

3 讨论

3.1 由于银杏中内酯类成分在紫外光区吸收小, 检测灵敏度低, 因此本实验采用 HPLC-ELSD 法进行测定。但 ELSD 的信号响应不同于紫外检测器, 其信号与浓度间的关系不是直接成线性, 而是成对数线性关系, 本实验的结果也证实了该理论。

3.2 从实验结果可以看出, 同一提取物不同批号之间银杏内酯类成分的含量有比较大的差别, 说明对原料必须有更严格的控制, 从药材的采集到原料的提取, 都需制定严格统一的标准, 以保证质量。

3.3 ELSD 的使用应注意所用流动相的蒸发残渣及载气的含水量, 其中四氢呋喃对内酯类成分的分

离起了很好的作用, 但其量的增加会使检测器噪音增大, 检测灵敏度降低。

3.4 方法学考察结果显示该方法准确度高、专属性强、灵敏度及稳定性均较好, 测定方法可靠, 测定结果能客观反映银杏提取物的内在质量。

References:

- [1] Wang H, Chen S Z, Zhao G B, *et al.* Analysis of the factors that affected active ingredients from *Ginkgo* leaves [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30 (8): 631-633.
- [2] Li C Y. Research development of *Ginkgo* [J]. *World Phytomed* (国外医药·植物药分册), 1993, 14 (5): 270-272.
- [3] Lu F S, Chen W, Feng F, *et al.* The contents of terpenelactones in the *Ginkgo* injection [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2001, 32(1): 34-36.

毛细管气相色谱法测定枳实及其提取物中有机氯农药残留量

惠玉虎, 王让成*

(西安皓天生物工程技术有限责任公司, 陕西 西安 710075)

枳实为芸香科植物酸橙 *Citrus aurantium* L. 的幼果。其中主要含有生物碱、黄酮、挥发油。枳实及其提取物中的生物碱辛弗林、*N*-甲基酪胺等成分具有强心、升压及对外周血管等多种功能与作用^[1]。有机氯农药在我国已禁用多年, 但由于它性质稳定, 在环境中可以存在几年甚至几十年。因此, 测定枳实及其提取物中的有机氯农药残留量具有十分重要的意义。本实验对枳实及其提取物中有机氯农药残留测定方法进行了研究^[2,3]。结果表明, 该方法易于操作, 重现性好, 可用于枳实及其提取物中的有机氯农药残留量测定。

1 材料与仪器

试剂均为分析纯, 水为二次重蒸馏水。α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT、PP-DDT、PCNB (纯度大于 99%) 由国家标准物质研究中心提供。枳实为广西、湖南产, 由西安天诚医药生物工程有限公司崔树玉博士鉴定, 提取物由西安天诚医药生物工程有限公司生产。

GC-14B 带 ECD 电子捕获检测器的气相色谱仪 (日本岛津), KQ-250 型超声波清洗器 (江苏昆山超声仪器公司)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 毛细管色谱柱 Supelco PTE-5 (30

m × 0.25 mm × 0.25 mm, 美国 Supelco 公司); 汽化室温度: 230 ; 检测器温度: 290 ; 柱温为程序升温, 初始 100 , 保持 0.5 min, 25 /min 升至 270 , 保持 5 min; 进样量: 2 μL; 进样方式为不分流进样; 载气为高纯氮, 体积流量为 2 mL/min; 尾吹气为高纯氮, 体积流量为 20 mL/min。在上述色谱条件下, 理论塔板数按 α-BHC 峰计算不低于 5 × 10⁵ 两个相邻色谱峰分离良好。

2.2 对照品储备液的制备: 分别精密称取 α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT、PP-DDT、PCNB 对照品适量于 100 mL 量瓶中, 加入少量苯溶解后, 用石油醚配制质量浓度分别为 1.06、1.00、1.16、1.12、1.06、1.09、0.99、0.95、1.07 mg/mL 的对照品储备液。

2.3 混合对照品溶液的制备: 分别精密量取 α-BHC、β-BHC、γ-BHC、δ-BHC、PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT、PP-DDT、PCNB 对照品储备液适量于 100 mL 量瓶中, 加石油醚至刻度, 制成质量浓度分别为 0.79、1.49、0.86、0.83、1.58、1.62、1.48、1.42、0.80 μg/mL 的混合对照品溶液。

2.4 标准曲线的绘制: 分别精密量取混合对照品溶液 0.10、0.15、0.20、0.50、1.00 mL 于 10 mL 量瓶中, 加石油醚至刻度, 进样测定, 进样量 1 μL, 分别以

各组份峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标绘制标准曲线, 计算标准曲线方程和相关系数, 结果见表 1。

表 1 标准曲线试验结果

Table 1 Results of standard curve test

组份	标准曲线	r	线性范围/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)
α BHC	$Y = 1.1623 \times 10^5 X - 0.4243 \times 10^{-3}$	0.9999	$7.9 \times 10^{-4} \sim 7.9 \times 10^{-3}$
β BHC	$Y = 1.2357 \times 10^5 X - 1.3100 \times 10^{-3}$	0.9998	$1.49 \times 10^{-3} \sim 1.49 \times 10^{-2}$
γ BHC	$Y = 1.0044 \times 10^5 X - 3.1548 \times 10^{-3}$	0.9999	$8.6 \times 10^{-4} \sim 8.6 \times 10^{-3}$
δ BHC	$Y = 1.0607 \times 10^6 X - 5.6716 \times 10^{-3}$	0.9995	$8.3 \times 10^{-4} \sim 8.3 \times 10^{-3}$
PCNB	$Y = 4.7036 \times 10^6 X - 4.3926 \times 10^{-3}$	0.9991	$1.58 \times 10^{-3} \sim 1.58 \times 10^{-2}$
PP-DDE	$Y = 7.8698 \times 10^5 X - 0.1369 \times 10^{-2}$	0.9970	$1.62 \times 10^{-3} \sim 1.62 \times 10^{-2}$
PP-DDD	$Y = 1.3414 \times 10^5 X - 1.6640 \times 10^{-2}$	0.9984	$1.48 \times 10^{-3} \sim 1.48 \times 10^{-2}$
OP-DDT	$Y = 7.7304 \times 10^6 X - 0.3671 \times 10^{-2}$	0.9991	$1.42 \times 10^{-3} \sim 1.42 \times 10^{-2}$
PP-DDT	$Y = 1.2079 \times 10^5 X - 5.3108 \times 10^{-3}$	0.9990	$8.0 \times 10^{-4} \sim 8.0 \times 10^{-3}$

2.5 供试品溶液的制备: 精密称取粉碎混匀的样品 2.0 g, 置于 100 mL 具塞三角瓶中, 加入 40 mL 丙酮-石油醚(2:8), 超声提取 30 min, 抽滤, 并用 60 mL 石油醚分 3 次淋洗, 合并提取液, 将滤液转入干燥的 250 mL 分液漏斗中, 再用 20 mL 石油醚分 3 次洗涤抽滤瓶, 洗涤液合并于上述分液漏斗中, 使总体积约为 120 mL。于上述分液漏斗提取液中加入 12 mL 浓硫酸, 振摇数次后静置分层, 弃去下层酸液, 重复 2 次, 然后用 2% 硫酸钠水溶液洗涤石油醚两次, 每次 100 mL, 振摇 0.5 min, 静置分层后弃去水层。将石油醚层通过无水硫酸钠脱水, 用少量石油醚洗涤分液漏斗和无水硫酸钠 3 次, 收集于具刻度的旋转浓缩瓶中, 在 40℃ 下减压浓缩至 1.0 mL, 即得。

2.6 精密度试验: 精密吸取混合对照品溶液, 重复进样测定 5 次, 每次进样 2 μL , 按上述色谱条件测定峰面积, RSD 分别为 α BHC 2.4%、 β BHC 1.8%、 γ BHC 3.2%、 δ BHC 3.5%、PCNB 2.2%、PP-DDE 3.2%、PP-DDD 3.8%、OP-DDT 3.1%、PP-DDT 3.8%。

2.7 重现性试验: 按供试品溶液制备项下操作步骤, 制得枳实及其提取物样品溶液各 5 份, 分别进样 2 μL , 测定。除 α BHC、 β BHC、 γ BHC、 δ BHC、PP-DDT、PCNB 均未检出外, PP-DDE、OP-DDD、PP-DDT 检测结果见表 2。

2.8 回收率试验: 在枳实及其提取物中分别加入一定量的 α BHC、 β BHC、 γ BHC、 δ BHC、PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT、PP-DDT、PCNB 对照品溶液, 按样品测定项下操作步骤测定, 计算回收率, 结果见表 3。

2.9 样品测定: 取枳实及其提取物供试品溶液, 每份进样两次, 每次进样 2 μL , 外标法测定。除 α BHC、 β BHC、 γ BHC、 δ BHC、PP-DDT、PCNB 均

未检出外, PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT 检测结果见表 4。

表 2 重现性试验结果 (n=5)

Table 2 Results of repetition test (n=5)

组份	枳实		提取物	
	平均值 /($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	RSD /%	平均值 /($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	RSD /%
PP-DDE	0.03	3.14	0.01	3.01
PP-DDD	0.01	3.56	0.01	3.12
OP-DDT	0.02	2.78	0.01	3.07

表 3 回收率试验结果 (n=5)

Table 3 Results of recovery test (n=5)

组份	枳实		提取物	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
α BHC	97.62	2.19	98.78	3.51
β BHC	98.77	3.08	99.19	2.91
γ BHC	95.40	4.20	98.74	3.07
δ BHC	97.10	2.58	99.66	3.16
PP-DDE	96.72	3.15	99.34	2.62
PP-DDD	99.48	4.26	98.62	4.08
OP-DDT	99.51	2.02	98.79	4.56
PP-DDT	98.93	3.31	99.95	2.48
PCNB	99.66	2.89	98.85	3.42

表 4 样品测定结果

Table 4 Results of sample determination

批号	枳实/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)				提取物/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)			
	PP-DDE	PP-DDD	OP-DDT	总 DDT	PP-DDE	PP-DDD	OP-DDT	总 DDT
1	0.01	0.02	-	0.03	-	0.01	-	0.01
2	-	0.01	-	0.01	-	-	-	-
3	0.02	0.02	0.01	0.05	0.01	-	-	0.01
4	0.03	-	0.01	0.04	0.01	-	-	0.01
5	0.01	0.03	0.02	0.06	-	0.01	0.01	0.02

3 讨论

本试验曾采用 OV-101、OV-1701 为固定液的弹性石英毛细管色谱柱试验, 9 种有机氯农药分离效果不好。选用固定液相当于 SE-52, SE-54 的 Supelco PTE-5 (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 mm) 弹性石英毛细管色谱柱, 在上述色谱条件下, 对 9 种有机氯

农药分离较好,在 12 min 内就能完成分离。

有机氯农药净化多采用磺化法。曾采用在线提取法,但存在样品提取液中加浓硫酸磺化时,分层不明显的问题。经选用分液漏斗萃取后,分层明显,结果重现性好。

经对 5 批枳实原料及其提取物中分析,发现除 α BHC、 β BHC、 γ BHC、 δ BHC、PP-DDT、PCNB 均未检出外,PP-DDE、PP-DDD、OP-DDT 有检出,总 DDT 枳实原料中质量分数为 0.01~0.06 mg/kg,枳实提取物中质量分数为 0.01~0.02 mg/kg。说明 DDT 对枳实原料有污染现象,枳实原料虽经

工艺提取,但其提取物中仍有少量残留。但无论枳实原料还是提取物中的残留量符合我国外经贸行业《药用植物及制剂进出口绿色行业标准》中 DDT 小于 0.1 mg/kg 的要求。

References

- [1] Zheng H Z, Dong Z H, She J. *Modern Research Application of Traditional Chinese Medicine* (中药现代研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1993.
- [2] *Standards of the People's Republic of China* (中华人民共和国国家标准) [S]. GB/T 5009. 19-1996.
- [3] Wang H L, Cheng J M, Zhang S M. Study on determination of organochlorine pesticides residues by gas chromatography [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(6): 381-383.

HPLC 法测定玉屏风口服液中升麻苷的含量

刘素香¹, 万 军^{2*}

(1. 天津药物研究院 中药现代研究部, 天津 300193; 2. 天津达仁堂达二药业有限公司, 天津 300122)

玉屏风口服液收载于《中华人民共和国药典》2000 年版一部,由黄芪、白术、防风组成,具有益气固表、止汗的功效,用于表虚不固,自汗恶风,体虚易感风邪者。原标准中未建立含量测定项。防风解表祛风,具有解热、镇痛,提高机体免疫功能的作用,升麻苷为其主要有效成分之一,故本实验选择升麻苷作为控制本品质量的指标成分,并采用 HPLC 法测定升麻苷含量,建立了该产品的质量标准化定量控制方法,结果该方法分离效果好,灵敏,准确。

1 仪器与试剂

Waters 液相色谱仪, M510 泵, RA NN 紫外检测器, 岛津 C-18 数据处理器。升麻苷对照品购自中国药品生物制品检定所(批号: 1522-200202, 含量测定用)。乙腈为色谱纯,去离子水,甲醇、冰醋酸等均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Kromasil 不锈钢柱 (200 mm × 4.6 mm, 5 μm) (天和色谱实验室填充); 流动相: 乙腈-水-醋酸 (13: 88: 0.03); 体积流量: 1.0 mL/min; 柱温: 室温; 检测波长: 291 nm。

2.2 对照品溶液的制备: 精密称取升麻苷对照品 5.24 mg, 置 50 mL 棕色量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 作为对照品储备液。精密吸取对照品储备液 2 mL, 置 25 mL 棕色量瓶中, 加 70% 甲醇稀

释至刻度, 摇匀, 作为对照品溶液。

2.3 供试品溶液的制备: 取本品, 精密量取 2 mL, 置 50 mL 量瓶中, 加甲醇约 45 mL, 超声 10 min, 放至室温, 加甲醇至刻度, 摇匀。取上清液滤过, 续滤液作为供试品溶液。

2.4 阴性供试品溶液的制备: 按处方制备缺防风样品, 照供试品溶液的制备处理, 制备阴性供试品溶液。

2.5 系统适应性试验: 在选定的条件下, 分别取供试品溶液、对照品溶液、阴性供试品溶液各 20 μL, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。结果表明阴性供试品溶液在升麻苷色谱峰位置处无相应峰出现, 表明其他药味对含量测定无影响, 见图 1。理论板数按升麻苷峰计算应不低于 3 000。

2.6 标准曲线的制备: 分别精密量取对照品储备液 (0.104 8 mg/mL) 0.2、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀。分别进样 20 μL, 记录色谱图, 读取峰面积。以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标回归, 计算得回归方程 $Y = 109 273.6 X - 541.1$, $r = 1.000 0$ 。结果表明升麻苷在 0.041 92~0.838 4 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.7 精密度试验: 精密量取供试品溶液 20 μL, 重复进样 6 次, 记录升麻苷峰面积值, 结果 RSD 为