

实验研究

顶空气相色谱法检测石茶感冒胶囊中的有机溶剂残留

何雷^{1,2}, 崔涛^{1,2}, 夏伟军^{1,2}, 丁中涛^{2*}

(1. 云南省药物研究所 新药筛选研究中心, 云南昆明 650111;

2. 云南大学化学科学与工程学院, 云南昆明 650091)

摘要:目的 建立石茶感冒胶囊中可能残留的7种有机溶剂(正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯)的检测方法。方法 采用顶空气相色谱法, 色谱柱为 Agilent HP-INNOWAX 毛细管柱(30 m×1.0 mm, 0.53 μm), 载气为高纯氮气; 顶空温度为 70 °C, 顶空时间 30 min; 柱温自 30 °C 恒定 5 min, 以 10 °C/min 升温速率升至 200 °C, 恒定 5 min; 氢火焰离子检测器(FID), 温度为 250 °C。结果 7种有机溶剂残留物在所考察的浓度范围内线性关系良好($r=0.9994\sim0.9998$), 精密度 RSD 均小于 5.0%, 被测组分的平均回收率在 99.16%~102.0%之间。结论 该方法操作简便、快速、准确度高, 可用于检测石茶感冒胶囊中的有机溶剂残留物。

关键词:石茶感冒胶囊; 顶空气相色谱; 有机溶剂残留; 残留物测定

中图分类号: R927.11

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)06-0347-03

Determination of residual organic solvents in Shicha Ganmao Capsule by gas chromatography with headspace sampling

HE Lei^{1,2}, CUI Tao^{1,2}, XIA Wei-jun^{1,2}, DING Zhong-tao²

(1. Natural Medicine Chemical Research Section, Yunnan Institute of Materia Medica, Kunming 650111, China;

2. School of Chemical Science and Technology, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: Objective To establish a method for determination of the seven residual organic solvents (*n*-hexane, benzene, toluene, *o*-dimethylbenzene, *p*-dimethylbenzene, styrene and divinyl benzene) in Shicha Ganmao Capsule. **Methods** Gas chromatography with headspace sampling was applied to the study. Agilent HP-INNOWAX silica capillary column was 30 m × 1.0 mm, 0.53 μm. The initial temperature was kept at 30 °C for 5 min, then the temperature was raised to 200 °C at the rate of 10 °C/min and subsequently sustained for 5 min. FID detector temperature was 250 °C. The vial temperature was 70 °C, and the vial time was 30 min. **Results** There was a good linearity in the experimental concentration ($r=0.9994\sim0.9998$). The RSD was all less than 5.0%. The average recovery rates were in the range of 99.16%~102.0%. **Conclusion** The analytical method is simple, accurate and sensitive.

Key words: Shicha Ganmao Capsule; gas chromatography with headspace sampling; residual organic solvent; determination of residues

石茶感冒胶囊(临床试验批号:2008L11136)是根据传统中医药理论,利用云南民间使用历史较长,预防、治疗感冒疗效确切,无副作用,且资源丰富的

药材,通过现代技术制备的创新型民族民间复方药,主要由黄芪、石椒草、千里光等组成。在该复方药材的分离、精制过程中,使用了大孔吸附树脂等分离材

基金项目 云南省科技厅省科研院所技术开发研究专项(2003KFZX-28)

作者简介 何雷(1981-),男,分析化学专业硕士研究生,主要从事新药工艺和质量控制研究。

* **通讯作者** 丁中涛(1968-),男,博士,教授,博士生导师,主要从事天然活性物质的分离与分析研究。E-mail: ztding@ynu.edu.cn

料和相应的有机溶剂,因此有必要对石茶感冒胶囊提取物中可能残留的有机溶剂正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯及二乙烯苯进行检测,以控制产品质量,保证用药的安全性。

顶空气相色谱法将液体或固体样品中的挥发性组分通过顶空进样器直接导入气相色谱仪进行分离和检测,免除了冗长、烦琐的样品前处理过程,避免有机溶剂带入的杂质对分析造成干扰,也减少了对色谱柱及进样口的污染。近几年该方法以其简单、实用的优点,在环境检测^[1]、药物中的溶剂残留检测^[2-3]、包装材料^[4]等领域得到了较广泛的应用。在选择石茶感冒胶囊有机溶剂残留检测的样品时,考虑到该复方挥发油的整个提取过程并未引入有机溶剂,且在最后的制剂工艺中复方的挥发油也是与复方提取物进行单独总混,因此最终选择了未加入挥发油的胶囊提取物作为供试品。这样便大大减少了该复方中挥发性组分对整个测定过程的干扰。

1 仪器与材料

1.1 仪器与试剂

Agilent 6890 Plus 型气相色谱仪, Agilent 7694 E 型顶空自动进样器,氢火焰离子检测器(FID),均为 Agilent Technologies 公司生产。正己烷、邻二甲苯、对二甲苯为色谱纯,其他试剂均为分析纯。所用水为重蒸水。

1.2 试药

石茶感冒胶囊样品由云南省药物研究所中试基地提供,批号分别为 20070101、20070102、20070103。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱为 Agilent HP-INNOWAX 柱(30 m×1.0 mm,0.53 μm);柱温:采用程序升温,自 30℃ 恒定 5 min,以 10℃/min 升温速率升至 200℃,恒定 5 min;进样口温度为 180℃;检测器温度为 250℃;载气为高纯氮气,体积流量为 3 mL/min;分流比为 1:20。顶空条件:顶空温度为 70℃,顶空时间 30 min,进样量 1.0 mL。

2.2 对照品溶液的制备

分别精密量取正己烷、苯、甲苯、邻二甲苯、对二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯各适量,加 N,N-二甲基甲酰胺配制成每 1 mL 含苯 78.7 μg、正己烷 797.9 μg、甲苯 800.4 μg、邻二甲苯 791.0 μg、对二甲苯

791.0 μg、苯乙烯 800.8 μg、二乙烯苯 808.7 μg 的对照品储备液。再精密量取 1 mL 对照品储备液置 100 mL 量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀,精密量取 2 mL 置 10 mL 顶空进样瓶中,密封。

2.3 供试品溶液的制备

精密称取 20070102 批次的石茶感冒胶囊内容物 600 mg,置 10 mL 顶空瓶中,精密加入水 2.0 mL,摇匀,密封。

2.4 溶剂的选择

石茶感冒胶囊药材组分较多,化学成分复杂,因此在溶剂的选择方面,考察了甲醇、60%甲醇、30%甲醇,二甲基甲酰胺(DMF)、60%DMF、30%DMF 以及纯水。结果使用甲醇、60%甲醇、30%甲醇作为溶剂,甲醇峰对正己烷峰影响很大,不能达到基线分离;而 30%DMF、60%DMF、DMF 虽然对待测成分未造成影响,但由于 DMF 的高沸点性质,使得对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的线性关系随着 DMF 浓度的增高而变差。在选定的色谱条件下,使用纯水作为溶剂时,分离效果和溶解性均很理想。结果见图 1。

2.5 线性关系考察

精密量取对照品储备液 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mL,分别置于 100 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,再分别精密量取 2 mL 置 10 mL 顶空进样瓶中,分别进样 1.0 mL,以对照品溶液浓度为横坐标(X),峰面积为纵坐标(Y)进行线性回归,结果见表 1。

表 1 石茶感冒胶囊供试品溶液中有有机溶剂线性关系考察结果

有机溶剂	回归方程	r	线性范围/(μg·mL ⁻¹)
正己烷	Y=142.27 X-102.88	0.999 4	0.799~12.78
苯	Y=173.87 X-2.977 8	0.999 7	0.079~1.259
甲苯	Y=174.55 X-38.282	0.999 8	0.800~12.81
对二甲苯	Y=177.92 X-41.999	0.999 7	0.791~12.66
邻二甲苯	Y=172.76 X-26.712	0.999 7	0.791~12.65
苯乙烯	Y=153.00 X-9.004 1	0.999 7	0.800~12.81
二乙烯苯	Y=147.39 X+5.958 8	0.999 7	0.809~12.94

2.6 精密密度试验

精密量取对照品溶液 2 mL 置 10 mL 顶空进样瓶中,分别进样 1.0 mL,重复进样 6 次,测得正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯对照品溶液峰面积的 RSD 分别为 3.505%、4.297%、4.456%、4.724%、4.926%、4.471%、4.659%,表明本法精密密度高。

2.7 最低检测限试验

将对照品溶液逐步稀释,直到检测峰高为基线

噪声的2~3倍为止,计算所测溶剂的最低检测限,测得正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯对照品溶液的最低检测质量浓度分别为79.9、15.7、79.1、79.0、80.0、80.0、81.0 ng/mL。

2.8 回收率试验

精密称定石茶感冒胶囊内容物600 mg(批号20070102)6份,置顶空进样瓶中,精密加入对照品溶液2 mL,混匀;每瓶各进样1.0 mL进行测定,计算回收率。结果正己烷、苯、甲苯、对二甲苯、邻二甲苯、苯乙烯、二乙烯苯的回收率分别为102.0%、99.56%、100.1%、100.3%、99.62%、99.48%、99.16%;RSD分别为1.26%、2.10%、2.19%、2.24%、2.59%、2.17%、2.52%。表明测定方法可靠,结果可信。

2.9 样品中有机溶剂残留物的测定

精密称定3个批次的石茶感冒胶囊内容物各600 mg,置10 mL顶空瓶中,精密加水2.0 mL溶解,按“2.1”项下色谱条件测定各样品中残留的有机溶剂。结果显示,在最低检测限范围内均未检出上述7种有机溶剂残留物。对照品溶液、石茶感冒胶囊样品溶液的色谱图分别见图1中的A、B。

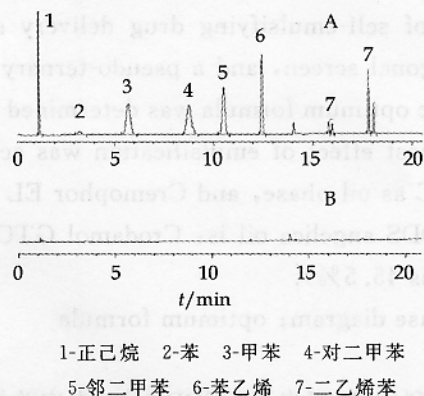


图1 石茶感冒胶囊对照品溶液(A)、供试品溶液(B)的色谱图

3 讨论

3.1 色谱柱的选择

在实验过程中,分别选择了弱极性毛细管柱HP-5、中等极性毛细管柱DB-624和强极性毛细管柱HP-INNOWAX。结果发现弱极性毛细管柱HP-5和中等极性毛细管柱DB-624都不能将邻二甲苯和苯乙烯2个峰完全分离;而在峰形、理论塔板数与分离度方面,以键合或交联聚乙醇为固定相的HP-INNOWAX强极性毛细管柱均优于前2个毛细管柱。

3.2 顶空温度的选择

为了选择合适的顶空温度,在实验过程中,使用

同一浓度对照品溶液分别在50℃、60℃、70℃、80℃、90℃下平衡30 min后进行测定。结果显示,随着顶空温度的升高,峰面积增大,但当平衡温度达到90℃时,方法的重现性变差。根据文献[5],为避免热降解所致的各类干扰,顶空温度一般不宜超过70℃,最终确定顶空温度为70℃。

3.3 顶空时间的选择

为了选择合理的顶空平衡时间,在实验过程中,使用同一浓度对照品溶液在70℃下分别平衡15、30、45、60 min后进行测定。平衡30、45、60 min后测定的结果基本一致,均高于15 min,说明各被测成分在70℃下30 min便可达到平衡效果。综合多项因素考虑,最终确定顶空时间为30 min。

3.4 小结

《中国药典》(2005年版)对溶剂残留量进行了较大的修订,明确指出残留溶剂的控制种类和限度与“人用药品注册技术要求国际协调会”(ICH)的要求一致[6]。本实验中对有机溶液残留的限量检测参照了国家食品药品监督管理局药品审评中心的一般要求,即每1 g样品中苯不超过2 μg,正己烷、甲苯、二甲苯、苯乙烯和二乙烯苯不超过20 μg[7]。

以上结果表明,该气相色谱法专属性强、快捷、准确,被检组分的浓度和各自峰面积之间有着良好的线性关系,精密度及加样回收率均符合要求,可用于石茶感冒胶囊中的有机溶剂残留量的监控。检测结果显示,石茶感冒胶囊3批样品在最低检测限范围内均未检测到上述7种有机溶剂残留物。从一个方面说明大孔吸附树脂通过合理正确的前处理而用于中药复方的提取和精制,是安全可行的。

参考文献

- [1] 甘平胜,黄聪,于鸿,等.顶空毛细管柱气相色谱法测定饮用水中12种挥发性卤代有机物[J].中国卫生检验杂志,2008,18(10):2009-2011.
- [2] 杨玲,王英锋,郭雪清,等.顶空气相色谱法检测黄芩提取物中的D-101大孔树脂有机溶剂残留物[J].药物分析杂志,2008,28(5):814-816.
- [3] Claudia W, Eric D. Residual solvents in pharmaceutical products acceptable limits, influences on physicochemical properties, analytical methods, and documented values [J]. Eur J Pharm Biopharm,1997,43(3):215-242.
- [4] 赵文良,巩余禾.顶空气相色谱法测定复合食品包装袋的溶剂残留[J].中国卫生检验杂志,2008,18(12):2540-2542.
- [5] 胡昌勤,刘颖.《中国药典》2005年版(二部)残留溶剂检查法介绍[J].中国药品标准,2005,6(3):52.
- [6] ICH指导委员会.药品注册的国际技术要求(质量部分)[M].北京:人民卫生出版社,2000.
- [7] 常增荣,张小茜.中药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):586-588.

(收稿日期 2009-07-13)