1.021	101.1		
6	0.253 8	0.522 8	0.50	1.010	97.40		
7	0.248 7	0.512 3	1.00	1.537	102.5	101.2	1.8
8	0.256 4	0.528 2	1.00	1.519	99.07		
9	0.250 3	0.515 6	1.00	1.535	102.0		

2.9 直接溶解进样法供试品溶液稳定性考察 分别取明胶空心胶囊供试品 0.5 g, 精密称定, 照

2.3.1 制备供试品溶液, 分别于 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 h 分别进行测定, 结果显示 0 ~ 2 h 内时, 样品测定结果

的 RSD < 3.0% , 2, 4 h 时测定的结果与 0 h 测定结果的 RSD 3.6% , 4.7% , 6 h 测定结果的与 0 h 结果的 RSD 超过了 10% , 因此可判断供试品溶液在 0 ~ 4 h 稳定。

2.10 结果 分别采用本文建立方法以及微波消解法处理样品方法分别对 20 批明胶空心胶囊样品进行了对比测试, 结果见表 4。由结果可见, 本文所建立的方法的测定结果与微波消解方法测定的结果一致。

表 4 2 种方法测定结果及对比 ($n=2$)

No.	微波消解 /mg·kg ⁻¹	直接溶解进样 /mg·kg ⁻¹	偏差
W20124812	0.63	0.64	0.01
W20124840	<0.4 ¹⁾	<0.4	-
W20124839	0.61	0.61	0
W20124298	0.78	0.8	0.02
W20124118	<0.4	0.4	-
W20124303	0.82	0.83	0.01
W20124292	2.68	2.74	0.06
W20124838	<0.4	<0.4	-
W20124300	<0.4	<0.4	-
W20124408	7.72 ²⁾	7.92	0.2
W20124503	0.55	0.57	0.02
W20124504	23.6	24.1	0.5
W20124505	0.62	0.59	0.03
W20124506	10.2	10.3	0.1
W20124507	43.6	45.9	2.3
W20124508	18.9	19.4	0.5
W20124509	19.8	19.8	0
W20123719	1.38	1.41	0.03
W20123727	2.36	2.39	0.03
W20120306	1.95	2.06	0.11

注: ¹⁾ 低于定量限; ²⁾ 样品浓度过高需进行稀释确保浓度在线性范围内。

3 讨论

对于测定有机物中的金属元素, 一般需要进行消化处理, 通常有干法、湿法、微波消解等方法, 其中微波消解以消解速度快、试剂用量少、空白值底、回收率高等优点被广泛应用于消化处理矿物、植物和动物样品中^[4-5]。《中国药典》2010 年版二部和中国食品药品检定院发布的《明胶药用空心胶囊铬检测

方法指导原则》中规定样品明胶空心胶囊的取量为 0.5 g, 实验中需进行预处理(加硝酸过夜或加热预消解), 同时微波消解温度须达到 180 ℃。在进行实验过程中发现, 由于温度较高, 易产生爆罐、消解罐变形等问题, 而本文所建立的方法完全避免了上述情况的发生, 处理过程简单易行, 待测成分基本无损失。

不经消解处理直接进样时, 所面临的最大问题是样品的均匀性及稳定性如何保持, 有文献提出采用 1.2 g·L⁻¹ 琼脂溶液为悬浮剂, 将样品均匀悬浮于胶体上后直接进样的方法, 收到了良好的效果^[6-7]。由于明胶空心胶囊主要成分为明胶蛋白, 其溶解在水中能形成均匀的胶体溶液, 具有较好的悬浮能力, 所以本实验中所测定的样品不需要加入悬浮剂, 但空心胶囊在生产过程中加入的遮光剂等样品溶液制备一段时间后会沉淀, 有可能会对铬产生吸附作用, 长时间静置会导致测定结果降低或不稳定, 因此尽量现配现用, 特别是铬含量超过线性范围的样品, 需要进行稀释, 而水稀释后胶体溶液稳定性会降低, 须在临进样前再进行稀释, 立即进样, 同时测定时供试品溶液的温度最好保持在 20 ℃ 以上, 避免黏度过高进样不准确^[8]。

原子吸收-石墨炉直接进样法被应用于测定饮料、生物样本^[9-12] 中金属元素的测定, 由于没有进行预先的消解处理, 样品溶液中的有机物直接进入石墨管中加热, 如果升温过快或加热时间过短, 会造成样品溶液爆沸、有机物灰化不完全、背景干扰或损伤石墨管。本法通过台阶式加热程序, 在原有基础上增加两步干燥程序和一步灰化程序, 能有效排除干扰。由于没有用到酸消解样品, 本文所建立的方法相比较微波消解法延长了石墨管的使用寿命。

在测定过程中, 为了保证结果的准确和可靠, 在进样测定 8 ~ 10 个样品时须随行进行回收率样品或标准溶液进行质量控制, 应用本文所建立的方法对超过一百批明胶空心胶囊样品进行了测定, 结果与微波消解法测定结果基本一致。

本实验所建立的方法简单可靠, 不需要购置昂贵的微波消解设备, 特别适合中小型药品生产企业和相关检测机构对大批量胶囊中铬含量的快速筛查, 具有一定的应用价值。

[参考文献]

[1] 邱知红. 微波溶样 ICP-OES 测定明胶制空心胶囊中的无机元素[J]. 中国药事, 2011, 25(3): 248.

土茯苓黄酮部位成分分析及指纹图谱研究

徐文皑, 尹莲*

(南京中医药大学药学院, 南京 210046)

[摘要] 目的:分析土茯苓黄酮部位成分并建立指纹图谱。方法:采用超高效液相-质谱仪联用技术(UPLC-UV-MS)分析土茯苓黄酮部位成分;Diamonsil C₁₈柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),甲醇(A)-1.5%冰醋酸(B)为流动相,流速0.8 mL·min⁻¹,柱温30℃,检测波长280 nm,进样10 μL, HPLC建立指纹图谱。结果:鉴定出土茯苓黄酮部位中16个成分,其中9个通过对照品确认;指纹图谱有24个共有峰,10批不同来源土茯苓的黄酮部位相似度>0.99。结论:土茯苓黄酮部位成分明确, HPLC指纹图谱重复性、精密度良好,专属性强,可用于土茯苓黄酮部位的质量控制,为深入研究土茯苓黄酮部位药效物质提供参考。

[关键词] 土茯苓; 黄酮部位; 指纹图谱; 超高效液相-质谱联用技术; 成分分析

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)07-0112-05

[doi] 10.11653/zgsyfyjzxx2013070112

Study on Constituents Analysis and Fingerprint of Flavonoids Parts of *Smilax glabra*

XU Wen-ai, YIN Lian*

(School of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the chemical constituents and establish a HPLC fingerprint of flavonoids parts of *Smilax glabra*. **Method:** UPLC-UV-MS technology was used to identify the chemical constituents of flavonoids parts of *S. glabra*; Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), methanol and

[收稿日期] 20121008(011)

[基金项目] 江苏省方剂研究重点实验室开放项目(022021014010)

[第一作者] 徐文皑, 硕士在读, 从事中药化学研究, Tel: 15950567280, E-mail: kaikairisy@126.com

[通讯作者] * 尹莲, 教授, 从事中药复方化学研究, Tel: 025-85811512, E-mail: yinlian162@163.com

- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 二部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:1204.
- [3] 孙会敏. 明胶药用空心胶囊中铬检测方法指导原则解读[DB/OL]. <http://www.nifdc.org.cn/CL0149/3480.html>.
- [4] 运行, 安迎雪, 尤海丹. 微波消解-原子荧光光谱法测定宫瘤消片中的砷、镉[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(2):289.
- [5] 魏惠珍, 吕尚, 饶毅, 等. 微波消解火焰-原子吸收光谱法测定药用辅料硬脂酸镁中痕量铅、镍、镉[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5):98.
- [6] 严规有, 高桂兰, 夏娇云, 等. 生物样品中痕量铬的直接快速测定[J]. 分析化学, 2004, 32(1):128.
- [7] 张锂, 韩国才. 悬浮液进样-石墨炉原子吸收光谱法测定生物样品中微量铬[J]. 理化检验-化学分册, 2008, 4(3):361.
- [8] 张秀尧. 炉内消化石墨炉原子吸收法测定明胶和水解蛋白中铬[J]. 中华预防医学杂志, 2009, 39(5):352.
- [9] 刘云. 原子吸收-石墨炉直接进样法同时测定浓缩果汁中的铅和铜[J]. 河南科技, 2010, (4):64.
- [10] 莫礼峰, 林宗常. 石墨炉原子吸收法直接测定凉茶(植物饮料)中的铅[J]. 中国现代医生, 2009, 47(34):90.
- [11] 蔡金敏, 何俊涛, 负建培, 等. 石墨炉原子吸收分光光度法直接测定全血中镍[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(5):1005.
- [12] 黄为红. 人尿中铜、铬、镉、锰的石墨炉原子吸收直接测定法[J]. 职业与健康, 2009, 25(2):149.

[责任编辑 顾雪竹]