

# 不同剂量<sup>60</sup>Co辐照对藿胆丸挥发性成分的影响

张正锋<sup>1,2\*</sup>, 石克<sup>1,2</sup>(1.重庆市食品药品检验检测研究院, 重庆 401121; 2.重庆市药物过程与质量控制工程技术研究中心, 重庆 401121)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)33-4745-03  
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.33.49

**摘要** 目的:建立测定藿胆丸中挥发性成分含量的方法,研究不同剂量<sup>60</sup>Co辐照对藿胆丸挥发性成分的影响。方法:采用气相色谱-质谱联用法测定经过不同剂量<sup>60</sup>Co辐照后的藿胆丸中百秋李醇含量与 $\beta$ -百秋李烯、 $\alpha$ -愈创木烯、塞舌尔烯、 $\alpha$ -百秋李烯、 $\alpha$ -布萹烯、5,11-愈创木二烯、未鉴定物的相对含量。色谱柱为HP-5MS,柱温采用程序升温,进样口温度为250℃,分流比为50:1,检测器为三重四级杆质谱检测器,MS1四级杆温度为150℃,MS2四级杆温度为150℃,载气为氦气,柱流速为1.2 ml/min,进样量为1  $\mu$ l;离子源为电子轰击,轰击能量为70 eV,离子源温度为230℃,传输线温度为280℃,扫描范围为50~500 amu。结果:百秋李醇检测进样量线性范围为0.103 1~2.062 0  $\mu$ g( $r=0.999 4$ );精密度、重复性、稳定性试验的RSD<1.0%;加样回收率为98.05%~102.32%(RSD=1.8%, $n=9$ )。不同剂量<sup>60</sup>Co辐照对藿胆丸中8种挥发性成分的含量影响不大。结论:藿胆丸可采取<sup>60</sup>Co辐照灭菌,但应控制辐照剂量。该方法操作简便、重复性好,可用于藿胆丸中挥发性成分含量的测定。

**关键词** 藿胆丸;<sup>60</sup>Co辐照;百秋李醇;气相色谱-质谱联用

## Effects of <sup>60</sup>Co Irradiation with Different Doses on the Volatile Components in Huodan Pill

ZHANG Zheng-feng<sup>1,2</sup>, SHI Ke<sup>1,2</sup>(1.Chongqing Institute for Food and Drug Control, Chongqing 401121, China; 2.Chongqing Engineering Research Center for Pharmaceutical Process and Quality Control, Chongqing 401121, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the contents determination of volatile components in Huodan pill and study the effects of <sup>60</sup>Co irradiation with different doses on the volatile components in Huodan pill. METHODS: GC-MS was used to determine the contents of patchouli alcohol and the relative contents of  $\beta$ -patchouliene,  $\alpha$ -guaiacene, seychellese,  $\alpha$ -patchouliene,  $\alpha$ -bulnesene, 5, 11-diene guaiacyl, and unidentified objects in Huodan pill after <sup>60</sup>Co irradiation with different doses. Column was HP-5MS by programmed temperature, volume temperature was 250  $^{\circ}$ C, split ratio was 50:1, detector was triple quadrupole mass spectrometer detector, MS1 quadrupole temperature was 150  $^{\circ}$ C, MS2 was 150  $^{\circ}$ C, carrier gas was helium, flow rate of column was 1.2 ml/min, and the volume injection was 1  $\mu$ l; ion source was EI, bombarding energy was 70 eV, temperature of ion source was 230  $^{\circ}$ C, temperature of transmission line was 280  $^{\circ}$ C and scan range was 50-500 amu. RESULTS: The linear range of patchouli alcohol was 0.103 1-2.062 0  $\mu$ g( $r=0.999 4$ ); RSDs of precision, reproducibility and stability tests were lower than 1.0%; recovery was 98.05%-102.32% (RSD=1.8%,  $n=9$ ). <sup>60</sup>Co irradiation with different doses had little effects on the 8 volatile components in Huodan pill. CONCLUSIONS: <sup>60</sup>Co irradiation can be used for sterilization on Huodan pill, but irradiation dose should be controlled. The method is simple, good reproducibility, and can be used for the contents determination of volatile components in Huodan pill.

**KEYWORDS** Huodan pill; <sup>60</sup>Co irradiation; Patchouli alcohol; GC-MS

笔者首次采用大孔树脂方法应用于维吾尔药材余甘子总鞣质提取液的分离纯化,洗脱时,采用水-乙醇梯度洗脱,分别选取不同质量浓度乙醇(20%、40%、50%、60%、70%、80%、95%、100%)进行了预试验,测定出膏率,最终选择了出膏率较高的40%乙醇和70%乙醇进行没食子酸的含量测定。采用C<sub>18</sub>层析柱层析洗脱时,采用了水、甲醇30%、50%、70%、90%、100%)进行了洗脱,测定出膏率,选择了出膏率较高的水、50%甲醇、70%甲醇进行没食子酸的含量测定。

综上所述,该方法操作简便、重复性好,可用于余甘子不同制备部位中没食子酸含量的测定。

### 参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 2010年

\* 副主任药师。研究方向:药品质量控制与安全性。电话:023-86072755。E-mail:26506579@qq.com

版.北京:中国医药科技出版社,2010:311

- [2] 茹克娅·胡加阿不都拉,帕提古力·雅克甫,希尔艾力·吐尔逊,等.余甘子的维吾尔医应用及研究进展[J]. 中国民族医药杂志,2011,17(12):61.
- [3] 王飞,包永睿,孟宪生,等.不同产地余甘子酚酸类成分HPLC指纹图谱研究[J]. 亚太传统医药,2014,10(4):31.
- [4] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编:下[M]. 北京:人民卫生出版社,1978:335.
- [5] 王吉文,房志坚,成金乐,等.HPLC法同时测定铁包金不同药用部位中芦丁和槲皮素的含量[J]. 中国药房,2014,25(43):4098.

(收稿日期:2015-05-13 修回日期:2015-06-30)

(编辑:张静)

现代中药生产过程中常用的灭菌方法有湿热、超滤、微波、 $^{60}\text{Co}$ 辐照灭菌法等。其中, $^{60}\text{Co}$ 辐照灭菌法由于方便、高效等特点而逐步得到关注和重视,大量用于食品、医药产品的最终灭菌。卫生与计划生育委员会于1997年发布了《 $^{60}\text{Co}$ 辐照中药灭菌剂量标准(内部试行)》,该标准规定,丸剂辐照剂量不得大于5 kGy,并列出了可辐照和不可辐照的部分中药材和中成药品种,为 $^{60}\text{Co}$ 辐照灭菌的应用提供了依据。藿胆丸为该标准中明确规定可辐照的中成药。近年来大量研究表明,辐照剂量过大,对某些药品的某些成分可能会造成影响甚至破坏<sup>[1-2]</sup>。由于中药是多组分协同作用发挥药效,一种或几种成分的改变,将可能影响药品安全、有效。有众多文献报道了 $^{60}\text{Co}$ 辐照灭菌对中药成分的影响<sup>[3-8]</sup>,但大多只针对个别典型成分进行考察,由于中药成分的复杂性,通过个别成分的考察很难说明问题。有研究曾尝试用高效液相色谱指纹图谱技术分析中药提取物辐照灭菌前后成分变化<sup>[9]</sup>,但结果不理想。而目前对辐照前后中药中多个挥发性组分同时评价的方法,笔者还未见文献报道。本研究采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术,对藿胆丸中百秋李醇等多个挥发性组分的含量变化进行分析,以判定不同剂量 $^{60}\text{Co}$ 辐照对藿胆丸中百秋李醇等挥发性成分的含量的影响,为藿胆丸 $^{60}\text{Co}$ 辐照灭菌的可行性及其辐照剂量提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

7890型气相色谱仪(GC),包括7000型质谱(MS)检测器、Mass hunter工作站(美国Agilent公司);MSU224S-100-DU型电子天平(德国Sartorius公司)。

### 1.2 药品与试剂

藿胆丸(广州市药品检验所,批号:130401、130402、130403);百秋李醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号:110772-200404,纯度>98%);试验所用试剂均为分析纯,水为高纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品的处理

取样品粉末100 g,分别置0、3、6、8、10、25 kGy  $^{60}\text{Co}$ 辐照剂量下照射,得到经过不同剂量单次辐照的样品(依次编号为1、2、3、4、5、6)。取经过3、6、8、10 kGy  $^{60}\text{Co}$ 辐照剂量照射的样品粉末50 g,再分别置10 kGy  $^{60}\text{Co}$ 辐照剂量下照射,得到经过重复辐照处理的样品(依次编号为7、8、9、10)。

### 2.2 试验条件

2.2.1 GC条件 色谱柱:HP-5MS;程序升温(初始温度120℃,保持2 min;以4℃/min升至150℃,保持5 min;再以8℃/min升至250℃,保持3 min);进样口温度:250℃;分流进样,分流比:50:1;检测器:三重四级杆MS检测器;载气:氦气;流速:1.2 ml/min;进样量:1 μl。

2.2.2 MS条件 离子源:电子轰击;轰击能量:70 eV;离子源温度:230℃;传输线温度:280℃;扫描范围:50~500 amu;MS1四级杆温度:150℃,MS2四级杆温度:150℃。在上述试验条件下,各成分基线分离良好,详见图1。

### 2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取百秋李醇对照品约10 mg,置于10 ml量瓶中,用乙酸乙酯溶解并定容,摇匀,即得。

2.3.2 供试品溶液 取样品细粉约2 g,精密称定,置于250 ml

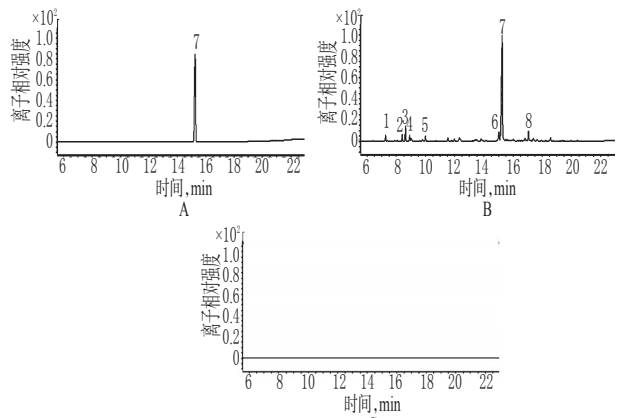


图1 气相色谱-质谱图

A.对照品;B.供试品;C.阴性对照;1.β-百秋李烯;2.α-愈创木烯;3.塞舌尔烯;4.α-百秋李烯;5.α-布黎烯;6,5,11-愈创木二烯;7.百秋李醇;8.未鉴定物

Fig 1 GC-MS chromatograms

A.reference substance; B.test samples; C.negative control; 1.β-patchoulene; 2.α-guaiene; 3.seychellene; 4.α-patchoulene; 5.α-bulnesene; 6,5,11-guaiadiene; 7.patchouli alcohol; 8.no identification

圆底烧瓶中,加水适量,连接挥发油测定器,测定器上端加水使刻度充满,再加乙酸乙酯2 ml,连接回流冷凝管,缓缓加热至沸腾,并保持微沸2 h,放冷,分取乙酸乙酯液。用少量乙酸乙酯洗涤挥发油提取器,合并乙酸乙酯液,并迅速以盛有少量无水硫酸钠的漏斗滤过,滤液置于10 ml量瓶中,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

2.3.3 阴性对照溶液 按藿胆丸的处方和制备工艺制备缺广藿香叶的阴性对照品,再按“2.3.2”项下方法制成阴性对照溶液。

### 2.4 线性关系考察

精密称取百秋李醇对照品20.62 mg,置于10 ml量瓶中,用乙酸乙酯溶解并定容,得质量浓度为2.062 0 mg/ml的对照品溶液,倍比稀释成质量浓度为1.031、0.414 2、0.206 2、0.103 1 mg/ml的系列对照品溶液。精密吸取上述系列对照品溶液各1 μl,按“2.2”项下试验条件进样测定,记录峰面积。以百秋李醇进样量(x, μg)为横坐标、(y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程为 $y=3.687 6 \times 10^6 x + 5.163 0$  ( $r=0.999 4, n=5$ )。结果表明,百秋李醇检测进样量线性范围为0.103 1~2.062 0 μg。

### 2.5 精密度的试验

取“2.3.1”项下对照品溶液适量,按“2.2”项下试验条件连续进样测定6次,记录峰面积。结果,百秋李醇峰面积的RSD为0.3% ( $n=6$ ),表明仪器精密度良好。

### 2.6 稳定性试验

取“2.3.2”项下供试品溶液(批号:130401,编号:1)适量,分别于放置0、4、8、12、18、24 h时进样测定,记录峰面积。结果,百秋李醇峰面积的RSD为0.7% ( $n=6$ ),表明供试品溶液在24 h内基本稳定。

### 2.7 重复性试验

精密称取同一批样品(批号:130401,编号:1)适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,共6份,再按“2.2”项下试验条件进样测定,记录峰面积。结果,百秋李醇峰面积的RSD为0.6% ( $n=6$ ),表明本方法重复性良好。

## 2.8 加样回收率试验

取已知含量的样品(批号:130401,编号:1)适量,共9份,分别加入高、中、低质量的百秋李醇对照品,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下试验条件进样测定,计算样品含量,并计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收试验结果( $n=9$ )

Tab 1 Results of recovery tests( $n=9$ )

取样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
1.039 1	6.203 4	2.091 0	8.301 0	100.31		
1.029 2	6.144 3	2.091 0	8.282 0	102.23		
1.074 1	6.412 4	2.091 0	8.532 0	101.37		
1.091 4	6.515 7	3.136 5	9.591 0	98.05		
1.084 2	6.472 7	3.136 5	9.588 0	99.32	100.27	1.8
1.065 1	6.358 6	3.136 5	9.568 0	102.32		
1.064 1	6.352 7	4.182 0	10.464 0	98.31		
1.071 6	6.397 5	4.182 0	10.513 0	98.41		
1.031 2	6.156 3	4.182 0	10.427 0	102.12		

## 2.9 样品含量测定<sup>[10]</sup>

取30批次样品各适量,分别按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,再按“2.2”项下试验条件进样测定,根据样品的MS全扫描图,并结合文献报道,用标准谱库进行检索,选取样品中相对含量(以测定物与百秋李醇峰面积之比) $\geq 1\%$ 且相似度 $\geq 90\%$ 的8个成分进行鉴定(其中8号峰相对含量较高但谱库中没有检索到相似度高的化合物信息,且未见文献报道,故暂未对其进行鉴定),并计算百秋李醇含量和其他7个化合物的相对含量,结果见表2、表3。

表2 百秋李醇含量测定结果( $n=3$ , mg/g)

Tab 2 Results of the contents determination of patchouli alcohol( $n=3$ , mg/g)

批号	编号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
130401	5.96	5.93	5.91	5.86	5.90	5.86	5.91	5.83	5.87	5.81
130402	5.34	5.26	5.27	5.24	5.20	5.26	5.21	5.18	5.27	5.24
130403	4.94	4.84	4.87	4.89	4.84	4.89	4.84	4.83	4.90	4.90

表3 其余化合物的相对含量测定结果( $n=3$ , 批号:130401)

Tab 3 Results of the relative contents determination of compounds( $n=3$ , batch number: 130401)

化合物	编号									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$\beta$ -百秋李烯	1.43	1.53	1.45	1.45	1.45	1.50	1.46	1.45	1.46	1.47
$\alpha$ -愈创木烯	1.39	1.42	1.38	1.43	1.44	1.39	1.41	1.44	1.39	1.47
塞舌尔烯	8.06	7.98	8.02	8.11	8.17	8.16	8.18	8.16	8.16	8.20
$\alpha$ -百秋李烯	1.84	1.87	1.83	1.91	1.85	1.91	1.88	1.90	1.90	1.90
$\alpha$ -布黎烯	1.56	1.60	1.57	1.63	1.70	1.63	1.69	1.60	1.61	1.64
5,11-愈创木二烯	5.26	5.58	5.35	5.52	5.41	5.57	5.54	5.55	5.62	5.56
百秋李醇	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
未鉴定物	17.53	18.13	18.01	18.23	17.87	18.21	18.24	18.09	17.84	17.81

由表2、表3可知,3个批号的霍胆丸样品经不同剂量<sup>60</sup>Co辐照后百秋李醇含量不随辐照剂量的增加而发生明显变化。未经辐照的样品与经过不同剂量辐照的样品色谱图进行比较,其中部分成分含量有极小的差异,可能因为含量太低或操作误差导致。批号为130402、130403的样品与批号为130401

的样品上述7个化合物相对含量测定结果变化趋势相差不大。由此可见,辐照剂量对霍胆丸中易挥发组分影响不大。

## 3 讨论

笔者曾参考2010年版《中国药典》(一部)广藿香药材的含量测定方法<sup>[11]</sup>,用三氯甲烷超声处理。该方法操作烦琐,所得提取液颜色很深,且含较多不易挥发的组分,对GC-MS系统污染较大。本试验采用水蒸气蒸馏提取,所得供试液颜色较浅,提取的成分虽不及三氯甲烷超声提取的多,但均为易挥发的组分,不易污染色谱系统。

辐照作为一种简单高效的灭菌技术,已大量应用于食品加工行业,其优势是不用加热,可对含热不稳定组分和挥发性组分较多的样品进行灭菌,在中药材贮藏和中药制剂的生产中也应用较多。但是辐照可能对中药中有效成分产生影响,因此应将辐照灭菌效果和导致药物成分改变这两个因素进行综合考虑,以确定最佳辐照剂量。本试验虽证实辐照剂量对霍胆丸中易挥发组分影响不大,但也不宜对霍胆丸的生产采取无控制的辐照灭菌,应该参照食品辐照剂量的国家标准,在综合考虑灭菌效果的同时,尽量降低辐照剂量。

综上所述,霍胆丸可采取<sup>60</sup>Co辐照灭菌,但应控制辐照剂量。该方法操作简便、重复性好,可用于霍胆丸中挥发性成分含量的测定。

## 参考文献

- [1] 牟学文,田喜莲.<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照对红花药材及醇提取物羟基红花黄色素A的影响[J].中国药事,2012,26(3):232.
- [2] 宋九华,成英,刘素君.钴-60辐照对川贝活性成分的影响[J].化学研究与应用,2012,24(3):459.
- [3] 王二兵,赵正保,曲婷丽.<sup>60</sup>Co辐照灭菌对止咳立效口服液主要成分的影响[J].中成药,2013,35(9):2 056.
- [4] 李月梅,刘卫红,张娜娜,等.<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照前后大黄饮片中5种成分的含量变化研究[J].中国药房,2013,24(3):254.
- [5] 孙建宇,何富根,陈红梅,等.<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照对中药地黄和龙胆有效成分的影响[J].中国医院药学杂志,2009,29(1):39.
- [6] 郑媛媛,黄赵刚,程刚,等.3kGY<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 辐照对制痲酊中黄芩苷和小檗碱的影响[J].中成药,2013,35(8):1 819.
- [7] 黄赵刚,陈泳伍,程刚,等.不同剂量钴-60辐照对制痲酊中儿茶素和表儿茶素含量的影响[J].中国药师,2011,14(10):1 463.
- [8] 彭晓霞,张振巍,张娜娜.赤芍药材辐照前后芍药苷含量变化研究[J].药物分析杂志,2010,30(3):522.
- [9] 韦建荣,李劲,董明.指纹图谱在中药<sup>60</sup>Co- $\gamma$ 射线辐照灭菌研究中的应用[J].中国中药杂志,2008,33(5):581.
- [10] 曾志,谭丽贤,蒙绍金,等.广藿香化学成分和指纹图谱研究[J].分析化学,2006,34(9):1 249.
- [11] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:460.

(收稿日期:2015-05-26 修回日期:2015-07-09)

(编辑:张 静)