

中药全过程质量控制研究和检测解决方案



前言

中医药是中华民族几千年传承下来的宝贵资源，为中华民族的繁衍昌盛和人类健康做出了卓越贡献，至今仍是卫生服务体系中不可或缺的重要组成部分。近年来，我国把中医药工作摆在了更加突出的位置，出台了一系列推进中医药事业发展的重要政策和措施。从《关于促进中医药传承创新发展的意见》到《中医药振兴发展重大工程实施方案》，充分体现了国家对中医药事业发展前所未有的支持力度，同时也为中医药研发创新和产业高质量发展指明了方向，可以说中国中医药发展迎来了“天时、地利、人和”的大好局面。2022年1月，国家中医药管理局发布《推进中医药高质量融入共建“一带一路”发展规划（2021—2025年）》。该规划为落实中医药“走出去”和“引进来”战略提供了新的实施路径，随着“一带一路”建设的推进，中医药的国际影响力逐步提升。

中药作为中医治疗疾病的重要组成部分，是在中医药理论指导下使用的药用物质及其制剂，它与中医的发展紧密相连，不可分割。中药制剂以自然界中的植物、动物和矿物为原料，具有成分复杂、基础研究薄弱、有效成分不明确、作用机制不清楚及质量控制相对困难等特点，这些因素给中医药高质量发展带来了挑战。俗话说“药材好，药才好”，要想有效提高中药的质量，必须从中药源头上进行控制和管理，对中药材种源、种植养殖、采收加工、炮制方法等环节进行监管。而要保证整个中药新药的临床安全性、有效性以及质量的稳定性，则需要在药材、饮片炮制到制剂的生产、检验、贮藏、流通与使用的全过程中，对所有影响药品质量的因素进行设计与控制，开展相关研究，构建涵盖药材、饮片到制剂生产的全过程质量控制体系。

作为全球知名的测试仪器、医疗器械及工业设备制造厂商，岛津致力于提供技术领先的仪器设备及全面可靠的综合方案。岛津从中药全过程质量控制体系切入，为中药材种植环境、药材加工（炮制用辅料分析、饮片检验、饮片掺杂使假）、中药研发（物质基础研究、药学研究）、中药生产及质量控制（中成药检验、中成药掺杂使假）四大研究方向提供解决方案。该方案涉及多机种仪器测定，如光谱及元素分析类仪器FT-IR、ICPMS；热分析仪DSC；总有机碳分析仪TOC；粒度分析仪DIA；色谱类仪器LC、GC；色谱质谱联用类仪器LCMS、LC-MSMS、GCMS、GC-MSMS、LCMS-Q-TOF；生命科学仪器iMScope、MALDI-MS；核酸蛋白分析仪MultiNA；非破坏检查装置CT；材料试验机万能试验机等。在推进中医药产业全方位、立体化、多层次的高质量健康发展阶段，岛津将持续提供技术支援与服务。为了满足中药客户需求和行业发展需要，岛津整合近期相关领域研究和应用成果，汇编了本册《中药全过程质量控制研究和检测解决方案》以飨读者。

本文集仅供有关人员学习交流使用，不用于任何商业用途。

岛津企业管理（中国）有限公司
分析中心

目 录

第 1 章 中药发展现状及政策	1
1.1 国内中药发展现状及政策	1
1.1.1 国内中药发展现状.....	1
1.1.2 国内中药法律法规及政策.....	4
1.2 国外中药发展现状	5
1.2.1 日本、韩国及东南亚地区.....	5
1.2.2 欧美地区.....	6
1.2.3 非洲地区.....	6
第 2 章 中药全过程质量控制体系.....	8
2.1 中药源头的质量控制	8
2.2 工艺过程的质量控制	9
第 3 章 中药全过程质量控制解决方案	10
3.1 中药种植环境.....	11
GC-FPD 法测定地表水中有机磷农药残留.....	12
ICPMS-2030 测定地下水中多种金属元素的含量	16
HPLC 法检测土壤中的 16 种多环芳烃	21
3.2 中药材加工	26
3.2.1 炮制用辅料分析.....	27
HPLC 法测定蜂蜜中羟甲基糠醛的含量.....	28
HPLC 法测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素.....	32
3.2.2 饮片检验.....	36
GC-MSMS 法测定金银花等中药材中农药残留含量	37
LC-MSMS 法分析中药材陈皮中的 30 种禁用农药及代谢物.....	41
HPLC-ICP-MS 测定中药材甘草中的形态汞	50
液相色谱柱后衍生法和光柱后衍生法检测中药材中的黄曲霉毒素.....	54
LC-MSMS 法定性定量分析阿胶药材.....	60
LCMS 法测定中药千里光内源性毒素成分阿多尼弗林碱.....	64
3.2.3 饮片掺杂使假	68
LC-MSMS 法用于清半夏药材中掺伪虎掌南星的鉴定研究.....	69
LC-MSMS 法用于黄柏违规使用金胺 O 染色剂的定性测定	75
应用微芯片电泳 MultiNA 鉴定中药材金银花和多种山银花	80
Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 双柱串联检测麝香药材中的有效成分	84
3.3 中药研发	92
3.3.1 物质基础研究	93
GC-MSMS 法结合气味数据库分析冬虫夏草气味成分	94
利用质谱显微镜实现干姜中姜黄素分布的可视化研究.....	102

全二维液相色谱系统在中药分析中的应用	110
液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用分析鉴定管花肉苁蓉中苯乙醇苷类成分	113
应用 MALDI-TOF-MS 分析中药材中多糖降解得到的寡糖	122
SMX-225CT FPD HR Plus 观察高丽参内部结构	125
全谱二维液相色谱检测丹参中的活性成分	131
LH-40 用于中药车前子有效成分制备分离	139
LC-MSMS 法测定大鼠胆汁中人参皂苷 Rg1 及其代谢物	145
LC-MSMS 法检测大鼠血浆中地榆苷 I	149
LC-MSMS 法测定大鼠粪便中盐酸小檗碱含量	156
3.3.2 药学研究	161
HPLC-ICPMS 法测定安宫牛黄丸中的无机砷	162
偏最小二乘法建立血府逐瘀胶囊中芍药苷近红外定量模型	166
动态颗粒图像分析系统 iSpect DIA-10 测试中药口服液中颗粒的粒度、粒形和颗粒数量	170
UHPLC 开发系统在建立 6 种人参皂苷分析方法上的应用	175
MethodTransfer 在中药特征图谱 HPLC 与 UHPLC 方法转换中的应用	183
UHPLC 法快速测定中药制剂中人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1	190
ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置用于银杏叶提取物中萜类内酯的含量分析	194
LC-MSMS 法测定辛芩颗粒制剂中 4 种马兜铃酸	199
GC 法测定药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质含量	204
ICPMS 法测定注射剂辅料中的元素杂质含量	208
制药行业纯净水中总有机碳分析干湿法对比	212
HS-GC 法测定容器类药包材中环氧乙烷残留量	215
HS-GCMS 法检测药品包材中溶剂残留	221
医用铝塑组合盖开启力测试	225
3.4 中成药检验与质量控制	228
3.4.1 中成药检验	229
HPLC 法测定逍遥丸中芍药苷的含量	230
HPLC 法应用于复方丹参滴丸指纹图谱的分析	235
LC-MSMS 法测定银杏酮酯中的总银杏酸	239
LC-MSMS 法分析中药九味羌活丸中的马兜铃酸 I	244
3.4.2 中成药掺杂使假	248
HPLC 用于参三七伤药胶囊中苏丹红 IV 染色的定性检测	249
LC-MSMS 法用于金鸡颗粒中毛两面针素的定性测定	253
LC-MSMS 法测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11	257
HPLC 法用于根痛平片中松香酸含量测定	261
LC-MSMS 法测定中成药中镇静安神类违禁化学成分	265
附录 1 中药全过程质量控制检测项目和岛津仪器应对一览表	272
附录 2 参考文献	274

第 1 章 中药发展现状及政策

中医药作为中国传统文化的瑰宝，是几千年来中华民族智慧的传承与结晶，中药产业是中国的传统优势产业。随着国内改革的深入，人民生活水平的提升以及相应的消费结构、人口结构、疾病谱的变化，给中药产业的发展提供了更为广阔的市场空间。尤其是党的十八大以来，一系列利好政策相继落地，中药事业迈向了全新的高质量发展历史时期。此外，在中华文化“走出去”大潮推动下，中医药走向世界的步伐也在加快。在抗击新冠肺炎疫情的狙击战中，中医药以早期介入、全程参与的方式在国内乃至全世界的疫情防控中起到了非常重要的作用，得到了国际社会高度赞誉。

1.1 国内中药发展现状及政策

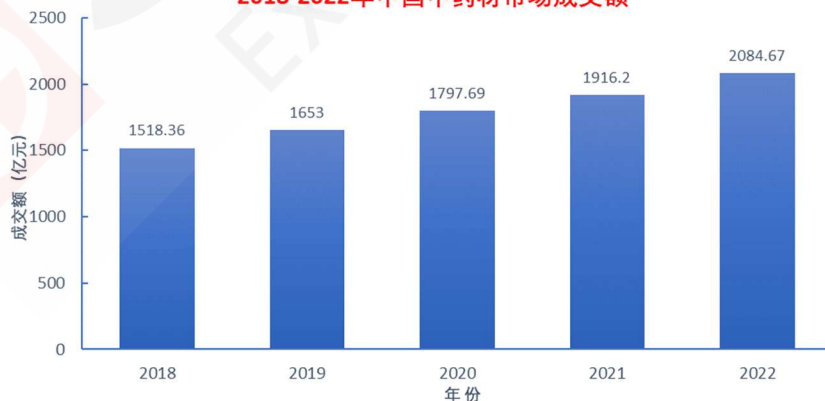
1.1.1 国内中药发展现状

中药是中国最具优势、最具发展后劲的产业之一，也是中国在国际上占有一定优势的传统产业之一。经过几十年的快速发展，国内中药产业已基本形成以科技创新为动力、中药农业为基础、中药工业为主体、中药装备工业为支撑、中药商业为枢纽的新型产业体系。

1.1.1.1 中药材发展状况

中药材是中医药事业传承和发展的物质基础，是关系国计民生的战略性资源。伴随中国经济的发展，我国中药材生产发展也取得了显著成效，中药材市场规模呈现出逐年增加的趋势。近年来，中药材资源保护逐步加强，人工栽培养殖的规模持续扩大，为中药工业、商业的发展奠定了物质基础。目前，我国已基本形成一批优质道地药材生产基地；濒危物种代用品及中药材生物技术研究也有了一定进展，特别是人工培育和人工栽培技术的应用，促进了野生变家种家养的进程；一些主要依赖进口的中药的引种也形成了一定规模，依赖进口的品种逐步减少。据统计，常用的 500 种中药材，依靠人工栽培、养殖的供应量超 50%，使中药野生资源和生态环境得到保护。

2018-2022年中国中药材市场成交额



注：数据来源于国家统计局，<http://www.stats.gov.cn/>

中药材是中药质量的源头。虽然国内中药材种植面积大幅度提升，但同时也存在中药材生产技术相对落后、重产量轻质量等诸多问题，如滥用化肥和农药，不重视监测预报和田间管理，导致中药材品质下降，影响中药质量和临床疗效。

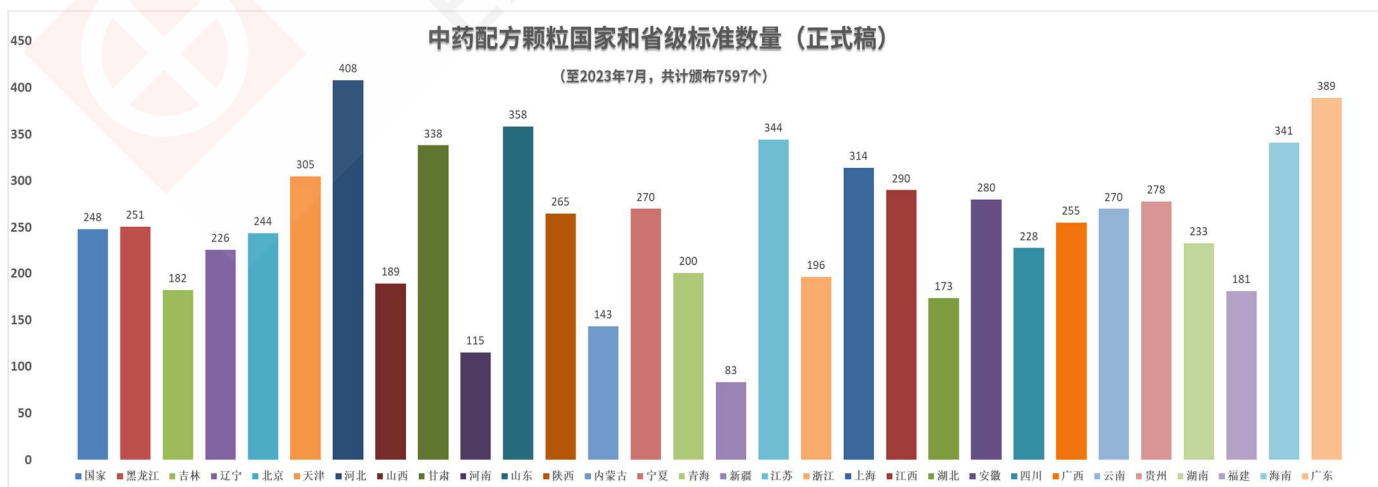
1.1.1.2 中药饮片发展状况

中药饮片是指在中医药理论指导下，根据辨证论治和调剂的需要，对中药材进行特殊炮制加工后的制成品。中药饮片作为中药产业健康发展的重要环节，处于中药产业链的中间位置，上承中药农业，下接中成药、提取物、保健品和中医临床，是传统中药三大产业支柱之一。随着中医药发展战略的推进以及扶持政策相继出台，国内中药饮片行业发展势头良好，市场规模不断扩大，已经进入快速发展新时期。

伴随着先进技术在中医药领域的应用以及消费需求的改变，各种新型中药饮片应运而生，如中药配方颗粒、中药破壁饮片、冻干饮片、纳米中药、定量压制饮片等。现阶段市场呈现出以传统中药切制饮片(俗称中药饮片)为主流，中药配方颗粒为热点，破壁饮片迅速兴起的趋势。新型中药饮片的出现改变了传统中药应用的格局，为中药饮片产业的发展注入新的活力。



中药配方颗粒是由单味中药饮片经提取加工制成的颗粒，具有服用方便、剂量准确、便于携带、可随证组方等优势。2021 年 2 月，中药配方颗粒结束试点历史进入到市场开放阶段。经过近 20 年的发展，中药配方颗粒从中药材种植、加工、生产、流通到销售渠道和消费终端，已形成完善的产业链，市场规模也在迅速扩大。2022 年，国内中药配方颗粒市场规模达到 419.90 亿元。截至 2022 年 10 月，全国中药配方颗粒生产企业共计 69 家，涉及 24 个省市地区。近年来，国家和省级药品监管部门也在不断更新和完善中药配方颗粒质量标准，助力推进高质量发展。



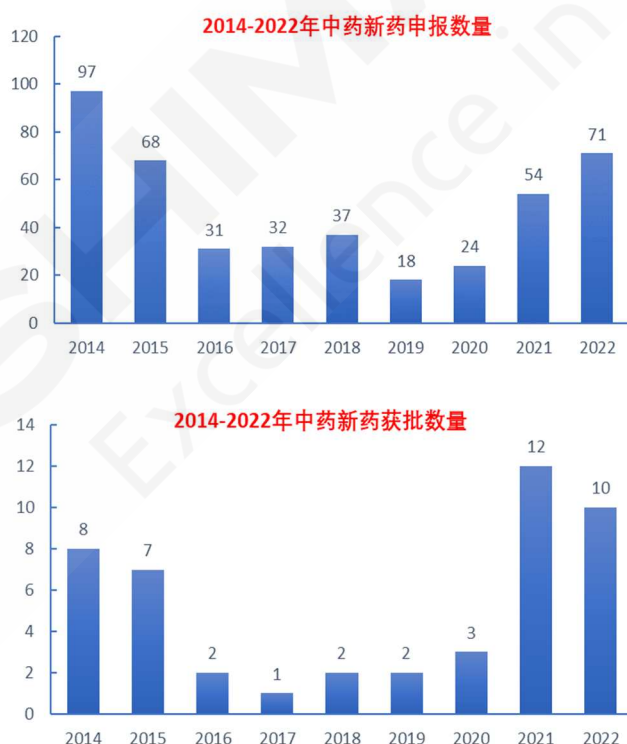
注：数据来源于国家及省市药品监管机构网站

中药破壁饮片是运用现代超微粉碎技术制成的均匀干燥颗粒入药的新型中药饮片。随着中药破壁饮片产品的不断研发，其市场规模也在不断攀高。鉴于破壁饮片的优势及政策的影响，近几年吸引了多家企业进入市场布局。

1.1.1.3 中成药发展状况

中成药是以中药材为原料，在中医药理论指导下，为了预防及治疗疾病的需要，按规定的处方和制剂工艺将其加工制成一定剂型的中药制品，包含丸、散、膏、丹等传统剂型以及片剂、颗粒剂、胶囊剂、注射剂、栓剂、中药针剂等现代化新剂型。随着人们养生理念的提升，越来越多的人更倾向使用中药或者中成药治疗，中成药的市场需求量在增加。截至 2021 年底，我国共有中成药生产企业 2225 家，中成药产量 249.95 万吨，中成药营业收入 4862 亿元，同比增长 11.9%。

近年来，中医药行业受到国家产业政策的重点支持和各级政府的高度重视，国家陆续出台了多项政策来鼓励中医药行业的创新发展。中成药作为中药的重要组成部分，也受到政策红利的影响不断发展，相关企业不断加强研发投入，加快推进相关中药创新药上市速度，促进中成药创新药的发展。据统计，国家药品监督管理局在 2021 年批准了 12 个中药新药，超过了前四年的总批准数量，2022 年批准了 10 个中药新药，其中首个经典名方制剂苓桂术甘颗粒获批上市。未来，中成药将紧跟现代临床的脚步，加快对中成药的创新研究，实现行业高质量发展。



注：数据来源于国家药品监督管理局药品审评中心，<https://www.cde.org.cn/>

随着居民消费水平的提高，越来越多的人开始关注养生保健，各类中成药需求在不断增大。但目前，国内中成药中有效成分每天的服用量还没有明确的规定，这也成为制约国内中成药行业健康快速发展以及扩大中成药海外市场的一个重要因素。

1.1.2 国内中药法律法规及政策

药品政策作为政府对医药市场宏观调控的重要手段，无论在发达国家还是发展中国家都备受人们关注。我国政府出台了一系列有针对性的政策和法规，涵盖中药发展的顶层设计和落地执行，充分体现了国家对发展中医药事业的决心和信心。

表 1. 近期我国中药产业相关法规及重要政策

时间	发布机构	文件名称	相关内容
2013.9	国务院	《关于促进健康服务业发展的若干意见》	加强药食同用中药材的种植及产品研发与应用，开发适合当地环境和生活习惯的保健养生产品。
2015.4	国务院办公厅	《中药材保护和发展规划（2015—2020 年）》	推动完善中药材相关法律法规，强化濒危野生中药材资源管理，规范种植养殖中药材的生产和使用，确保中药材市场供应和质量。
2015.4	国务院办公厅	《中医药健康服务发展规划（2015—2020 年）》	加快中药材种植业绿色发展和相关制造产业转型升级，开发中医药文化元素突出的中药企业、中药材种植基地、药用植物园等特色健康旅游路线。
2016.2	国务院	《中医药发展战略规划纲要（2016—2030 年）》	推进中药工业数字化、网络化、智能化建设，加强技术集成和工艺创新，提升中药装备制造水平，加速中药生产工艺、流程的标准化、现代化，提升中药工业知识产权运用能力，逐步形成大型中药企业集团和产业集群。
2016.8	国家中医药管理局	《中医药发展“十三五”规划》	实施中药标准化行动计划，持续推进中药产业链标准体系建设，加快形成中药标准化支撑服务体系，引领中药产业整体提质增效。
2017.7	全国人民代表大会常务委员会	《中华人民共和国中医药法》	制定中药保护与发展法规，保障用药安全。
2017.8	国家中医药管理局、国务院扶贫办等部门	《中药材产业扶贫行动计划（2017—2020 年）》	编制贫困县大宗、道地药材种植推荐目录，指导贫困县因地制宜、科学布局中药材产业发展，促进道地药材向最佳生产区域集中。
2018.5	国家药品监督管理局	《古代经典名方中药复方制剂简化注册审批管理规定》	明确经典名方制剂申请上市，可仅提供药学及非临床安全性研究资料，免报药效学研究及临床试验资料。
2018.8	国家中医药管理局	《关于加强新时代少数民族医药工作的若干意见》	开展少数民族药临床药学服务，强化少数民族药临床合理应用。支持特色明显、安全有效、使用广泛的医疗机构少数民族药制剂的开发应用。
2018.12	农业农村部、国家药品监督管理局、国家中医药管理局	《全国道地药材生产基地建设规划（2018—2025 年）》	到 2020 年，建立道地药材标准化生产体系，基本建成道地药材资源保护与监测体系，加快建设覆盖道地药材重点产区的生产基地。
2019.1	中共中央、国务院	《中共中央 国务院关于促进中医药传承创新发展的意见》	加强中药材质量控制，促进中药饮片和中成药质量提升，改革完善中药注册管理，加强中药质量安全监管。
2020.9	国家药品监督管理局	《中药注册分类及申报资料要求》	中药注册按照中药创新药、中药改良型新药、古代经典名方中药复方制剂、同名同方药等进行分类，前三类均属于中药新药。
2021.2	国家药品监督管理局、国家中医药管理局等	《关于结束中药配方颗粒试点工作的公告》	结束中药配方颗粒试点工作，对中药配方颗粒实施备案管理，中药配方颗粒的生产和监管进入新的阶段。

2021.2	国务院办公厅	《关于加快中医药特色发展的若干政策措施》	提高中药产业发展活力，优化中药审评审批管理，完善中药分类注册管理，实施道地中药材提升工程。
2022.1	国家中医药管理局	《推进中医药高质量融入共建“一带一路”发展规划（2021—2025 年）》	扩大中药类产品贸易，加强中药类产品海外注册服务平台建设，加强中药材产业合作。
2022.3	国家中医药管理局	《“十四五”中医药发展规划》	推动中药产业高质量发展，加强中药资源保护与利用，加强道地药材生产管理，提升中药产业发展水平，加强中药安全监管。
2023.2	国家药品监督管理局	《中药注册管理专门规定》	在原《中药注册管理专门规定》的基础上，全方位、系统地构建了中药注册管理体系。
2023.2	国务院办公厅	《中医药振兴发展重大工程实施方案》	围绕中药种植、生产、使用全过程，充分发挥科技支撑引领提升中药饮片和中成药质量，推动中药产业高质量发展。

1.2 国外中药发展现状

早在秦汉时期，中医药就传到了朝鲜、日本、越南。汉代，中药材大黄就远销于欧洲。如今，在中医药良好政策的支持下，中医药已成为国家层面交流合作的重要领域。目前，中医药已传播至 196 个国家和地区，并在 29 个国家和地区设立了传统医学法律法规；我国与 43 个外国政府、地区和国际组织签署了中医药合作协议，被纳入 16 个中外自贸协定中。中医药逐渐在更多的国家得到了应用和认可。目前，在日本、韩国、新加坡等国家，中医药已经成为主流医学之一，被广泛应用于临床治疗。同时，越来越多的西方国家也开始重视中医药的应用，将其作为补充医学或替代医学。但在国际天然药物市场中，占主导地位的是欧洲草药制剂、日韩汉方制剂和台湾科学中药制剂。

1.2.1 日本、韩国及东南亚地区

日本汉方医学与中国中医学同根同源、同根异枝。汉方医学以汉方药为代表，汉方药大多来源于《伤寒杂病论》、《金匱要略》等中医药典籍记载的经典名方，发展较好，受到了国内外医药界的关注。汉方药一般直接采用生药生产，因此对药材的质量和来源十分重视。另外，汉方企业对药材各环节如种植、加工、流通、保管等记录进行严格监管，构建一套中药材信息追溯系统，保证原料药质量的稳定。同时，汉方企业比较注重对剂型变化、加工工艺、设备改进等方面的创新。在药品加工提取过程中，采用先进的洗净灭菌、喷雾干燥、减压浓缩等技术，特别是对药物分析技术的提高，使得汉方制剂的疗效和安全性得到国内外的认可。目前，国际市场上汉方药的占比约达 70% 以上。

中医药于公元 4 世纪传入朝鲜半岛，与当地文化结合，成为了今天的“韩医”。韩国采用西方医学与韩医并存的政策，其植物药也根据医学理论的不同分为韩药和生药，类似于我国的中药和天然药物。自上世纪 70 年代起，韩国建立起了自己的中成药工业，中成药进口较少，出口量很大。得益于产品严格的质量标准、质量上乘的药材，外加精致的包装和大量的宣传，使得韩国在中成药国际市场上占据了约 10% 的市场份额。

东南亚是华人华侨的主要聚居地，受我国传统文化影响较大，对中医药的认同度较高。其中越南、新加坡、泰国、印度尼西亚、马来西亚和菲律宾是中国中医药出口东盟较多的 6 个国家，占出口总额的 95% 以上。东南亚对进口中药有较严格的管理和规定。但国内在中药种植加工过程中，因未科学使用农药导致农药残留问题严重、重金属含量超标、产品中含有毒物质、采用已经被禁止的硫磺熏蒸法工艺导致二氧化硫含量超标等问题，导致中药产品被东南亚市场扣留的现象时有发生。

1.2.2 欧美地区

北美、欧洲地区以现代医学应用为主，传统医学应用较少。近年来，由于现代生活方式的改变、疾病治疗与保健的市场需求急增，以及缓解公共卫生福利开支压力的需要，欧美发达国家对天然植物药和传统中草药的态度开始发生转变，如美国在 2004 年首次明确允许植物药作为整体进行有效性和安全性评价；2000 年版《美国药典》收载了 45 种植物药；截至 2016 年，有 66 种中药材被收录在《欧洲药典》。但欧美国家对植物药或植物药来源的制品均采取了严格的临床前和临床药效学和毒理学的评价研究。欧盟要求植物药的临床应用均需要达到质量的可控性和疗效的可重复性，国内仅有 7 种传统中药制剂在欧盟上市。美国食品药品监督管理局（FDA）则要求处方药需要证明其安全性、有效性和一致性，严苛的质量控制以及随机、双盲、大样本的临床试验成了很多中成药无法跨过的门槛。在美国市场，截至目前还没有一个中成药以药品身份获得 FDA 的认证，大部分作为膳食补充剂在美国市场流通。

表2. 欧盟上市的传统中草药产品

注册地点	产品名称	剂型	主要成分	功能主治
荷兰	地奥心血康胶囊	胶囊	黄山药或穿龙薯蓣根茎提取物	用于缓解头痛、肌肉疼痛和颈部、背部、腿部肌肉痉挛
	丹参胶囊	胶囊	丹参	用于缓解轻度月经疼痛
	愈风宁心片	片剂	葛根	用于治疗短期头痛和颈肩肌肉疼痛
	逍遥丸	片剂	柴胡、芍药、当归、白术、甘草	用于缓解精神压力和疲惫症状
英国	凡诺华关节和肌肉舒缓片	片剂	豨莶草	用于缓解背痛、轻微运动损伤、风湿或肌肉疼痛等
	凡诺华缓解感冒和流感颗粒剂	颗粒剂	板蓝根	用于缓解普通感冒、轻度上呼吸道感染和流感样疾病的症状
德国	大和加斯特薄膜包衣片	片剂	人参、白术、茯苓、黄连、枳壳、大枣、甘草、生姜	用于缓解轻度胃肠道疾病

1.2.3 非洲地区

非洲国家人口众多，经济尚不发达，民族制药工业刚刚起步，是一个正在崛起的中药市场。因此，价格低廉、疗效显著、不良反应较小的中草药在当地备受欢迎。我国普通的中成药、保健品如六神丸、牛黄解毒丸、金银花露、红花油、清凉油、风油精、十滴水、花粉制剂、风湿膏以及六味

地黄丸、藿香正气丸等，市场需求量较大。目前，大部分非洲国家缺少对药用植物种植、生产、加工方面的法律法规，使药材质量和作用效果受到影响。

虽然中药产品被越来越多的国家和地区认可和使用，但国内生产的中药产品在国际市场中所占比例仍然较低，能“走出去”进行国际化经营的中药企业少之又少。新时期要促进中国中药事业发展，推动中药真正走向世界，必须继续坚定走中药现代化的道路不动摇，建立起满足中医药产业发展的完备质量标准体系，全面参与国际组织中涉及中医药政策标准的制定工作，形成一整套国际社会认可的中药标准。



第2章 中药全过程质量控制体系

药品生命周期涵盖药物研发、注册、上市、上市后等多个阶段，中药质量研究及质量控制贯穿始终，是药品全生命周期管理的重要组成部分。随着中药产业的飞速发展，中药产品的安全性和质量稳定性成为影响中药发展的关键因素。因此，在国家标准化体系建设的大环境下，中药产业全过程质量控制得到广泛关注。工信部“十三五”《医药工业发展规划指南》中也明确要求企业需要贯彻执行质量源于设计理念(QbD)，结合先进的质量管理方法和控制技术，建立贯穿产品生产整个生命周期的质量管理和全产业链质量追溯体系，以保证产品生产的全过程质量控制。

中药制剂来源于植物、动物、矿物，需要经过药材的种植养殖、采收加工、饮片炮制、药品研发、制剂生产、贮藏、运输等多个步骤逐渐形成。为满足药品安全性、有效性的要求，需要从中药研发的全流程出发，重视药材、饮片、中间体、制剂的相关性研究，从源头开始建立各阶段的质量控制措施。

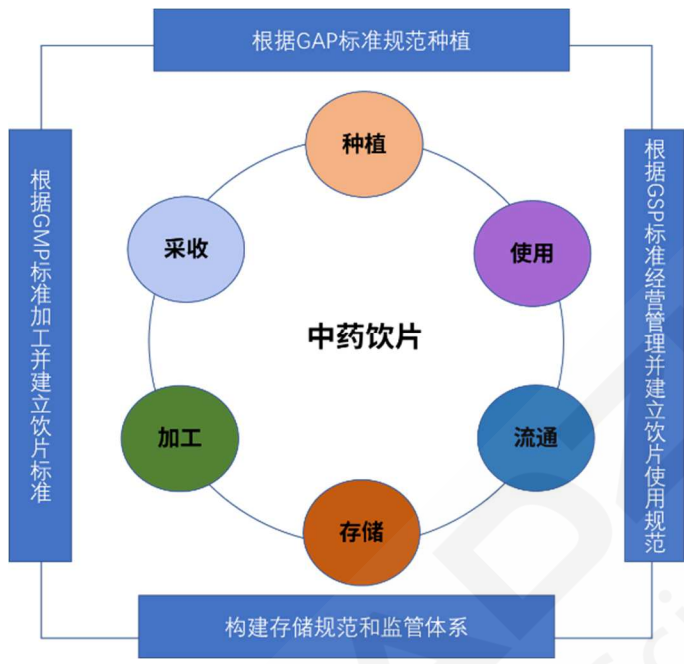


2.1 中药源头的质量控制

药材是中药新药研发和生产的源头，其质量是影响中药安全性、有效性和质量可控的关键因素。药材生产链长，影响因素多，控制难度较大，需对基原与药用部位、产地、种子种苗、种植养殖、采收、产地加工、包装贮藏等环节进行全过程质量控制。我国要求中药材生产企业参照中药材生产质量管理规范(GAP)要求进行药材种植养殖和野生药材的采收、加工、包装、贮藏等的研究和管理。鼓励采用多指标、多手段的质控方法和整体质量控制方法研究完善质量标准，重点加强安全性和有效性相关指标的研究和质量控制，从源头降低外源性污染物发生的风险，同时需关注药材的可持续利用。

中药复方制剂一般以中药饮片为原料，其中饮片加工炮制对饮片质量有直接影响。对饮片炮制进行全过程质量控制，可保证饮片质量的稳定。研究企业应根据中医药理论、临床用药及中药新药

研究设计需要，在继承传统工艺的经验和基础上对中药材进行加工炮制，对炮制方法、工艺参数、炮制程度、贮藏管理进行深入研究，建立完善的饮片标准。



2.2 工艺过程的质量控制

中药生产工艺过程质量控制技术是实现中药产品质量可控的基础。中药制剂生产具有工艺复杂、工序步骤繁琐、影响因素纵多等特点，涉及前处理、提取、浓缩、纯化、分离、干燥、制剂成型、包装等工艺步骤。生产过程中各因素如环境、工艺参数、人员操作、设备等的变化均可能导致产品质量的影响。中药复方制剂生产工艺研究应基于“质量源于设计”的理念，充分了解制剂关键质量属性和量质传递规律，确定关键工艺参数及限度范围，通过严格的生产过程控制、严谨的生产数据记录、科学的放行检验标准等保证中药制剂质量的均一稳定。



中药生产链长，影响因素多，品质成因复杂。要强化全过程管控，突破中药质量瓶颈，重质量讲效益，全面推动中药产业的质量变革，以高品质中药产品更好地满足人民群众的健康需求。

第 3 章 中药全过程质量控制解决方案

岛津从中药全过程质量控制相关的研究内容进行多角度切入，为践行药品全生命周期管理提供技术支持。本文集将岛津涉及中药全过程质量控制的具体应用方案分为了四个部分，包括中药种植环境、中药材加工、中药研发、中成药生产及质量控制。其中中药材加工部分分为炮制用辅料分析、饮片检验及饮片掺杂使假；中药研发部分分为物质基础研究及药学研究；中药生产及质量控制部分分为中成药检验和中成药掺杂使假，旨在提供中药全过程质量控制研究及检测的全方位应用解决方案。方案中涉及到的仪器涵盖 ICPMS、TOC、FT-IR、DSC、DIA、LC、GC、LCMS、LC-MSMS、GCMS、GC-MSMS、LCMS-Q-TOF、iMScope、MALDI-MS、MultiNA、CT、材料试验机等。以下列举了中药全过程质量控制中所涉及的主要检测项目以及岛津现有的应对检测技术，供相关研究人员参考和使用。

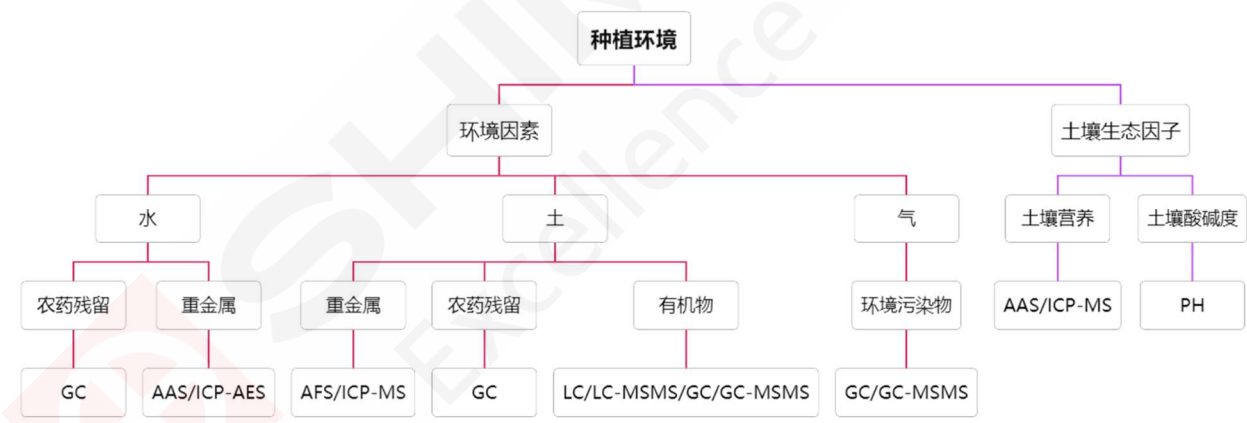
重金属及有害元素分析	· AAS、ICPMS、EDX、HPLC-ICPMS
农药残留	· GC、GCMS、GC-MSMS、LC-MSMS
真菌毒素	· LC、LC-MSMS
二氧化硫	· GC、IC
内源性毒性成分	· LC、LCMS、LC-MSMS、UC、GC、GCMS、GC-MSMS
活性成分分析	· LC、LCMS、LC-MSMS、UC、GC、GCMS、GC-MSMS
特征/指纹图谱	· LC、GC、LCMS、GC、GCMS
大分子检测	· MALDI-MS
未知成分定性、代谢组学	· LCMS-Q-TOF
化合物纯化和制备	· LC-Prep、UC-Prep
空间分布/成像	· iMScope、CT
核酸序列	· MultiNA
药包材检测	· 材料试验机、FTIR、DSC、TOC

3.1 中药种植环境

俗话说“药材好，药才好”，中药材种植产业是保障中医药事业健康发展的源头产业。2019年，《中共中央 国务院关于促进中医药传承创新发展的意见》强调“推行中药材生态种植”，中药材生态种植应当符合《中药材生产质量管理规范》（GAP）相关要求，如中药材产地的环境应符合国家相应标准（空气应符合大气环境质量二级标准；土壤应符合土壤质量二级标准；灌溉水应符合农田灌溉水质量标准；药用动物饮用水应符合生活饮用水质量标准），以保证中药材的质量和安

全，实现生态经济良性循环的中药材生态培育模式。

2021 年，国家林草局制定发布了《林草中药材生态种植通则》，从生态角度对林草生态系统中的中药材种植进行规范。在该通则中，对于种植区选定，要求选择森林、草原、湿地等未被污染，自然环境适宜，远离污染源，且符合国家有关规定的区域。在种植全过程中，明确要求开展产地环境质量监测、生产过程监管、产品质量检测等关键环节管控，确保林草中药材质量安全、可追溯。产地环境质量监测，主要涉及定期对产地土壤、空气、水质等环境质量监测，相关检验标准主要参照《地下水质量标准》（GB/T 14848-2017）、《农田灌溉水质标准》GB 5084-2021、《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准（试行）》（GB 15618-2017）、《环境空气质量标准》（GB 3095-2012）、《绿色食品-农药使用准则》（NY/T 393-2020）等。根据相关标准将种植环境具体检测项目及对应技术其总结如下。



GC-FPD 法测定地表水中有机磷农药残留

摘要：本文采用二氯甲烷萃取水中微量有机磷农药，使用 RTX-1701 毛细管色谱柱，FPD 检测器进行测定。6 种有机磷农药的平均加标回收率在 80%~105%，平行 6 次测定相对标准偏差小于 4%，方法最低检出限在 0.0014~0.0024 mg/L，可用于地表水中有机磷农药的测定。

关键词：气相色谱 有机磷农药 地表水

有机磷类农药在防治病虫害方面具有不可替代的作用，因此广泛用于农业生产。但过分滥用农药以及交通运输事故、工厂违规排放等因素导致水体污染进而危及饮水安全。在我国水处理技术未趋完善，各地水平不一的情况下，更要加强监测。GB/T 5750.9-2006《生活饮用水标准检验方法 农药指标》中使用填充柱但分离效果不尽理想，且采用单一色谱条件可测量的有机磷农药数量不多等缺点，本文使用二氯甲烷萃取水中有机磷农药，并用 DB-1701 石英毛细管柱，程序升温气相色谱法同时对 GB 3838-2002《地表水环境质量标准》中 6 种有机磷农药进行定量测定，结果良好，可应用于环境监测行业地表水中有机磷类农药的检测。

1. 实验部分

1.1 仪器

气相色谱仪：GC-2010 Plus 带 FPD 检测器

1.2 分析条件

色谱柱：Rtx-1701, 30m×0.25mm×0.25μm	进样方式：不分流进样, 1min
进样口温度：280℃	检测器温度：280℃
柱温程序：60℃ (1min)-(20℃/min)-150℃ - (10℃/min)-260℃(5 min)	氢气流量：62.5 mL/min
恒线速度方式：40 cm/sec	空气流量：90.0 mL/min

1.3 样品制备

1.3.1 标准溶液配制

6种有机磷标样购自美国Restek公司，浓度为100 ppm。用色谱纯的二氯甲烷稀释混合标样，配置成浓度为0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 ug/mL的标准工作溶液。

1.3.2 水样品前处理方法

如图1所示。

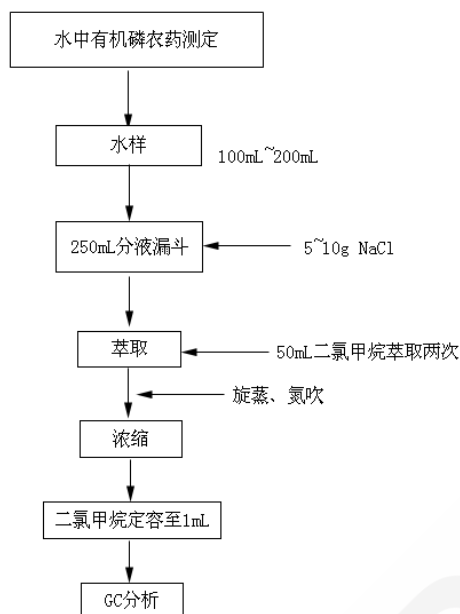


图 1. 水样品前处理流程图

2. 结果与讨论

2.1 标准样品的色谱图

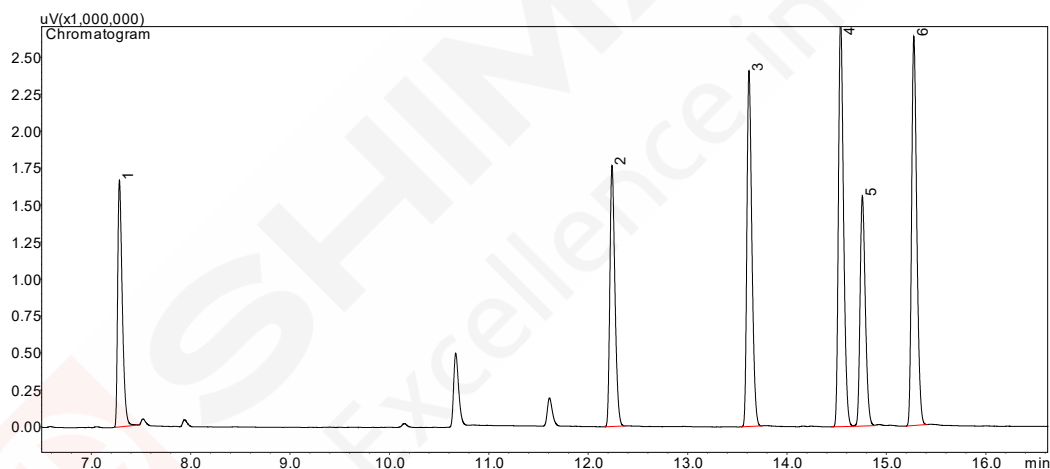


图 2. 混合标样色谱图 (0.5 ug/mL)

1 敌敌畏 2 内吸磷 3 乐果 4 甲基对硫磷 5 马拉硫磷 6 对硫磷

2.2 校准曲线

将浓度为0.05、0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以峰面积为横坐标，浓度为纵坐标，绘制校准曲线如图3所示。6种有机磷农药在0.05~2.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内所得校准曲线线性关系良好，相关系数及检出限如下表1所示。

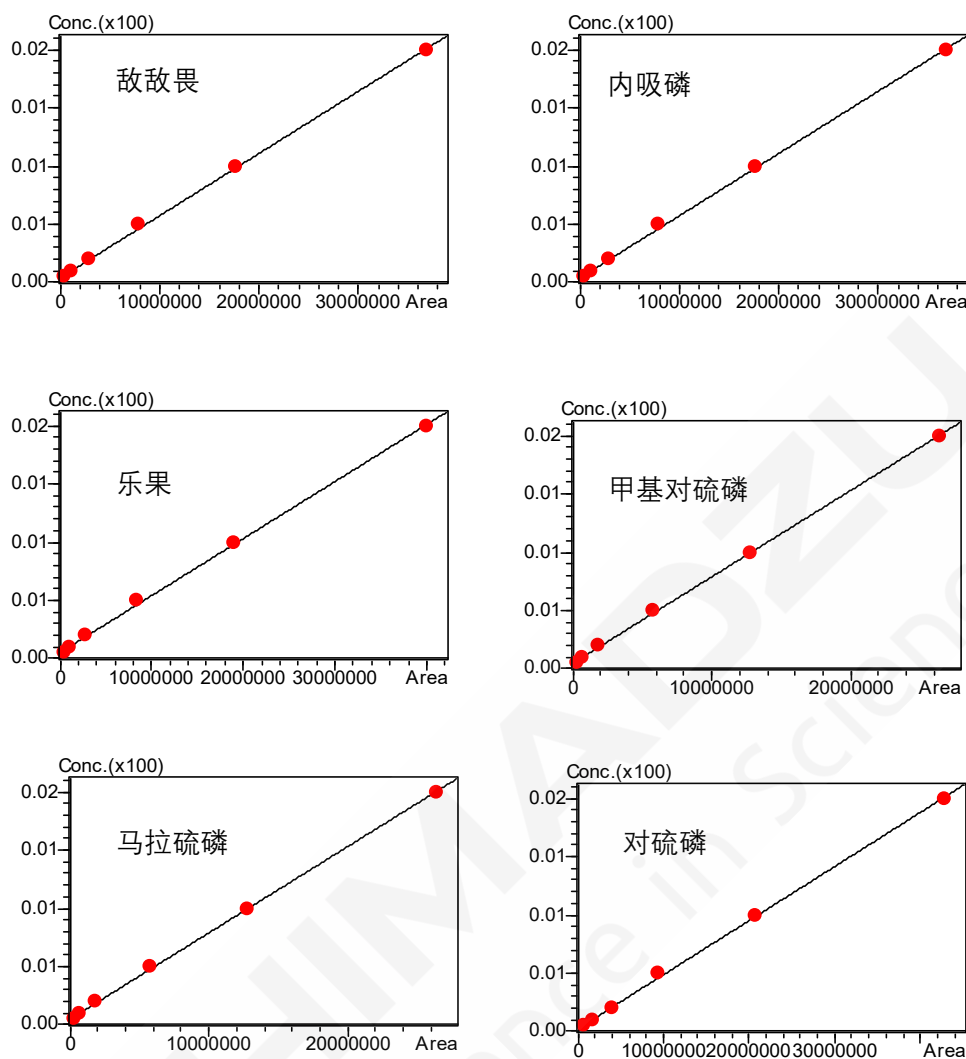


图 3. 6 种有机磷农药的标准工作曲线

表 1. 6 种有机磷农药校准曲线相关系数及检出限

No.	名称	相关系数 r	检出限(mg/L)
1	敌敌畏	0.9986	0.0024
2	内吸磷	0.9995	0.0022
3	乐果	0.9996	0.0016
4	甲基对硫磷	0.9997	0.0014
5	马拉硫磷	0.9998	0,0023
6	对硫磷	0.9997	0.0014

2.3 回收率测试

将混合标准溶液添加到水中，按照样品前处理方法制备，加标量分别为0.05 μg 和0.5 μg 。各浓度加标样品平行制样6次。回收率及平行样相对标准偏差结果见表2。

表 2 有机磷农药加标回收率

序号	名称	加标 1 平均回收率%	RSD% (n=6)	加标 2 平均回收率%	RSD% (n=6)
		0.05 µg		0.5 µg	
1	敌敌畏	86.7	2.68	93.3	1.56
2	内吸磷	83.4	3.15	90.6	2.35
3	乐果	92.6	2.39	104.3	2.25
4	甲基对硫磷	87.1	1.24	95.3	1.37
5	马拉硫磷	85.3	2.83	101.2	2.47
6	对硫磷	93.8	1.25	98.5	1.48

3. 结论

采用岛津GC-2010 Plus气相色谱仪FPD检测器对地表水中有机磷农药残留进行测定，前处理方法操作简单，检测灵敏度高，重现性好。本方法可用于地表水中有机磷农药残留的检测。

ICPMS-2030 测定地下水中多种金属元素的含量

摘要：参考环境标准HJ 678-2013《水质 金属总量的消解 微波消解法》和《全国土壤污染状况详查地下水样品分析测试方法技术规定》，使用岛津ICPMS-2030型电感耦合等离子体质谱仪测定地下水中多种可溶性金属元素和总量金属元素的含量。实验结果表明，该方法操作简单，定量准确，线性范围宽，可满足地下水中多种金属元素含量的同时分析。

关键词：地下水 ICPMS-2030 金属元素

地下水是水资源的重要组成部分，具有水量稳定，水质好的优点，是农业灌溉、工矿和居民生活用水的重要水源之一。然而据《全国地下水污染防治规划》介绍，来自地表污水排放和农耕、垃圾填埋渗透等方面的污染使得中国过半城市的地下水受到不同程度的污染，其中铅、砷、铬、锰等重金属污染是地下水污染的主要组分。因此，准确分析测试地下水样品中的金属元素含量，对土壤污染状况详查和地下水污染修复具有重要的指导意义。电感耦合等离子体质谱法用于地下水中重金属的检测具有检出限低、动态范围宽、分析速度快、准确度高等无可比拟的优点。

本文参考环境标准 HJ 678-2013《水质 金属总量的消解 微波消解法》和《全国土壤污染状况详查地下水样品分析测试方法技术规定》，使用岛津 ICPMS-2030 型电感耦合等离子体质谱仪测定地下水中的多种可溶性金属元素和总量金属元素的含量。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津ICPMS-2030电感耦合等离子体质谱仪

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液（1+1）浸泡24小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用的HCl和HNO₃为优级纯试剂，实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品前处理

1.3.1 可溶性元素

可溶性元素样品采集后立即用0.45 μm滤膜过滤，弃去初始的滤液50 mL，用少量滤液清洗采样瓶，收集所需体积的滤液于采样瓶中，加入适量的硝酸将酸度调节至pH<2。

1.3.2 元素总量

量取25 mL混合均匀的水样于微波消解罐中，加入4 mL浓HNO₃和1 mL浓HCl，观察溶液，如有大量气泡产生，置于通风橱中静置，待反应平稳后盖上消解罐盖，放入微波消解仪中，设定消解温度为180℃，消解持续时间为15 min，开始消解。消解结束后取出消解内罐，置于电热板上亚沸状态下加热浓缩，定容至25 mL容量瓶中，摇匀待测。

1.4 仪器参数

等离子体参数:

高频功率: 1.2 kW

辅助气流速: 1.1 L/min

矩管类型: Mini

雾化室: 旋流

采样深度: 5.0 mm

碰撞池参数:

碰撞气种类: He

池电压: -21 V

等离子体气流速: 8.0 L/min

载气流速: 0.7 L/min

雾化器类型: 同心

雾室温度: 5 °C

高频频率: 27.12 MHz

碰撞气流速: 6.0 mL/min

能量过滤器电压: 5.0 V

2. 结果与讨论

2.1 校准曲线溶液配制

配制介质为5% HNO₃的Ag、As、Be、Cd、Co、Cr、Cu、Mn、Mo、Ni、Pb、Sb、Se、Sn、Ti、Tl、V和Zn元素不同浓度标准溶液于50 mL容量瓶中, 配制浓度如表1所示。配制浓度为200 µg/L的Sc、Ge、Y、Tb和Ho内标溶液于100 mL容量瓶中。

表 1. 标准溶液浓度及分析质量数

元素	质量数 (amu)	校准曲线浓度(µg/L)					
		STD1	STD2	STD3	STD4	STD5	STD6
Ag	107	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
As	75	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Be*	9	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Cd	114	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Co	59	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Cr	52	0.00	1.00	5.00	10.0	20.0	50.0
Cu	65	0.00	1.00	5.00	10.0	20.0	50.0
Mn	55	0.00	1.00	5.00	10.0	20.0	50.0
Mo	98	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Ni	60	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Pb	208	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Sb	121	0.00	1.00	5.00	10.0	20.0	50.0
Se	78	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Sn	120	0.00	1.00	5.00	10.0	20.0	50.0
Ti	48	0.00	1.00	10.0	50.0	100.0	200.0
Tl	205	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
V	51	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0
Zn	66	0.00	0.50	1.00	5.00	10.0	20.0

注: *为使用 No Gas 模式

2.2 部分元素校准曲线

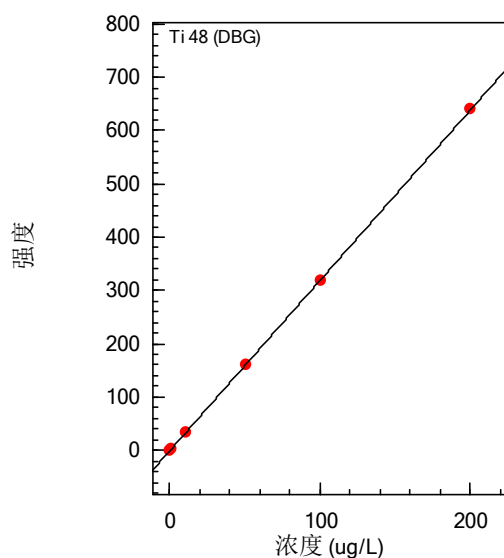


图 1. Ti 元素的校准曲线 $r=1.00000$

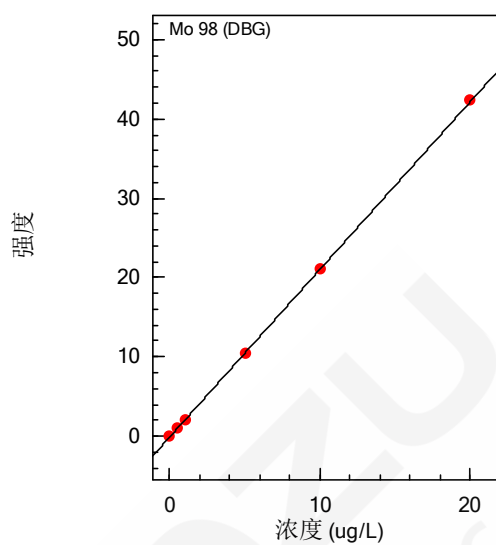


图 2. Mo 元素的校准曲线 $r=1.00000$

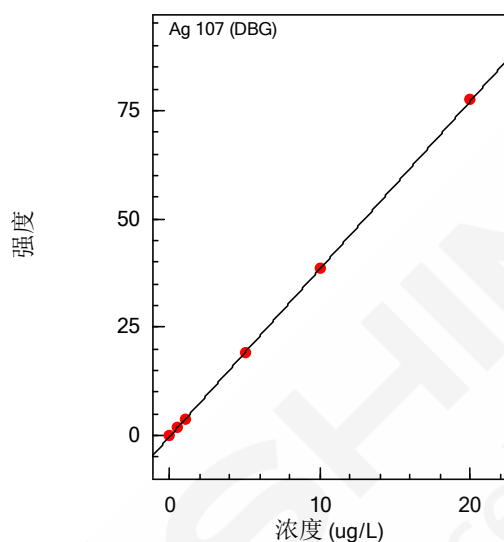


图 3. Ag 元素的校准曲线 $r=1.00000$

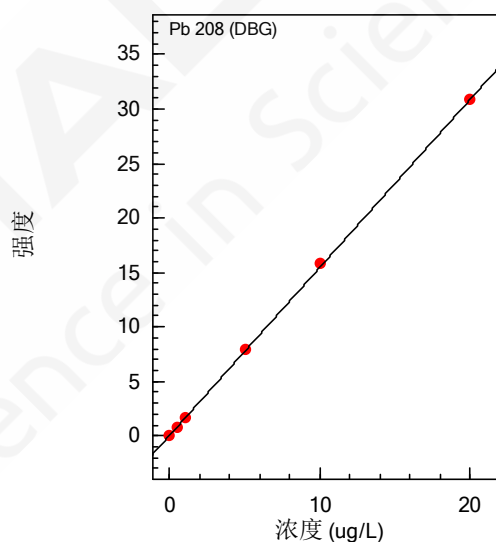


图 4. Pb 元素的校准曲线 $r=0.99993$

2.3 部分元素质量轮廓图

质谱分析存在着同量异位素干扰、多原子离子干扰、难熔氧化物干扰、双电荷离子干扰和基体干扰等多种类型的干扰因素。ICPMS-2030的八极杆碰撞池通过引入氦气碰撞，可以有效地消除干扰。当分析结果异常，需要经验去识别甄选时，岛津LabSolutions ICPMS软件具有独特的“诊断助手”功能，可根据各元素的质量灵敏度、等效背景浓度、干扰情况等因素综合判断，对结果做出“Best”，“Good”和“NG”的判断，并给出相应的诊断依据，可大大提高分析效率并保证分析结果的准确性。

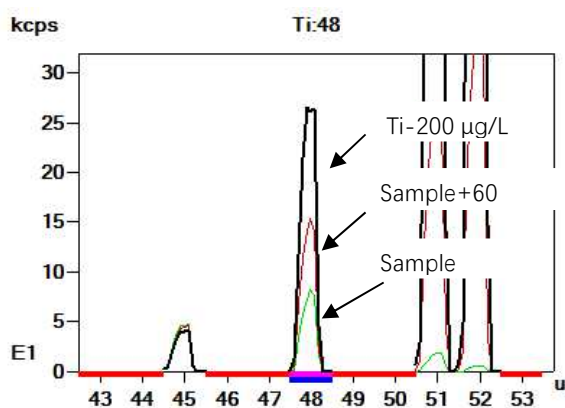


图 5. Ti 元素质量轮廓图

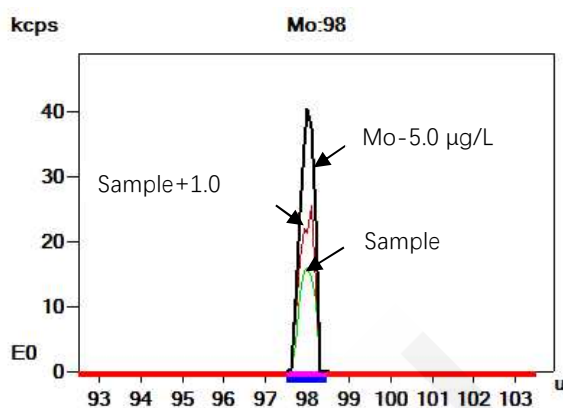


图 6. Mo 元素质量轮廓图

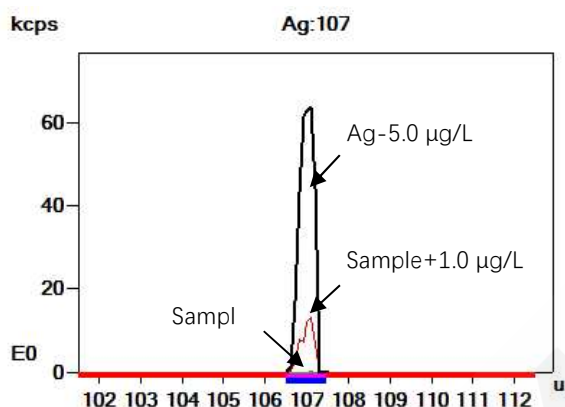


图 7. Ag 元素质量轮廓图

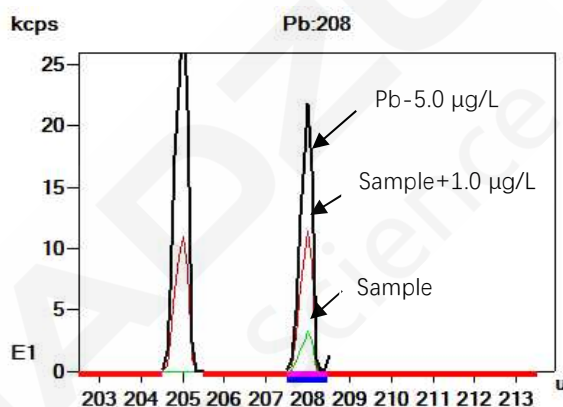


图 8. Pb 元素质量轮廓图

2.4 样品分析结果及检出限

使用ICPMS-2030直接测定地下水中可溶性和总量金属元素的含量。对样品空白的分析元素进行11次测定，依据HJ 168-2010《环境监测 分析方法标准制修订技术导则》中检出限计算公式 $MDL=t(n-1,0.99)*S$ 计算各元素的方法检出限。实验结果见表2和表3。

表 2. 地下水样品可溶性元素分析结果

元素	校正内标	方法检出限 ($\mu\text{g/L}$)	测定结果($\mu\text{g/L}$)	RSD(%) (n=3)	加标量($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)
Ag	89Y	0.015	N.D.	--	1.00	81
As	74Ge	0.05	2.16	1.17	1.00	106
Be*	45Sc	0.002	N.D.	--	1.00	116
Cd	89Y	0.007	0.03	2.02	1.00	106
Co	45Sc	0.008	0.39	2.42	1.00	88
Cr	45Sc	0.02	0.06	1.52	1.00	92
Cu	45Sc	0.06	0.67	2.17	1.00	89
Mn	45Sc	0.018	0.57	1.61	1.00	104
Mo	89Y	0.05	2.12	2.19	4.00	94
Ni	45Sc	0.03	0.77	2.71	1.00	87
Pb	165Ho	0.02	N.D.	--	1.00	101
Sb	159Tb	0.31	1.35	0.62	1.00	106
Se	89Y	0.12	0.43	4.99	1.00	120
Sn	89Y	0.06	N.D.	--	1.00	97

Ti	45Sc	0.05	49.9	0.53	50.0	94
Tl	165Ho	0.006	N.D.	--	1.00	97
V	45Sc	0.007	0.81	1.57	1.00	93
Zn	45Sc	0.09	0.59	2.40	4.00	108

注：*使用 No Gas 模式；N.D.表示未检出

表 3. 地下水样品元素总量分析结果

元素	校正内标	方法检出限 (μg/L)	测定结果(μg/L)	RSD(%) (n=3)	加标量(μg/L)	加标回收率 (%)
Ag	89Y	0.015	0.08	1.23	1.00	101
As	74Ge	0.05	2.38	2.44	4.00	88
Be*	45Sc	0.002	N.D.	--	1.00	107
Cd	89Y	0.007	0.07	1.64	1.00	98
Co	45Sc	0.008	0.60	2.25	1.00	97
Cr	45Sc	0.02	0.99	2.28	1.00	100
Cu	45Sc	0.06	1.63	2.58	4.00	92
Mn	45Sc	0.018	42.4	0.40	60	89
Mo	89Y	0.05	2.07	1.17	4.00	100
Ni	45Sc	0.03	1.80	1.53	4.00	90
Pb	165Ho	0.02	1.53	0.33	4.00	97
Sb	159Tb	0.31	3.28	1.06	4.00	84
Se	89Y	0.12	0.29	4.54	1.00	103
Sn	89Y	0.06	1.44	1.73	1.00	95
Ti	45Sc	0.05	52.9	0.79	60.0	90
Tl	165Ho	0.006	N.D.	--	1.00	98
V	45Sc	0.007	4.59	1.29	4.00	94
Zn	45Sc	0.09	9.01	1.82	4.00	95

注：*使用 No Gas 模式；N.D.表示未检出

3. 结论

使用ICPMS-2030电感耦合等离子体质谱仪测定了地下水中的多种金属元素含量，分析结果线性相关系数良好， $r>0.9995$ ，加标回收率良好，测定结果满足技术规范的质控要求的70%-130%之间。该方法具有灵敏度高，检出限低，精密度高，分析速度快，操作简单，可行度高等特点，线性范围宽，可满足地下水样品中多种可溶性和总量金属元素含量的分析。

HPLC 法检测土壤中的 16 种多环芳烃

摘要：本文参考《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法》标准的测定方法对土壤中 16 种多环芳烃进行了测定。该方法采用超声波萃取方法提取土壤样品中多环芳烃，萃取液用硅胶柱方式净化，浓缩定容后，用配备了紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪检测。定量限在 0.16-3.39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 之间，平均回收率在 71.2%和 103%之间，相对标准偏差在 6.1%和 13.8%之间。

关键词：土壤 多环芳烃 液相色谱

多环芳烃（PAHs）是指分子中含有两个或两个以上苯环结构的化合物，是煤、石油、煤焦油等有机化合物的热解或不完全燃烧产物，具有致畸、致癌、致突变和生物难降解的特性，是目前国际上关注的一类持久性有机污染物（POPs）。多环芳烃性质稳定，极易吸附在固体颗粒物上，在环境中难降解，可在生物体内蓄积。多环芳烃在环境中虽是微量的，但分布广，人们通过大气、水、食品、吸烟等途径摄取，是人类癌症的重要起因。多环芳烃的提取方法目前主要有索氏提取法、超声提取法、超临界流体萃取、微波辅助萃取、加压流体萃取等方法。

目前，多环芳烃的监测技术应用最广的分析方法是色谱法，常用的有气相色谱法和液相色谱法。高效液相色谱具有选择性好、灵敏度高的优点，应用最为普遍，已成为分析多环芳烃的首选方法。

本文参考《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法》（HJ784-2016）标准的条件，建立了测定土壤中16种多环芳烃含量的方法。该方法采用超声波萃取方法提取土壤样品中多环芳烃，萃取液用硅胶柱方式净化，浓缩定容后，用配备了紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪检测。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

本实验采用岛津 LC-20A 液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A ₃
输液泵	: SIL-20AC×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-20AC	检测器	: SPD-20AV、RF-20A
色谱工作站	: Lcsolution		

1.2 分析条件

色谱柱	: C18 柱 (4.6 mm × 250 mm I.D, 5 μm)		
流动相	: A-水; B-乙腈	柱温	: 30°C
进样体积	: 10 μL	检测波长	: 225 nm
流速	: 1.0 mL/min	荧光波长	: Em-420 nm, Ex-260 nm
洗脱方式	: 梯度洗脱, B 相起始浓度为 60%, 时间程序如表 1 所示。		

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间	单元	处理命令	值
8.00	Pumps	B.Conc	60
17.20	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	420
17.20	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	260
18.50	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	440
18.50	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	270
21.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	420
21.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	260
24.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength	430
24.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength	290
28.00	RF-20A(DET.B)	Emission Wavelength Ch2	500
28.00	RF-20A(DET.B)	Excitation Wavelength Ch2	250
18.10	Pumps	B.Conc	100
35.01	Pumps	B.Conc	60
45.00	Controller	Stop	

注：因为苯并[g,h,i]花和茚并[1,2,3-c,d]芘保留时间相近，为避免波长变换导致峰形变化，在此阶段荧光检测器使用双波长检测功能)

表 2. 各化合物检测波长(nm)

化合物	紫外波长	激发波长	发射波长
萘	225	275	350
蒽			
二氢蒽		275	350
芴		275	350
菲		275	350
蒽		260	420
荧蒽		270	440
芘		270	440
屈		260	420
苯并[a]蒽		290	430
苯并[b]荧蒽		290	430
苯并[k]荧蒽		290	430
苯并[a]芘		290	430
二苯并[a,h]蒽		290	430
苯并[g,h,i]花		290	430
茚并[1,2,3-c,d]芘		250	500

1.3 样品前处理

称取10.0 g试样用20 mL正己烷/丙酮（1+1）进行超声波萃取后,将萃取液转入旋转瓶中，60℃下用旋转蒸发仪浓缩至1 mL。依次用5 mL二氯甲烷和15 mL正己烷冲洗硅胶柱，弃去流出液。在溶剂流干之前，将1 mL萃取浓缩液转移到净化柱上，并用约0.5 mL的正己烷冲洗浓缩瓶，将洗涤液加入硅胶柱，然后再用2 mL二氯甲烷洗涤浓缩瓶，将洗涤液加入净化柱，用合适的容器接收流出液，最后用15 mL二氯甲烷洗涤净化柱，收集流出液于上述容器中。流出液经硫酸钠脱水、浓缩定容至1 mL以下，加入3 mL乙腈，再浓缩至1 mL。浓缩液经0.45 μm滤膜过滤后待测。

2.结果与讨论

2.1 16 种多环芳烃的标准曲线结果

图1、图2是浓度为1.0 $\mu\text{g/mL}$ 的多环芳烃标准品的在波长为225 nm时采集得到的紫外色谱图和使用表2的检测波长得到的荧光色谱图。从图中可知，各化合物都得到很好的分离。

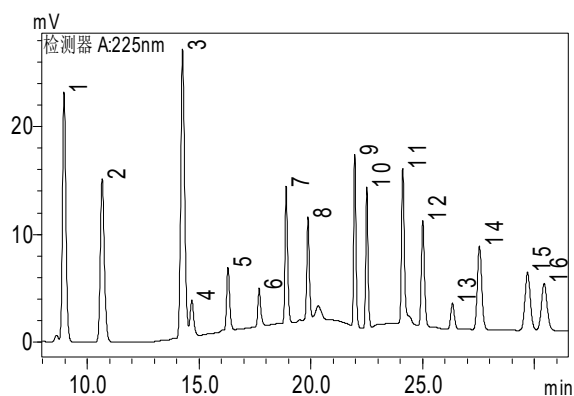


图 1. 多环芳烃标准品的紫外色谱图

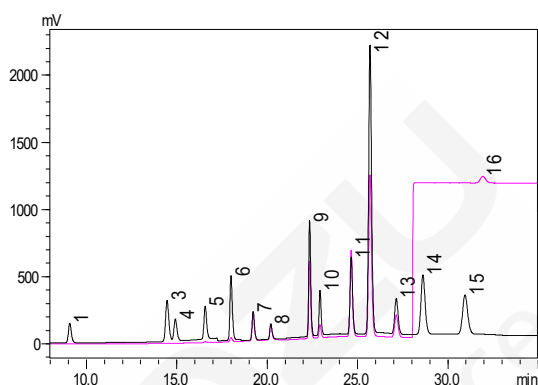


图 2. 多环芳烃标准品的荧光色谱图

2.2 线性关系

除茚用紫外检测器检测外，其它15种化合物用荧光检测器相应的激发波长和发射波长进行检测，将浓度为0.004 $\mu\text{g/mL}$ 、0.010 $\mu\text{g/mL}$ 、0.020 $\mu\text{g/mL}$ 、0.050 $\mu\text{g/mL}$ 、0.100 $\mu\text{g/mL}$ 和0.200 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准工作液按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，线性方程及相关系数见表3。在此浓度范围内，曲线的相关系数 r 在0.998-0.999之间，线性关系良好。

表 3. 16 种化合物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 r
1	萘	$Y = 70781620 X - 13904$	0.99994
2	苊	$Y = 186821 X - 255$	0.99995
3	二氢苊	$Y = 36496510 X - 37590$	0.99997
4	芴	$Y = 17198400 X - 7904$	0.99994
5	菲	$Y = 24662040 X - 12603$	0.99998
6	蒽	$Y = 42917560 X - 21787$	0.99983
7	荧蒽	$Y = 19198270 X - 17358$	0.99996
8	芘	$Y = 11059110 X - 22561$	0.99961
9	屈	$Y = 66793220 X - 39109$	0.99999
10	苯并[a]蒽	$Y = 26305980 X - 6879$	0.99999
11	苯并[b]荧蒽	$Y = 55460640 X - 28531$	0.99998
12	苯并[k]荧蒽	$Y = 242198400 X - 108271$	0.99998
13	苯并[a]芘	$Y = 33919700 X - 21366$	0.99961
14	二苯并[a,h]蒽	$Y = 70781620 X - 13904$	0.99994
15	苯并[g,h,i]花	$Y = 51615550 X - 27396$	0.99869
16	茚并[1,2,3-c,d]芘	$Y = 9275290 X + 2983$	0.99930

2.3 方法的重复性和回收率

对浓度为 50 $\mu\text{g/kg}$ 的土壤样品进行 6 次平行测定, 各组分的平均回收率在 71.2%和 103%之间, 满足检测的要求。相对标准偏差 (以 RSD%表示) 在 6.1%和 13.8%之间, 结果的重复性良好。

表 4. 多环芳烃加标回收率和重复性

化合物名称	平均回收率%	RSD%
萘	72.7	8.5
苊	75.0	9.9
二氢苊	71.2	6.1
芴	86.1	9.2
菲	77.4	9.7
蒽	94.7	9.5
荧蒽	79.7	13.8
芘	79.7	9.4
屈	87.3	9.3
苯并[a]蒽	89.2	9.9
苯并[b]荧蒽	84.0	7.3
苯并[k]荧蒽	79.4	9.7
苯并[a]芘	79.0	9.7
二苯并[a,h]蒽	103	8.7
苯并[g,h,i]芘	87.1	9.0
茚并[1,2,3-c,d]芘	75.4	13.6

2.4 方法的灵敏度

以土壤取样量为10.0 g计算得到的各组分的检出限 (S/N=3, LOD表示)、定量限 (S/N=10, LOQ表示) 见表5。方法的检出限为0.05-1.12 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 定量限为0.16-3.39 $\mu\text{g/kg}$ 之间, 方法的灵敏度良好。

表5. 检出限及定量限

化合物名称	LOD ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ ($\mu\text{g/kg}$)
萘	0.69	2.10
苊	0.66	2.00
二氢苊	0.05	0.16
芴	0.28	0.85
菲	0.28	0.84
蒽	0.24	0.71
荧蒽	0.23	0.71
芘	0.55	1.66
屈	0.89	2.71
苯并[a]蒽	0.34	1.02
苯并[b]荧蒽	0.30	0.90
苯并[k]荧蒽	0.40	1.20
苯并[a]芘	0.40	1.21

二苯并[a,h]蒽	0.26	0.81
苯并[g,h,i]花	0.13	0.39
茚并[1,2,3-c,d]芘	1.12	3.39

3.结论

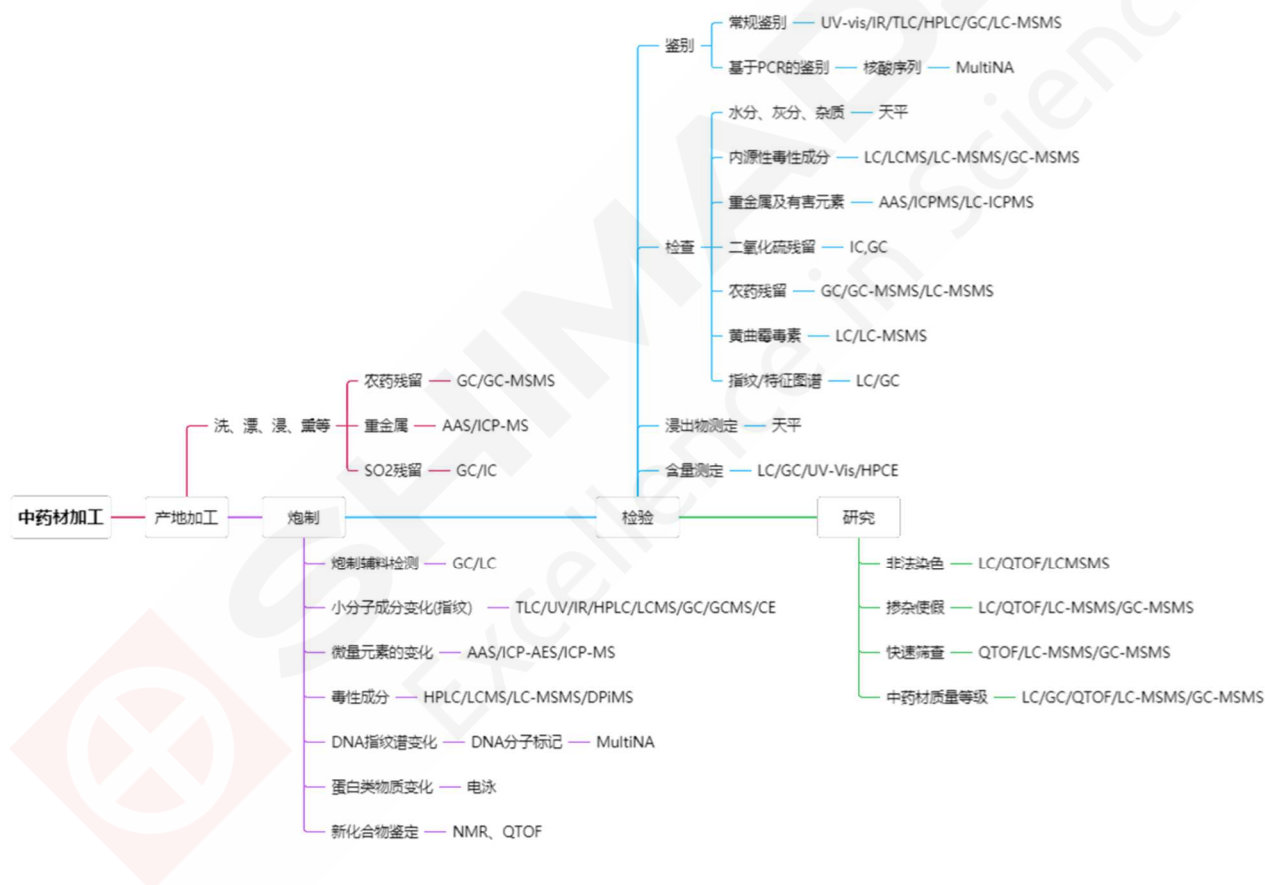
本实验参考《土壤和沉积物 多环芳烃的测定 高效液相色谱法》(HJ784-2016)的方法,使用了配有紫外/荧光检测器的高效液相色谱仪建立了土壤中16种多环芳烃的含量测定方法。16种多环芳烃的最低定量限在0.16-3.39 $\mu\text{g/kg}$ 之间,校准曲线的相关系数 r 在0.998-0.999之间,线性关系良好。本法具有快速便捷,重复性好和灵敏度高等优点,适合土壤中多环芳烃的检测。



SHIMADZU
Excellence in Science

3.2 中药材加工

中药材加工是指对中药原材料进行技术性系统处理，根据加工目的与流程的不同，依次可分为中药材产地加工、中药材炮制加工、中药材深加工 3 种加工方式。在中药产业运行的背景下，通过中药材产地加工，对药用植物或是药用动物进行初加工，之后按照药物的性质、用途以及商品的属性等，进行中药材加工炮制以形成中药饮片制品。中药深加工的主要目的是为了提高中药材的药效和临床疗效，同时减少其毒副作用和不良反应。通过现代化的分离、提纯和合成技术，可以将中药材中的有效成分提取出来，制成高纯度、高疗效的中成药，提高中药的治疗效果和安全性。中药饮片制品可单独进行销售，同时也是中药复方制剂的原料来源。控制中药饮片质量是中药全过程质量控制的关键，以下对中药饮片制品的各流程中所涉及的检测项目及相关技术进行了总结，供相关研究人员参考和使用。



3.2.1 炮制用辅料分析

中药炮制是按照中医药理论，根据临床用药需求和药材自身性质，所采取的一项独特的制药技术。中药炮制辅料指的是炮制过程当中对中药饮片有辅助作用的物料，它对中药饮片的作用包括加强疗效、减弱毒性、影响药材理化性质进而转变药性。常用的炮制辅料有蜂蜜、酒、醋、盐、麻油、生姜、麦麸、明矾、黑豆、牛胆汁、海蛤粉、甘草、砂子等。中药炮制辅料的质量在一定程度上决定了中药饮片的质量，从而对临床疗效、用药安全和药物的适用范围等方面产生影响。因此，炮制用辅料越来越受到中药行业从业者及相关部门的关注。

《中华人民共和国药品管理法》(2019年二次修订)第四十四条规定“中药饮片应当按照国家药品标准炮制；国家药品标准没有规定的，应当按照省、自治区、直辖市人民政府药品监督管理部门制定的炮制规范炮制”。第四十五条规定“生产药品所需的原料、辅料，必须符合药用要求”。中药饮片作为药品，其在炮制过程中使用的炮制用辅料应当具有相关的药用要求及质量标准。由于炮制用辅料来源广泛，成分复杂，且大多具有“药食同源”的特点，如酒、醋、姜、盐、蜜等炮制用辅料，均为常见的食品，多年来，其药用标准的制定进展较慢。《中国药典》2020年版关于炮制用辅料的要求主要集中在0213炮制通则中，药典凡例及药用辅料通则对于药用辅料要求则主要是针对制剂生产中使用的辅料制定的，并不适用于炮制用辅料。药典炮制通则中规定了加辅料炮制时常用辅料的用量及临用现制的部分辅料(如姜汁)的制法，但大多数辅料没有明确的技术要求，也没有质量标准。一部分炮制用辅料，本身具有药效，可称为“药辅同源”品种，如滑石粉、蜂蜜，药典已经收载其药品标准。一部分炮制用辅料如大豆油已收录药用辅料标准。但药品标准和药用辅料标准是否适合作为炮制辅料标准还有待相关部门研究探讨。

本章节收录了部分“药食同源”炮制用辅料参考食品行业相关标准检测的应用案例，供研究人员参考。



HPLC 法测定蜂蜜中羟甲基糠醛的含量

摘 要：本文利用岛津 Essentia LC-16 高效液相色谱仪，建立了蜂蜜中羟甲基糠醛含量的检测方法。在 0.10~10.0 mg/L 浓度范围内，线性关系良好，相关系数 r 为 0.9999。对 0.10 mg/L 的标准溶液进行 6 次重复性测试，峰面积和保留时间的相对标准偏差分别为 1.31% 和 0.31%。在 0.20 mg/L、2.0 mg/L、6.0 mg/L 三个浓度的加标回收试验中，回收率在 98.0%~100.2% 之间。该方法适用于蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定。

关键词：高效液相色谱 蜂蜜 羟甲基糠醛

蜂蜜的主要成分是葡萄糖和果糖，在高温条件下两者均易脱水生成 5-羟甲基-2-糠醛（即羟甲基糠醛）。羟甲基糠醛的存在虽然不影响食品安全，但它是一种具有难闻气味的黑色物质，会导致蜂蜜味道的改变和颜色的加深，从而影响蜂蜜的感官质量和内在品质。中华全国供销合作行业标准 GH/T 18796-2012《蜂蜜》将羟甲基糠醛作为考量蜂蜜新鲜度一项重要指标，规定其含量要求小于 40 mg/kg。

蜂蜜在投放市场以前，必须经过浓缩、杀菌、过滤等加工处理，以防止产品结晶和发酵，同时去除蜂蜜中的有害杂质和微生物。蜂蜜的加工处理不当，不仅会破坏其中的维生素和生物活性成分，同时会造成淀粉酶活性的降低和羟甲基糠醛含量的增加。因此，蜂蜜在加工过程中应严格控制加热温度和加热时间。通过监控加工过程中的羟甲基糠醛含量变化，可以指导加工工艺优化，提升产品的质量。

本文参照 GB/T 18932.18-2003《蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法 液相色谱-紫外检测法》，利用岛津高效液相色谱仪 Essentia LC-16，建立了蜂蜜中羟甲基糠醛的测定方法。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Essentia LC-16 高效液相色谱仪，配置信息如下：

系 统 控 制 器	: CBM-20Alite	脱 气 机	: DGU-20A3R
输 液 泵	: LC-16×2	柱 温 箱	: CTO-16L
自 动 进 样 器	: SIL-16	检 测 器	: SPD-16
色 谱 工 作 站	: Labsolutions Ver. 5.98		

1.2 分析条件

液相色谱条件如下：

色 谱 柱 : ShimNexCS C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m,
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:380-01230-01)

流 动 相 : A-水; B-甲醇

进样体积：10 μ L

柱温：30 $^{\circ}$ C

流速：1.0 mL/min

洗脱方式：等度洗脱，A:B=90:10 (v/v)

检测波长：285 nm

1.3 样品前处理

按照GB/T 18932.18-2003《蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法 液相色谱-紫外检测法》处理方式，流程见图1。

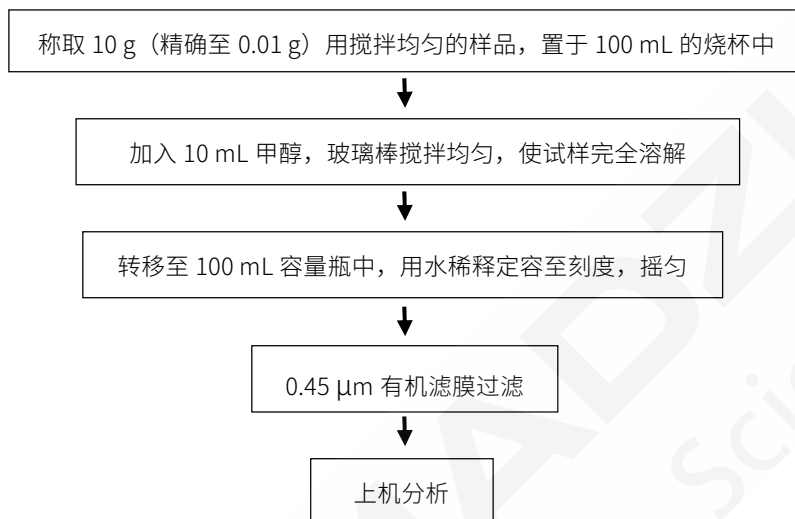


图 1. 样品前处理流程

注：样品结晶时，可将样品盖好置于 20-25 $^{\circ}$ C 水浴中低温加热溶解，搅拌均匀后再取样称量。

1.4 标准溶液配置

羟甲基糠醛标准储备液：称取 20 mg (精确至 0.01 mg) 的羟甲基糠醛标准物质 (纯度 99.9%) 于 100 mL 容量瓶中，用 10 mL 甲醇溶解，用水稀释定容至刻度，混匀，得到 0.20 mg/mL 的标准储备液。4 $^{\circ}$ C 冰箱低温保存。

羟甲基糠醛标准工作溶液：取 8 个干净的 100 mL 容量瓶，用移液器依次加入 0.05 mL、0.10 mL、0.50 mL、1.0 mL、2.0 mL、3.0 mL、5.0 mL 羟甲基糠醛标准储备液，用 10% 甲醇水溶液稀释定容至刻度，摇匀，得浓度为 0.10 mg/L、0.20 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、6.0 mg/L、10.0 mg/L 的标准工作溶液。

2. 结果与讨论

2.1 标准品色谱图

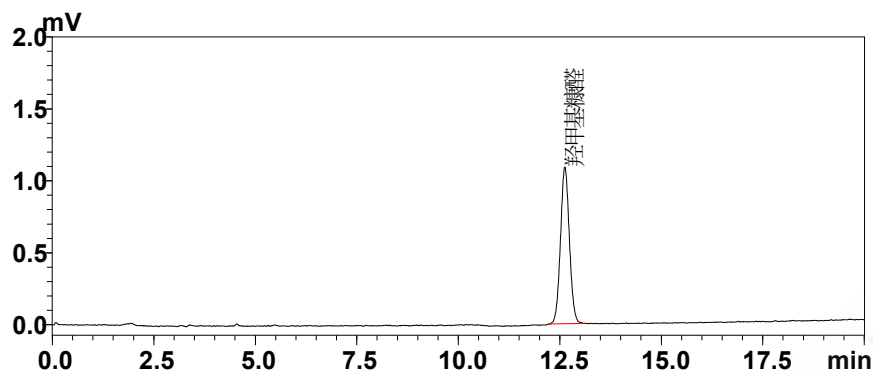


图 2. 羟甲基糠醛标准溶液色谱图 (0.20 mg/L)

表 1. 羟甲基糠醛信息表

化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
羟甲基糠醛	5-Hydroxymethyl-2-furfural	67-47-0	12.618

2.2 校准曲线

取1.4配制得到的羟甲基糠醛标准工作溶液分别进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制校准曲线，在0.10~10.0 mg/L范围内，线性相关系数为0.9999。如图3所示。测试0.10 mg/L标准工作溶液，得检出限 (S/N=3) 为0.0027 mg/L, 定量限 (S/N=10) 为0.0090 mg/L。

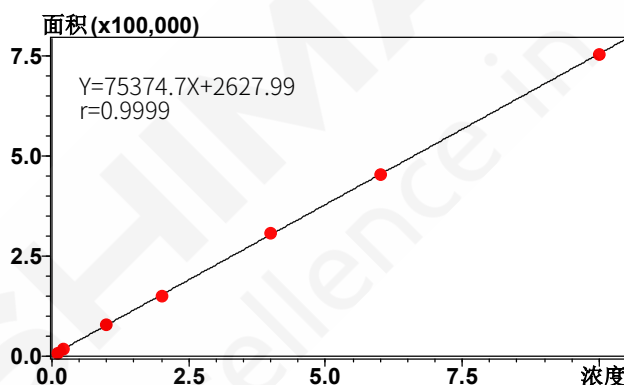


图 3. 羟甲基糠醛校准曲线

2.3 重复性实验

对0.10 mg/L的标准工作溶液，进行连续6次平行测定，考察重复性，其峰面积的RSD为1.31%、保留时间的RSD为0.31%。

2.4 样品测定和加标回收率考察

随机抽取市售蜂蜜和农家自采蜂蜜各1瓶，按照1.3样品前处理制备得到样品溶液，测定其羟甲基糠醛的含量，同时对市售蜂蜜样品分别进行0.20 mg/L、2.0 mg/L和6.0 mg/L浓度各3份平行加标，色谱图如图4所示，测定结果见表2和表3。结果显示：市售蜂蜜和农家自采蜂蜜样品羟甲基糠醛含量分别为6.09 mg/kg、28.42 mg/kg，市售蜂蜜加标平均回收率在98.0%~100.2%之间，相对标准偏差RSD%在0.66%~1.24%之间。

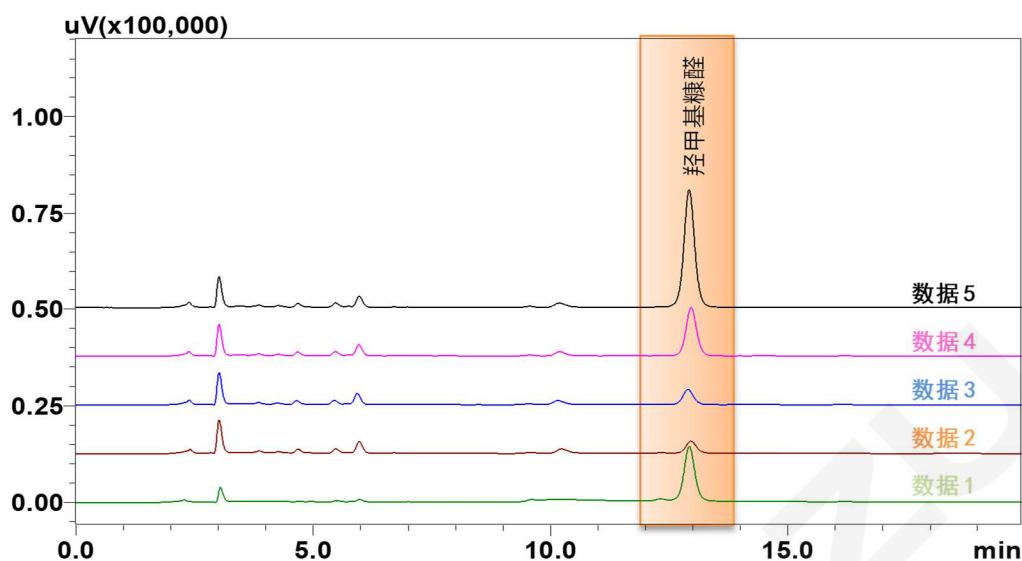


图 4. 蜂蜜样品、蜂蜜样品加标色谱图

(数据 1: 农家自采蜂蜜样品; 数据 2: 市售蜂蜜样品; 数据 3: 市售蜂蜜加标 0.2 mg/L 样品; 数据 4: 市售蜂蜜加标 2.0 mg/L 样品; 数据 5: 市售蜂蜜加标 6.0 mg/L 样品)

表 2. 蜂蜜样品羟甲基糠醛含量测定及加标试验结果 (n=3)

样品名称	样品重量 (g)	实测浓度 (mg/L)	试样含量 (mg/kg)	0.2 mg/L 加标量		2.0 mg/L 加标量		6.0 mg/L 加标量	
				回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)	回收率 (%)	RSD (%)
市售蜂蜜	10.31	0.628	6.09	99.6	1.24	100.2	0.53	98.0	0.66
农家自采蜂蜜	10.16	2.888	28.42	—	—	—	—	—	—

3. 结论

本文采用Essentia LC-16高效液相色谱仪建立了蜂蜜中羟甲基糠醛含量的测定方法。方法前处理简单，目标峰与杂质峰分离良好，干扰小。重复性测试和回收率试验结果表明，该方法回收率高，重现性好，可用于蜂蜜中的羟甲基糠醛含量的测定，为相关生产企业和检测机构提供参考。

HPLC 法测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素

摘要：本实验使用岛津 Nexera XR 超快速液相色谱仪，参考国标《GB/T 31579-2015 粮油检验 芝麻油中芝麻素和芝麻林素的测定 高效液相色谱法》建立测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素的分析方法。该方法在线性范围为 0.2-500.0 mg/L 内，芝麻素和芝麻林素的相关系数均为 0.9999，线性良好。仪器检测限和定量限范围分别为：芝麻素 0.019 mg/L 和 0.026 mg/L，芝麻林素 0.066 mg/L 和 0.085 mg/L。精密度实验中，芝麻素和芝麻林素的保留时间相对标准偏差为 0.068-0.13%；峰面积的相对标准偏差分别为 0.10-2.4%和 0.085-2.7%。芝麻素和芝麻林素加标回收率在 80.1-93.3%之间。

关键词：芝麻油 芝麻素 芝麻林素 高效液相色谱

芝麻油是从芝麻中提炼出来的，呈琥珀色，具有特殊香味。芝麻油作为食用油，可调制凉热菜肴，其含有人体必需的不饱和脂肪酸和氨基酸，居各种植物油之首。芝麻油中含有特有的芝麻素和芝麻林素，对流感病毒、仙台病毒和结核杆菌有抑制作用，临床上可用于抗病毒、杀菌剂、抗氧化剂、杀虫增效剂和治疗气管炎，在农业上可用作除虫菊酯的增效剂。

过去测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素所使用的分析方法有：紫外光谱法、薄层色谱法、气相色谱法等，而采用高效液相色谱法操作更为简便省时，结果准确度高。

本实验使用岛津Nexera XR 超快速液相色谱仪，参考国标《GB/T 31579-2015 粮油检验 芝麻油中芝麻素和芝麻林素的测定 高效液相色谱法》建立测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素的分析方法。岛津Nexera XR 超快速液相色谱仪具有选择性高、分析速度快、重复性好等特点，适合用于粮油检验的检测分析。

1. 实验条件

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera XR 超快速液相色谱仪，配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A5
输液泵	: LC-20ADXR×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-20ACXR	检测器	: SPD-M20A
色谱工作站	: LabSolutions Ver5.89		

1.2 分析条件

色谱	: Shim-pack XR-ODS II (3.0 mm×100 mm, 2.2 μm)		
流动相	: A-水 B-甲醇		
进样体积	: 5 μL	柱温	: 40℃
流速	: 0.9 mL/min	检测波长	: 287 nm
洗脱方式	: 等度洗脱, A/B = 25/75 (v/v)		

1.3 标准溶液配制

分别取芝麻素和芝麻林素标准品适量，配制成浓度为0.2、0.4、2.0、4.0、20.0、40.0、100.0和500.0 mg/L的标准系列溶液，于4℃冰箱中避光存放。

1.4 样品制备

参考国标《GB/T 31579-2015 粮油检验 芝麻油中芝麻素和芝麻林素的测定 高效液相色谱法》8.1样品的提取、净化和富集进行。称取0.5 g芝麻油样品，精确至1 mg，用2 mL SPE上样液（正己烷/三氯甲烷 = 70/30 (v/v)）充分溶解，以（1~2）滴/s的速度过串联双柱（氨基固相萃取柱串联硅胶固相萃取柱），弃去流出液；吸取5 mL的SPE上样液，以2滴/s的速度洗涤双柱，弃去洗涤液；取下氨基固相萃取柱，吸取3 mL的SPE上样液，以（1~2）滴/s的速度单独洗涤硅胶固相萃取柱，弃去洗涤液；吸取2 mL的SPE淋洗液（环己烷/丙酮 = 90/10 (v/v)），以（1~2）滴/s的速度洗涤硅胶固相萃取柱，弃去洗涤液；最后吸取10 mL的SPE洗脱液（环己烷/丙酮 = 80/20 (v/v)），以（2~3）滴/s的速度洗脱硅胶固相萃取柱，收集全部洗脱液于25 mL的棕色容量瓶中，并用异丙醇定容，作为样品提取液。样品提取液过滤后进行液相色谱测定。

2. 结果与讨论

2.1 标准品的色谱图

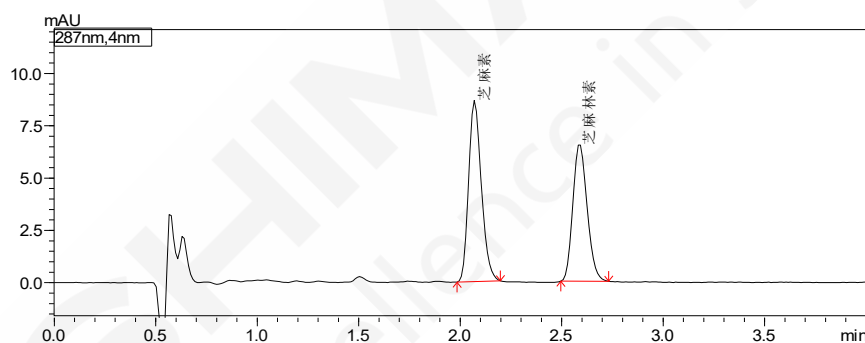


图 1. 4.0 mg/L 芝麻素和芝麻林素标准溶液色谱图

2.2 校准曲线

按1.2中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积比为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，结果如图2所示，芝麻素和芝麻林素在0.2-500.0 mg/L线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数均为0.9999。

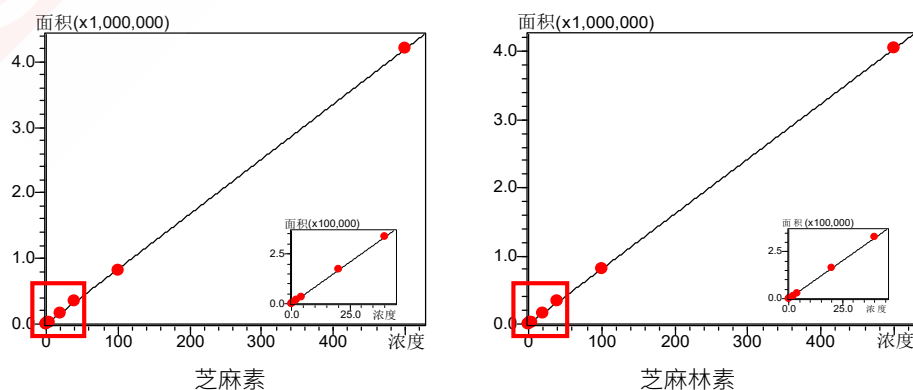


图 2. 芝麻素和芝麻林素校准曲线

表 1. 校准曲线参数

中文名称	英文名称	CAS No.	线性范围 (mg/L)	线性方程	相关系数	准确度%
芝麻素	Sesamin	607-80-7	0.2-500.0	$Y = (8382.63)X + (-193.627)$	0.9999	94.1-105.7
芝麻林素	Sesamolin	526-07-8		$Y = (8082.45)X + (9.74015)$	0.9999	92.3-102.7

2.3 精密度实验

按照1.2分析条件测定，选择浓度为0.2、4.0和40.0 mg/L的芝麻素和芝麻林素混合标准溶液依次进样，连续进样测定6次。芝麻素和芝麻林素的保留时间相对标准偏差为0.068-0.13%；峰面积的相对标准偏差分别为0.10-2.4%和0.085-2.7%（具体结果见表2）。结果表明该仪器具有良好的精密度。

表 2. 精密度的结果 (n=6)

名称	RSD% (0.2 mg/L)		RSD% (4.0 mg/L)		RSD% (40.0 mg/L)	
	保留时间(min)	峰面积	保留时间(min)	峰面积	保留时间(min)	峰面积
芝麻素	0.10	2.4	0.087	0.19	0.068	0.10
芝麻林素	0.13	2.7	0.10	0.071	0.85	0.084

2.4 灵敏度实验

按照1.2分析条件测定，校准曲线中最低点0.2 mg/L计算仪器灵敏度，通过LabSolutions软件计算仪器检测限及定量限。仪器检测限和定量限分别为：芝麻素0.019 mg/L和0.026 mg/L，芝麻林素0.066 mg/L和0.085 mg/L，结果见表3。

表 3. 芝麻素和芝麻林素灵敏度实验结果

名称	检测限 (mg/L)	定量限 (mg/L)
芝麻素	0.019	0.066
芝麻林素	0.026	0.085

2.5 加标回收率

取1.4制备得到的芝麻油提取溶液注入液相色谱仪，得到图3样品色谱图。国标GB/T 31579-2015规定芝麻素方法检出限为0.01 mg/g，芝麻林素方法检出限为0.02 mg/g，样品中检测到芝麻素含量为5.2 mg/g，芝麻林素含量为1.7 mg/g。取芝麻油样品0.5 g，加入芝麻素和芝麻林素混合标准溶液，按照1.4样品制备方法处理样品，最终定容体积为25 mL。使最终加标量为6.0 mg/g和16.0 mg/g，样品加标色谱图见图4，加标回收率结果如表4所示。由表4可知，样品中芝麻素和芝麻林素回收率分别为80.1-93.3%和83.6-91.9%。加标样品在定量限以上有良好响应，能够满足样品定量分析要求。

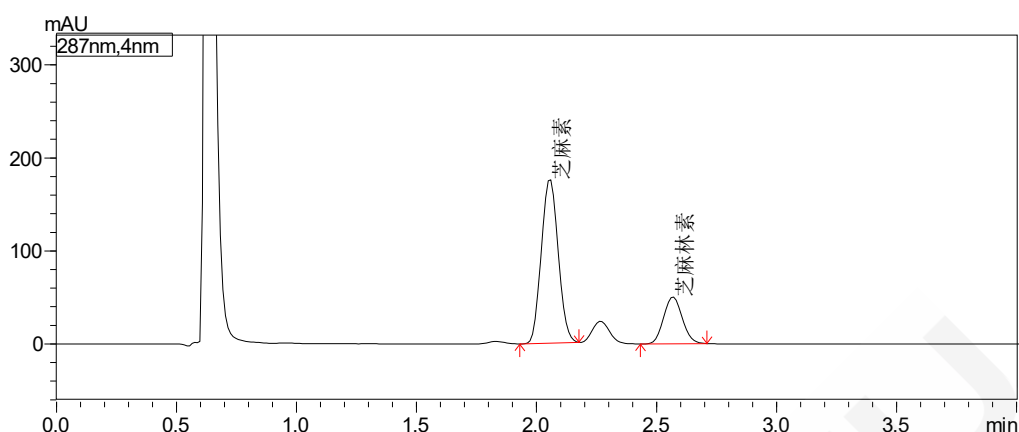


图 3. 芝麻油提取液样品色谱图

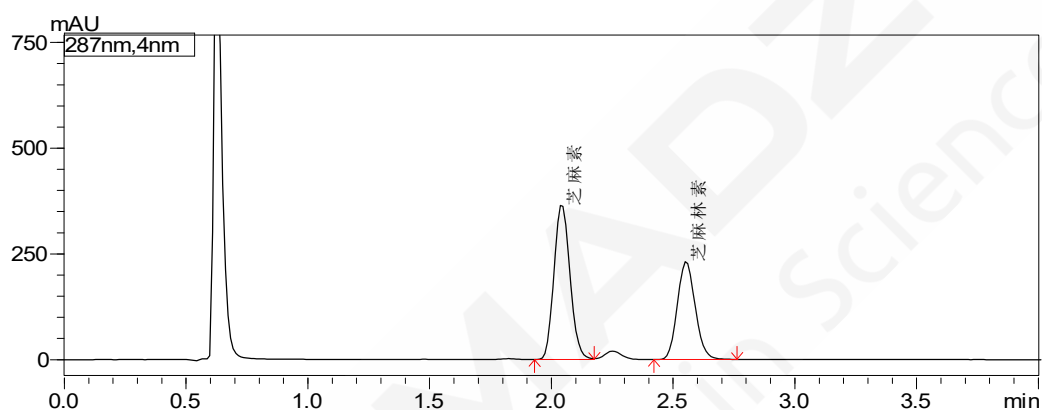


图 4. 样品加标 (6 mg/g) 色谱图

表 4. 加标回收率结果(n=3)

名称	检出浓度(mg/g)	加标测试结果(mg/g)	加标量(mg/g)	平均回收率%	RSD%
芝麻素	5.2	10.0	6.0	80.1	2.3
		18.6	16.0	83.6	1.5
芝麻林素	1.7	7.3	6.0	93.3	2.5
		16.4	16.0	91.9	1.4

3. 结论

本实验使用岛津Nexera XR 超快速液相色谱仪, 参考国标《GB/T 31579-2015 粮油检验 芝麻油中芝麻素和芝麻林素的测定 高效液相色谱法》建立测定芝麻油中芝麻素和芝麻林素的分析方法。该方法在线性范围为0.2-500.0 mg/L内, 芝麻素和芝麻林素的相关系数均为0.9999, 线性良好。仪器检测限和定量限范围分别为: 芝麻素0.019 mg/L和0.026 mg/L, 芝麻林素0.066 mg/L和0.085 mg/L。芝麻素和芝麻林素的保留时间相对标准偏差为0.068-0.13%; 峰面积的相对标准偏差分别为0.10-2.4%和0.085-2.7%。芝麻素和芝麻林素加标回收率在80.1-93.3%之间。

3.2.2 饮片检验

中药饮片是可直接用于调配处方和制剂的中药材的加工炮制品，包括经产地加工的中药饮片(切片、段、块、瓣)、原形药材饮片以及经过切制(在产地加工的基础上)、炮炙的饮片。

质量标准是指国家对药品质量要求和检验方法所做的技术规定，是药品生产、供应、使用、检验和管理共同遵循的法定依据。《中国药典》是国家法定的药品质量技术标准。2022年12月30日，国家药监局发布关于实施《国家中药饮片炮制规范》有关事项的公告（2022年第118号）。《公告》明确指出《国家中药饮片炮制规范》（简称《国家炮制规范》）属于中药饮片的国家药品标准。自《国家炮制规范》颁布之日起，设置12个月的实施过渡期。自实施之日起，生产《国家炮制规范》收载的中药饮片品种应当符合《中国药典》和《国家炮制规范》的要求。同时国家鼓励中药饮片生产企业在过渡期内提前实施《国家炮制规范》。2023年1月9日，经国家药品监督管理局批准，第一批22个国家中药饮片炮制规范已正式颁布。炮制规范中主要涉及的项目有炮制、性状和贮存。中国药典种饮片标准涉及的检验项目则更多，主要有性状鉴别、理化鉴别、显微鉴别、薄层色谱鉴别、水分、灰分、浸出物、杂质、挥发油含量、含量测定、重金属和农药残留、酸中可溶物、水中可溶物、炽灼失重、二氧化硫残留、黄曲霉毒素及其他。



三重四极杆气相质谱联用仪

GC-MSMS 法测定金银花等中药材中农药残留含量

摘要：本文利用岛津 GCMS-TQ8030 三重四极杆气质联用仪建立了 GC-MSMS 测定金银花中 15 种有机磷和有机氯农药的方法。在 1~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内建立校准曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.998；连续 5 针进样峰面积 RSD 均小于 7.66%。该方法可用于金银花中有机磷和有机氯农药的快速定量测定。

关键词：GC-MS/MS 中药材 金银花 有机磷农药 有机氯农药

金银花，又名忍冬、银花等，其茎、叶和花均可入药，自古被誉为清热解毒的良方。然而，中药材的种植过程中往往要使用一些农药，如六六六，DDT等，其在环境中降解缓慢，且脂溶性强，易于在生物体内富集。中药用药周期一般较长，长期使用农药残留量高的中药会对人体造成巨大的危害，如：神经毒性、致癌等。

近年来，中药材中农药残留问题已经引起国内外关注。我国药典中仅对甘草、黄芪中农药残留做了规定。其对六六六和DDT的限定值为0.2 mg/kg ，对五氯硝基苯的限定值为0.1 mg/kg 。为了保障中草药的使用安全，检测中药中农药残留具有较大的现实意义。

本文采用二氯甲烷萃取金银花中有机磷和有机氯农药。由于使用了多反应监测模式（MRM）有效降低了背景干扰，避免了单四极杆GCMS因为保留时间偏移导致的定性不准问题，提高了分析灵敏度，大部分待测组分的检出限低于0.25 $\mu\text{g/L}$ ，且该方法重复性良好，各组分加标回收率大于72%。实验结果表明，该方法能满足金银花中农药残留含量的检测工作。

1. 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8030 三重四极杆气质联用仪

1.2 分析条件

GC-MS/MS参数：

色谱柱：Rxi-5Sil MS, 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm	接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$
进样口温度：250 $^{\circ}\text{C}$	离子源温度：280 $^{\circ}\text{C}$
进样方式：不分流进样	碰撞气：氩气
进样时间：1 min	检测器电压：调谐电压+0.3kv
载气控制方式：恒线速度	溶剂切除时间：2 min
色谱柱流量：1.72 mL/min	MRM 采集条件见表 1
柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) _25 $^{\circ}\text{C/min}$ _150 $^{\circ}\text{C}$ _10 $^{\circ}\text{C/min}$ _300 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)	

1.3 样品制备

样品前处理见图1所示。

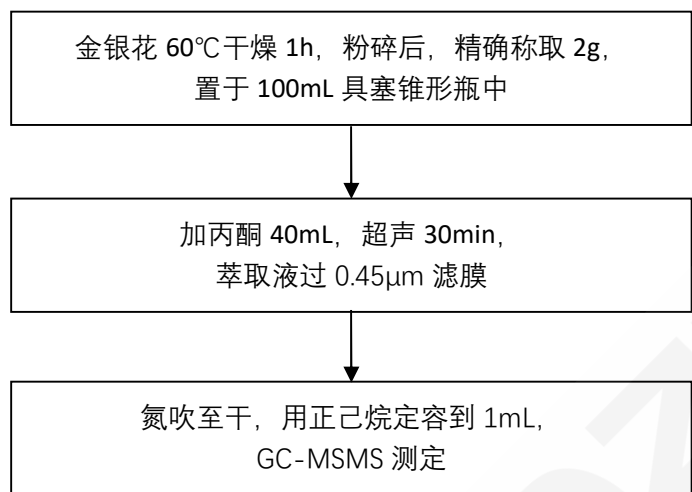


图 1 样品前处理流程图

表 1. 农药组分保留时间及 MRM 参数

No.	保留时间	名称	英文名称	CAS#	定量离子 (CE)	定性离子 (CE)
1	5.690	敌敌畏	Dichlorvos	62-73-7	185>93 (14)	185>109 (14)
2	9.416	α-六六六	alpha-HCH	319-84-6	219>183 (8)	219>145 (18)
3	9.643	六氯苯	Hexachlorobenzene	118-74-1	284>249 (24)	284>214 (28)
4	9.752	β-六六六	beta-HCH	319-85-7	219>183 (8)	219>147 (20)
5	10.148	γ-六六六	Lindane	58-89-9	219>183 (8)	219>147 (20)
6	10.658	δ-六六六	delta-HCH	319-96-8	219>183 (10)	219>145 (22)
7	10.198	百菌清	Chlorothalonil	1897-45-6	266>231 (14)	266>168 (22)
8	11.099	甲基对硫磷	Parathion-methyl	298-00-0	263>109 (14)	263>136 (8)
9	11.643	马拉硫磷	Malathion	121-75-5	173>127 (6)	173>99 (14)
10	11.886	毒死蜱	Chlorpyrifos	2921-88-2	314>258 (14)	314>286 (8)
11	12.212	对硫磷	Parathion	56-38-2	291>109 (14)	291>137 (6)
12	13.420	o,p'-DDE	o,p'-DDE	3424-82-6	246>176 (30)	246>211 (22)
13	14.120	p,p'-DDE	p,p'-DDE	72-55-9	246>176 (28)	246>211 (22)
14	14.415	p,p'-DDD	p,p'-DDD	72-54-8	235>165 (24)	235>199 (14)
15	14.930	o,p'-DDT	o,p'-DDT	789-02-6	235>165 (24)	235>199 (16)

2. 结果与讨论

2.1 标准样品谱图

15 种混标溶液总离子流图如图 2 所示。

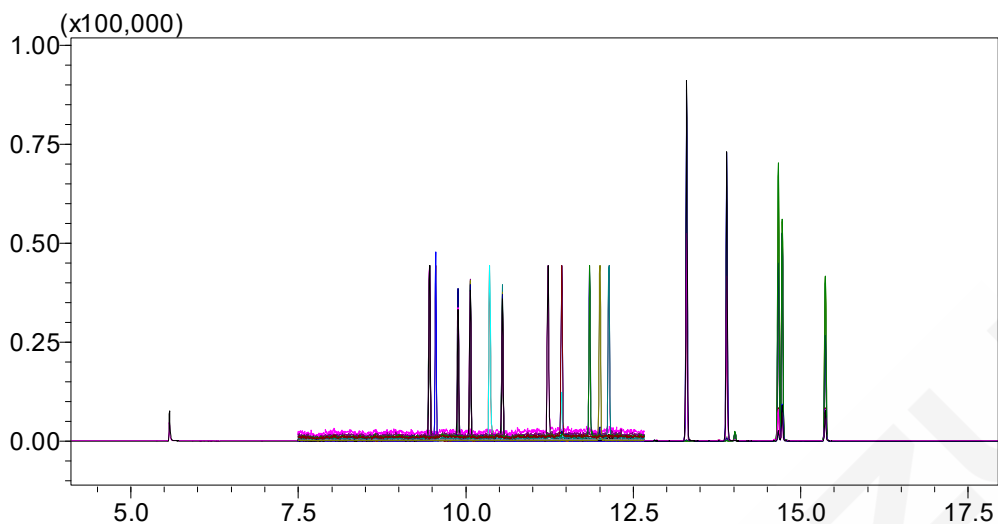
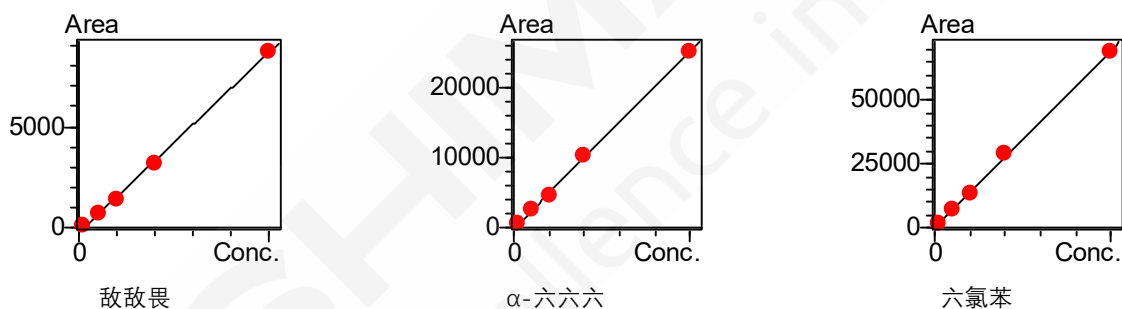


图 2. 标样的 MRM 图 (50 µg/L)

2.2 校准曲线

使用正己烷配制农药混合标准系列，浓度分别为1、5、10、20、50 µg/L。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作校准曲线。因篇幅所限，部分农药组分校准曲线如下所示，各组分校准曲线相关系数见表 2。



2.3 检出限及重复性

根据1µg/L标准溶液数据，计算方法检出限（3倍噪声计算）。因篇幅所限，部分农药组分MRM图如下所示。各组分校准曲线相关系数见表2，且1 µg/L标准溶液连续5针进样面积重复性良好。

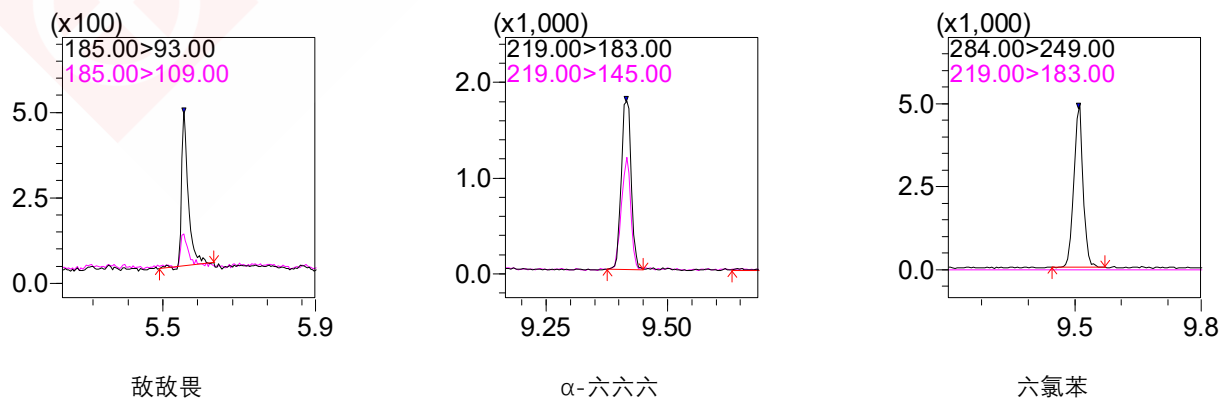


表 2. 检出限及峰面积重复性 (n=5)

No.	化合物名称	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	%RSD	No.	化合物名称	相关系数	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	%RSD
1	敌敌畏	0.9991	0.13	6.00	9	马拉硫磷	0.9988	1.94	4.81
2	α -六六六	0.9997	0.10	3.27	10	毒死蜱	0.9995	0.25	5.91
3	六氯苯	0.9996	0.07	4.03	11	对硫磷	0.9997	1.35	5.61
4	β -六六六	0.9997	0.16	4.73	12	o,p'-DDE	0.9995	0.02	2.50
5	γ -六六六	0.9995	0.13	3.72	13	p,p'-DDE	0.9995	0.03	3.77
6	δ -六六六	0.9996	0.10	3.71	14	p,p'-DDD	0.9997	0.03	2.79
7	百菌清	0.9994	0.25	5.96	15	o,p'-DDT	0.9997	0.05	3.14
8	甲基对硫磷	0.9984	0.93	7.66					

2.4 回收率测试

将农药混标溶液添加金银花样品中,按照样品前处理方法制备,样品中加标浓度为10 $\mu\text{g/L}$,平行制样3次,回收率结果见表3。由于样品中含有较高浓度马拉硫磷和毒死蜱,样品经前处理后得到的样液中这两种农药的浓度均大于600 $\mu\text{g/L}$,所以对这两种农药不计算回收率。

表 3. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	检测结果 ($\mu\text{g/g}$)	回收率(%)			平均值 (%)	RSD% (n=3)
			1	2	3		
1	敌敌畏	N.D.	94.60	99.80	93.84	96.079	3.37
2	α -六六六	N.D.	74.09	76.78	71.29	74.054	3.71
3	六氯苯	N.D.	72.47	72.57	71.93	72.326	0.48
4	β -六六六	N.D.	93.52	92.32	84.96	90.267	5.13
5	γ -六六六	N.D.	87.79	80.47	73.79	80.682	8.68
6	δ -六六六	N.D.	62.93	68.15	67.12	66.065	4.18
7	百菌清	N.D.	101.73	108.99	96.25	102.322	6.25
8	甲基对硫磷	N.D.	105.62	102.75	113.73	107.365	5.30
9	马拉硫磷	89.62	-	-	-	-	-
10	毒死蜱	0.59	-	-	-	-	-
11	对硫磷	N.D.	90.28	93.56	99.54	94.460	4.97
12	o,p'-DDE	N.D.	61.54	61.85	60.95	61.446	0.74
13	p,p'-DDE	N.D.	83.59	84.94	84.79	84.443	0.87
14	p,p'-DDD	N.D.	57.48	57.48	54.59	56.517	2.95
15	o,p'-DDT	N.D.	137.98	136.61	128.58	134.391	3.78

3. 结论

采用GCMS-TQ8030三重四极杆气质联用仪分析金银花中有机磷和有机氯农药残留,方法操作简单,在1~50 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内,大部分农药线性良好,相关系数大于0.998。在10 $\mu\text{g/L}$ 添加浓度下,大部分农药的加标回收率为72~134%之间,可以满足金银花等中药材中有机磷和有机氯农药残留的检测。

LC-MSMS 法分析中药材陈皮中的 30 种禁用农药及代谢物

摘要：参考 2020 版《中国药典》2341 农药残留量测定法第五法《药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法》，建立了基于岛津 LCMS-8050 三重四极杆液质联用仪的，陈皮中 30 种禁用农药及残留物的分析方法。在 5~100 $\mu\text{g/L}$ （以甲胺磷计）浓度范围内建立外标基质校准曲线，线性关系良好，相关系数 r 均大于 0.995，准确度在 86.2%~111.0%之间，仪器检出限在 0.001~2.37 $\mu\text{g/L}$ ，定量限 0.001~4.95 $\mu\text{g/L}$ 之间。25 $\mu\text{g/L}$ (限量值浓度) 基质标连续分析 6 次，30 种禁用农药计残留物峰面积精密度在 5.40% 以内。该方法适用于药材及饮片（植物类）中 30 种禁用农药及代谢物的准确定量测定。

关键词：三重四极杆液相色谱质谱联用仪 中药材 农药残留 30 种禁用农药

相较历版中国药典，2020 版《中国药典》四部通则 0212 药材和饮片检定通则、2341 农药残留量测定法第五法最大的变化是规定了 33 种禁用农药不得检出，并新增了“第五法 药材及饮片（植物类）中禁用农药多残留测定法”。

本文采用岛津 LCMS-8050 三重四极杆液相色谱质谱联用仪，参照《2341 农药残留量测定法》第五法的仪器参数、30 种农药的推荐离子对和色谱条件、并依照第五法的样品前处理方式，建立了中药材中 30 种禁用农药及代谢物残留量测定的方法。该方法灵敏度高，重复性好，完全满足 2020 版《中国药典》对药材及饮片（植物类）中 30 种禁用农药限量值的要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A5
输液泵	: LC-30AD $\times$ 2	柱温箱	: CTO-30A
自动进样器	: SIL-30ACMP	质谱仪	: LCMS-8050
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.93		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Phenomenex Kinetex C18, 2.1 mm I.D. $\times$ 100 mm L., 2.6 μm
流动相 : A 相-0.1% 甲酸水溶液 (含 5 mmol/L 甲酸铵)
 B 相-乙腈-0.1% 甲酸水溶液 (含 5 mmol/L 甲酸铵) (95:5, v/v)
进样体积 : 2 μL
流速 : 0.3 mL/min 柱温 : 40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B相起始浓度为30%，时间程序如表1所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	30
12.00	Pumps	Pump B Conc.	100
14.00	Pumps	Pump B Conc.	100
14.10	Pumps	Pump B Conc.	30
17.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI+	雾化气流速：3.0 L/min
接口电压：4.5 kV	干燥气流速：10.0 L/min
碰撞气：氩气	加热气流速：10.0 L/min
接口温度：300 °C	驻留时间：10 ms
D L 温度：250 °C	扫描模式：多反应监测(MRM)
加热模块温度：400 °C	M R M 参数：见表2

表 2. MRM 参数

No.	中文名	英文名	保留时间	前体离子	产物离子	碰撞能
1	甲胺磷	Methamidophos	0.740	142.05	94.00	-14
				142.05	124.95	-16
2	苯线磷	Fenamiphos	5.753	304.20	217.00	-22
				304.20	201.95	-36
				304.20	234.00	-17
3	苯线磷砒	Fenamiphos sulfone	3.192	336.20	266.00	-20
				336.20	188.00	-27
4	苯线磷亚砒	Fenamiphos sulfoxide	2.020	320.00	233.00	-25
				320.00	292.05	-15
				320.00	171.20	-33
5	地虫硫磷	fonofos	7.775	247.10	109.00	-18
				247.10	136.90	-11
6	治螟磷	sulfotep	7.953	323.00	114.95	-30
				323.10	170.95	-15
				323.10	97.05	-39
7	克百威	carbofuran	3.387	222.10	165.00	-13
				222.10	123.00	-22
8	3-羟基克百威	carbofuran -3-hydroxy	1.246	238.20	163.00	-13
				238.20	181.10	-11
				220.20	163.00	-9
				220.20	107.00	-30

9	胺苯磺隆	ethametsulfuron-methyl	3.852	411.10	196.10	-16
				411.10	168.00	-28
10	甲磺隆	metsulfuron-methyl	3.154	382.00	167.00	-17
				382.00	199.00	-21
11	氯磺隆	chlorsulfuron	3.523	358.00	141.20	-18
				358.00	167.00	-17
12	硫线磷	cadusafos	7.507	271.30	158.90	-14
				271.30	96.90	-36
				271.3	130.9	-23
13	氯唑磷	isazafos	7.015	314.00	162.00	-16
				314.00	120.00	-26
14	甲拌磷	phorate	7.971	261.05	75.00	-12
				261.15	47.10	-37
15	甲拌磷亚砷	phorate-sulfoxide	3.757	277.10	97.00	-32
				277.10	198.95	-10
				277.10	170.90	-13
				277.10	142.90	-20
16	甲拌磷砷	phorate-sulfone	5.111	293.20	170.95	-12
				293.20	115.00	-26
				293.20	247.00	-8
17	蝇毒磷	coumsphos	7.787	363.10	226.80	-26
				363.10	306.80	-21
18	硫环磷	phosfolan	1.664	256.10	139.90	-24
				256.10	167.90	-17
19	磷胺	phosphamidon	2.207	300.00	174.05	-13
				300.00	127.00	-27
20	涕灭威	aldicarb	2.234	213.15	89.15	-17
				213.15	116.00	-12
				208.10	116.20	-8
				208.10	88.90	-16
21	涕灭威砷	aldicarb-sulfone	0.940	240.20	86.00	-21
				240.20	223.00	-8
				223.10	86.00	-15
				223.10	76.00	-8
22	涕灭威亚砷	aldicarb-sulfoxide	0.780	207.10	89.00	-15
				207.10	132.00	-8
23	久效磷	monocrotopos	0.837	224.10	127.00	-15
				224.10	193.00	-9

24	内吸磷	demeton	4.597	259.10	89.15	-16
				259.10	60.95	-33
25	灭线磷	ethoprophos	5.954	243.10	130.90	-21
				243.10	96.90	-32
26	特丁硫磷砒	terbufos-sulfone	6.138	321.00	170.95	-10
				321.00	96.90	-40
27	特丁硫磷亚砒	terbufos-sulfoxide	4.992	305.10	187.00	-12
				305.00	96.95	-40
28	水胺硫磷	isocarbophos	5.146	312.10	235.90	-15
				312.10	270.10	-7
				291.10*	231.00	-16
				291.10	121.00	-31
29	杀虫脒	chlordimeform	0.979	197.10	46.10	-23
				197.10	117.05	-29
				197.10	152.10	-20
30	甲基异柳磷	isofenphos-methyl	7.717	332.15	231.10	-15
				332.15	273.00	-8

* 291.1 为水胺硫磷脱氨加水峰

1.3 标准品与试剂

农残对照品：30种农药混标溶液（乙腈，购自SHIMADZU SGLC，PN：380-03386），于-20℃冰箱保存，备用。

试剂：InertSep HLB 固相萃取小柱(SHIMADZU SGLC P/N:5010-81976)，室温保存。

乙腈：色谱级，室温保存。

实验用水：由Milli-Q Plus水净化系统经去离子与二次净化制得。

甲酸：色谱级，纯度98%，室温保存。

甲酸铵：色谱级，纯度99%，室温保存。

1.4 供试品溶液的配制

陈皮

参考参照2341 农药残留量测定法第五法 4.3方式二法：取供试品粉末5.0 g，精密称定，加氯化钠1 g，立刻摇散，再加入乙腈50 mL，匀浆2 min（转速为12000转），离心5 min（4000转/min），取上清液，沉淀再加入50 mL乙腈，匀浆1 min，离心，合并两次上清液，减压浓缩至3-5 mL，用乙腈稀释至10.0 mL，摇匀，即得。

取上清液3 mL，通过InertSep HLB 固相萃取小柱(SHIMADZU SGLC P/N:5010-81976)净化，收取全部净化液，混匀，即得。

1.5 对照品溶液制备

基质混合对照溶液制备：

以乙腈稀释混标至50、100、150、250、500、1000 $\mu\text{g/L}$ 系列校准曲线溶液（以甲胺磷计）。空白样品按照1.4处理，分别量取空白基质溶液0.6 mL、系列标曲溶液0.1 mL、乙腈0.3 mL，涡旋混匀，即得5、10、15、25、50、100 $\mu\text{g/L}$ 系列基质校准曲线（以甲胺磷计）。25 $\mu\text{g/L}$ 基质标浓度即对应0212限量值浓度。

精密吸取上述基质混合对照溶液和供试品溶液1 mL，加入0.3 mL纯水，混匀，过滤，上机分析。

2. 结果与讨论

2.1 陈皮基质混合标准工作液

陈皮基质中，苯线磷、治螟磷有检出，见图1，其中，苯线磷响应值约为5 $\mu\text{g/L}$ 基质标准溶液(以甲胺磷计)的1/200，治螟磷响应值约为5 $\mu\text{g/L}$ 基质标准溶液(以甲胺磷计)的1/70。5 $\mu\text{g/L}$ 陈皮基质标准溶液（以甲胺磷计）色谱见图2。30个目标化合物响应良好，且与基质中的通道干扰可实现有效的色谱分离。

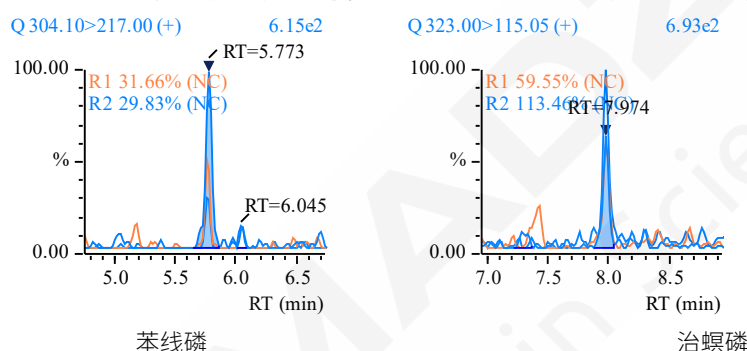
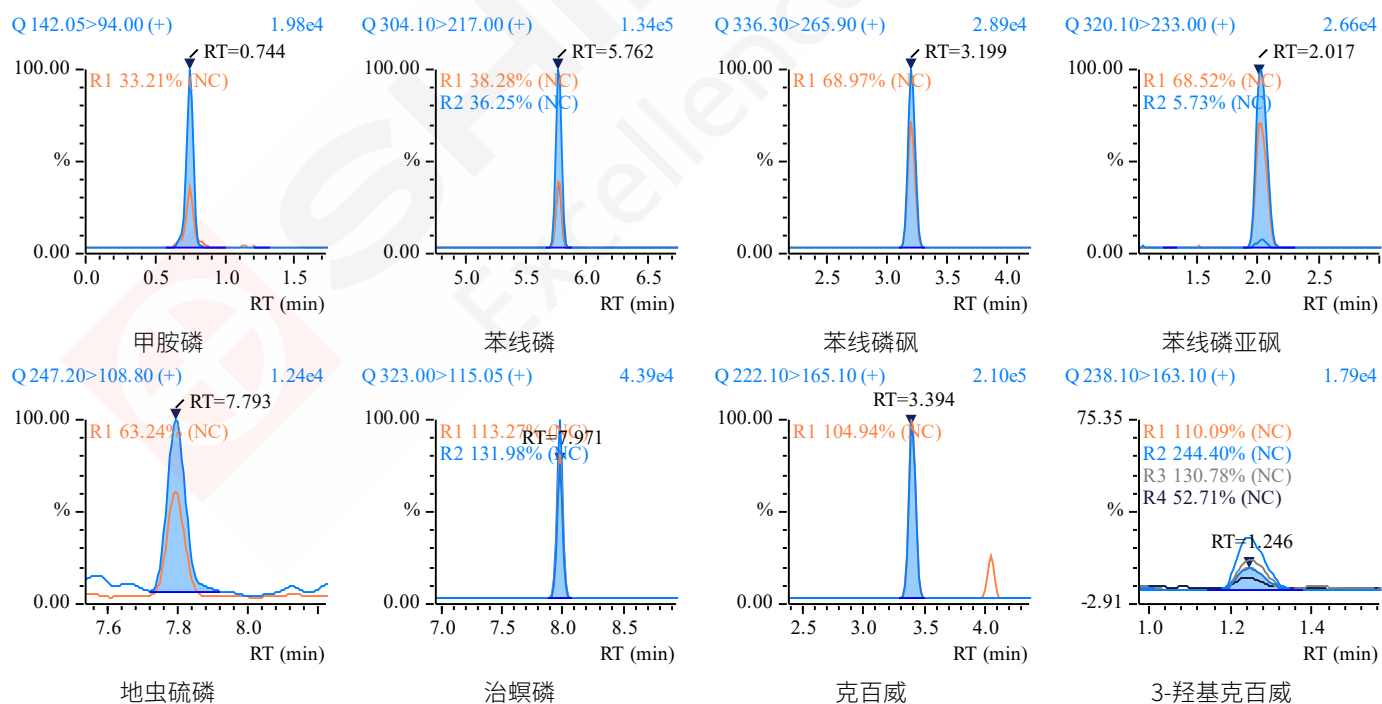
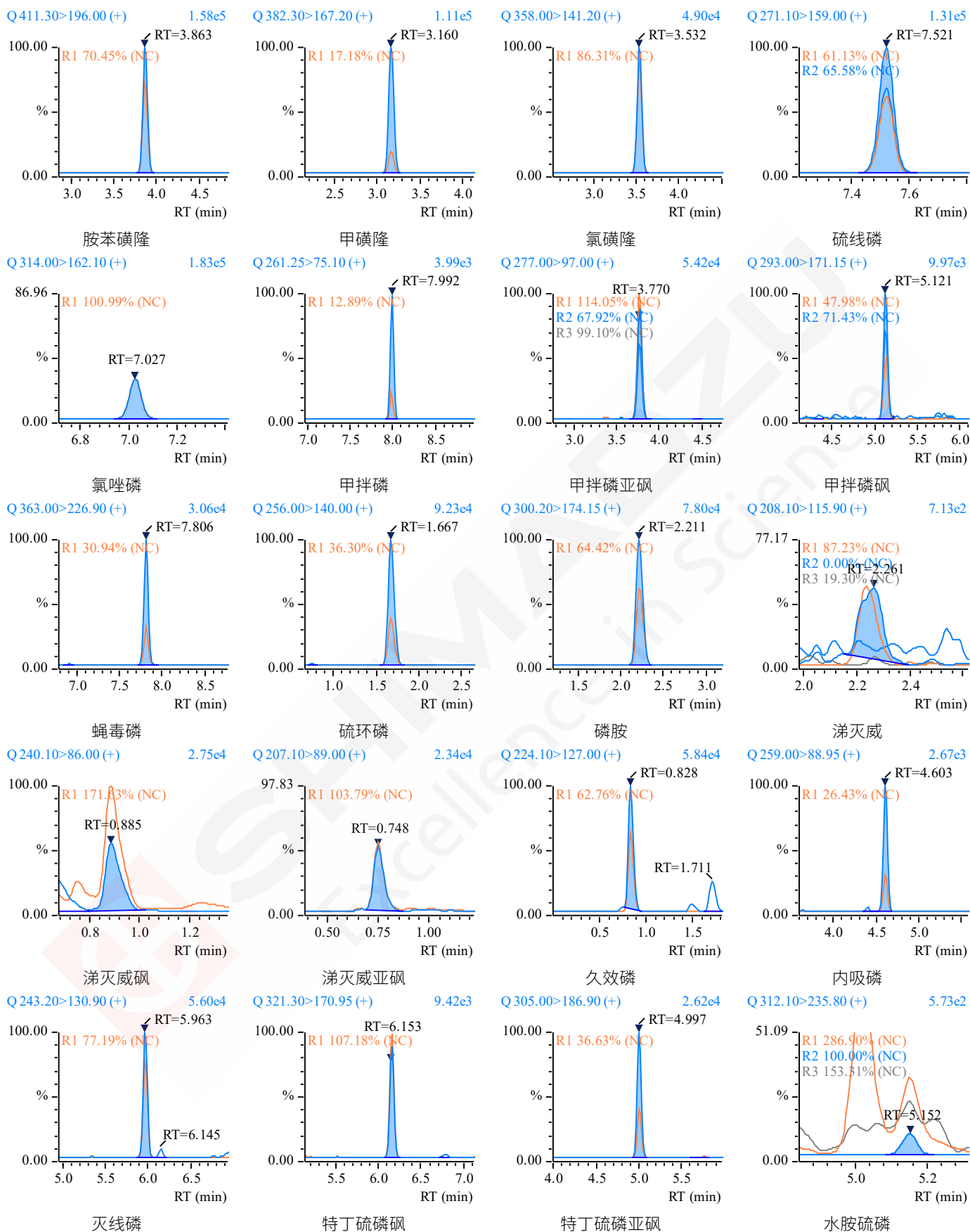


图 1.陈皮基质 MRM 色谱图





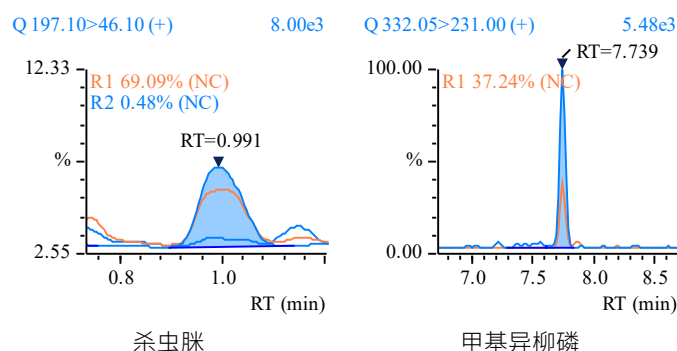


图 2.陈皮基质标 MRM 色谱图 (5.0 μg/L，以甲胺磷计)

2.2 校准曲线

将5、10、15、25、50、100 μg/L系列陈皮基质校准曲线（以甲胺磷计）进样分析，以浓度为横坐标，面积为纵坐标建立校准曲线。如下表3，陈皮基质中30种农药及残留物线性相关性良好，r均大于0.995，准确度在86.2%~111.0%之间。

表 3. 陈皮中 30 种农药对照品校准曲线、相关系数和线性范围结果

No.	中文名称	校准曲线	相关系数 r	线性范围(μg/L)	准确度%
1	甲胺磷	$Y = (12749.8)X + (4910.55)$	0.9997	5-100	97.6-102.6
2	苯线磷	$Y = (221077)X + (13026.4)$	0.9999	2-40	97.9-102.3
3	苯线磷砒	$Y = (60223.8)X + (4948.26)$	0.9996	2-40	95.7-105.2
4	苯线磷亚砒	$Y = (91974.9)X + (-3433.29)$	0.9995	2-40	94.7-104.2
5	地虫硫磷	$Y = (20206.1)X + (2892.51)$	0.9999	2-40	97.7-102.9
6	治螟磷	$Y = (68553.7)X + (9346.60)$	0.9999	2-40	97.6-102.4
7	克百威	$Y = (166482)X + (20098.6)$	0.9998	5-100	97.7-102.3
8	3-羟基克百威	$Y = (14709.0)X + (10253.1)$	0.9996	5-100	93.4-105.1
9	胺苯磺隆	$Y = (115404)X + (40766.8)$	0.9996	5-100	96.7-104.0
10	甲磺隆	$Y = (80376.8)X + (78044.9)$	0.9985	5-100	93.7-111.0
11	氯磺隆	$Y = (33771.2)X + (18812.7)$	0.9998	5-100	97.4-104.6
12	硫线磷	$Y = (229625)X + (9893.43)$	0.9999	2-40	98.8-102.0
13	氯唑磷	$Y = (175454)X + (1267.82)$	0.9999	1-20	98.3-102.6
14	甲拌磷	$Y = (5325.31)X + (202.014)$	0.9997	2-40	93.2-105.6
15	甲拌磷亚砒	$Y = (97895.8)X + (5002.83)$	0.9997	2-40	96.9-104.2
16	甲拌磷砒	$Y = (17209.1)X + (2005.90)$	0.9994	2-40	96.6-105.3
17	蝇毒磷	$Y = (19372.7)X + (8801.70)$	0.9998	5-100	97.0-102.3
18	硫环磷	$Y = (152691)X + (15772.6)$	0.9999	3-60	97.9-102.3
19	磷胺	$Y = (85777.4)X + (11312.5)$	0.9999	5-100	98.0-102.2
20	涕灭威	$Y = (992.891)X + (-456.589)$	0.9969	5-100	86.2-109.8
21	涕灭威砒	$Y = (20206.3)X + (18111.9)$	0.9988	5-100	91.4-106.0
22	涕灭威亚砒	$Y = (7589.33)X + (4675.05)$	0.9995	5-100	96.4-104.3
23	久效磷	$Y = (73465.7)X + (6103.35)$	0.9997	3-60	95.8-102.4
24	内吸磷	$Y = (4009.52)X + (152.317)$	0.9997	2-40	88.9-110.9
25	灭线磷	$Y = (94214.5)X + (7236.25)$	0.9998	2-40	96.6-102.0

26	特丁硫磷砒	$Y = (16929.1)X + (-1448.96)$	0.9991	2-40	94.1-105.0
27	特丁硫磷亚砒	$Y = (42755.0)X + (2499.85)$	0.9999	2-40	98.3-102.2
28	水胺硫磷	$Y = (169.351)X + (90.4632)$	0.9981	10-200	87.3-109.6
29	杀虫脒	$Y = (22390.6)X + (-514.529)$	0.9999	2-40	96.0-103.8
30	甲基异柳磷	$Y = (5179.09)X + (-573.510)$	0.9995	4-80	94.3-106.7

2.3 检出限及定量限

将5 µg/L基质标准溶液（以甲胺磷计）注入液相色谱质谱联用仪，根据信噪比，计算其检出限（S/N=3）和定量限（S/N=10）。结果如表4显示，30种化合物的检出限在0.001~1.77 µg/L范围之内。30种化合物的定量限在0.001~5.37 µg/L范围之内，均可满足0212 中药材及饮片检定通则中的定量限的要求。

表 4. 30 种农药仪器检出限及定量限

No.	中文名称	检出限(µg/L)	定量限(µg/L)	限量值(µg/L)
1	甲胺磷	0.001	0.001	25
2	苯线磷	0.01	0.02	10
3	苯线磷砒	0.01	0.02	10
4	苯线磷亚砒	0.01	0.02	10
5	地虫硫磷	0.38	1.16	10
6	治螟磷	0.03	0.08	10
7	克百威	0.01	0.04	25
8	3-羟基克百威	0.57	1.73	25
9	胺苯磺隆	0.01	0.02	25
10	甲磺隆	0.01	0.04	25
11	氯磺隆	0.02	0.05	25
12	硫线磷	0.01	0.02	10
13	氯唑磷	0.01	0.03	5
14	甲拌磷	0.001	0.001	10
15	甲拌磷亚砒	0.01	0.04	10
16	甲拌磷砒	0.15	0.45	10
17	蝇毒磷	0.11	0.34	25
18	硫环磷	0.02	0.05	15
19	磷胺	0.03	0.08	25
20	涕灭威	1.32	3.99	50
21	涕灭威砒	0.14	0.43	50
22	涕灭威亚砒	0.29	0.88	50
23	久效磷	0.09	0.27	15
24	内吸磷	0.05	0.14	10
25	灭线磷	0.05	0.15	10
26	特丁硫磷砒	0.08	0.23	10
27	特丁硫磷亚砒	0.03	0.11	10
28	水胺硫磷	1.77	5.37	25
29	杀虫脒	0.16	0.48	10
30	甲基异柳磷	0.30	0.91	10

2.4 精密度考察

取基质对照品溶液25 µg/L（以甲胺磷计），注入液相色谱串联质谱仪，连续分析6次，计算峰面积RSD。

结果见表5。结果计算各农药RSD均小于5.40 %，表明仪器精密度满足试验需求。

表 5. 精密度考察结果 (n=6)

No.	中文名	RSD%	No.	中文名	RSD%	No.	中文名	RSD%
1	甲胺磷	3.33	11	氯磺隆	1.85	21	涕灭威砒	2.07
2	苯线磷	1.14	12	硫线磷	0.45	22	涕灭威亚砒	2.32
3	苯线磷砒	1.50	13	氯唑磷	0.97	23	久效磷	1.20
4	苯线磷亚砒	0.64	14	甲拌磷	3.88	24	内吸磷	4.71
5	地虫硫磷	1.85	15	甲拌磷亚砒	0.89	25	灭线磷	1.21
6	治螟磷	0.54	16	甲拌磷砒	1.61	26	特丁硫磷砒	1.42
7	克百威	0.95	17	蝇毒磷	0.77	27	特丁硫磷亚砒	1.40
8	3-羟基克百威	1.70	18	硫环磷	0.45	28	水胺硫磷	4.87
9	胺苯磺隆	1.26	19	磷胺	0.80	29	杀虫脒	1.51
10	甲磺隆	1.92	20	涕灭威	5.39	30	甲基异柳磷	1.54

3. 结论

陈皮样品提取后，采用InertSep HLB 固相萃取小柱净化，可在30 min内快速、准确对其中的30种农药及代谢物进行筛查测定。本文考察了方法的线性、检出限、重复性、加标回收率。结果符合中国药典相关要求。使用LCMS-8050系统，可以对中药材及饮片中30种农残进行高灵敏、准确的定量检测。

HPLC-ICP-MS 测定中药材甘草中的形态汞

摘要：参考《中国药典(2020年版)》中《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，建立了一种测定中药材甘草中形态汞的高效液相色谱电感耦合等离子体质谱法（HPLC-ICP-MS）。样品经过处理后，采用高效液相色谱LC-20Ai对不同形态汞进行分离，电感耦合等离子体质谱ICPMS-2030检测进行定量分析。线性范围在1~20 ng/mL范围内回归系数大于0.9998，方法定量26~37 µg/kg，适用于中药材中形态汞的分析。

关键词：中国药典 形态汞 中药 甘草 HPLC-ICP-MS

汞是自然界中常见的有毒致癌性元素之一，汞的生物毒性不仅与其含量有关，更大程度上还与其存在形态有关。不同形态的汞化合物性质往往不同，毒性差异很大。

常见的汞化合物有：无机汞（Hg²⁺）、甲基汞（MeHg）、乙基汞（EtHg）等。其中，有机汞的毒性大于无机汞，尤其是有机汞中的甲基汞毒性最大，同时甲基汞和乙基汞均是脂溶性的，容易被生物体所吸收，所造成的生物体危害尤为突出。

由于汞的毒性、致癌性、迁移性质和生物效应均取决于它的化学形态，并且各汞形态随着所处环境的不同处于动态互变之中，所以测定总汞含量无法准确表示出汞的暴露水平。因此，对汞的各种存在形态分别进行分析测定十分必要。

本文参考2020版中国药典《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，采用岛津高效液相色谱LC-20Ai与电感耦合等离子体质谱仪ICPMS-2030联用对中药甘草进行汞形态分析。

1 实验部分

1.1 对照品

无机汞采用常规元素标液，甲基汞和乙基汞购于国家标准物质中心。

1.2 实验检材

市售中药甘草

1.3 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪LC-20Ai与电感耦合等离子体质谱仪ICPMS-2030联用系统。具体配置为：

系 统 控 制 器	: CBM-20A	脱 气 机	: DGU-20A3
输 液 泵	: LC-20Ai	柱 温 箱	: CTO-20AC
自 动 进 样 器	: SIL-20AC	质 谱 仪	: ICPMS-2030
色 谱 工 作 站	: LabSolutions ICPMS Version 1.02		

1.4 试剂

胰蛋白酶购于Sigma-Aldrich。EDTA、乙酸铵及L-半胱氨酸购于国药集团。

2.结果与讨论

2.1 对照品溶液配制

精密吸取对照品储备溶液适量，加8%甲醇制成每1 mL含各0.5 ng、1 ng、5 ng、10 ng、20 ng（均以汞计）系列浓度的溶液，摇匀，即得。

2.2 样品的处理方法

精确称取粉碎后的甘草样品1 g，加入人工肠液10 mL，置37℃水浴中超声处理适当时间，摇匀，取适量，静置约24小时，吸取1 mL中层溶液，用微孔滤膜（10 μm）滤过，精密量取续滤液1 mL，用0.125 mol/L盐酸溶液稀释至10 mL，摇匀，即得。同法制备加标溶液及空白溶液。

2.3 色谱条件

色 谱 柱	: GL Sciences Intertsil ODS-3, 4.6 mmI.D.x 150 mm; 5 μm
流 动 相	: 甲醇-0.01mol/L 乙酸铵溶液（含 0.12%L-半胱氨酸，氨水调节 pH 值至 7.5）（8:92）
进 样 体 积	: 50 μL
流 速	: 0.8 mL/min
柱 温	: 30℃
洗 针 液	: 水

2.4 质谱条件

等离子体参数：

高频功率	: 1.20 kW	等离子体气流速	: 8.0 L/min
辅助气流速	: 1.10 L/min	载气流速	: 0.70 L/min
矩管类型	: Mini	雾化器类型	: 同轴
雾化室	: 旋流	雾化室温度	: 0℃
采样深度	: 5.0 mm	高频频率	: 27.12 MHz

碰撞池参数：

碰撞气种类	: He	碰撞气流速	: 6.0 mL/min
池电压	: -21 V	能量过滤器电压	: 7.0 V

2.5 方法学考察

2.5.1 专属性

对空白进行考察，排除系统干扰，并且考察汞混合标液中三种形态汞的分离度，以确保实际样品分析过程中造成假阳性检出。

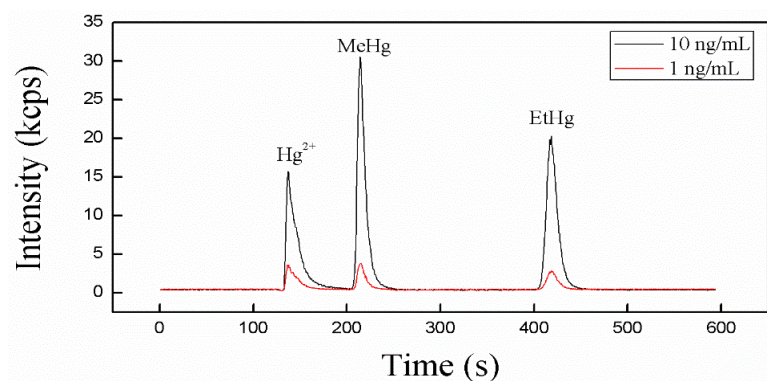


图 1. 三种形态汞色谱图

2.5.2 校准曲线

按“2.1 对照品溶液的配制”项下规定进行校准曲线系列浓度的配制，记录各成分的峰面，以浓度（浓度均以Hg计）与峰面积比值做线性回归绘制校准曲线，结果如下所示。

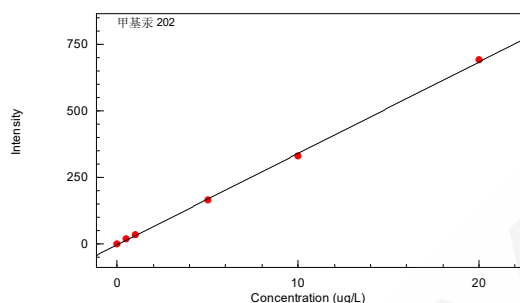


图 2. 甲基汞校准曲线 $r=0.99980$

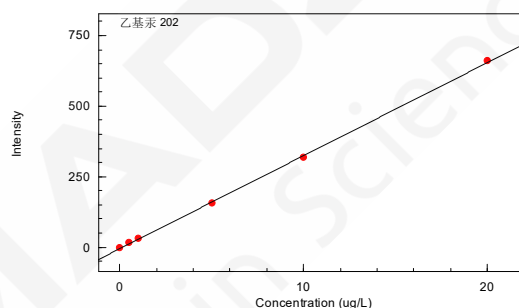


图 3. 乙基汞校准曲线 $r=0.99981$

2.5.3 样品测试结果及回收率

对某市售中药甘草破壁粉碎取样，按“2.2 样品的处理方法”进行处理后进HPLC-ICP-MS分析，对处理后样品进行一定浓度加标后进HPLC-ICP-MS分析，考察回收率。结果如下：

表 1. 甘草测试结果及回收率(%)

名称	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/L}$)	测定浓度 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 (%)
无机汞	N.D.	1.00	0.949	94.9
甲基汞	N.D.	1.00	0.969	96.9
乙基汞	N.D.	1.00	0.975	97.5

N.D.: 未检出

2.5.5 检出限

对浓度为1 ng/mL样品溶液考察3种形态汞的信噪比，折算信噪比 $S/N=3$ 时检出限以及 $S/N=10$ 定量限，根据样品处理过程分别计算方法检出限和方法定量限。结果如下：

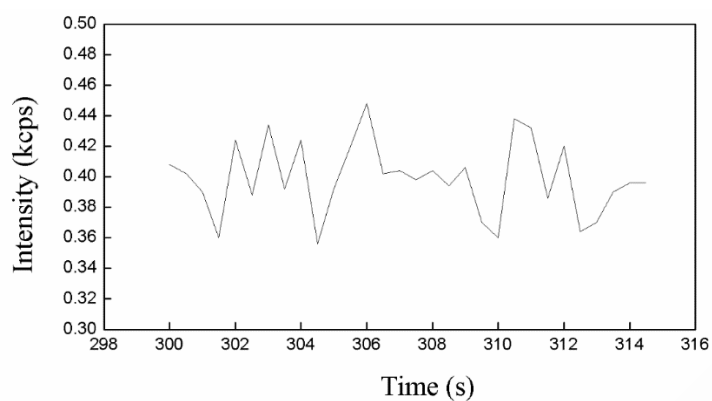


图 4. 基线考察

表 2. 灵敏度考察结果

名称	仪器检出限 (ng/mL)	方法检出限 ($\mu\text{g/g}$)	仪器定量限 (ng/mL)	方法定量限 ($\mu\text{g/kg}$)
无机汞	0.08	8.40	0.28	28
甲基汞	0.08	7.80	0.26	26
乙基汞	0.11	11.1	0.37	37

3.结论

参考《中国药典》中《2322 汞和砷元素形态及其价态测定法》，建立一种中草药甘草中形态汞的 LC-ICP-MS 法。该方法灵敏度高，方法定量限 26~37 $\mu\text{g/kg}$ ，适用于中药材中形态汞的分析。

液相色谱柱后衍生法和光柱后衍生法检测中药材中的黄曲霉毒素

摘要：本文参考 2020 版《中国药典》2351 真菌毒素测定法之黄曲霉毒素测定法第一法，采用液相色谱柱后光化学衍生法对中药配方颗粒中的黄曲霉毒素 G1、G2、B1、B2 进行了分析。基于岛津荧光检测器的高灵敏性能，本实验同时采用了直接分析的非衍生法进行了对比研究，考察了两种分析方法的线性范围、定量限检测限、精密度、回收率，并应用于大枣配方颗粒实际样品的分析。二者的分析结果表明，两种分析方法均可用于中药配方颗粒黄曲霉毒素的准确检测。

关键词：液相色谱 光化学衍生 非衍生 黄曲霉毒素 配方颗粒

黄曲霉毒素（AF）是黄曲霉和寄生曲霉的代谢产物，具有极强的毒性和致癌性，其中AFB1的毒性最强。目前，我国对中药配方颗粒黄曲霉毒素控制的主要依据为国家药典委员会发布的160个中药配方颗粒品种试点统一标准的公示稿。公示稿标准显示大枣、远志、合欢花等10个品种的中药配方颗粒需要进行黄曲霉毒素的控制，并规定黄曲霉毒素B1限量为不得过5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，黄曲霉毒素G2、G1、B2和B1的总量限量为不得过10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

由于反相洗脱会使黄曲霉毒素B1和G1的荧光效应发生猝灭，通常需要进行衍生化以增强其荧光强度。衍生化方法一般有柱前和柱后两类，柱前衍生一般使用三氟乙酸，柱后衍生有碘液、过溴化吡啶溴以及电化学和光化学衍生等方法。

2020版《中国药典》2351真菌毒素测定法之黄曲霉毒素测定法第一法，即液相色谱法，该法分为碘衍生法和光化学衍生法，均为柱后衍生法。本文参考光化学衍生法检测条件，采用岛津光化学衍生反应器PR-1000对经免疫亲和柱净化后的大枣配方颗粒样品进行柱后光衍生反应，衍生好的样品经荧光检测器RF-20A xs进行检测。岛津RF-20A xs是一种灵敏度较高的荧光检测器，可对黄曲霉毒素进行高灵敏度分析。本文对比分析了柱后光化学衍生法和直接进样分析的非衍生化法用于检测中药配方颗粒中的黄曲霉毒素，结果表明两种方法均能准确地进行黄曲霉毒素分析，且灵敏度均符合药典要求，两种分析方法可供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera XR 液相色谱仪，配置如下：

系 统 控 制 器	: CBM-40A Lite	脱 气 机	: DGU-405
输 液 泵	: LC-40B XR	柱 温 箱	: CTO-40S
自 动 进 样 器	: SIL-40CXR	检 测 器	: RF-20A xs
光 衍 生 反 应 器	: PR-1000	色 谱 工 作 站	: Labsolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

色 谱 柱 : Shim-pack Scepter C18-120 色谱柱 (250 mm× 4.6 mm I.D., 5 μ m, SGLC P/N: 227-31020-06)

流 动 相 : 甲醇: 乙腈: 水=40: 18: 42

进 样 体 积 : 10 μ L 柱 温 : 30°C

流 速 : 1 mL/min 检 测 波 长 : $E_x=360$ nm, $E_m=450$ nm

洗 脱 方 式 : 等度洗脱

2. 样品前处理

混合对照品溶液的制备: 精密量取黄曲霉毒素混合对照品溶液 (黄曲霉毒素B1、黄曲霉毒素B2、黄曲霉毒素G1、黄曲霉毒素G2标示浓度分别为1.0 μ g/mL、0.3 μ g/mL、1.0 μ g/mL、0.3 μ g/mL) 0.5 mL, 置10 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 作为贮备溶液。精密量取贮备溶液1 mL, 置25 mL量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 即得。

供试品溶液的制备: 取大枣配方颗粒样品适量, 研细, 过二号筛, 取粉末约15 g, 精密称定, 置于均质瓶中, 加入氯化钠3 g, 精密加入70%甲醇溶液75 mL, 高速搅拌1分钟 (搅拌速度大于11000转/分钟), 离心5分钟 (离心速度4000转/分钟), 精密量取上清液15 mL, 置50 mL量瓶中, 用水稀释至刻度, 摇匀, 离心10分钟 (离心速度4000转/分钟), 精密量取上清液20 mL, 通过免疫亲和柱 (SHIMSEN 黄曲霉毒素总量免疫亲和柱, 3mL, P/N:380-00910), 流速每分钟3 mL, 用水20 mL洗脱, 洗脱液弃去, 使空气进入柱子, 将水挤出柱子, 再用适量甲醇洗脱, 收集洗脱液, 置2 mL量瓶中, 并用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜过滤 (0.22 μ m), 取续滤液即得。

3. 结果与讨论

3.1 色谱图

光化学衍生法和非衍生法空白溶剂和混合对照品溶液色谱图如图1-4所示。其中, AFG1、AFB1浓度为2.0 ng/mL, AFG2、AFB2浓度为0.6 ng/mL。两种分析方法下, 空白溶剂均不干扰黄曲霉毒素的检测。

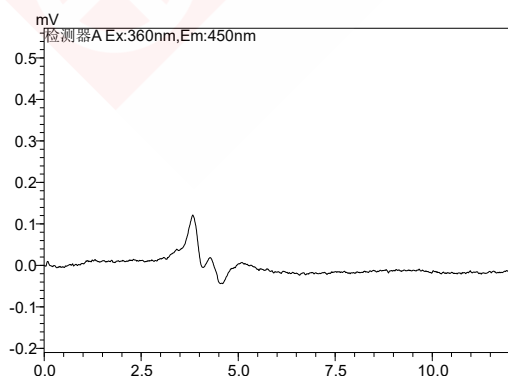


图 1. 光化学衍生法空白溶剂色谱图

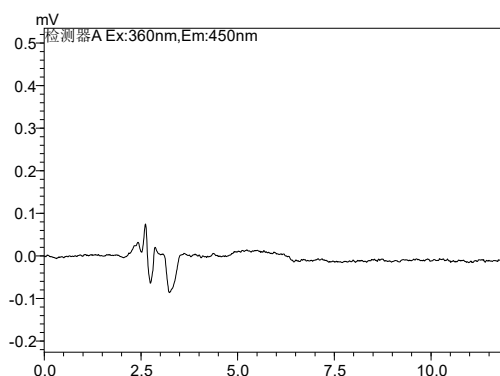


图 2. 非衍生法空白溶剂色谱图

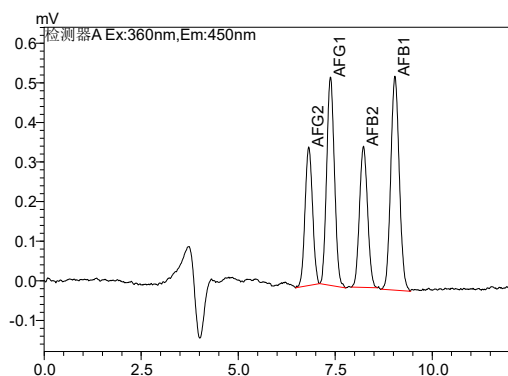


图 3. 光化学衍生法对照品溶液色谱图（进样量 5 μ L）

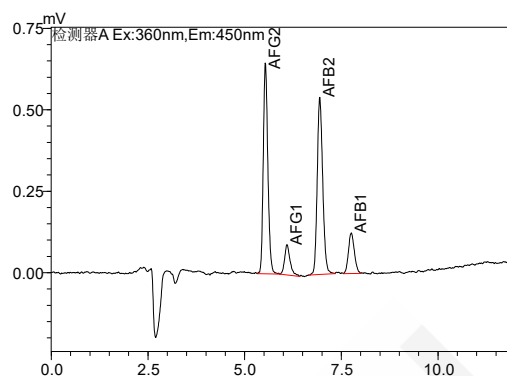


图 4. 非衍生法对照品溶液色谱图（进样量 5 μ L）

3.2 校准曲线

光化学衍生条件下，混合对照溶液（AFG1、AFB1浓度为2.0 ng/mL，AFG2、AFB2浓度为0.6 ng/mL）分别进样1 μ L、5 μ L、10 μ L、15 μ L、20 μ L、25 μ L。非衍生条件下，混合对照溶液分别进样2 μ L、5 μ L、10 μ L、15 μ L、20 μ L、25 μ L，按照中国药典要求，以进样量（pg）为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，线性关系情况如表1-2。

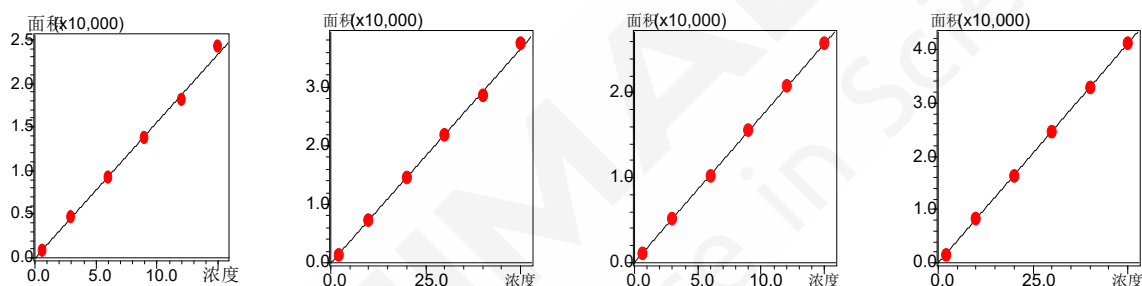


图 5. 光化学衍生法 4 种组分线性图（AFG2、AFG1、AFB2、AFB1）

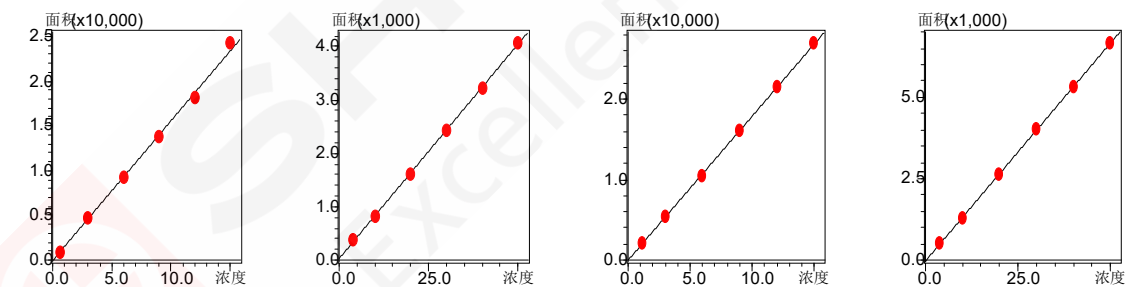


图 6. 非衍生法 4 种组分线性图（AFG2、AFG1、AFB2、AFB1）

表 1. 光化学衍生法线性关系结果

组分	线性方程	线性范围（pg）	相关系数	准确度（%）
AFG2	$Y = 1563.25X - 53.6638$	0.6-15	0.99968	97.3-103.7
AFG1	$Y = 731.877X - 34.3247$	2-50	0.99987	98.1-102.4
AFB2	$Y = 1712.61X + 63.3205$	0.6-15	0.99997	99.1-101.0
AFB1	$Y = 824.822X - 21.7857$	2-50	0.99999	99.8-100.5

表 2. 非衍生法线性关系结果

组分	线性方程	线性范围 (pg)	相关系数	准确度 (%)
AFG2	$Y = 1755.19X + 38.4827$	1.2-15	0.99999	99.2-100.2
AFG1	$Y = 80.3249X + 27.5913$	4-50	0.99991	98.3-106.7
AFB2	$Y = 1789.41X - 22.2039$	1.2-15	0.99996	98.5-100.7
AFB1	$Y = 133.847X - 27.8287$	4-50	0.99996	99.7-100.4

3.3 定量限与检出限

依据2020版《中国药典》2351黄曲霉毒素测定法第一法，黄曲霉毒素G2、G1、B2、B1的定量限检出限要求如表3，实测定量限检测限结果如表4。对比表3和表4可知，光化学衍生法和非衍生法灵敏度均符合《中国药典》要求。在光化学衍生条件下，AFG1、AFB1的灵敏度要明显高于非衍生法；非衍生法条件下，由于系统死体积相对较小，色谱峰峰宽较窄，AFG2、AFB2的灵敏度则高于光化学衍生法。

表 3. 《中国药典》定量限、检出限要求

组分	LOQ(μg/kg)	LOD(μg/kg)	LOQ(ng/mL)	LOD(ng/mL)	LOQ*(pg)	LOD(pg)*
AFG2	0.4	0.2	0.24	0.12	4.8	2.4
AFG1	1	0.5	0.6	0.3	12	6
AFB2	0.4	0.2	0.24	0.12	4.8	2.4
AFB1	1	0.5	0.6	0.3	12	6

表 4. 定量限、检出限结果

组分	光化学衍生法				非衍生法			
	LOQ (pg)	LOD (pg)	LOQ* (μg/kg)	LOD* (μg/kg)	LOQ (pg)	LOD (pg)	LOQ* (μg/kg)	LOD* (μg/kg)
AFG2	0.42	0.14	0.035	0.012	0.17	0.06	0.014	0.005
AFG1	0.89	0.30	0.074	0.025	4.17	1.38	0.348	0.115
AFB2	0.38	0.12	0.032	0.010	0.20	0.07	0.017	0.006
AFB1	0.88	0.29	0.073	0.024	2.91	0.96	0.243	0.080

*中国药典要求供试品进样量为 20~50 μL，此处定量限检出限以最低进样量 20 μL 进行计算

3.4 精密度

在光化学衍生及非衍生条件下，混合对照品溶液（G1、B1浓度为2.0 ng/mL，G2、B2浓度为0.6 ng/mL）各取5 μL连续进样6次，考察仪器精密度，结果如表5，各组分的保留时间RSD%<0.2%，峰面积RSD%<2.0%，仪器精密度良好。

表 5. 精密度结果

组分	光化学衍生法		非衍生法	
	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
AFG2	0.15	0.70	0.03	0.60
AFG1	0.14	1.02	0.03	1.70
AFB2	0.16	0.82	0.03	0.95
AFB1	0.18	1.08	0.03	1.76

3.5 样品测定

取供试品溶液进样20 μL ，色谱图见图7-8，检测结果见表6。光化学衍生条件下，供试品中检出黄曲霉毒素B1，其含量为0.053 $\mu\text{g/kg}$ ，该结果小于仪器定量限及《中国药典》规定的方法定量限。非衍生条件下，所有组分均未检出。AFB1在非衍生条件下会发生荧光猝灭，灵敏度相对较低，故光化学衍生条件下能检测到的AFB1组分在非衍生条件下未检出。两种分析方法下，供试品中的黄曲霉毒素检测结果均符合该品种中药配方颗粒对黄曲霉毒素的限量要求，即黄曲霉毒素B1不大于5 $\mu\text{g/kg}$ ，黄曲霉毒素G1、G2、B1、B2的总和不大于10 $\mu\text{g/kg}$ 。

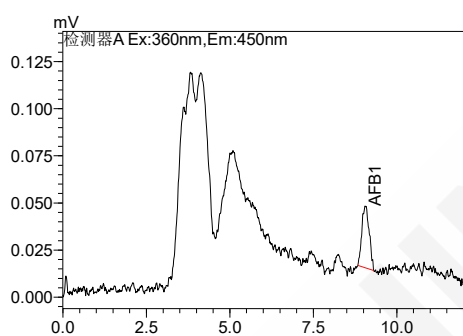


图 7 光化学衍生法供试品色谱图

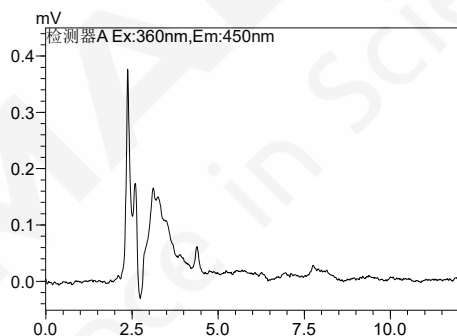


图 8. 非衍生法供试品色谱图

表 6. 样品测定结果

组分	光化学衍生法		非衍生法	
	含量 (pg)	含量 ($\mu\text{g/kg}$)	含量 (pg)	含量 ($\mu\text{g/kg}$)
AFG2	-	-	-	-
AFG1	-	-	-	-
AFB2	-	-	-	-
AFB1	0.635	0.053	-	-
总量	0.635	0.053	-	-

3.6 加标回收率

取大枣配方颗粒样品粉末各15 g，分别加入低中高不同浓度的黄曲霉毒素对照品溶液，按照“2.样品前处理”方法进行处理，光化学衍生法及非衍生法条件下4种组分的加标回收率分别在95.2%-107.3%、94.5%-107.6%之间，两种分析方法的准确性良好，回收率结果见表7。

表 7. 加标回收率测定结果

组分	加标量 (pg)	光化学衍生法回收率 (%)	非衍生法回收率 (%)
AFG2	3.6	95.2	95.9
	5.4	101.4	102.2
	7.2	95.4	94.5
AFG1	12	102.0	107.6
	18	101.9	104.6
	24	99.0	100.3
AFB2	3.6	97.4	98.2
	5.4	102.4	103.0
	7.2	98.5	95.7
AFB1	12	104.4	97.7
	18	107.3	101.8
	24	100.4	96.0

4. 结论

本文采用液相色谱法对中药配方颗粒样品中的黄曲霉素G1、G2、B1、B2进行了分析。样品经免疫亲和柱净化后采用岛津光化学衍生反应器PR-1000衍生后进行荧光检测，同时基于荧光检测器RF-20A xs的高灵敏性能，本实验同时考察了不衍生条件下进行黄曲霉毒素的可行性。通过对比考察两种分析方法的线性范围、定量限检测限、精密度、回收率，并应用于实际样品大枣配方颗粒的分析，结果表明两种分析方法均可用于中药配方颗粒黄曲霉毒素的准确检测。

LC-MSMS 法定性定量分析阿胶药材

摘要：本文建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用定性定量测定阿胶药材的方法。参照《中国药典》2020 年版阿胶<含量测定>项对阿胶的定量要求，使用胰蛋白酶酶解阿胶样品，选择阿胶的特征肽作为定性依据，驴源多肽 A1 和驴源多肽 A2 作为定量依据；建立了 m/z 539.80>612.40 和 m/z 539.80>923.80 检测离子对， m/z 469.25>712.30 和 m/z 469.25>783.40 检测离子对， m/z 618.35> 779.40 和 m/z 618.35> 850.40 检测离子对，且对照品溶液及市售药材中阿胶特征肽的信噪比均远远大于 3:1。该方法满足《中国药典》2020 年版要求，可实现阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性定量分析。

关键词：高效液相色谱 三重四极杆质谱 阿胶定量 驴源多肽 阿胶鉴别

胶类药材是具有典型民族特色的传统中药，为动物的皮熬制而成的明胶类物质。阿胶系驴皮经煎煮浓缩成的固体胶，能补血滋阴、润燥止血，用于贫血心悸、燥咳咯血、先兆流产、产后血虚、肌痿无力，是中医临床常用补益药。阿胶经水解后其胶原蛋白变为分子量更小的肽类，从而失去原有胶原蛋白的性质，这给阿胶鉴别带来一定难度。2015版《中国药典》对阿胶的定性采用液质联用的方法检测阿胶特征肽段，其后，发布了新阿胶（猪皮源）、牛皮源等以次充好样品补充检验方法。《中国药典》2020年版阿胶<含量测定>保留了氨基酸项，增加了特征多肽项，采用液相色谱-串联质谱法(LC-MS/MS)对驴源多肽A1（ $C_{41}H_{68}N_{12}O_{13}$ ）和驴源多肽A2（ $C_{51}H_{82}N_{18}O_{18}$ ）进行测定，并规定阿胶中驴源多肽A1和驴源多肽A2总量计应不得少于0.15%。

本文利用岛津三重四极杆液质联用系统LCMS-8045对阿胶中的定性特征肽段及驴源多肽进行了分析，建立了阿胶定性定量分析方法，可为该类样品的分析提供参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪 LC-20ADXR 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A5
输液泵	: LC-20ADXR×2	柱温箱	: CTO-20AC
自动进样器	: SIL-20ACMP	质谱仪	: LCMS-8045
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.89		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2.0 μ m, SGLC P/N:

227-30001-04)

流 动 相 : A 相-0.1% 甲酸水溶液; B 相-乙腈

进 样 体 积 : 5 μ L

流 速 : 0.3 mL/min 柱 温 : 40°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Action	Value
0.00	Pumps	Pump B Conc.	5
20.00	Pumps	Pump B Conc.	20
40.00	Pumps	Pump B Conc.	50
40.10	Pumps	Pump B Conc.	5
50.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI+

雾化气流速 : 3.0 L/min

接口电压 : 4.5 kV

干燥气流速 : 10.0 L/min

驻留时间 : 10 ms

加热气流速 : 10.0 L/min

接口温度 : 300 °C

碰撞气 : 氦气

D L 温度 : 250 °C

扫描模式 : 多反应监测(MRM)

加热模块温度 : 400 °C

M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
驴皮特征肽段	539.80	612.40	-38	-22	-22
		923.80	-38	-24	-40
驴源多肽 A1	469.25	712.30	-16	-21	-32
		783.40	-18	-20	-28
驴源多肽 A2	618.35	779.40	-24	-25	-32
		850.40	-22	-28	-26

1.3 对照品和样品配制

供试品制备: 取本品粉末0.1 g, 精密称定, 置50 mL量瓶中, 加1%碳酸氢铵溶液40 mL, 超声处理(功率250W, 频率40kHz) 30分钟, 加1%碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀。精密量取1 mL至5 mL量瓶中, 加胰蛋白酶溶液(取序列分析级胰蛋白酶, 加1%碳酸氢铵溶液制成每1 mL中含1 mg的溶液, 临用前新制) 1 mL, 加1%碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 摇匀, 37°C恒温酶解12小时, 滤过, 取续滤液, 即得。

对照溶液的制备: 取驴源多肽A1对照品、驴源多肽A2对照品适量, 精密称定, 加1%碳酸氢铵溶液分别制成每1 mL含2.5 μ g的混合溶液, 即得。

校准曲线配制: 精密量取对照品溶液1 mL、2 mL、5 mL、10 mL、20 mL和25 mL, 分别置 50 mL 量瓶中, 加 1%碳酸氢铵溶液稀释至刻度, 制成校准曲线溶液。分别精密吸取不同浓度的校准曲线溶液与供试品溶液各5 μ L, 注入高效液相色谱-质谱联用仪, 以对照品峰面积为纵坐标, 对照品浓度为横坐标制备校

准曲线。从校准曲线读出供试品溶液中相当于驴源多肽 A1和驴源多肽 A2的量，计算即得。

2. 结果与讨论

2.1 阿胶对照药材的 MRM 色谱图

LC-MS/MS分析，获得阿胶对照药材的MRM色谱图，阿胶特征肽保留时间为6.75 min，驴源多肽A1保留时间为4.51 min，驴源多肽A2保留时间为5.37 min，图1中两对特征离子对539.8>612.4以及539.8>923.8的信噪比分别为849和945，满足药典中要求的色谱峰信噪比大于3:1的要求。

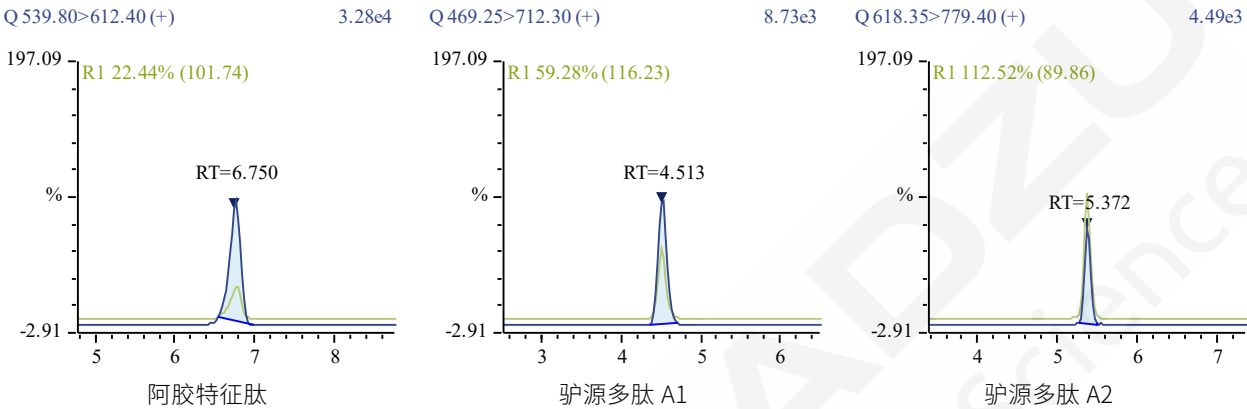


图 1. 阿胶对照药材特征多肽的 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

根据药典要求，配制校准曲线，经LCMS-8045分析后，以峰面积对浓度作图，绘制外标曲线。驴源多肽 A1和驴源多肽 A2校准曲线见图2，校准曲线方程及相关系数等参数见表3。驴源多肽 A1和驴源多肽 A2在0.05-1.25 µg/mL范围内，线性良好，相关系数均大于0.995。

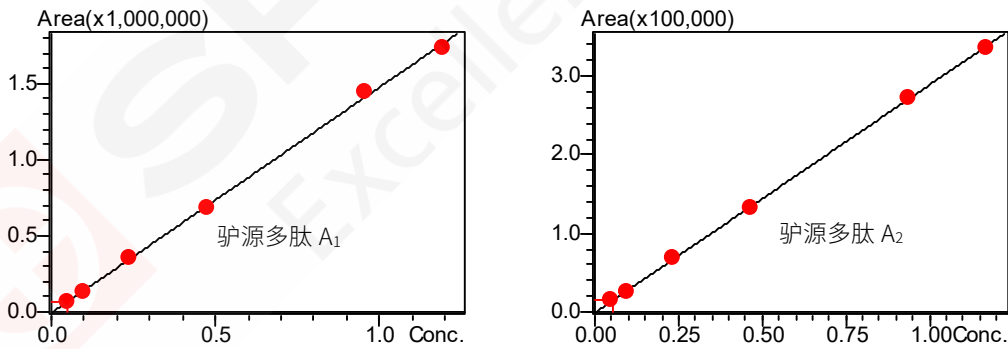


图 2. 驴源多肽 A1 和驴源多肽 A2 的校准曲线图

表 3. 驴源多肽 A1 和驴源多肽 A2 校准曲线

名称	校准曲线	线性范围 (µg/mL)	相关系数 R	准确度 (%)
驴源多肽 A1	$Y = (1.48188e+006)X - 6580.04$	0.05-1.25	0.9995	94.3-105.5
驴源多肽 A2	$Y = (290064)X - 1040.40$	0.05-1.25	0.9998	93.9-113.3

2.3 实际样品分析

对市售的一种阿胶药材供试品进行分析，结果如图3所示，阿胶特征肽段通道无干扰，且信噪比均大

于10: 1, 满足药典对于阿胶定性的要求, 见表4。

驴源多肽A1和驴源多肽A2色谱峰形良好, 使用前述校准曲线对供试品进行定量分析, 归一化含量为0.21%, 满足药典对于阿胶含量的要求, 见表5。

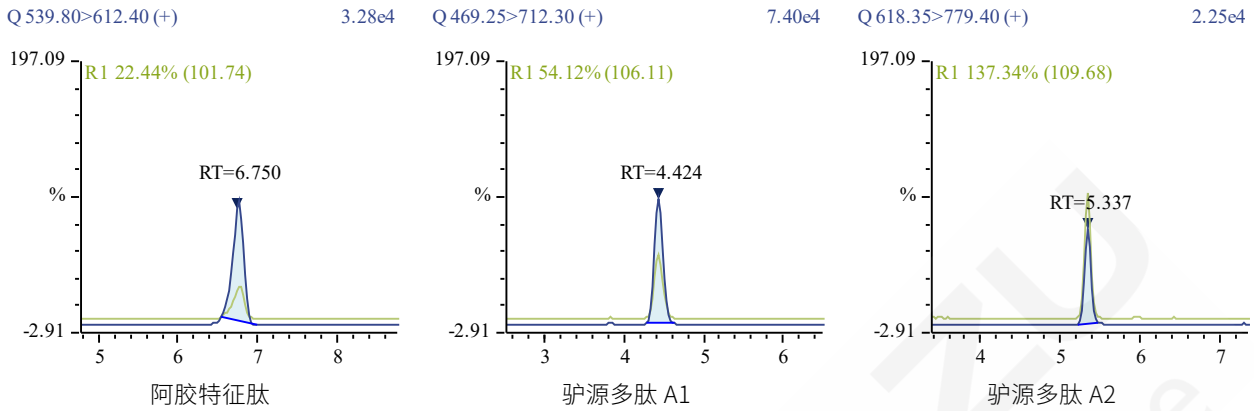


图 3. 市售阿胶样品的 MRM 色谱图

表 4. 实际样品中阿胶特征肽分析结果

样品编号	离子对信息	保留时间 (min)	峰高	峰面积	信噪比
阿胶特征肽	539.80>612.40	6.75	115017	1603872	1073
	539.80>923.80		45804	635228	769

表 5. 实际样品中驴源多肽含量结果

样品编号	离子对信息	保留时间（min）	浓度(μg/mL)	含量
驴源多肽 A1	469.25>712.30	4.42	0.38	0.21%
	469.25>783.40			
驴源多肽 A2	618.35> 779.40	5.34	0.45	
	618.35> 850.40			

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪LCMS-8045鉴定阿胶中特征肽段, 实现了阿胶定性定量测定。该方法所检测阿胶特征肽段MRM色谱图中离子对539.80>612.40, 539.80>923.80的响应明显, 完全满足《中国药典》2020年版要求色谱峰信噪比大于3:1的要求。市售阿胶药材样品分析结果表明, 驴源多肽A1和驴源多肽A2在0.05-1.25 μg/mL范围内, 线性良好, 相关系数均大于0.999。本方法满足《中国药典》2020年版要求, 可为阿胶药材的快速、准确、灵敏的定性鉴别以及定量测定提供参考。

LCMS法测定中药千里光内源性毒素成分阿多尼弗林碱

摘要：本文参考 2020 版《中国药典》千里光检查项阿多尼弗林碱的相关条件，采用岛津单四极杆质谱仪 LCMS-2050 对千里光中阿多尼弗林碱进行测定。实验结果显示：在本色谱质谱系统下，空白溶液不干扰含量测定，方法专属性较好；校正因子溶液重复进样 6 次，目标峰阿多尼弗林碱和内标野百合碱色谱峰保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.07%和 1.06%、0.90%，重复性好、仪器精密度良好；采用内标法定量，方法准确度高，可为千里光中阿多尼弗林碱含量测定提供参考。

关键词：单四极杆质谱 阿多尼弗林碱 千里光

中草药千里光为菊科千里光属，具有清热解毒、明目、利湿作用，用于治疗痈肿疮毒、感冒发热、目赤肿痛、泄泻痢疾、皮肤湿疹。阿多尼弗林碱是千里光中的吡咯里西啶类生物碱(pyrrolizidine alkaloids, PAs) ，是该属植物的特征性成分之一。阿多尼弗林碱具有强烈的肝毒性，直接靶器官为肝脏，在体内通过代谢活化而致毒，可引起肝细胞出血性坏死等症状。近年来引起了国际社会的广泛关注，国外有因服用了含欧洲千里光植物的药茶而致死的报道。

由于PAs 的毒性，许多国家和地区对其限量作出了规定。但由于千里光属植物中PAs 含量相对较低，且该类化合物结构上无生色团，紫外响应弱，故采用液相色谱-质谱联用法测定千里光中的阿多尼弗林碱含量，对千里光安全用药进行质量控制，以保障用药安全。

2020版《中国药典》对千里光药材品种检查项下要求使用液相色谱-单四极杆质谱进行阿多尼弗林碱测定，要求千里光药材中含量不得超过0.004% (40 $\mu\text{g/g}$) 。本实验使用岛津LCMS-2050建立了单四极杆质谱测定千里光中阿多尼弗林碱的含量。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱-单四极杆质谱联用仪 LCMS-2050。具体配置为：

系统控制器	: SCL-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40D XR (LPGE)	自动进样器	: SIL-40C XR
柱温箱	: CTO-40C	质谱仪	: LCMS-2050
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.114		



图 1. 高效液相色谱质谱联用仪 LCMS-2050

1.2 分析条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 2 μm); P/N: 227-32001-03; 岛津 (上海) 实验器材有限公司

流 动 相 : A 相-0.5%甲酸溶液, B 相-乙腈

进 样 体 积 : 2 μL 流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 40℃

洗 脱 方 式 : 等度洗脱, A: B=93: 7

质谱条件

离 子 源 : DUIS (ESI+APCI)	脱 溶 剂 温 度 : 450℃
雾 化 气 : 2.0 L/min	接 口 电 压 : -2 kV
干 燥 气 : 5.0 L/min	Qarray 电压 : -50 V
加 热 气 : 7.0 L/min	扫 描 模 式 : SIM(+) 366、326
D L 温 度 : 250℃	

2. 样品前处理

供试品溶液: 取千里光粉末 (过三号筛) 约 0.2 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 0.5%甲酸溶液 50 mL, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 40 分钟, 放冷, 再称定重量, 用 0.5%甲酸溶液补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 2 mL, 置 5 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 1 mL, 加 0.5%甲酸溶液至刻度, 摇匀, 吸取 2 μL, 注入液相色谱-质谱联用仪, 测定, 即得。

内标溶液: 取野百合碱对照品适量, 精密称定, 加 0.5%甲酸溶液制成每 1 mL 含 0.2 μg 的溶液。

对照品溶液: 取阿多尼弗林碱对照品适量, 置 5 mL 量瓶中, 精密加入内标溶液 1 mL, 加 0.5%甲酸溶液至刻度, 稀释成分别含阿多尼弗林碱 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08 μg/mL, 含内标野百合碱 0.04 μg/mL 的对照品溶液。其中 0.04 μg/mL 对照品溶液为药典中规定的校正因子浓度。

3. 结果与讨论

3.1 专属性

溶剂空白样品与校正因子溶液 SIM 重叠谱图显示, 目标峰保留时间处未见明显干扰, 方法专属性好。

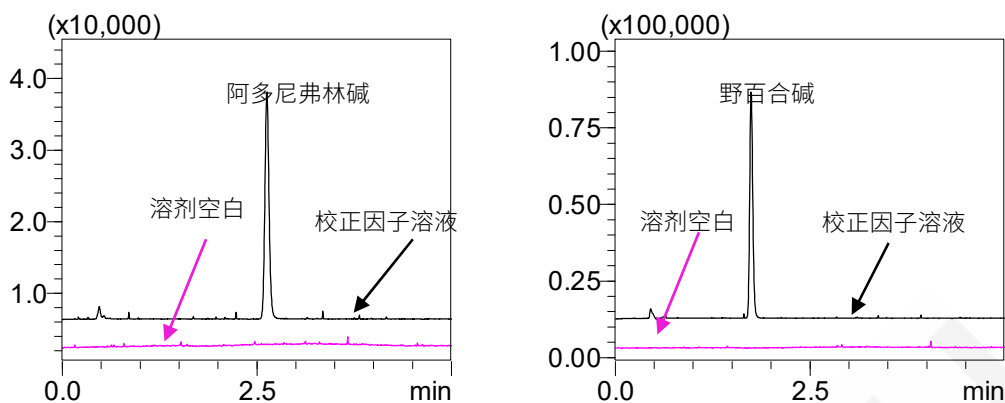


图 2. 专属性色谱图

3.2 线性

将配制的 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08 $\mu\text{g/mL}$ (分别含内标野百合碱 0.04 $\mu\text{g/mL}$) 的校准曲线溶液, 按 1.2 中的分析条件进行测定, 以浓度比为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 内标法制作校准曲线, 阿多尼弗林碱校准曲线方程、相关系数见图 3。所得校准曲线线性关系良好, 相关系数大于 0.999, 准确度在 96.7%-100.9%之间。

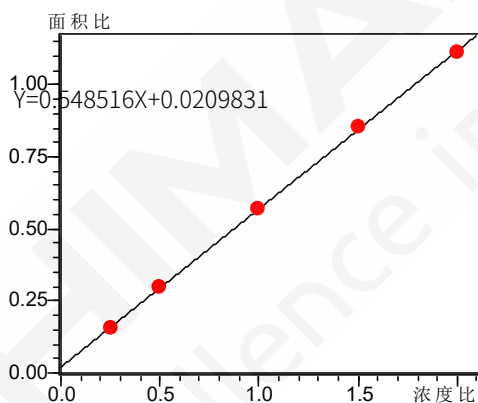


图 3. 阿多尼弗林碱校准曲线

3.3 精密度

校正因子溶液连续 6 次进样, 进行精密度测试。校正因子溶液中阿多尼弗林碱和内标野百合碱的保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.10%、0.07%和 1.06%、0.90%, 仪器精密度良好。

表 1. 重复性测试保留时间及峰面积 RSD 值

名称	化合物	保留时间 RSD%	峰面积 RSD%
校正因子溶液	阿多尼弗林碱	0.10	1.06
	野百合碱	0.07	0.90

3.4 加标回收率

对供试品溶液进行上机分析, 采用内标法计算供试品含量, 定量结果为检出阿多尼弗林碱为 0.0021%, 低于限度要求。向供试品样品中加入标准品溶液进行回收率试验, 使加标浓度为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ (0.0021%)、0.02 $\mu\text{g/mL}$ (0.0006) 和 0.04 $\mu\text{g/mL}$ (0.0013), 其回收率在 90%到 105%之间。

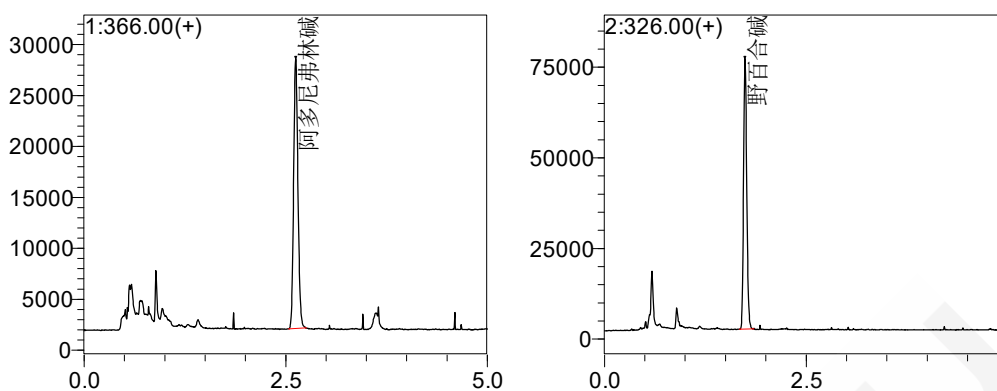


图 4. 供试品溶液色谱图

表 2. 千里光供试品加标回收率结果

化合物	加标浓度 (%)	回收率 (%)
阿多尼弗林碱	0.0021	90
	0.0006	105
	0.0013	102.5

4. 结论

采用岛津 LCMS-2050 单四极杆质谱仪，参考 2020 版《中国药典》建立了测定千里光中阿多尼弗林碱的含量。该方法线性关系良好，相关系数 r 大于 0.999，精密度、准确度均符合标准，可以为千里光中阿多尼弗林碱杂质含量测定提供参考。

3.2.3 饮片掺杂使假

为加强中药饮片监督管理，提高中药饮片质量，国家药品监督管理局及各级地方药品监督管理部门从2013年起组织开展了全国中药饮片抽检工作，包括药品抽检、监督抽检、委托抽检和专项抽检等。数据显示，虽然近5年中药饮片的合格率持续提高，在2021年抽检合格率达到97.21%，但一些质量问题仍然存在，主要集中在指标性成分含量不合格、染色增重、非药用部位过多、品种掺伪掺杂等方面。

中药的来源除部分人工制品外，绝大多数都是来自天然的植物，部分药材因其资源紧缺，市场价格较高，以同属近似种伪品冒充正品的现象屡见不鲜。此外，不同来源的中药饮片由于部分外观性状相似或名称部分相同常常被混用。而对于一些正品资源稀少、不可再生的品种，掺伪情况则尤为严重，亟待寻找合适的人工替代品。

为了追求经济利益最大化，一些不良商家会采取提高中药饮片的品相或掩盖掺杂使假行为，常采用色素及有机染料将劣质饮片或伪造饮片进行染色处理，以掩盖其真实的质量。例如，红花等用酸性红73、金橙Ⅱ、柠檬黄和胭脂红染色；蒲黄等用柠檬黄、酸性黄36和金胺O染色；延胡索用金胺O染色。近年来，由于补充检验方法的颁布实施，染色现象得到有效遏制，但部分中药饮片仍有染色现象发生。

为了避免中药饮片掺杂使假问题的发展，相关检验人员需全面掌握饮片掺伪使假的鉴别技巧以及检验方法，才能杜绝此类事件的发生。



三重四极杆液质联用仪



微芯片电泳分析仪

LC-MSMS 法用于清半夏药材中掺伪虎掌南星的鉴定研究

摘要：本文采用岛津LC-20AD XR高效液相色谱系统以及LCMS-8040高效液相色谱串联质谱系统，建立了清半夏药材与伪品虎掌南星的鉴别方法。首先采用高效液相色谱法，对虎掌南星特征成分水麦冬酸进行检测。对不同来源的2份清半夏（清半夏A，清半夏B）进行分析，发现清半夏样品A的HPLC图谱中出现与水麦冬酸对照品保留时间一致的色谱峰（清半夏B中未见保留时间一致的色谱峰），进一步比较其光谱图，发现其光谱图在190-400 nm范围内相似度为85%。再通过液相色谱串联质谱进行测定，发现其色谱峰出峰时间一致，且相对离子丰度偏差不超过20%，推测清半夏A中含有水麦冬酸。本文建立了半夏中掺伪品虎掌南星的鉴别方法，重复性好，对提升半夏药材质量控制，保障临床用药安全有效具有重要意义。

关键词：LLC-MSMS 清半夏 虎掌南星 水麦冬酸 掺伪

夏为天南星科植物半夏 *Pinellia ternata* (Thunb.) Breit. 的干燥块茎，是我国传统中药材之一，已有两千余年的用药历史，备受历代医家的推崇，历版中国药典均有收载。具有去湿化痰、降逆止呕、清痞散结等功效。随着近年更广泛深入的研究，发现半夏还具有抗肿瘤、降血脂、护肝和治疗冠心病等多种重要作用。

半夏作为一味常用大宗药材，不仅供中医临床配方使用，也是多种中成药的成分原料。据中国医学科学院统计，在 558 种中药处方中，半夏使用频率居第 22 位。随着近年来半夏市场需求量持续增加、野生资源不断减少、半夏栽培技术严重滞后等问题日益加剧，正品半夏已不能完全满足药材市场的需要，因而在市场上已出现大批半夏同属及同科伪品混用的现象，其中，虎掌南星是半夏中常见的掺伪品。虎掌南星药材小块茎经加工打磨后，外观与半夏相似，性状鉴别难度极大，为半夏的安全有效用药带来隐患。

本研究，通过对虎掌南星的特征成分水麦冬酸进行研究，建立了基于高效液相色谱，高效液相色谱串联质谱的鉴别方法，为进一步加强半夏药材质量控制，规范药材市场奠定基础。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 LC-20ADXR 高效液相色谱与 LCMS-8040 高效液相色谱串联质谱系统。岛津 LC-20ADXR 高效液相色谱系统，具体配置为：

系 统 控 制 器	: CBM-20A Lite	脱 气 机	: DGU-20A _{3R}
输 液 泵	: LC-20ADXR × 2	自 动 进 样 器	: SIL-20ACXR
柱 温 箱	: CTO-20AC	检 测 器	: SPD-M20A
色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.98		

LCMS-8040高效液相色谱串联质谱系统，具体配置为：

系统控制器：CBM-20A Lite 脱气机：DGU-20A_{3R}
输液泵：LC-20ADXR × 2 自动进样器：SIL-20ACXR
柱温箱：CTO-20AC 离子源：ESI
色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

1.2.1 液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack Scepter C18 色谱柱（250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm），PN: 227-31020-06，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.1%磷酸水溶液；B-乙腈

流速：0.8 mL/min 柱温：25°C

进样体积：10 μL 波长：210 nm

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为1%，时间程序见表1。

表1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
40	泵	B.Conc	1
45	泵	B.Conc	10
50	泵	B.Conc	1
65	控制器	Stop	

1.2.2 液相色谱-质谱联用条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack GISS C18（100 mm × 2.1 mm I.D., 1.9 μm），PN: 227-30048-02，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.02%氨水溶液；B-甲醇

流速：0.2 mL/min 柱温：40°C

进样体积：0.1 μL

洗脱方式：等度洗脱，B相浓度为5%

质谱条件

离子源参数

离子源：ESI- 加热模块温度：400°C
雾化气流速：3.0 L/min 干燥气流速：15.0 L/min
DL温度：250°C 扫描模式：MRM
MRM参数：见表2

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	水麦冬酸	Triglochinic acid	31795-12-7	187.1 187.1	143.2 99.1	20.0 12.0	10.0 10.0	12.0 10.0

1.3 标准溶液配制

精密称取水麦冬酸标准品 10.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加入乙腈-0.1%的磷酸溶液(1:99)至刻度线，即得 1 mg/mL 储备液。然后用乙腈-0.1%的磷酸溶液(1:99)稀释为 0.25 µg/mL，1 µg/mL 工作液(质谱的工作液用乙腈-0.1%甲酸溶液(1:99)稀释)，待测。

1.4 样品前处理

取供试样品粉末(过四号筛)约1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加水20 mL，称定重量，超声处理(功率250 W，频率40 kHz)45分钟，放冷，再称定重量，用水补足减失的重量，摇匀，滤过，精密量取续滤液10 mL至50 mL离心管中，加磷酸0.1 mL，摇匀，加入乙酸乙酯20 mL，摇匀，离心(转速为每分钟5000转)，分取乙酸乙酯层溶液，剩余酸液再用乙酸乙酯重复提取3次，每次20 mL，合并乙酸乙酯液，减压回收溶剂至干，残渣加乙腈-0.1%磷酸溶液(1:99)溶解，并定容至2mL，用微孔滤膜(0.45 µm)滤过，取续滤液，即得。若液相测定过程中发现待测样品中含有与水麦冬酸对照品溶液色谱峰保留时间相同且光谱相似的色谱峰，需进一步采用高效液相色谱-质谱联用方法确证。质谱测定样品用乙腈-0.1%甲酸溶液(1:99)使溶解，并定容至2mL，用微孔滤膜(0.45 µm)滤过，取续滤液，即得。

1.5 结果判断

供试品溶液色谱中，在与水麦冬酸对照品溶液色谱峰保留时间相应的位置上不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，则采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰在190~400 nm波长范围内紫外-可见吸收光谱，吸收光谱应不相同。必要时采用高效液相色谱-质谱联用方法确证。(参考国家药品监督管理局的发布的《半夏药材及饮片生半夏、法半夏、姜半夏、清半夏中水麦冬酸检查项补充检验方法》)

2. 结果与讨论

2.1 色谱图

对空白溶剂、水麦冬酸标品、清半夏A、清半夏B进行分析，其色谱图分别见图1、2、3、4，清半夏A样品在与水麦冬酸对照品色谱峰保留时间相同的位置出现色谱峰。

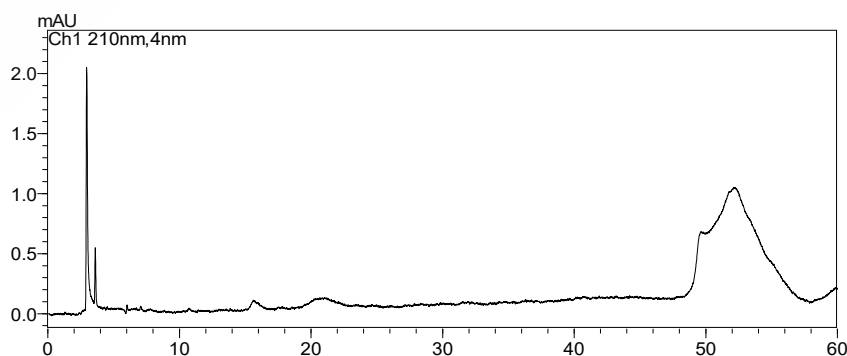


图1. 空白溶剂色谱图

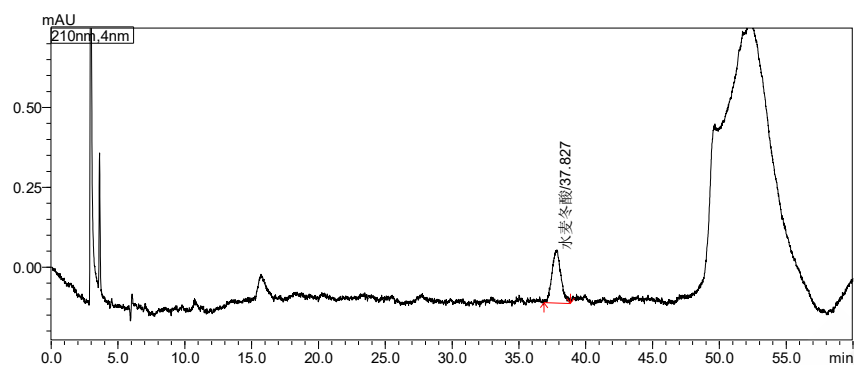


图2. 0.25 µg/ml 水麦冬酸标品色谱图

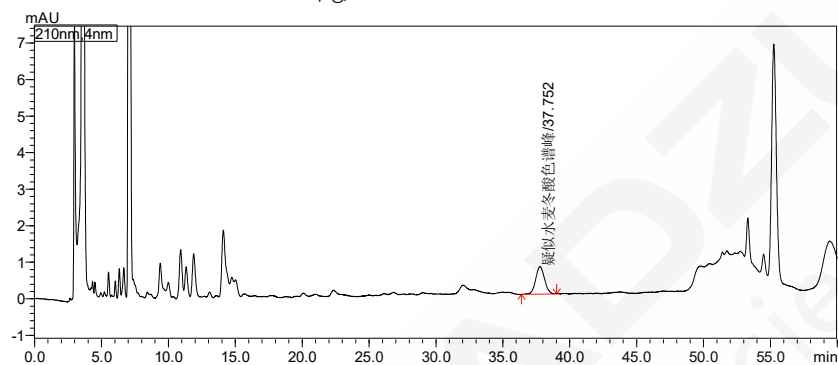


图3. 清半夏A样品色谱图

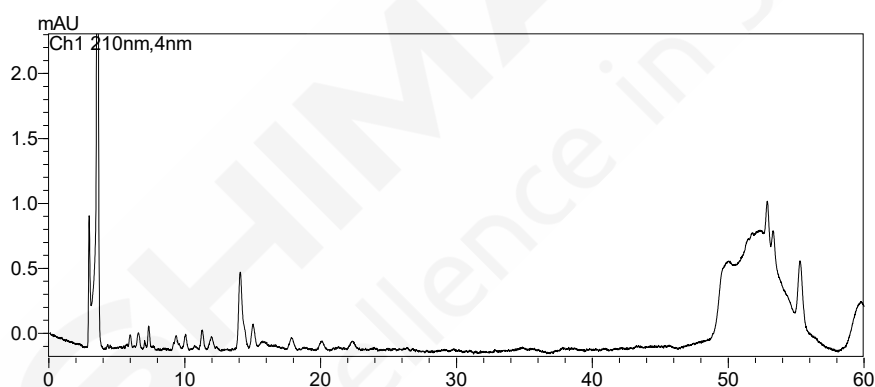


图4. 清半夏B样品色谱图

2.2 检出限及定量限

对浓度为 0.25 µg/mL 的水麦冬酸溶液进样分析，由信噪比计算其检出限及定量限（LOD, S/N=3; LOQ, S/N=10），结果如表 3 所示。

表 3. 水麦冬酸的检出限和定量限

名称	检出限(µg/mL)	定量限(µg/mL)
水麦冬酸	0.07	0.25

2.3 精密度实验

将0.25 µg/mL的水麦冬酸标准溶液连续进样6次，考察仪器精密度。水麦冬酸的保留时间和峰面积 RSD值分别为0.29%和1.24%，仪器精密度良好，色谱图见图5。

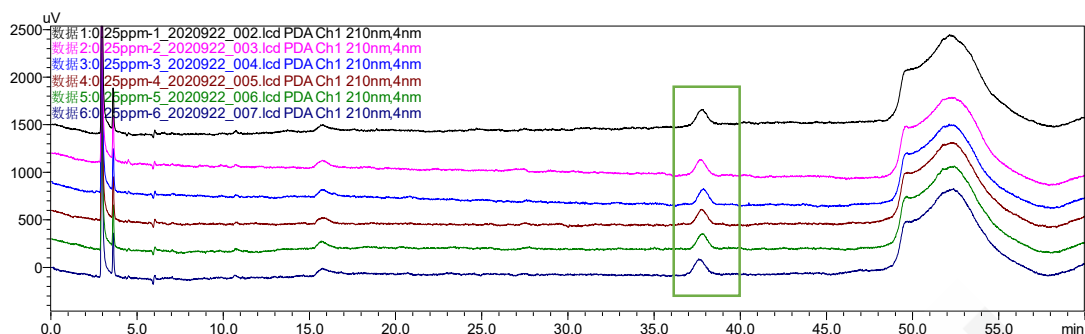


图5. 水麦冬酸溶液精密度测试色谱图 (n=6) (绿色框中为水麦冬酸色谱峰)

2.4 光谱图对比结果

水麦冬酸标品色谱峰及清半夏 A 样品中与水麦冬酸标品保留时间一致的色谱峰在 190-400 nm 波长范围内的紫外-可见吸收光谱的对比结果见图 6，其光谱相似度为 0.972（图 7）。

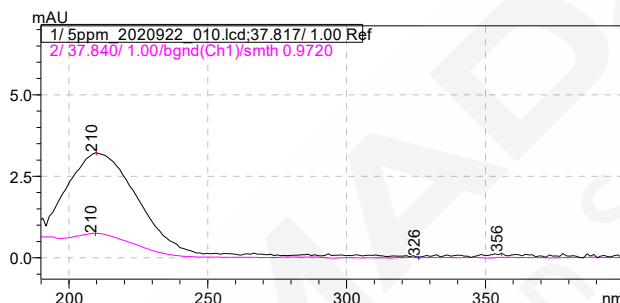


图 6. 清半夏 A 样品（粉色）与水麦冬酸标品（黑色）保留时间一致的色谱峰对应的光谱图对比图

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	☒	数据文件	d:37.81707	设置	1.00	210/356	326	Ref	1
2	☒	时间	37.83987	设置	1.00	210		0.9720	1
3	☐	时间	0.01000	设置	1.00				

图 7. 光谱相似度对比结果

2.5 液相色谱质谱联用方法确证结果

清半夏 A 样品在与水麦冬酸对照品溶液色谱峰保留时间相同的位置上的出现色谱峰，见图 8，其相对离子丰度与浓度相当的标准工作溶液的相对离子丰度进行比较，清半夏 A 样品中与水麦冬酸对照品相同保留时间的色谱峰的相对离子丰度为 56.47%，水麦冬酸对照品的相对离子丰度为 62.34%，两者相对离子丰度偏差为 9.4%，不超过欧盟非强制执行法案 2002-657-EC(质谱分析方法鉴定点数)规定的当定性离子强度大于 50%时其样品的相对离子丰度的最大允许偏差值小于标品的 20%的要求，见图 9。表明清半夏 A 中确实存在水麦冬酸，清半夏 B 中不存在水麦冬酸。

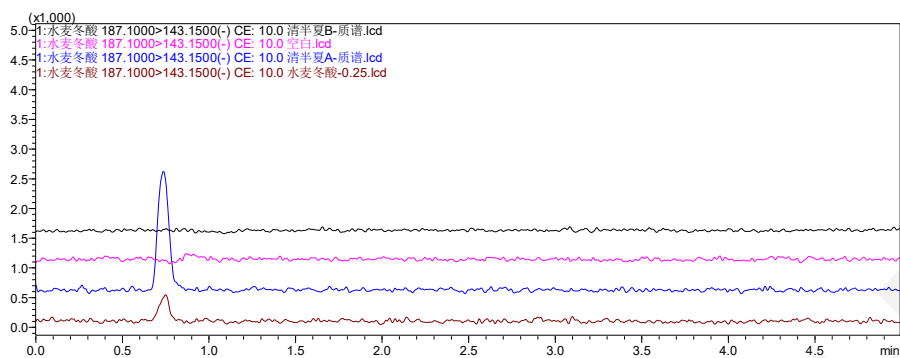


图8. 空白、水麦冬酸、清半夏A样品、清半夏B样品色谱峰

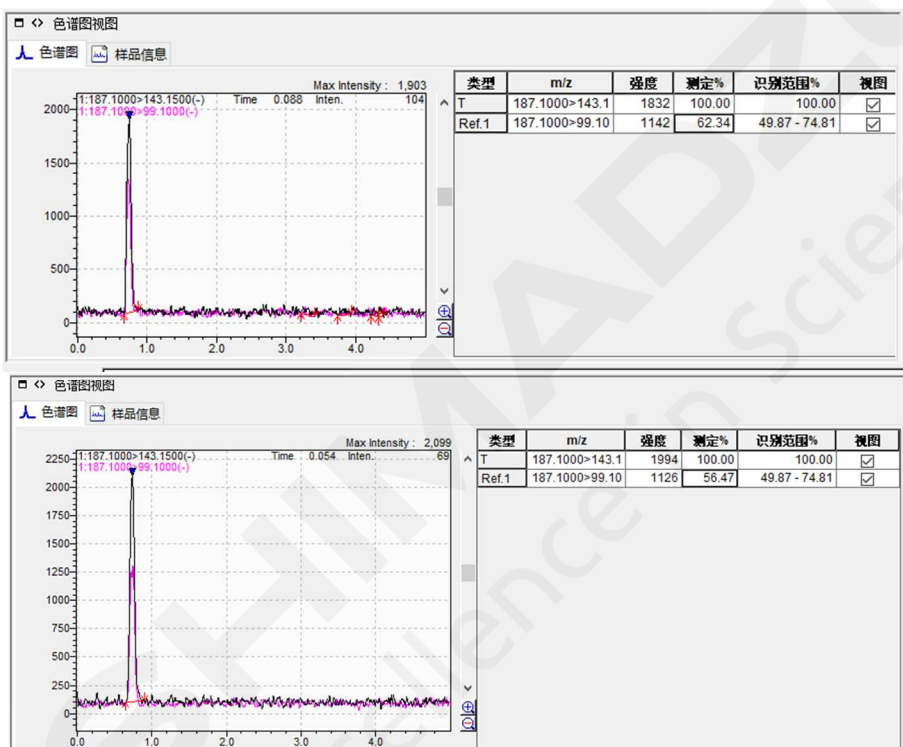


图9. 水麦冬酸标品（上）及清半夏A样品（下）的相对离子丰度

3. 结论

本文采用岛津LC-20ADXR高效液相色谱系统及LCMS-8040高效液相色谱质谱系统，对虎掌南星特征成分水麦冬酸进行检测。对市售两份样品进行测定，通过光谱图对比，质谱相关参数对比，结果显示清半夏A中掺伪虎掌南星。该方法的建立及应用，可为半夏中掺伪虎掌南星的鉴定提供参考，保障临床用药的安全有效。

LC-MSMS 法用于黄柏违规使用金胺 O 染色剂的定性测定

摘 要：本文采用岛津LC-20ADXR高效液相色谱系统、LCMS-8040高效液相色谱串联质谱系统，建立了黄柏中金胺O的定性方法。妇科止带片、绿袍散经70%乙醇提取，Shim-pack GIST C18色谱柱分离，PDA检测，未检出金胺O；绿袍散、妇科止带片加标样品在RT=16.2 min和23.4 min检出色谱峰（435 nm），经与金胺O光谱图比较，初步识别为金胺O。采用LCMS-8040对目标峰进行分析，SCAN+触发产物离子模式扫描，目标峰与金胺O针素一级、二级质谱图相似度极高，推测目标峰为金胺O。本文建立了基于液相色谱、UV光谱以及串联质谱的绿袍散、妇科止带片中染色黄柏的的鉴别方法，该方法选择性强，灵敏度高，有效保障了临床用药安全。

关键词：LC-MSMS 黄柏 金胺O 妇科止带片 绿袍散

金胺O，也称碱性嫩黄O，是一种合成染色剂，主要用于蚕丝、棉、腈纶、羊毛等的染色。金胺O曾发现被用于劣质黄柏、蒲黄、延胡索等中药材、中药饮片的非法染色。金胺O对人体具有一定毒性作用，被列为非食用物质，在中药材、中药饮片和中成药中均不得检出。

国家药监局此前发布了《绿袍散中金胺 O 检查项补充检验方法（BJY 201922）》、《妇科止带片中金胺 O 检查项补充检验方法（BJY 201902）》等多项公告，对涉及黄柏药材的中成药，规定了金胺 O 染色剂的定性测定方法。采用液相色谱法，以保留时间、PDA 光谱图信息对金胺 O 进行定性识别。

本文参考以上两项补充检验方法，基于液相色谱-二极管阵列检测器-三重四极杆质谱，建立了妇科止带片、绿袍散违规使用染色黄柏的定性测定方法。该方法综合考虑色谱分离、UV 光谱以及质谱定性要素，选择性强，灵敏度高，供相关行业参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱仪 LC-20ADXR 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统，配备 PDA 检测器。具体配置如下：

输 液 泵	:LC-20ADXR×2	系 统 控 制 器	:CBM-20A
自 动 进 样 器	:SIL-20AC	三 重 四 极 杆 质 谱 仪	:LCMS-8040
柱 温 箱	:CTO-20AC	二 极 管 阵 列 检 测 器	:SPD-M20A
在 线 脱 气 机	:DGU-20A5R	色 谱 工 作 站	:LabSolutions Ver. 5.98

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 色谱柱 (250 mm× 4.6 mm I.D., 5 μm),
岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N 227-30017-08

流 动 相 : A-0.02mol/L 乙酸铵水溶液; B-甲醇

流 速 : 1 mL/min 柱 温 : 40℃

进 样 体 积 : 10 μL 波 长 : 435 nm

洗 脱 方 式 : 绿袍散: 梯度洗脱, 梯度见表1, 初始10%;
妇科止带片: 等度洗脱, B 相浓度为30%

分 流 比 : 柱后三通分流, 约30%进质谱

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.00	Pumps	Pump B Conc.	20
20.00	Pumps	Pump B Conc.	70
22.00	Pumps	Pump B Conc.	10
30.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源参数

离 子 源 : ESI+ 加 热 模 块 温 度 : 400℃

雾化气流速 : 3.0 L/min 干 燥 气 流 速 : 15.0 L/min

D L 温 度 : 250℃ 扫 描 模 式 : MS SCAN/触发产物离子扫描

M S 参 数 : 扫描范围 m/z100-350, 触发产物离子, 优选离子 m/z 268.2, CE=-25V

1.3 对照品溶液配制

精密称取金胺 O 标准品 2.0 mg, 用 1.0 mL 乙醇溶解, 并稀释至 2 μg/mL 工作液, 待测。

1.4 供试品制备

取绿袍散内容物1.0 g, 加甲醇50 ml, 超声处理20分钟, 放冷, 滤过, 取续滤液, 即得;

取妇科止带片 (包衣片除去包衣) 适量, 研细, 取2.5 g, 加入70%乙醇10 ml, 密塞, 超声处理30分钟, 放冷, 滤过, 取续滤液, 即得。

1.5 结果判断

供试品色谱中, 应不得出现与对照品色谱保留时间相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰, 则采用二级管阵列检测器比较相应色谱峰的紫外-可见吸收光谱 (220~700 nm), 吸收光谱应不相同。必要时采用高效液相色谱-质谱联用方法确证。(源自《绿袍散中金胺O检查项补充检验方法 (BJY 201922)》, 国家药品监督管理局, 2019年11月)

2. 结果与讨论

2.1 色谱图

金胺O对照品分别按照梯度和等度条件分析，金胺O保留时间分别为RT=16.2 min和23.4 min，理论塔板数103893、8703，均大于2000，系统适应性通过。对照品、供试品、供试品加标进行分析，如下图1，供试品中未检出金胺O，而供试品加标样品可检出金胺O，初步判定绿袍散、妇科止带片中无金胺O，结果符合预期。

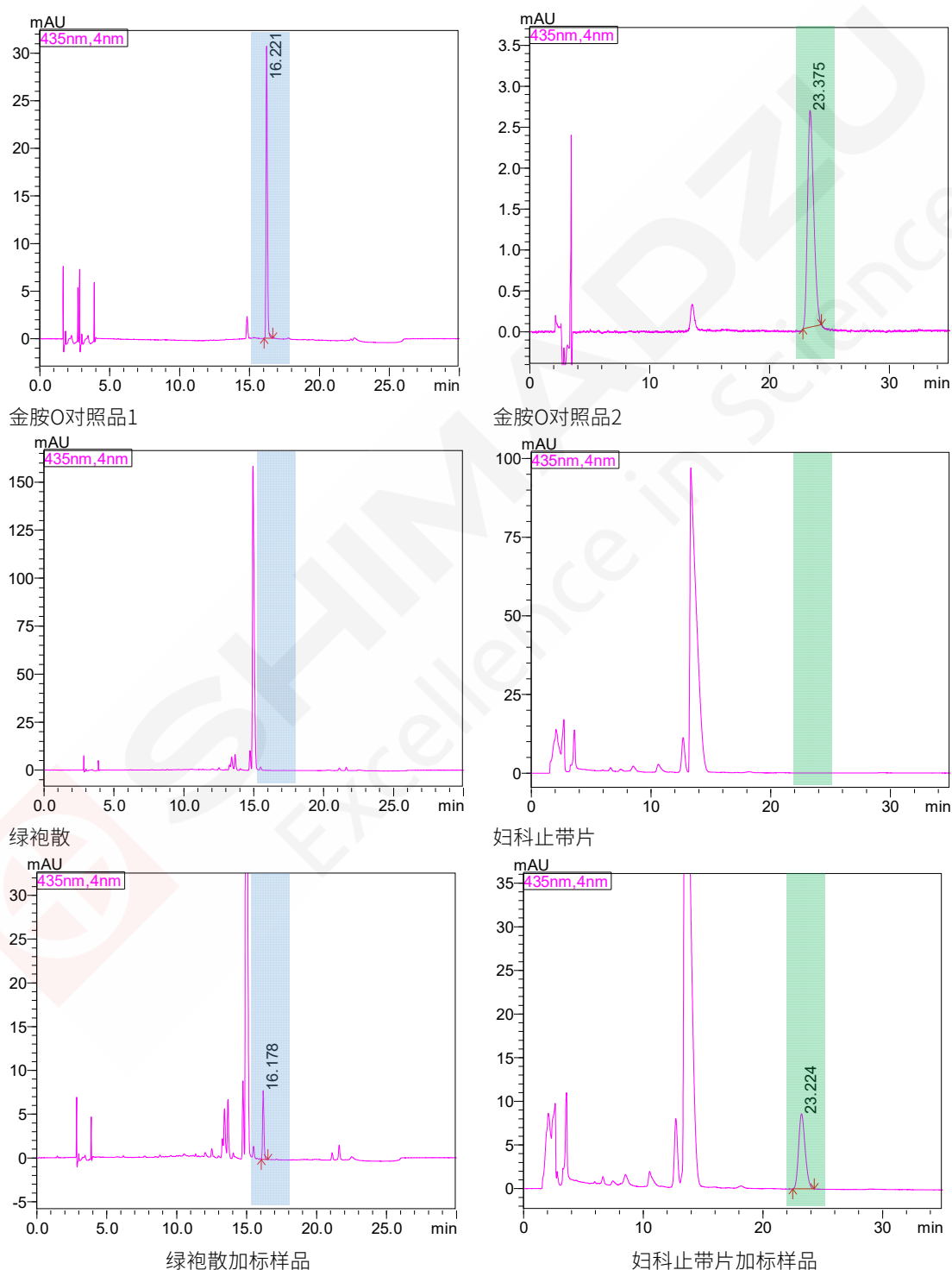


图1. 对照品、供试品、供试品加标色谱图

2.2 检出限及定量限

对浓度为 2 μg/mL 的金胺 O 溶液进样分析，由信噪比计算其检出限及定量限（LOD, S/N=3; LOQ, S/N=10），结果如表 1 所示。

表 1. 金胺 O 检出限和定量限

名称	基质	检出限(μg/mL)	定量限(μg/mL)
金胺 O	绿袍散	0.007	0.024
金胺 O	妇科止带片	0.059	0.200

2.3 光谱图相似度判别

供试品加标样品中金胺 O 与对照品的保留时间一致，保留时间 RSD<2%。对照品、供试品加标样品对应色谱峰的光谱图见图 2，其光谱相似度为分别为 97.3%、98.3%（图 3），光谱相似度高，推测为金胺 O。

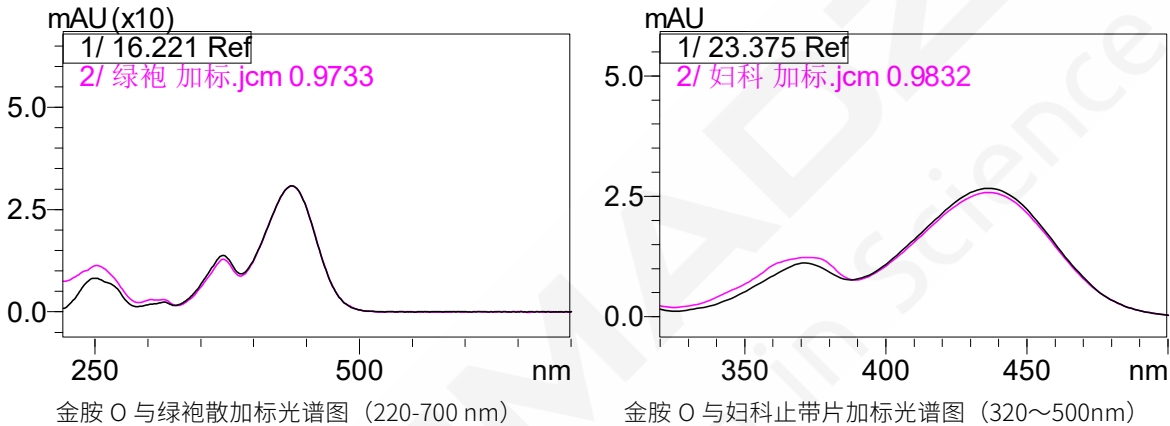


图 2. 供试品、供试品加标样品光谱图

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λmax	λmin	相似度	Ch#
1	☒	时间	16.22097	正常化	1.00	436/202/371/250/315	194/388/325/290/220	Ref	1
2	☒	光谱	绿袍 加标.jcm	正常化	3.91	436/203/371/252/314	193/388/222/291/327	0.9733	

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λmax	λmin	相似度	Ch#
1	☒	时间	23.37477	设置	1.00	437/204/371/250	193/387/220/292/326	Ref	1
2	☒	光谱	妇科 加标.jcm	设置	0.30	436/204/372/250	195/389/221/288/325	0.9832	

图 3. 光谱相似度对比结果

2.4 液相色谱质谱联用方法确证结果

为了进一步进行定性确认，使用 LCMS-8040 对加标样品中目标色谱峰进行分析。在使用液质联用分析时，需进行柱后分流进样，以保证质谱的离子化效率。对照品中金胺 O 质谱图如下图 4，观测到正离子模式[M+H]⁺峰，m/z 268.20，对前体离子进行碰撞，碰撞能 CE=-25V，二级质谱图登录 MSn 库。绿袍散加标样品在 RT=16.19 min 色谱峰检出色谱峰，一级质谱图基峰为 m/z 268.20，二级质谱图进行谱库检索，与金胺 O 相似度 100 分（满分 100），主要碎片离子 m/z 252.00、m/z 147.15、m/z 122.10、m/z 107.20 均与金胺 O 碎片离子一致，如图 5 所示；妇科止带片加标，二级质谱图匹配得分 99 分。以上结果表明，三重四极杆质谱用于金胺 O 定性选择性强，重现性好。

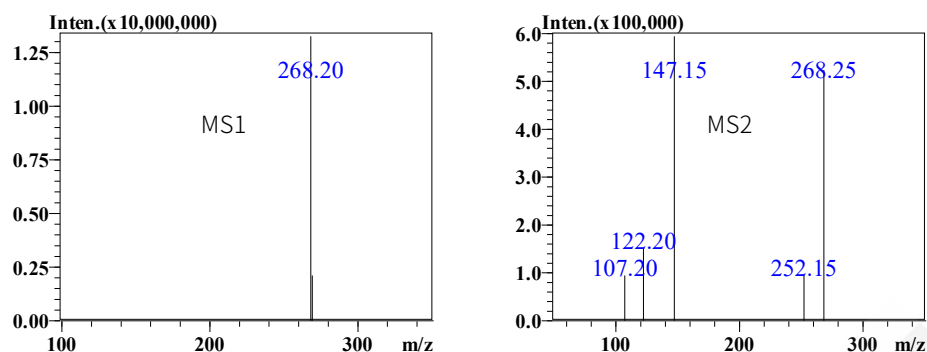


图4. 对照品中金胺O一级质谱图(MS1)、二级质谱图(MS2)



图5. 加标样品二级质谱图谱库检索结果

3. 结论

本文采用岛津LC-PDA-MS/MS高效液相色谱串联质谱系统,建立了含黄柏中药材中违规使用金胺O染色的定性确认方法。该方法基于色谱保留时间、UV光谱以及一级、二级质谱图定性,选择性强,准确度高,供相关行业参考。

应用微芯片电泳 MultiNA 鉴定中药材金银花和多种山银花

摘要：利用改进的基因提取试剂盒方法提取中药材金银花和几种山银花包括红腺忍冬、黄褐毛忍冬和灰毡毛忍冬的基因组，基于 GenBank 金银花和山银花的基因序列差异，分别设计金银花和山银花特异性引物，进行 PCR 扩增，微芯片电泳仪 MultiNA 检测扩增产物，实验结果显示 PCR 扩增产物片段长度与预期长度基本一致。另外，为了验证用于检测山银花的 PCR 引物的特异性，用山银花引物扩增金银花样品，MultiNA 检测 PCR 产物，结果未出现特征条带。本实验表明基于微芯片电泳 MultiNA 开发的方法可实现金银花和几种山银花的鉴定。

关键词：微芯片电泳 MultiNA 中药材品种鉴定 金银花 山银花 忍冬 红腺忍冬 黄褐毛忍冬 灰毡毛忍冬

金银花为忍冬科植物忍冬的干燥花蕾或初开的花，主要活性成分为绿原酸、木樨草苷等黄酮类物质。金银花临床应用非常广泛，《中国药典》成方和制剂中药中就有 61 个方剂以金银花作为主要的组成成分，现代药理实验证明其具有抑菌、抗炎、抗病毒、抗氧化、解热、镇痛、调节免疫、保肝、中枢兴奋和神经保护、抗心肌缺血等作用。尽管在 2005 年版《中国药典》中已明确将忍冬作为金银花唯一植物来源，但之前各版《中国药典》根据临床疗效、地区用药习惯等，曾先后选定忍冬、红腺忍冬、华南忍冬、水忍冬等为金银花的基原植物。且 2005 年版《中国药典》同时规定红腺忍冬、灰毡毛忍冬和黄褐毛忍冬列为山银花药材基原植物。目前，金银花和山银花的区分是一个热点话题。

为保证用药安全，需要准确地鉴定金银花和山银花，然而两者的形态和化学成分高度相似，且传统形态学和化学鉴别常受到人为或环境因素的影响。因此，需要开发一种快速、准确地进行金银花、山银花的鉴定方法。应用分子生物学手段可以实现品种的鉴定，其原理是不同物种具有不同的基因序列。本文根据 NCBI GenBank 中金银花和山银花的基因序列差异，设计两者的特异性 PCR 引物。PCR 过程后，岛津微芯片电泳 MultiNA 检测 PCR 产物。当检测样品为金银花时，用金银花特异性引物扩增得到的 PCR 产物检测出相应条带，尺寸与理论基本一致，而用山银花特异性引物扩增得到的 PCR 产物未能检测出条带；对于山银花样品，本文检测了红腺忍冬、黄褐毛忍冬和灰毡毛忍冬样品，用山银花特异性引物进行以上样品的 PCR 扩增，MultiNA 检测出相应条带，且尺寸与预期相符。这表明本文开发的方法可以成功地鉴定金银花和山银花。

1. 实验部分

1.1 仪器

微芯片电泳 MCE-202 MultiNA

1.2 试剂

TaKaRa MiniBEST Plant Genomic DNA Extraction Kit（宝生物工程有限公司，9768）

SYBR® Premix Ex Taq™ II（宝生物工程有限公司，RR820A）

SYBR® Gold Nucleic Acid Gel Stain (Invitrogen, S-11494)

1×TE Buffer

25 bp DNA Ladder (Invitrogen, 10597-011)

DNA-500 Reagent Kit for MultiNA (岛津公司, P/N 292-27910-91)

样品：金银花、山银花样品为红腺忍冬、黄褐毛忍冬和灰毡毛忍冬。

PCR引物：根据文献和NCBI序列，针对金银花和山银花序列差异设计各自对应的特异性引物，金银花的PCR目标产物长度为468 bp，山银花的PCR目标产物长度为331 bp。

1.3 样品中 DNA 的提取与纯化

样品的基因提取和纯化基本按照TaKaRa MiniBEST Plant Genomic DNA操作方法中富含多糖、多酚及油脂植物材料的提取方法进行，改动之处为开始时取样量为50 mg，加入Buffer HS II 1 mL，另外在洗脱DNA时，只用30 µL Elution Buffer冲洗了Spin Column膜，以获得高浓度的DNA。

1.4 PCR 反应体系

PCR反应试剂与反应条件见表1和表2。

表 1. PCR 反应试剂

	使用量	终浓度
SYBR® Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (2×)	10.0 µL	1×
PCR Forward Primer (10 µM)	0.8 µL	0.4 µM
PCR Reverse Primer (10 µM)	0.8 µL	0.4 µM
DNA 模板	2.0 µL	20 ng/µL
dH ₂ O (灭菌蒸馏水)	6.4 µL	
总体积	20.0 µL	

表 2. PCR 反应参数

作用	时间/s	温度/°C
活化 DNA 活性酶和预变性	30	95
PCR (35 个循环)		
变性	30	94
退火	30	61
延伸	45	72
循环后保持	420	72

1.5 MultiNA 检测

PCR扩增产物进入MultiNA进行测定。根据理论产物片段大小，实验中选用500 bp的试剂盒进行测定。为了验证测量的准确性，本文同时阴性对照实验，阴性对照的反应体系中以纯水代替DNA模板。

2. 结果讨论

图1与是微芯片电泳测量金银花和山银花的PCR产物的凝胶图。实验结果显示，金银花+金银花引物的

PCR产物及几种山银花+山银花引物的PCR产物都观察到了相应条带，说明基因组被成功的提取出来且PCR过程被顺利执行。另外，金银花+山银花引物未检测出目标条带，验证了用于检测山银花的PCR引物的特异性。阴性对照以纯水代替样品DNA模板，实验没有检测到相关片段，证明无假阳性检出。图2是微芯片电泳MultiNA测量金银花+金银花引物的PCR产物电泳图，实验结果显示基因片段长度为475 bp，与预期的468 bp基本一致。图3、图4和图5分别是红腺忍冬、黄褐毛忍冬和灰毡毛忍冬加入山银花山银花引物的PCR电泳图，实验结果显示基因片段长度分别为342 bp、336 bp和338 bp，由于实验时选用DNA 500试剂盒，仪器具有5%误差，与理论片段长度331 bp相比，结果合理。

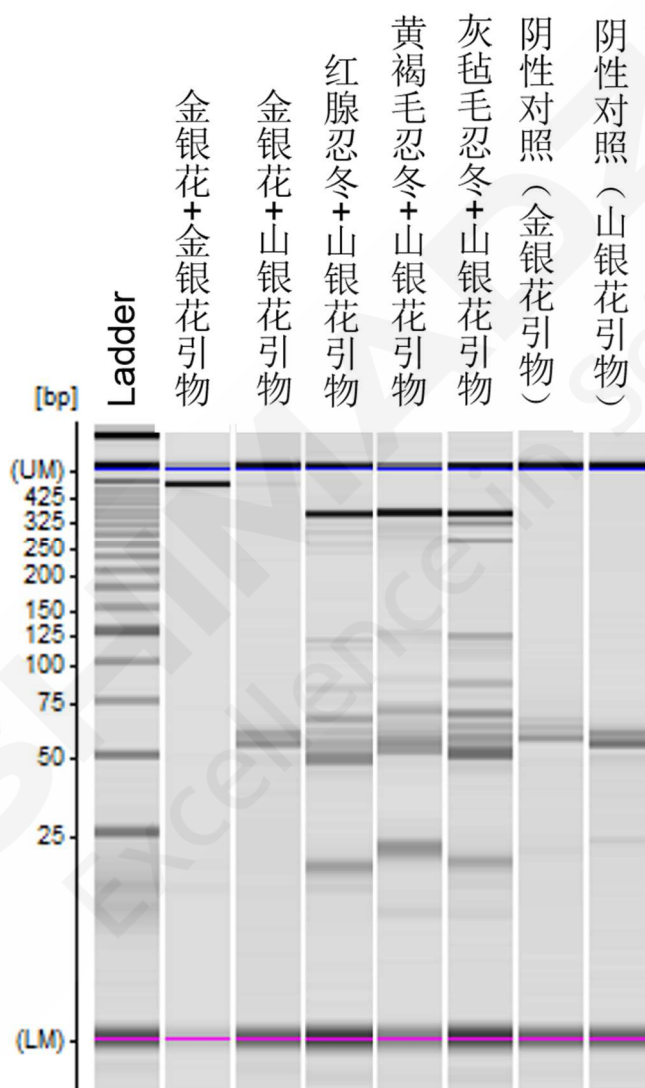


图 1. 微芯片电泳 MultiNA 检测金银花引物和山银花引物分别扩增金银花和山银花样品的 PCR 产物电泳图

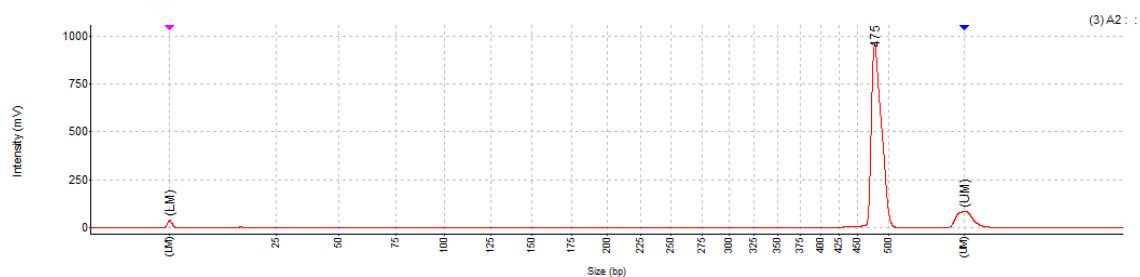


图 2. 微芯片电泳 MultiNA 测量金银花+金银花引物的 PCR 产物电泳图

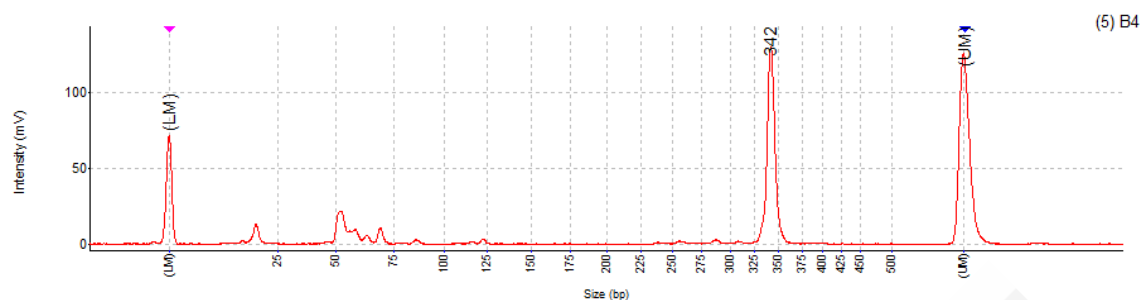


图 3. 微芯片电泳 MultiNA 测量红腺忍冬+山银花引物的 PCR 产物电泳图

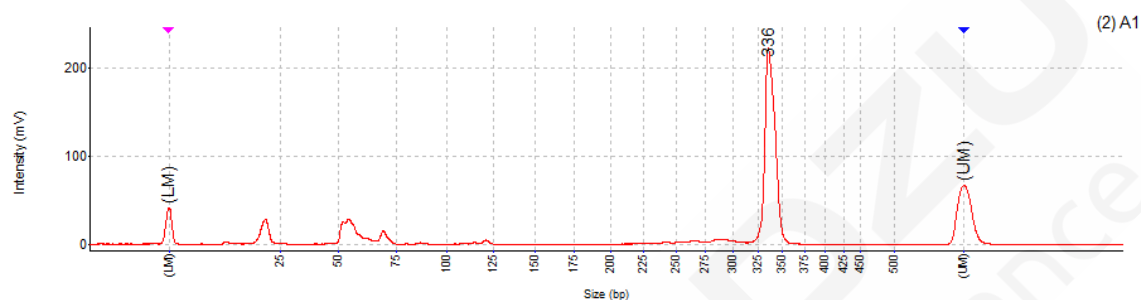


图 4. 微芯片电泳 MultiNA 测量黄褐毛忍冬+山银花引物的 PCR 产物电泳图

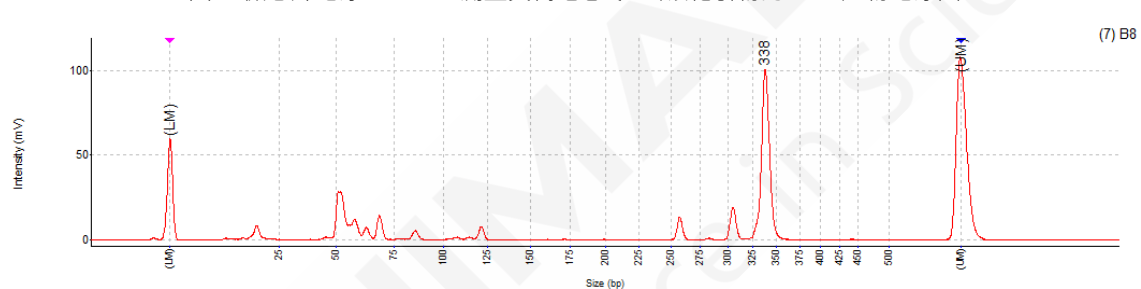


图 5. 微芯片电泳 MultiNA 测量灰毡毛忍冬+山银花引物的 PCR 产物电泳图

3. 结论

本文应用岛津微芯片电泳MCE-202 MultiNA成功建立了鉴定金银花和山银花的方法，本方法特异性强，较传统的以测序仪进行基因测序方法相比，本方法操作简单，成本低，速度快，可供相关检测机构作为参考。

Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 双柱串联检测麝香药材中的有效成分

摘要：本实验使用岛津 Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 联用系统建立了中药材麝香中麝香酮等六种有效成分的检测方法。样品前处理简单，SFE 萃取和 SFC 分析高效衔接。使用 Daicel ChiralPAK AS-H 和 Shim-pack UC-X Sil 色谱柱双柱串联，定性和定量同时进行。样品中 (*R*)-麝香酮和 (*S*)-麝香酮在 Daicel ChiralPAK AS-H 柱上进行手性拆分，进行真假麝香鉴定的同时，用 Shim-pack UC-X Sil 色谱柱进行麝香药材中有效成分含量测定。本法用于市售多份家养麝香和天然麝香实际样品检测，在个别天然麝香中检出 (*S*)-麝香酮，家养麝香中未测到 (*S*)-麝香酮，表明个别天然麝香存在掺假的现象。

关键词：Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 麝香

天然麝香是麝科动物成熟雄麝个体香囊中的干燥分泌物，是重要的天然香料和中药原料。麝香酮（3-甲基环十五烷酮）是天然麝香中最重要的药用有效成分和制香物质。天然麝香酮均为 (*R*) 型，人工合成的麝香酮则多为外消旋型。(*S*)-麝香酮的生物活性、药理药效等还属未知，因此并不符合国际通行的药物标准。开发麝香酮的手性拆分方法有助于鉴定天然麝香样品中是否含有人工麝香，以此作为天然麝香品质鉴别的依据。

超临界流体色谱 (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) 是以超临界流体和少量改性剂为流动相的新型色谱分离技术。超临界 CO₂ (scCO₂) 以其安全、价廉、无毒、易制得、化学惰性等因素成为 SFC 常用的主要流动相。超临界流体具有低黏度、高扩散性和高溶解性等特点，使得 SFC 分析具有快速、高效、高分离等优势。

Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 系统是岛津最新推出的超临界流体色谱质谱联用产品，有效地将 SFE 和 SFC 实现了在线联用，简化了前处理。本实验以该系统为原型，改造为双柱串联系统，同时进行麝香药材中六种有效成分的定性和定量分析，该法前处理简单，所需样品量少，一次进样分析既可以鉴别真假麝香又可以定量测定麝香药材中有效成分含量。本系统在麝香中药材真假鉴别及有效成分含量测定领域具有广阔的应用前景。

1. 实验部分

1.1 仪器

Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 改造系统是在商品化 Nexera UC 在线系统的基础上，将 Pump C 泵的位置从 BPR-A 之前移至色谱柱 1 和 2 之间，用以输送色谱柱 2 的补偿流动相，具体配置为：

质 谱 仪	: LCMS 8045 (APCI 电离源)	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.97
超临界流体萃取单元	: SFE-30A	在 线 脱 气 机	: DGU-20A5
系 统 控 制 器	: CBM-20A	柱 温 箱	: CTO-20AC
柱 2 补偿液输送泵	: LC-20AD	输 液 泵	: LC-20ADXR

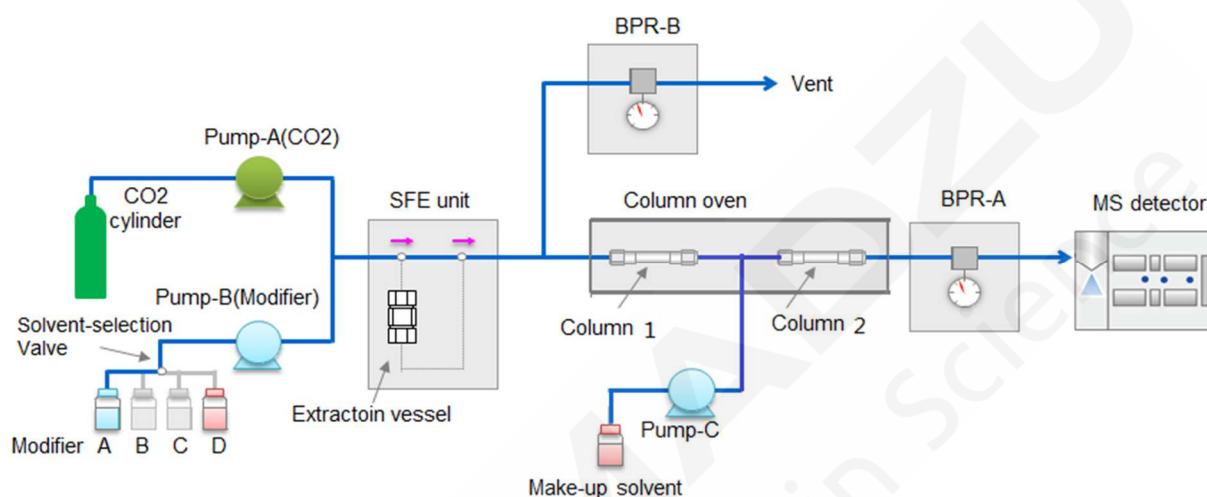


图 1. Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 改造系统及流路示意图

1.2 样品信息

化合物信息见表 1。

标准溶液配制方法如下：分别称取 (*R*)-麝香酮、(*S*)-麝香酮、胆固醇、二氢胆固醇、雄酮、去氢表雄酮和甘油三油酸酯 13.5、10.5、4.0、4.0、1.6、4.0 和 4.6 mg，分别用甲醇超声溶解定容至 1 mL，配置成单一标准溶液。上述 7 种单一标准溶液各取 100 μL，甲醇定容至 1 mL 配置成混合标准溶液母液。上述母液用甲醇对比稀释，配制成 6 份系列工作溶液。

内标溶液的配制方法如下：称取维生素 K₂ 10 mg 用正己烷定容至 10 mL，配置为 1000 mg/L 的 K₂ 内标母液，取上述内标母液 1 mL，用甲醇定容至 5 mL，配置 200 mg/L 内标工作溶液。

内标法制作工作曲线，标样萃取罐制备方法如下：准确移取 25 μL 系列标准溶液，10 μL 内标工作溶液与 5.0 g 无水 Na₂SO₄ 混匀装填至 5 mL 萃取罐中压紧。

实际样品测试 SFE 萃取罐制备方法如下：取 3 mg 麝香药材、加入 10 μL 内标工作溶液与 5.0 g 无水 Na₂SO₄ 混匀装填至 5 mL 萃取罐中压紧。

表 1. 化合物信息

#	中文名	英文名	CAS#	分子式
1	麝香酮	Muscone	541-91-3	C ₁₆ H ₃₀ O
2	胆固醇	Cholesterol	57-88-5	C ₂₇ H ₄₆ O
3	二氢胆固醇	Dihydrocholesterol	80-97-7	C ₂₇ H ₄₈ O

4	雄酮	Androsterone	53-41-8	C ₁₉ H ₃₀ O ₂
5	去氢表雄酮	Dehydroepiandrosterone	53-43-0	C ₁₉ H ₂₈ O ₂
6	甘油三油酸酯	TRIOLEIN	122-32-7	C ₅₇ H ₁₀₄ O ₆
7	维生素 K ₂ (IS)	Vitamin K ₂	523-39-7	C ₅₆ H ₈₀ O ₂

1.3 分析条件

SFE 萃取条件:

萃 取 剂 : A-scCO₂; B-MeOH

萃 取 流 速 : 5 mL/min

静态萃取剂比例 : A/B=99/5(v/v) 静 态 萃 取: 4 min*

动态萃取剂比例 : A/B=100/0(v/v) 动 态 萃 取: 2 min

萃 取 温 度 : 40℃ 萃 取 背 压: A-14.8 MPa; B-15 MPa

注: *包括 1 分钟充填时间

SFC 色谱条件

色 谱 柱 1 : Daicel ChiralPAK AS-H 250 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm

色 谱 柱 2 : Shim-pack UC-X Sil 150 mm × 4.6 mm I.D., 3 μm

柱 1 流 动 相 : A-scCO₂; B-甲醇 柱 2 补 充 液: 甲醇

柱 温 : 40℃

背 压 : A-10 MPa; B-40 MPa

洗 脱 方 式 : 柱1 0.5%甲醇等度洗脱, 流速1.5 mL/min;
柱2 流速2 mL/min, 梯度洗脱: 10.5%~44%甲醇 (14-23 min)

质谱条件:

离 子 化 模 式 : APCI+ 加热模块温度 : 200℃

雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min 干 燥 气 流 速 : 5.0 L/min

接 口 温 度 : 350℃ 驻 留 时 间 : 15 ms

D L 温 度 : 200℃ M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

NO.	名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	麝香酮	239.10	110.90 ⁺	-14.0	-11.0	-27.0
2	胆固醇	369.20	147.00 ⁺	-11.0	-22.0	-25.0
		369.20	161.00	-11.0	-22.0	-16.0
		371.20	95.10 ⁺	-11.0	-30.0	-15.0
3	二氢胆固醇	371.20	81.00	-11.0	-38.0	-28.0

4	雄酮	273.10	255.10 [*]	-30.0	-14.0	-27.0
		273.10	147.10	-30.0	-22.0	-22.0
5	去氢表雄酮	271.10	253.10 [*]	-14.0	-10.0	-26.0
		271.10	197.00	-14.0	-19.0	-19.0
6	甘油三油酸酯	885.70	867.40 [*]	-26.0	-23.0	-40.0
		885.70	603.40	-26.0	-29.0	-28.0
7	K ₂ (IS)	445.30	187.00	-13.0	-21.0	-18.0

*表示定量离子

2. 结果与讨论

2.1 SFE-SFC-LCMS 色谱图

对麝香酮等标准样品进行在线 SFE-SFC-LCMS 分析，色谱图如图 2 所示。按照设定时间程序，分析开始后的 6min 内为 SFE 萃取过程，6 min 后为 SFC 分析，SFE 到 SFC 切换无需过渡，高效衔接。麝香酮在 Daicel ChiralPAK AS-H 柱上实现手性拆分，在 0.5%甲醇等度洗脱条件下，(R)-麝香酮出峰时间 14.3 min，(S)-麝香酮出峰时间在 15.0 min。两者分离度达 2.0，实现完全分离。麝香酮出峰完毕后，甲醇比例提高，梯度洗脱程序启动，各目标组分在 Shim-pack UC-X Sil 柱上实现分离。25 min 后启动萃取流路冲洗及平衡程序，包括样品萃取在内一份样品的总分析时间仅为 32 min。内标物 K2 出峰时间在各目标组分之间，满足内标物选择的要求。7 个目标物峰型良好，尖锐对称。内标物 K2 有一尾上峰，本系统为手性柱和硅胶柱双柱串联，此两款柱保留能力不同，因此造成了 K2 峰型差。设置积分参数时将主峰和尾上合并成一个峰处理，因此不影响定量结果准确性。

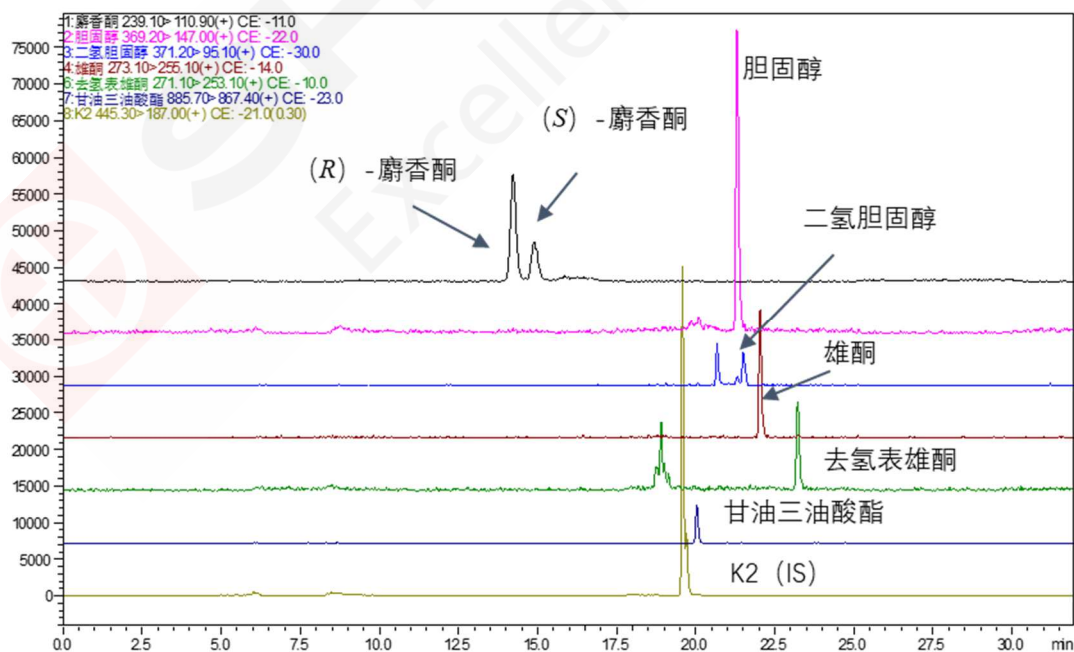


图 2. SFE-SFC-LCMS 双柱联用系统标样检测色谱图 ((R)-麝香酮、(S)-麝香酮、胆固醇、二氢胆固醇、雄酮、去氢表雄酮和甘油三油酸酯各组分质量分别为 2.11、1.65、0.625、0.625、0.25、0.625 和 0.72 μg)

2.2 首次萃取效率考察

为考察设定条件下 SFE 对各组分的萃取效率，称取天然麝香 3 mg，与 5 g 无水硫酸钠混合均匀，装填到萃取罐中。通过重复对同一萃取罐内容物进行连续三次在线 SFE-SFC-LCMS 联用分析（如图 3），以每次萃取所得化合物峰面积对三次萃取的峰面积之和做比以表示归一化萃取率。结果显示在该条件下各组分的首次归一化萃取率在 60.5~72.7%之间。表明 scCO_2 可以有效地将麝香药材中目标组分萃取出来。实验结果见表 3。

表 3. 各组分的归一化萃取效率 (%)

	麝香酮	胆固醇	二氢胆固醇	雄酮	去氢表雄酮	甘油三油酸酯
第一次萃取	61.0	66.9	72.7	68.9	65.2	60.5
第二次萃取	27.6	21.5	19.2	21.2	20.2	25.9
第三次萃取	11.4	11.6	8.1	9.9	14.6	13.7

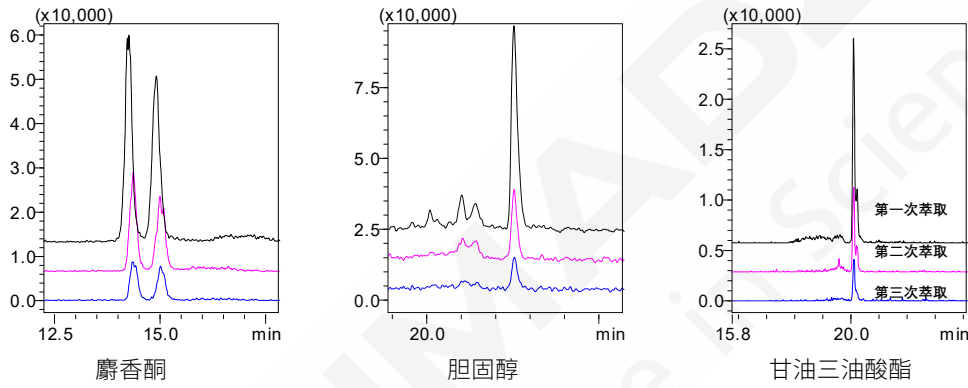
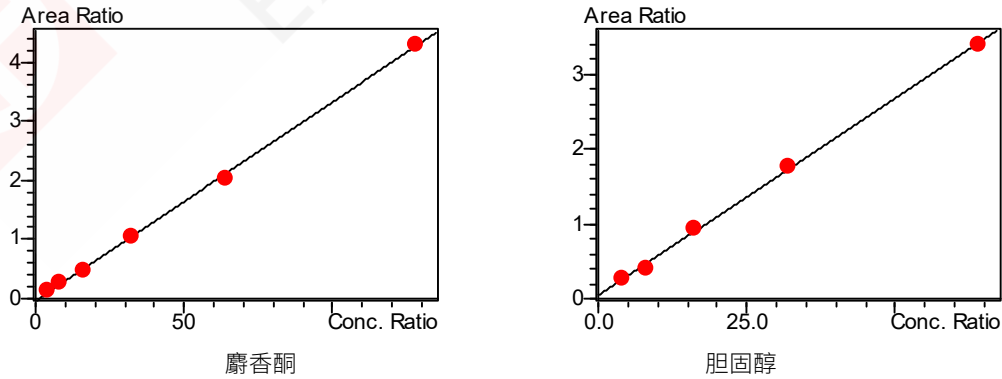


图 3. SFE 连续三次萃取归一化萃取效率考察

2.3 线性范围

按照 1.2 所述标样萃取罐的制备方法制得 6 个萃取罐，按照 1.3 所述分析条件进行测定。以萃取罐中目标物质量与内标质量的比值为横坐标，以目标峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标，内标法制作工作曲线，所得校准曲线见图 4，各组分线性回归方程及相关系数见表 4。结果表明各组分在考察范围内线性关系良好，R 大于 0.999，各标准点准确度在 75.0-119.3%之间。



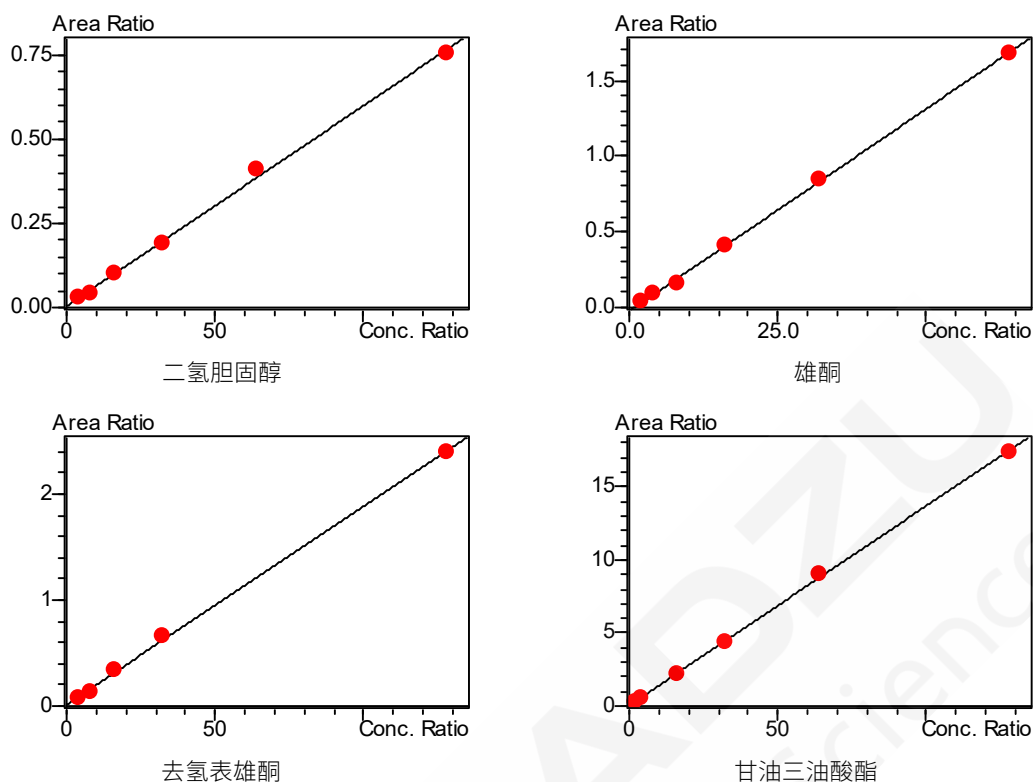


图 4. 各组分校准曲线

表 4. 各组分校准曲线及相关系数

NO.	名称	线性范围	线性方程	相关系数	精确度 (%)
1	(R) -麝香酮	0.649-34.036	$y=0.12697x-0.0201801$	0.9996	92.9-119.3
	(S) -麝香酮	0.412-26.429	$y=0.0689559x-0.0105130$	0.9999	88.1-111.9
2	胆固醇	0.322-4.968	$y=0.676595x+0.0406630$	0.9992	82.4-103.2
3	二氢胆固醇	0.291-9.872	$y=0.0761149x+0.00487260$	0.9990	81.5-106.0
4	雄酮	0.075-1.995	$y=0.855978x-0.0243503$	0.9996	84.7-105.7
5	去氢表雄酮	0.401-5.046	$y=0.287733x-0.0363201$	0.9991	75.0-106.8
6	甘油三油酸酯	0.183-11.439	$y=1.51782x+0.0525316$	0.9998	86.0-102.7

2.4 重复性和回收率考察

平行制备 6 个萃取罐，考察在线 SFE-SFC-LCMS 分析系统的重复性，结果如表 5 所示。萃取罐中 (R)-麝香酮、(S)-麝香酮、胆固醇、二氢胆固醇、雄酮、去氢表雄酮和甘油三油酸酯各组分质量分别为 395.2、308.7、10.1、26.6、24.84、26.3 和 33.4 μg 。分析结果表明，在线 SFE-SFC-LCMS 系统各组分保留时间和峰面积比的相对标准偏差在 0.05~0.85%和 2.81~8.96%之间，回收率在 85.5~131.0%，可以满足定量分析的需求。

表 5. 各组分的仪器重复性考察结果 (n=6)

	麝香酮	胆固醇	二氢胆固醇	雄酮	去氢表雄酮	甘油三油酸酯
保留时间%RSD	0.85	0.07	0.07	0.07	0.05	0.05
峰面积比%RSD	7.42	2.81	4.74	7.29	6.19	8.96
回收率%	89.0-110.8	101.4-109.1	92.4-106.8	85.5-103.6	92.2-110.4	103.5-131.0

2.5 实际样品检测

2015 年版《中国药典》(一部)规定麝香中麝香酮的含量测定使用气相色谱仪,以干燥品计,麝香酮($C_{16}H_{30}O$)含量不得少于 2.0%。使用本文开发的方法对多份麝香样品进行含量测定。某品牌天然麝香的色谱图见图 5,家养麝香的色谱图见图 6。在某品牌天然麝香中检测到 (*S*)-麝香酮,说明该品牌天然麝香掺入了人工麝香。家养麝香中未测到 (*S*)-麝香酮,说明该家养麝香样品为正品。上述两份麝香样品中各目标组分的含量测定结果见表 6,两份样品中麝香酮含量均达到药典要求。

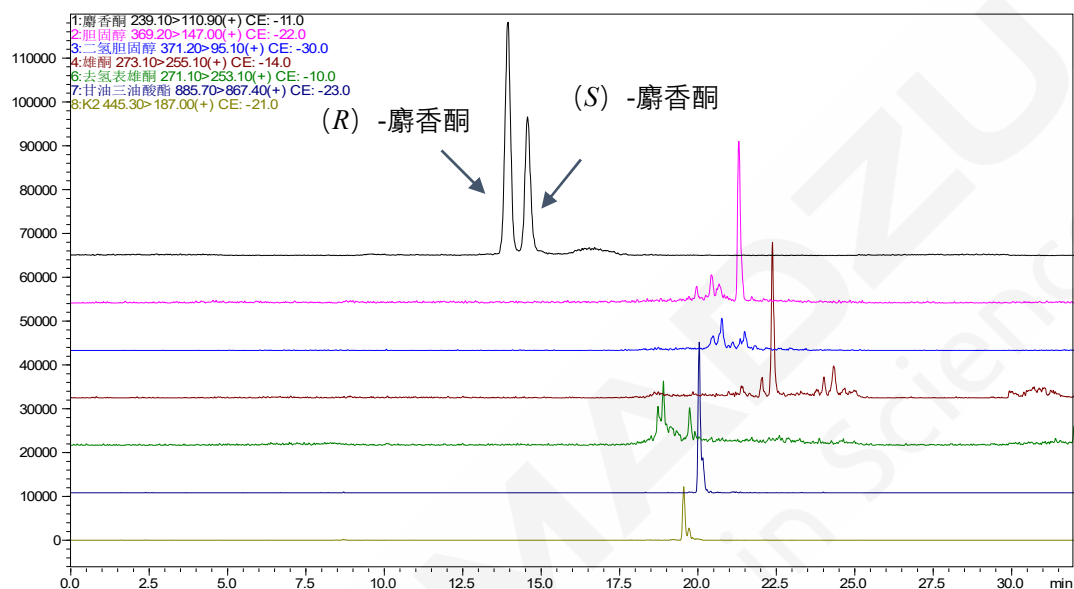


图 5. 某品牌天然麝香在线 SFE-SFC-LCMS 检测色谱图

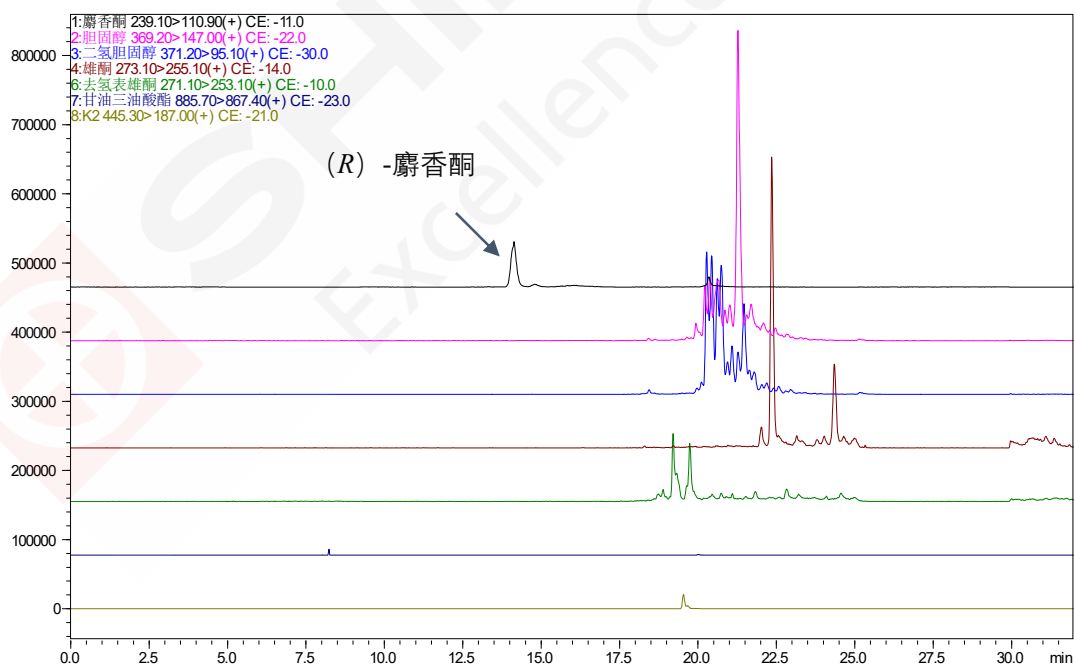


图 6. 家养麝香在线 SFE-SFC-LCMS 检测色谱图

表 6. 天然麝香和家养麝香中各组分含量测定结果

N0.	名称	天然麝香 (%)	家养麝香 (%)
1	(<i>R</i>) -麝香酮	2.718	2.007
	(<i>S</i>) -麝香酮	1.273	----
2	胆固醇	0.198	1.713
3	二氢胆固醇	0.356	1.120
4	雄酮	0.123	1.018
5	去氢表雄酮	0.016	0.103
6	甘油三油酸酯	0.646	0.011

3. 结论

本文使用岛津 Nexera UC 在线 SFE-SFC-LCMS 改造系统双柱联用建立了麝香药材中麝香酮等六种有效成分定性和定量检测方法。该方法实现样品前处理 (SFE) 和样品分析 (SFC) 在线联用, 简化了前处理操作。具有快速、稳定、所需样品量少、绿色环保等优点。在线 SFE-SFC-LCMS 系统在中药材有效成分含量测定领域具有广阔的应用前景。

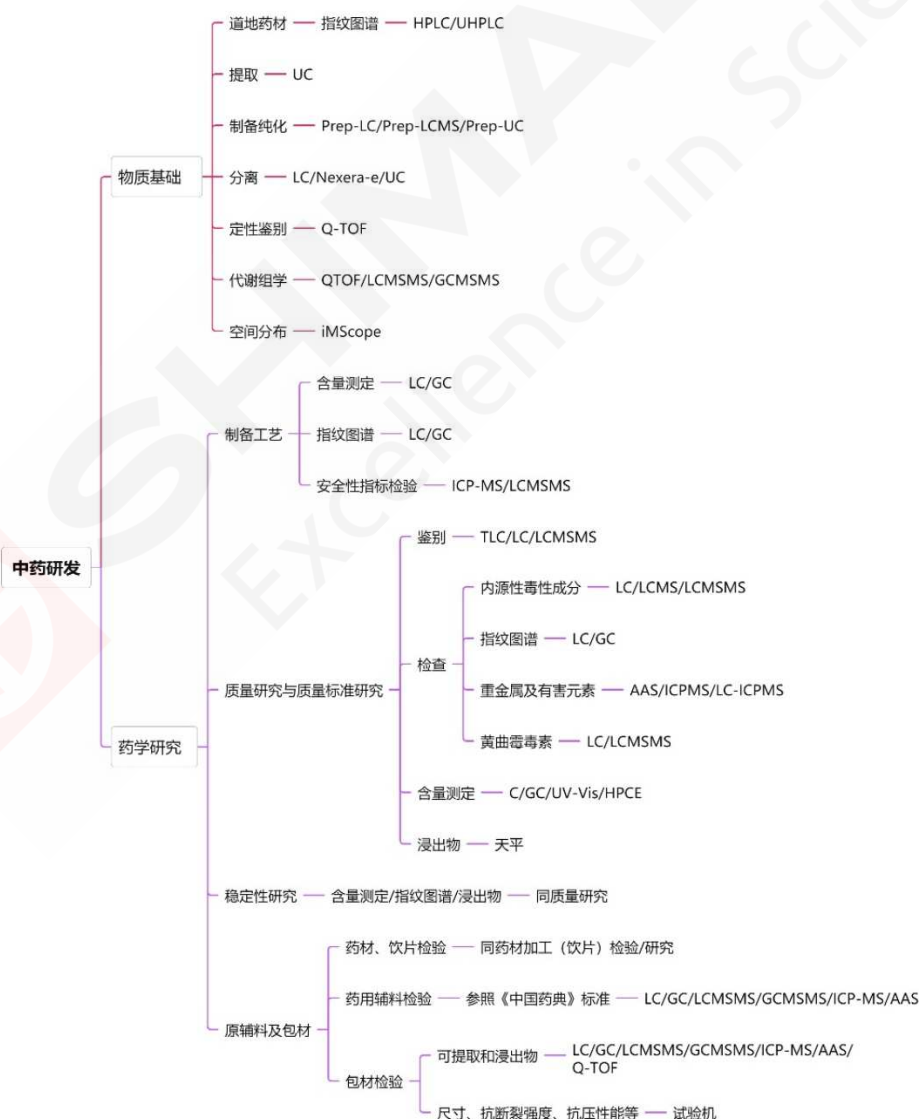
4. 致谢

本文系与北京中医药大学中药现代研究中心宋月林老师、刘瑶同学合作完成。

3.3 中药研发

中药新药研究是一项涉及药学、药理毒理、临床等多学科研究的系统工程。中药新药研究应以遵循中医理论指导、传统质量控制方法与现代质量研究方法并重、以药用物质基础为重要研究内容、以保证安全有效和质量可控为目标、贯穿药品全生命周期为基本原则，还应体现质量源于设计、全过程质量控制和风险管理的理念，通过对药材/饮片、中间体(中间产物)、制剂的药用物质及关键质量属性在不同环节之间的量质传递研究，以及药用物质与辅料、药包材相互影响的研究，不断提高中药的质量控制水平。

药学研究是新药研究的重要组成部分，为药物安全性和有效性研究提供支持。药学研究主要包括处方药味及其质量、剂型、生产工艺、质量研究及质量标准、稳定性等研究内容。在中药新药研究过程中，应根据中药特点、新药研发的一般规律及不同研究阶段（如申请临床试验、III期临床试验前、申请上市许可、上市后研究）的主要目的，开展针对性研究。以下对中药研发过程中的物质基础及药学研究部分中所涉及的检测项目及相关技术进行了总结，供相关研究人员参考和使用。



3.3.1 物质基础研究

中药不同于西药和天然药，中药具有多成分、多靶点、多途径的特色和复杂性。中药药效物质基础是指中药对某疾病产生治疗作用的全部药效成分的总和。中药发挥临床疗效是通过多种活性成分协同作用的结果。中药药效物质基础研究旨在阐明中药药效物质、药理作用及起效机制，是揭示中药及其组方内涵、开发中药适宜制剂、制定质量标准、提高临床疗效的前提和依据，是中药现代化的重要组成部分。近年来，随着超分子化学、生物物理学、纳米生物学等学科的发展以及各类电镜、成像和谱学分析技术的发展，中药的很多物相形式和特征被发现和揭示，极大地拓展了中药药效物质基础的认识维度。

目前，中药物质基础研究的方法主要分为三大类。第一类是基于体内药理活性追踪：寻求有效部位、最佳配伍，以及分析经过体内代谢成分与入血成分，明确中药药效物质基础；第二类是基于体外筛选与体外模型，借助新技术、谱图分析、仿生技术等，明确中药药效物质基础；第三类是利用现代计算机技术辅助的网络药理学筛选活性成分，寻求成分靶点-基因的网络结构，预测中药药效物质基础。中药药效物质基础研究是阐释中药整体功效及作用本质的核心环节，为中药新药开发提供科学依据。



三重四极杆气质联用仪



液相色谱四极杆飞行时间质谱仪

GC-MSMS 法结合气味数据库分析冬虫夏草气味成分

摘要: 本文利用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪结合 AOC-6000 自动进样器 SPME Arrow 进样建立了冬虫夏草中 150 种气味成分 MRM 定量方法, 该方法具有高通量、高灵敏度和准确的特点。基于 150 种气味成分 MRM 方法, 对不同产地冬虫夏草中气味成分、冬虫夏草正品和伪品中气味成分进行了研究比较。实验结果表明: 典型冬虫夏草中共筛查出了 74 种气味成分, 并对筛查出来的这些气味成分进行了定量。不同产地间的冬虫夏草中气味成分的种类是一致的, 仅在含量上存在一定差异, 16 种化学成分的含量差异比较明显, 可作为产地鉴别的标志物进行研究。冬虫夏草正品与伪品之间气味成分存在较大的差异, 33 种气味成分可作为真伪冬虫夏草鉴别的标志物进行研究。

关键词: 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪 SPME 冬虫夏草 气味成分

中药气味是中药材质量评价的重要内容, 有的中药材因其独特的气味特征而成为其质量优劣的评价指标^[1]。气味评价是评判中药质量整体性的一种手段, 传统的中药材气味评价主要依赖于鉴别者的经验, 主观性强, 难以客观量化^[2]。近几年电子鼻技术开始应用于识别中药材的复杂气味, 能在一定程度上数字化、客观化表征中药气味, 但是电子鼻技术尚不能高通量、精准地对中药气味的具体组成成分进行定性定量分析, 不能进一步阐述中药气味与质量优劣之间的内涵。

冬虫夏草为麦角菌科真菌冬虫夏草菌 *Cordyceps sinensis* (BerK.) Sacc. 寄生在蝙蝠蛾科昆虫幼虫上的子座和幼虫尸体的干燥复合体, 是我国传统的名贵滋补药材。目前评价冬虫夏草的质量优劣等级主要通过虫体大小、颜色、气味、子座长短等指标。冬虫夏草主要表现出一种“腥味”^[3], 但这种“腥味”到底是来自于子座还是虫体, 气味中含有哪些化学成分, 其气味浓烈的程度与其质量优劣是否存在关联性等方面尚未见到相关研究报道。

顶空固相微萃取 (Head Space-Solid Phase Micro-extraction, HS-SPME) 是一种样品前处理技术, 它对待测物集提取、富集、解吸和进样等步骤于一身, 具有操作简便快速、灵敏度高、环境友好等特点。HS-SPME 技术适合分析易挥发性和半挥发性物质。本研究尝试基于 HS-SPME-GC-MS/MS 联用技术建立冬虫夏草气味成分快速分析方法, 辨识冬虫夏草“腥味”中的化学成分组成, 探讨不同产地之间冬虫夏草的气味差异, 以期冬虫夏草的质量优劣评价提供客观数据支撑。

1. 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 气相色谱-三重四极杆质谱联用仪

AOC-6000 自动样品处理平台

1.2 分析条件

SPME Arrow: ARR15-DVB/C-WR-120/20

老化温度: 270°C; 平衡温度: 50°C

平衡时间: 5 min; 萃取时间: 15 min

解吸时间: 2 min

色谱柱:

InertCap Pure-wax, 30 m×0.25 mm×0.25 μm

柱温程序: 50°C(5 min)_10°C/min_250°C(10 min)

进样口温度: 250°C

载气控制方式: 恒压控制, 83.5 KPa

进样方式: 分流进样, 分流比: 5:1

离子源温度: 200°C

接口温度: 250°C

采集模式: MRM/SCAN

2. 样品前处理

9 批次冬虫夏草采集于四川、青海、西藏等地区, 6 批次冬虫夏草伪品采集于贵州和新疆等地, 粉碎成细粉(过三号筛)备用, 具体采样地点信息见表 1, 典型的冬虫夏草和伪品见图 1。准确称取冬虫夏草粉末 0.5 g 置于 20 mL 顶空瓶中, 压盖密封后上机分析。

表 1. 冬虫夏草样品采集信息

样品编号	采集地	基原鉴定	海拔高度(米)	备注
yp01	四川甘孜州理塘县	冬虫夏草	4000	采收期(二期)
yp02	四川甘孜州色达县	冬虫夏草	4400	采收期(二期)
yp03	四川阿坝州壤塘县	冬虫夏草	3600	采收期(二期)
yp04	西藏那曲	冬虫夏草	5500	采收期(头期)
yp05	青海玉树州	冬虫夏草	4600	采收期(头期)
yp06	青海果洛州雪山乡	冬虫夏草	5400	采收期(头期)
yp07	青海果洛州青珍乡	冬虫夏草	4900	采收期(头期)
yp08	青海果洛州青珍乡	冬虫夏草	4900	采收期(头期)、全虫体
yp09	青海果洛州青珍乡	冬虫夏草	4900	采收期(头期)、全子座
yp10	贵州	亚香棒虫草	800	---
yp11	贵州施秉县	亚香棒虫草, 白色	800	----
yp12	四川省邛崃市	古尼虫草	1600	----
yp13	四川省荷花池药材市场	冬虫夏草伪品	---	----
yp14	新疆	新疆虫草	1800	----
yp15	四川凉山州雷波县	凉山虫草	3000	----

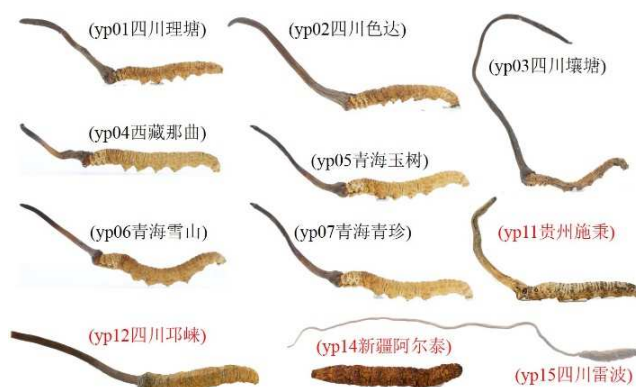


图 1. 冬虫夏草及其伪品的样品照片(图片由成都市食品药品检验研究院谭鹏提供)

3. 结果与讨论

3.1 气味成分 MRM 方法建立

正构烷烃 C9-C30 标准溶液 (10 $\mu\text{g/mL}$) 质量色谱图见图 2。

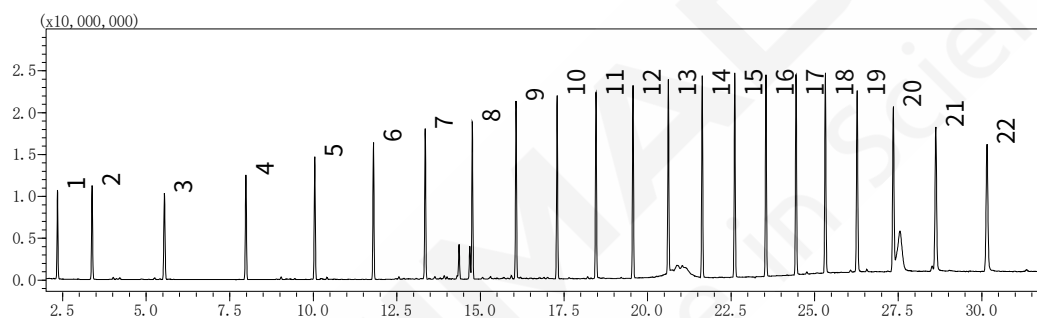


图 2. 正构烷烃 (C9-C30) 质量色谱图

150 种气味成分校准曲线校正用内标物质 (4-溴氟苯、1,2-二氯苯-d4、萘-d10) 质量色谱图见图 3, 3 种内标信息见表 2。

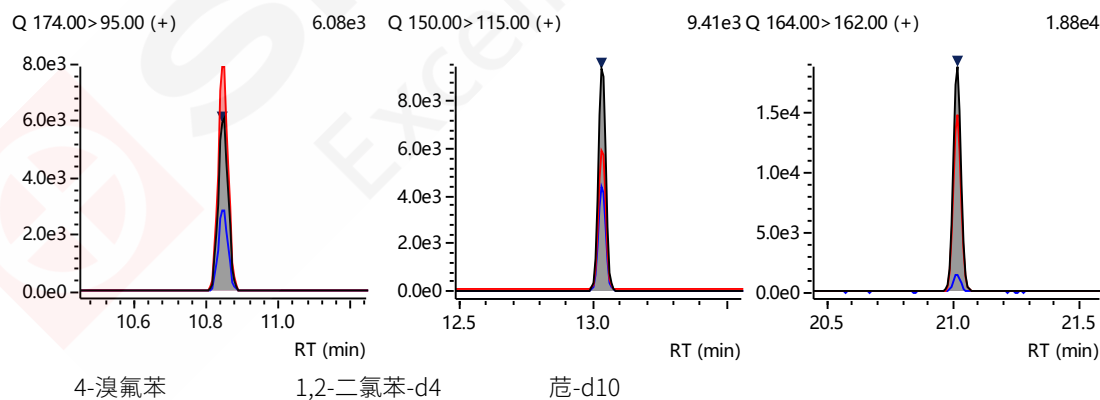


图 3. 校准曲线校正用 3 种内标 MRM 图

表 2. 内标物质信息表

序号	名称	保留时间/min	定量离子对	CE
1	4-溴氟苯	10.846	174.0>95.0	15
2	1,2-二氯苯-d4	13.032	150.0>115.0	15
3	萘-d10	21.014	164.0>162.0	15

气味物质数据库结合正构烷烃数据及内标数据，无需 150 种气味物质标准品，自动生成 150 种气味物质的 MRM 定量方法。

3.2 冬虫夏草气味成分 MRM 测试结果

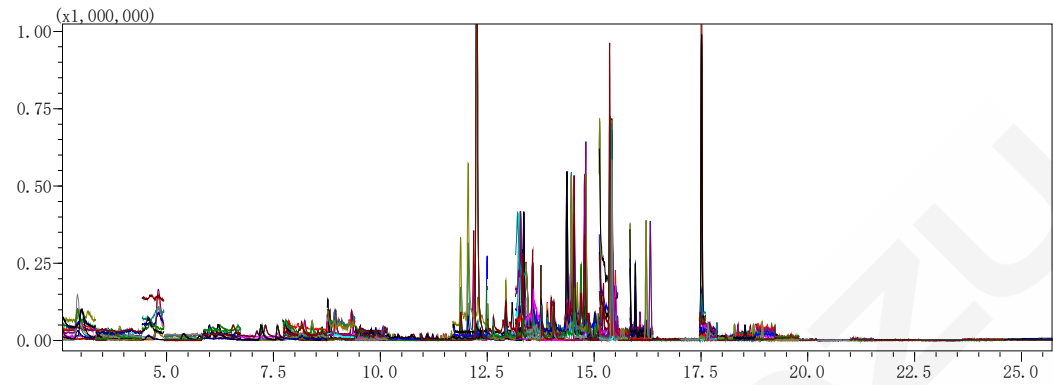


图4. 典型冬虫夏草供试品气味成分MRM图

分析结果显示，典型的冬虫夏草中共计筛查出 74 种气味成分，按化合物结构可分为 12 类，包括：酯类、酮类、醛类、烯类、酚类、酸类、醇类、硫醚类、吡嗪类、烃类、含氮杂环类、含氧杂环类等，表明冬虫夏草的“腥味”至少由 74 种气味成分组成，其表现出来的不是单体气味，而是复合气味。典型冬虫夏草 5 号供试品 MRM 图见图 4，筛查出的部分气味成分 MRM 图见图 5，15 个冬虫夏草样品气味成分测定结果详见表 3。

表 3. 15 个冬虫夏草样品气味筛查与定量分析结果 (ng/g)

	yp01	yp02	yp03	yp04	yp5	yp06	yp07	yp08	yp09	yp10	yp11	yp12	yp13	yp14	yp15
酯类															
乙酸乙酯	—	0.120	0.150	0.237	—	0.220	—	—	—	0.960	1.154	1.194	1.107	1.349	0.873
甲基丙烯酸甲酯	0.071	—	—	0.072	0.037	—	—	—	—	0.082	—	—	0.037	—	—
丙二醇甲醚醋酸酯	0.073	0.019	0.023	0.097	0.039	0.361	0.120	0.392	0.102	0.069	0.133	0.090	0.079	0.093	0.155
乙酸己酯	0.010	0.019	0.021	0.001	0.015	0.137	0.057	0.002	0.070	—	—	—	—	—	—
水杨酸甲酯	0.032	0.031	0.030	0.027	0.030	0.031	0.030	0.016	0.046	0.007	0.015	0.011	0.011	0.013	0.019
丙位辛内酯	0.644	0.079	0.080	0.473	1.128	6.083	2.526	0.416	1.094	0.127	0.207	0.178	0.271	0.167	0.712
酮类															
2,3-丁二酮	1.456	1.566	1.579	1.474	1.196	0.823	1.177	2.441	1.247	—	0.969	—	—	—	—
4-甲基-3 戊烯-2-酮	0.016	0.014	0.017	0.016	0.015	0.018	0.020	0.072	0.024	—	0.015	—	—	—	0.057
2-庚酮	0.220	0.129	0.155	0.202	—	—	—	0.309	0.011	0.043	0.068	0.075	—	0.095	—
仲辛酮	0.425	0.304	0.354	0.453	0.573	1.152	0.627	0.538	0.515	—	0.082	0.077	0.100	0.082	0.373
2-壬酮	1.147	0.345	0.361	0.469	—	—	1.599	0.365	0.820	0.069	—	—	0.147	0.095	0.387
2-苄酮	0.615	0.272	0.409	0.377	0.414	—	0.319	0.110	0.684	0.014	0.038	0.030	0.031	0.023	0.043
异佛尔酮	0.136	0.120	0.127	0.151	0.127	0.161	0.201	0.272	0.225	0.005	—	0.007	0.008	0.007	—
甲基壬基甲酮	4.750	—	—	1.198	—	1.968	0.943	—	—	—	—	—	—	—	—
苯乙酮	0.489	0.554	0.558	0.518	0.436	0.451	0.433	0.270	0.722	0.762	1.412	1.100	1.436	1.356	2.476
二苯甲酮	0.001	0.019	0.006	0.012	0.001	0.006	0.004	0.007	0.014	-0.007	-0.001	-0.001	-0.003	-0.002	—
醛类															
正辛醛	16.415	15.112	15.976	15.626	33.616	150.93	43.006	12.207	29.379	4.867	9.888	9.727	15.293	8.290	37.595

(E)-2-庚烯醛	2.339	—	2.561	1.843	3.279	4.792	2.820	—	14.528	—	1.207	0.950	1.482	0.962	4.968
癸醛	0.895	1.244	—	0.490	0.783	3.747	1.334	0.630	2.270	0.251	0.427	0.412	0.530	0.332	1.018
苯甲醛	4.398	2.750	3.377	4.278	3.296	3.127	3.135	2.183	4.676	0.444	0.874	0.638	0.755	0.659	2.823
反式-2-壬醛	0.269	—	—	0.151	0.220	0.317	—	—	0.697	0.132	0.169	0.155	0.170	0.165	0.843
苯乙醛	2.715	0.811	2.066	3.116	2.328	2.958	3.147	2.879	2.900	0.354	0.560	0.261	0.227	0.245	0.260
反式-2-癸烯醛	1.359	—	1.347	0.834	0.961	—	0.849	—	1.365	—	—	0.269	0.286	0.355	0.369
2-羟基苯甲醛	0.064	0.079	—	—	0.047	—	0.057	—	0.132	—	—	—	—	—	0.047
(E,E)-2,4-壬二烯醛	—	—	0.083	0.046	0.075	0.097	0.061	0.033	0.192	0.025	0.032	0.031	0.030	0.034	0.102
香兰素	0.027	0.038	0.024	0.018	0.020	0.019	0.019	0.017	0.023	—	—	—	—	—	—
烯类															
2-蒎烯	0.410	0.285	0.466	0.365	0.453	0.401	0.389	0.464	0.136	—	0.069	0.063	0.064	—	0.069
beta-蒎烯	0.724	0.585	0.855	0.646	0.805	0.645	0.552	0.004	0.249	—	0.043	—	0.042	0.031	0.046
柠檬烯	3.739	3.981	4.889	4.395	4.569	4.439	4.454	2.270	4.370	0.127	0.228	0.174	0.236	0.186	0.337
苯乙烯	1.317	0.850	2.453	0.928	1.037	0.986	0.878	0.550	0.448	0.078	0.144	0.089	0.131	0.125	0.173
2-苯基-1-丙烯	0.014	—	0.017	0.023	—	0.007	0.011	—	0.013	—	—	—	—	—	—
酚类															
愈创木酚	0.057	0.051	0.022	0.051	0.056	0.062	0.063	0.029	0.128	0.002	0.013	0.011	0.008	0.013	0.038
邻甲酚	0.215	0.107	0.129	0.273	0.220	0.388	0.342	0.140	0.642	0.103	0.202	0.162	0.235	0.151	0.350
苯酚	0.307	0.313	0.439	0.231	0.308	0.327	0.280	0.175	0.349	0.313	0.567	0.271	0.354	0.356	0.496
4-乙基-2-甲氧基苯	0.015	0.007	0.005	0.008	0.012	0.011	0.018	0.006	0.031	—	—	—	—	—	—
4-甲基苯酚	0.046	0.028	0.044	0.007	0.040	0.065	0.061	0.028	0.061	—	—	—	0.007	—	—
间甲基苯酚	0.051	0.033	0.060	0.032	0.052	0.106	0.072	0.032	0.042	0.016	0.029	0.026	0.029	—	0.069
4-乙基苯酚	0.013	0.005	—	0.008	0.009	0.008	0.015	0.008	0.030	—	0.004	0.004	0.002	0.003	0.003
酸类															
乙酸	58.041	37.410	42.233	63.193	35.517	74.839	66.346	91.689	52.002	52.722	64.291	60.346	62.149	62.423	73.839
丙酸	20.694	12.197	18.609	25.363	17.911	29.424	25.202	23.680	20.670	18.037	22.639	22.010	22.630	21.430	26.961
异丁酸	7.823	2.457	5.060	8.239	4.554	8.989	7.567	11.012	9.286	3.765	6.579	5.019	5.861	5.757	8.089
丁酸	16.632	4.673	11.546	16.166	10.586	13.686	15.081	15.228	18.788	7.865	13.245	10.801	12.062	12.178	19.214
异戊酸	12.670	2.364	5.969	21.037	12.162	18.920	17.471	15.948	15.866	7.433	15.230	13.016	14.628	13.273	16.031
正戊酸	13.899	2.850	6.500	16.293	19.886	34.787	25.423	10.407	20.532	18.332	28.217	28.086	33.562	25.386	45.958
己酸	25.600	2.831	5.684	29.571	45.003	96.214	62.898	26.886	45.767	43.561	36.705	47.668	59.997	31.866	72.064
庚酸	2.116	0.796	1.289	1.497	2.103	18.480	6.682	2.708	3.770	2.654	1.856	2.255	2.836	1.548	3.555
壬酸	0.862	0.414	0.448	0.459	0.739	4.249	1.742	1.253	1.883	0.904	0.593	0.663	0.789	0.459	1.776
正癸酸	0.506	0.486	0.472	0.438	0.513	0.641	0.442	0.352	0.612	0.364	0.469	0.417	0.409	0.374	0.411
醇类															
桉叶油醇	2.261	1.056	2.339	0.886	1.397	0.889	0.984	1.318	0.504	—	—	—	—	—	—
2-乙基己醇	0.020	—	0.067	0.064	0.094	—	0.172	0.093	4.329	4.505	8.067	9.044	8.916	8.888	50.577
2-壬基醇	0.127	—	—	0.122	0.113	—	0.147	—	0.187	0.025	0.064	—	—	—	—
芳樟醇	1.792	2.495	2.920	1.137	1.150	1.392	1.337	0.763	2.258	0.136	0.393	0.254	0.195	0.304	0.785
正辛醇	0.679	0.761	0.434	0.379	1.452	7.043	2.138	0.921	3.068	0.217	0.505	0.578	0.800	0.448	2.234
薄荷脑	9.302	11.273	10.409	5.045	8.286	3.960	1.784	1.090	6.910	0.173	0.170	—	0.130	0.138	0.216
马鞭烯醇	0.078	2.788	0.779	0.105	0.075	0.294	0.095	—	0.138	—	—	—	—	—	—
α-松油醇	0.173	0.191	0.142	0.107	0.144	0.105	0.122	0.506	0.319	0.011	0.018	0.127	0.125	0.015	0.056
2-茨醇	1.414	2.058	0.016	0.628	1.015	0.546	1.005	0.039	0.046	0.040	0.070	0.050	0.053	0.058	0.089
香叶醇	0.094	0.103	0.091	0.069	0.066	0.036	—	0.037	0.220	—	0.045	0.038	0.059	0.040	—
苯甲醇	0.387	0.698	0.549	0.771	0.671	1.009	0.879	0.403	1.882	0.108	0.200	0.139	0.136	0.145	0.303
苯乙醇	0.383	0.268	0.222	0.427	0.466	0.353	0.468	0.178	1.981	0.084	0.124	0.089	0.066	0.096	0.154
硫醚类															

二甲基二硫醚	0.023	0.009	0.077	0.025	0.009	0.009	0.017	0.036	0.009	—	—	—	—	—	0.013
二甲基三硫醚	0.019	0.015	0.058	0.021	0.017	0.016	0.018	0.080	0.013	—	—	—	—	—	—
乙二醇单丁醚	0.434	0.635	0.570	—	0.386	0.359	0.403	0.205	0.878	0.035	—	0.068	0.064	0.061	—
乙二醇苯醚	0.037	0.019	0.026	0.027	0.024	0.026	0.026	0.026	0.101	0.024	0.033	0.027	0.029	0.027	0.037
吡嗪类															
2-甲基吡嗪	1.116	1.023	1.135	1.094	0.929	0.865	1.029	0.888	3.025	0.226	0.520	0.308	0.581	0.382	2.264
2-乙基吡嗪	0.020	0.016	0.014	0.028	0.016	0.067	0.020	0.019	0.044	0.007	0.019	0.015	0.030	0.015	0.039
2-甲氧基-3-异丁基	—	—	—	0.027	0.046	—	0.031	0.009	0.012	0.009	—	0.021	—	—	0.039
烃类															
萘	0.294	0.288	0.329	0.227	0.229	0.225	0.243	0.153	0.341	0.027	0.054	0.039	0.046	0.044	0.076
2-甲基萘	0.234	0.355	0.193	0.113	0.176	0.116	0.147	0.078	0.275	—	0.014	0.007	—	0.010	0.018
1-甲基萘	0.081	0.133	0.079	0.052	0.060	0.050	0.060	0.045	0.112	—	—	—	—	—	0.015
含氮杂环类															
5-乙基-2-甲基-吡啶	0.001	0.007	0.004	—	0.001	0.007	0.001	0.007	0.002	—	—	—	—	—	—
苯并噻唑	0.049	0.044	0.049	0.046	0.036	0.037	0.038	0.026	0.066	0.018	0.027	0.021	0.021	0.020	0.027
己内酰胺	0.697	0.456	0.724	0.552	0.484	0.569	0.556	0.856	1.628	0.459	0.527	0.517	0.547	0.509	0.556
含氧杂环类															
丙位癸内酯	0.011	0.006	0.001	0.006	0.004	0.015	0.018	—	0.036	—	—	—	—	—	—

注：“—”表示未检出。

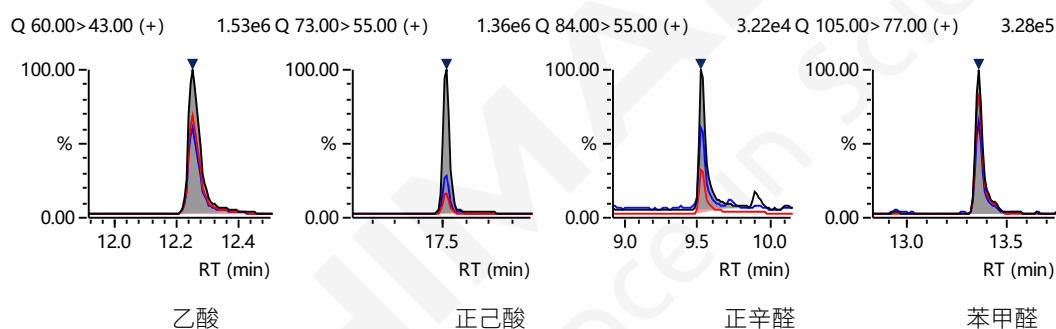


图 5. 冬虫夏草中气味成分（部分）MRM 图

3.3 冬虫夏草质量优劣与气味组成相关性分析

就外观性状比较而言，产自西藏（那曲）和青海（玉树、果洛）的冬虫夏草虫体更大更饱满，颜色金黄，子座较短；而产自四川的冬虫夏草虫体偏小偏瘪，颜色偏黑，子座较长，因此传统经验认为前 2 者的质量优于后者的质量。但值得关注是这种传统经验判别的合理性是否能在气味成分的质和量上得到体现。

分析结果显示，不同产地的冬虫夏草中 74 种气味成分的含量存在一定差异。为了更直观的呈现含量差异，将产自西藏和青海的冬虫夏草（yp04、yp05、yp06）归为Ⅰ类，将产自四川的冬虫夏草（yp01、yp02、yp03）归为Ⅱ类，分别计算每个化合物在Ⅰ类和Ⅱ类冬虫夏草中含量总和；Ⅰ类中每个化合物含量除以Ⅱ类中每个化合物含量得到含量倍数，发现产自西藏和青海地区的冬虫夏草中 74 种气味成分的含量普遍高于产自四川地区的冬虫夏草中 74 种气味成分的含量，以含量倍数差异大于 2 倍计，筛选出含量差异较大的气味成分有 16 个〔包括丙位辛内酯，正庚酸，正己酸，正辛醇，丙二醇甲醚乙酸酯，正辛醛，正壬酸，乙酸己酯，正戊酸，(E, E)-2, 4-壬二烯醛，(E)-壬烯醛，异戊酸，正癸醛，2-乙基吡嗪，(E)-2-庚烯醛，2-辛酮；差异倍数依次为 9.57, 5.26, 5.01, 4.74, 4.32, 4.21, 3.16, 3.06, 3.05, 2.63,

2.56, 2.48, 2.35, 2.22, 2.02, 2.01], 这些化合物可能可以作为区分西藏、青海与四川产冬虫夏草的产地特征气味成分, 详见图 6。

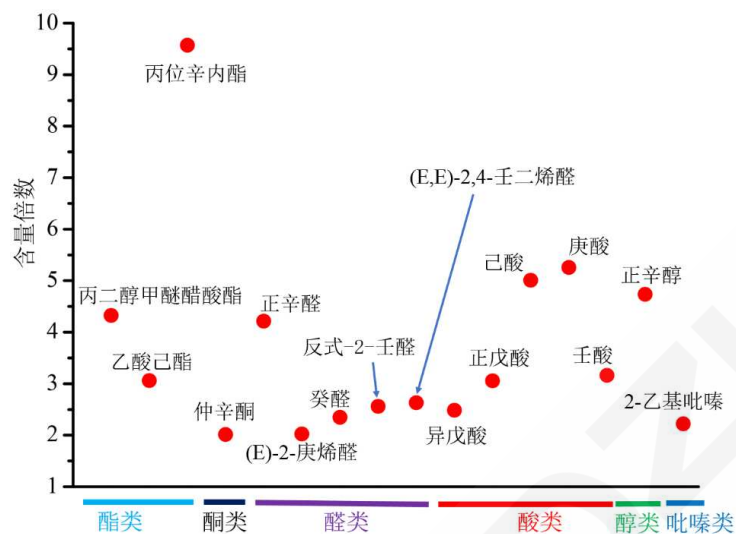


图 6. 可以作为区分西藏、青海与四川产冬虫夏草产地的 16 种特征气味成分分布图

实验结果表明, 不同产地的冬虫夏草在气味成分种类上没有太大的差异, 这提示了产自于西藏 (那曲)、青海 (玉树、果洛) 和四川 (理塘、壤塘、色达) 的冬虫夏草中气味成分具有一致性, 即组成“腥味”的化学成分没有质 (种类) 的差异。但是不同产区的冬虫夏草中部分气味成分的含量存在较大差异, 即组成“腥味”的化学成分有量 (含量) 的差异。

3.4 冬虫夏草虫体与子座“腥气”组成成分差异分析

比较冬虫夏草全虫体 (yp08) 和全子座 (yp09), 分析结果显示, 在虫体中检测到的气味成分均能够在子座里面检测到, 仅存在含量差异。相反, 在子座中能被检测到而在虫体中没有被检测到的气味成分有 (E)-2-庚烯醛、反式-2-壬醛、反式-2-癸烯醛、2-羟基苯甲醛、2-苯基-1-丙烯、2-壬基醇、马鞭烯醇、丙位癸内酯等, 提示这些化合物可能主要由子座产生。

3.5 冬虫夏草正品与伪品“腥气”组成差异分析

冬虫夏草正品 (yp01~yp07) 和伪品 (yp10~yp15) 的分析结果显示, 在正品中含量显著低于伪品中含量的气味成分有 3 个, 而在正品中含量显著高于伪品中含量的气味成分有 30 个, 详见表 4。上述分析结果表明, 冬虫夏草正品和伪品之间气味成分存在较大的差异。

表 4. 冬虫夏草正品和伪品之间气味成分比较

正品含量显著高于伪品含量的气味成分		伪品含量显著高于正品含量的气味成分
乙酸己酯*	正辛醛	
2,3-丁二酮	苯甲醛	乙酸乙酯
仲辛酮	苯乙醛	苯乙酮
2-壬酮	香兰素	2-乙基己醇
2-苡酮	2-苡烯	

异佛尔酮	beta-蒎烯	
甲基壬基甲酮*	柠檬烯	
2-苯基-1-丙烯*	苯乙烯	
4-乙基-2-甲氧基苯酚*	4-甲基苯酚	
芳樟醇	桉叶油醇*	
薄荷脑	乙二醇单丁醚	
马鞭烯醇*	2-甲基吡嗪	
2-茨醇	2-甲基萘	
二甲基二硫醚*	1-甲基萘*	
二甲基三硫醚*	丙位癸内酯*	

注：*代表仅在冬虫夏草正品中检测到该气味成分

4. 结论

本文基于 HS-SPME-GC-MS/MS 技术建立了冬虫夏草中 150 种气味成分快速筛查和定量分析方法，本方法具有高通量、高灵敏度和准确的特点。实验中使用 SPME Arrow 进样模式对不同产地的冬虫夏草中气味成分、冬虫夏草正品和伪品中气味成分进行分析比较。根据实验结果，典型的冬虫夏草中筛查出了 74 种气味成分，并对筛查出来的这些气味成分进行了定量分析。

分析结果初步表明，不同产地之间的冬虫夏草中气味成分的种类是一致的，仅在含量上存在一定差异。本实验筛选出 16 种气味成分在不同产地之间的冬虫夏草中存在明显的含量差异，可作为产地鉴别的标志物进行研究。另外，冬虫夏草正品与伪品之间气味成分存在较大的差异，本实验筛选出 33 种气味成分，可作为冬虫夏草真伪鉴别的标志物进行研究。

参考文献

- [1] 陈晓旭,徐茂玲. “形、色、气、味” 鉴中药[J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(03): 132.
- [2] 许舜军,杨柳,谢培山,等. 中药气味鉴别的研究现状与展望[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(02): 228.
- [3] 中国药典. 一部[S]. 2015: 115.

利用质谱显微镜实现干姜中姜黄素分布的可视化研究

摘要：植物体内含有各种各样的次级代谢物。这些植物体内所含的次级代谢产物有很多是广为人知的有用物质，然而，很少有报告说明这些物质呈现何种三维分布。本文对姜黄的主要次级代谢物姜黄素在干姜黄样本中的空间分布进行了表征。由于干姜黄样本质地十分坚硬，不能使用传统的低温切片机，本文开发了一种新的切片方法，利用这种方法研究了 2 种不同切割方向的姜黄素的分布。结果表明姜黄素位于姜黄根种的管状隔间。此外，还获得了姜黄素类似物的分布，与姜黄素呈现相同分布。这证明使用岛津高空间分辨率质谱成像显微镜可以表征次生代谢产物在植物中的分布。未来，通过掌握此类植物有效组分的体内分布，实现改善有效组分的提取方法等，为生产工序改良做出贡献。

关键词：质谱成像 iMScope 姜黄 姜黄素 硬组织 预处理

虽然使用显微镜可以观察植物的内部结构，但是无法使用显微镜测定次级代谢物的空间分布。计算机断层成像（CT）可以有效的观察植物组织的内部结构。图 1 展示了 X 射线 CT 捕获的姜黄图像。可以观察到新鲜姜黄，内部结构均匀（图 1A）；但是在干姜中，内部可以观察到明显的结节状结构（图 1B）。这些结果表明使用 X 射线 CT 观察切割后的内部截面是十分有效的。但是也只能获得结构信息，无法获得次级代谢物的分布情况。

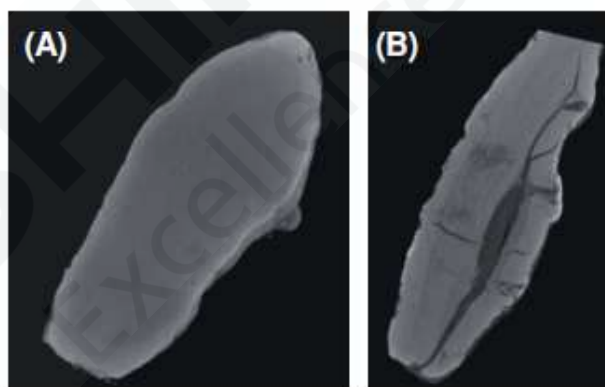


图1. 利用X射线CT对姜黄素内部结构进行观察的结果

(A) 鲜姜黄 (B) 干姜黄

质谱成像（MSI: Mass Spectrometry Imaging）是一种直接将试样中的组分电离，进行质谱分析，二维展开分析的结果，根据多个部位的分析数据获得组分分布信息的方法。据报告称，近年来还扩展到动物试样之外的应用，对植物¹⁻⁴、昆虫⁵⁻⁷、微生物⁸⁻¹³等各种对象应用了MSI。例如，Taira等人报告了高丽参中人参皂苷的详细分布，发现人参皂苷浓缩于根尖部分¹⁴。虽然像这样关于植物体次级代谢产物积蓄的报告有很多¹⁵⁻²¹，但是其中并没有调查其三维分布的情况。本文中提出如下方法，针对干姜黄使用MSI，推测次级代谢产物的三维空间分布²²。



图 2. iMScope™ QT

天然药物原料存在有多种形态，例如以生姜为代表的复杂形态等。验证组织中的空间分布时，需要在各种角度的截面上进行MSI。此前，Harada等人报告了使用鲜生姜，发现6-姜酚的分布为颗粒状²³。实际比较长轴方向（轴向剖面）的切片（图3A）和短轴方向（径向剖面）的生姜切片（图3B）中6-gingerol（6-姜酚）的分布后发现，相同颗粒中的面积也存在差异（图3C）。由此可知其为椭圆状颗粒，而非完全的球状颗粒。即通过使用所得不同角度的截面影像进行解析，可知植物体中的次级代谢产物呈现何种三维分布。

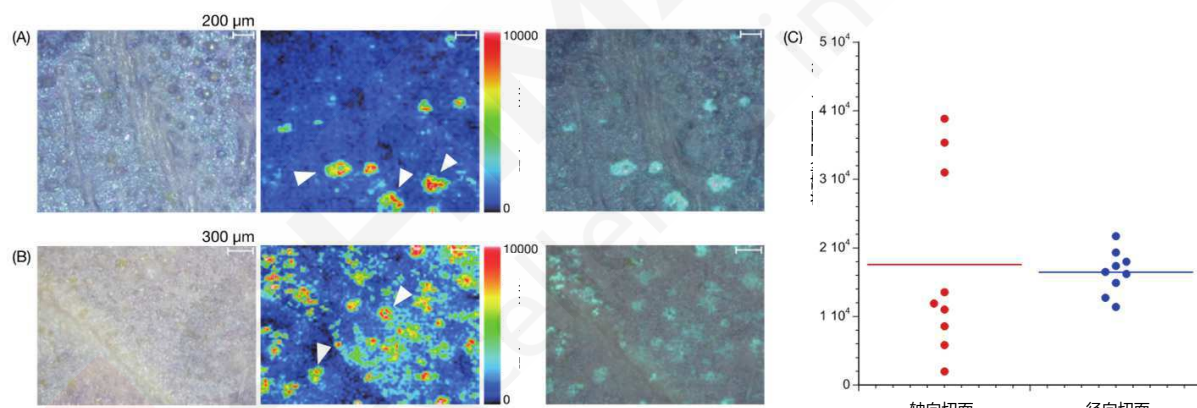


图3. 生姜中6-gingerol的分布

(A) 纵切时的分布 (B) 片切时的分布 (C) 所得粒子形状的面积图

纵切时，广泛分布着很多大大小小的粒子，而片切时，则分布着面积较为平均的粒子。

箭头：6-gingerol积蓄部位

本研究中也提出了针对干燥植物的新的试样预处理方法。使用干燥试样时，试样极其坚硬，需要解决难以实现MSI中必需的切片化的问题。本应用尝试2种制作切片的方法，选出最佳方法，作为本问题的解决方法。

1. 实验部分

1.1 试剂

9-氨基吡啶(9-aminoacridine, 9-AA)购买自东京化成工业株式会社（东京）。甲醇购买自和光纯药工

业株式会社（大阪）。超纯水使用 GenPure™UV-TOC xCAD Plus（赛默飞世尔科技公司）生产。

1.2 切片试样制作

干姜黄由S&B食品提供。本应用中采用切块机（YACDAStech，埼玉）和刨子（松作商店，静冈）（图4A及图4B）制作硬质干姜黄的切片。使用切块机时，试样的厚度为500 μm ，使用刨子时，为75 μm （以微米为单位的测定值）。所得切片使用导电双面胶固定在ITO载玻片（无MAS涂层，表面阻力100 W/m^2 ，松浪玻璃，大阪）。导电双面胶购于3M（美国）。

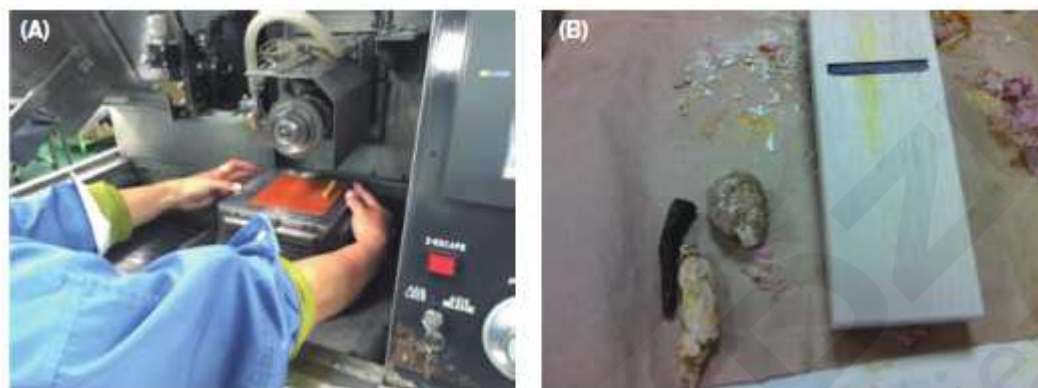


图 4. 本研究使用的干姜黄切片制作方法

(A) 切块机 (B) 刨子

1.3 基质供给

检测姜黄中的姜黄素时，使用iMLayer™（岛津制作所）将9-AA蒸镀在试样表面后，进行重结晶²⁴⁻²⁵。蒸镀的基质膜厚为0.5 μm ，向重结晶的溶媒内加入5%甲醇。

1.4 质谱分析成像

使用iMScope（岛津制作所）实施MSI。激光照射次数为每点100次，在负离子模式下进行测定。测定范围为 m/z 250-450，为确认姜黄素，还进行了 $[M-H]^-$ 367.11的MS/MS（未显示数据）。激光强度为45，在测定中，检测器电压为2.1 kV。

1.5 基质供给

使用Imaging MS Solution™（岛津制作所）进行图像构建，使用Image J和解析软件R进行所得图像的离子形状解析。此外，所得分布图像通过总离子流（TIC：Total Ion Current）形成统一化处理。

2. 结果与讨论

2.1 切片制作方法的评价和姜黄素分布的评价一维液相条件确认

确认MALDI的电离方式时，在数据库（METLIN <https://metlin.scripps.edu/>）中检索姜黄素的质谱发现，使用负离子进行检测的结果良好。因此，本研究中使用9-AA尝试负离子检测姜黄素。此外，还使用其它一般基质 α -氰基-4-羟基肉桂酸（CHCA）和2,5-二羟基苯甲酸（DHB）确认了峰强度，结果表明使用9-AA时的峰强度更好。

图5所示姜黄素化学结构式和切片制作评价结果及图像解析结果。姜黄素为图5A所示结构，使用9-AA在负离子模式下进行测定后，检测出去质子的分离离子的 m/z 367.11。图5B及图5C所示为使用切块

机及刨子制作所得的切片的姜黄素分布。图 5B 中，切块机制作的试样表面全部分布有姜黄素，而刨子制作的为颗粒状分布。图 5C 中，从两者的切片均得到颗粒状分布。使用切块机制作的切片，无论纵切还是片切，其分布均不明确。

观察使用刨子制作所得纵切切片及片切切片的分布结果可以发现，所得粒子形状在两者间存在差异。为进行定量评价，而对粒子形状进行了图像解析。具体如图 5D 所示，纵切的粒子面积相比片切的更大。此外，根据粒子形状计算扁平率时，发现切片中纵切切片所得粒子具有平均值 0.42(标准差:0.16)的分布，片切切片具有平均值 0.39 (标准差:0.20) 的分布。

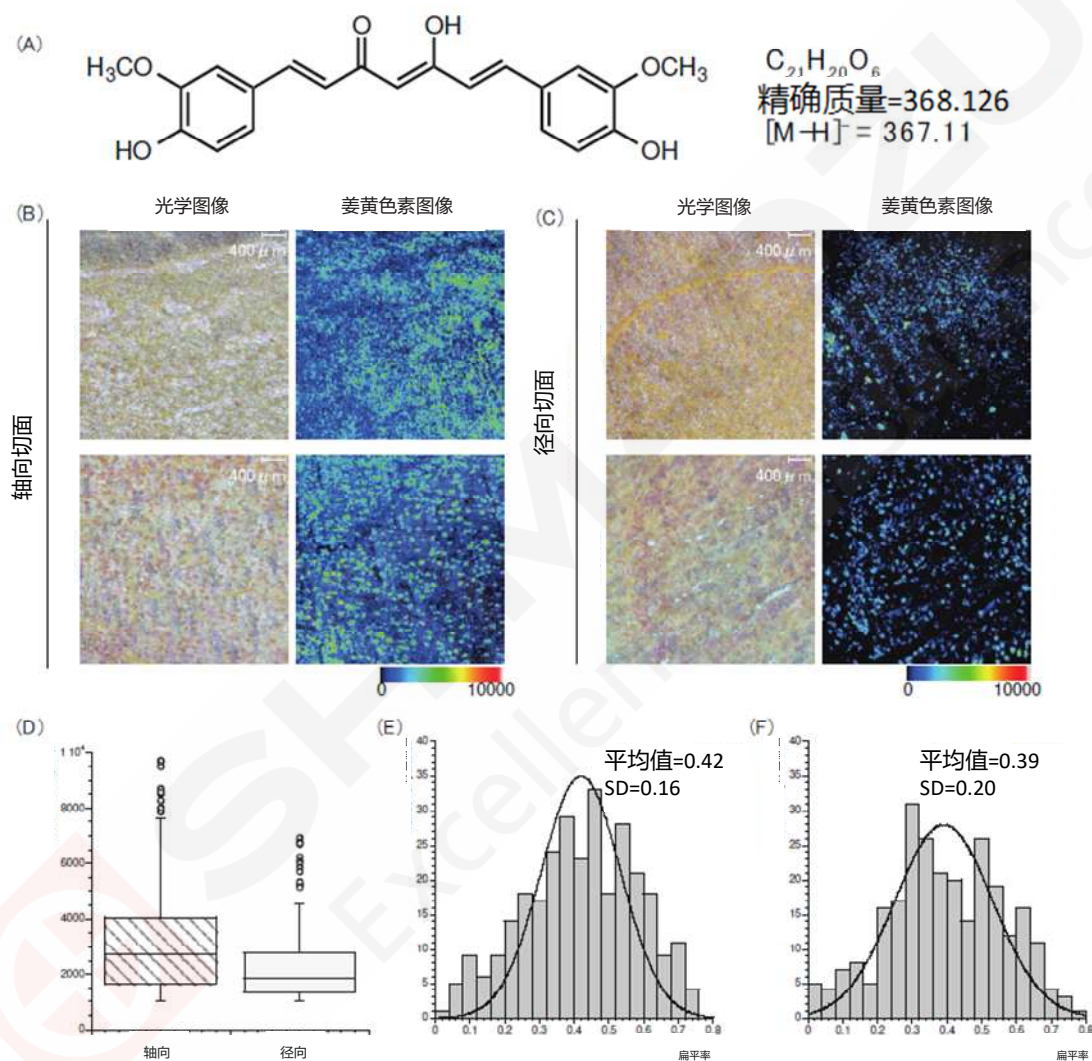


图 5. 姜黄素的化学结构式和使用切片机及刨子制作切片的评价以及图像解析

(A) 姜黄素的化学结构式; (B) 纵切时切片机与刨子的比较; (C) 片切时切片机与刨子的比较; (D) 使用刨子制作的纵切及片切切片中所得粒子的面积比较; (E) 纵切切片中所得粒子的扁平率分布; (F) 片切切片中所得粒子的扁平率分布

2.2 利用高空间分辨率 MSI 对姜黄素的分布评价

iMScope QT 可以实现分辨率为 5 μm 的成像，因此可以直观的显示姜黄素的微观分布。图 6 所示为所得结果。图 6 上段所示为纵切时低倍率图像 (广视角) 和高倍率图像 (窄视角)、以及高倍率图像中的姜黄素分布。图 6 下段是切片的结果。在纵切的光学像中，可以看到横向的特征结构(箭头)，而姜黄素与

这个结构无关，看起来是有规律地排列着。另一方面，片切当中也发现具有特征的圆环结构（虚线表示），但是姜黄素并未分布于此圆环上，该圆环内侧的姜黄素粒子密度非常高。

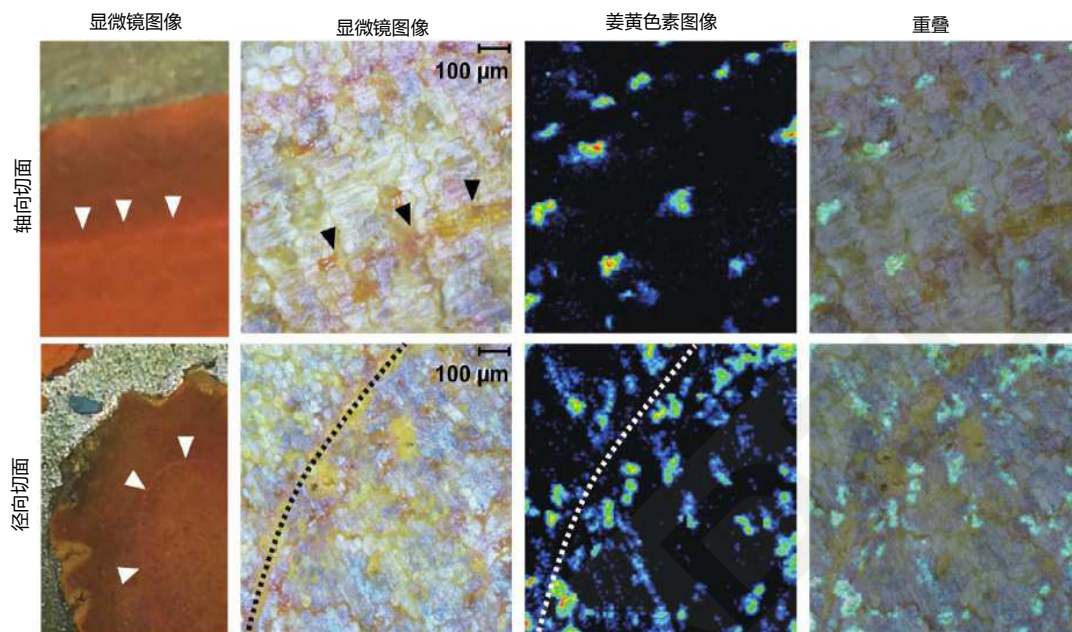


图 6. 高分辨率姜黄素分布

（上段）：纵切时的姜黄素分布（下段）：片切时的姜黄素分布图（像素大小：5μm）纵切时，姜黄素粒子呈规则性分布，片切时，姜黄素粒子沿圆环内侧分布。

2.3 纵切切片截面的姜黄素特殊排布规律

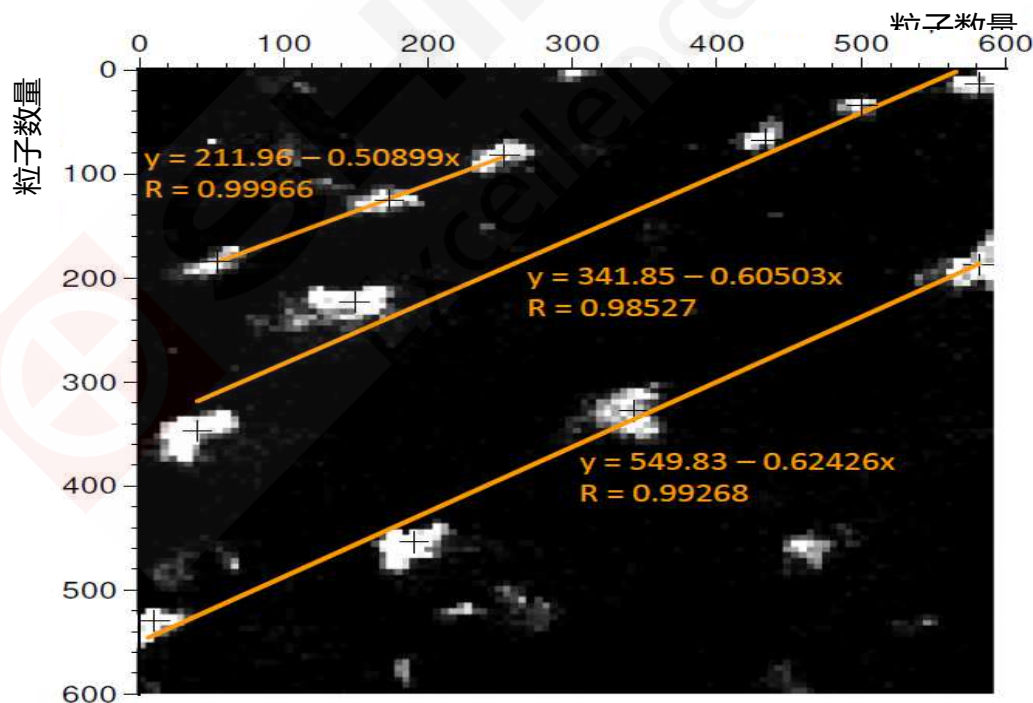


图 7. 纵切切片所得姜黄素分布的高分辨率图（算姜黄素颗粒的中心，并通过这些中心进行了线性回归，结果表明姜黄素颗粒沿直线排列。图中的十字标记(+)表示粒子的中心位置。）

实验结果可以看出纵切切片中姜黄素呈规则性分布。为了定量评价这一点，将图 6 所得的纵切切片中姜黄素分布的像素信息投射在坐标中，计算粒子重心的像素位置，绘制出线性回归图。图 7 所示为其结果。根据所得重心像素曲线的判定系数，可以看出这些粒子排列在直线上。此外，由于得到的斜率值非常接近，这也表明姜黄组织内部具有非常规则的结构。在纵切切片(样本长轴切片)中，图 8 显示了靠近表皮部位的成像结果。姜黄素除了呈颗粒状分布外，在图中还可以观察到这些颗粒呈线性分布。

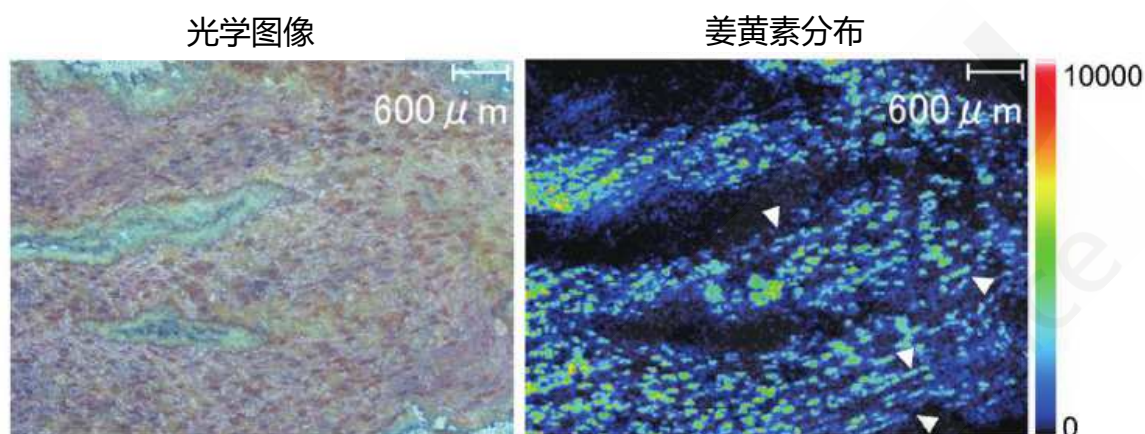


表 8. 姜黄素长轴分布图（在样品表面附近的纵向切片中，不仅可以看到颗粒形状的分布，还可以看到姜黄素的线性分布，如图箭头所示）

2.4 姜黄素类似物的轴向切片分布图

前面，本实验的讨论主要集中在姜黄素($C_{21}H_{20}O_6$)上。然而，甜没药姜黄醇 (m/z 251.16)和具有不同侧链结构的姜黄素类似物也可以观察到。如图 9(A)和图 9(B)-(D)所示。图 9(E)为姜黄根切片的质谱图。除了甜没药姜黄醇外，所有分子在轴向截面上的分布都相似，证实了姜黄素类似物是呈线性分布区。这表明姜黄素类似物也被封闭在管状隔间中。另一方面，本研究发现甜没药姜黄醇的分布并没有表现出明显的积累。

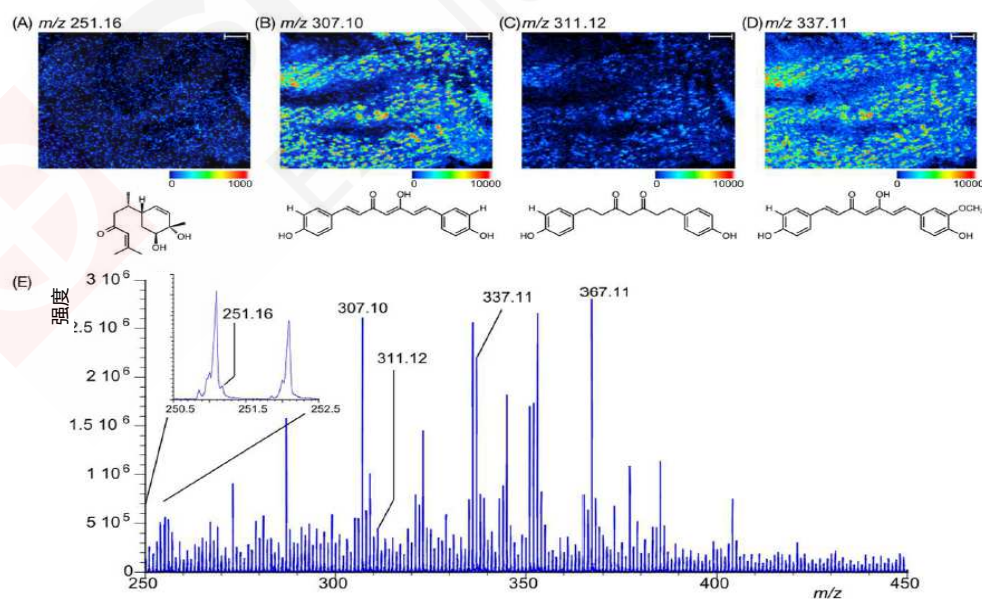


图 9. 长轴方向切片中甜没药姜黄醇及姜黄素同源体的分布结果

(A) 甜没药姜黄醇的分布 (B-D) 不同侧链结构的姜黄素同源体的分布 (E) 姜黄切片上所得质谱的姜黄素可以发现呈现部分线状分布的部分，因此姜黄内部存在管状间隔，其中封入了姜黄素。另一方面，甜没药姜黄醇没有发现有特征的分布，而是相同的分布。

3. 结论

本研究我们使用刨子和工业材料切片机来制备样品，来研究姜黄素在干姜黄根种的分布信息。使用切片机时，姜黄素在径向截面的分布基本保持不变，但是在轴向截面中颗粒分布规律消失。并且比起刨子所制备的样本，切片机样品在径向上的形状分布也更不清晰。因此，我们认为在切片机进行切片时，由于高速旋转的切片机刀片与样品表面不断摩擦，这种连续的摩擦消除了精细的分布结构。说明使用刨子时更有效的样品制备方法。

刨子所制备的切片中，得到的姜黄素颗粒状区域面积在轴向截面上比径向截面上更大，如图 5D 所示，颗粒不是完美的球形，这与图 3 中 6-姜酚的结果是相似的。不仅颗粒大小不一致，颗粒形状也是不同的。当使用扁率评价这种形状差异时，轴向截面的扁率为 0.42，径向截面的扁率为 0.3，说明这些颗粒在径向截面呈近似圆形，而在轴向截面呈近似椭圆形。

此外，图 6 中的 5 μm 成像结果显示，轴向截面和径向截面的分布都非常规则。其中，轴向截面呈规则先行排列，径向截面中姜黄中部颗粒分布密度较高。这一结果证明了姜黄中姜黄素的分布具有独特结构的结论。特别是从图 7 所示的图像分析结果可以看出，在轴向截面上存在规则的粒子对齐。从拟合结果中得到所有通过粒子的最佳拟合线的斜率恒定。在轴向截面上存在的椭圆颗粒且呈直线排列，说明姜黄中部为管状结构。图 8 显示大量区域在轴向截面图像上呈线性分布，似乎支持这种管状结构。此外，姜黄素的类似物也表现出类似的分布，甜没药姜黄醇的分布规律不明显。根据径向截面和轴向截面的成像结果，可以认为姜黄根中存在含有姜黄素的管状结构。

本研究开发了一种以干姜黄为原料的姜黄素分布可视化技术，并对姜黄素的分布进行了详细分析。利用刨子可以制备用于质谱成像(MSI)的轴向切片和径向切片，结果表明姜黄根内部具有非常规则的结构，具体来说，是一个管状结构，其中包含姜黄素。本研究是首个将 MSI 适用于硬质干试样的示例，表明其可以将各种试样中次级代谢产物的分布信息可视化。也可以像这样通过获得有效组分的空间分布信息，获得对象中有效组分含有率较高的粉碎物。这些信息不仅限于直接使用粉碎物作为原材料的情况，作为提取特定有效组分时的预处理工序也十分有效。

参考文献

1. Taira, S et al. J. Agric. Food Chem. 2015, 63 (27), 6109-12.
2. Shroff, R et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2008, 105 (16), 6196-201.
3. Grassl, J. et al. Plant Methods 2011, 7 (1), 21.
4. Mullen, A. K et al. Rapid Commun. Mass Spectrom. 2005, 19 (18), 2507-16.
5. Ohtsu, S et al. Analytical Sciences 2018, 34 (9), 991-996.
6. Niehoff, A. C et al. Anal. Chem. 2014, 86 (22), 11086-92.
7. Urban, P. L et al. Anal. Chem. 2011, 83 (10), 3918-25.
8. Nguyen, T. B et al. Appl. Environ. Microbiol. 2018, 84 (9).
9. Dunham, S. J. B et al. Acc. Chem. Res. 2017, 50 (1), 96-104.
10. Kompauer, M et al. Nat. Methods 2017, 14 (1), 90-96.

11. Moree, W. J et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2012, 109 (34), 13811-13816.
12. Phelan, V. V et al. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 2015, 26 (6), 873-7.
13. Yang, Y. L et al. *Nat. Chem. Biol.* 2009, 5 (12), 885-7.
14. Taira, S et al. *Am. J. Chin. Med.* 2010, 38 (3), 485-93.
15. Miyoshi, K et al. *Analytical Sciences* 2018, 34 (9), 997-1001.
16. Franceschi, P et al. *J. Exp. Bot.* 2012, 63 (3), 1123-33.
17. Crecelius, A. C et al. *J. Agric. Food Chem.* 2017, 65 (17), 3559-3568.
18. Dalisay, D. S et al. *J. Nat. Prod.* 2015, 78 (6), 1231-42.
19. Holscher, D et al. *Plant J.* 2009, 60 (5), 907-18.
20. Soares, M. S et al. *Phytochemistry* 2015, 115, 161-170.
21. Taira, S et al. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries* 2012, 1 (1), 61-65.
22. Shimma, S et al. *J. Agric. Food Chem.* 2019, 67 (34), 9652-9657.
23. Harada, T et al. *Anal. Chem.* 2009, 81 (21), 9153-9157.
24. Nakamura, J et al. *Anal. Bioanal. Chem.* 2017, 409 (6), 1697-1706.
25. Yang, J et al. *Anal. Chem.* 2011, 83 (14), 5728-34.



SHIMADZU
Excellence in Science

全二维液相色谱系统在中药分析中的应用

摘要：本实验使用岛津 Nexera-e 全二维液相色谱对中药穿心莲甲醇提取液进行反相×反相分离，1D-LC 使用 SUPELCO Ascentis C18 色谱柱，以 0.3 %甲酸水溶液和乙腈为流动相，2D-LC 以 Shim-pack XR-ODS 50 mmL.× 4.6 mmID 色谱柱，以 10 mM 磷酸盐缓冲液（pH6.9）和甲醇为流动相，流速 2.5 mL/min，采用自动梯度模式建立全二维梯度系统条件，对原液相条件中 25-35 min 间极性相似化合物进行有效分离。

关键词：全二维液相色谱 LC×LC 中药 HPLC

全二维液相色谱是联合两套完全独立的液相色谱，对复杂组分进行完全分离的一种液相色谱应用系统，可通过一次分析完成食品或天然产物等基质复杂样品中的结构类似物分析。与常规液相分析相比，全二维液相色谱可在一次分析过程中，设定 1stD-LC 和 2ndD-LC 以不同的色谱条件，如反相×反相，正相×反相，酸性×中性等等，通过不同色谱条件下化合物选择性差异来提升分离水平，无论在峰检出数还是在分离度方面均比现有单维色谱分离方式具有显著提升。

本实验使用岛津 Nexera-e 全二维液相色谱系统，对中药穿心莲甲醇提取液进行分析。同原液相分析结果比较，色谱峰的分离结果有显著改善，可为进一步开展定性定量研究提供分离方法的参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津全二维液相色谱系统，具体配置为：

输 液 泵 : LC-30AD×4	系统控制器 : CBM-20A
自动进样器 : SIL-30AC	检 测 器 : SPD-M30A
柱 温 箱 : CTO-20AC (FCV-32AH×2)	脱 气 机 : DGU-20A _{5R} , DGU-20A _{3R}
色谱工作站 : LabSolutions Ver. 5.71	数 据 处 理 : ChromSquare Ver.2.0
辅 助 软 件 : LC×LC Assistant	

流路示意图 1 如下：

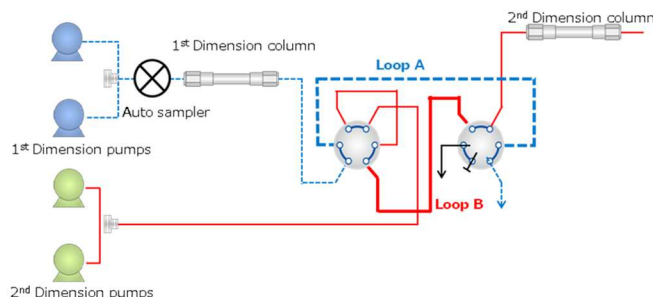


图 1. 全二维液相色谱系统流路示意图

1.2 色谱条件

<1stD LC >

色 谱 柱: SUPELCO Ascentis C18 15 cm.× 1 mmID., 3 μm

流 动 相: A-0.3 %甲酸水溶液; B-乙腈

流 速: 0.05 mL/min

进样体积: 2 μL

时间程序: 参见图 2

<2ndD LC >

色 谱 柱: Shim-pack XR-ODS 50 mm.× 4.6 mmID., 2.2 μm

流 动 相: C 相-10 mM 磷酸盐缓冲液 (pH6.9); D 相-甲醇

流 速: 2.5 mL/min

进样体积: 50 μL (Loop 环体积)

时间程序: 参见图 2

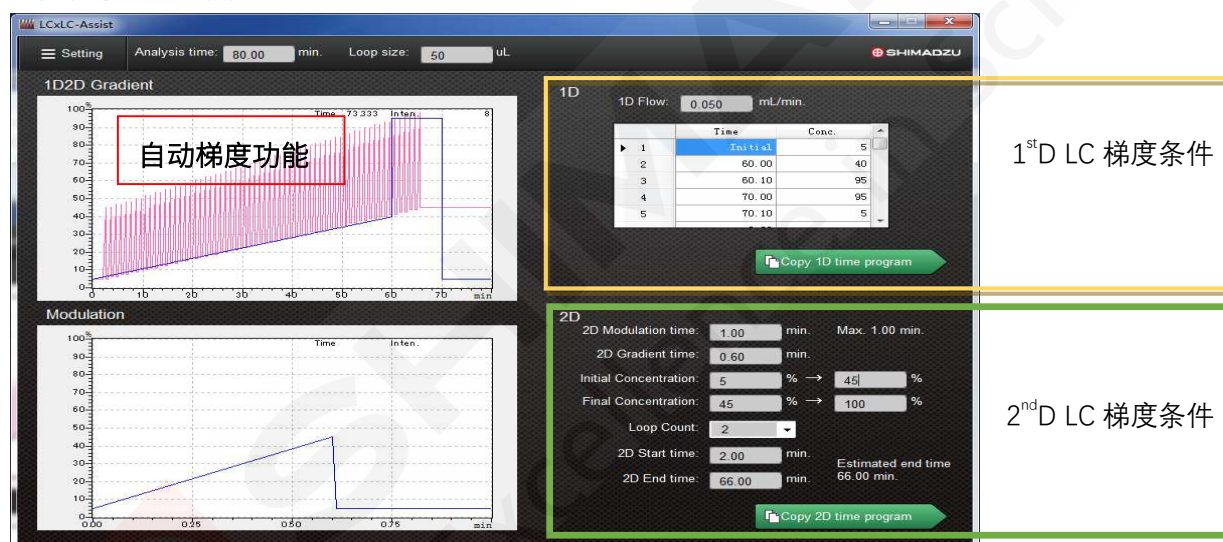


图 2. 穿心莲分析用梯度时间程序

1.3 样品前处理方法

取穿心莲药材粉末加入 80%甲醇, 超声 20 min 后经 0.22 μm 滤膜过滤后进样分析。

2. 结果与讨论

2.1 穿心莲药材常规液相分离色谱图

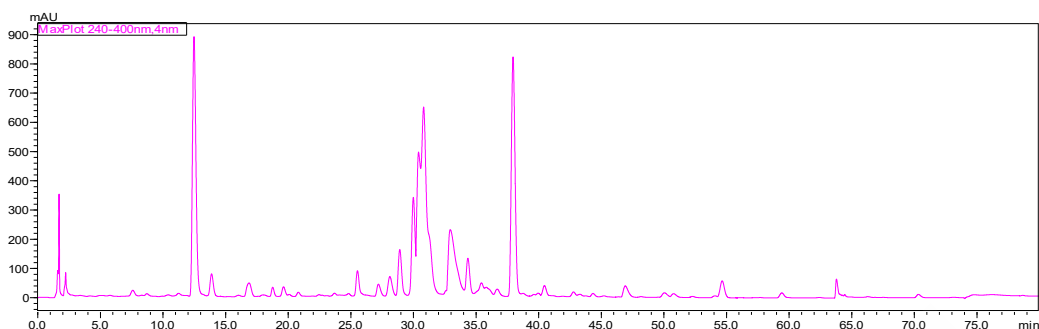


图 3. 穿心莲提取液常规液相分离色谱图（色谱条件同 1stD LC）

穿心莲药材以 80% 甲醇溶液超声提取后 HPLC 分析，结果显示在保留时间 25-35 min 之间，由于存在较多极性相似的化合物，共流出现象明显导致多数化合物未获良好分离，将对该类化合物的定性定量分析带来困难。

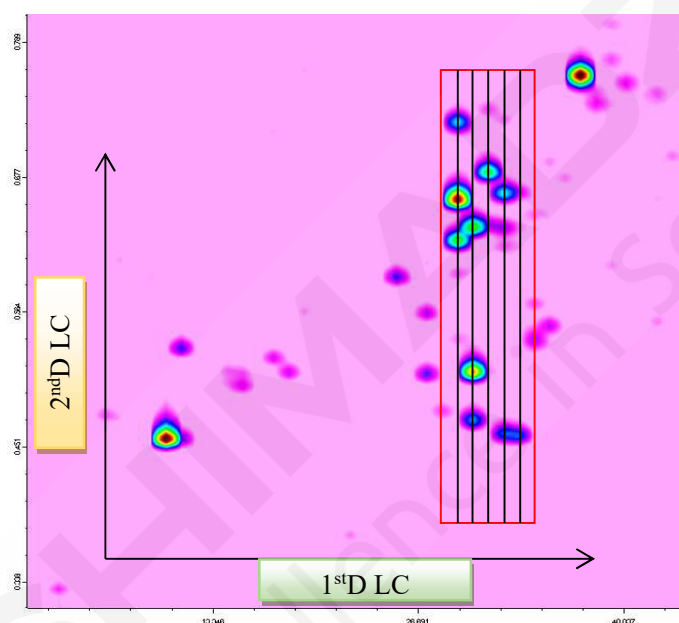


图 4. 穿心莲提取液全二维液相分离色谱图

图 4 所示为穿心莲提取液全二维液相色谱分离结果，使用反相×反相方式，1stD-LC 使用酸性流动相有助于样品中中性物质分离，2ndD-LC 时使用中性流动相体系，对 1stD-LC 分离过程中未能有效分离的酸性物质再次分离。结果显示，经过酸性×中性的全二维色谱分离后，使得原本在单维液相体系中无法良好分离的组分明显获得良好分离效果。

3. 结论

本文使用岛津全二维液相色谱系统进行中药穿心莲甲醇提取液分析，结果显示，同常规液相方法分离相比，全二维液相色谱方法对极性相似区域化合物的分离度提升显著，有利于类似中药等复杂组分的液相色谱分离的改善，有利于提高色谱定性和定量分离的准确性，是对超高效液相色谱分离度提升的系统性拓展。

液相色谱-四极杆飞行时间质谱联用分析鉴定管花肉苁蓉中苯乙醇苷类成分

摘要：本文利用岛津液相色谱-四极杆飞行时间质谱（LCMS-9030）建立快速、准确鉴别中药管花肉苁蓉水提取物中苯乙醇苷类化学成分的方法。建立管花肉苁蓉水提取物的液相色谱分离条件及质谱检测条件。首先对松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品进行分析，总结其二级裂解规律；其次结合使用 Formula Predictor 和 ACD/Labs 软件，根据获得的各组分一级和二级高分辨质谱信息，对比对照品碎裂特征并参考文献，对主要色谱峰进行指认，共鉴别了 18 个化合物。研究表明，采用岛津高分辨率、高质量准确度的液相色谱-四极杆飞行时间质谱，可提高中药化学成分分析的效率并有利于化合物的发现和鉴别。

关键词：液相色谱-四极杆飞行时间质谱 管花肉苁蓉 水提取物 苯乙醇苷类

肉苁蓉（*Herba Cistanche*）是列当科（*Orobanchaceae*）肉苁蓉属（*Cistanche*）植物肉苁蓉干燥带鳞叶的肉质茎。在我国，肉苁蓉主要分布在西北部的沙漠地区，如内蒙古、新疆等。由于极好的药用价值，其素有“沙漠人参”之美称。中国高等植物科属检索表记载我国肉苁蓉有6种，后据国内学者屠鹏飞等进一步调查后，确定为4种及变种1种，分别为荒漠肉苁蓉、管花肉苁蓉、盐生肉苁蓉、白花盐苁蓉及沙苁蓉。肉苁蓉具有补肾阳，益经血，润肠通便等功效，在《神农本草经》中被收载于上品药中，“其味甘，微温，无毒。治五劳七伤，补中，除茎中寒热痛，养五脏，强阴，益精气，多子。有久服轻身的功效。”

管花肉苁蓉中含有多种成分，苯乙醇苷类、环烯醚萜类、单萜糖苷类、木脂素类、多糖类等物质，其中苯乙醇苷类成分为管花肉苁蓉的主要特征成分。已有许多研究表明，肉苁蓉药材中主要指标性成分为松果菊苷，且其有着广泛而显著的药理作用，而管花肉苁蓉中其含量又明显高于其他肉苁蓉中的含量，且价格便宜，可考虑应用，充分发挥其临床价值。

本文使用岛津高分辨液质联用仪LCMS-9030，利用其高质量准确度，同时结合使用Formula Predictor 和ACD/Labs软件，高效、准确地鉴别相关组分。这一工作对丰富管花肉苁蓉化学成分的研究内容，总结相关化合物质谱裂解规律，进行药材品质评价和开发利用均有重要意义。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪串联四极杆飞行时间质谱仪 LCMS-9030，具体配置为：

输 液 泵 : LC-30AD×2	系 统 控 制 器 : CBM-20A
输 液 泵 : LC-40B XR	在 线 脱 气 机 : DGU-20A5
自动进样器 : SIL-30AC	飞 行 时 间 质 谱 仪 : LCMS-9030
柱 温 箱 : CTO-20AC	二 极 管 阵 列 检 测 器 : SPD-M20A
色 谱 工 作 站 : LabSolutions Ver5.95	结 构 解 析 软 件 : ACD/Labs Ver2012

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Inertsil ODS-4 150 mm×2.1 mm I.D., 5 μm
流动相: A 相-0.1% 甲酸水; B 相-甲醇
流速: 0.5 mL/min
柱温: 40℃
进样量: 5 μL
检测波长: 190-800 nm
洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度为 5%, 洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
40.0	Pumps	Pump B Conc.	37
43.0	Pumps	Pump B Conc.	60
46.0	Pumps	Pump B Conc.	60
46.1	Pumps	Pump B Conc.	5
50.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI(-)
加热气: 空气 10.0 L/min
雾化气: 氮气 3.0 L/min
干燥气: 氮气 10.0 L/min
碰撞气: 氦气
接口温度: 300℃
DL 温度: 250℃
加热模块温度: 400℃
扫描模式: MS full scan m/z: 100-1000
MSMS(DDA) m/z: 100-500
碰撞能量: 40±10 V
Loop time: 0.2 s

2. 样品前处理

分别称取对照品松果菊苷 (Echinacoside) 和毛蕊花糖苷 (Acteoside) 5.2 mg和6.1 mg, 用甲醇定容至10 mL, 配成浓度为0.52 mg/mL和0.61 mg/mL的储备液。用甲醇稀释100倍, 配制成浓度5.2 mg/L和6.1 mg/L混合供试溶液。待上机。

样品按料液比1:15加水、80℃浸提2 h, 冷却后离心取上清液, 经超滤膜 (30000u) 去除大分子组分, 透过液经纳滤浓缩4倍。待上机。

3. 结果与讨论

3.1 对照品二级质谱规律研究

管花肉苁蓉中主要已知成分为松果菊苷 (Echinacoside) 和毛蕊花糖苷 (Acteoside) 。对 1.3 中配制

的对照品按照 1.2 条件分析。苯乙醇苷类成分在负离子模式下具有较好的质谱响应，生成较强的[M-H]⁻准分子离子，因此，着重分析负离子模式结果。Echinacoside 和 Acteoside 的质量数准确度均小于 1 ppm，详见表 2。图 1 为管花肉苁蓉中主要成分 Echinacoside 和 Acteoside 对照品紫外色谱图。图 2 为 Echinacoside 和 Acteoside 对照品的提取离子流图。使用 ACD/Labs 软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，并推导可能的裂解规律。图 3 和图 4 为 Echinacoside 和 Acteoside 可能的二级裂解规律。

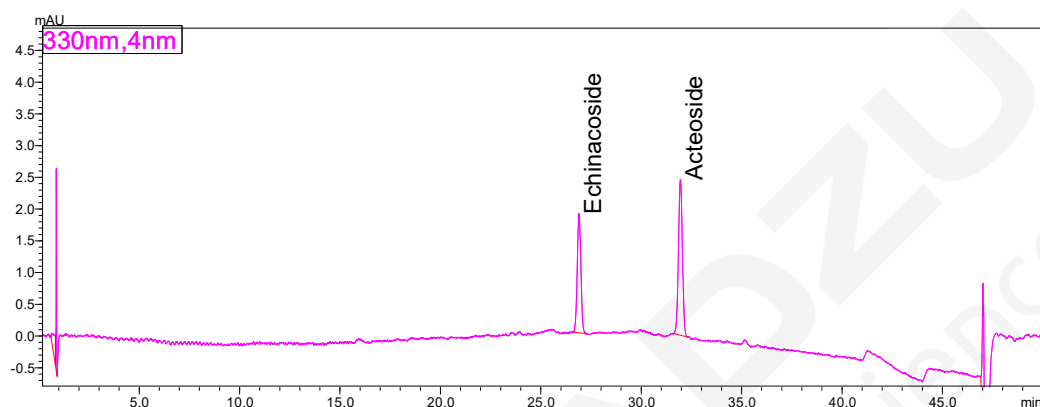


图 1. Echinacoside 和 Acteoside 对照品紫外色谱图

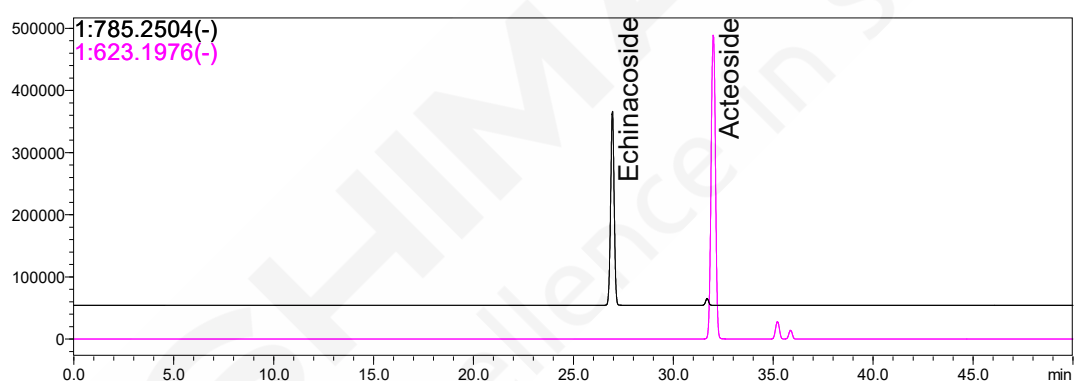
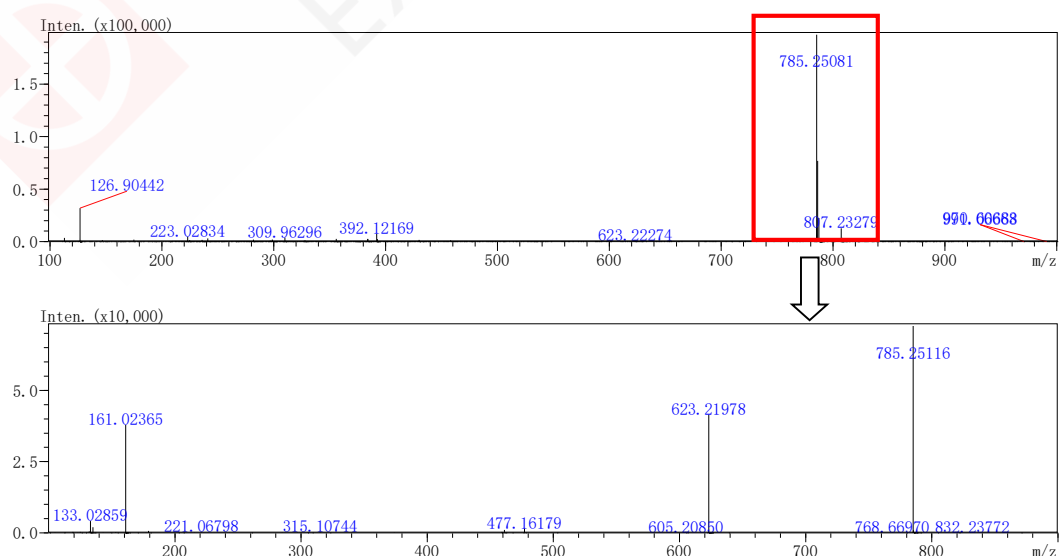


图 2. Echinacoside 和 Acteoside 对照品提取离子流图



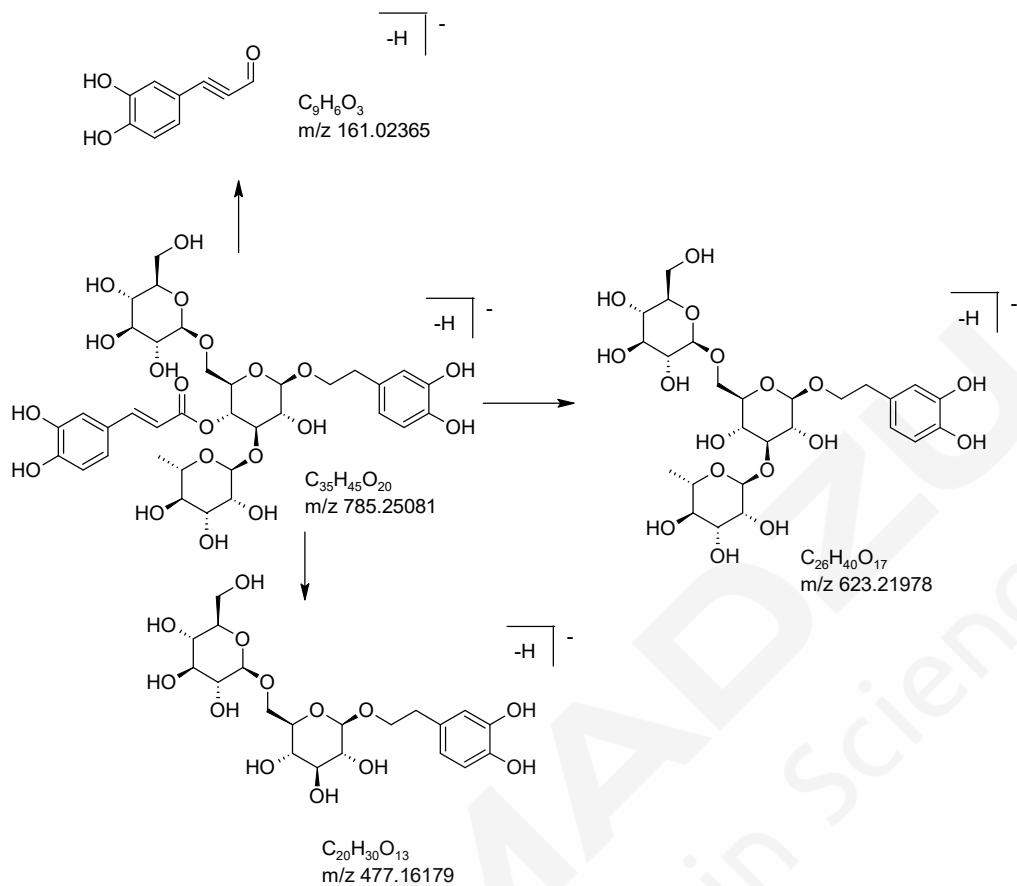
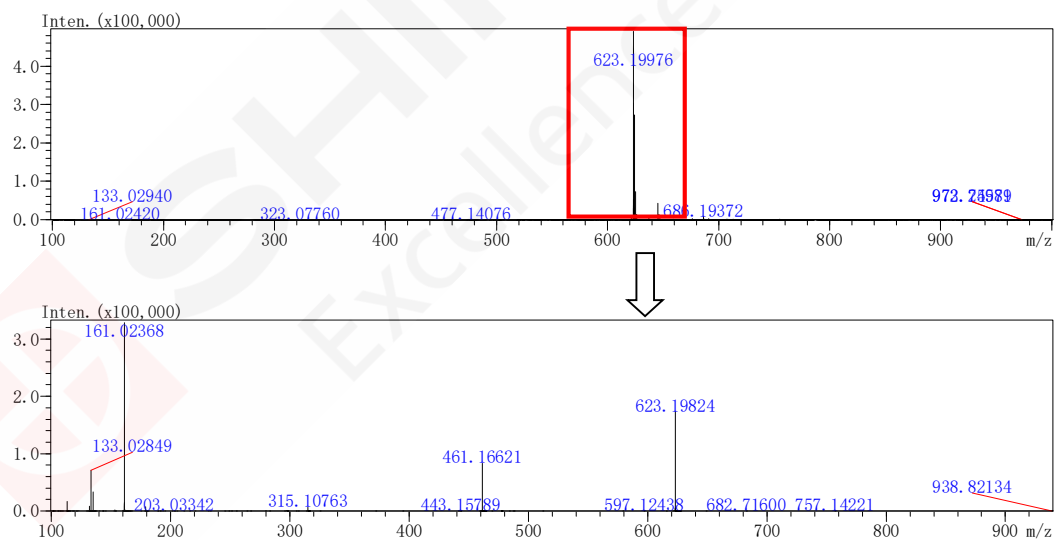


图 3. m/z 785.25081 可能的二级裂解规律



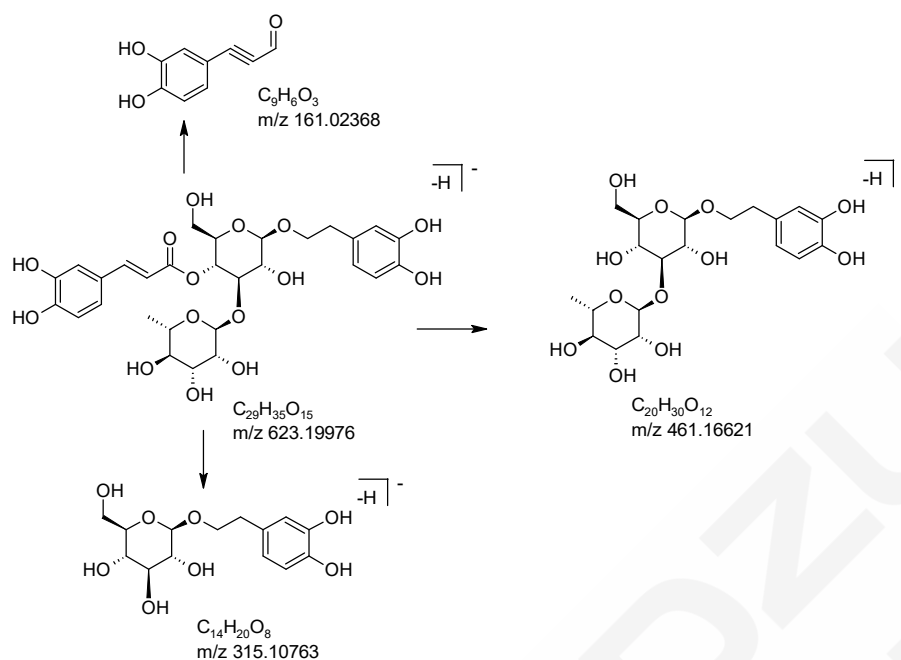


图 4. m/z 623.19976 可能的二级裂解规律

表 2. 对照品色谱质谱信息汇总表

No.	化合物名称	保留时间 /min	分子式	理论 m/z	实际 m/z	质量偏差/ppm	碎片 m/z
1	Echinacoside	26.870	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.25042	785.25081	0.50	623.21978 , 161.02365 , 477.16179
2	Acteoside	32.012	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.19760	623.19815	0.89	161.02368 , 461.16621 , 315.10763

3.2 管花肉苁蓉苯乙醇苷类成分研究

对1.3中得到的管花肉苁蓉水提样品进行100倍稀释，按照1.2中条件分析，图5为样品紫外色谱图，图6为负离子模式下得到的总离子流图(TIC)。根据文献报道和苯乙醇苷类化合物性质，元素组成设为C、H、O，并且设置C、H、O各元素最大数目分别为150、300、12，根据一级高分辨质谱信息，使用Formula Predictor软件预测可能的分子式。使用ACD/Labs软件，对二级高分辨质谱图中高丰度碎片进行结构解析，并推导可能的裂解规律，从而进一步确证出化合物的分子式和结构。图8和图9分别展示了响应比较高的两种化合物Tubuloside A和Decaffeoylacteoside可能的二级裂解规律。

综上，使用 Formula Predictor 和 ACD/Labs 软件，对比对照品的裂解规律，综合紫外(UV)数据、保留时间、二级质谱信息及参考文献，共鉴别了 18 个化学成分。详见表 3。

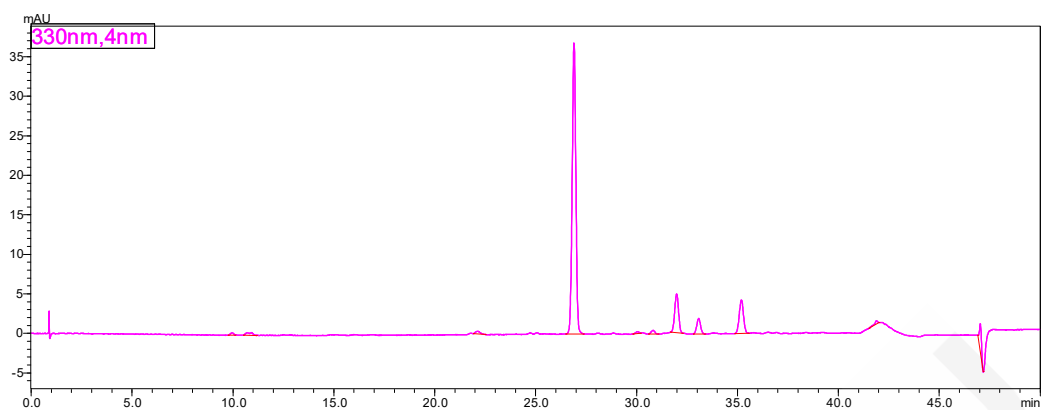


图 5. 样品紫外色谱图

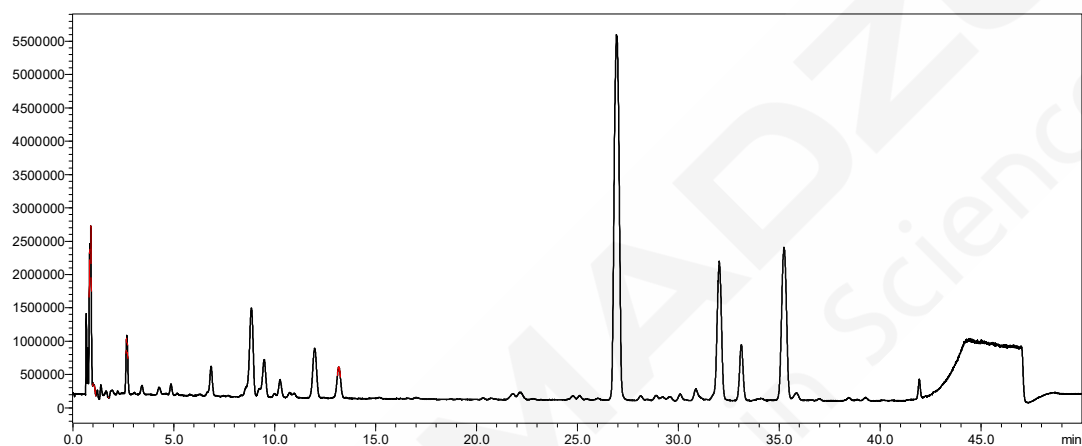


图 6. 样品 TIC 色谱图

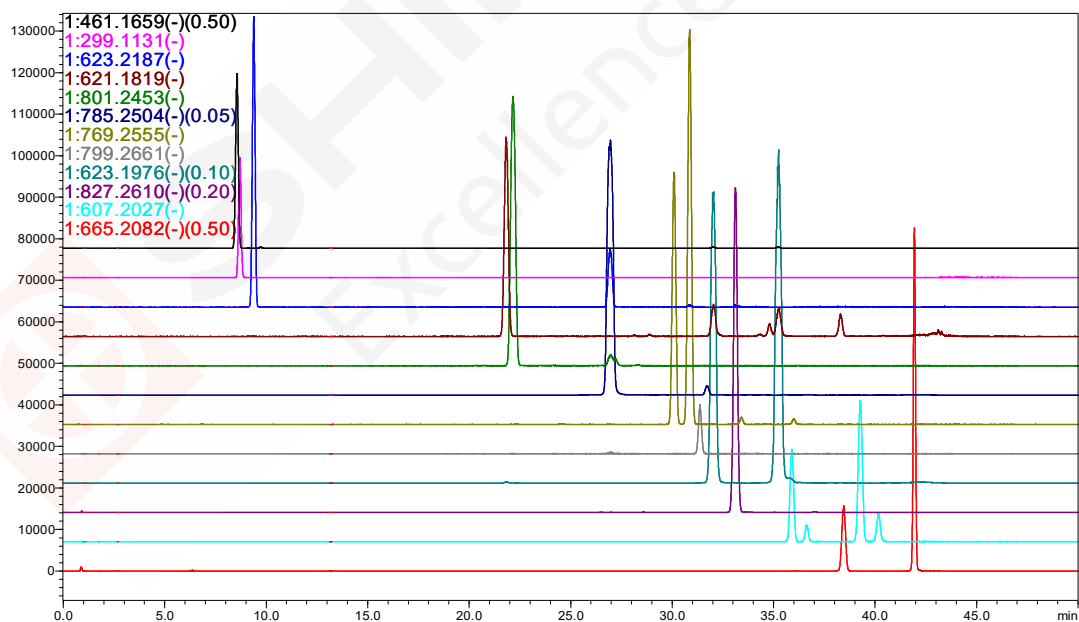


图 7. 样品提取离子流图

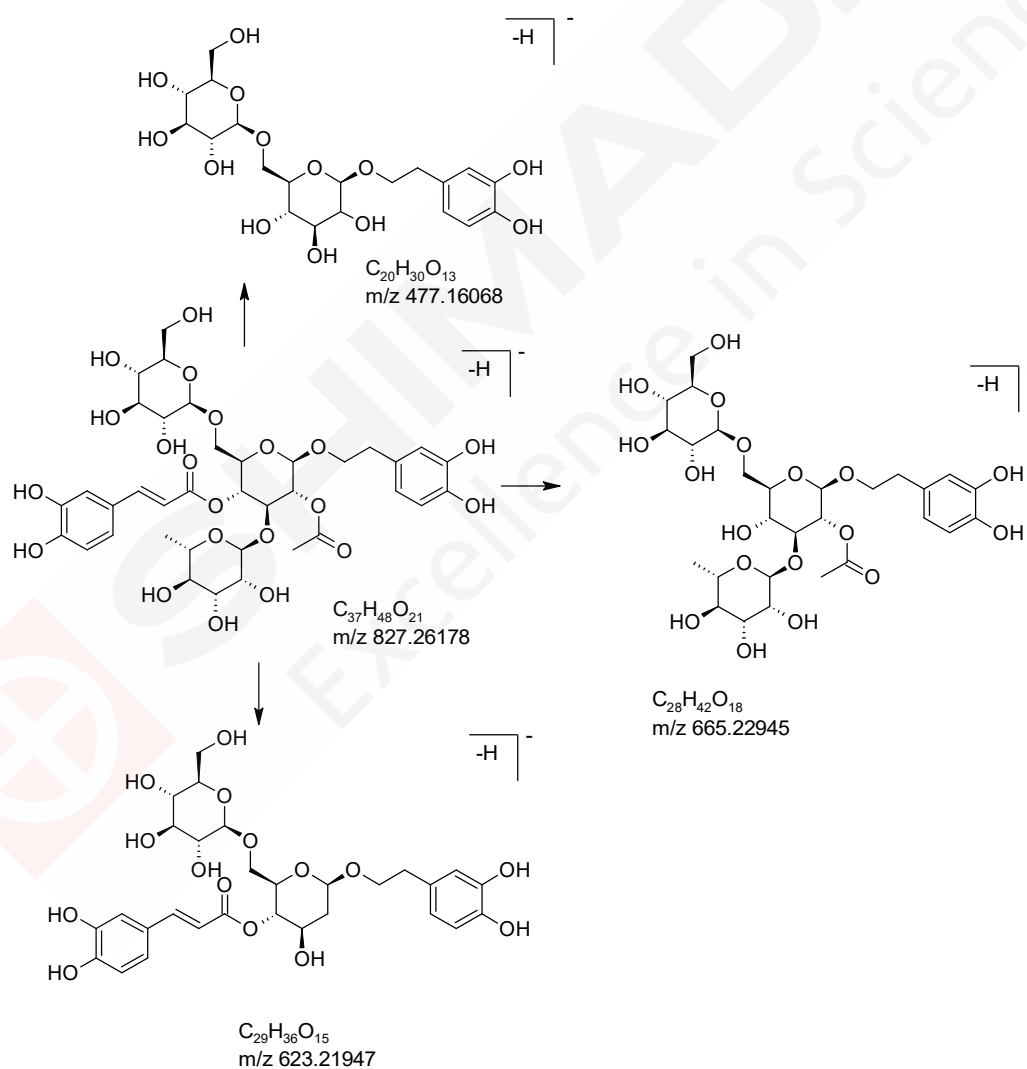
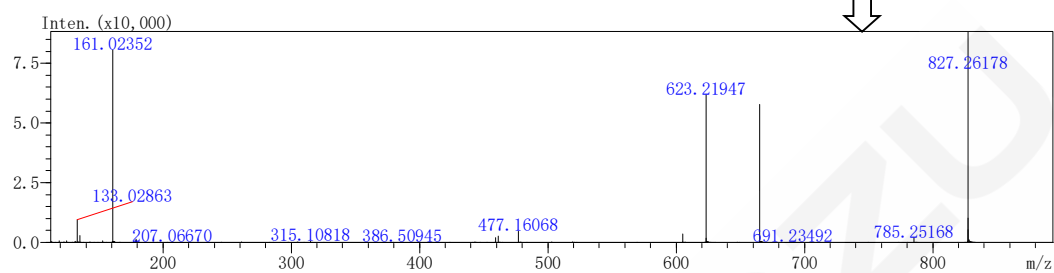
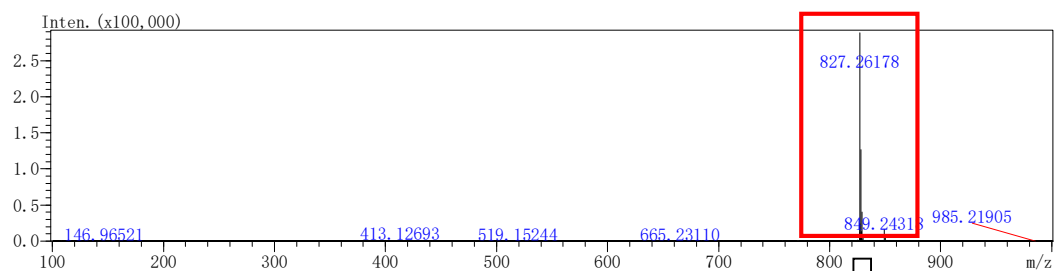


图 8. m/z 827.26274 可能的二级裂解规律

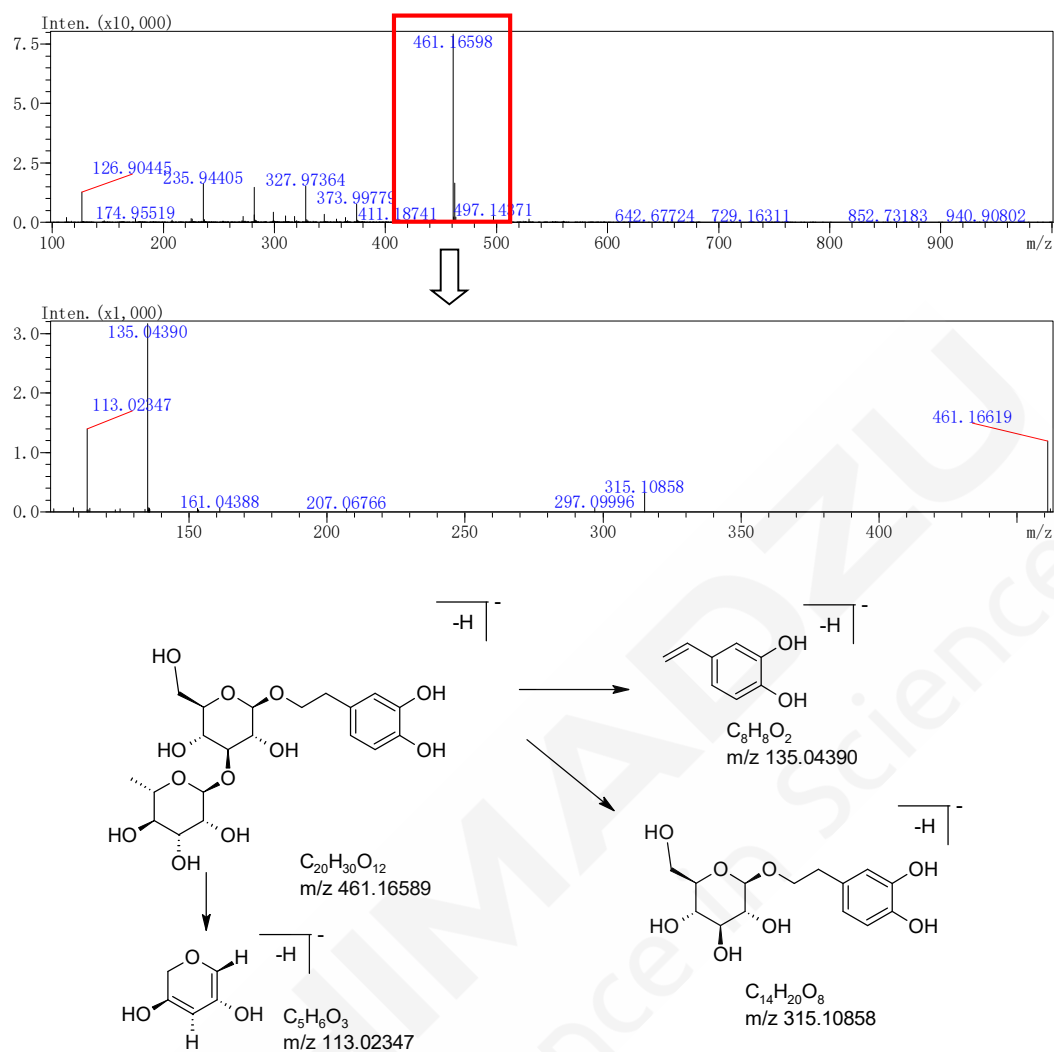


图 9. m/z 461.16589 可能的二级裂解规律

表 3. 管花肉苁蓉中苯乙醇苷类成分鉴别结果

No.	保留时间/min	分子式	理论 m/z	实际 m/z	质量偏差/ppm	碎片 m/z	鉴别结果
1	8.550	$C_{20}H_{30}O_{12}$	461.16590	461.16598	0.17	135.04390, 113.02347, 315.10858	Decaffeoylacteoside
2	8.663	$C_{14}H_{20}O_7$	299.11308	299.11324	0.54	207.00919, 119.05041, 126.90484, 125.02582,	Salidroside
3	9.301	$C_{26}H_{40}O_{17}$	623.21873	623.21908	0.57	221.07904, 135.04506, 475.12499,	Kankanoside F
4	21.812	$C_{29}H_{34}O_{15}$	621.18195	621.18258	1.02	269.08111, 295.06034, 161.02342,	Crenatoside
5	22.150	$C_{35}H_{46}O_{21}$	801.24533	801.24562	0.36	621.20417, 783.23661	Cistantubuloside C1/C2

6	26.870	C ₃₅ H ₄₆ O ₂₀	785.25042	785.25081	0.50	623.21846, 161.02332, 477.16193	Echinacoside
7	30.085	C ₃₅ H ₄₆ O ₁₉	769.25551	769.25563	0.16	161.02358, 607.23112, 133.02833	Cistantubuloside A
8	30.880	C ₃₅ H ₄₆ O ₁₉	769.25551	769.25585	0.45	623.21917, 145.02844, 605.20870	Cistantubuloside B1/ B2
9	31.382	C ₃₆ H ₄₈ O ₂₀	799.26607	799.26580	0.34	623.22103, 175.03950, 477.18801	Cistanoside A/Wiedemanninoside C
10	32.012	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.19760	623.19815	0.89	161.02353, 461.16639, 315.10849	Acteoside
11	33.128	C ₃₇ H ₄₈ O ₂₁	827.26098	827.26178	0.96	665.22945, 623.21947, 477.16068	Tubuloside A
12	35.241	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₅	623.19760	623.19778	0.30	161.02360, 461.16642, 315.10787	Cisacteoside/Isoacteoside
13	35.890	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₄	607.20268	607.20302	0.56	161.02317, 133.02793, 445.16880	Kankanoside G
14	36.625	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₄	607.20268	607.20301	0.54	145.02852, 163.03922, 461.16573	Cis-Kankanoside G
15	38.403	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₆	665.20816	665.20826	0.15	161.02331, 461.16284, 133.02911	Cistubuloside B
16	39.275	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₄	607.20268	607.20306	0.62	161.02372, 133.02784, 445.17216	Isosyringalide-3'- α -L- rhamnose
17	40.175	C ₂₉ H ₃₆ O ₁₄	607.20268	607.20300	0.53	145.02929, 461.16582, 163.04225	Syringalide A-3'- α -L- rhamnose
18	41.931	C ₃₁ H ₃₈ O ₁₆	665.20816	665.20825	0.14	161.02361, 461.16594, 133.02833	Tubuloside B

4. 结论

本文利用岛津 LCMS-9030 高分辨率、高质量准确度等优点鉴定了管花肉苁蓉中苯乙醇苷类化合物。根据一级和二级高分辨质谱信息,使用 Formula Predictor 和 ACD/Labs 软件,综合紫外(UV)数据、保留时间及参考文献,共鉴别了 18 个化学成分。结果显示 LCMS-9030 具有亚 ppm 的质量数准确度,是未知物分子式预测和结构推导的利器。

应用 MALDI-TOF-MS 分析中药材中多糖降解得到的寡糖

摘要：中药材品种繁多，许多中药材在性状上不易区分，较容易混淆。许多易混的中药材由于具有较高的含糖量，将中药材中的多糖提取、降解为寡糖后，通过毛细管电泳检测寡糖，由于不同的中药材多糖降解得到的寡糖种类和含量不同，毛细管电泳检测结果呈现不同的谱图，从而实现不同种类中药材的鉴定。然而，毛细管电泳技术不能直接提供降解得到的寡糖的分子信息，如分子量、聚合度等，因此，这就使进一步分析中药多糖降解为寡糖的研究难以深入。基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)灵敏度高、分析快速，对杂质的包容性强、分析的质量范围大，能够对糖类尤其是非衍生化糖进行直接分析。本文应用 MALDI-TOF-MS 以 DHB (2, 5-二羟基苯甲酸) 为基质，对从中药中提取、降解得到的寡糖进行了分析，质谱结果直接给出寡糖的分子量分布、重复单元结构和聚合度信息，为深入研究中药多糖降解机制提供了基础。

关键词：基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-TOF-MS 中药材 寡糖

常用的中药材中，一些药材的名称、外观和颜色都很相似，因此很容易混淆。用错药后，轻则影响临床疗效，重则引起不良反应甚至中毒，从而对人们的用药安全造成很大隐患。因此，需要对这些常用的容易混淆的中药材进行鉴定。对于品种不同、且含糖量高的一些易混中药材，通过提取其中的多糖，将多糖降解为寡糖，得到的寡糖种类和含量不同，使用毛细管电泳分析寡糖，得到不同的图谱，因此可以进行易混中药材的品种鉴定。但是仅仅应用毛细管电泳技术，对于中药多糖降解为寡糖的研究是不足够的，因为毛细管电泳技术不能直接提供寡糖分子的信息，因此还需要其他的可靠手段进行表征。

基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 作为一种“软”电离技术，在准确、快速和灵敏地测定寡糖分子量和糖类化合物结构的研究及应用中具有很大的优势。本文选取含糖量高的中药材北沙参，利用水提醇沉法从中药中提取出多糖，将多糖降解为寡糖后，以 DHB (2, 5-二羟基苯甲酸) 为基质，利用 MALDI-TOF-MS 测定寡糖，质谱结果直接给出寡糖的分子量分布、聚合度和组成单元的信息，为进一步研究中药多糖降解生成寡糖的机理提供了基础。

1. 实验部分

1.1 仪器

AXIMA Resonance

1.2 质谱条件

调谐模式：反射 正离子模式

扫描范围：m/z 300-2000

激光能量：110

1.3 试剂和样品

MALDI 使用基质为 DHB (2, 5-二羟基苯甲酸), 样品为中药材北沙参

1.4 实验方法

根据多糖溶于水而不溶于醇、醚、丙酮等有机溶剂, 使用水提醇沉方法, 从北沙参中药材中提取得到多糖, 以0.3 mol/L的盐酸溶液使多糖发生降解, 降解成寡糖, 之后使用旋蒸仪进行蒸发烘干浓缩, 以1:1的纯水和甲醇配制成浓度为2 mg/mL的溶液, 与6 mg/mL的DHB基质等体积混合, 将1 μ L混合溶液点在MALDI靶板上。在为MALDI制备样品时, 本文使用了重结晶方法, 重结晶法是在干燥已结晶的样品上滴0.4 μ L的乙醇, 再在室温下干燥。然后将靶板放入AXIMA Resonance中进行检测。

2. 结果讨论

北沙参中提取到的寡糖质谱图如图1所示。由图可见, 北沙参中提取的多糖经降解后得到一系列的寡糖, 且相邻寡糖都相差一个六碳糖的残基质量数, 即162, 如图2中的 m/z 1013.33、1175.38和1337.44, 这说明北沙参多糖降解时, 降解下来相同的糖单元。在各主峰旁都有一个与其分子量相差16 Da的次峰 (m/z 1013.33和1029.30、 m/z 1175.38和1191.36), 这正好是Na和K的质量数差。这是因为糖并不象蛋白质那样容易质子化, 所以它极易与样品或基体中的 Na^+ 、 K^+ 形成加合物, 在质谱图中形成一对分子量相差16 Da的峰。糖的这一性质成为判定其分子量的重要依据。

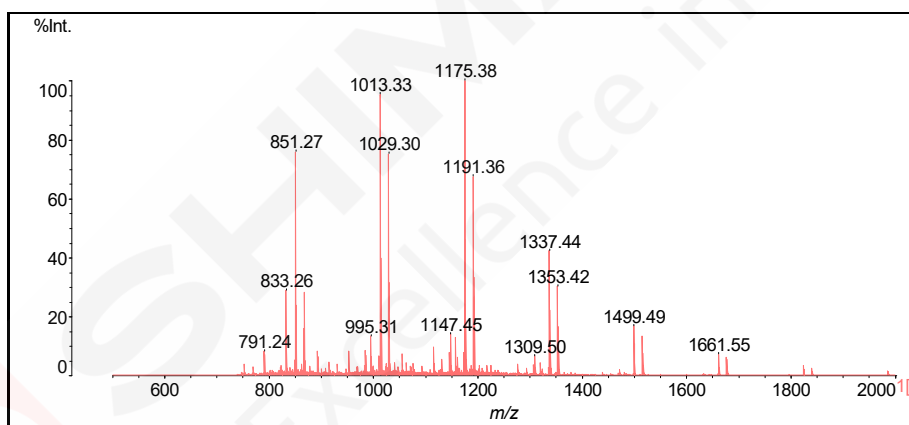


图1. 寡糖样品质谱图

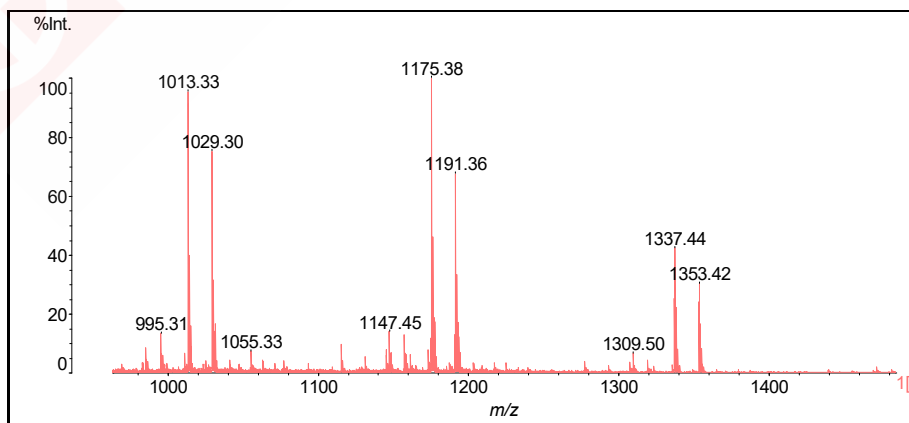


图2. 图1的局部放大图

若糖未被衍生时，重复单元为六碳糖的寡糖聚合度为1到12时，形成加Na⁺峰后，理论m/z值为213.06、365.12、527.17、689.22、851.27、1013.33、1175.38、1337.43、1499.49、1661.54、1823.59和1985.64。图3为图1质谱图较大m/z值部分的放大图，图4为使用较小m/z起始的扫描范围得到的质谱图。将图1、图3和图4的m/z值与理论m/z值比较，北沙参中药材中多糖降解为寡糖时，得到了聚合度为2-12的寡糖，即得到了二糖、三糖、四糖、五糖、六糖、七糖、八糖、九糖、十糖、十一糖和十二糖。

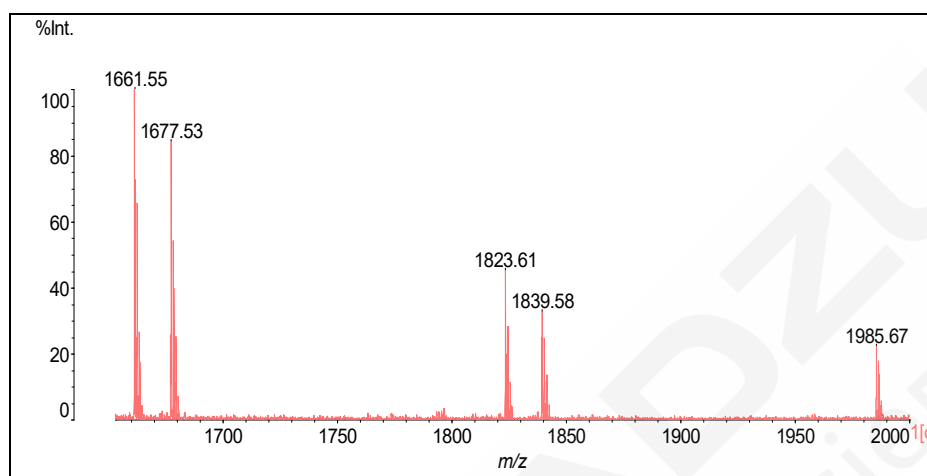


图3. 图1的局部放大图

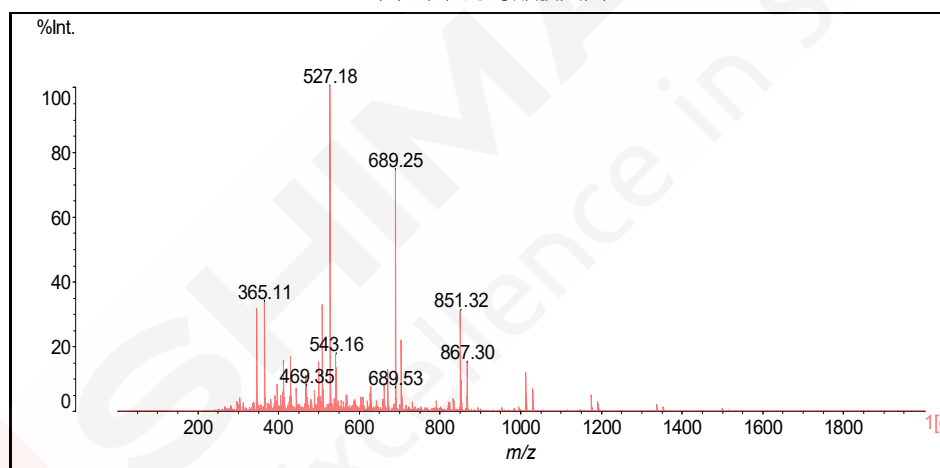


图4. 使用较小质量数扫描范围得到的质谱图

3. 结论

本文使用MALDI-TOF测定了中药材中多糖降解得到的寡糖分子信息，测得了寡糖样品分子量的分布、重复单元结构和聚合度。本方法为中药材多糖降解的研究提供了一种有力的分析手段。

SMX-225CT FPD HR Plus 观察高丽参内部结构

摘要：本文介绍运用 inspeXio SMX-225CT FPD HR Plus 微焦点 X 射线 CT 系统观察高丽参的内部结构。扫描后 CT 数据通过岛津 HADI-S 软件分析气孔面积比，使用 VG 软件观察高丽参孔隙及结晶体的状态分布，并测量孔隙率及结晶体百分比。

关键词：微焦点X射线CT系统 高丽参 裂纹 孔隙率

高丽参有大补元气、生津安神等作用，适用于惊悸失眠者，体虚者，心力衰竭、心源性休克等。现代医学研究显示，高丽参有多种滋补效能。日本和韩国（南朝鲜）学者经研究发现，高丽参在预防糖尿病，动脉硬化，高血压等方面有明显效果，高丽参还有抗癌，控制疾病，促进血液循环，防止疲劳，增强免疫力等方面的功效。

高丽参是通过新收获的 6 年新鲜人参经精心挑选，立即被清洗和蒸制而成。经过蒸制的人参，可以排除一切可能腐烂的可能，有利于长期保存，被蒸过的人参在天然的阳光下晒干，使得人参中水蒸气的含量始终低于 14%。新鲜的人参经过加工，它的颜色将变成深棕色，而其形态将得以保留。高丽参的体积和重量也会减少以方便储存和运输。高丽参的加工方法使得它的药效成分比天然状态更加卓越。利用工业微焦点 X 射线 CT 可以无损观察高丽参的孔隙及结晶体状态分布，定量分析孔隙和结晶体。本文介绍运用 inspeXio SMX-225CT FPD HR Plus 的微焦点 X 射线 CT 系统检测高丽参的内部结构，观察结晶体含量及孔隙率。

1. 实验部分

1.1 仪器

inspeXio SMX-225CT FPD HR Plus 微焦点 X 射线 CT 系统



1.2 分析条件

X 射线 CT 检查分析条件 1:

测试电压：100KV

测试电流：100 μ A

图像尺寸：1024pixels*1024pixels

扫描时间：10min

SDD：1200mm

SRD：380.946mm

Number of Views：2400

Number of Averages: 1

Voxel Spacing：0.029mm/voxel

Exposure(ms)：250.000

Acquisition Mode：Fine

X 射线 CT 检查分析条件 2:

测试电压：160KV

测试电流：70 μ A

图像尺寸：1024pixels*1024pixels

扫描时间：10min

SDD：800mm

SRD：45.963mm

Number of Views：2400

Number of Averages: 1

Voxel Spacing：0.016mm/voxel

Exposure(ms)：250.000

Acquisition Mode：Fine

2. 结果与讨论

2.1 微焦点 X 射线 CT 对高丽参的观察

本次检测的是市购的一支长 105 mm 的高丽参，如图 1 所示。先对高丽参进行透视局部观察，观察到内部有孔隙，孔隙密度小，显示为白色（图 2）。透视不能观察内部细节，需通过 CT 扫描。



图 1. 高丽参外观图

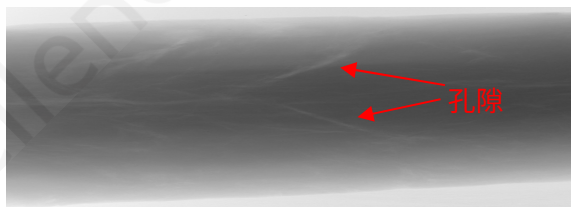


图 2. 高丽参透视图

图 3 显示了整个高丽参的三视图（VG 软件处理）。在三视图中，将多个 CT 图像堆叠在一个虚拟空间中，从而排列四张图像：CT 图像（1）；相互正交的纵向图像（2）和（3）；以及虚拟的 3D 图像（4）。

CT 显示图像中，密度大的显示更白，密度小的显示更黑，和透视图像相反。从图 3 的图像（1）至（3）中，可以观察到孔隙及结晶体。

图 4 显示了高丽参的 CT 截面及立体效果图，可通过颜色渲染处理，更直观观察。

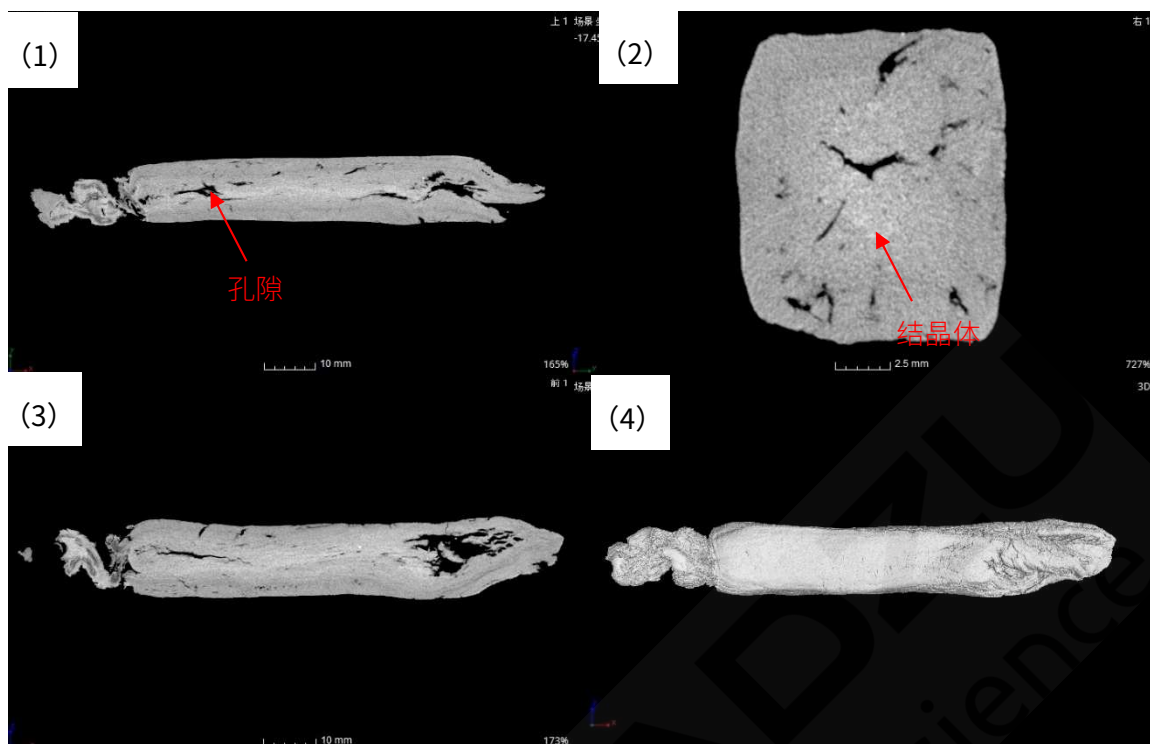


图3. 高丽参CT三视图

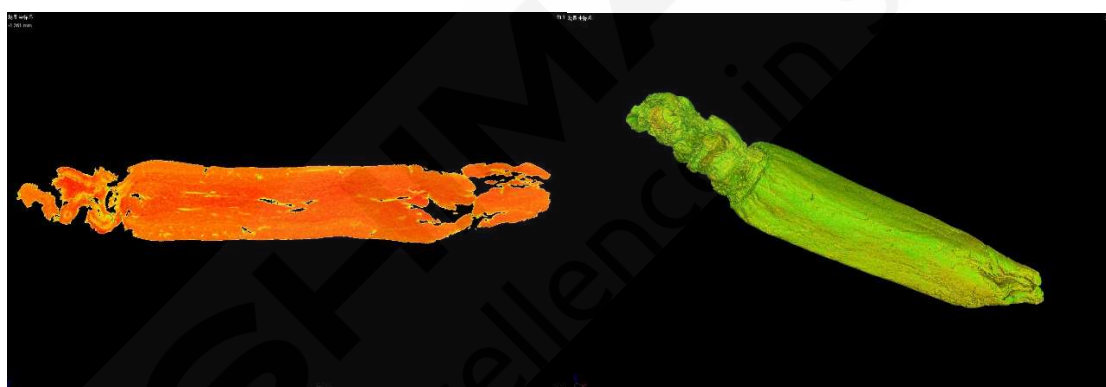


图 4. 高丽参 CT 图

图 5 显示了高丽参局部放大后的 MPR（多平面重建）图像。在 MPR 显示图中，将多个 CT 图像堆叠在一个虚拟空间中，从而排列四张图像：CT 图像（1）；相互正交的纵向图像（2）和（3）；以及与纵向截面图像（4）正交的任意截面图像。

从图 5 的图像（1）至（4）中，可以清晰观察高丽参的内部孔隙及结晶体分布状态。

图 6 显示了高丽参局部放大立体图，通过图像处理，蓝色部分显示的是高丽参中的孔隙。

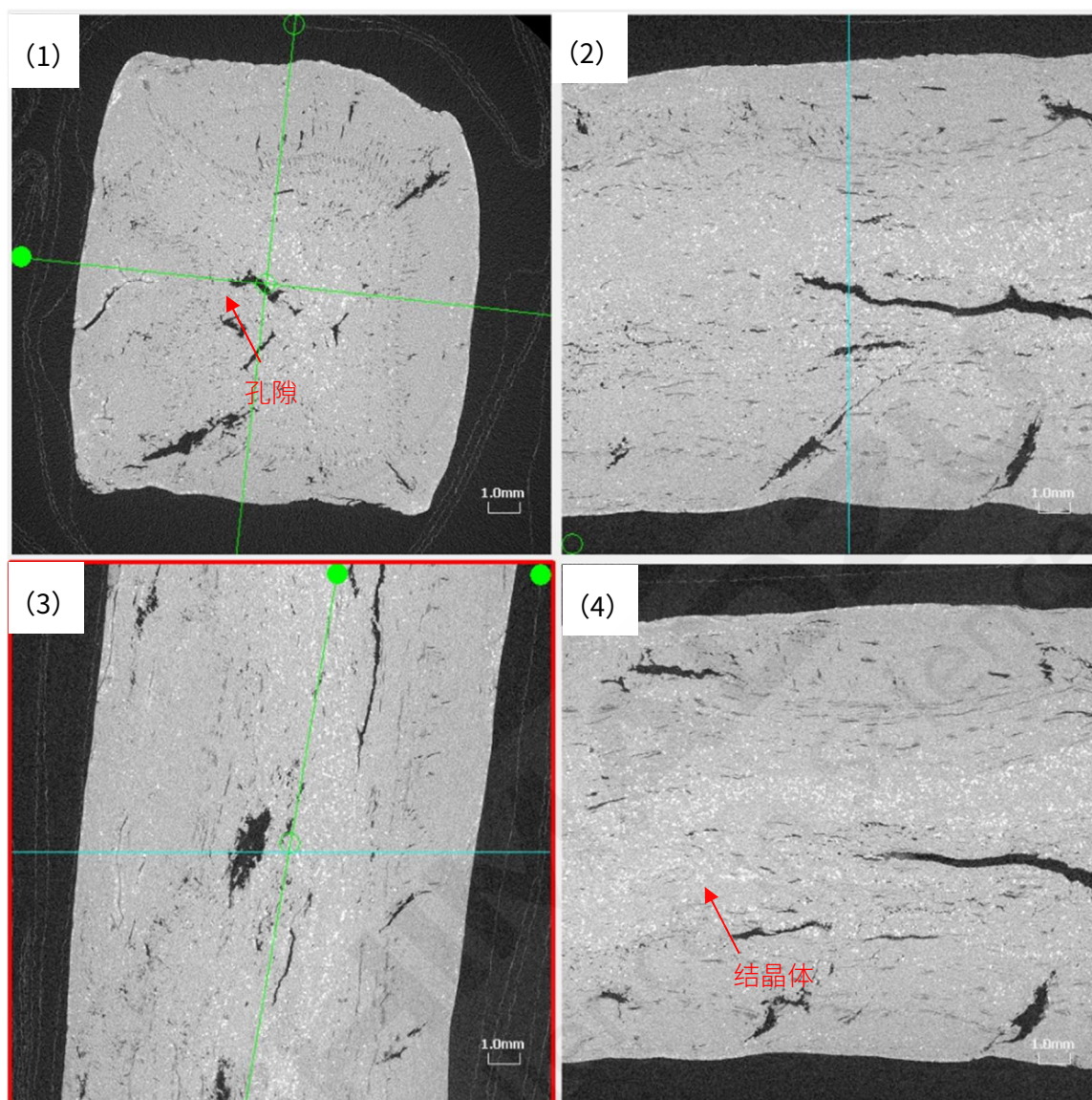


图 5. 高丽参局部放大 MPR 图

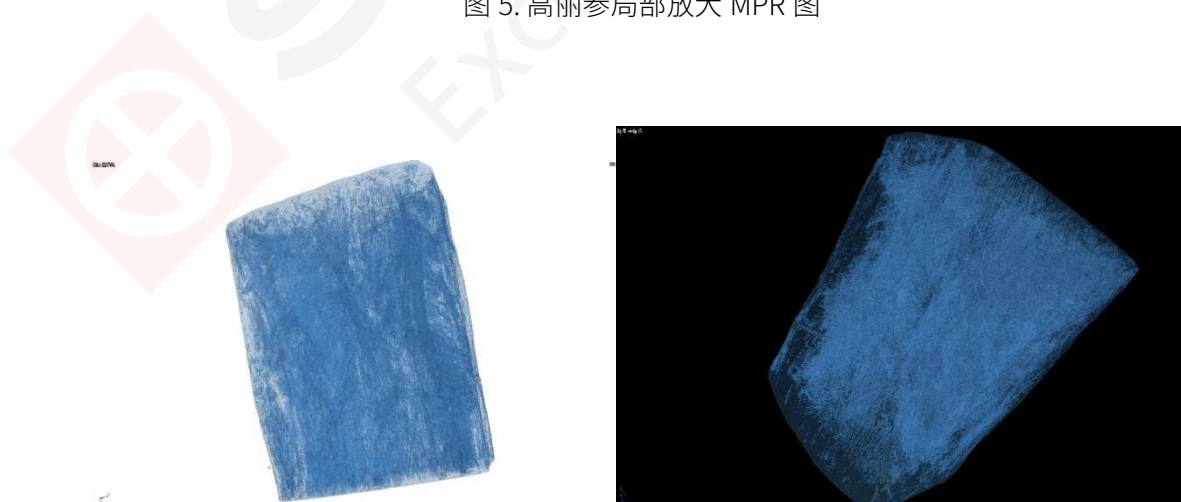


图 6. 高丽参局部放大 3D 图

2.2 高丽参样品数据分析

高丽参加工工艺复杂，不同的加工工艺制成不同种类的高丽参，在后期的炮制蒸煮过程中，添加了很多名贵的药材。因此，制造后通过CT数据分析，优化工艺，有利于制造出更优异的高丽参。

通过岛津HADI-S软件，对CT截面进行气孔面积比测量，可得出气孔面积比。图7针对高丽参CT截面计算出气孔面积比为11.27%。

通过 VG 软件对高丽参内部孔隙率分析，得出高丽参的孔隙率百分比为 4.17%，并通过不同颜色定义不同孔隙的状态分布，如图 8 所示。

同样，通过 VG 软件对高丽参内部晶体定量分析，得出高丽参的晶体含量百分比为 0.97%，并通过不同颜色定义不同晶体的状态分布，如图 9 所示。

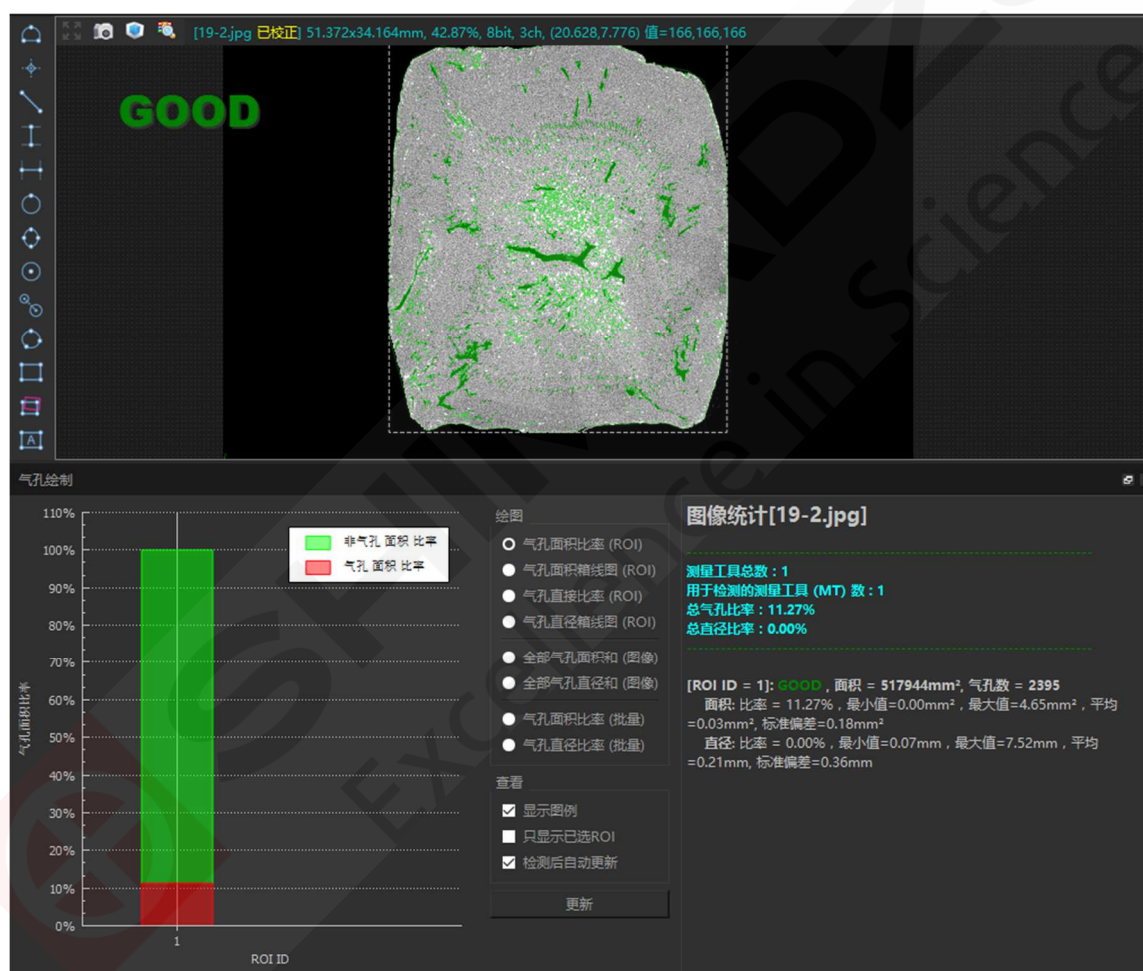


图 7. 气孔面积比测量

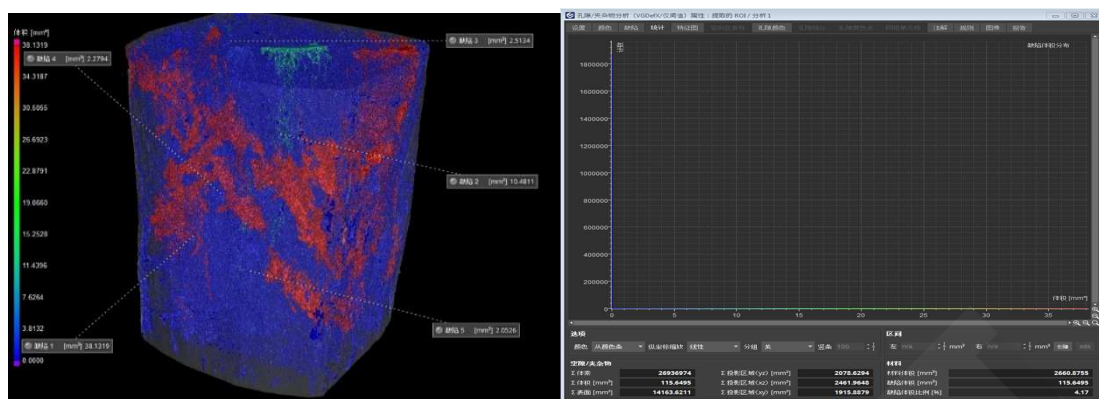


图 8. 孔隙率统计分析

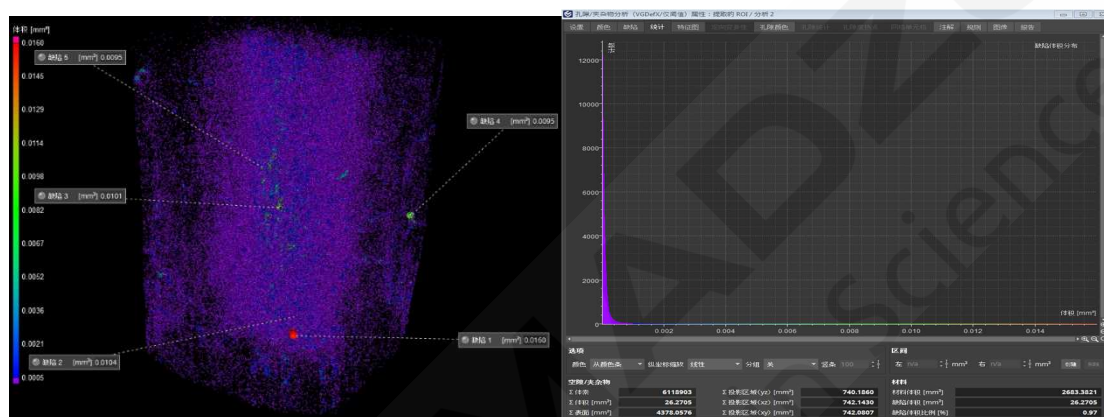


图 9. 统计分析

3. 结论

采用岛津公司的 inspeXio SMX-225CT FPD HR Plus 微焦点 X 射线 CT 系统检测高丽参的内部结构，通过 CT 直观观察高丽参内部孔隙及结晶体状态分布。无损定量分析样品内部气孔面积比、孔隙率及结晶体含量，有助于高丽参加工工艺的提升。

全谱二维液相色谱检测丹参中的活性成分

摘 要： 本文利用岛津全谱二维液相色谱系统，建立了一针进样分析丹参中脂溶性和水溶性活性成分的液相色谱方法。相对于 2020 年版《中华人民共和国药典》需要分两个方法进行分析，本方法仅用 21 min，可以实现丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹酚酸 B 的同时分离，同时分离度良好，满足药典要求。方法学验证结果表明，四种成分在线性范围内相关性良好，线性相关系数均大于 0.999；连续 6 次重复进样分析中，四种成分的保留时间的 RSD 在 0.018%-0.085%之间，峰面积的 RSD 在 0.10%-0.38%之间，说明本方法稳定性良好。加标回收实验，四种成分的加标回收在 89.63%-118.15%之间，RSD 在 0.31%-4.99%之间。使用本方法检测某丹参样品含量，平行六次分析结果的 RSD 在 2.64%-4.31%之间。通过本例，展示了全谱二维液相色谱在不同极性天然产物分析中的应用。

关键词： 全谱二维液相色谱系统 丹参 天然产物

丹参首载于《神农本草经》，是中国的传统中药，其有效成分主要包括两大类，分别是水溶性丹参酚酸类和脂溶性丹参酮类。①水溶性丹参酚酸类：丹参素、丹酚酸类化合物及迷迭香酸等成分。②脂溶性丹参酮类：主要包括丹参酮 I、异丹参酮 I、丹参酮 II、丹参酮 II_A、隐丹参酮及去氢丹参酮 II 等成分。2020年版《中国药典》规定了丹参中的主要脂溶性和水溶性活性成分含量测定的方法，采用高效液相色谱法，分两个方法进行分析。

岛津全谱二维液相色谱系统，可以实现一针进样同时分析高、中、低极性物质，不仅可以将相同分离模式进行组合，还可以将不同分离模式如亲水作用色谱模式（HILIC）和反相液相色谱模式（C8或者C18）的组合，是非常有应用前景的分离分析技术。

本文通过优化中心切割条件及柱头聚焦条件，成功建立了丹参提取液中脂溶性活性成分和水溶性活性成分的一针进样分析方法。该方法不仅分离度满足药典要求，同时还有分析时间短、线性范围宽、定量准确度高优点。

1 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津全谱二维液相系统。具体配置为：

输 液 泵	: LC-40B XR, LC-40B X3	在 线 脱 气 机	: DGU-20A5
自动进样器	: SIL-40C X3	柱 温 箱	: CTO-40C
系统控制器	: SCL-40	切 换 阀	: FCV-36AH
检 测 器	: SPD-M40	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.97

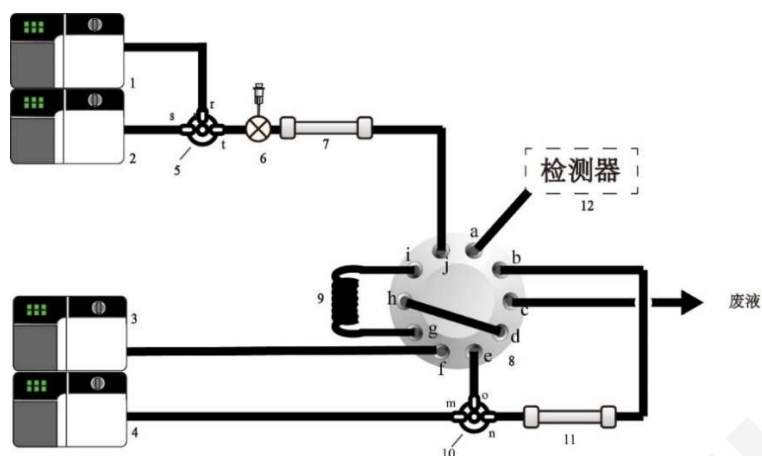


图 1. 全谱二维液相系统示意图

(1: 一维液相输液泵 A ; 2: 一维液相输液泵 B ; 3: 二维液相输液泵 A ; 4: 二维液相输液泵 B ; 5: 三通混合器 ; 6: 自动进样器 ; 7: 色谱柱 1 ; 8: 高压十通阀 ; 9: 500 μL 样品环 ; 10: 三通混合器 ; 11: 色谱柱 2 ; 12: 检测器)

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : 第一维: Shim pack GIST 100 mm $\times$ 2.1 mm I.D., 2 μm

(P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

第二维: Shim-pack GIST-HP C18-AQ 100 mm $\times$ 2.1 mm I.D., 3 μm

(P/N: 227-30765-03 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流 动 相 : 第一维: A 相-0.02%磷酸水溶液; B 相-乙腈

第二维: A 相-0.1%磷酸水溶液; B 相-乙腈

柱 温 : 20 $^{\circ}\text{C}$

进 样 体 积: 4 μL

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 时间程序见表 1-表 3。

表 1. 一维液相色谱梯度洗脱时间程序

时间(min)	流速	泵 A 浓度	泵 B 浓度
0.00	0.4	45	55
3.00	0.4	45	55
10.00	0.4	10	90
10.10	0.4	45	55

表 2. 二维液相色谱梯度洗脱时间程序

时间(min)	流速	泵 A 浓度	泵 B 浓度
0.00	0.4	80	20
1.10	0.4	80	20
1.11	0.5	80	20
8.11	0.5	80	20
8.12	0.4	80	20
18.12	0.4	50	50
18.20	0.4	80	20

表 3. 其他时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
1.1	柱温箱	Oven Valve 2	1
9.5	柱温箱	Oven Valve 2	0
21	控制器	Stop	

1.3 对照品溶液的配置

准确称取丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹酚酸B对照品粉末，置于容量瓶中，加甲醇分别定容到 1 mg/mL、1 mg/mL、1 mg/mL和2 mg/mL，为储备溶液。取适量的储备溶液用甲醇稀释至指定浓度，上机分析。

1.4 供试品溶液制备

准确称取丹参样品粉末（过三号筛）约0.15 g，置具塞锥形瓶中，精密加入90%甲醇50 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率140 W，频率42 kHz）30分钟，放冷，再称定重量，用90%甲醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得

加标样品制备：准确称取丹参样品粉末（过三号筛）约0.15 g，置具塞锥形瓶中，加入丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹酚酸B对照品溶液适量，精密加入90%甲醇50 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率140 W，频率42 kHz）30分钟，放冷，再称定重量，用90%甲醇补足重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2. 结果与讨论

2.1 液相色谱方法参数优化

2.1.1 一维液相条件确认

本应用首先分别针对丹参酮类物质和丹酚酸 B 进行一维液相色谱条件优化和确认，主要优化色谱柱和梯度条件。丹参酮类物质液相色谱方法优化时，通过微调梯度条件，丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 的分离度良好，如图 2 所示，相对保留时间见表 4，满足药典中相对保留时间规定值的±5%范围之内的要求。

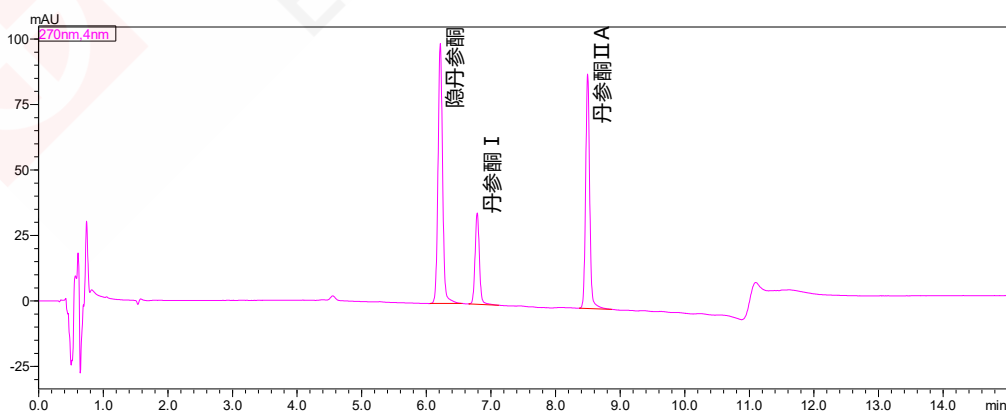
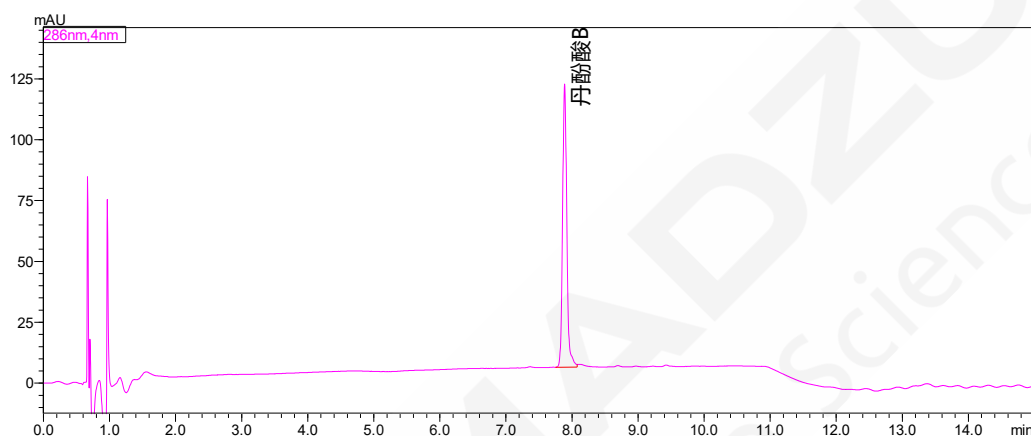
图 2. 丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 一维液相色谱图（浓度 5.0 µg/mL）

表 4. 丹参酮类化合物保留时间

#	待测成分	保留时间	相对保留时间	药典规定相对保留时间	药典规定参考范围
1	隐丹参酮	6.155	0.728	0.75	0.7125 - 0.7875
2	丹参酮 I	6.741	0.797	0.79	0.7505 - 0.8295
3	丹参酮 II _A	8.460	1.000	1.00	—

丹酚酸 B 液相色谱方法优化, 主要对比了 1.9 μm 和 3.0 μm 的色谱柱, 由于柱温较低, 1.9 μm 的色谱柱虽然有更好的柱效, 但是背压更高, 因此选择 3.0 μm 的色谱柱用于丹酚酸 B 的分离。丹酚酸 B 的分离采用梯度洗脱, 通过实验验证, 丹酚酸 B 在色谱柱上保留较强, 满足柱头聚焦的要求。

图 3. 丹酚酸 B 液相色谱图 (浓度 100.0 $\mu\text{g/mL}$)

2.1.2 二维柱头聚焦条件优化——聚焦体积

在全谱二维系统的分析过程中, 丹酚酸 B 从第一维经定量环导入到第二维, 并经历了较长时间的柱头稀释聚焦, 因此有必要对柱头聚焦条件进行优化以达最佳的聚焦效果。聚焦体积定义为二维液相中利用有机相将目标物从定量环中携带出来的体积。以 10% 为稀释比例, 当聚焦体积随聚焦时间延长而增加, 考察峰面积随聚焦体积的变化规律, 见图 4。由图可知, 当聚焦体积 $\geq 800 \mu\text{L}$ 时, 峰面积达到稳定。

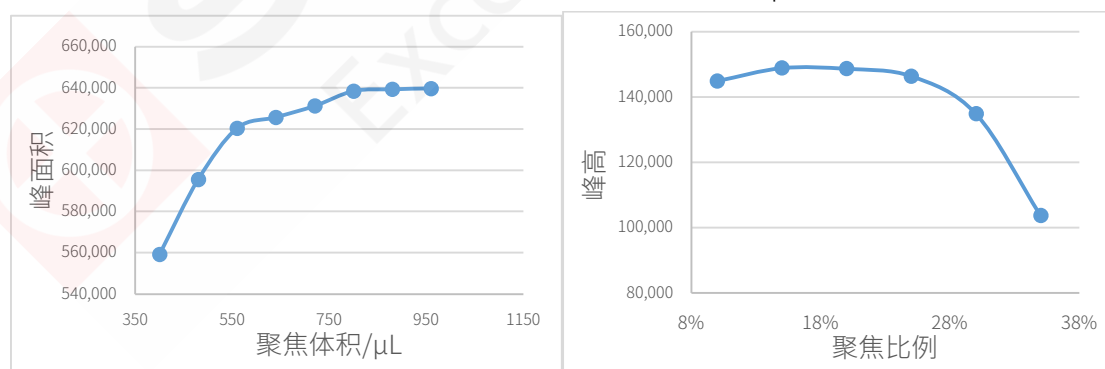


图 4. 丹酚酸 B 峰面积与聚焦体积的变化趋势、峰高与聚焦比例的变化趋势

2.1.3 二维柱头聚焦条件优化——聚焦比例

聚焦比例对二维色谱分析的聚焦时间和分离结果都有很大影响, 因此, 聚焦比例也是二维聚焦条件的核心参数。以 800 μL 为聚焦体积, 在不同稀释比例条件下, 考察丹酚酸 B 的峰宽、峰高等基本参数,

结果见图 4。由图可知，随着聚焦比例增加，丹酚酸 B 的峰宽显著变宽，峰面积也随之减小，说明聚焦比例过时丹酚酸 B 在色谱柱上有一定程度的洗脱，而导致聚焦效果变差。聚焦比例较小，虽然聚焦效果良好，但是会大幅延长聚焦时间，不同聚焦比例下对应的聚焦时间见表 5。因第一维色谱分离中丹参酮 II_A 的保留时间为 8.460 min，聚焦时间大于 10 min 时则会增加全谱二维液相系统的分析时间，因此 20%和 25%的聚焦比例均比较理想。

表 5. 不同聚焦比例下聚焦时间变化

聚焦比例	10%	15%	20%	25%
聚焦时间	20 min	13.3 min	10 min	8 min

聚焦比例同时也是二维液相色谱梯度分析的起点，因此聚焦比例直接影响二维液相色谱梯度变化，进而影响分离效果。通过对比丹酚酸 B（峰 2）对照品溶液中主峰和附近杂质峰（峰 1 和峰 3）的分离度，见图 6 聚焦比例为 20%条件下，丹酚酸 B 和杂质峰的分离度稍好，考虑实际样品更为复杂，需要更好的分离效果，因此确定聚焦比例为 20%。

表 6. 丹酚酸 B 和杂质峰的分离度

峰号	20%聚焦比例	25%聚焦比例
1	--	--
2	3.523	3.121
3	5.791	5.511

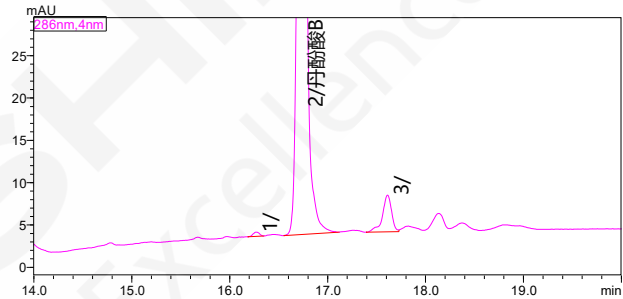


图 5. 20%聚焦比例聚焦比例的色谱图

2.1.4 二维柱头聚焦条件优化——聚焦流速

聚焦流速直接决定了柱头聚焦的时间，提升流速可以直接缩短聚焦时间，甚至提前开始梯度分析，可以大幅缩短整个的分析时间，但是提升流速也直接带来了背压升高，因此本文仅考察 0.4 mL/min, 0.5 mL/min 和 0.6 mL/min 的聚焦流速。实验数据显示，三种聚焦流速对分离效果没有显著影响，选择 0.5 mL/min 流速为最终聚焦流速。

2.2 色谱图

通过优化上述条件，确认最终液相色谱方法，21 min 完成丹参中高级性活性成分和中低极性活性成分的同时分析。

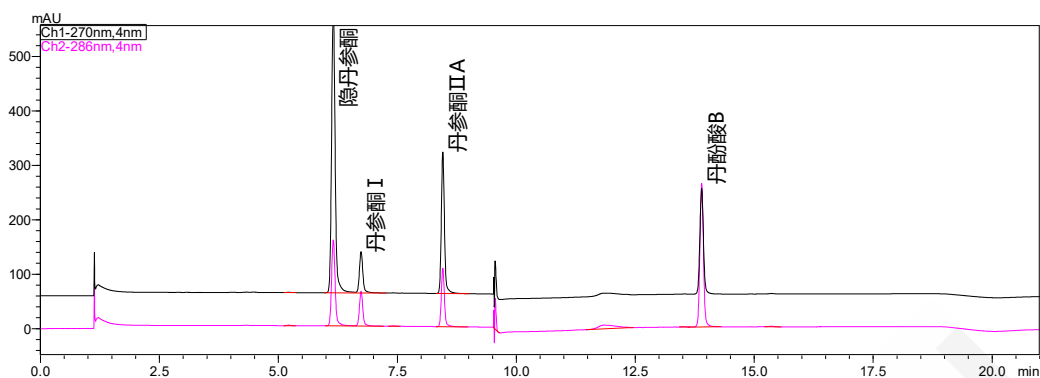


图 6. 丹参活性成分对照品的色谱图

(丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 检测波长 270 nm，浓度为 20 μg/mL；丹酚酸 B 检测波长 288 nm，浓度为 100 μg/mL)

2.3 提取条件优化

由于丹参中活性成分的极性跨度较大，必须针对不同极性的成分优化提取条件，才能保证目标成分能够有效提取，保证定量结果的准确性。本文对比了 100%甲醇、90%甲醇水溶液和 80%甲醇水溶液的提取结果，通过对比四种目标物的峰面积，选取提取效果最好的提取溶液，如图 7 所示，四种目标成分在 90%甲醇水溶液中均有良好的提取效率。

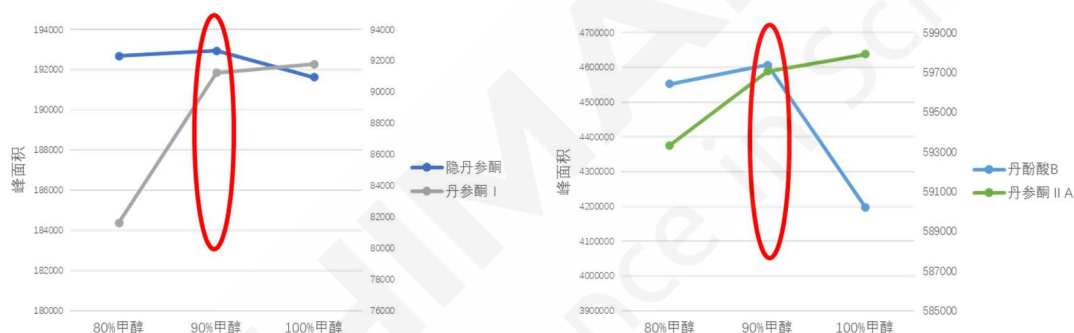


图 7. 丹参活性成分在不同提取溶液中的峰面积

2.4 方法学验证

2.4.1 重复性

按照 1.3 和 1.4 所述准备对照品溶液和供试品溶液，其中对照品溶液中丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I 的浓度为 20 μg/mL，丹酚酸 B 的浓度为 100 μg/mL。两份溶液均连续进样 6 次，计算四种成分保留时间和峰面积的重复性，并统计相对标准偏差 (RSD%)。结果表明，四种成分的保留时间的 RSD 在 0.018%-0.085%之间，峰面积的 RSD 在 0.10%-0.38%之间，说明本方法稳定性良好。

表 7. 对照品溶液和供试品溶液的重复性 (n=6)

#	成分	对照品溶液		供试品溶液	
		保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	隐丹参酮	0.085	0.27	0.052	0.38
2	丹参酮 I	0.068	0.31	0.045	0.36
3	丹参酮 II _A	0.042	0.28	0.032	0.10
4	丹酚酸 B	0.018	0.17	0.022	0.53

2.4.2 校准曲线

按 1.4 所述方法配制系列对照品混合标准溶液，以各对照品的色谱峰峰面积（y）对进样质量浓度（x，μg/mL）进行回归计算，4 种对照品的线性关系，线性回归方程及相关系数（r）如表 8 所示，4 种对照品在线性范围内线性相关性良好，相关系数 r 均在 0.999 以上。

表 8. 四种对照品的校准曲线及线性范围

#	成分	线性范围μg/mL	校准曲线	相关系数	准确度%
1	隐丹参酮	0.1-50.0	$Y = (73888.5)X + (-1200.88)$	0.9999	98.2-106.3
2	丹参酮 I	0.1-20.0	$Y = (29648.1)X + (-1131.19)$	0.9992	94.2-115.5
3	丹参酮 II _A	0.1-50.0	$Y = (63635.2)X + (-548.227)$	0.9999	99.2-103.2
4	丹酚酸 B	1.0-500.0	$Y = (12622.2)X + (333.099)$	0.9999	98.2-108.8

2.4.3 实际样品含量检测

按照上述方法，对丹参样品进行检测，平行 6 次实验，所得溶液上机分析，结果如图 8 和表 9 所示。结果显示，4 种成分的含量在 0.43 mg/g - 57.06 mg/g 之间，RSD 在 2.64%-4.31%之间。

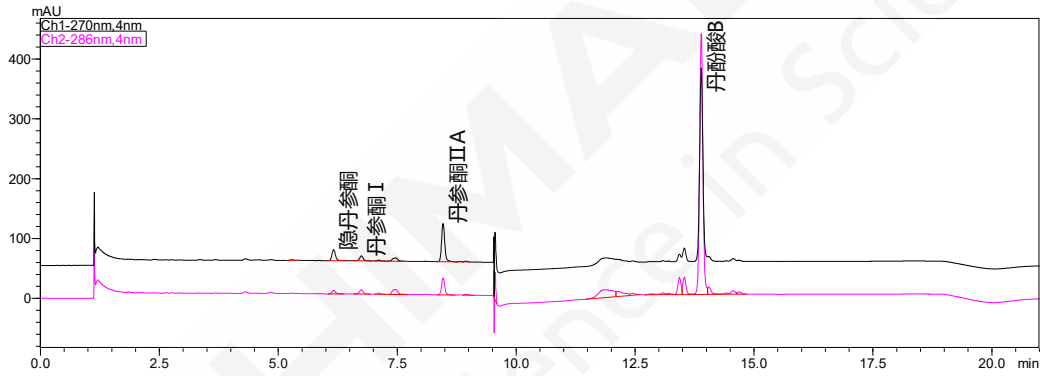


图 8. 丹参样品色谱图

(丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I，检测波长 270 nm；丹酚酸 B，检测波长 286 nm)

表 9. 丹参样品检测结果（n=6）

#	成分	含量(mg/g)	RSD(%)
1	隐丹参酮	0.43	4.21
2	丹参酮 I	0.50	3.68
3	丹参酮 II _A	1.53	3.79
4	丹酚酸 B	57.06	2.64

2.4.4 加标回收

向 2.4.3 中已测得含量的丹参样品中按照低、中、高三个浓度水平分别加入适量的对照品溶液，按照 1.4 方法制备加标样品，每个浓度水平平行 3 次实验，所得溶液上机分析，并计算回收率。实验结果显示 4 种成分的加标回收在 89.94%-117.40%之间，RSD 在 0.31%-4.99%之间。

表 10. 丹参中 4 种成分的加标回收率 (n=3)

#	成分	样品含量 mg/g	加标浓度 1			加标浓度 2			加标浓度 3		
			加标量	回收率	RSD	加标量	回收率	RSD	加标量	回收率	RSD
1	隐丹参酮	0.43	0.33	97.30	0.42	0.67	97.20	0.64	1.00	98.92	0.31
2	丹参酮 I	0.50	0.33	114.00	3.24	0.67	117.40	3.95	1.67	101.02	4.99
3	丹参酮 II _A	1.53	0.83	100.32	0.49	1.67	102.28	0.91	3.33	89.94	0.57
4	丹酚酸 B	57.06	11.67	108.80	3.08	16.67	116.43	4.00	33.33	98.87	4.39

2.5 与常规液相方法对比

根据《中药材高效液相色谱检定》中收录的丹参品种色谱图显示,按照药典标准方法,脂溶性成分需要 40 min 完成分析,而水溶性成分需要 50 min 完成分析,合计需要 90 min 的分析时间。利用全谱二维液相建立的一针分析方法,仅需 21 min 即可完成 4 种成分的同时分析,效率提升了 4.5 倍,同时分离度满足药典要求。

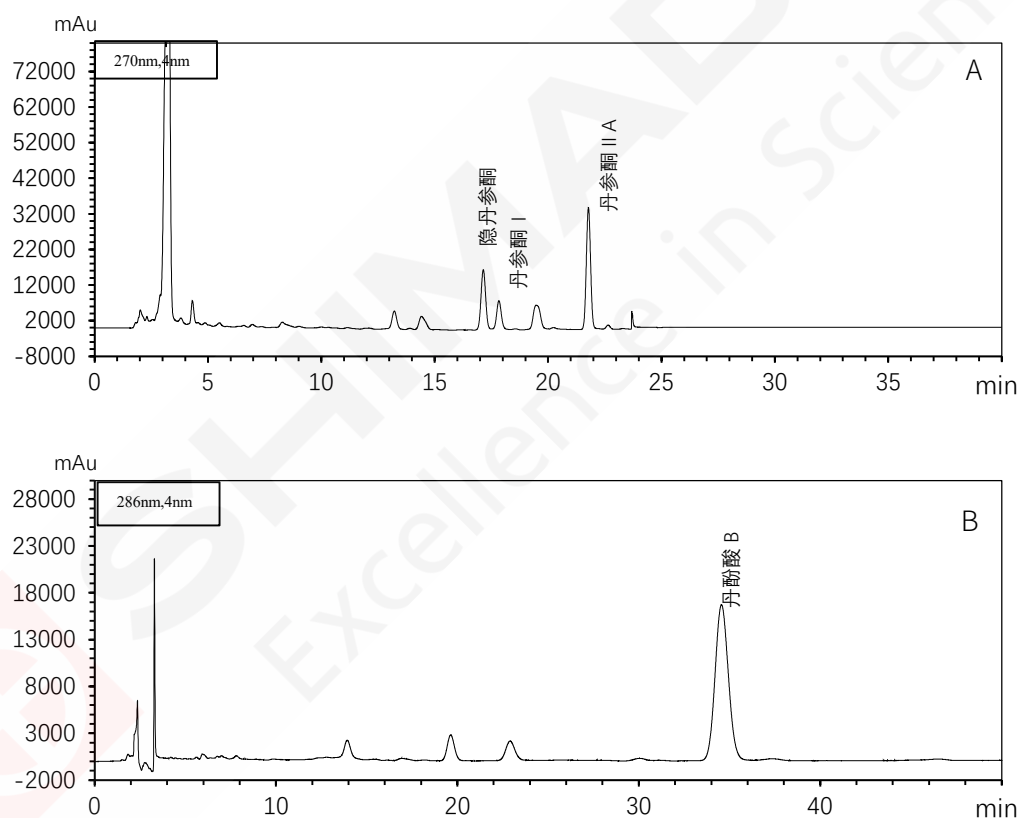


图 10. 药典中丹参品种的高效液相色谱图

(A: 丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹参酮 I, 检测波长 270 nm; B: 丹酚酸 B, 检测波长 286 nm)

3. 结论

本文利用岛津全谱二维液相系统,建立了一针进样分析丹参样品中脂溶性和水溶性活性成分的液相色谱方法。本方法仅用 21 min,不仅可以实现丹参酮 II A、隐丹参酮、丹参酮 I 和丹酚酸 B 的同时分离,同时分离度良好,满足药典要求。本方法具有分析时间短、线性范围宽、定量准确度高的优点,可用于丹参中含量测定,供相关人员参考。通过本例,展示了全谱二维液相色谱在不同极性天然产物分析中的应用。

LH-40 用于中药车前子有效成分制备分离

摘要：LH-40 是岛津集“馏分收集”与“自动进样器”一体的新型液体处理器，具有制备模拟、液面检测、样品拯救等功能。本文以分离制备中药车前子的有效成分为例，详细探讨了 LH-40 的功能与特点。实验采用反相液相色谱，使用 C18 色谱柱与 0.3%乙酸水溶液-甲醇条件，以紫外信号触发馏分收集，结果显示样品重现性好、回收率高，实现了中药车前子的快速分析和制备纯化的目的，LH-40 可用于中药等复杂样品中有效成分的准确制备。

关键词：LH-40 中药车前子 制备分离

制备液相色谱系统主要是对产品的单体进行提取和纯化，即分离、收集一种或多种色谱纯物质。随着合成、生化和制药等领域对高纯度组份的需求不断增加，制备型液相色谱仪应用的领域也在迅速的扩大发展。

LH-40液体处理器（Liquid Handler）同时兼具“自动进样器”和“馏分收集器”两种功能，作为馏分收集器，其与FRC-40相同，具操作简单，使用灵活，空间节约以及高通量等特点；作为“自动进样器”，其进样体积最大可达20 mL，可复测已接收馏分的纯度，也可通过液面探测技术自动判断样品瓶中液面高度避免空针进样。

本文利用岛津液相色谱系统结合新型液体处理器LH-40建立了针对中药车前子的快速分析和制备纯化的方法，以提升分析和制备效率。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津高效液相色谱制备系统，具体配置为：

输液泵	: LC-40D XR (含 LPGE)	系统控制器	: SIL-40
柱温箱	: CTO-40C	检测器	: SPD-40V/SPD-M20A
自动进样器	: SIL-40C XR、LH-40	液体处理器	: LH-40

- 收集器 + 自动进样器
- 自动设置峰判定条件
- 自动生成制备参数
- 自动计算延迟时间
- 完善的交叉污染抑制功能
- “样品拯救功能”
- 支持液面检测功能



图 1. LH-40 及其主要特点

1.2 分析方法转换为制备方法

制备分离前先做样品分析，供试品溶液参照《YBZ-PFKL-2021024》国家药品标准制备，减压浓缩超纯水复溶后，经0.22 μm滤膜过滤，LC进样分析。

中药样品 LC 分析条件

仪 器：Nexera XR 四元低压梯度系统
色 谱 柱：Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2 μm)，
P/N:227-30001-04，岛津（上海）实验器材有限公司
流 动 相：A-0.3%乙酸水溶液； B-0.3%乙酸甲醇溶液
流 速：0.3 mL/min
进 样 体 积：2 μL
检 测 波 长：245 nm
洗 脱 方 式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	5
0.2	Pump	B.Conc	5
8	Pump	B.Conc	60
10	Pump	B.Conc	5
15	Controller	Stop	

根据上述分析结果，色谱图如图3所示，得到待分离化合物的液相色谱保留特点，为制备方法的开发提供帮助。

利用岛津方法转换软件，可将分析条件自动生成制备方法的液相分析条件，大大节省方法优化的时间，有效提高工作效率。

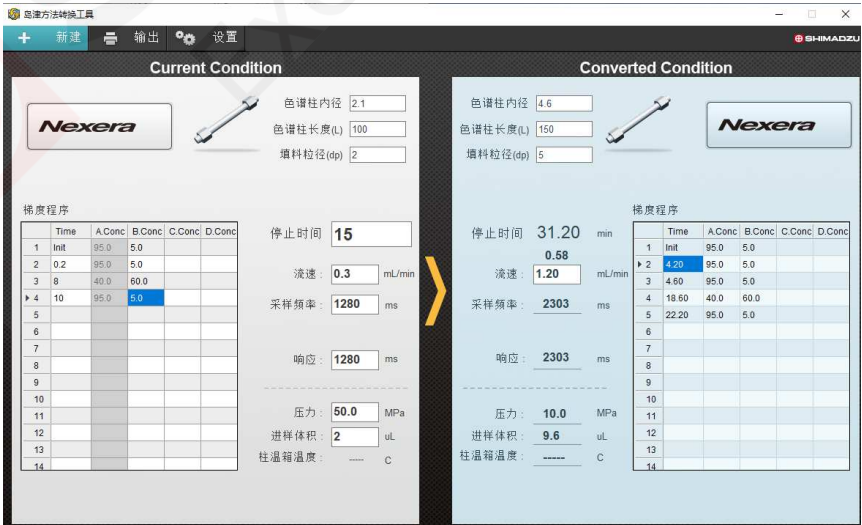


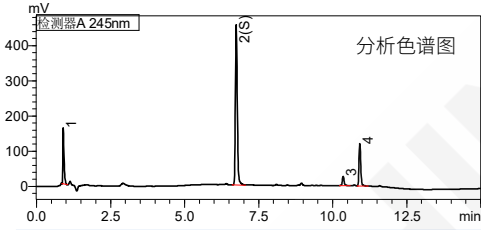
图 2. 方法转换工具

中药样品制备分析条件

仪 器：Nexera XR 四元低压梯度系统+ LH-40
色 谱 柱：Shim-pack VP-ODS (150 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm),
S/N:3082601, 岛津（上海）实验器材有限公司
流 动 相：A-0.3%乙酸水溶液； B-0.3%乙酸甲醇溶液
流 速：1.2 mL/min
进 样 体 积：10 μL
检 测 波 长：245 nm
洗 脱 方 式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 5%，时间程序见表 2。

表 2. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0	Pump	B.Conc	5
4.6	Pump	B.Conc	5
18.6	Pump	B.Conc	60
22.2	Pump	B.Conc	5
35	Controller	Stop	



*制备柱上柱量=分析柱上柱量 $\times\left(\frac{d2}{d1}\right)^2\times\frac{L2}{L1}$
制备柱流量=分析柱流量 $\times\left(\frac{d2}{d1}\right)^2$
d1：分析柱内径；d2：制备柱内径；

参照上述公式*将分析方法转化为制备方法

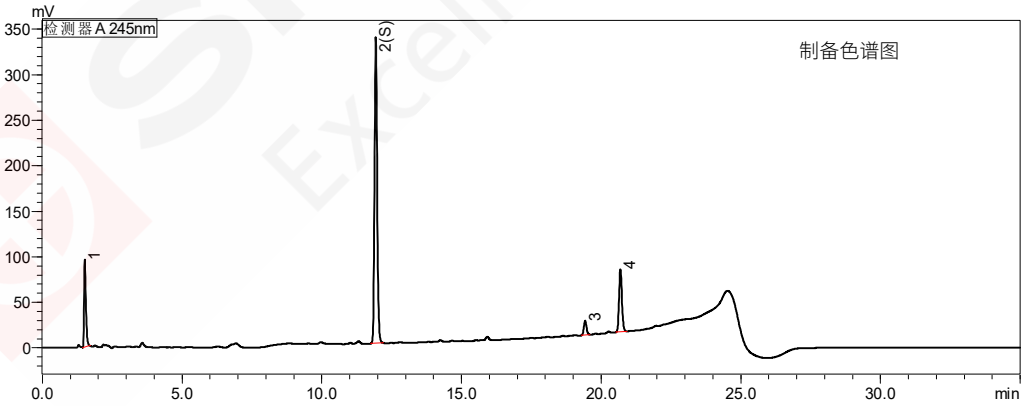


图 3. 车前子中有效成分的色谱图

[峰 2 (S)：京尼平苷酸；峰 3：毛蕊花糖苷；峰 4：异毛蕊花糖苷]

2. 结果与讨论

2.1 进样体积考察

将供试品溶液经 0.22 μm 滤膜过滤后进入制备液质系统，使用 LH-40 作为自动进样器，进样量分别为

10 μL 、30 μL 、100 μL 和 400 μL ，考察进样体积对分离的影响。分析结果显示随着进样体积的增大，极性大出峰早的化合物保留时间明显后移，因此在方法放大实验时要特别关注进样体积放大倍数对化合物保留时间的影响；以 S 峰为例，随着进样体积的增大，理论塔板数、拖尾因子、分离度均减小，但各峰峰形良好，且分离度均大于 1.5，可满足制备液相系统的分离要求。为加快分离的时间、提高制备的效率、满足规模制备纯化要求，因此选择进样量为 400 μL 时进行馏分收集。

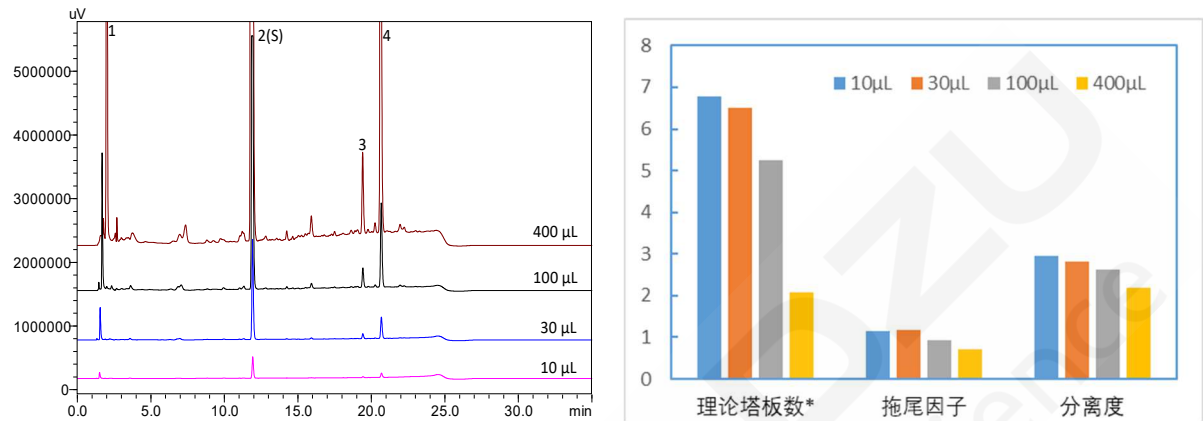


图 4. 不同进样体积对色谱分离的影响

(为便于展示，右图中*理论塔板数=实测理论塔板数 $\div$ 10000)

2.2 重复性考察

实现确定条件下的稳定重复进样-分离-收集过程，对制备分离的成功具有重要意义，尤其对于连续批处理型工作方式来说，是实现无人值守自动化运行的重要保障。LH-40 具有液面检测功能，能够智能检测液面高度并跳过剩余样品量不足的样品瓶。此外，LH-40 可在检测到样品瓶内样品量不足后停止吸液，可有效避免样品瓶内样品量较少时，可能会出现吸样不足，导致峰面积下降、重现性不佳的问题。



图 5. LH-40 液面检测功能

供试品溶液连续进样 5 次，进样量 400 μL ，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 3 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.021~0.232%和 0.054~0.385%之间，仪器精密度良好。

表 3. 重复性测试 (n=6)

名称	峰 1		峰 2 (S)		峰 3		峰 4	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	1.963	30559935	11.979	69580382	19.407	8771564	20.688	40997212
2	1.954	30672457	11.988	69756086	19.410	8777789	20.696	40988672
3	1.954	30412423	11.979	69739231	19.405	8767105	20.688	41024686
4	1.963	30416215	11.971	70007466	19.400	8767098	20.679	40953935
5	1.963	30487989	11.979	69913159	19.408	8767014	20.688	41340424
AVG	1.959	30509804	11.979	69799265	19.406	8770114	20.688	41060986
RSD/%	0.232	0.358	0.049	0.237	0.021	0.054	0.028	0.385

2.3 制备样品的纯度分析

将分离后的馏分再进样进行纯度检测，采用面积归一化法对结果进行定量分析，其中收集馏分 1、馏分 2、馏分 3、馏分 4 的纯度均大于 99%。

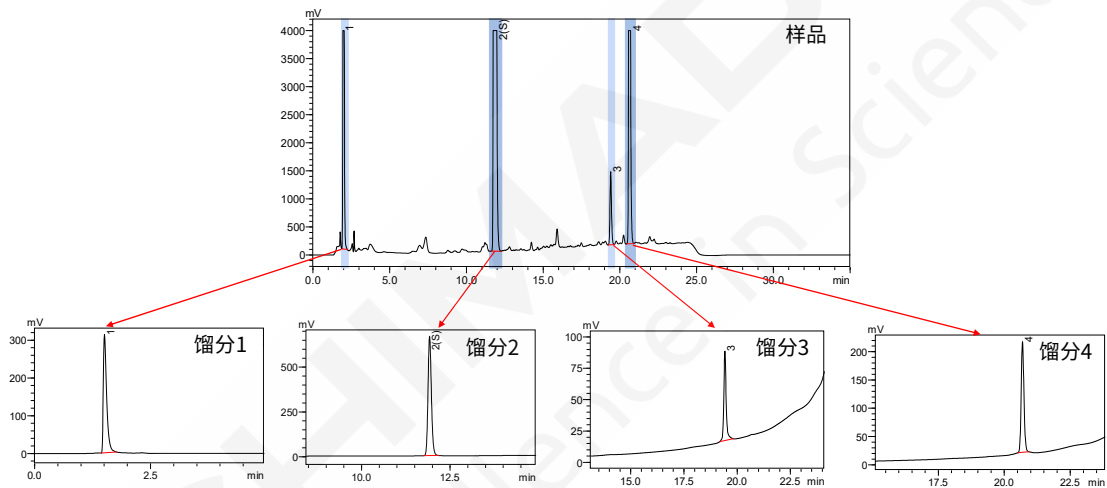


图 6. 各馏分色谱图

2.4 制备样品回收率考察

针对 S 峰进行制备回收率考察，结果如下表 5 所示，制备回收率为 97.56%，且纯度合格，满足要求。

表 5. S 峰回收率

名称	面积	回收率
Initial	5149979	N/A
Fraction	5024354	97.56%

注：回收率=Fraction 面积/Initial 面积 * 100%

Initial：取供试品溶液 400 μL 定容至 1mL，进样 30 μL

Fraction：色谱峰 2 馏分定容至 1mL，进样 30 μL

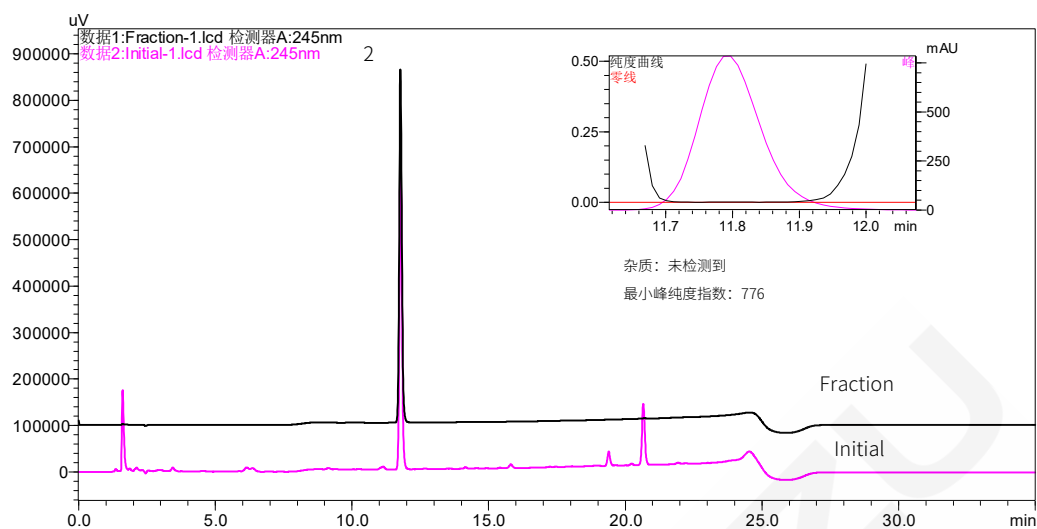


图 7. S 峰制备回收率色谱图

3. 结论

本文介绍了岛津液体处理器 LH-40 的主要功能和应用方式，并以中药车前子为例，介绍了从 HPLC 分析方法到制备方法转化的思路及一般性操作。重复性实验结果显示，色谱峰的保留时间和峰面积的 RSD% 在 0.021~0.232% 和 0.054~0.385% 之间，重复性良好。以紫外信号作为触发信号进行馏分收集，LH-40 对中药车前子的制备回收率为 97.56%，且纯度合格。LH-40 满足中药车前子制备纯化的目的，在此类物质的分离纯化领域有广阔应用前景。

LC-MSMS 法测定大鼠胆汁中人参皂苷 Rg1 及其代谢物

摘要：建立一种同时测定大鼠胆汁中的人参皂苷Rg1及其主要代谢物Rh1的超高效液相色谱串联质谱法（UHPLC-MS/MS）并用于考察灌胃给予大鼠人参皂苷Rg1后代谢及排泄情况。样品经处理后，用超高效液相色谱LC-30A快速分离人参皂苷Rg1及其主要代谢物Rh1，三重四极杆质谱仪LCMS-8040进行定量分析。使用内标法在48.75 ng/mL~39000 ng/mL、20.8 ng/mL ~2080 ng/mL浓度范围内绘制校准曲线，线性良好，相关系数为0.996以上。对高、中、低三浓度生物样品进行批次内、批次间精密度考察，RSD%在13.6以下，符合要求。灌胃给予大鼠Rg1后，有6.97%的药物以原型或代谢产物的形式通过胆汁排出体外。

关键词：人参皂苷 Rg1 药物代谢 药物排泄 超高效液相色谱串联质谱法

人参皂苷 Rg1 属于原人参三醇型皂苷，主要存在于五加科植物人参和三七中，是其皂苷活性成分之一，具有多种药理作用。该成分可在肠道内发生脱糖基化过程，在人肠道内的转化途径为 Rg1→Rh1→ Ppt，在大鼠肠道内的代谢途径为 Rg1→ Rh1(F1)→Ppt，其中 Rh1 和 F1 互为同分异构体。Rg1 的活性显著，但其口服吸收差，生物利用度较低，所以有必要建立合适的检测方法来考察 Rg1 口服后的体内代谢及排泄情况。目前已报道的检测方法有薄层色谱法和高效液相色谱法，但因为人参三醇型皂苷紫外吸收很弱，导致以上方法的灵敏度偏低。同时由于生物样本基质复杂，使得内源性干扰严重，这给 Rg1 及其代谢物在体内的准确测定造成了一定困难。为解决上述问题，本研究建立了快速、灵敏且有效，能够同时测定大鼠胆汁中的人参皂苷 Rg1 及其主要代谢物 Rh1 的 UHPLC- MS/MS 方法，并用于定量研究大鼠灌胃给予 Rg1 溶液后 Rg1 在胆汁中的代谢及排泄情况，为人参皂苷 Rg1 的进一步研究提供了参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统，配置信息如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-30AD×2	柱温箱	: CTO-30AC
自动进样器	: SIL-30AC	质谱仪	: LCMS-8040
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.51		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack XR-ODS II (75 mm x 2.0 mm I.D., 2.2 μm, 岛津(上海)实
流动相 : A-0.05%甲酸水溶液; B-0.05%甲酸乙腈溶液
进样体积 : 5 μL 柱温 : 40℃
流速 : 0.5 mL/min
洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 22%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
7.00	泵	B Conc	80
7.01	泵	B Conc	22
10.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式	: ESI(+)	雾化气流速	: 3.0 L/min
接口电压	: 4.5 kV	干燥气流速	: 15.0 L/min
D L 温度	: 250 °C	碰撞气	: 氦气
加热模块温度	: 400 °C	扫描模式	: 多反应监测(MRM)
延迟时间	: 2 ms	驻留时间	: 20 ms
M R M 参数	: 见表2		

表 2. MRM 参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
Rg1	621.4	405.5 ⁺	-30	-20	-28
		109.1	-30	-39	-19
Rh1	621.4	441.4 ⁺	-30	-10	-30
		203.3	-30	-25	-21
I.S.	345.1	97.1 ⁺	-16	-23	-17
		109.15	-16	-25	-18

*为定量离子对

1.3 药物

人参皂苷 Rg1 对照品 (批号 110703-201027), 内标丙酸睾酮 (批号 100008-200505) 购自中国药品生物制品检定所。人参皂苷 Rh1 对照品 (批号 200612), 原人参三醇 (Ppt) 对照品 (批号 200612) 由吉林大学提供, 纯度均大于 95%。

1.4 动物

SD 雄性大鼠 (SPF 级), 250~290 g, 购买于中国食品药品检定研究院实验动物资源中心, 合格证号 SCXK (京) 2009-0017; 实验前大鼠 12 h 禁食, 但自由饮水。

1.5 试剂

乙腈购自美国 Fisher 公司 (Fairlawn, NJ, USA); 实验用水由 Milli-Q Plus 水净化系统 (Millipore, Ltd.) 经去离子与二次净化制得; 甲酸 (纯度 99%, LCMS 级, Wako, Japan); 其余试剂均为分析纯, 购自北京化学试剂公司。

2. 样品前处理

2.1 对照品溶液及内标溶液的配制

精密称取约 2.0 mg 人参皂苷 Rg1、人参皂苷 Rh1、原人参三醇 Ppt 的对照品, 置于 10 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解定容, 制成 200 µg/mL 的对照品储备液, 从中取出适量溶液置 10 mL 容量瓶中, 甲醇定容,

等比稀释得到一系列不同浓度的对照品溶液；另精密称取丙酸睾酮约 1.0 mg，置于 10 mL 容量瓶中，加甲醇溶解定容，制成 100 μg/mL 的储备液，吸取 100 μL 储备液至 10 mL 容量瓶中，加入甲醇定容，制成 1 μg/mL 的内标溶液。

2.2 大鼠胆汁样品处理方法

乙醚麻醉大鼠，仰卧位腹正中紧靠剑突位置向下做小切口，在肝脏下方深处找到胆管，小心剪小口做胆管插管，并仔细固定好，待动物清醒后，参照前期药效学实验给药剂量，以 25 mg/kg 剂量灌胃给予 Rg1 水溶液，在给药后 0~3, 3~6, 6~12, 12~24, 24~36, 36~48 h 收集胆汁，13000 r/min 离心 10 min 后取上清备用。

吸取胆汁上清 50 μL，依次加入流动相溶液 100 μL、内标溶液 10 μL、萃取剂乙醚-二氯甲烷-正丁醇（2:1:1）混合溶液 1 mL，涡旋混匀 1 min，300 r/min 震荡 30 min，在 5000 r/min 下离心 5 min，静置分层，吸取上清液在 40℃氮气流下吹干，残渣用 100 μL 流动相复溶，13000 r/min 离心取上清，待分析。

3. 结果与讨论

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验

取大鼠生物样品，按 2.2 进行处理，得到空白样品图谱；将一定浓度的 Rg1、Rh1 的标准溶液和内标加入大鼠空白生物基质中，依法操作，得到相应谱图；以及大鼠给药后的实际样品谱图，上述三者相比较。结果表明，在此分析条件下，生物基质中内源性物质不干扰检测。Rg1、Rh1、内标的保留时间分别为 1.5 min、2.8 min、6.8 min。实验中发现，在某些样品中，在 2.9 min 处有未知物质出峰，推测该物质为 Rh1 的同分异构体 F1。典型色谱图如图 1。

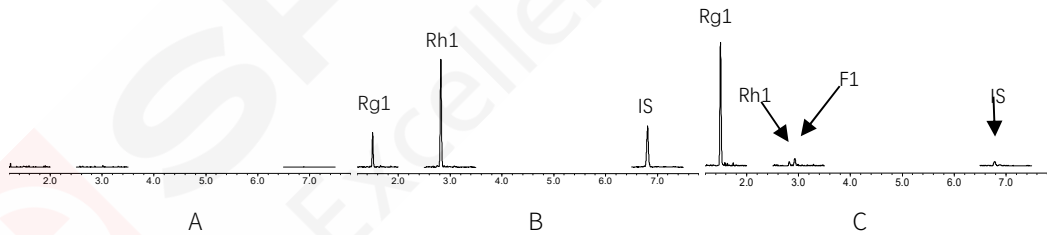


图 1. 大鼠胆汁色谱图 (A: 空白胆汁 B: 加标胆汁 C: 给药后实际胆汁)

3.1.2 线性关系考察

分别取空白生物样品，加入适量的系列浓度标准溶液，配制系列浓度的模拟生物样品。按 2.2 进行处理后进样。记录各成分与内标的峰面积比值，以浓度与峰面积比值做线性回归绘制校准曲线，结果如表 3 所示。

表 3. 各组分相关系数及检出限

生物基质	成分	回归方程	<i>r</i>	范围
胆汁	Rg1	$y=0.0003x-0.0068$	0.9955	48.75 ng/mL~39000 ng/mL
	Rh1	$y=0.011x-0.294$	0.9988	20.8 ng/mL ~2080 ng/mL

3.2 精密度及回收率试验

分别取空白生物样品，加入适量的对照品标准溶液，配制 Rg1、Rh1 低、中、高三个浓度的 QC 样品，按 2.2 进行处理后进样。每个浓度进行 5 样本分析，连续测定三批，进行回收率和精密度实验，结果见表 4，结果表明，方法的回收率、批内及批间精密度符合要求。

表 4. 精密度及回收率结果

基 成	加入量	批内精密度	RSD	批间精密度	RSD	回收率	RSD
质 分	(ng·mL ⁻¹)	($\bar{x}\pm s, n=5$)	(%)	($\bar{x}\pm s, n=3$)	(%)	($\bar{x}\pm s, n=5$)	(%)
胆 汁	97.5	93.44±8.55	9.15	108.30±14.24	13.14	95.84±8.77	9.15
	Rg1 487.5	455.32±21.22	4.66	484.43±29.62	6.11	93.40±4.36	4.66
	9750	9812.81±579.93	5.91	10649.71±1089.55	10.23	100.64±5.95	5.91
	52	52.40±4.95	9.45	61.17±8.35	13.65	100.77±9.52	9.45
	Rh1 520	534.22±21.34	3.99	527.83±23.49	4.45	102.73±4.11	3.99
	2080	2241.82±149.22	6.66	2239.51±111.24	4.97	107.78±7.18	6.66

3.3 排泄物测定结果

大鼠以 25 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃人参皂苷 Rg1 溶液后，测定不同时间段大鼠排泄物中 Rg1 与各代谢产物的含量，并用含量乘以体积后再换算成摩尔量，与总的给药摩尔量相除，得到不同时间段大鼠排泄物中 Rg1 与各代谢产物的排泄比率，结果见表 5。

表 5. Rg1 及其代谢产物在大鼠胆汁中的排泄结果 ($\bar{x}\pm s, n=5$)

时间(h)	Rg1		Rh1	
	累积排泄量	占总药量	累积排泄量	占总药量
	(μg)	(%)	(μg)	(%)
0-3	138.14±88.07	2.08±1.28	1.29±0.60	0.024±0.012
3-6	56.72±35.53	0.85±0.53	0.77±0.29	0.015±0.006
6-12	57.01±21.83	0.86±0.33	0.50±0.32	0.009±0.006
12-24	125.67±42.70	1.90±0.67	0.97±0.83	0.018±0.015
24-36	71.29±24.28	1.08±0.38	0.69±0.41	0.013±0.008
36-48	7.39±3.34	0.11±0.06	0.34±0.17	0.006±0.003
总计	456.23±173.54	6.88±2.56	4.56±1.15	0.085±0.018

4. 讨论

本文建立使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定大鼠胆汁中 Rg1 及其代谢产物的快速方法，经方法学研究表明满足样品测定要求。大鼠以 25 mg·kg⁻¹ 剂量灌胃 Rg1 后，在胆汁中可检测到原药 Rg1 及其代谢产物 Rh1，所有成分在 48 h 内排泄完全。

LC-MSMS 法检测大鼠血浆中地榆苷 I

摘 要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用技术测定SD大鼠血浆中地榆苷I的方法。SD大鼠血浆样品经乙腈直接沉淀，可在 5 min内快速、准确测定其中地榆苷I含量。本文考察了方法的线性范围、定量限、重复性、基质效应、稳定性；结果表明：地榆苷I在 0.5~200 ng/mL范围内线性良好，相关系数大于 0.998；方法定量下限为 0.5 ng/mL；LLOQ（定量下限）、低、中及高浓度QC样品连续进样 6 次，其精密度在 1.0~13.8%之间；准确度在 102.6~110.8%之间；地榆苷I LLOQ、低、中、及高浓度样品及内标基质效应因子在 98.1~106.1%之间。该方法使用高灵敏度的LCMS-8050 系统，前处理过程简单，一定程度提高了分析效率、降低成本。

关键词：地榆苷 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

蔷薇科植物地榆，传统用于结肠炎、出血、烧烫伤等；现代药理学表明其还具有抗肿瘤、抗病毒、升高白细胞、治疗心血管疾病等作用。以地榆为主要成分制成的地榆升白片，临床上主要用于放、化疗引起的白细胞减少症以及骨髓抑制。地榆升白片中地榆苷I为主要的活性成份之一，本次合作机构药代实验给药浓度较低，因此希望尽可能降低血浆中地榆苷I检测的定量限。参考文献方法¹，本文建立了一种SD大鼠血浆中地榆苷I含量快速、灵敏、简便的检测方法，以契合合作机构对于分析过程高效、低成本的需求。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置如下：

系 统 控 制 器	: CBM-20A	脱 气 机	: DGU-20A 5R
输 液 泵	: LC-30AD×2	柱 温 箱	: CTO-20A
自 动 进 样 器	: SIL-30AC	质 谱 仪	: LCMS-8050
色 谱 工 作 站	: Labsolutions Ver. 5.85		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 2.0 μm, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30001-02)

流 动 相 : A-0.05%氨水溶液; B-0.05%氨水乙腈

进 样 体 积 : 10 μL 柱 温 : 40℃

流 速 : 0.45 mL/min

进 样 方 式 : Water-Co-Injection (编辑自动进样器 Pretreatment 程序: 吸取 10 μL)

样品，再吸取 20 μ L 纯水共同进样分析，以改善地榆苷 I 色谱峰型)
洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 10%，时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	10
0.80	Column Oven	CTO.RVR*	0
0.80	Pumps	Total Flow	0.6
2.00	Pumps	Pump B Conc.	98
3.00	Pumps	Pump B Conc.	98
3.00	Pumps	Total Flow	0.6
3.01	Pumps	Pump B Conc.	10
3.10	Pumps	Total Flow	0.45
3.50	Column Oven	CTO.RVR	1
5.00	Controller	Stop	

* CTO.RVR*为柱后阀切换系统；Value 值为 0 时代表流路连接入 MS，Value 值为 1 时代表流路连接入废液瓶。

质谱条件

离子化模式：ESI(-) 雾化气流速：2.5 L/min
接口电压：-3.5 kV 加热气：8.0 L/min
D L 温度：200°C 干燥气流速：10.0 L/min
加热模块温度：400°C 碰撞气：氩气
驻留时间：20 ms 扫描模式：多反应监测(MRM)
喷针距离：2 mm M R M 参数：见表2

表 2. MRM 参数

名称	前体离子 [M-H] ⁻	产物离子 (<i>m/z</i>)	Q1 Pre Bias (V)	碰撞能量 CE(V)	Q3 Pre Bias (V)
地榆苷 I	765.35	603.30*	19.0	27.0	12.0
		585.55	22.0	51.0	20.0
甘草次酸（内标）	469.20	355.15	25.0	52.0	23.0

*代表定量离子对

1.3 标准品与试剂

地榆苷 I 标准品：购自中国药品生物制品检定所，含量 $\geq$ 98%，2~8°C保存。

甘草次酸标准品（内标）：购自中国药品生物制品检定所，含量 $\geq$ 98%，2~8°C保存。

甲醇：Merck 公司，色谱级，室温保存，有效期至 2017 年 2 月 28 日。

实验用水：由 Milli-Q Plus 水净化系统（Millipore, Ltd.）经去离子与二次净化制得。

甲酸：购自安谱公司，色谱级，纯度 98%，室温保存。

乙酸铵：购自安谱公司，色谱级，纯度 99 %，室温保存。

2. 样品前处理

2.1 对照品溶液及内标溶液的配制

地榆苷 I 标准储备液：精密称定 1.07 mg 地榆苷 I 标准品，用甲醇溶解并定容至 1 mL 混匀，至适宜容器中于 4℃冰箱保存，备用。

地榆苷 I 中间储备液：吸取地榆苷 I 标准储备液 95 μL 至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制 10.0 μg/mL 的中间储备液，至适宜容器中于 4℃冰箱备用。地榆苷 I 标准工作溶液：用甲醇配制浓度 5、10、20、50、100、200、500、1000、2000 ng/mL 地榆苷 I 标准工作液，临用前配制。

地榆苷 I 质控工作溶液：吸取适量地榆苷 I 储备液，用甲醇分别配制成浓度为 5、50、500、1000 ng/mL 质控工作液。

甘草次酸（内标）标准储备液：精密称定 1.05 mg 甘草次酸标准品，用甲醇溶解并定容至 1 mL 混匀，至适宜容器中于 4℃冰箱保存，备用。

甘草次酸（内标）中间储备液：吸取甘草次酸储备液 97 μL 至 10 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，配制 10.0 μg/mL 的中间储备液，至适宜容器中于 4℃冰箱保存，备用。

甘草次酸（内标）标准工作溶液：用甲醇配制浓度为 1000 ng/mL 标准工作液，临用前配制。

2.2 样品制备

校准曲线样品：取 SD 大鼠血浆 45 μL，加入 5 μL 标准对照工作液、10 μL 内标工作液、涡旋混合 30 s 后加入 200 μL 乙腈涡旋混合 1 min，于 14000 rpm 离心 10 min；取上层清液 150 μL，以 10 μL 进样 LC-MS/MS 分析。

质控样品：取 SD 大鼠血浆 45 μL，加入 5 μL 质控工作液（5 ng/mL、50 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL）、10 μL 内标工作液、其余处理过程同校准曲线样品。

基质样品：SD 大鼠血浆 45 μL，200 μL 乙腈涡旋混合 1 min，加入 5 μL 标准工作液（5 ng/mL、50 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL）、10 μL 内标工作液，涡旋混合 30 s 后于 14000 rpm 离心 10 min，取上层清液 150 μL，以 10 μL 进样 LC/MS/MS 分析。

工作液样品：取纯水 45 μL，加入 5 μL 标准对照工作液、10 μL 内标工作液、其余处理过程同校准曲线样品。

$$\text{基质效应(\%)} = \frac{\text{基质样品峰面积}}{\text{工作液样品峰面积}} * 100\%$$

3. 结果与讨论

3.1 标准样品一级质谱图与产物离子扫描质谱图

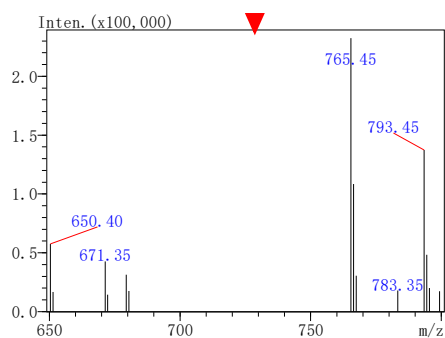


图 1. 地榆苷 I 一级质谱图

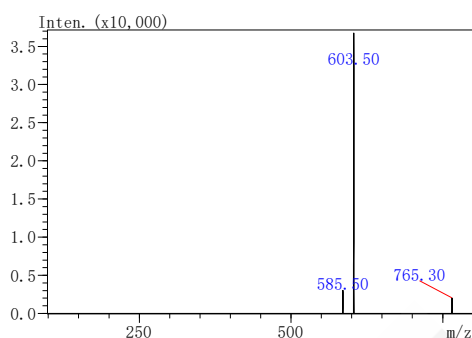


图 2. 地榆苷 I 产物离子质谱图

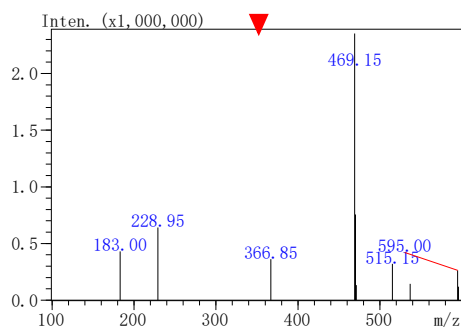


图 3. 甘草次酸一级质谱图

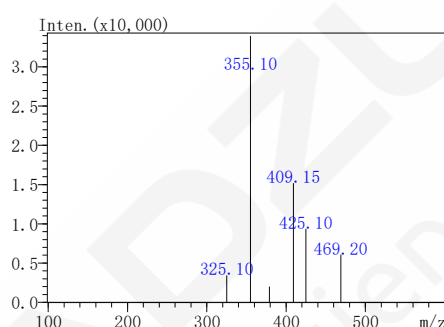


图 4. 甘草次酸产物离子质谱图

3.2 选择性

取空白 SD 大鼠血浆匀浆 50 μ L, 按照样品处理方法制备, 结果如图 5~6 所示。结果显示, SD 大鼠空白血浆中目标化合物地榆苷 I 及内标甘草次酸的通道均不干扰定量限样品的检测。

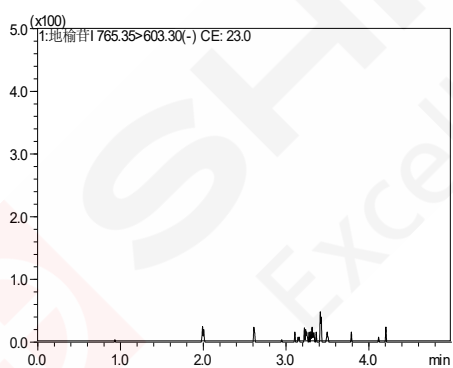


图 5. 空白血浆 MRM 谱图-地榆苷 I

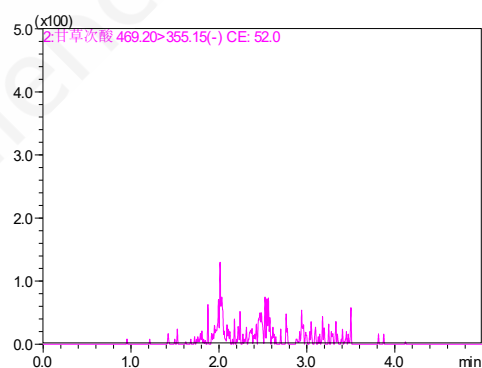


图 6. 空白血浆 MRM 谱图-甘草次酸

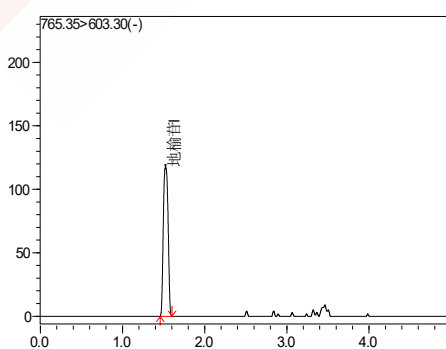


图 7. 血浆样品 MRM 谱图-地榆苷 I-STD1

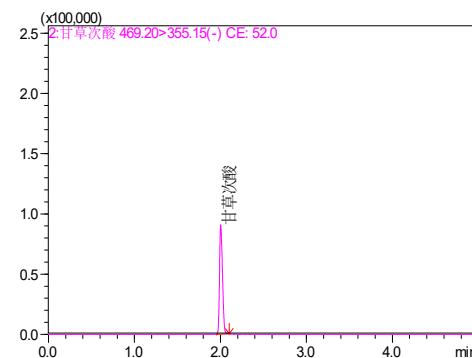


图 8. 血浆样品 MRM 谱图-甘草次酸

3.3 线性范围

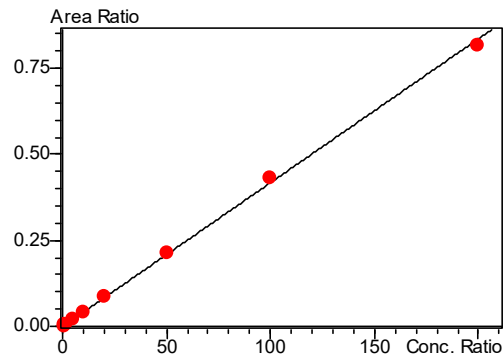


图 9. 地榆苷 I 校准曲线 (0.5~200 ng/mL)

SD 大鼠血浆配制校准曲线样品浓度分别为 0.5 ng/mL、1 ng/mL、2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL。校准曲线如图 9、10 所示，线性方程及相关系数见表 3，其中 y 值代表待测物质与内标物质峰面积的比值，x 值代表血浆中待测物质浓度比。地榆苷 I 定量限确定为 0.5 ng/mL（如图 11 所示），在此浓度水平，6 次重复分析 RSD%为 13.8%，准确度为 104.0%。

表 3. 地榆苷 I 校准曲线参数 (线性回归, 权重为 1/C²)

名称	校准曲线	线性范围(ng/mL)	准确度(%)	相关系数 r
地榆苷 I	$Y=0.00418679X-0.000701950$	0.5~200	94.1~106.9 %	0.9990

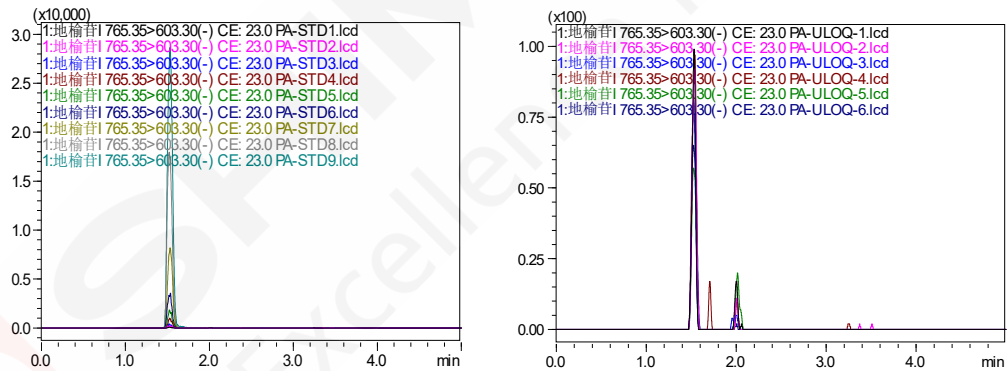


图 10. 地榆苷 I MRM 色谱图 (校准曲线汇总) 图 11. 地榆苷 I MRM 色谱图 (LLOQ 汇总, n=6)

3.4 基质效应

基质效应考察结果如表 4 所示。

表 4. 基质效应(n=3)

浓度水平	理论浓度 (ng/mL)	基质效应因子
		地榆苷 I
LLQC	0.5	98.1 %
LQC	5	106.1 %
MQC	50	100.3 %
HQC	100	98.7 %
内标基质效应因子	/	(甘草次酸)99.3 %

结果表明，地榆苷 I LLOQ、低、中、及高浓度样品及内标基质效应因子在 98.1~106.1 %之间。

3.5 精密度与准确度

考察四个浓度水平质控样品的日内精密度，结果如表 5 所示。

表 5. 方法精密度与准确度(n=6)

待测物质/样品浓度 (ng/mL)		精密度 RSD%	准确度 Accuracy%
地榆苷 I	0.5	13.8	104.0
	5	5.7	110.8
	50	1.9	105.3
	100	1.0	102.6

结果表明，地榆苷 I LLOQ、低、中、及高浓度样品精密度在 1.0~13.8%之间；准确度在 102.6~110.8%之间。

3.6 残留

在高浓度样品（STD9）后进样分析空白样品，考察地榆苷 I 与内标残留情况。结果如图 12~13。

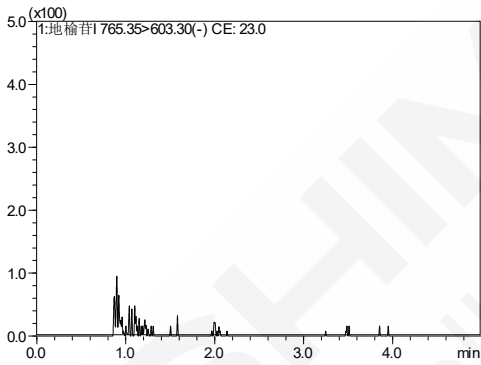


图 12. 地榆苷 I 残留考察

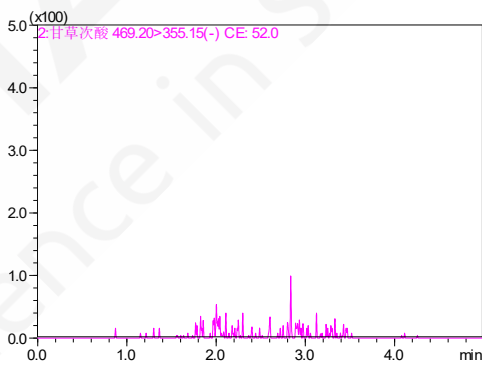


图 13. 甘草次酸（内标）残留考察

结果表明，在高浓度样品进样分析后进样分析空白样品，显示地榆苷 I 及内标物质检测通道均无目标化合物干扰。

3.7 样品处理后稳定性

考察二个浓度水平质控样品处理后于自动进样器中放置 24 h 稳定性（10℃），结果如表 6 所示。

表 6. 样品处理后稳定性(n=3)

待测物质/样品浓度 (ng/mL)		精密度 RSD%	准确度 Accuracy%
地榆苷 I	1	6.85	96.37
	100	3.91	101.64

结果表明，地榆苷 I 低及高浓度样品精密度在 3.91~10.20%之间；准确度在 96.37~101.64%之间；表明 SD 大鼠血浆样品经乙腈处理后于进样盘 10℃条件下放置 24 h 仍稳定。

4. 结论

SD 大鼠血浆样品经乙腈沉淀后,可在 5 min 内准确测定其地榆苷 I 含量。地榆苷 I 在 0.5~200 ng/mL 范围内线性良好,相关系数大于 0.999;方法定量限为 0.5 ng/mL;不同浓度 QC 样品每批次连续进样 6 次,其精密度在 1.0~13.8%之间;准确度在 102.6~110.8%之间;地榆苷 I LLOQ、低、中、及高浓度样品及内标基质效应因子在 98.1~106.1 %之间。该方法前处理过程简单、灵敏、稳定,可作为考察 SD 大鼠血浆中地榆苷 I 的方法。



LC-MS/MS 法测定大鼠粪便中盐酸小檗碱含量

摘 要：建立一种测定大鼠粪便中的盐酸小檗碱的超高效液相色谱串联质谱法（UHPLC-MS/MS）并用于考察灌胃给予大鼠盐酸小檗碱药代动力学情况。样品经处理后，用超高效液相色谱LC-30A快速分离盐酸小檗碱，三重四极杆质谱仪LCMS-8040进行定量分析。使用内标法在10 ng·mL⁻¹~1000 ng·mL⁻¹浓度范围内绘制校准曲线，线性良好，相关系数为0.9985。对高、中、低三浓度生物样品进行批次内、批次间精密度考察，RSD%在19.38以下，符合SFDA报批要求。

关键词：盐酸小檗碱 药物代谢动力学 超高效液相色谱串联质谱法

小檗碱（结构式如图 1）是一种异喹啉类生物碱，是从毛茛科黄连属植物黄连的根状茎中提取的主要有效成分，具有广谱抗菌作用，临床上一般使用其盐酸盐治疗肠道感染与腹泻。Weijia Kong 等人 2004 年报道小檗碱具有降血脂作用。动物实验及细胞实验同样证明小檗碱在降脂方面效果显著。通过进一步的机制研究发现小檗碱的降脂原理与他汀类药物并不相同：他汀类药物是通过增加 LDLR mRNA 的转录来降低血脂，而小檗碱则是通过稳定 LDLR mRNA 从而增加 LDL 受体的表达来降低胆固醇，以达到降血脂的目的。临床发现，小檗碱在血浆中的极低浓度即可产生药理活性。因此利用高效液相色谱-三重四极杆质谱（LC-MS/MS）联用技术，我们建立了一种准确、快速、灵敏的小檗碱定量方法。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A 5R
输液泵	: LC-30AD×2	柱温箱	: CTO-30A
自动进样器	: SIL-30AC	质谱仪	: LCMS-8040
色谱工作站	: Labsolutions Ver. 5.53		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱 : Shim-pack XR-ODS II (75 mm x 2.0 mm I.D., 2.2 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N:228-41623-91)

流动相 : A-0.5%甲酸水溶液; B-乙腈

进样体积 : 10 μL 柱温 : 40℃

流速 : 0.5 mL/min

洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 15%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
4.00	泵	B Conc	30
4.01	泵	B Conc	80
5.50	泵	B Conc	80
5.60	泵	B Conc	15
8.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式：ESI(+)

接口电压：4.5 kV

D L 温度：300°C

加热模块温度：450°C

延迟时间：2 ms

M R M 参数：见表2

雾化气流速：3.0 L/min

干燥气流速：15.0 L/min

碰撞气：氩气

扫描模式：多反应监测(MRM)

驻留时间：30 ms

表 2. MRM 优化参数

化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
盐酸小檗碱	336.30	320.00 [*]	-15.0	-31.0	-21.0
		292.05	-15.0	-31.0	-30.0
I.S.	352.30	336.10 [*]	-16.0	-29.0	-22.0
		308.10	-16.0	-28.0	-20.0

*为定量离子对

1.3 药物

盐酸小檗碱购自 J&K Scientific Ltd，内标巴马汀购自中国食品药品检定研究院，纯度均大于 98%。

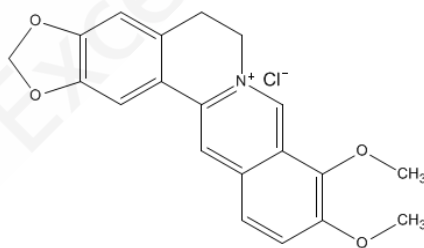


图 1. 盐酸小檗碱结构式

1.4 动物

SD 雄性大鼠 (SPF 级)，250~290 g，购买于中国食品药品检定研究院实验动物资源中心，合格证号 SCXK (京) 2009-0017；实验前大鼠 12 h 禁食，但自由饮水。

1.5 试剂

乙腈购自美国 Fisher 公司 (Fairlawn, NJ, USA)；实验用水由 Milli-Q Plus 水净化系统 (Millipore, Ltd.) 经去离子与二次净化制得；甲酸 (纯度 99%，LCMS 级，Wako, Japan)；其余试剂均为分析纯，购

自北京化学试剂公司。

2. 样品前处理

2.1 对照品溶液及内标溶液的配制

精密称取 5 mg 盐酸小檗碱对照品，置于 50 mL 容量瓶中，加甲醇溶解定容，配制成 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的对照品储备液，从中取出 100 μL 溶液置 10 mL 容量瓶中，以甲醇定容后倍比稀释得到一系列不同浓度的对照品溶液 0.5, 1.5, 10, 50, 100, 500 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ；另精密称取盐酸巴马汀，以甲醇配制成 $250\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标溶液。

2.2 校准曲线与质控样品的配制

取 SD 大鼠干燥粪便，按 1:50 ($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 加入甲醇，浸泡 90 min，超声 30 min，取上清液 100 μL ，加入盐酸小檗碱系列溶液 10 μL ，加入内标 ($250\ \text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 盐酸巴马汀甲醇溶液) 10 μL ，配制成相当于粪便浓度为 10, 50, 100, 200, 500, 1000 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，按“生物样品处理”项下操作，记录盐酸小檗碱与内标的峰面积，以浓度为横坐标，峰面积比值为纵坐标，绘制标准曲线。

2.3 大鼠粪便样品处理方法

取 SD 大鼠干燥粪便，按 1:50 (g/mL) 加入甲醇，浸泡 90 min，超声 30 min，去上清液 100 μL ，加入 10 μL 内标 ($250\ \text{ng/mL}$ 盐酸巴马汀甲醇溶液)，加入 50 μL 0.5 M 氢氧化钠水溶液，涡旋混匀 1 min；加入 100 μL 水和 1 mL 乙酸乙酯，涡旋混匀 2 min，5000 rpm 离心 5 min，分离上清液于 40°C 氮气流吹干，残留物以 100 μL 流动相 (乙腈-0.5% 甲酸水溶液=1:4 v:v) 复溶，离心取上清，10 μL 进行 LC-MS/MS 分析。

3. 结果与讨论

3.1 方法学考察

3.1.1 专属性试验

选择性是通过对大鼠空白粪便 ($n>6$) 的检测进行验证的。所有样品的结果表明生物基质不干扰待测物的测定。正离子、多反应检测模式下，典型的多反应检测图谱如图 2，盐酸小檗碱与巴马汀的保留时间均为 3.7 min。

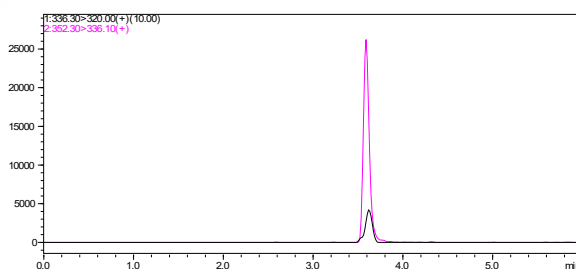


图 2. 大鼠粪便 $10\ \text{ng/mL}^{-1}$ 色谱图

3.1.2 线性关系考察

分别取空白生物样品，加入适量的系列浓度标准溶液，配制系列浓度的模拟生物样品。按 2.3 进行处理后进样。记录各成分与内标的峰面积比值，以浓度与峰面积比值做线性回归绘制校准曲线，结果如表 3 所示。

表 3. 线性结果

基质	回归方程	r	范围
粪便	$y=0.0062x+0.059$	$r=0.9985$	10 ng/mL ~1000 ng/mL

3.1.3 精密度及回收率试验

分别取空白生物样品，加入适量的对照品标准溶液，配制低、中、高三个浓度的 QC 样品，按 2.3 进行处理后进样。每个浓度进行 5 样本分析，连续测定三批，进行回收率和精密度实验，结果见表 4，结果表明，方法的回收率、批内及批间精密度符合要求。

表 4. 精密度及回收率结果

基质	加入量 (ng·mL ⁻¹)	批内精密度	RSD	批间精密度	RSD	回收率
粪便	10	11.66±1.06	8.82	10.81±2.10	19.38	73.26
	100	110.15±5.47	4.96	106.54±7.06	6.62	70.89
	500	526.98±26.28	4.99	521.82±36.51	7.00	71.36

3.1.4 稳定性

对粪便甲醇溶液样品进行室温放置 24 h 和 4℃放置 24 h，按 2.2 制备盐酸小檗碱浓度为 10, 100, 500 ng·mL⁻¹ 的样品，进行 5 样本分析；同时制备 QC 样品。通过与内标峰面积比值计算稳定性，结果如下表。结果表明，盐酸小檗碱在粪便甲醇溶液中室温放置 24 h 和 4℃放置 24 h 条件下稳定性良好。如表 5。

表 5. 大鼠粪便中盐酸小檗碱的稳定性 (n=5)

盐酸小檗碱浓度 (ng/mL)	10	100	500
室温放置 24 h (%)	93.51	103.50	100.18
4℃放置 24 h (%)	102.73	100.67	98.83

3.1.5 基质效应

SD 大鼠空白粪便甲醇溶液样品，除不加系列标准溶液和内标外，按 2.2 操作，用萃取后的上清液制备浓度为 10, 100, 500 ng·mL⁻¹ 的样品，每个浓度 5 样本分析。另以复溶样品的流动相配制浓度为 10, 100, 500 ng·mL⁻¹ 的样品，每个浓度 5 样本分析。以前者处理后样品测得的峰面积与后者流动相直接配制样品测得的峰面积相比，考察样品的基质效应，结果如下表。盐酸小檗碱在粪便甲醇溶液中不受基质干扰。如表 6。

表 6. 大鼠粪便中盐酸小檗碱的基质效应结果 (RE%, n=5)

盐酸小檗碱浓度 (ng·mL ⁻¹)	10	100	500
基质效应(%)	106.67	91.44	93.96

3.2 粪便测定结果

对4只大鼠进行灌胃，口服给药方式下盐酸小檗碱浓度为 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。利用LC-MS/MS对粪便中盐酸小檗碱及巴马汀的浓度进行分析记录。结果见表7。

表7. SD大鼠盐酸小檗碱粪便排泄结果

时间(h)	粪便排泄量 (μg)	粪便排泄率 (%)
0~6	0.35 ± 0.18	0.0008 ± 0.0004
6~12	2983.99 ± 851.33	8.06 ± 2.27
12~24	3849.56 ± 775.20	10.37 ± 1.97
24~36	513.53 ± 127.11	1.22 ± 0.37
36~48	113.97 ± 50.16	0.74 ± 0.45
总计	7037.41 ± 955.99	19.05 ± 2.37

4. 讨论

本文建立使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定大鼠粪便中盐酸小檗碱的快速方法，经方法学研究表明线性、精密度、灵敏度均满足样品测定要求。大鼠口服 $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 盐酸小檗碱，经 48 小时，大量小檗碱经粪便排泄，排泄率为 $19.05\%\pm2.37$ 。

3.3.2 药学研究

根据《中药新药研究各阶段药学研究技术指导原则(试行)》相关要求, 中药新药药学研究应遵循三个原则, 即遵循中医药理论指导、符合中药特点及研发规律、践行全生命周期管理, 促进中药传承与创新, 保证药品安全、有效、质量可控。

同时, 该指导原则也强调针对不同的新药研发阶段应开展有针对性的研究。具体要求如下:

研究阶段	项目	药学研究重点关注内容
申请临床试验	处方药味及其质量	明确药材的基原、药用部位、质量要求、饮片的炮制方法及质量标准等。关注药材的产地、采收期。
	剂型及制备工艺	进行剂型选择、工艺路线及主要工艺参数研究, 明确剂型和制备工艺。
	质量研究及质量标准	对中药新药用药材/饮片、中间体、制剂及辅料开展质量控制研究, 建立质量标准。重点对影响安全性的质控项目进行研究, 如毒性成份及其控制。
	稳定性研究	进行初步稳定性研究, 选择适宜的直接接触药品的包装材料/容器, 研究确定贮藏条件, 保证临床试验用样品的质量稳定。
III期临床试验前	处方药味及其质量	对处方中药材的产地、采收期及产地加工、生产方式(野生、种植养殖、其他方式)、贮藏方法和条件等对药材质量影响的系统研究。
	剂型及制备工艺	完成规模化生产研究, 固定生产工艺并明确详细的工艺参数。
	质量研究及质量标准	继续开展质量研究和质量标准完善工作。
	稳定性研究	继续进行稳定性研究, 保证确证性临床试验用样品的质量稳定。
申请上市许可	处方药味及其质量	根据前期研究结果, 固定药材基原、药用部位、产地、采收期、加工方法及饮片炮制工艺参数等。
	剂型及制备工艺	建立生产过程的控制指标, 完成商业规模的生产工艺验证。
	质量研究及质量标准	构建完善的药材/饮片、中间体、制剂及辅料、直接接触药品的包装材料/容器的质量标准体系, 实现药品全过程质量控制。
	稳定性研究	根据生产规模样品的稳定性考察结果, 确定有效期及贮藏条件。
	直接接触样品的包装材料/容器	所用直接接触样品的包装材料/容器应符合关联审评审批相关要求。
上市后研究	全过程质量控制体系	继续加强质量控制研究, 建立药材种植《养殖》饮片炮制、制剂生产的全过程质量控制体系。
	上市后变更研究	不断积累生产和临床使用相关数据, 关注药品有效性、安全性及质量可控性。

HPLC-ICPMS法测定安宫牛黄丸中的无机砷

摘要：本文建立了使用岛津高效液相色谱LC-20Ai和电感耦合等离子体质谱ICPMS-2030联用分离测定安宫牛黄丸中无机砷的方法。该方法线性相关系数良好， $r>0.9996$ ，加标回收率在102~106%之间，重现性RSD<3%，检出限低，三价砷和五价砷的检出限分别为0.17 $\mu\text{g/L}$ 和0.14 $\mu\text{g/L}$ ，可满足安宫牛黄丸中无机砷含量的分析需求。

关键词：中国药典 安宫牛黄丸 无机砷 HPLC-ICPMS

砷是自然界中常见的有毒致癌性元素之一，在其多种存在形态中，以亚砷酸（As（III））和砷酸（As（V））形态存在的无机砷是毒性最大的，而有机砷多为毒性微小甚至无毒的。

安宫牛黄丸是我国传统药物中久负盛名的急症用药，也是清热开窍的代表方剂，与紫雪丹、至宝丹并称为“中医温病凉开三宝”，并奉为“三宝”之首。在其处方之中，需要加入一定量的雄黄（主含二硫化二砷 As_2S_2 ），而砷为毒性元素，因此，药品中的可溶性砷元素的含量和以无机形态存在的剧毒砷含量对药品的安全性起着至关重要的影响。

本文采用高效液相色谱 LC-20Ai 对多种不同形态砷进行分离之后，使用岛津 ICPMS-2030 准确定量分析了无机砷的含量。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 LC-20Ai 高效液相色谱仪，岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

1.2 对照品

砷酸、亚砷酸、一甲基砷、二甲基砷和砷甜菜碱购于国家标准物质中心

1.3 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液（1+1）浸泡24小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用乙二胺四乙酸二钠为ACS级，碳酸氢铵为LC-MS级，磷酸二氢铵为优级纯，实验用水为超纯去离子水。

1.4 样品前处理

取安宫牛黄丸适量，剪碎并混匀，取约 0.3 g，精密称定，置 250 mL 塑料容量瓶中，加入人工肠液至刻度，摇匀，密塞，称定重量，置 37°C 水浴中超声处理 2 小时（每隔 30 分钟充分摇匀一次），取出，放冷，再称定重量，用人工肠液补足减失的重量，摇匀立即取适量至 50 mL 塑料离心管中，静置 20~24 小时，用洗耳球轻轻吹开上层表面溶液，吸取中层溶液约 15 mL 用微孔滤膜（10 μm ）滤过，精密量取滤液 5 mL，置于 10 mL 塑料量瓶中，加水稀释至刻度，摇匀，继续量取供试品溶液 1 mL 至 10 mL 塑料容量瓶

中，加 0.02 mol/L 乙二胺四乙酸二钠溶液稀释至刻度，摇匀待测。

1.5 色谱条件

色 谱 柱： Hamilton PRP-X100 (250 x 4.1mm I.D., 10 μm)
流 动 相： A-30 mmol/L磷酸二氢铵，2 mmol/L乙二胺四乙酸二钠 (pH 8.0) B-2 mmol/L碳酸氢铵 (pH 9.0)
流 速： 1.5 mL/min
柱 温： 40°C
进 样 量： 20 μL
洗 脱 程 序： 梯度洗脱 (梯度程序如下表)

表1 梯度程序

Time	Flow	A.Conc	B.Conc
0.00	1.50	0.0	100.0
1.30	1.50	0.0	100.0
1.70	1.50	100.0	0.0
6.30	1.50	100.0	0.0
7.00	1.50	0.0	100.0
8.00	1.50	0.0	100.0

1.6 质谱条件

等离子体参数：

高 频 功 率： 1.20 kW 等 离 子 体 气 流 速： 8.0 L/min
辅 助 气 流 速： 1.10 L/min 载 气 流 速： 0.70 L/min
炬 管 类 型： Mini 雾 化 器 类 型： 同轴
雾 化 室： 旋流 雾 化 室 温 度： 5 °C
采 样 深 度： 5.0 mm 高 频 频 率： 27.12 MHz

碰撞池参数：

碰 撞 气 种 类： He 碰 撞 气 流 速： 6.0 mL/min
池 电 压： -21 V 能量过滤器电压： 7.0 V

2. 结果与讨论

2.1 对照品溶液配制

分别精密吸取亚砷酸和砷酸对照品储备溶液适量，加 0.02 mol/L 乙二胺四醋酸二钠溶液制成每 1 mL 含各 1.25 ng、5.0 ng、12.5 ng、25 ng、50 ng (均以砷计) 系列浓度的溶液，摇匀即得。同时配制相同介质的砷酸 (As(V))、亚砷酸 (As(III))、一甲基砷 (MMA)、二甲基砷 (DMA) 和砷甜菜碱 (AsB) 等 5 种形态砷单标，用于定性分析。

2.2 形态砷校准曲线如下：

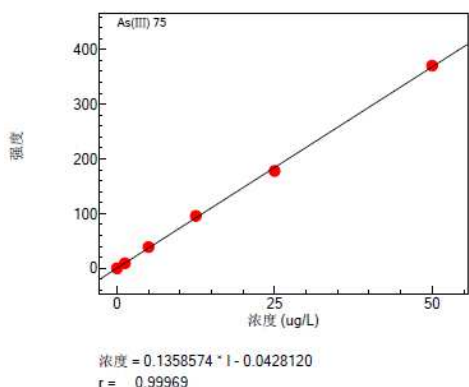


图1. As(III)的校准曲线

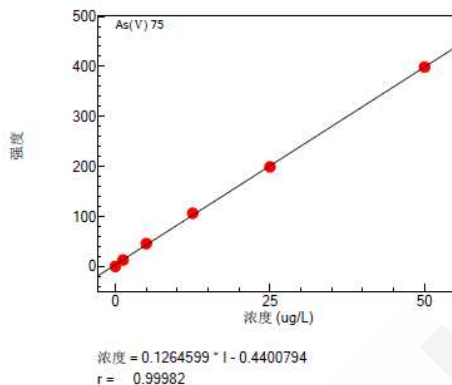


图2. As(V)的校准曲线

2.3 形态砷色谱图

选用Hamilton PRP-X100色谱柱，在磷酸二氢铵、乙二胺四乙酸二钠和碳酸氢铵的流动相体系下，采用梯度洗脱的方式进行5种形态砷的分离，6 min以内即可达到各形态完全分离，确保了实际样品分析过程中不会造成假阳性检出。图3为所选色谱体系下，以ICPMS-2030作为检测器、进样量20 μ L时部分样品的5种砷形态色谱分离图。

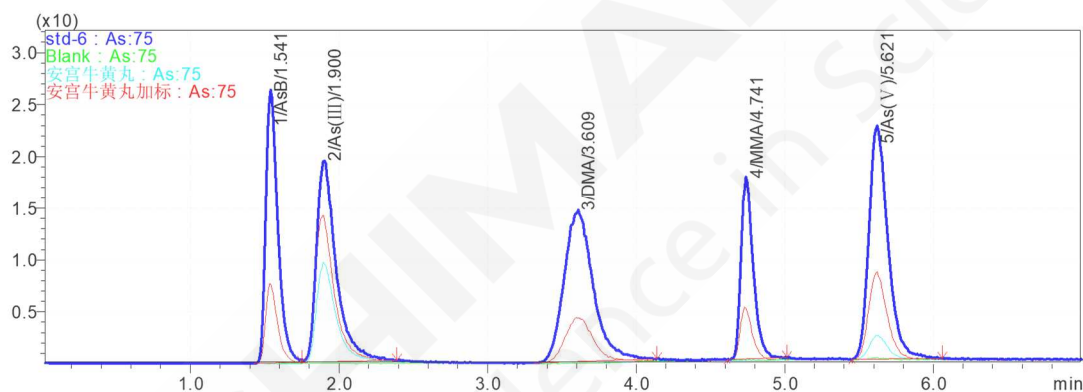


图 3. 5 种形态砷的色谱图

2.4 检出限考察

在进样体积为 20 μ L 时，对标准溶液样品 STD2 考察亚砷酸和砷酸的信噪比，折算信噪比 $S/N=3$ 时检出限以及 $S/N=10$ 定量限，结果如下：

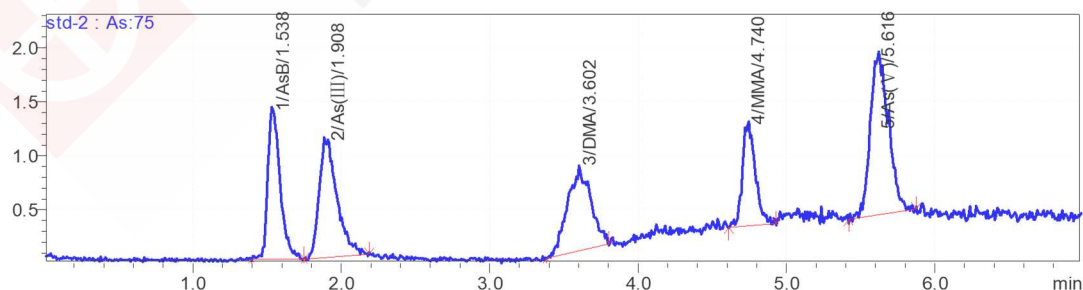


图 4. 标准溶液 STD2 的色谱图

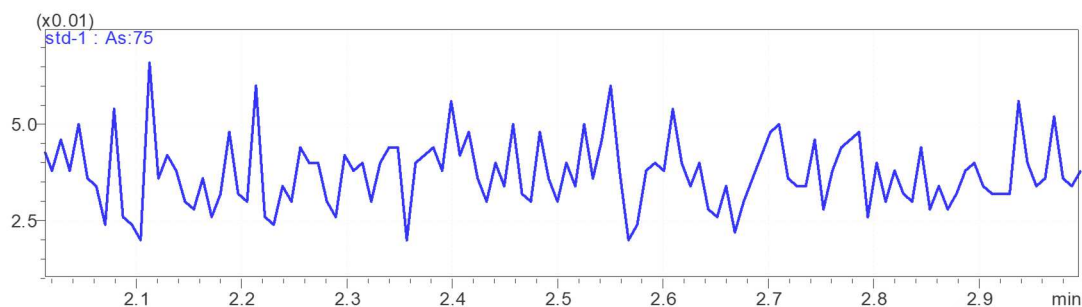


图 5. 基线考察

表 2. 灵敏度考察结果

名称	仪器检出限 ($\mu\text{g/L}$)	仪器定量限 ($\mu\text{g/L}$)
As(III)	0.17	0.57
As(V)	0.14	0.47

2.5 样品分析结果

使用 HPLC 分离 5 种形态砷，ICPMS-2030 测定安宫牛黄丸中无机砷的含量，并进行加标回收率实验。同一样品重复进样 3 针考察测量重复性。实验结果见表 3。

表 3. 安宫牛黄丸样品分析结果

砷形态	测定结果 ($\mu\text{g/L}$)	加标量 ($\mu\text{g/L}$)	加标后测定值 ($\mu\text{g/L}$)	加标回收率 (%)	RSD (n=3) (%)
As(III)	12.2	5.0	17.3	102	1.53
As(V)	3.42	5.0	8.71	106	2.15

3. 结论

本文将高灵敏度的 ICPMS-2030 与岛津高效液相色谱 LC-20Ai 联用，利用阴离子交换谱分离的机理，建立了快速测定安宫牛黄丸样中无机砷的分析方法。将所建立方法应用于安宫牛黄丸样中的无机砷分析，分析结果线性相关系数良好， $r>0.9999$ ，加标回收率良好，方法准确、可靠。该方法具有灵敏度高，检出限低，易于操作的特点，为安宫牛黄丸样品中的无机砷分析测定提供了参考。

偏最小二乘法建立血府逐瘀胶囊中芍药苷近红外定量模型

摘要：采用偏最小二乘法（PLS）建立测定血府逐瘀胶囊中芍药苷含量的近红外（NIR）光谱定量分析模型。应用多种光谱预处理方法分别对血府逐瘀胶囊固体粉末样品的NIR光谱进行预处理，并采用预处理后的光谱建立定量分析模型，结果表明定量分析模型稳健性好和测定精度高，在中药有效成分定量分析方面有很好的应用前景。

关键词：偏最小二乘法 近红外光谱 定量模型

血府逐瘀胶囊由桃仁、红花、赤芍、川芎、枳壳、柴胡等 11 味中药制成，具有活血祛瘀，行气止痛之功效。用于气滞血瘀所致的胸痹、头痛日久、痛如针刺而有定处、内热烦闷、心悸失眠、急躁易怒。

血府逐瘀胶囊中芍药苷的常规测量方法为高效液相色谱法，该方法通常需要经过超声波等方法进行提取，前期预处理非常繁琐、费时。近红外光谱（NIR）技术具有方便、快捷、无前期预处理、无污染、无破坏性等众多优点，然而 NIR 光谱有效信息率低，对复杂样品进行 NIR 光谱分析需从复杂、重叠、变动的光谱中提取微弱信息，非常困难。偏最小二乘法（PLS）由于具有较强的提供信息的能力而成为化学计量学中最受推崇的多变量校正方法，目前是最有效的分析方法之一，它从自变量矩阵和因变量矩阵中提取偏最小二成分，有效地降维，并消除自变量间可能存在的复共线关系，明显改善数据结果的可靠性和准确度。

本文采用近红外光谱结合偏最小二乘法建立测定血府逐瘀胶囊中芍药苷含量的定量分析模型，具有较高的预测精度，为中药中有效成分含量的测定提供一种新方法。

1 实验方法

1.1 仪器

岛津 IRTracer-100 傅里叶红外光谱仪

岛津近红外 NIR Kit

PIKE 近红外积分球

1.2 仪器条件及参数

波长范围：3800~12500 cm^{-1}

分辨率：8 cm^{-1}

扫描次数：64

1.3 光谱采集

采用傅里叶变换近红外光谱及近红外积分球采集 13 种不同浓度血府逐瘀胶囊样品的近红外光谱，每个样品取平行样品并扫描 3 次光谱曲线。对采集数据进行多元散射校正、平均值归一化等必要预处理，结果见图 1。

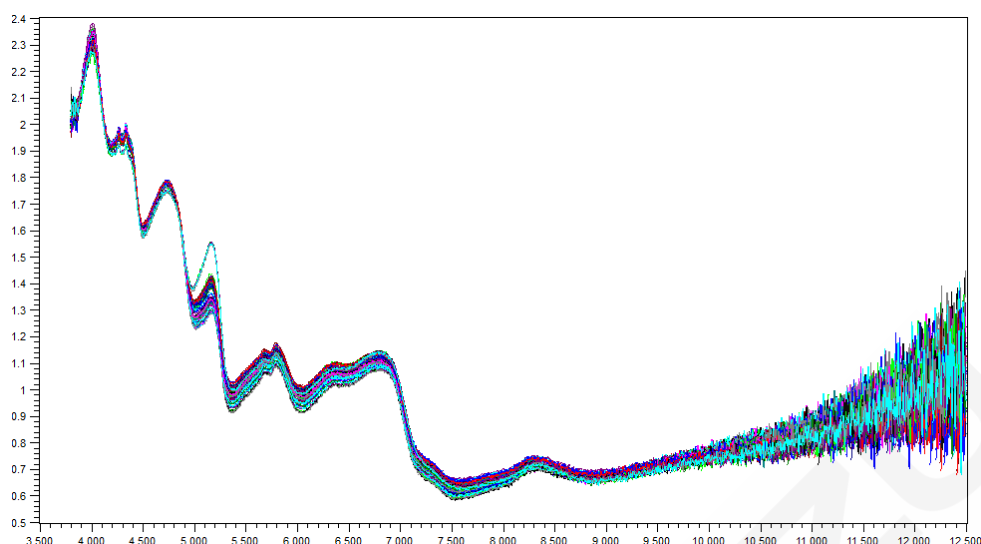


图 1. 血府逐瘀胶囊样品近红外图谱

2. 结果讨论

2.1 变量选择

从全部数据中通过变量重要性投影 VIP (PLS) 法提取与回归建模属性相关性高，预测能力强的数据特征，简单来说即是从无信息或干扰信息中挑选出对建模有用的信息（变量）。图 2 中共选出 425 个变量（阈值=1）。

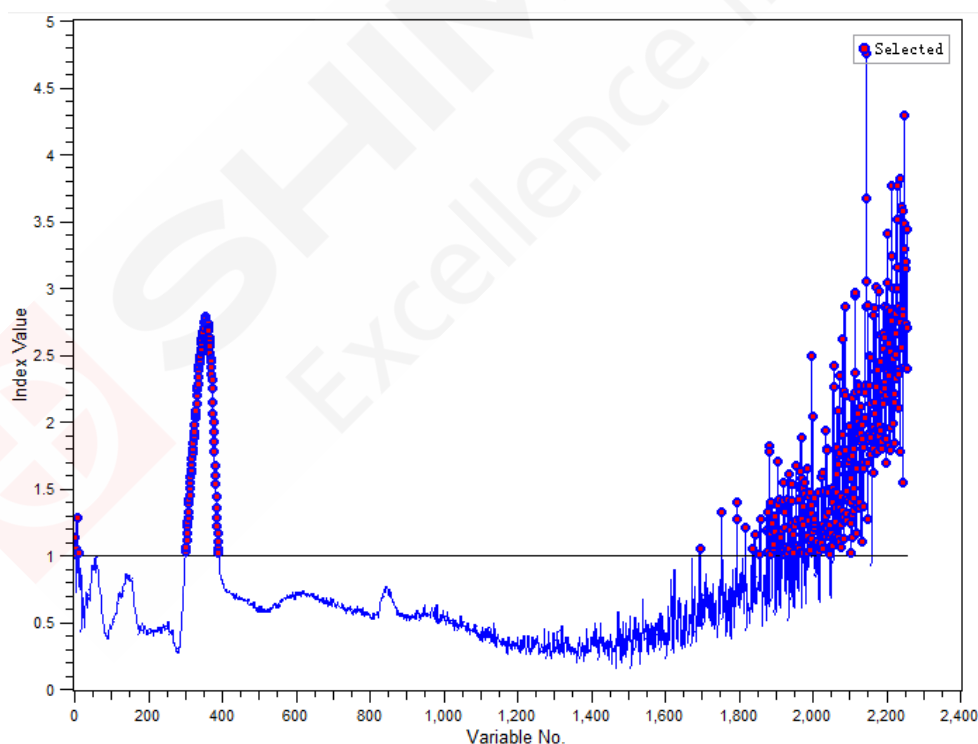


图 2. 变量选择-VIP (PLS)

2.2 模型优化

选择最大潜在变量 10，自动推荐主成分为 6。其中预测均方根误差 (RMSEP) 最小，说明预测能力较强，相关系数相对较高，说明拟合度较好。

	Prediction	R2Y	Q2Y	PRESS	RMSEP	Bias	SEP	Slope	Offset	Correlation
PCs		1	2	3	4	5	6	7	8	9
PC 1	1	0.4258575...	0.3837817...	0.0672910...	0.0293718...	-0.000257...	0.0295608...	0.4049528...	0.1247027...	0.6203839...
PC 2	2	0.6732771...	0.5632607...	0.0476919...	0.0247272...	-0.000776...	0.0248749...	0.5739117...	0.0887022...	0.7509127...
PC 3	3	0.8878905...	0.7137245...	0.0312612...	0.0200196...	-0.001695...	0.0200768...	0.6771611...	0.0661005...	0.8474158...
PC 4	4	0.9626288...	0.7565558...	0.0265840...	0.0184613...	-0.002426...	0.0184196...	0.7357620...	0.0530637...	0.8727196...
PC 5	5	0.9816090...	0.7884086...	0.0231057...	0.0172112...	-0.002323...	0.0171640...	0.7578155...	0.0485347...	0.8910147...
PC 6	6	0.9908086...	0.7962570...	0.0222487...	0.0168890...	-0.002294...	0.0168407...	0.7662478...	0.0467932...	0.8953073...
PC 7	7	0.9959470...	0.7911861...	0.0228024...	0.0170979...	-0.002529...	0.0170191...	0.7702032...	0.0457273...	0.8925442...
PC 8	8	0.9981502...	0.7866396...	0.0232989...	0.0172830...	-0.002524...	0.0172083...	0.7683607...	0.0461195...	0.8898831...
PC 9	9	0.9989679...	0.7859164...	0.0233779...	0.0173123...	-0.002496...	0.0172422...	0.7687547...	0.0460645...	0.8893790...
PC 10	10	0.9994995...	0.7859039...	0.0233792...	0.0173128...	-0.002483...	0.0172446...	0.7679281...	0.0462514...	0.8893715...

图 3. 预测诊断数据表

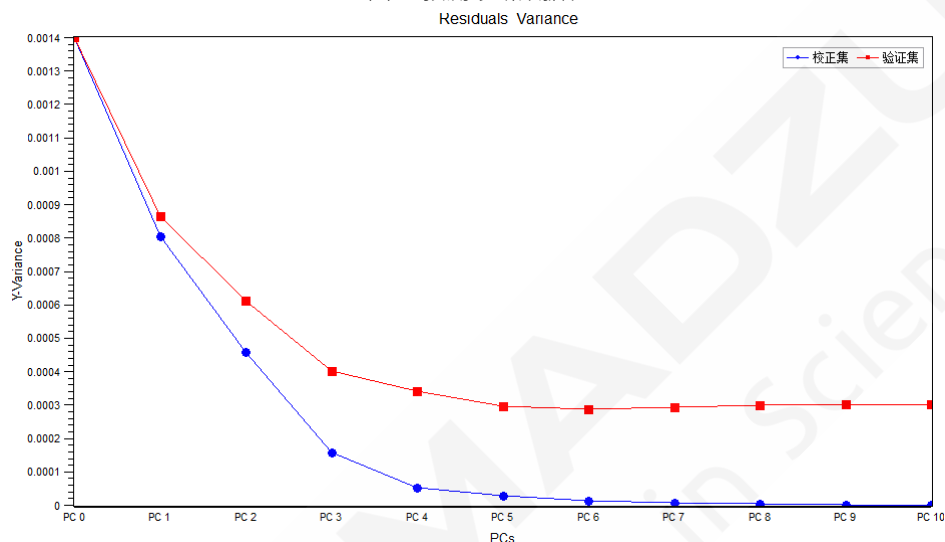


图 4. 残差方差分析

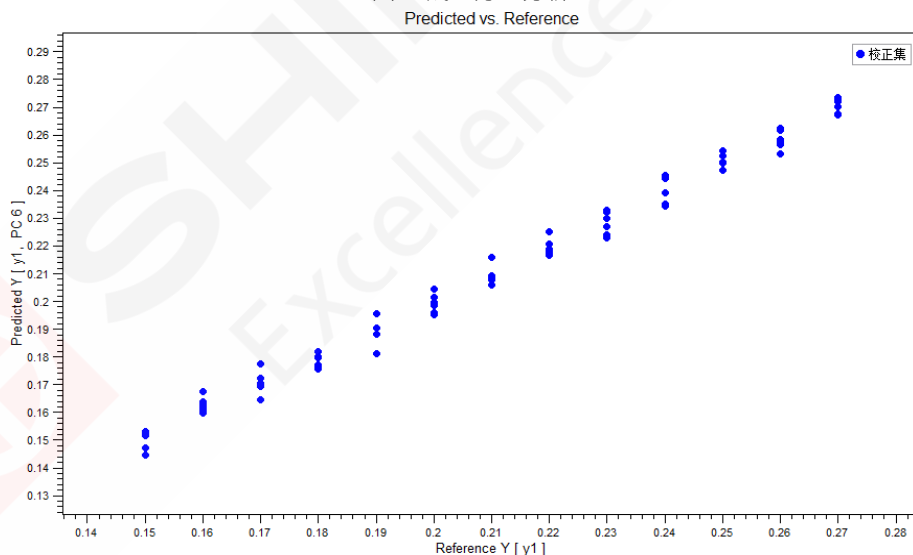


图 5. 预测值与参考值相关性

2.3 模型预测

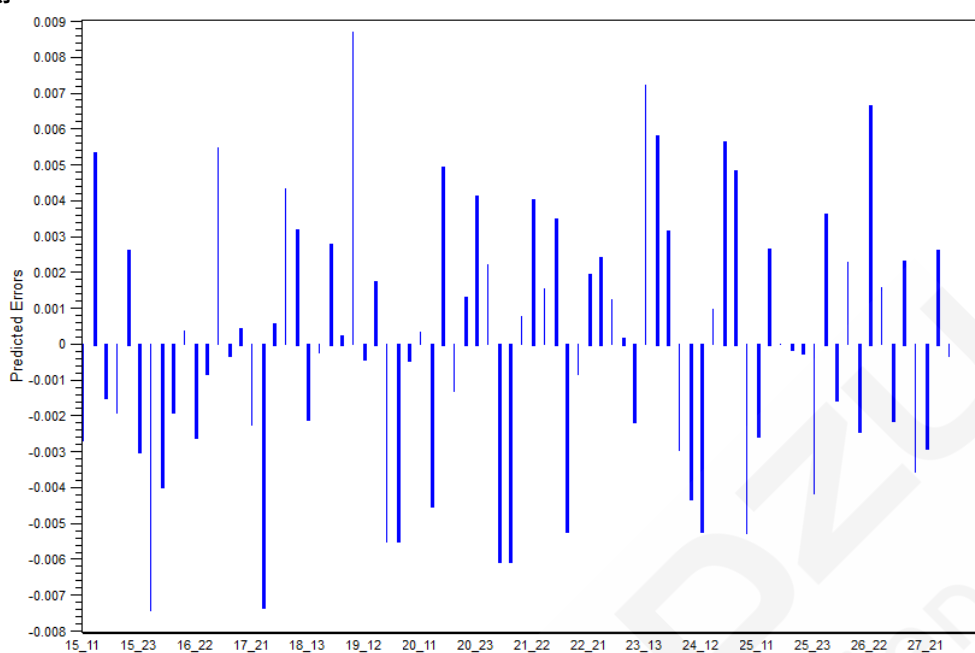


图 6. 样本预测值偏差

将样本已知数据与预测值进行比对，最大预测偏差 0.0087 mg/粒（参考值 0.19 mg/粒，预测值 0.1813 mg/粒），平均绝对预测误差 0.0029 mg/粒。

3. 结论

应用偏最小二乘法（PLS）方法结合近红外（NIR）光谱建立了测定血府逐瘀胶囊中芍药苷含量的定量分析模型，模型经过校正集样品的内部交互验证和预测集对模型预测能力的检验，选择有效的光谱预处理方法和最适的主因子数，得到最优的定量分析模型。该模型具有较好的稳健性、拟合度和较高的预测精度，可在中药有效成分检测方面推广应用。

动态颗粒图像分析系统iSpect DIA-10测试中药口服液中颗粒的粒度、粒形和颗粒数量

摘要：本文使用岛津动态颗粒图像分析系统iSpect DIA-10建立了测试中药口服液中颗粒粒度、粒形和颗粒数量的分析方法。实验结果表明，使用iSpect DIA-10在获知口服液中颗粒粒度和数量浓度的同时，还可直接观察颗粒的形状特征，可对不同分布的颗粒进行统计，为了解口服液产品质量信息提供重要参考。

关键词：中药口服液 动态图像 粒度 粒形 颗粒数量

中药口服液是一类重要的医药产品，它是以中药为原料，通过提取药物中的有效成分，配以辅料和添加剂等，再进行密封封装的一种液体药剂。口服液的生产过程包括中药材提取、净化、浓缩、过滤、精制、灭菌和封装等，在提取过程中不可避免地会引入药物残渣，因此必须对这些残渣进行滤除，使药物口服液澄清，但口服液中或多或少还残留一些颗粒很小的中药颗粒，这些颗粒可能会吸附细菌，影响产品的保质期，且在存储使用过程中，这些残渣颗粒可能会发生聚集而出现沉淀，从而影响口服液的口感、疗效和安全性。因此，对口服液中的颗粒物分布状况进行分析，对于把控口服液产品质量具有重要意义。

通常使用光阻法、显微镜法和激光粒度法等测试溶液中的颗粒物数量和粒径分布，但存在计数不便，需人工识别等缺陷，且无法有效获知颗粒物粒形信息。动态颗粒图像分析系统可弥补以上不足，不仅可获知颗粒粒度信息，还能直接观察颗粒物的粒形状况，并获得颗粒物的数量浓度，是分析口服液中颗粒物的有力工具。

本文采用岛津动态颗粒图像分析系统 iSpect DIA-10 测试中药口服液中颗粒物的粒度、粒形和颗粒数量，样品消耗量少，仪器简单易用，结果直观可靠。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津动态颗粒图像分析系统 iSpect DIA-10

1.2 仪器分析条件

iSpect DIA-10仪器分析条件见错误!未找到引用源。。

表 1. iSpect DIA-10 分析条件

参数			参数设定
帧	速	率	8 fps
进	样	体	500 μ L
成	像	阈	110
泵		速	0.1 mL/min

1.3 实验器皿及试剂

1000 μ L移液枪及枪头，实验用水为超纯水。

2. 样品的前处理

取市售某品牌藿香正气水和抗病毒中药口服液，摇匀后使用移液枪直接吸取样品，置入仪器进样口后自动测试。

3. 结果与讨论

3.1 中药口服液中颗粒粒度、粒形和颗粒数量测试结果

3.1.1 藿香正气口服液

颗粒可按照多种条件进行筛选排列，如面积等效直径、费雷德（Feret）直径、周长、长宽比、圆度、最大长度等。此处，我们选择按面积等效直径从大到小对颗粒进行筛选排列，藿香正气口服液颗粒的部分粒形特征如图 1~图 4 所示。从图上我们可以直接观察到溶液中存在形状各异的颗粒，可通过圆度-面积等效直径分布图和粒径分布图对溶液中的颗粒进行统计分析（如图 5 所示）。

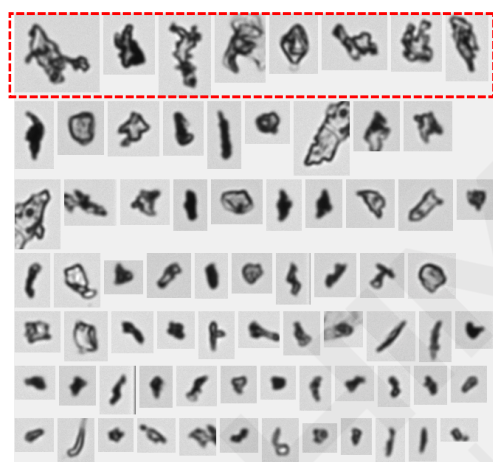


图 1. 藿香正气口服液粒形图 (a)

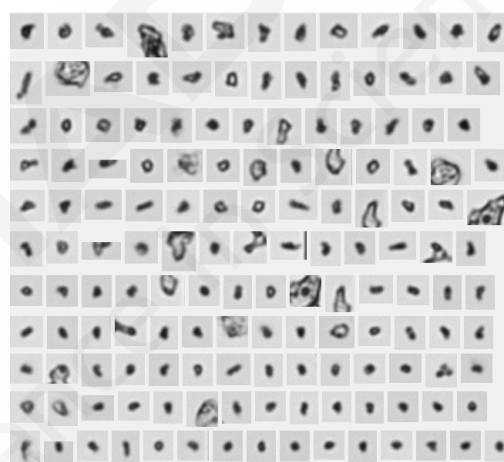


图 2. 藿香正气口服液粒形图 (b)



图 3. 藿香正气口服液粒形图 (c)

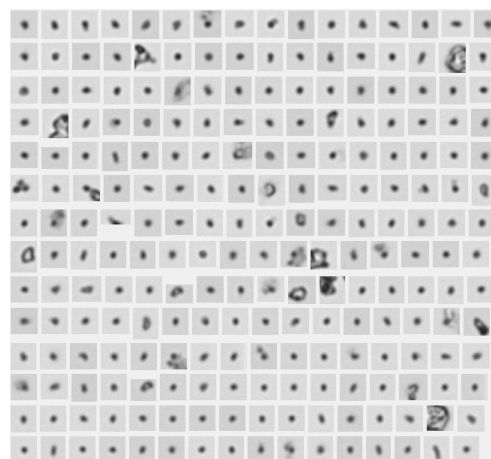


图 4. 藿香正气口服液粒形图 (d)

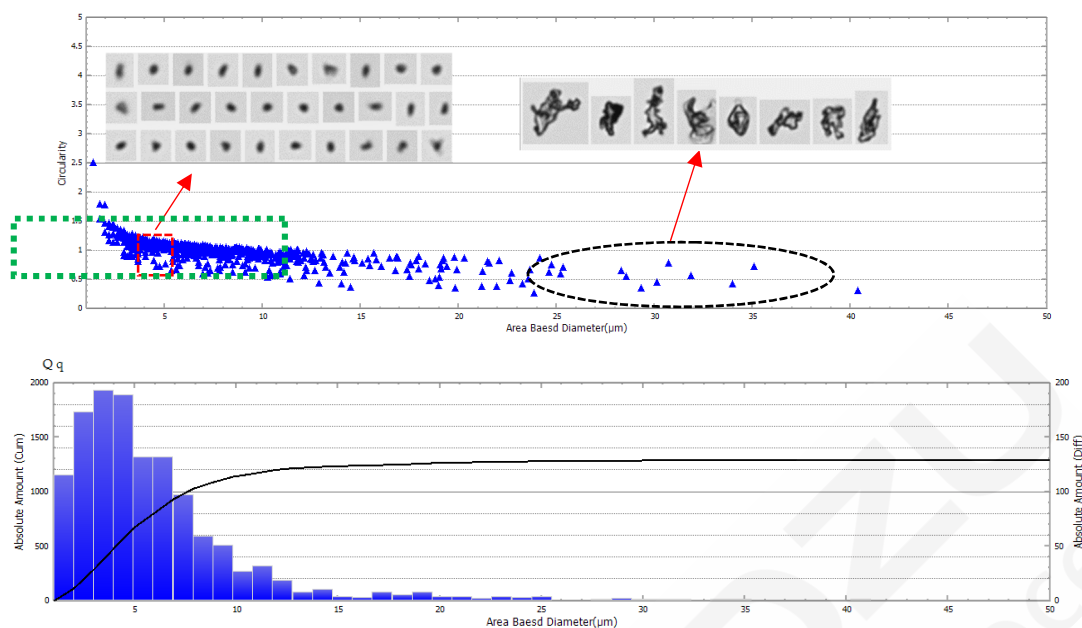


图 5. 藿香正气口服液中颗粒圆度-面积等效直径分布图（上）和粒径分布图（下）

图 5 为藿香正气口服液中颗粒的圆度-面积等效直径分布图和粒径分布图。圆度-面积等效直径分布图中纵坐标圆度（Circularity）表示颗粒圆形的程度，越接近 1 表示颗粒越圆。横坐标为颗粒的面积等效直径，上图黑色椭圆框中的点表示口服液中存在少量直径较大的颗粒，经软件统计分析，可以一一对应找到具体的颗粒并进行粒形观察。

经测试，藿香正气口服液中的颗粒数量浓度为 2683 个/mL。此外，可指定条件对离群颗粒个数和比例进行自动统计分析。这里举例如下，将面积等效直径大于 15 μm ，圆度在 0.5~1.5 以外（即形状不够圆）的颗粒设置为离群颗粒（图 5 中绿色虚线框外的颗粒），通过软件自动计算，其比例如下表 2 所示。

表 2. 藿香正气口服液中颗粒统计表

统计条件	颗粒数（个）	百分比（%）
$X \leq 15 \mu\text{m}, 0.5 \leq Y \leq 1.5$	1133	87.490
$X > 15 \mu\text{m}, Y < 0.5 \& Y > 1.5$	162	12.510

注：X 代表面积等效直径（即 X 轴），Y 代表圆度（即 Y 轴）。

3.1.2 抗病毒口服液

对抗病毒口服液进行测试，可发现口服液中存在许多非球状的条形颗粒物，选择按颗粒最大长度大小进行排列，其颗粒部分粒形特征如图 6~图 9 所示。



图 6. 抗病毒口服液粒形图 (a)

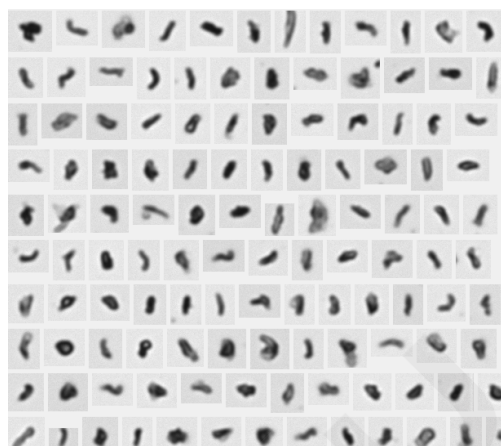


图 7. 抗病毒口服液粒形图 (b)

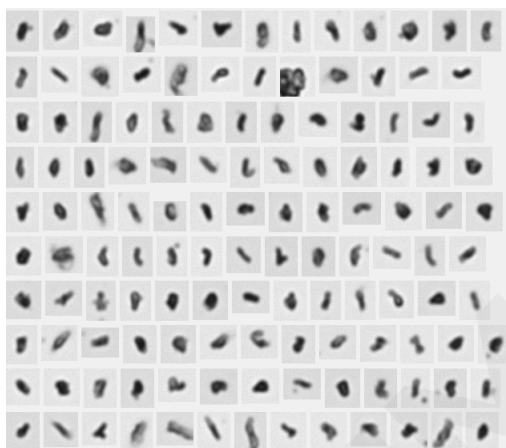


图 8. 抗病毒口服液粒形图 (c)

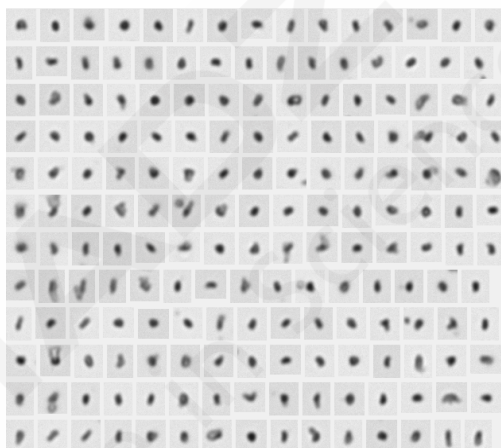


图 9. 抗病毒口服液粒形图 (d)

软件中，选择纵坐标为颗粒最大长度，横坐标为颗粒的面积等效直径，绘制颗粒分布图，可明显发现离群的颗粒（图 10 中黑色方框所示），通过软件的统计功能，可一一对应找到这些离群颗粒的图像，直接获知离群颗粒的粒形、尺寸、数量和比例等信息。

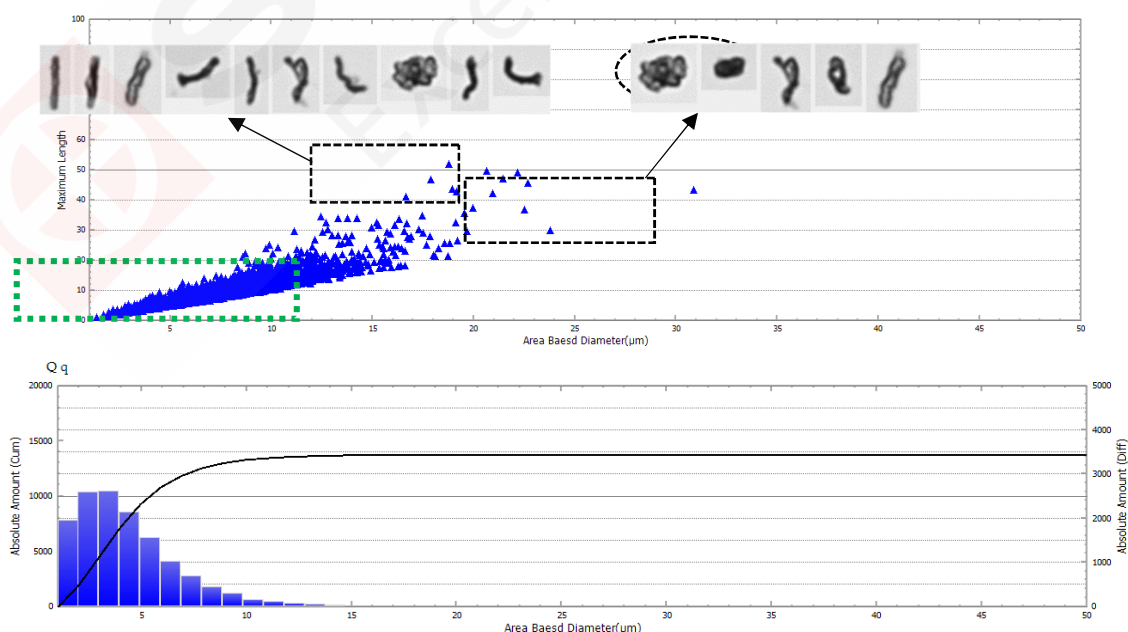


图 10. 抗病毒口服液颗粒最大长度-面积等效直径分布图（上）和粒径分布图（下）

经测试，抗病毒口服液中的颗粒数量浓度为 28586 个/mL。根据图 10，使用软件的计算功能统计离群颗粒的比例。例如，我们将面积等效直径大于 15 μm ，最大长度大于 20 μm 的颗粒设置为离群颗粒（图 11 中绿色虚线框外的颗粒），通过软件自动计算，离群颗粒比例如下表 3 所示。

表 3. 抗病毒口服液中颗粒统计表

统计条件	颗粒数 (个)	百分比 (%)
$X \leq 15 \mu\text{m}, Y \leq 20 \mu\text{m}$	13673	99.101
$X > 15 \mu\text{m}, Y > 20 \mu\text{m}$	124	0.899

注：X 代表面积等效直径（即 X 轴），Y 代表最大长度（即 Y 轴）。

3.2 结果分析

实验结果显示，两种中药口服液所含有的颗粒物粒度、粒形和颗粒数量等均不相同。可发现两种口服液中均存在少量大颗粒，其中抗病毒口服液中有许多条状物，且颗粒数量远大于藿香正气口服液。使用动态颗粒图像分析系统 iSpect DIA-10 进行分析，可同时获得更加全面的信息，为深入了解口服液的质量及药效提供参考。

4. 结论

本文使用岛津动态颗粒图像分析系统 iSpect DIA-10 对中药口服液进行分析，可同时获知口服液中颗粒物粒度、粒形和颗粒数量等信息，为全面了解药物口服液的质量特性提供重要依据。

UHPLC开发系统在建立6种人参皂苷分析方法上的应用

摘要： 本文使用岛津Nexera UHPLC LC-30A方法开发系统建立了快速检测两种中药制剂中Re, Rg1, Rb1, Rb2, Rc, Rd共计6种人参皂苷的分析方法。方法开发系统结合配备的Method Scouting Solution工作站，自动实现色谱柱切换和流动相梯度比例调整，通过Class-agent Report报告生成软件自动进行分析结果中峰检出数和分离度综合评估，极大地简化方法开发的流程，提高分析效率。

关键词： UHPLC 方法开发系统 人参皂苷 中药

人参皂苷（Ginsenoside）是一种固醇类化合物，主要存在于人参属药材中，具有增加白细胞数量、提高人体免疫力、促代谢、抗疲劳、抗衰老和抗肿瘤等作用。在对人参皂苷分析研究中，由于化合物结构相似的缘故，传统的 HPLC 方法耗时长，分离效果不佳，随着现代液相色谱技术的高速发展，开发超快速液相分析方法进行人参皂苷检测显得尤为重要。

岛津 Nexera UHPLC LC-30A 方法开发系统是基于其最新一代超高效液相色谱仪 LC-30A 建立的一套用于液相分析条件探索的自动化装置。它利用工作站控制自动进行色谱柱切换和流动相配比而实现了原本需要人力干预才能完成的分析方法开发过程。该系统配备的 Method Scouting Solution 工作站将繁琐的条件变化设置过程大为简化，图形界面易于操作和理解。

文中使用该套系统，自动筛选合适的色谱柱和流动相比例建立了快速检测 Re, Rg1, Rb1, Rb2, Rc, Rd 共计 6 种人参皂苷的 UHPLC 分析方法。

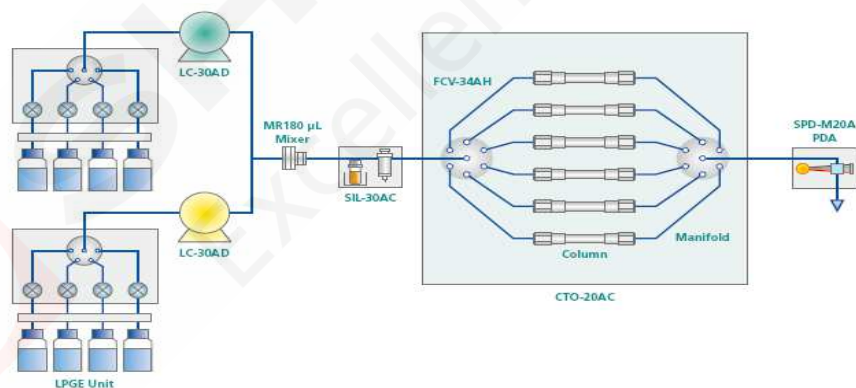


图 1. 方法开发系统流路特点

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 Nexera UHPLC LC-30A 方法开发系统。具体配置如下：

自动进样器	: SIL-30ACMP	柱温箱	: CTO-20AC (含 FCV-34AH)
在线脱气机	: DGU-20A _{5R} ×2	检测器	: SPD-M30A

系统控制器：CBM-20A

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.54

输液泵：LC-30AD×2（配四元方法开发软件：Method Scouting Solution
低压梯度比例阀）Ver. 1.00

1.2 分析条件

1.2.1 方法建立的流程

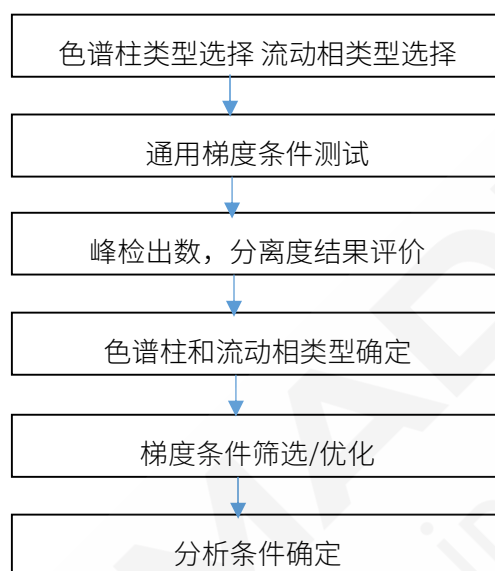


图 2. 方法开发系统进行色谱方法建立的流程

1.2.2 液相色谱条件

色 谱 柱：InertSustain ODS 3.0 mmI.D.×100 mmL., 3 μm
Shim-pack XR-C8 2.0 mmI.D.×100 mmL., 2.2 μm
Shim-pack XR-ODS II 2.0 mmI.D.×100 mmL., 2.2 μm
Shim-pack XR-ODS III 2.0 mmI.D.×150 mmL., 2.2 μm

流 动 相：A 相—水
B 相—乙腈

流 速：0.4 mL/min

进 样 体 积：3 μL

柱 温：40°C, 55°C

洗 脱 方 式：梯度洗脱

检 测 波 长：203 nm

1.3 样品制备

分别称取一定量的人参皂苷 Re, Rg1, Rb1, Rb2, Rc, Rd, 以甲醇溶解分别得到 1 mg/mL 的储备液, 吸取各单标储备液以甲醇-水 (1: 1, V/V) 稀释得到 100 μg/mL 的标准溶液, 经 0.22 μm 滤膜过滤后

进样分析。

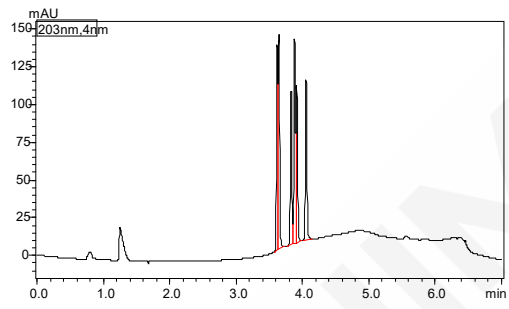
2. 结果与讨论

2.1 通用梯度时间程序分析

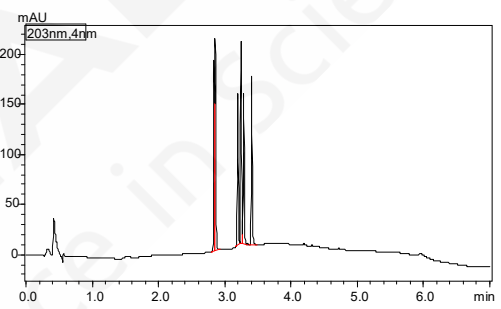
以表 1 所示的通用梯度时间程序对四种色谱柱在水-乙腈流动相体系下进行测试。

表 1 通用梯度洗脱时间程序（柱温 40℃）

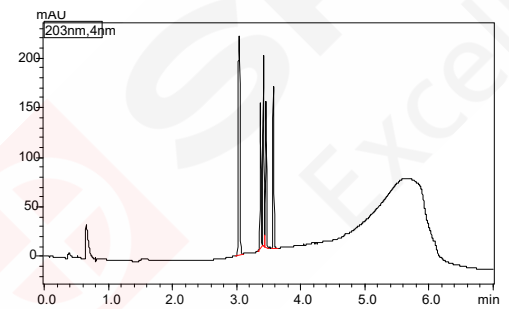
Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	5
0.50	Pumps	Pump B Conc.	5
3.50	Pumps	Pump B Conc.	95
5.00	Pumps	Pump B Conc.	95
5.01	Pumps	Pump B Conc.	5
7.00	Controller	Stop	



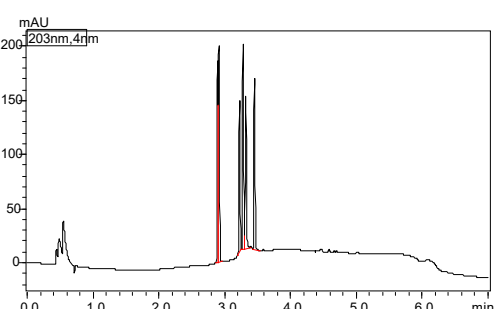
C1: InertSustain ODS
3.0 mmI.D.×100 mmL., 3 μm



C2: Shim-pack XR-C8
2.0 mmI.D.×100 mmL., 2.2 μm



C3: Shim-pack XR-ODS II
2.0 mmI.D.×100 mmL., 2.2 μm



C4: Shim-pack XR-ODS III
2.0 mmI.D.×150 mmL., 2.2 μm

图 3. 6 种人参皂苷在通用梯度条件下的色谱图

2.2 通用梯度分析结果评价

对 2.1 中通用梯度分析结果评价，依据为峰检出个数同分离度等参数的综合得分

表 2 通用梯度条件下 4 种色谱柱上的分离结果评价

peak#	Corrected Resolution*			
	C1	C2	C3	C4
1	-	-	-	-
2	0.3	3.0	0.3	0.4
3	3.0	1.4	3.0	3.0
4	1.0	1.2	1.5	1.5
5	0.5	3.0	1.2	1.2
6	2.5	-	3.0	3.0
S*	44.2	43.0	54.3	54.8

Corrected Resolution*: 各峰分离度中大于 3 的以 3 记，不足 3 的以实际计算结果记。

S*: 综合得分，以峰检出数×各峰分离度之和。

根据通用梯度各分析条件下分析结果的评价，最终确定的样品分析色谱柱为 C4，即为：

色谱柱：Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mmI.D.×150 mmL., 2.2 μm

2.3 梯度条件筛选

由通用梯度时间程序分析结果确定了用于分析 6 种人参皂苷的色谱柱和流动相，为增加分离度和改善分离效果，进行梯度条件筛选。因此在通用时间程序的基础上，按表 3 优化梯度程序中的初始浓度和终止浓度，总共考察 4×4=16 种梯度条件。

表 3 梯度条件设置

序号	0.01 min-初始浓度 (%)	3.00 min-终止浓度 (%)
1	5	95
2	15	85
3	25	75
4	35	65

2.4 梯度条件筛选结果分析和评判

对 16 种梯度条件下 6 种人参皂苷的分析结果，通过 Class-agent report 软件进行峰检出数和分离度自动综合评判。

表 4 梯度优化分析结果评价

#	Corrected Resolution*															
	1)	2)	3)	4)	5)	6)	7)	8)	9)	10)	11)	12)	13)	14)	15)	16)
%	5-95	5-85	5-75	5-65	15-95	15-85	15-75	15-65	25-95	25-85	25-75	25-65	35-95	35-85	35-75	35-65
B																
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0.4	0.4	0.4	0.5	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.7	0.6	0.6	3.0	3.0	3.0	3.0
3	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
4	1.6	1.7	1.9	1.9	1.7	1.7	1.9	2.1	1.9	2.0	2.3	2.5	3.0	3.0	3.0	3.0
5	1.3	1.4	1.5	1.6	1.4	1.4	1.6	1.8	1.6	1.7	1.9	2.1	-	-	-	-
6	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	-	-	-	-
S	55.9	57.2	58.9	60.1	56.7	57.0	59.4	61.7	59.7	62.9	64.9	67.5	36.0	36.0	36.0	36.0

Corrected Resolution*: 各峰分离度中大于 3 的以 3 记, 不足 3 的以实际计算结果记。

S*: 综合得分, 以峰检出数×各峰分离度之和

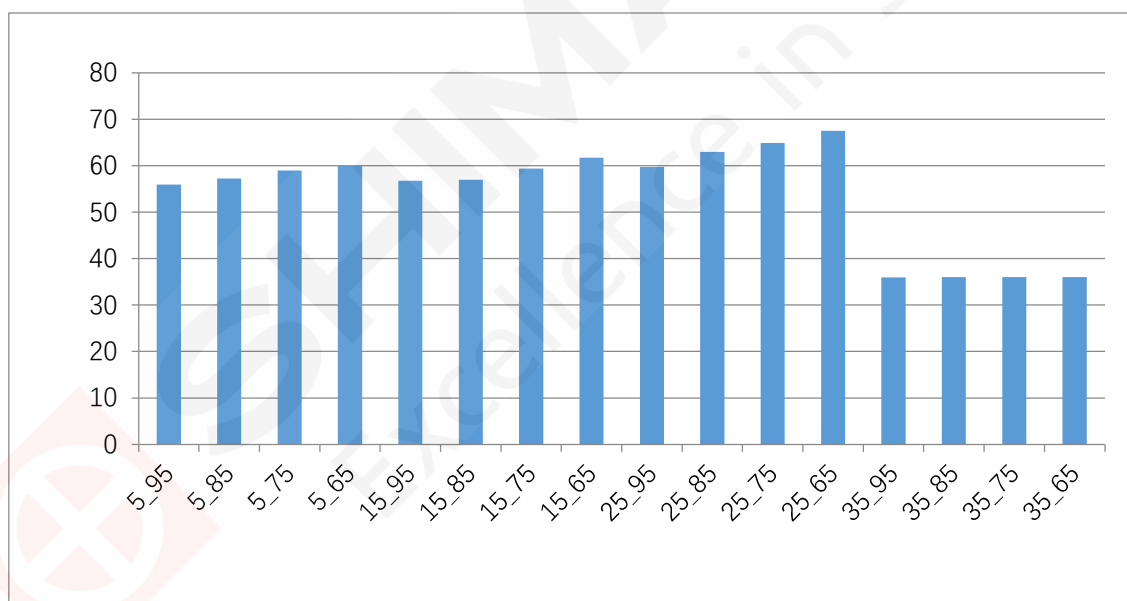


图 4. 梯度条件筛选综合评价

根据分析结果评价系统统计结果, 筛选出梯度条件为 25%-65%B 进行下一步优化。

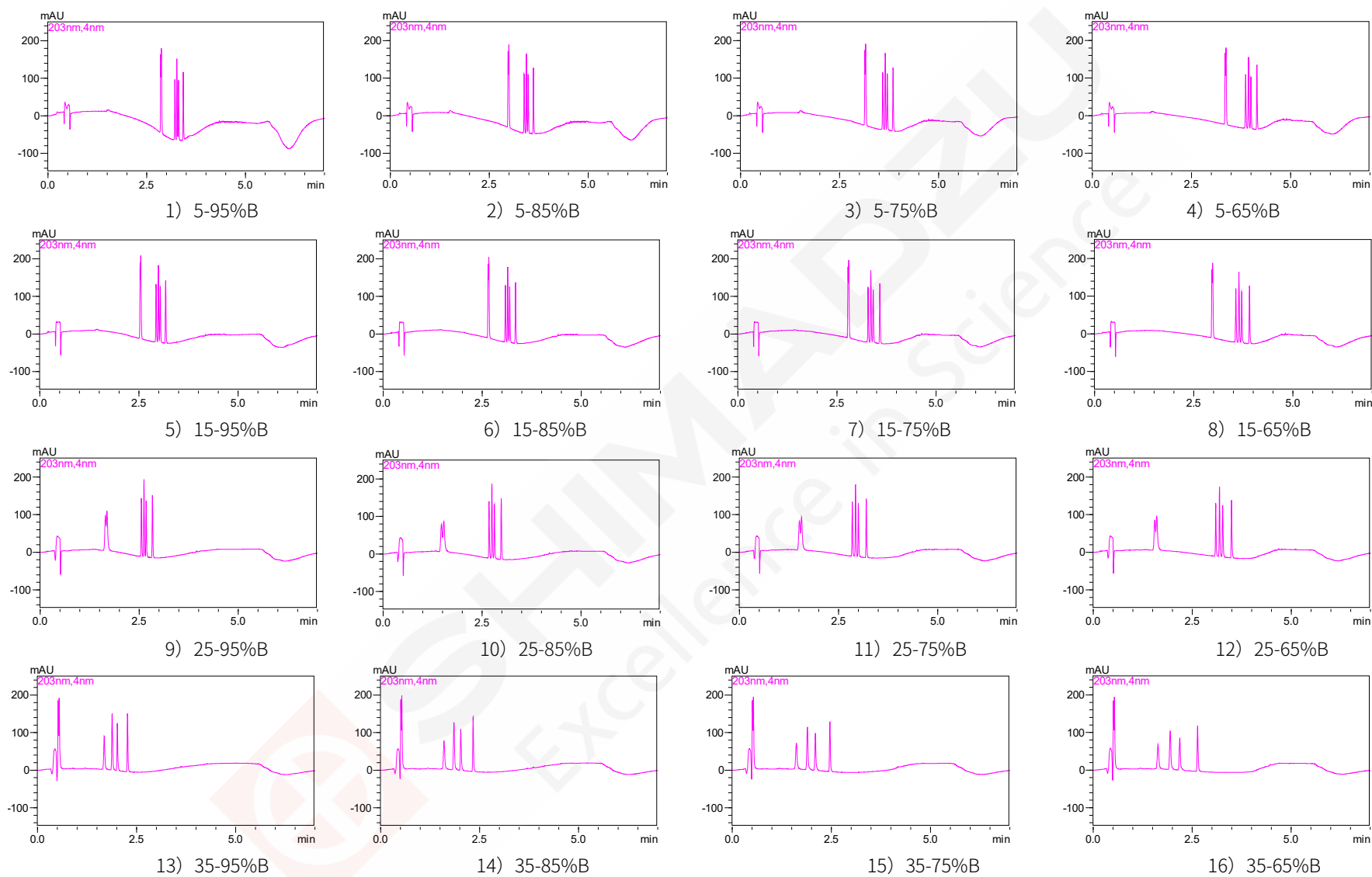


图 5.6 种人参皂苷在梯度条件筛选时的色谱图

2.5 梯度条件优化

对 2.4 中确定的梯度条件 25%-65%B 为基础, 对梯度条件进行优化, 目的以提高保留时间较小的两种人参皂苷的分离度, 采用保持 2 min 等度洗脱的方式, 如表 5 所示, 优化时间程序中 0-2min 时 B%。

表 5 梯度条件优化设置 (柱温 55°C)

序号	2 min-初始浓度 (%)	5 min-终止浓度 (%)	Peak2 保留时间	Peak2 分离度
1	24	65	4.23	0.7
2	26		3.11	1.4
3	28		1.83	1.8
4	30		1.52	1.7

综合考虑 peak2 分离度和保留时间, 0-2 min 选择 28%可在合理的保留时间内获得更高的分离度, 再对 5 min 终止浓度进行考察, 如表 6。

表 6 梯度条件优化设置 (柱温 55°C)

序号	2 min-初始浓度 (%)	5 min-终止浓度 (%)	评价系统结果 S
1	28	75	75.4
2		70	77.5
3		65	79.4
4		60	80.1

通过对梯度条件的优化, 根据评价系统统计结果, 选择为 28-60%B 方式为最优方法。

梯度优化过程对初始浓度和终止浓度分别先后进行考察, 用尽可能少的步骤完成优化过程。

2.6 分析条件的确定

通过 Nexera UHPLC LC-30A 方法开发系统对 6 种人参皂苷的 UHPLC 分析方法进行探索, 经过两种实际样品 (高丽红参, 生脉注射液) 验证, 将终止浓度调整到 55%可以提高实际样品中极性较小区域杂质的分离度, 因而最终确定的液相色谱分析条件为:

色 谱 柱 : Shim-pack XR-ODSIII 2.0 mmI.D.×150 mmL, 2.2 μm
 流 动 相 : A 相-水, B 相-乙腈
 流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 55°C
 检 测 波 长 : 203 nm 进 样 体 积 : 3 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 时间程序如表 7 所示。

表 7 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.01	Pumps	Pump B Conc.	28
2.00	Pumps	Pump B Conc.	28
4.50	Pumps	Pump B Conc.	55
7.00	Pumps	Pump B Conc.	55
7.01	Pumps	Pump B Conc.	28
9.00	Controller	Stop	

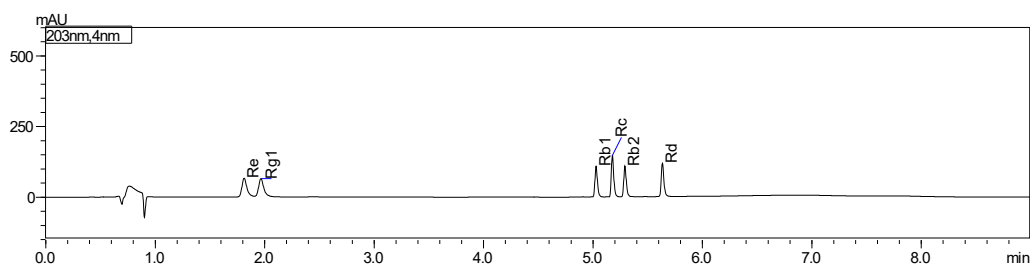


图 6 6 种人参皂苷对照品溶液 UHPLC 色谱图

2.7 含人参皂苷的中药及制剂样品分析结果

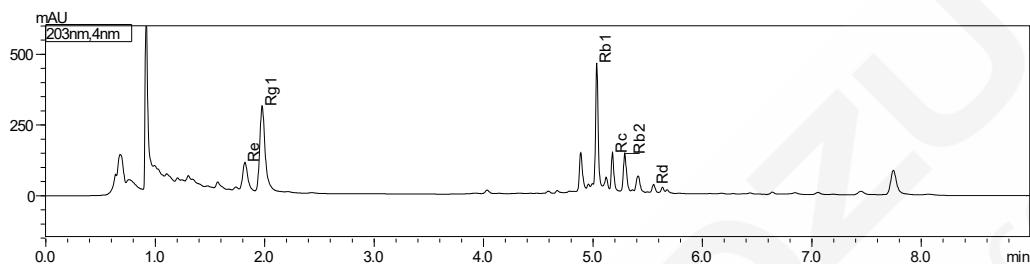


图 7 高丽红参甲醇提取液的 UHPLC 色谱图

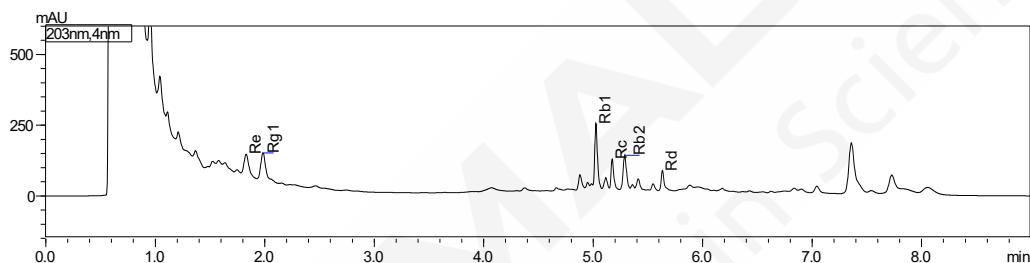


图 8 生脉注射液的 UHPLC 色谱图

3. 结论

使用岛津 Nexera UHPLC LC-30A 方法开发系统建立了 Re、Rg1 等 6 种人参皂苷超高效液相色谱分析方法，利用 Method Scouting Solution 工作站控制来自动实现色谱柱切换和流动相梯度比例调整，通过 Class-agent Report 报告生成软件自动进行分析结果中峰检出数和分离度综合评估从而筛选最优条件。分析结果显示，6 种人参皂苷在 10 分钟内实现基线分离，各峰分离度均能达到 1.5 以上，从而为液相分析方法的快速开发提供了一种有效的手段。

MethodTransfer在中药特征图谱HPLC与UHPLC方法转换中的应用

摘 要：本文以赤芍配方颗粒特征图谱分析为例，采用岛津 LabSolutions 软件自带的方法转换利器 MethodTransfer 进行 HPLC 法与 UHPLC 法互相转换，该功能无需经过繁琐的计算即可一键进行方法的快速转换。HPLC 法转换成 UHPLC 法后，赤芍配方颗粒特征图谱分析时长由原来的 60 min 缩短至 16.95 min，分析效率得到明显提高。在 UHPLC 条件下，芍药苷色谱峰的理论塔板数远大于 3000，符合系统适用性要求；空白溶液在各特征峰位置处无明显色谱峰，不干扰特征图谱分析；对照药材参照物溶液连续进样 6 次，各特征峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.026%~0.235%和 0.272%~0.982%之间，仪器精密度良好；待测样品中指定特征峰的相对保留时间及相对峰面积均符合《赤芍（芍药）配方颗粒》国家标准规定，该 UHPLC 方法可用于赤芍配方颗粒标准的重现。另外，本实验以特征图谱分析中的赤芍对照药材为考察对象，HPLC 法与 UHPLC 法中指定特征峰相对保留时间和相对峰面积的相对偏差分别在±2%和±3%以内，说明方法转换前后各特征峰的色谱保留行为基本一致。MethodTransfer 可有效地用于 HPLC 法与 UHPLC 法转换，助力中药配方颗粒特征图谱分析。

关键词：中药配方颗粒 特征图谱 UHPLC HPLC 方法转换

超高效液相色谱（UHPLC）与高效液相色谱（HPLC）技术具有相同的分离原理，它的理论基础为 VanDeemeter 方程，即填料粒度越小柱效越高，且每种填料粒度尺寸均有自身最佳柱效的流速。相比 HPLC 法，UHPLC 法具有更高的分离度和灵敏度，同时色谱峰容量和分析效率均有显著地提升。

中药具有化学成分复杂、性质差异大、分离难度大等特点，给中药分析带来巨大的挑战。目前，UHPLC 技术在中药的化学成分识别、指纹图谱及代谢组学等分析领域逐步得到了应用，极大的促进了中药研究领域的发展。中药配方颗粒标准中特征图谱分析 UHPLC 和 HPLC 方法均有被采用。本文以赤芍配方颗粒为例，利用岛津 MethodTransfer 方法转换软件快速将 HPLC 法转换成 UHPLC 法，转换前后特征图谱分析结果均符合标准要求，供相关检验人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验 HPLC 方法采用岛津 Nexera XR 液相色谱仪，具体配置为：

系 统 控 制 器	: CBM-40 Lite	脱 气 机	: DGU-405
输 液 泵	: LC-40B XR	自 动 进 样 器	: SIL-40C XR
柱 温 箱	: CTO-40S	检 测 器	: SPD-40
色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 6.92		

本实验 UHPLC 方法采用岛津 Nexera XS 液相色谱仪，具体配置为：

系 统 控 制 器 : CBM-40 Lite 脱 气 机 : DGU-405
 输 液 泵 : LC-40B XS 自动进样器 : SIL-40C XS
 柱 温 箱 : CTO-40S 检 测 器 : SPD-40
 色 谱 工 作 站 : LabSolutions Ver. 6.92

1.2 分析条件

HPLC 法条件:

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 色谱柱 (250 mm× 4.6 mm I.D., 5 μm)
 (P/N: 227-30017-08, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)
 流 动 相 : A: 0.05%磷酸水溶液; B: 乙腈
 流 速 : 1.0 mL/min 柱 温 : 30℃
 检 测 波 长 : 0-25 min 210 nm; 25-60 min 230 nm 进 样 体 积 : 10 μL
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
25	Pumps	Pump B Conc.	15
34	Pumps	Pump B Conc.	18
35	Pumps	Pump B Conc.	20
44	Pumps	Pump B Conc.	20
45	Pumps	Pump B Conc.	45
55	Pumps	Pump B Conc.	47
56	Pumps	Pump B Conc.	5
60	Controller	Stop	

UHPLC 法条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 色谱柱 (100 mm× 2.1 mm I.D., 2 μm)
 (P/N: 227-30001-04, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)
 流 动 相 : A: 0.05%磷酸水溶液; B: 乙腈 柱 温 : 30℃
 流 速 : 0.3 mL/min 进 样 体 积 : 2 μL
 检 测 波 长 : 0-7.23 min 210 nm; 7.23-16.95 min 230 nm
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 5%, 时间程序如表 2 所示。

2. 样品前处理

对照药材参照物溶液的制备: 取赤芍对照药材 0.4 g, 加水 50 mL, 加热回流提取 45 分钟, 滤过, 滤液蒸干, 残渣加稀乙醇 25 mL, 超声处理 (功率 200 W, 频率 53 kHz) 30 分钟, 取出, 放冷, 滤过, 取续滤液即得。

对照药材参照物溶液的制备: 取没食子酸对照品、原儿茶醛对照品、儿茶素对照品、芍药苷对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1ml 含没食子酸、原儿茶醛、儿茶素各 40 μg, 含芍药苷 80 μg 的混合溶液,

作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备：取本品，研细，取 0.1 g，置具塞锥形瓶中，加稀乙醇 25 mL，密塞，超声处理（功率 200 W，频率 53 kHz）30 分钟，取出，放冷，滤过，取续滤液，即得。

表 2. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.28	Pumps	Pump B Conc.	15
7.23	Pumps	Pump B Conc.	15
9.73	Pumps	Pump B Conc.	18
10.01	Pumps	Pump B Conc.	20
12.51	Pumps	Pump B Conc.	20
12.78	Pumps	Pump B Conc.	45
15.56	Pumps	Pump B Conc.	47
15.84	Pumps	Pump B Conc.	5
16.95	Controller	Stop	

3. 结果与讨论

3.1 色谱图

按照1.2中色谱分析条件，取空白溶剂、对照品参照物溶液、对照药材参照物溶液和供试品溶液分别进行上机分析，空白溶剂色谱图如图1，目标物出峰处无干扰，其余各色谱图见图2-4。HPLC方法分析结果详见《赤芍配方颗粒特征图谱分析及结果快速评价》应用报告。

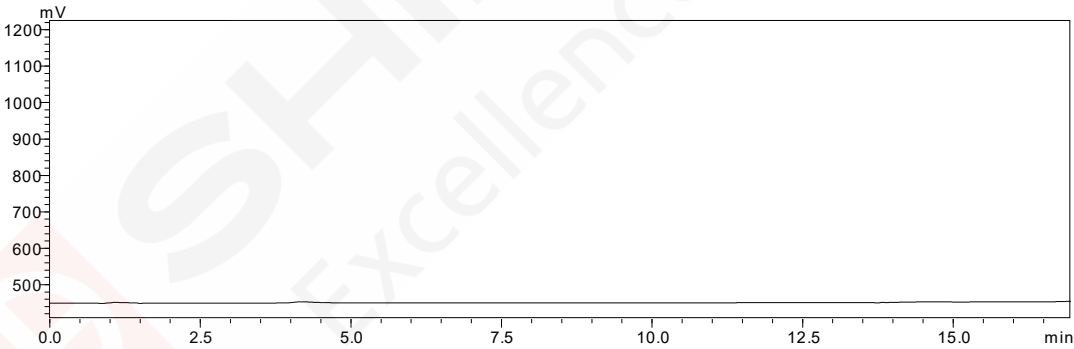


图 1. 空白溶剂色谱图

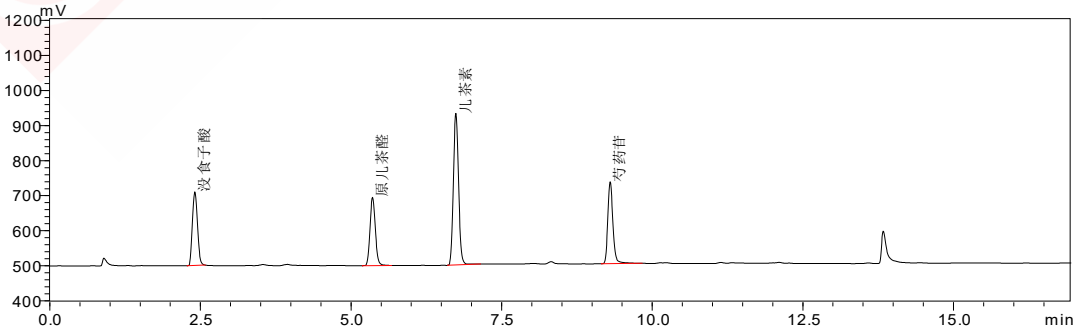


图 2. 对照品参照物溶液色谱图

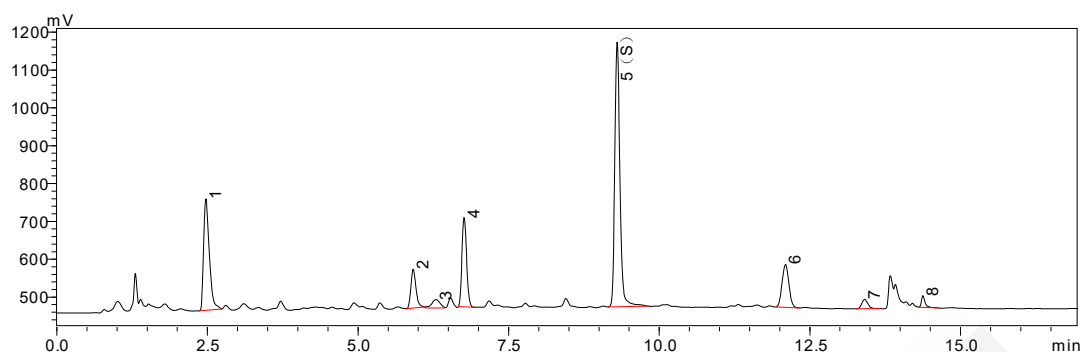


图 3. 对照药材参照物溶液色谱图

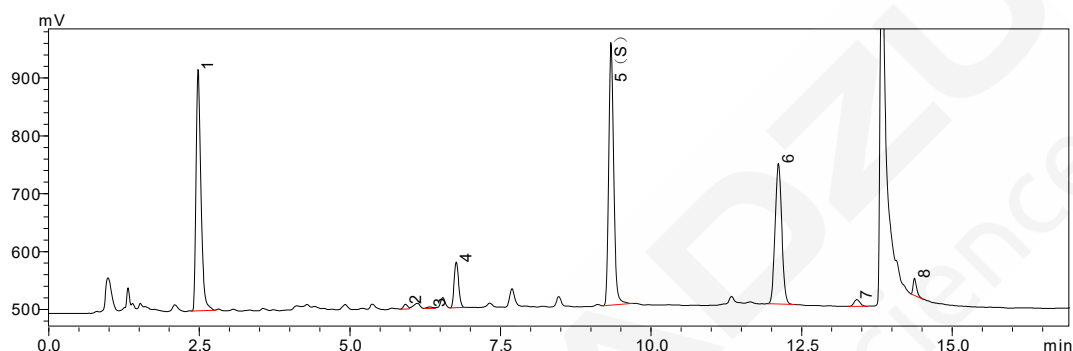


图 4. 供试品溶液色谱图

峰 1: 没食子酸 峰 4: 儿茶素 峰 5 (S): 芍药苷 峰 8: 苯甲酰芍药苷

3.2 系统适用性考察对比结果

以芍药苷特征峰的理论塔板数为考察指标，系统适用性结果如下表所示：

表 3. 系统适用性结果

名称	对照品参照物溶液	对照药材参照物溶液	供试品溶液
理论塔板数	50927	51449	51624

HPLC 法转换成 UHPLC 法后，各溶液中芍药苷的理论塔板数均远大于 3000，符合标准规定。

3.3 精密度实验

取对照药材参照物溶液连续进样6次，考察仪器精密度。8个特征峰的保留时间和峰面积RSD值分别在 0.026%~0.235%和0.272%~0.982%之间，表明仪器精密度良好，详见图5和表4~5。

表 4. 对照药材参照物溶液精密度测试结果-保留时间 (n=6)

保留时间 (min)	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
1	2.474	5.915	6.294	6.761	9.301	12.095	13.409	14.376
2	2.476	5.912	6.292	6.759	9.300	12.096	13.405	14.371
3	2.480	5.946	6.323	6.785	9.316	12.106	13.412	14.378
4	2.481	5.913	6.293	6.758	9.297	12.102	13.435	14.373
5	2.483	5.922	6.310	6.778	9.312	12.117	13.430	14.379
6	2.482	5.935	6.312	6.772	9.303	12.098	13.403	14.370
RSD(%)	0.145	0.235	0.204	0.166	0.081	0.068	0.100	0.026

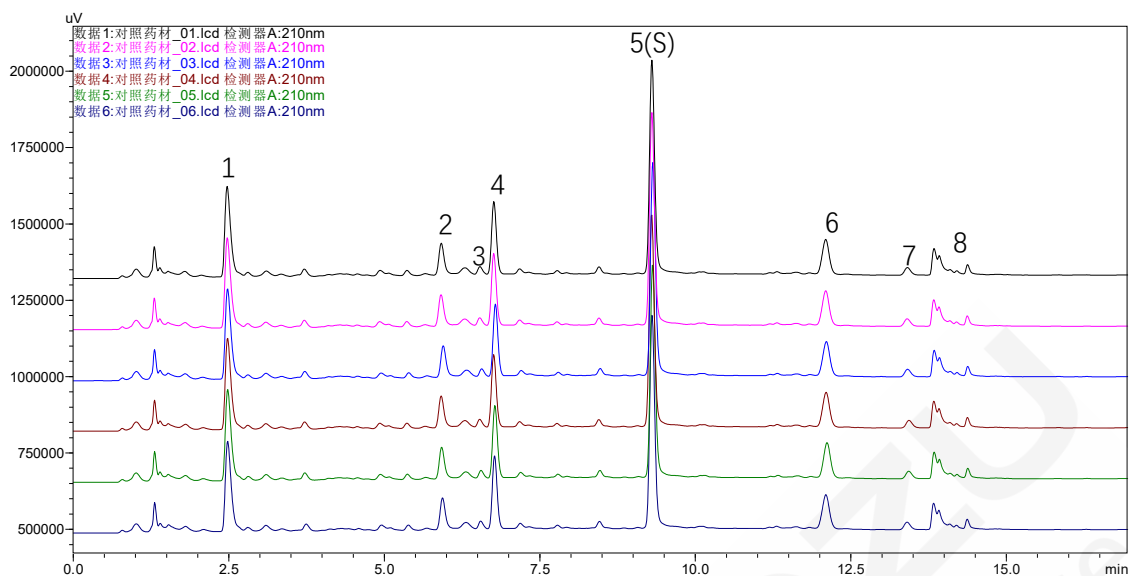


图 5. 对照药材参照物溶液精密度测试色谱图 (n=6)

表 5. 对照药材参照物溶液精密度测试结果-峰面积 (n=6)

次数	峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8
1	1936362	596577	207819	1268727	4162081	891690	173850	122768
2	1929724	593973	205056	1254772	4135958	885902	172573	122766
3	1937239	603092	205071	1260587	4132382	889534	172464	122031
4	1936610	596346	201504	1255153	4127762	888446	171213	123307
5	1944684	598017	205266	1268531	4124309	890719	171705	123459
6	1942521	596594	205161	1273478	4137090	884479	171868	121927
RSD(%)	0.272	0.513	0.982	0.620	0.324	0.315	0.534	0.515

3.4 供试品特征图谱分析结果

采用岛津LabSolutions CS网络化软件Multi-Data Report功能对赤芍配方颗粒特征图谱分析结果进行快速评价, 结果显示: HPLC法转换成UHPLC法后, 特征峰3、6、7、8的相对保留时间及峰7、8的相对峰面积均符合标准规定, 与HPLC法特征图谱分析结论一致。

供试品特征图谱分析结果:							
峰号	保留时间	峰面积	相对保留时间规定值	相对峰面积规定值	相对保留时间	相对峰面积	结论
1	2.478	2351468	—	—	0.265	0.901	—
2	5.922	40942	—	—	0.634	0.016	—
3	6.322	19333	0.64±8%	—	0.677	0.007	符合规定
4	6.765	412048	—	—	0.725	0.158	—
5 (S)	9.335	2611278	—	—	1.000	1.000	—
6	12.115	1871284	1.36±8%	—	1.298	0.717	符合规定
7	13.416	80078	1.46±8%	≥0.020	1.437	0.031	符合规定
8	14.374	119128	1.67±8%	≥0.020	1.540	0.046	符合规定

图 6. 供试品特征图谱分析结果评价

3.5 方法转换对比结果

对于中药配方颗粒特征图谱分析, HPLC和UHPLC方法转换后最关注的指标是特征峰的出峰顺序、相

对保留时间和相对峰面积的变化。以对照药材为例，方法转换前后8个特征峰的出峰顺序一致，如图7所示。各特征峰的相对保留时间和相对峰面积对比结果如表5所示。

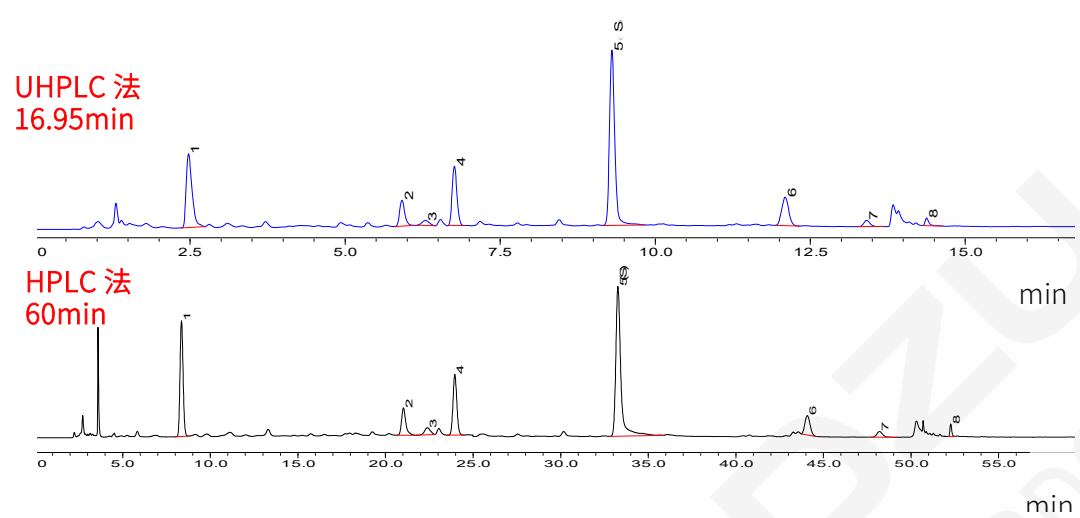


图 7. 方法转换前后对照药材参照物溶液色谱图

表 6. 方法转换前后相对保留时间和相对峰面积对比结果

峰号	相对保留时间		相对偏差 (%)	相对峰面积		相对偏差 (%)
	HPLC	UHPLC		HPLC	UHPLC	
1	0.251	0.266	-5.976	0.466	0.465	0.215
2	0.632	0.636	-0.633	0.152	0.143	5.921
3	0.673	0.677	-0.594	0.054	0.050	7.407
4	0.720	0.727	-0.972	0.304	0.305	-0.329
5 (S)	1.000	1.000	0	1.000	1.000	0
6	1.325	1.300	1.887	0.131	0.214	-63.359
7	1.449	1.442	0.483	0.043	0.042	2.326
8	1.571	1.546	1.591	0.029	0.029	0

由表6结果可知，HPLC法转换成UHPLC法，赤芍配方颗粒标准中规定的峰3、6、7、8色谱峰相对保留时间的相对偏差在±2%以内，峰7和峰8相对峰面积的相对偏差在±3%以内。所有特征峰相对保留时间的相对偏差在±6%以内，除峰6外，其余特征峰相对峰面积的相对偏差均在±8%以内。采用HPLC法分析时，峰6与相邻色谱峰未进行完全分离，相邻峰对峰6的积分产生了影响，而在UHPLC法条件下，峰6与相邻色谱峰分离完全，故峰6的相对峰面积明显高于HPLC法。

3.6 讨论

3.6.1 色谱柱的选择

在进行 HPLC 和 UHPLC 方法转换之前需优先选择好色谱柱。不同的色谱柱对化合物的保留、分离及出峰顺序的影响不同，为保证方法转换前后色谱行为的一致，最好采用同品牌同填料不同粒径的色谱柱，如本实验中均采用岛津 Shim-pack GIST C18 系列色谱柱。为使方法转换前后柱效和分离的相当，柱长 (L)/粒径 (d_p) 应保持相当，如本实验 HPLC 方法采用 250 mm, 5 μm 的色谱柱 (L/d_p=50)，UHPLC 法采用

100 mm, 2 μ m 的色谱柱 ($L/d_p=50$), 二者的 L/d_p 一致。实验中如分离效果不佳, 也可采用较高 L/d_p 值的色谱柱提升分离效果。

3.6.2 方法的快速转换

HPLC 和 UHPLC 方法转换需要调整的参数主要有流速、进样体积和梯度洗脱程序。对于等度洗脱分析, 只需要调整流速和进样体积即可。若要保持转换前后线速度一致, 则依据流速与柱内径的平方成比例进行计算, 实际使用时可根据系统压力和分析时长对流速进行调整。若保持待测样品浓度不变, 进样体积与色谱柱体积成正比, 实际使用时也可根据灵敏度适当调整进样体积。对于梯度洗脱分析, 由于采用不同规格的色谱柱, 为保证洗脱体积倍数相同, 需调整梯度洗脱程序, 不同系统的延迟体积可能不同, 在进行方法转换时需考虑此因素。

岛津 LabSolutions 软件自带方法转换利器 MethodTransfer, 可轻松实现 HPLC 和 UHPLC 方法的互换。只需在 MethodTransfer 中选择好方法转换前后的液相色谱系统并输入相应的色谱柱信息, 在工具左侧界面输入当前方法的梯度洗脱程序、停止时间、流速及进样体积等, 点击转换键, 软件则自动计算转换后对应的液相条件参数, 无需实验人员进行繁琐的计算。若方法转换前后系统的延迟体积不同, 可在软件中设置调整梯度起点。

4. 结论

本文以赤芍配方颗粒特征图谱分析为例, 采用岛津 LabSolutions 软件自带的方法转换利器 MethodTransfer 进行 HPLC 法与 UHPLC 法互相转换, 该功能无需经过繁琐的计算即可一键进行方法的快速转换。HPLC 法转换成 UHPLC 法后, 赤芍配方颗粒特征图谱分析时长由原来的 60 min 缩短至 16.95 min, 分析效率得到明显提高, 且方法的专属性、系统适用性、精密度及待测样品的分析结果均符合标准规定, 该 UHPLC 方法可用于《赤芍(芍药)配方颗粒》标准的重现。另外, 本实验以特征图谱分析中的赤芍对照药材为考察对象, HPLC 法与 UHPLC 法中指定特征峰相对保留时间和相对峰面积的相对偏差分别在 $\pm 2\%$ 和 $\pm 3\%$ 以内, 即方法转换前后各特征峰的色谱保留行为基本一致, MethodTransfer 可有效地用于 HPLC 法与 UHPLC 法转换, 助力中药配方颗粒特征图谱分析。

UHPLC法快速测定中药制剂中人参皂苷Re、Rg1和Rb1

摘 要：本文采用 LC-40 高效液相色谱仪，建立了中药制剂中人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1 测定方法。方法采用快速液相方法进行分离，取得了良好的分离效果。连续 6 针进样，人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1 的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.11%~0.36%和 0.13%~0.47%之间，表明仪器精密度良好。实验结果表明，该方法能快速准确地测定中药制剂中人参皂苷。

关键词：LC-40 高效液相色谱仪 中药制剂 人参皂苷

人参皂苷（Ginsenoside）是一种固醇类化合物，三萜皂苷。主要存在于人参属药材中。人参皂苷被视为是人参、红参及人参属类中药制剂中的主要活性成分，因此被广泛研究。

人参皂苷的测定参照《中国药典》2015年版中规定，使用高效液相色谱法对其有效成分人参皂苷Rg1、人参皂苷Re和人参皂苷Rb1含量进行测定。

在使用常规HPLC进行分析时，需要长达110分钟的分析时间，分析效率相对较低，并且人参皂苷Re和Rg1较难分离。本实验使用Nexera LC-40高效液相色谱仪，以2.2 μm 填料色谱柱进行分离，建立了快速测定中药制剂中人参皂苷含量的方法，且人参皂苷Re和Rg1具有良好的分离度。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera X3 液相色谱仪，具体配置为：

系 统 控 制 器 ： SCL-40 脱 气 机 ： DGU-405
输 液 泵 ： LC-40B X3 自 动 进 样 器 ： SIL-40C X3
柱 温 箱 ： CTO-40S 检 测 器 ： SPD-M40
色 谱 工 作 站 ： LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

色 谱 柱 ： C18 色谱柱（3.0 mm I.D.×150 mm L.，2.2 μm ）
流 动 相 ： A-水； B,-乙腈
流 速 ： 0.8 mL/min
柱 温 ： 55℃
检 测 波 长 ： 203 nm
进 样 体 积 ： 5 μL
洗 脱 方 式 ： 梯度洗脱，B 相起始浓度为 28%，时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.50	Pumps	Pump B Conc.	28

4.50	Pumps	Pump B Conc.	55
7.00	Pumps	Pump B Conc.	55
7.01	Pumps	Pump B Conc.	28
10	Controller	Stop	

2. 样品前处理

参照国家食品药品监督管理局国家药品标准中规定对对照品及供试品溶液进行制备。

对照品溶液制备：取人参皂苷Rg1、人参皂苷Re和人参皂苷Rb1对照片适量，精密称定，加20%乙腈制成每1 mL分别含0.10 mg、0.08 mg和0.2 mg的溶液，即得。

供试品溶液制备：取样品直接测定（某注射液）。

3. 结果与讨论

3.1 标准溶液色谱图

按照1.2中分析条件，将2中配制的对照品溶液上机分析，色谱图如图1所示。较难分离的Re与Rg1分离度达到2.0以上。

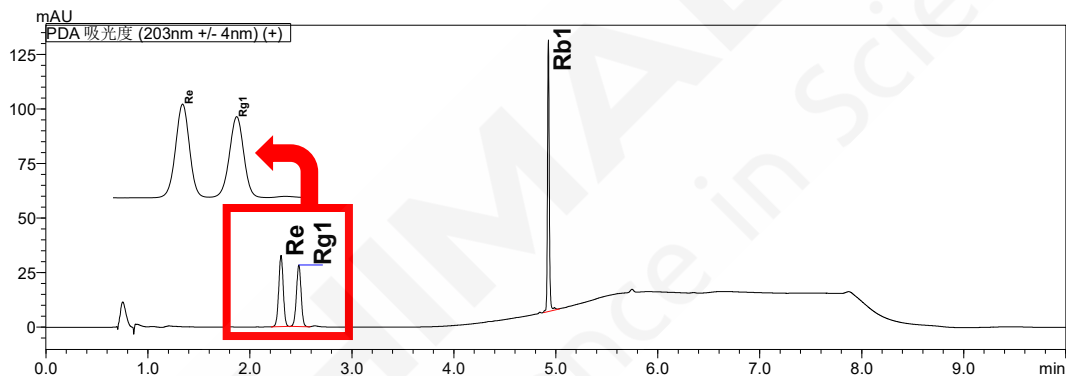


图 1 对照品溶液色谱图

3.2 精密度实验

将配制得到的对照品溶液连续进样6次，考察仪器精密度。人参皂苷Re、Rg1和Rb1的保留时间和峰面积的RSD分别在0.11%~0.36%和0.13%~0.47%之间，仪器精密度良好。详见图2和表2。

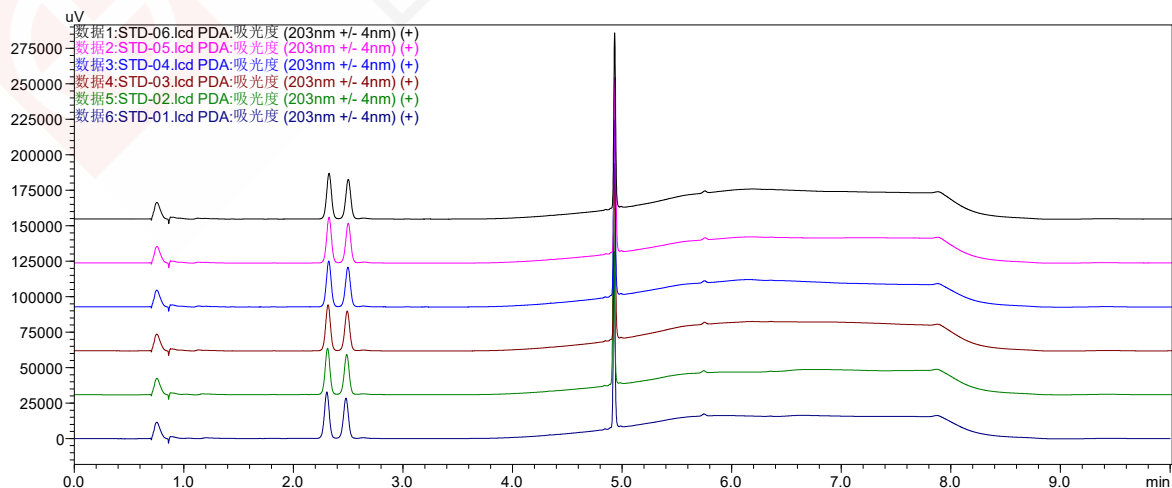


图 2. 对照品溶液 6 针重复性色谱图

表 2. 对照品溶液重复性结果

	Re		Rg1			Rb1	
	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积	分离度	保留时间 (min)	峰面积
1	2.305	101087	2.479	90080	2.088	4.925	146395
2	2.312	100938	2.487	89962	2.096	4.922	146440
3	2.316	100702	2.491	89509	2.086	4.933	146583
4	2.323	100836	2.498	89545	2.072	4.931	145895
5	2.325	100799	2.501	89506	2.075	4.936	146524
6	2.326	100783	2.501	89460	2.074	4.934	147948
RSD (%)	0.36	0.13	0.35	0.30	--	0.11	0.47

3.3 样品测定

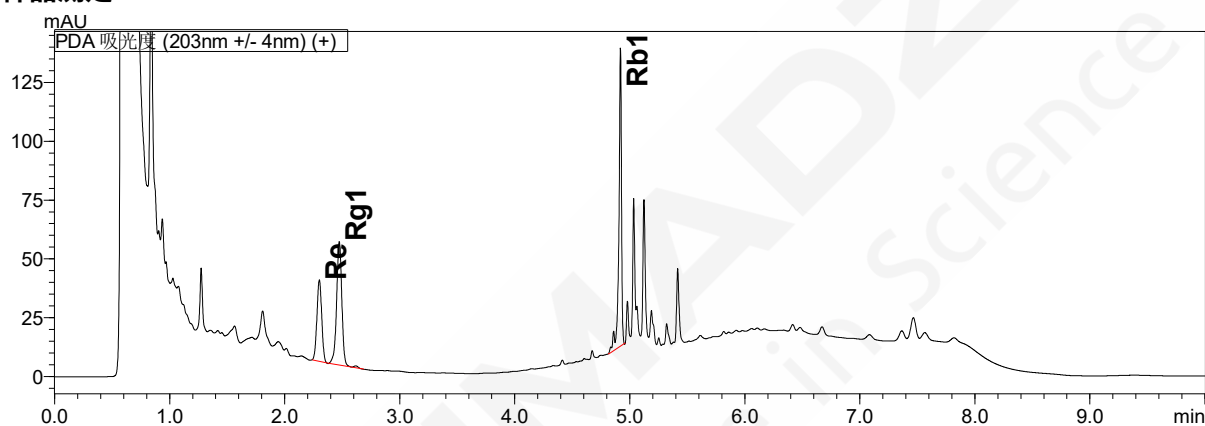


图 3. 供试品溶液色谱图

供试品溶液测定如图 3 所示。连续测定 6 次，人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1 的保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.09%~0.38%和 0.38%~0.49%之间，仪器精密度良好。Rg1 也 Re 分离度良好，Rg1 分离度大于 2.0。

3.4 常规液相方法与 UHPLC 方法比较

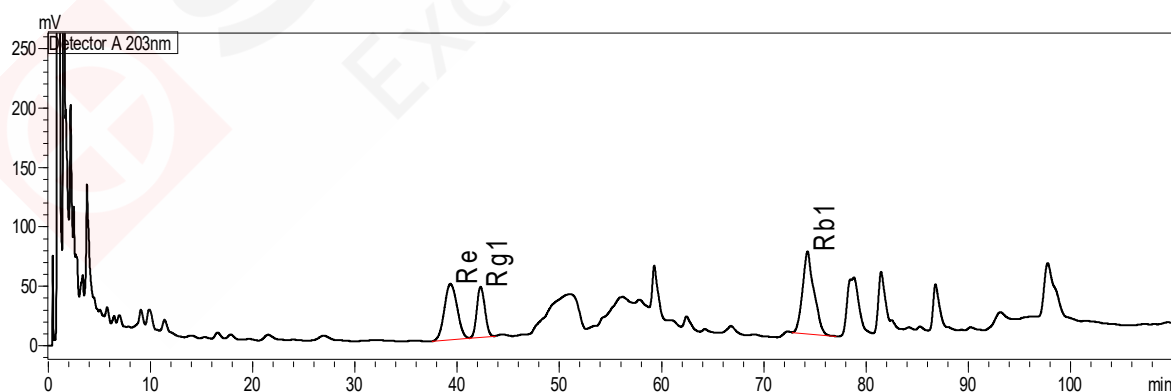


图 4. 人参样品中人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1 分析色谱图（常规液相方法）

使用常规液相方法对人参样品进行测定，使用 5 μm 粒径色谱柱 Inertsil ODS-4(4.6 mm I.D.×150 mm L., 5 μm)进行分析，流速为 1.0 mL/min，采用梯度洗脱方式，其他与 1.2 中条件相同。将常规液相方法进行分析的数据与超高效快速液相方法进行对比，参数详见表 3。同时对所用分析时间及流动相消耗进行

对比，超高效快速液相方法既将单次分析时间缩短为 10 分钟，同时又大大减少流动相的消耗，仅为常规液相的 1/10，详见图 4。

表 3. 人参皂苷分析常规液相与超高效快速液相方法对比

	分析时长 (min)	流动相消 耗 (mL)	Rg1 分离度	峰宽		
				Re	Rg1	Rb1
常规液相方法	110	110	1.57	2.290	1.457	2.410
超高效快速液相方法	10	8	2.07	0.082	0.085	0.032

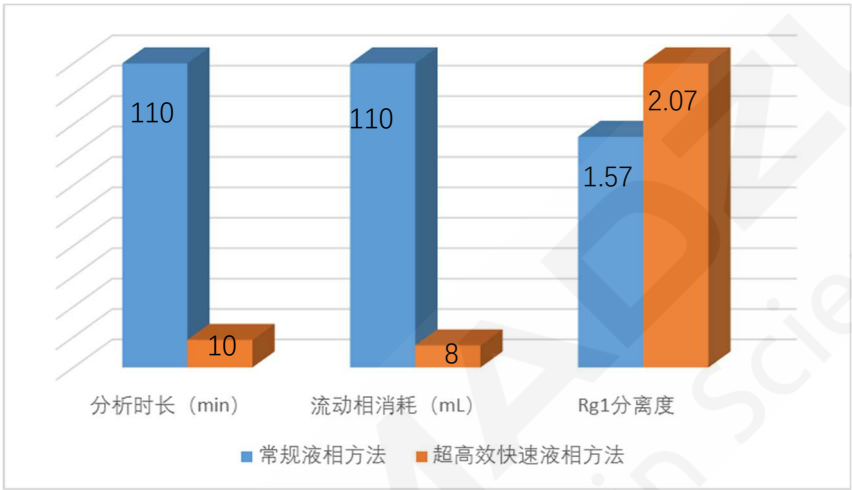


图 5. 人参皂苷分析常规液相与超高效快速液相方法对比

4. 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，建立了中药制剂中人参皂苷的测定方法。方法采用 2.2 μm 填料色谱柱进行分离，取得了良好的分离效果。连续 6 针进样，对照品中人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1 的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.11%~0.36% 和 0.13%~0.47% 之间，表明仪器精密度良好；且 Rg1 的分离度在使用 Nexera LC-40 进行快速分析测定时优于常规液相中测定方法，分析效率大幅提高，测定时间由 110 分钟缩短为 10 分钟，流动相耗费用量降低 92.7%。实际样品分析结果表明，该方法能快速准确地测定中药制剂中人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1。

ATLAS-LEXT NHD自动前处理装置用于银杏叶提取物中萜类内酯的含量分析

摘要：本文使用 ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置，参考《中国药典》分析方法，自动液液萃取银杏叶提取物中萜类内酯，使用超高效液相色谱-蒸发光散射检测法（UHPLC-ELSD）进行定量分析。结果显示：萜类内酯检出限在 0.007 μg ~0.030 μg 之间，定量限在 0.024 μg ~0.099 μg 之间，加标回收率为 97.8 %~103.6 %。与手动液液萃取相比，在本例中，自动液液萃取较手动液液萃取试剂和样品消耗量降低 95%、耗时缩短 40%、通量提升 6 倍。

关键词：ATLAS-LEXT NHD 银杏叶提取物 萜类内酯 ELSD

萜类内酯是银杏叶提取物中一类重要的活性成分，具有独特的十二碳骨架结构，对血小板活化因子 (PAF)受体有强大的特异性抑制作用，被认为是最有临床应用前景的天然PAF受体拮抗剂。

《中国药典》中提供了银杏叶提取物中萜类内酯含量的测定方法，并对萜类内酯总量提出要求。药典采用液液萃取方法，使用高效液相色谱--蒸发光散射检测器进行定量分析。

本文参考《中国药典》分析方法，采用ATLAS-LEXT NHD自动前处理装置对银杏叶提取物进行自动化液液萃取，试剂和样品消耗量小、耗时短、通量大、人力成本低，且具有优异的回收率和重复性，可供相关人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

ATLAS-LEXT NHD 自动前处理装置及岛津 LC-40-ELSD 液相色谱系统。



图 1. ATLAS-LEXT NHD（左）和 LC-40-ELSD（右）

1.2 试验条件

1.2.1 ATLAS-LEXT NHD 前处理条件

混 合 强 度 : 9 级
离 心 速 度 : 5000 rpm
样 品 瓶 架 类 型 : 3
进 样 针 排 液 高 度 : 70 mm

混 合 时 间 : 180 sec
离 心 时 间 : 60 sec
清 洗 溶 液 : 30 %甲醇-水

1.2.2 LC 分析条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D., 3 μm; P/N: 227-30008-05, SGLC)
流 速 : 0.4 mL/min 进 样 量 : 0.5-1 μL
柱 温 : 35°C 洗 脱 方 式 : 等度洗脱
流 动 相 : 正丙醇: 四氢呋喃: 水 (1: 15: 84)
检 测 器 : ELSD, 漂移管 40°C, 增益 Wide, 过滤器 4 s

1.3 对照提取物溶液的制备

取银杏叶总内酯对照提取物适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 2.5 mg 的溶液, 即得。注: 本文使用的银杏叶总内酯对照提取物各成分百分含量为: 白果内酯: 35.81 %, 银杏内酯 A: 27.41 %, 银杏内酯 B: 16.67 %, 银杏内酯 C: 13.00 %。

1.4 供试品溶液的制备方式

1.4.1 手动液液萃取流程

照《中国药典》处理, 取银杏叶提取物 150 mg, 精密称定, 加水 10 mL, 置水浴中温热使溶散, 加 2 %盐酸溶液 2 滴, 用乙酸乙酯振摇提取 4 次 (15 mL、10 mL、10 mL、10 mL), 合并提取液, 用 5 %醋酸钠溶液 20 mL 洗涤, 取醋酸钠溶液层, 再用乙酸乙酯 10 mL 洗涤, 合并乙酸乙酯提取液及洗涤液, 用水洗涤 2 次, 每次 20 mL, 取水层, 用乙酸乙酯 10 mL 洗涤, 合并乙酸乙酯液, 回收溶剂至干, 残渣用甲醇溶解并转移至 5 mL 量瓶中, 加甲醇至刻度, 混匀, 0.22 μm 滤膜过滤, 即得。

1.4.2 ATLAS-LEXT NHD 自定义程序自动液液萃取过程

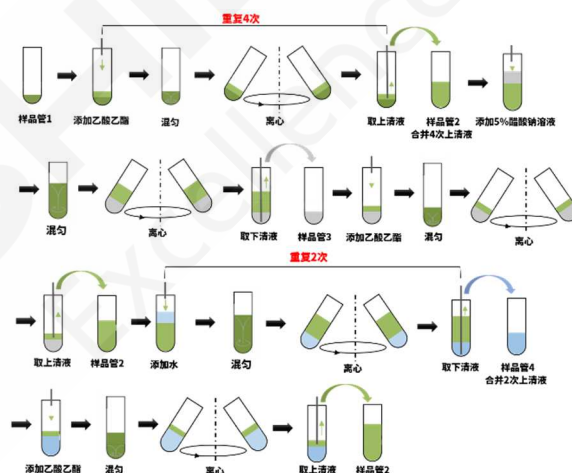


图 2. ATLAS-LEXT NHD 自动液液萃取过程和软件命令控制

取银杏叶提取物 7.5 mg, 精密称定, 加水 0.5 mL, 置水浴中温热使溶散, 加 2 %盐酸溶液 3 μL, 置于 ATLAS-LEXT NHD 样品盘中, 利用 ATLAS 自定义程序完成样品液液萃取过程。流程如下: 用乙酸乙酯振摇提取 4 次 (0.75 mL、0.5 mL、0.5 mL、0.5 mL), 进样针吸液高度 6.9 mm, 合并提取液, 用 5 %醋酸钠溶液 1 mL 洗涤提取液, 进样针吸液高度 0.1 mm, 分取醋酸钠溶液, 再用乙酸乙酯 0.5 mL 洗涤, 进样针吸液高度 10.9 mm, 合并乙酸乙酯提取液及洗涤液, 用水洗涤 2 次, 每次 1 mL, 进样针吸液高度 0.1 mm, 分取水液, 用乙酸乙酯 0.5 mL 洗涤, 进样针吸液高度 18.4 mm, 合并乙酸乙酯液。氮吹至干, 用

250 μL 甲醇复溶，混匀，0.22 μm 滤膜过滤，即得。

1.5 测定法

分别精密吸取对照提取物溶液 5 μL 、10 μL ，供试品溶液 5 μL ，注入液相色谱仪，测定，用外标两点法对数方程分别计算白果内酯、银杏内酯 A、银杏内酯 B 和银杏内酯 C 的含量。

2. 结果与讨论

2.1 手动与自动前处理对比

分别采用手动液液萃取和 ATLAS-LEXT NHD 自动化液液萃取，比较了萃取过程中的试剂用量、时间消耗等，部分对比结果见表 1 和图 3。结果显示，自动液液萃取较手动液液萃取试剂和样品消耗量降低 95%、耗时缩短 40%、通量提升 6 倍。

表 1. 手动与自动前处理试剂用量、耗时及通量对比

液液萃取过程	试剂用量($\text{mL}/\text{样品}$)		时间($\text{min}/\text{样品}$)		通量	
	手动萃取	自动萃取	手动萃取	自动萃取	手动萃取	自动萃取
乙酸乙酯提取	45	2.25	20	12	1	6
醋酸钠溶液洗涤	20	1	5	3	1	6
乙酸乙酯洗涤	10	0.5	5	3	1	6
水洗涤	40	2	10	6	1	6
乙酸乙酯洗涤	10	0.5	5	3	1	6
合计	125	6.25	45	27	-	-

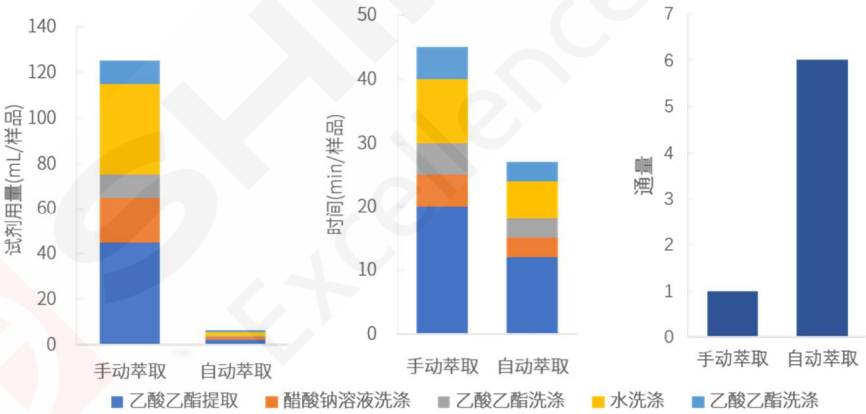


图 3. 手动与自动前处理试剂用量、耗时及通量对比图

2.2 特征图谱

按照 1.2.2 分析条件，对空白溶剂、对照提取物溶液分别上机分析，空白溶剂和对照提取物溶液色谱图对比如图 3 所示，目标物出峰处无干扰。

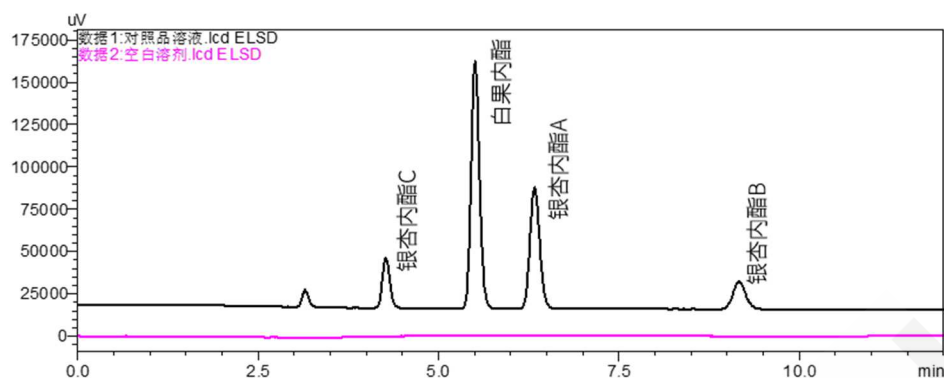


图 3.空白溶剂和对照提取物溶液色谱图

2.3 系统适用性考察

理论塔板数按白果内酯峰计算为 9573,《中国药典》系统适用性项下规定应不低于 2500,本实验结果满足《中国药典》规定。

2.4 检出限、定量限及精密度

Labsolutions软件依据信噪比自动计算检出限 (S/N=3) 及定量限 (S/N=10), 结果见表2。进样量0.5 μL , 将对照提取物溶液连续测定6次, 考察HPLC系统精密度。萜类内酯的保留时间RSD值在0.04 %~0.10 % 之间, 峰面积RSD值在2.04 %~2.80 %之间, 仪器精密度良好, 详见表2。

表 2. HPLC 方法学考察结果

化合物	检出限(μg)	定量限(μg)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD(%)
白果内酯	0.007	0.024	0.04	2.59
银杏内酯	0.011	0.037	0.05	2.57
银杏内酯	0.030	0.099	0.10	2.04
银杏内酯	0.013	0.043	0.06	2.80

2.5 加标回收率

精密称取已知萜类内酯含量的银杏叶提取物样品2组, 每组6份, 再分别加入银杏叶总内酯对照提取物。第一组按照“1.4.1 手动液液萃取流程”, 第二组按照“1.4.2 ATLAS-LEXT NHD自定义程序自动液液萃取过程”制备供试品溶液, 上机分析并计算回收率。添加量及加标回收率结果如下图表所示。结果显示, ATLAS-LEXT NHD自动化液液萃取的回收率和重复性与手动液液萃取相当。

表 3. 加标回收率结果(n=6)

前处理方式	化合物	样品测定值 (μg)	添加量 (μg)	实测值 (μg)	平均回收率 (%)	RSD(%)
手动萃取	白果内酯	0.5408	0.0895	0.6238	92.7	3.32
	银杏内酯 A	0.3611	0.0685	0.4271	96.4	5.90
	银杏内酯 B	0.2077	0.0417	0.2461	92.1	1.52
	银杏内酯 C	0.2139	0.0325	0.2468	101.2	3.23

自动萃取	白果内酯	0.4755	0.0895	0.5645	99.4	2.76
	银杏内酯 A	0.3092	0.0685	0.3802	103.6	1.81
	银杏内酯 B	0.1976	0.0417	0.2404	102.6	2.28
	银杏内酯 C	0.1901	0.0325	0.2219	97.8	2.40

2.6 实际样本分析的应用

按照“1.4.2 ATLAS-LEXT NHD自定义程序自动液液萃取过程” 平行制备6个样本供试品溶液， 上机分析，测定结果见表4。

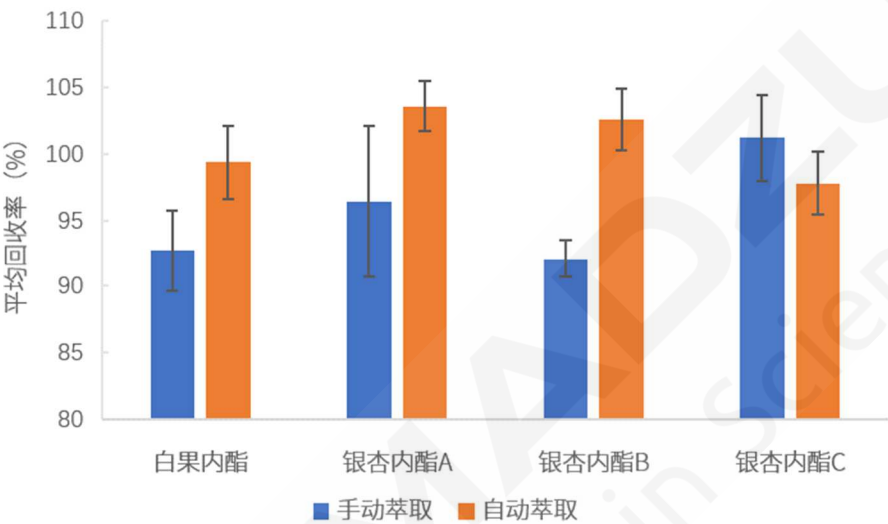


图 4.手动萃取和自动萃取对待测物回收率的影响

表 4. 样品测定结果

化合物	测定值(μg)						平均值 (μg)	RSD (%)	样品量 (mg)	萜类内酯 占比(%)
	1	2	3	4	5	6				
白果内酯	247.5	235.6	231.8	244.0	235.2	232.4	237.8	2.73	7.49	7.83
银杏内酯 A	157.0	151.0	149.0	159.6	158.7	152.4	154.6	2.84		
银杏内酯 B	96.10	100.05	97.60	101.4	100.8	96.90	98.8	2.24		
银杏内酯 C	99.65	93.20	93.20	96.05	95.55	92.75	95.05	2.76		

3. 结论

本文建立了 ATLAS-LEXT NHD 自动化液液萃取银杏叶提取物中萜类内酯，使用超高效液相色谱-蒸发光散射检测法（UHPLC-ELSD）进行定量分析的方法。ATLAS-LEXT NHD 可进行自定义液液萃取过程，试剂和样品消耗量小、耗时短、通量大、人力成本低，且具有优异的回收率和重复性，为中药材自动化前处理提供新的方案，可供相关人员参考。

LC-MSMS法测定辛芩颗粒制剂中4种马兜铃酸

摘要：本文使用岛津三重四极杆液相色谱质谱联用仪（LCMS-8050）开发了辛芩颗粒制剂中4种马兜铃酸的检测方法。实验结果表明，在0.05-100 ng/mL浓度范围内，方法线性良好，线性相关系数在0.9995-0.9999之间。曲线各标点准确度在90.8-111.6%之间。1 ng/mL标准溶液连续进样6次，保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在0.04-0.06%和1.5-2.8%之间，方法精密度良好。0.025 mg/kg、0.5 mg/kg和2.5 mg/kg三个不同浓度加标回收率在90.7-103.4%之间，平行三份样品的相对标准偏差(RSD%)分别在1.5-4.3%之间。该方法简单、方便、准确，适用于辛芩颗粒制剂中马兜铃酸的检测。

关键词：LCMS-8050 辛芩颗粒制剂 马兜铃酸

马兜铃酸类化合物(aristolochic acids, AA)是马兜铃科马兜铃属植物特有的一类硝基菲类化合物，包括马兜铃酸A、B、C、D等，其中马兜铃酸A为主要毒性成分。近几年，临床不断出现含马兜铃酸类成分的药品引起肾脏损害的病例，国内外期刊也相继发表了含马兜铃酸药品使用安全性的评论。美国食品药品监督管理局(FDA)在2000年5月禁止了包括关木通、马兜铃、青木香、天仙藤、广防己、木防己等同名异物、异名同物品种的相关草药和中成药的进口和销售。我国也采取了一系列风险防控措施，其中包括取消关木通、广防己和青木香的药用标准，并分别用木通、防己和土木香替代使用等。

细辛属马兜铃科植物，由于辛芩制剂中含有该药材，因此很有必要对辛芩制剂中马兜铃酸类化合物含量进行监测，为国家药品质量标准的提高提供依据。本文采用岛津三重四极杆液质联用仪LCMS-8050，建立了辛芩颗粒制剂中4种马兜铃酸的分析方法，供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	脱气机：	DGU-20A _{5R}
输液泵：	LC-30AD×2	自动进样器：	SIL-30ACMP
柱温箱：	CTO-30A	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.99

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-pack Velox C18 (100 mm × 2.1 mm I.D., 2.7 μm, P/N:227-32009-03, 岛津（上海）实验器材有限公司)

流速：0.3 mL/min

柱温：15°C

进样量：2 μL

流 动 相：A 相-(0.1%甲酸，1 mmol/L 乙酸铵)水；B 相-甲醇
洗 脱 方 式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 50%，洗脱程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
6.00	Pumps	Pump B Conc.	70
7.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.00	Pumps	Pump B Conc.	95
8.10	Pumps	Pump B Conc.	50
11.00	Controller	Stop	

质谱条件：

离子源：ESI，正离子模式
雾化气：氮气 3.0 L/min
干燥气：氮气 10.0 L/min
加热气：空气 10.0 L/min
DL 管温度：200 °C

加热模块温度：400 °C
接口温度：300 °C
扫描模式：多反应监测(MRM)
MRM 参数：见表 2

表 2. MRM 参数

No.	名称	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	马兜铃酸 A	313-67-7	359.05	298.00*	-26.0	-13.0	-20.0
				296.00	-26.0	-14.0	-30.0
2	马兜铃酸 B	475-80-9	329.05	268.15*	-16.0	-13.0	-18.0
				294.10	-24.0	-13.0	-29.0
3	马兜铃酸 C	4849-90-5	345.00	282.05*	-26.0	-13.0	-13.0
				284.05	-13.0	-13.0	-19.0
4	马兜铃内酰胺	13395-02-3	294.05	279.10*	-11.0	-27.0	-28.0
				251.05	-21.0	-35.0	-26.0

注：*表示定量离子

1.3 标准品溶液制备

马兜铃酸混合标准储备液：精密称取 4 种马兜铃酸标准品各 10 mg，用甲醇定容至 100 mL 容量瓶中，制得 100 µg/mL 标准储备液。

马兜铃酸混合标准系列工作溶液：从上述储备液中移取适量，用空白基质配制成 0.05 ng/mL、0.1 ng/mL、0.5 ng/mL、1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 标准系列工作溶液。

1.4 样品前处理

准确称取 1 g 试样至 50 mL 离心管中，加入 70%甲醇 25 mL，涡旋混匀 2 分钟，超声处理 30min，取出，放冷，以 10000 转/分的速率离心 10 分钟，将上清液过 0.22 µm 滤膜过滤，取滤液上机。

2. 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

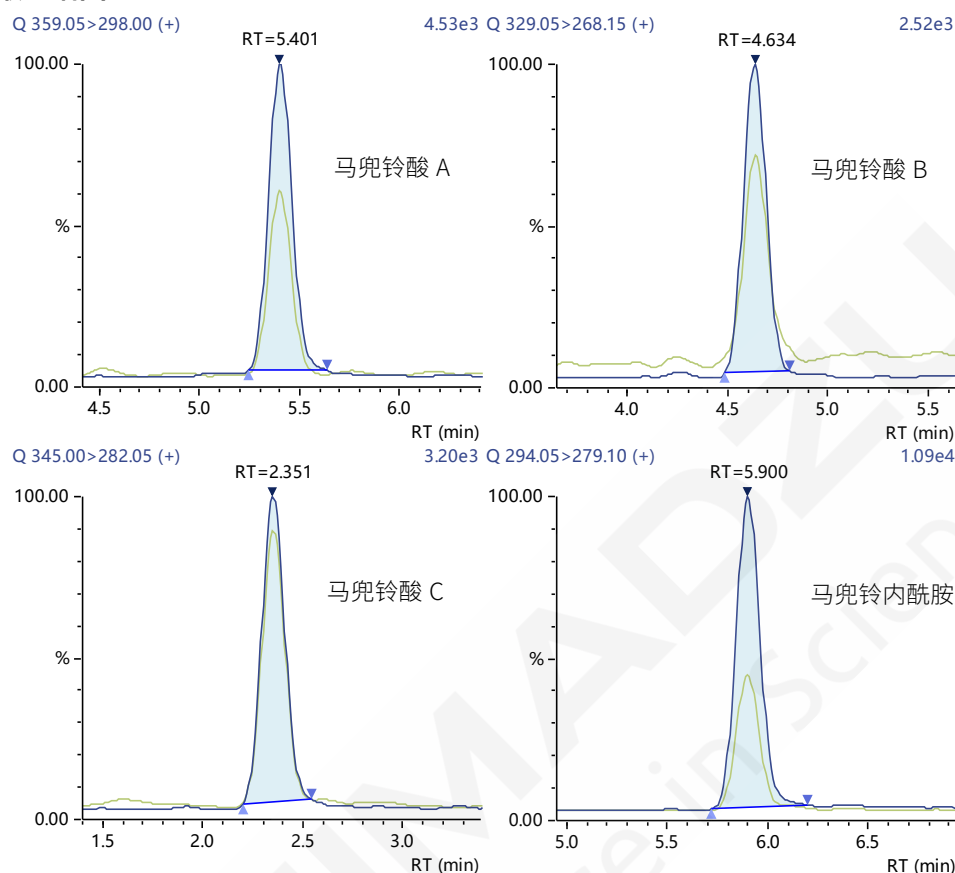


图 1. 4 种马兜铃酸标准品溶液 (0.5 ng/mL) MRM 色谱图

2.2 线性范围

将 1.3 中制备的 0.05、0.1、0.5、1、5、10、50、100 ng/mL 标准系列工作溶液，取 2 μ L 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，使用外标法拟合工作曲线。校准曲线见图 2。各浓度点线性回归的准确度、判定系数 R^2 等结果见表 3。

表 3. 校准曲线信息

化合物	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	判定系数 R^2
马兜铃酸 A	0.05-100	96.3-111.3	0.9998
马兜铃酸 B	0.05-100	93.3-111.6	0.9999
马兜铃酸 C	0.05-100	95.6-108.4	0.9995
马兜铃内酰胺	0.05-100	90.8-111.0	0.9999

2.3 重复性考察

1 ng/mL 浓度对照品溶液，连续进样 6 次，考察保留时间和峰面积的重复性，结果如下表 4 所示。保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.04-0.06%和 1.5-2.8%之间，方法精密度良好。

表 4.1 ng/mL 马兜铃酸标准溶液连续 6 针重复性结果

化合物	RSD% (1 ng/L)	
	R.T.	Area
马兜铃酸 A	0.05	1.5
马兜铃酸 B	0.06	2.8
马兜铃酸 C	0.04	2.7
马兜铃内酰胺	0.04	1.9

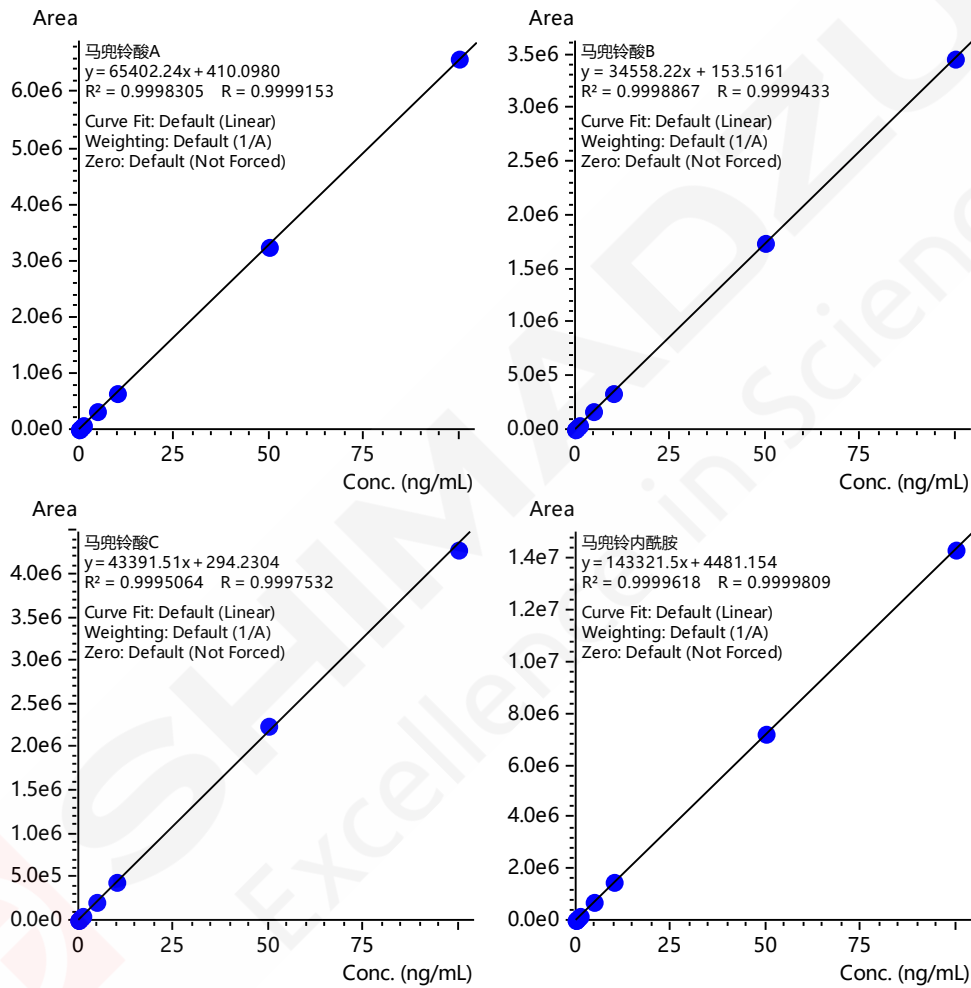


图 2.4 种马兜铃酸工作曲线

2.4 加标回收率及重复性考察

按照 1.4 前处理方法，对辛芩颗粒制剂样品进行低、中、高三个浓度水平加标回收率考察。每个浓度平行制备三份样品，进行重复性考察。低、中、高三个加标浓度分别为 0.025 mg/kg、0.5 mg/kg 和 2.5 mg/kg。三水平加标回收率及重复性结果见表 5。

表 5. 三浓度水平加标回收率及重复性计算结果 (n=3)

名称	0.025 mg/kg		0.5 mg/kg		2.5 mg/kg	
	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)	回收率(%)	RSD(%)
马兜铃酸 A	97.9	1.5	95.1	2.2	94.4	3.5
马兜铃酸 B	93.8	3.4	93.3	3.1	90.7	2.4
马兜铃酸 C	98.0	2.7	94.7	1.9	93.1	3.5
马兜铃内酰胺	97.4	1.8	92.4	2.8	103.4	4.3

3. 结论

本文利用岛津 LCMS-8050 三重四级杆液质联用仪定量测定了辛芩颗粒制剂中 4 种马兜铃酸。实验结果表明, 在 0.05-100 ng/mL 浓度范围内, 方法线性良好, 线性判定系数在 0.9995-0.9999 之间。曲线各标点准确度在 90.8-111.6%之间。1 ng/mL 标准溶液连续进样 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差(RSD%)分别在 0.04-0.06%和 1.5-2.8%之间, 方法精密度良好。0.025 mg/kg、0.5 mg/kg 和 2.5 mg/kg 三个不同浓度加标回收率在 90.7-103.4%之间, 平行三份样品的相对标准偏差(RSD%)在 1.5-4.3%之间。该方法灵敏, 准确, 稳定性好, 回收率高, 抗假阳性能力强, 适用于辛芩颗粒制剂中 4 种马兜铃酸的检测。

GC 法测定药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质含量

摘要：本文利用岛津 Nexis GC-2030 气相色谱仪，建立了药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇 6 种杂质的测定方法。在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.999。5 $\mu\text{g/mL}$ 标液连续进样 6 针，峰面积比 RSD%均小于 3 %。加标回收率在 88.1~110.8 % 之间。该方法准确、可靠，可以应用于药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测。

关键词：气相色谱 药用辅料 聚山梨酯80 杂质

聚山梨酯80是中药注射剂种常用的增溶辅料，目前用于药品生产中的聚山梨酯80品种繁多、质量良莠不齐，缺乏完善的质量标准对其进行监管。因此，有必要重视对辅料聚山梨酯80的质量评价，从而进一步从源头上确保药品的安全性和有效性。

环氧乙烷是聚山梨酯80生产中所使用的原料，可在产品中存在残留；在合成过程中环氧乙烷还可产生二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇及三甘醇等副产物，该类物质均会对人体产生一定的毒性。因此通过建立气相色谱法对这六种杂质同时进行测定。

本文使用岛津Nexis GC-2030建立了聚山梨酯80中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的检测方法。该方法具有良好的线性、重复性和回收率，适用于药用辅料聚山梨酯80中这六种杂质残留量的测定。

1. 实验部分

1.1 仪器

Nexis GC-2030 气相色谱仪

1.2 分析条件

色 谱 柱 ： SH-Stabilwax (30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μm)

柱 温 程 序 ： 35 $^{\circ}\text{C}$ (3 min)_30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _125 $^{\circ}\text{C}$ _10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _160 $^{\circ}\text{C}$ _50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _240 $^{\circ}\text{C}$ (20 min)

进样口温度 ： 230 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式 ： 恒线速度方式

线 速 度 ： 40.8 mL/min

进 样 方 式 ： 分流进样

分 流 比 ： 10:1

F I D 温 度 ： 250 $^{\circ}\text{C}$

2. 样品前处理

准确称量聚山梨酯80样品4 g，加入甲醇溶解定容，制成每1mL含40 mg聚山梨酯80的溶液，取此溶液

1 mL至进样小瓶待测。

3. 结果与讨论

3.1 乙二醇、二甘醇、三甘醇混合标准溶液谱图

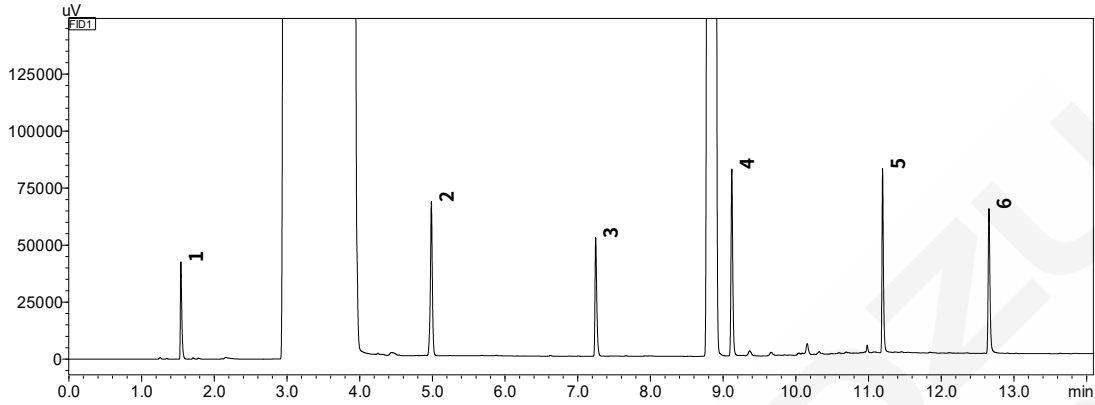


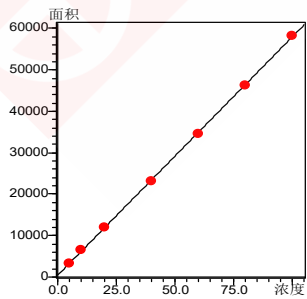
图 1. 聚山梨酯 80 中 6 种杂质色谱图 (100 $\mu\text{g/mL}$)

表 1. 化合物信息

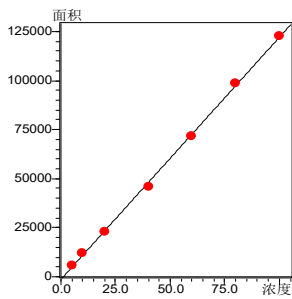
No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间(min)
1	环氧乙烷	Ethylene oxide	75-21-8	1.540
2	二氧六环	1,4-Dioxane	123-91-1	4.986
3	氯乙醇	2-Chloroethanol	107-07-3	7.247
4	乙二醇	Ethylene glycol	107-21-1	9.119
5	二甘醇	Diethylene glycol	111-46-6	11.193
6	三甘醇	Triethylen glycol	112-27-6	12.656

3.2 校准曲线和检出限

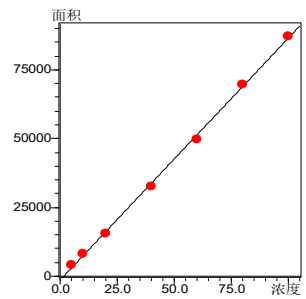
以甲醇为溶剂配制浓度为5、10、20、40、60、80、100 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液序列，对各浓度对照品溶液进行检测，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制校准曲线，校准曲线如图2所示，以3倍信噪比计算3种化合物检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表2所示。



环氧乙烷



二氧六环



氯乙醇

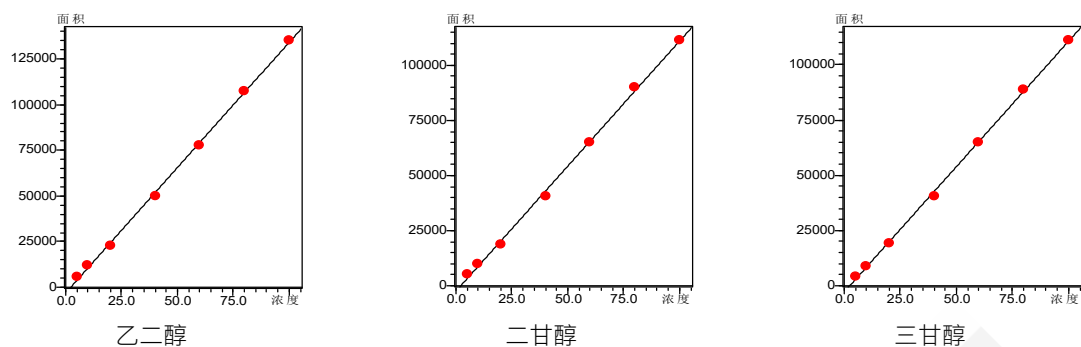


图 2.6 种化合物校准曲线

表 2. 各组分相关系数及检出限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	环氧乙烷	0.9999	0.55
2	二氧六环	0.9996	0.42
3	氯乙醇	0.9994	0.48
4	乙二醇	0.9995	0.40
5	二甘醇	0.9992	0.39
6	三甘醇	0.9995	0.50

3.3 重复性实验

取5 $\mu\text{g/mL}$ 标准品溶液，连续进样6次，考察仪器的重复性，测定结果见表3。

表 3. 3 种化合物重复性结果

No.	化合物名	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD%
1	环氧乙烷	3220	3115	3220	3185	3186	3114	1.52
2	二氧六环	5850	5823	6059	6053	5865	5689	2.43
3	氯乙醇	3971	4001	4067	4036	4028	3940	1.15
4	乙二醇	5694	5724	5690	5701	5719	5807	0.76
5	二甘醇	4965	4912	4882	4830	4858	4957	1.10
6	三甘醇	4394	4329	4283	4323	4334	4411	1.10

3.4 加标回收率

样品测试色谱图如图3所示，4种化合物有检出。将此样品进行加标实验，加标浓度为250 $\mu\text{g/g}$ ，回收率结果如表5所示。

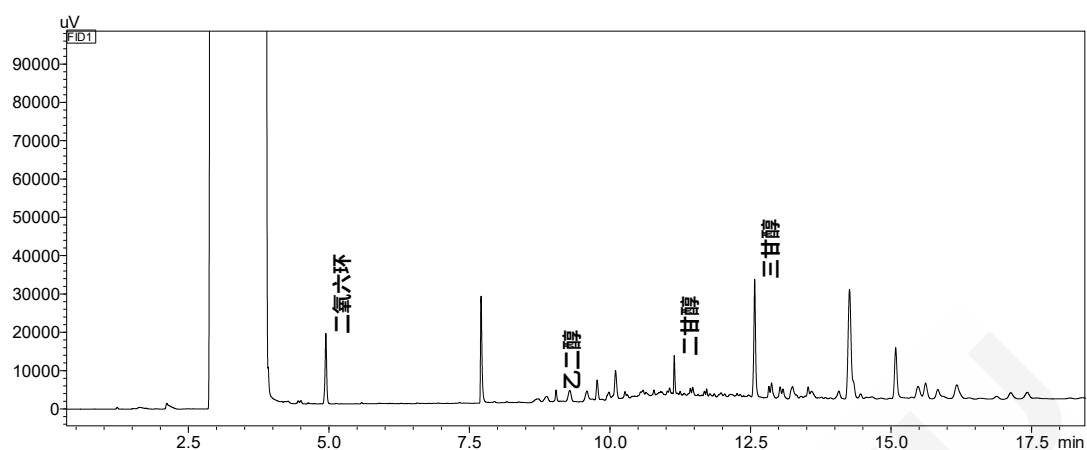


图3. 样品测试谱图

表 4. 样品加标实验结果 ($\mu\text{g/g}$)

No.	名称	样品测试结果	加标测试结果			平均回收率 (%)
			1	2	3	
1	环氧乙烷	0.00	292.35	291.75	246.60	110.8
2	二氧六环	771.98	1022.68	1014.20	1020.38	98.8
3	氯乙醇	0.00	275.43	272.50	264.45	108.3
4	乙二醇	155.10	385.28	394.58	402.88	95.7
5	二甘醇	341.78	555.55	557.40	584.25	89.6
6	三甘醇	1537.2	1766.5	1750.0	1756.4	88.2

4. 结论

本文利用岛津 Nexis GC-2030 气相色谱仪,建立了药用辅料聚山梨酯 80 中环氧乙烷、二氧六环、氯乙醇、乙二醇、二甘醇、三甘醇的测定方法。方法显示在 5~100 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内线性关系良好,相关系数 R 均大于 0.999。5 $\mu\text{g/mL}$ 标液连续进样 6 针,峰面积比 RSD%均小于 3 %。250 $\mu\text{g/g}$ 浓度加标回收率在 88.2~110.8 %之间。方法具有良好的线性、重复性和回收率,适用于药用辅料聚山梨酯 80 中 6 种杂质的检测。

ICPMS 法测定注射剂辅料中的元素杂质含量

摘要：本文参考 ICH Q3D 元素杂质指南及 USP<233>对杂质元素的测定方法，利用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）测定了注射剂辅料中杂质元素的含量。实验结果表明：各元素的相关系数 $r > 0.9998$ ，加标回收率在 91.7~109.9%之间，满足 USP<233>对样品加标回收率 70%~150%的要求，6 份样品 1 倍限量值加标结果的相对标准偏差小于 3%，方法的精密度值（%RSD）完全符合 USP<233>规定每种目标元素的 RSD 值小于 20%的要求，该方法操作简便、快速，样品前处理简单，可以满足 ICH Q3D 中辅料中杂质元素限量值的测定要求。

关键词：ICH Q3D USP<233> ICP-MS 辅料 杂质元素

原料药制成不同剂型的药用制剂必须加入一些有助于制剂成型、稳定、增溶、助溶、缓释、控释等不同功能和作用的各种辅料。

磺丁基-β-环糊精钠是高水溶性环糊精衍生物，能很好地与药物分子包合形成非共价复合物，从而提高药物的稳定性、水溶性、安全性，降低肾毒性、缓和药物溶血性，控制药物释放速率，掩盖不良气味等。磺丁基-β-环糊精钠对含氮类药物具有特殊的亲和力与包合性，已广泛应用于注射药、口服药、鼻部用药、眼部用药。

元素杂质是药品审评的关注重点之一，是药物研发和全生命周期管理中的重要内容。ICH Q3D元素杂质指南对药用辅料的元素杂质限值进行了规定。2017年，中国成为ICH（人用药品注册技术要求国际协调）正式会员，中国药典2020年版通则9102《药品杂质分析指导原则》中明确要求，应参照ICH Q3D对药物中的无机杂质进行研究。

本文根据该注射剂在临床中的最大日使用剂量以及参考ICH Q3D的限量要求和USP <233>中ICP-MS方法规程，采用直接稀释法处理磺丁基-β-环糊精钠注射剂辅料，使用岛津ICPMS-2030测定了该辅料中多种杂质元素含量。该方法操作简单，定量准确，可以满足ICH Q3D对注射液辅料中杂质元素限量值的测定要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

岛津 ICPMS-2030 电感耦合等离子体质谱仪

1.2 实验器皿及试剂

实验所用器皿分别为塑料或玻璃材质，使用硝酸溶液（1+1）浸泡24小时后，用去离子水冲洗，干燥备用；实验所用HNO₃为优级纯试剂，实验用水为超纯去离子水。

1.3 样品前处理

准确称取30 mg试样，加入Au溶液作为稳定剂（最终溶液中Au浓度为1 mg/L），用1%硝酸定容至10 g，摇匀，待测。同法制备样品空白溶液和样品加标溶液。

1.4 仪器参数

ICP-MS仪器分析条件见表1。

表 1. ICP-MS 分析条件

参 数	参数设定	参 数	参数设定
高频功率	1.20 kW	等离子体气	9.0 L/min
辅助气	1.10 L/min	载气	0.70 L/min
炬管类型	Mini 炬管	雾化器	同心雾化器
雾化室	旋流雾化室	雾化室温度	5°C
采样深度	5.0 mm	高频频率	27.12 MHz
碰撞气	He	碰撞气流速	6 mL/min
池电压	-21 V	能量过滤器电压	7.0 V

2. 结果与讨论

2.1 校准曲线溶液配制

根据该注射剂日最大使用剂量（ ≤ 15 g/day）定义目标元素限值“J”值为分析杂质元素的可接受浓度，即样品经前处理后待测元素在溶液中的最大限值。USP<233> 规定了校准曲线系列为两个标准溶液和一个空白溶液，每个元素标准溶液高浓度为目标限值的1.5倍（即1.5J），低浓度为目标限值的0.5倍（即0.5 J），待测元素的目标限值（即J）。

利用1%硝酸溶液配制空白溶液、0.5J和1.5J浓度的各个元素混合标准溶液，加入Au溶液作为稳定剂（最终溶液中Au浓度为1 mg/L），各元素的限量值及标准溶液浓度见表2。内标元素In、Bi浓度均为50 $\mu\text{g/L}$ ，Ge、Sc浓度为500 $\mu\text{g/L}$ ，采用内标组件在线添加。

表 2. 元素限值及校准曲线溶液浓度系列

元素	分类	注射给药 PDE		元素限值	元素限值 J	校准曲线系列 ($\mu\text{g/L}$)		
		($\mu\text{g/day}$)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/g}$)	($\mu\text{g/L}$)	0	0.5 J	1.5 J
114	镉	1	2	0.13	0.4		0.	0.
208	铅	1	5	0.33	1.0		0.	1.
75	砷	1	15	1.00	3.0		1.	4.
202	汞	1	3	0.20	0.6		0.	0.
59	钴	2	5	0.33	1.0		0.	1.
51	钒	2	10	0.67	2.0		1.	3.
60	镍	2	20	1.33	4.0		2.	6.
7	锂	3	250	16.7	50		25	75
121	铈	3	90	6.00	18		9.	27
95	钼	3	1500	100.	300		15	45
63	铜	3	300	20.0	60		30	90
52	铬	3	1100	73.3	220		11	33

备注：1. PDE为每日允许暴露剂量（ $\mu\text{g/day}$ ）；
2. 根据15 g/day的剂量（参考该注射剂临床使用说明书）及稀释333倍计算得到元素限值（J）

2.2 部分元素校准曲线

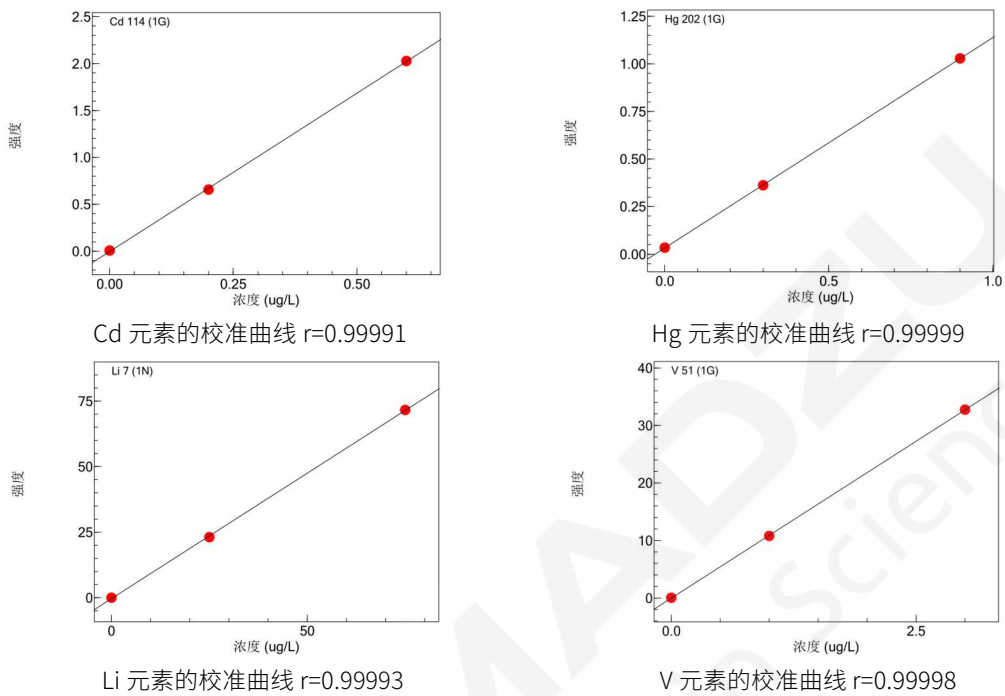


图 1. 各元素校准曲线

2.3 样品分析结果及加标回收率

按照实验方法，对空白溶液重复测定10次，取3倍强度的标准偏差除以曲线斜率求得各元素在溶液中的检出限；根据样品稀释倍数（333倍），求得该方法的检出限；

测定样品中的杂质元素含量，每个样品重复测定3次；

USP<233>的指导原则规定了样品加标回收率的方法是向样品中加入0.5J限量的标准溶液，本实验中分别样品中加入0.5J、1.0J和1.5J的标准溶液，然后求出加标回收率，以便更全面系统的考察方法准确性。

表3. 样品分析结果及加标回收率

分析元素	内标元素	方检出限 ($\mu\text{g/g}$)	分析结果 ($\mu\text{g/L}$)	RSD (n=3,%)	0.5J 加标回收率(%)	1.0J 加标回收率(%)	1.5J 加标回收率(%)
镉 (^{114}Cd)	^{115}In	0.0009	N.D.	-	98.9	98.0	95.7
铅 (^{208}Pb)	^{209}Bi	0.001	N.D.	-	107.2	105.9	106.8
砷 (^{75}As)	^{72}Ge	0.003	N.D.	-	108.4	109.9	108.0
汞 (^{202}Hg)	^{209}Bi	0.002	N.D.	-	96.0	101.6	100.2
钴 (^{59}Co)	^{45}Sc	0.0004	0.010	5.93	91.7	93.7	94.0
钒 (^{51}V)	^{45}Sc	0.0008	0.023	5.06	95.7	97.4	96.7
镍 (^{60}Ni)	^{72}Ge	0.002	0.21	5.64	96.0	96.6	98.0
锂 (^7Li) *	$^{45}\text{Sc}^*$	0.0006	0.12	4.22	100.9	101.6	102.1
锑 (^{121}Sb)	^{115}In	0.002	N.D.	-	99.1	99.5	99.5

钼 (⁹⁵ Mo)	¹¹⁵ In	0.01	N.D.	-	102.3	103.8	103.0
铜 (⁶³ Cu)	⁷² Ge	0.04	N.D.	-	93.3	93.8	93.5
铬 (⁵² Cr)	⁴⁵ Sc	0.001	0.44	3.31	95.5	96.1	95.8

备注：1、*代表无碰撞模式；

2、N.D.代表未检出

分析结果显示，岛津ICPMS-2030质谱仪测定注射剂辅料中的杂质元素含量，各元素的方法检出限远低于元素杂质含量限值，可以满足ICH Q3D对注射剂辅料中杂质元素的限量要求。

0.5倍、1倍和1.5倍的限量值的加标回收率在91.7~109.9%之间，满足USP<233>对样品加标回收率需要70%~150%的要求。

2.4 方法精密度实验

为了验证本方法的重复性，取6份同样的样品，分别向样品中加入各元素的1倍限量值（即1.0J），求出6份样品加标测定结果的RSD值，确定方法的精密度，其结果见表4。

表4 加标样测定结果

加标样（1.0J）测定结果（μg/L）												
元素	Cd	Pb	As	Hg	Co	V	Ni	Li	Sb	Mo	Cu	Cr
1#样品	0.40	1.03	3.26	0.60	0.94	2.00	4.04	50.6	17.9	313	56.4	213
2#样品	0.39	1.05	3.37	0.61	0.95	1.94	4.03	51.2	18.0	313	56.3	211
3#样品	0.39	1.05	3.23	0.59	0.96	1.96	4.03	51.4	18.0	311	55.8	211
4#样品	0.39	1.04	3.30	0.59	0.95	1.92	4.04	52.0	18.2	315	55.9	212
5#样品	0.39	1.07	3.35	0.60	0.98	2.00	4.23	52.7	18.5	323	57.8	218
6#样品	0.38	0.99	3.26	0.62	0.97	2.01	4.13	52.4	18.3	318	57.0	215
RSD/%	1.75	2.61	1.68	2.18	1.63	1.88	1.99	1.53	1.24	1.39	1.33	1.28

结果表明，6份样品1倍限量值加标样测定结果的相对标准偏差小于3%，即该方法的精密度（%RSD）值完全符合USP<233>规定的标准，即每种目标元素的RSD值小于20%。

3. 结论

参考ICH Q3D 元素杂质指南及USP<233>对杂质元素的测定方法，利用电感耦合等离子体质谱法（ICP-MS）测定了磺丁基-β-环糊精钠注射剂辅料中杂质元素的含量。元素线性关系及重复性好，定量准确，各元素的相关系数 $r > 0.9998$ ，加标回收率在91.7~109.9%之间，6份样品1倍限量值加标结果的相对标准偏差小于3%，各指标均符合USP<233>规定的标准。该方法操作简便、快速，样品前处理简单，可以满足ICH Q3D中对注射剂辅料中杂质元素限量值的测定要求。

制药行业纯净水中总有机碳分析干湿法对比

摘要：本文通过对比总有机碳分析中干法（催化燃烧法）和湿法（湿化学法）的不同，验证了同一样品氧化方法不同对分析结果的影响。并对方法中的线性关系、回收率、精密度和检测限进行了考察。

关键词：总有机碳 .中国药典 纯净水 催化燃烧法 湿化学法

总有机碳(Total Organic Carbon, 简称TOC), 是水中有机物污染程度的重要指标。在制药用水、饮用水, 环境监测, 工业排放方面都有非常重要的意义。

1992年, 日本首先对制药注射用水中总有机碳的含量做出强制规定。通过检测制药用水中总有机碳的含量, 监控制水过程是否处于正常状态, 对活性炭的更换、半透膜的劣化和离子交换柱的效能都有重要的意义。1996年和1998年, 美国和欧盟也先后发布了关于制药中注射用水TOC强制检测的规定。中国于2010年7月正式执行中国药典, 借鉴了美国药典的相关规定, 对制药用水中的注射用水强制规定检测TOC, 纯化水可以检测TOC或者用易氧化性试验代替。

总有机碳测量中, 根据氧化方法的不同, 有催化燃烧法和湿化学法两种方法。催化燃烧法就是在碳化合物在高温的状态(680℃)催化燃烧, 产生二氧化碳, 经检测器检测的得到碳的绝对值, 计算出浓度的方法。湿化学法是在加热的状态下, 通过紫外灯照射和过硫酸盐氧化, 把碳化合物氧化成二氧化碳, 进入检测器检测, 计算出浓度的方法。一般的催化燃烧法检测灵敏度不够, 不能检测TOC含量太低的样品。岛津公司开发的高灵敏度型TOC分析仪, 能够大幅提高燃烧法的检测限, 使燃烧法也能用来分析制药用水这样TOC含量极低的样品。

1. 材料和方法

1.1 仪器及试剂:

岛津 TOC-V_{CPH} 型和 TOC-V_{WP} 型总有机碳分析仪

岛津十万分之一电子天平

邻苯二甲酸氢钾: 优级纯

纯水: 经过超纯水机纯化的超纯水

1.2 分析条件

催化剂 : 高灵敏度催化剂 (TOC-V_{CPH}) 型)

气 体 : 高纯氧气 (TOC-V_{CPH} 型) 载气流速 : 150 mL/min (TOC-V_{CPH} 型)

气 体 : 高纯氮气 (TOC-V_{WP} 型) 载气流速 : 200 mL/min (TOC-V_{WP} 型)

2. 结果与讨论

2.1 校准曲线

使用TOC-V_{CPH}型和TOC-V_{WP}型总有机碳分析仪分析配制好的同一套标准溶液，经仪器分析得到校准曲线，如下。

表 1. 燃烧法 NPOC 校准曲线

序列号	TC 浓度 (mg/L)	响应面积
1	0.00	5.811
2	0.50	48.22
3	1.00	97.86
4	5.00	474.4

$R^2=0.9999$

斜率 $k = 94.09$

表 2. 湿化学法 NPOC 校准曲线

序列号	IC 浓度 (mg/L)	响应面积
1	0.00	6.040
2	0.50	88.01
3	1.00	176.6
4	5.00	878.4

$R^2>0.99995$

斜率 $k = 175.0$

(仪器自动按线性回归计算校准曲线。)

燃烧法和湿化学法的校准曲线线性关系均达到0.9999以上。

2.2 回收率试验

以某药厂提供的两个检测样品（1号样品和2号样品）为空白，使用标准加入法分别添加标样浓度0.1 C mg/L和0.09 Cmg/L，得到3号样品和4号样品。

使用催化燃烧法对两个样品进行分析,三次测量取变异系数较小的两个，得回收率数据：

(1)燃烧法3号样品的回收率= $(0.1385-0.02904) / 0.1 \times 100\% = 109.5\%$

(2)燃烧法4号样品的回收率= $(0.1221-0.02904) / 0.09 \times 100\% = 103.4\%$

使用湿化学法对两个样品进行分析,三次测量取变异系数较小的两个，得回收率数据：

(1)湿化学法3号样品的回收率= $(0.1524-0.05149) / 0.1 \times 100\% = 100.9\%$

(2)湿化学法4号样品的回收率= $(0.1400-0.05149) / 0.09 \times 100\% = 98.3\%$

据化学分析方法的一般要求，回收率应该在90—110%之间，上述两种方法的检测结果均符合要求。

2.3 精密度及检出限

取某药厂的两种制药用水（1号样品和2号样品）为样品，分别考察燃烧法和湿化学法在本方法中的精密度和检出限，得如下数据：

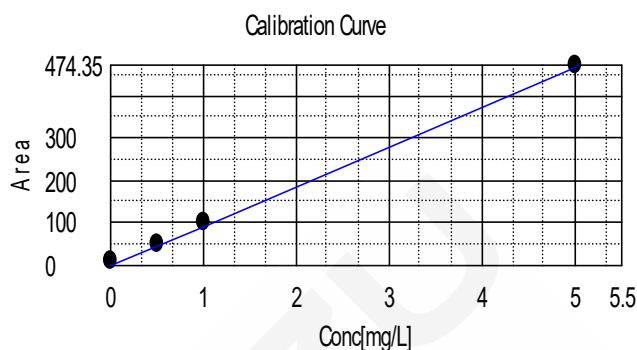


图 1. 燃烧法 NPOC 校准曲线

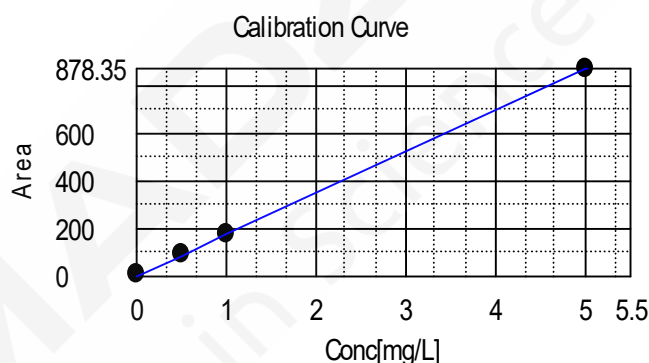


图 2. 湿化学法 NPOC 校准曲线

表 3. 精密度及检出限

样品	重 复 次 数	响应面积	平 均 浓 度 面积 (mg/L)	平 均 浓 度 (mg/L)	变 异 系 数 CV (%)	浓 度 标 准 偏 差 (mg/L)
燃烧法 空白水 1 号样品	1	4.933		0.02752		
	2	5.320		0.02968		
	3	5.019	5.217	0.02800	3.9	0.0011
	4	5.259		0.02934		
	5	5.292		0.02952		
	6	5.479		0.03057		
湿化学法 空白水 2 号样品	1	8.708		0.04976		
	2	8.782		0.05018		
	3	8.755	8.765	0.05003	0.59	0.0003
	4	8.802		0.05030		
	5	8.836		0.05049		
	6	8.707		0.04976		

燃烧法空白水6次进样的精密度CV=3.9%，湿化学法空白水6次进样的精密度CV=0.59%。

依据检测限= $3 \times \text{面积标准偏差} / k = 3 \times \text{浓度标准偏差}$

经计算，在本方法中，燃烧法检出限为0.0033 mg/L，湿化学法检出限为0.0009 mg/L。

2.4 不同样品的分析对比

用两种方法分别测量不同样品，得到数据如下：

样品	1 号 样 品 (mg/L)	2 号 样 品 (mg/L)	某 纯 化 水 (mg/L)	蔗 糖 溶 液 (mg/L)	对 苯 醌 溶 液 (mg/L)	5 号 样 品 (mg/L)
燃烧法	0.02904	0.05422	0.2251	0.5482	0.4949	0.6713
湿化学法	0.02020	0.05149	0.2221	0.5456	0.4821	0.4953

注：5号样品为1号样品在烧杯中经空气中露置3天后，得到的样品。

根据上面的数据对比可以看出，对于制药用水、蔗糖标准溶液、对苯醌标准溶液和纯化水来说，两种氧化方法得到的结果相差不大。对于5号样品，由于经过露置，灰尘的引入和细菌的滋生导致燃烧法的结果比湿化学法高很多，这说明湿化学法对灰尘颗粒和细菌等外来物质的氧化能力不够。

3. 结论

本试验对比了不同氧化方式（催化燃烧法和湿化学法）对制药用水总有机碳分析结果的影响。经检测，本方法两种氧化方法的回收率均在90—110%之间，校准曲线相关系数 R^2 达到0.9999以上，完全符合一般化学检测方法的要求，能够提供可靠的数据结果。湿化学法的精密度CV 0.59%，检测限达到0.0009 mg/L，一般的制药用水、蔗糖标准溶液、对苯醌标准溶液和纯化水都能够充分氧化，非常适合制药用水的检测。催化燃烧法的精密度CV 3.9%，检测限达到0.0033 mg/L，精密度不及湿化学法，但氧化能力更强，能够氧化灰尘等外来物质引入的有机碳，适用范围更广。

HS-GC法测定容器类药包材中环氧乙烷残留量

摘要：本文使用 Nexis GC-2030 结合 HS-20 NX 顶空进样器建立了容器类药包材中环氧乙烷的定量分析方法，并使用 GCMS 进行定性验证。预灌封注射器样品中吸入标示装量的纯水，按药包材环氧乙烷测定法公式稿中方法二提取后，上机分析。结果表明，在 0.4~20 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内，环氧乙烷校准曲线的线性相关系数 R 为 0.9994，线性关系良好。对照品溶液重复进样 6 次，峰面积相对标准偏差为 2.84%。对容器类药包材样品进行加标回收实验，加标平均回收率在 100.5%~104.8%之间。该方法操作简单，结果准确，可用于容器类药包材中环氧乙烷残留量的测定。

关键词：气相色谱仪 容器类药包材 环氧乙烷

环氧乙烷（EO）是一种良好的灭菌剂，具有低腐蚀性、无残留气味、高穿透性等特点，常用于预灌封注射器组合件、滴眼剂瓶等药包材的灭菌。环氧乙烷同时是一种中枢神经抑制剂、刺激剂和致癌物质。1994年，国际癌症研究机构公布的致癌物清单中，已将环氧乙烷划分为1类致癌物。基于此，《国家药包材标准》2015年版中YBB00112004-2015《预灌封注射器组合件(带注射针)》规定环氧乙烷残留量不得高于1 $\mu\text{g/mL}$ 。

2023年1月，国家药典委员会发布了4209《药包材环氧乙烷测定法》公示稿，与现行国家药包材标准中收录的环氧乙烷测定方法YBB00242005-2015《环氧乙烷残留量测定法》比较，在原有外标法（第一法）和校准曲线法（第二法）基础上，增加了气质联用色谱法（第三法），用于环氧乙烷定性验证。

本文参考4209《药包材环氧乙烷测定法》公示稿，利用岛津HS-20 NX结合Nexis GC-2030和GCMS-QP2020 NX建立了容器类药包材中环氧乙烷残留量的定量定性分析方法。该方法灵敏度高、结果准确，满足并优于该标准的要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

顶空自动进样器：HS-20 NX

气相色谱仪：Nexis GC-2030，气相色谱质谱联用仪：GCMS-QP2020 NX

1. 顶空分析条件

恒 温 炉 温 度	: 60°C	恒 温 时 间	: 40 min
样 品 流 路 温 度	: 80°C	传 输 线 温 度	: 100°C
进 样 量	: 1 mL	样 品 瓶 加 压 压 力	: 50 kPa

1.3 GC 分析条件

色 谱 柱 : SH- 624, 30 m×0.25 mm ×1.4 μm
柱 温 程 序 : 50°C(10 min)_30°C/min_200°C(7 min)

进样方式	: 分流进样	分流比	: 10:1
进样口温度	: 200°C	进样量	: 1 µL
载气	: 氮气	色谱柱流量	: 1.5 mL/min
载气控制方式	: 恒线速度	检测器	: FID
检测器温度	: 250°C	空气流量	: 200 mL/min
氢气流量	: 32 mL/min		

1.4 GCMS 分析条件

色谱柱	: SH-I-624Sil MS, 30 m×0.25 mm ×1.4 µm		
柱温程序	: 35°C(10 min)_30°C/min_220°C(1 min)		
进样方式	: 分流进样	分流比	: 20:1
载气	: 氮气	进样量	: 1 µL
载气控制方式	: 恒线速度	色谱柱流量	: 1 mL/min
离子源温度	: 230°C	离子化方式	: EI
色谱质谱接口温度	: 240°C	检测器电压	: 调谐电压+0.1 kV
采集方式	: SCAN, m/z: 29-300		

2. 样品前处理

预灌封注射器样品中吸入标示装量的水，在 37°C±1°C 条件下恒温 1 小时得到供试品溶液，取 5 mL 供试品溶液于 20 mL 顶空瓶中，压盖密封后上机分析。

3. 结果与讨论

3.1 标准品色谱图

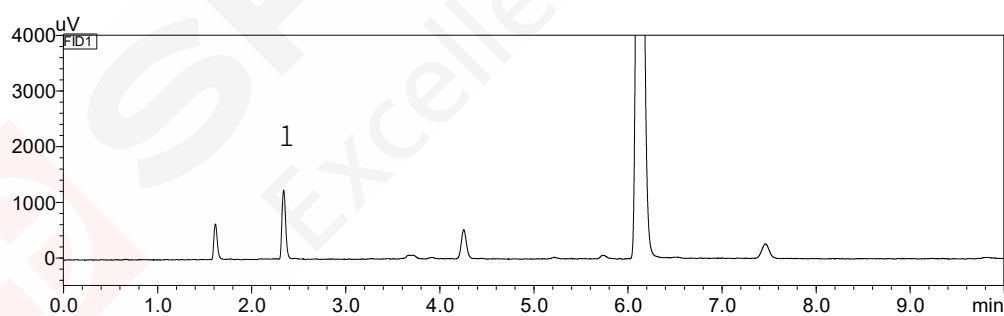


图 1. 环氧乙烷对照品溶液的 GC-FID 色谱图 (2.0 µg/mL)

表 1. 化合物信息表

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)
1	环氧乙烷	Ethylene Oxide	75-21-8	2.340

环氧乙烷对照品溶液 GCMS 色谱图见图 2，环氧乙烷保留时间和特征离子信息见表 2。

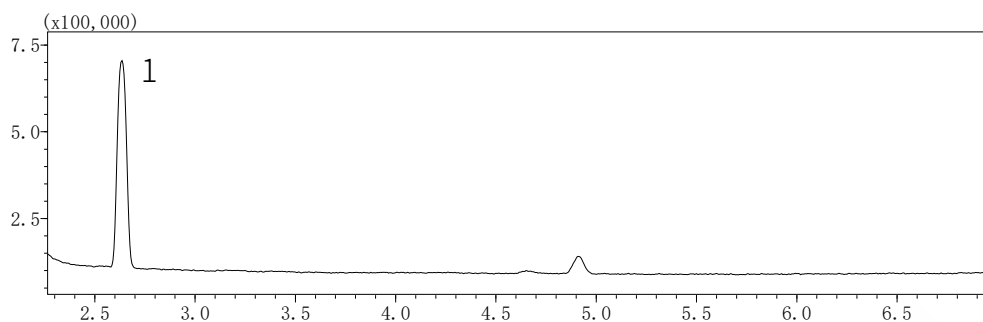


图 2. 环氧乙烷对照品溶液的 GCMS 色谱图 (10 µg/mL)

表 2. GCMS 法中环氧乙烷的保留时间、特征离子

No.	化合物名称	保留时间 (min)	特征离子 (m/z)
1	环氧乙烷	2.635	29、44、43

3.2 分离度测试

药包材中聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET) 材料的分解有可能产生乙醛, 因此环氧乙烷和乙醛有可能同时存在于同一产品中, 这两者性质相似、不易分离, 所以考察它们在色谱柱上的分离情况。取 20 mL 顶空瓶 2 个, 预先各加 5 mL 纯水, 用微量注射器吸取一定体积的环氧乙烷标准溶液和乙醛标准溶液分别注入各项空瓶中, 立即压盖密封, 配置成环氧乙烷和乙醛浓度均为 0.4 µg/mL 及 20 µg/mL 的混合溶液, 进样分析。分离色谱图见图 3 和图 4, 分离度可达到 2.481 (浓度均为 0.4 µg/mL) 和 2.687 (浓度均为 20 µg/mL), 可以完全分离。

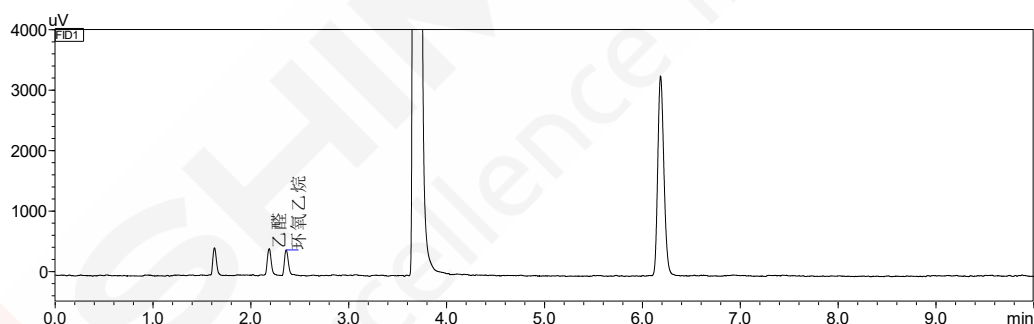


图 3. 环氧乙烷和乙醛浓度均为 0.4 µg/mL 的分离图 (GC-FID)

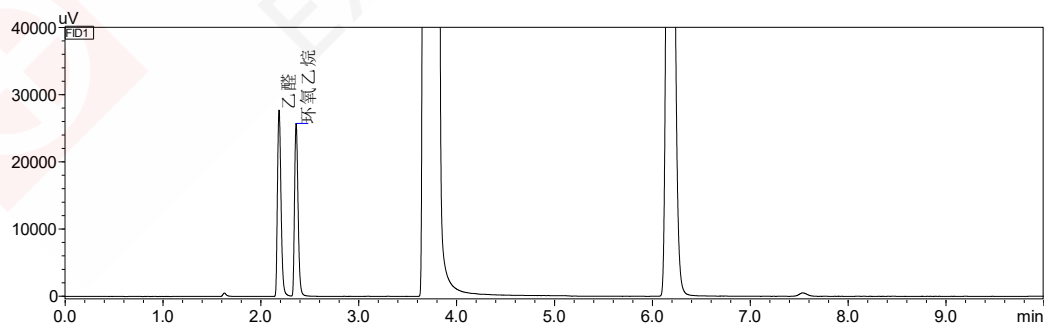


图 4. 环氧乙烷和乙醛浓度均为 20 µg/mL 的分离图 (GC-FID)

3.3 校准曲线和检出限

取 20 mL 顶空瓶 6 个, 预先各加 5 mL 纯水, 用微量注射器吸取一定体积的环氧乙烷标准溶液分别注入各项空瓶中, 立即压盖密封, 配置成浓度为 0.4、1.0、2.0、5.0、10 和 20 µg/mL 的环氧乙烷系列对照品溶液, 经顶空进样, GC-FID 分析。以目标组份浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制校准曲线。同样方法

配置 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液，进样分析，以 3 倍信噪比计算环氧乙烷的仪器检出限，环氧乙烷校准曲线见图 5，校准曲线相关系数以及检出限见表 3。

表 3. 环氧乙烷线性相关系数及仪器检出限

No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)
1	环氧乙烷	0.9994	0.02

3.4 重复性

取 20 mL 顶空瓶 6 个，预先各加 5 mL 纯水，用微量注射器吸取一定体积的环氧乙烷标准溶液分别注入各顶空瓶中，压盖密封。制备浓度为 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 环氧乙烷对照品溶液 6 份，连续测定 6 次，考察环氧乙烷峰面积重复性，结果如表 4。

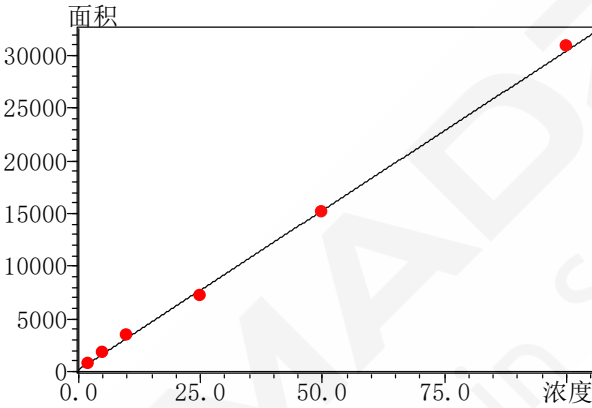


图 5. 环氧乙烷校准曲线

表 4. 环氧乙烷重复性结果

No.	化合物名称	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	峰面积 4	峰面积 5	峰面积 6	RSD (%)
1	环氧乙烷	762	754	754	774	711	753	2.84

3.5 回收率实验

取容器类药包材样品，吸入标示装量的环氧乙烷对照品溶液(0.4 $\mu\text{g/mL}$)，在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 条件下恒温 1 小时得到供试品溶液，取 5 mL 供试品溶液于 20 mL 顶空瓶中，压盖密封，平行制样 3 次。经顶空进样，GC-FID 分析。回收率结果见表 5。

表 5. 回收率结果

No.	化合物名称	回收率 (%)			平均回收率 (%)	RSD(%) (n=3)
		1	2	3		
1	环氧乙烷	104.8	100.7	100.5	102	2.35

3.6 样品测试结果

取某批次预灌封注射器组合件样品，按照步骤 2 进行处理，上机分析。样品中未检出环氧乙烷，测试样品色谱图见图 6。

3.7 气相色谱-质谱分析

环氧乙烷对照品溶液 GCMS 色图见图 2，环氧乙烷保留时间和特征离子等信息见表 2。在实际样品的测定中，如果遇到根据保留时间很难定性确定时，可用 GCMS 进行定性验证。

3.7.1 GCMS 检出限

根据 0.4 $\mu\text{g/mL}$ 对照品溶液 GCMS 数据，以 3 倍信噪比计算出环氧乙烷的检出限为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 。对照品溶液 GCMS 色谱图与空白样品（预灌封注射器样品）对比图，见图 7。

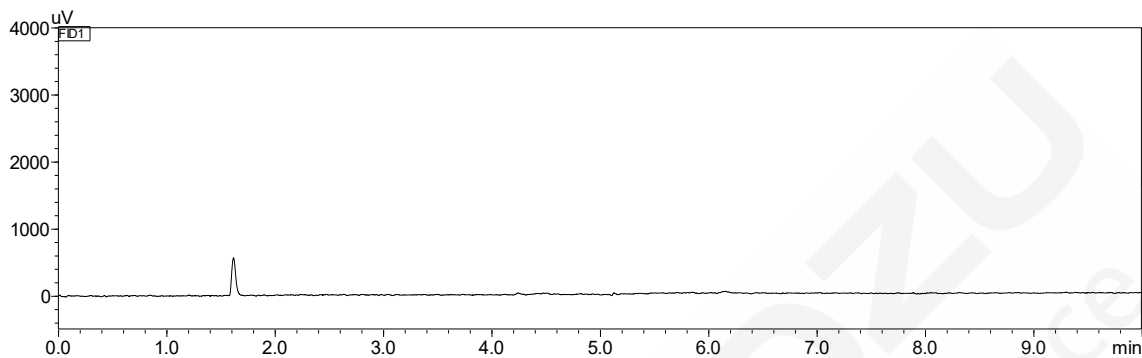


图 6. 预灌封注射器组合件样品谱图

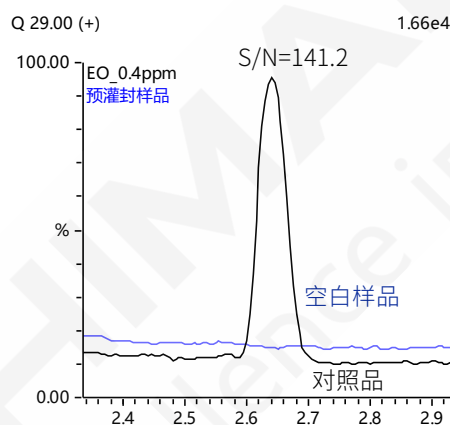


图 7. 环氧乙烷对照品（0.4 $\mu\text{g/mL}$ ）与空白样品（预灌封注射器样品）对比图

3.7.2 样品定性结果

使用 GCMS 分析 3.6 小节中预灌封注射器组合件样品，并采用保留时间结合 NIST 谱库进行定性分析，样品中未检出环氧乙烷，样品 GCMS 色谱图见图 8。

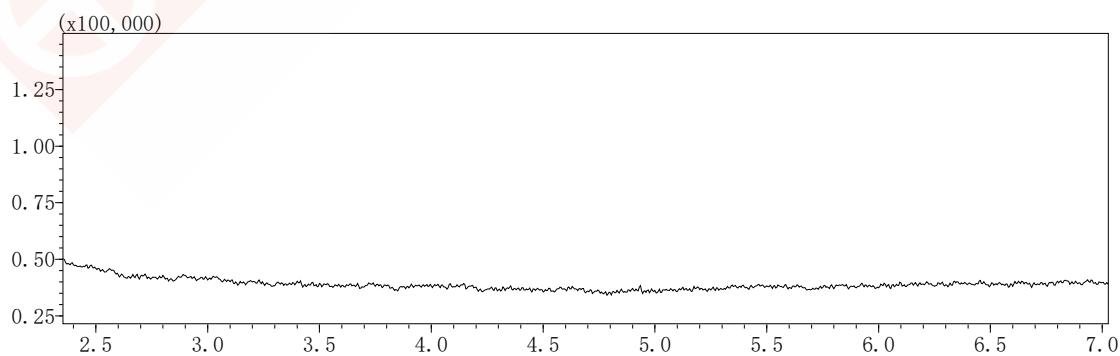


图 8. 预灌封注射器组合件样品 GCMS 色谱图

4. 结论

本文使用 Nexis GC-2030 结合 HS-20 NX 建立了容器类药包材中残留环氧乙烷的定量分析方法。参照《4209 药包材环氧乙烷测定法》，采用 GCMS 进行验证实验，以保留时间结合 NIST 谱库相似度检索，定性验证，检测结果与 GC 法相一致。该方法操作简单、结果准确，满足并优于《4209 药包材环氧乙烷测定法》公示稿要求。本方法可用于测定容器类药包材样品中环氧乙烷残留量。



HS-GCMS法检测药品包材中溶剂残留

摘要：本文利用岛津公司的 HS-20 顶空自动进样器和 GCMS-QP2010 Ultra 气质联用仪，建立了药品包材中溶剂残留的测定方法。该方法灵敏度高，操作简单，可用于药品包材中溶剂残留的快速定性定量测定。

关键词：HS-20 顶空自动进样器 气相色谱质谱联用仪 药品包材 溶剂残留

药品的包装材料通常采用的是高分子材料和金属薄膜等，这些材料在生产的过程中容易残留一些溶剂，另外药品包材在印刷的过程中也会由油墨引入一些溶剂的残留，而这些包装材料又是直接与药品接触的，如果药品受到污染会对人们生命安全构成威胁。因此，对药品包材中的溶剂残留进行检测，对于药品质量的控制来说是非常必要的。

国家食品药品监督管理局发布的《药品包装用复合膜、袋通则》（文号为YBB00132002）就规定了药品包材的溶剂残留总量应当 $\leq 10.0 \text{ mg/m}^2$ ，其中苯类含量 $\leq 3.0 \text{ mg/m}^2$ ，并提供了气相色谱的方法。本文应用岛津公司的HS-20顶空进样器和GCMS-QP2010 Ultra气质联用仪建立了分析药品包材中十六种溶剂残留的方法。该方法灵敏度高，操作简单，可用于药品包材中溶剂残留的快速定性定量测定。

1. 实验部分

1.1 仪器

GCMS-QP2010 Ultra 气相色谱-质谱联用仪，HS-20 顶空进样器（岛津公司）

1.2 分析条件

HS-20条件：

恒温炉温度	: 80°C	恒温时间	: 30 min
样品流路温度	: 160°C	传输线温度	: 170°C
加压平衡时间	: 0.1 min	平衡压力	: 70 kPa
进样时间	: 0.5 min	GC循环时间	: 25 min

GCMS条件：

色谱柱	: Rtx-624, 60m×0.32mm×1.8μm		
柱温程序	: 35°C(2 min)_20°C/min_220°C(5 min)		
进样方式	: 分流	分流比	: 10:1
载气控制方式	: 恒线速度 36.0 cm/sec	接口温度	: 230°C
离子源温度	: 230°C	离子化方式	: EI
采集方式	: SIM		

1.3 样品前处理

裁取一定面积样品，剪碎置于20 mL顶空瓶中，密封后待测。

2. 结果与讨论

2.1 标准谱图

配制10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准储备溶液，稀释至500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，加入10 μL 的500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准溶液（绝对量5 μg ）至顶空瓶中，立即密封，进行顶空进样质谱全扫描分析，所得标准TIC图如图1。各种组分的保留时间、CAS号、目标离子等见表1。

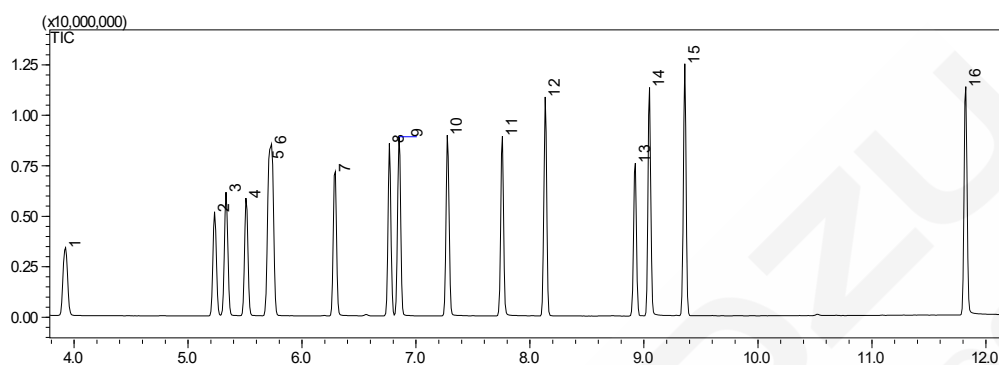


图 1. 5 μg 标准品 TIC 图

表 1. 组分相关信息

No.	组分	保留时间	CAS	目标离子	参考离子 1	参考离子 2
1	甲醇	3.915	67-56-1	31	32	29
2	丙酮	5.228	67-64-1	43	58	42
3	异丙醇	5.329	67-63-0	45	43	29
4	乙腈	5.504	75-05-8	41	40	39
5	二氯甲烷	5.702	75-09-2	49	84	86
6	2-甲基-2-丙醇	5.732	75-65-0	59	31	41
7	1-丙醇	6.281	71-23-8	31	29	42
8	乙酸乙酯	6.761	79-20-9	43	29	45
9	2-丁醇	6.846	78-92-2	45	59	31
10	2-甲基-1-丙醇	7.27	78-83-1	43	41	42
11	1-丁醇	7.751	71-36-3	56	31	41
12	正丙酸乙酯	8.128	109-60-4	43	61	73
13	甲苯	8.917	108-88-3	91	92	65
14	1-戊醇	9.04	71-41-0	42	55	41
15	乙酸丁酯	9.351	123-86-4	43	56	41
16	2-乙基-1 己醇	11.815	104-76-7	57	41	43

2.2 校准曲线&重复性

将标准储备液稀释至 1、2、5、10、20、50、100、200、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，分别加入 10 μL 至顶空瓶中，对应的各溶剂的加标量为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、2、5 μg ，所得校准曲线如图 2。由于篇幅所限，仅列出部分组分校准曲线。线性相关系数、0.2 μg 加标样品 3 次测定的 RSD 值以及根据 0.02 μg 加标样品计算所得检出限(3S/N)见表 2。

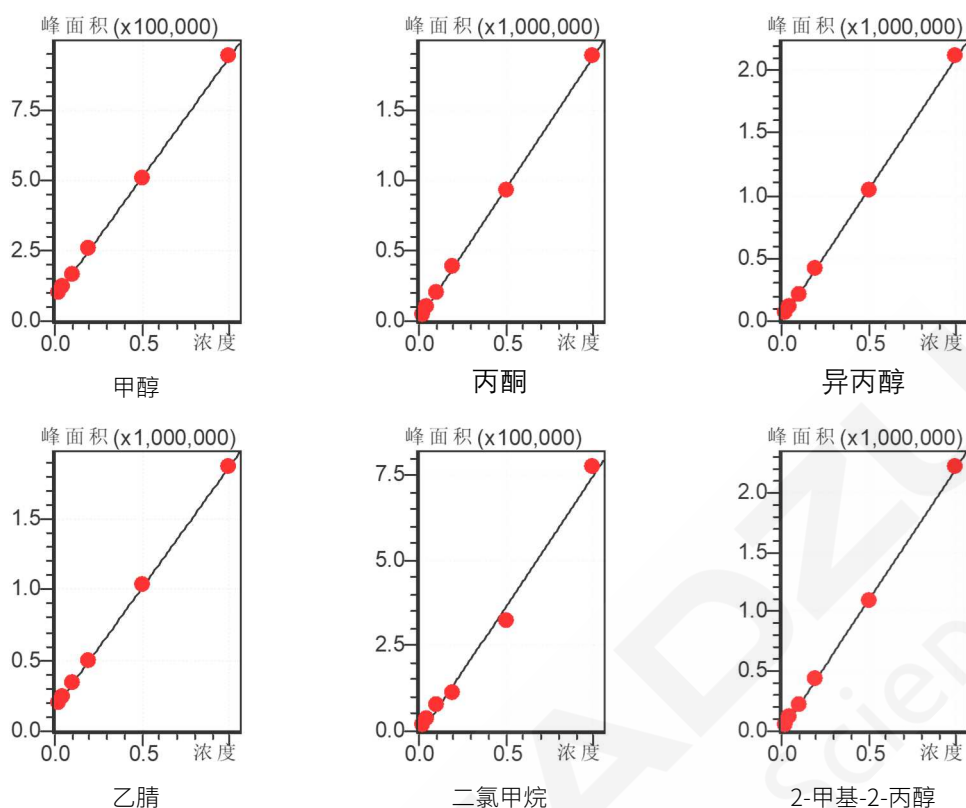


图 2. 部分组分校准曲线

表 2. 相关系数、RSD 及检出限

No.	组分	相关系数	峰面积 RSD%	保留时间 RSD%	检出限(μg)
1	甲醇	0.9999	1.04	0.01	0.0002
2	丙酮	0.9999	3.72	0.01	0.0007
3	异丙醇	0.9999	1.81	0.00	0.0001
4	乙腈	0.9999	3.30	0.01	0.0001
5	二氯甲烷	0.9953	8.20	0.00	0.0002
6	2-甲基-2-丙醇	0.9999	3.22	0.01	0.0002
7	1-丙醇	0.9998	3.04	0.00	0.0004
8	乙酸乙酯	0.9999	4.52	0.01	0.0028
9	2-丁醇	0.9998	3.39	0.00	0.0191
10	2-甲基-1-丙醇	0.9998	3.22	0.01	0.0211
11	1-丁醇	0.9999	6.77	0.00	0.0005
12	正丙酸乙酯	0.9998	4.92	0.01	0.0002
13	甲苯	0.9876	11.69	0.01	0.0002
14	1-戊醇	0.9994	5.77	0.01	0.0005
15	乙酸丁酯	0.9996	5.20	0.01	0.0004
16	2-乙基-1 己醇	0.9995	8.89	0.01	0.0001

2.3 实际样品及添加回收结果

选取一种胶囊包装材料作为实际样品，进行 3 次平行测试，每个样品取 1.6 cm $\times$ 2.7 cm，以校准曲线最低点为 0.02 μg 计算，样品测定的定量限为 46.30 $\mu\text{g}/\text{m}^2$ 。测试所得结果见表 3。

表 3. 胶囊包装材料测试结果

No.	组分	样品 1-1	样品 1-2	样品 1-3	平均值	RSD
1	甲醇	0.12	0.11	0.10	0.11	5.89
2	丙酮	0.03	0.03	0.03	0.03	11.73
3	异丙醇	0.03	0.03	0.03	0.03	4.07
4	乙腈	N.D	N.D	N.D	-	-
5	二氯甲烷	0.02	0.02	0.02	0.02	0.77
6	2-甲基-2-丙醇	N.D	N.D	N.D	-	-
7	1-丙醇	N.D	N.D	N.D	-	-
8	乙酸乙酯	0.13	0.14	0.11	0.12	10.25
9	2-丁醇	N.D	N.D	N.D	-	-
10	2-甲基-1-丙醇	0.21	0.20	0.23	0.21	7.53
11	1-丁醇	0.07	0.06	0.07	0.07	5.27
12	正丙酸乙酯	N.D	N.D	N.D	-	-
13	甲苯	0.05	0.05	0.05	0.05	0.60
14	1-戊醇	0.02	0.02	0.02	0.02	1.21
15	乙酸丁酯	N.D	N.D	N.D	-	-
16	2-乙基-1 己醇	0.22	0.25	0.23	0.23	5.43

再选取一种冲剂包装袋作为实际样品, 进行 2 次平行测试每个样品面积为 4.5 cm×5 cm, 计算得定量限为 8.89 μg/m²。所得结果见表 4。

表 4. 冲剂包装袋测试结果

No.	组分	样品 2-1	样品 2-2	平均值
1	甲醇	0.06	0.07	0.07
2	丙酮	N.D	N.D	N.D
3	异丙醇	N.D	N.D	N.D
4	乙腈	N.D	N.D	N.D
5	二氯甲烷	0.03	0.03	0.03
6	2-甲基-2-丙醇	N.D	N.D	N.D
7	1-丙醇	N.D	N.D	N.D
8	乙酸乙酯	N.D	N.D	N.D
9	2-丁醇	N.D	N.D	N.D
10	2-甲基-1-丙醇	N.D	N.D	N.D
11	1-丁醇	0.02	0.02	0.02
12	正丙酸乙酯	N.D	N.D	N.D
13	甲苯	0.05	0.06	0.05
14	1-戊醇	0.02	0.02	0.02
15	乙酸丁酯	N.D	N.D	N.D
16	2-乙基-1 己醇	0.02	0.02	0.02

3. 结论

采用岛津公司 HS-20 顶空进样器结合气相色谱质谱联用仪 (GCMS-QP2010 Ultra) 分析医药包材中的溶剂残留, 方法操作简单, 取样量少, 灵敏度高。本方法可以用于医药包材中溶剂残留的检测。

医用铝塑组合盖开启力测试

摘 要：本文介绍了岛津 EZ 电子万能试验机，遵循标准《YBB00372003-2015 抗生素瓶用铝塑组合盖》《YBB00402003-2015 输液瓶用铝塑组合盖》，对铝塑组合盖进行开启力测试。本试验适用于材料开发、质量控制、产品性能调和等方面的应用。

关键词：EZ 药包材 开启力

医用铝塑盖主要用于药品封口，医用铝塑盖在要用玻璃瓶领域使用一直以来都很受欢迎，市场占有率也一直处于比较高的位置，主要因为有以下优点：首先医用铝塑盖密封性能好，密封性比普通塑料盖要高出许多，不会让细菌其实药品，保护药品密封安全；其次打开方便，易撕拉，这样减少了打开过程中不必要的麻烦，此外，医用铝塑盖能够很好的保护药品，不会和药品产生相溶，影响药品效果。

针对铝塑盖的诸多优点，本文使用岛津EZ 电子万能试验机和特制夹具测试其开启力，为研究开发和规模化生产领域提供可靠的应用支持。

1. 实验部分

1.1 仪器

EZ-LX 1000N 电子万能试验机

1.2 分析条件

试 验 类 型	： 拉伸试验	负 荷 传 感 器 容 量	： 1000 N
试 验 力 精 度	： 显示值的±0.5%	试 验 速 度	： 100 mm/min
试 验 温 度	： 25℃	夹 具	： 特制医用铝塑盖开启力夹具

2. 实验介绍

2.1 试验方法

本次试验采用规格 13 mm 的药品铝塑组合盖，将试样放置特制夹具上，试验速度为 100 mm/min。

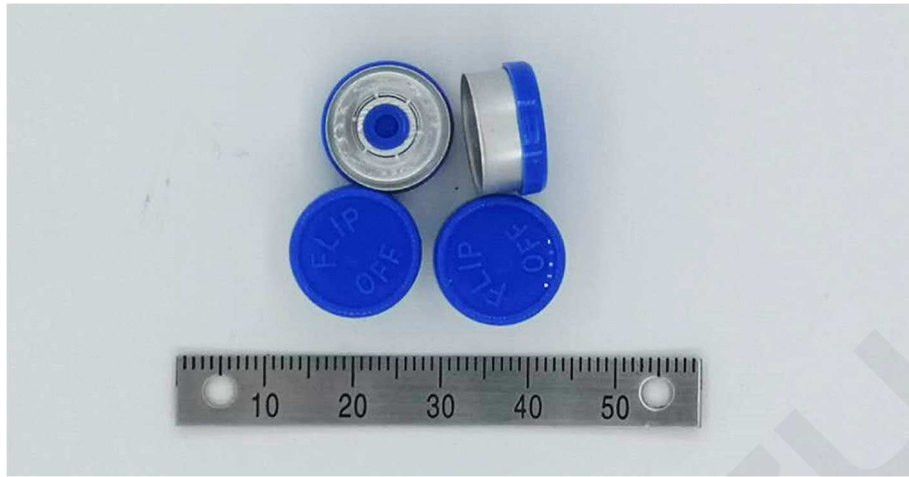


图1. 铝塑组合盖试样

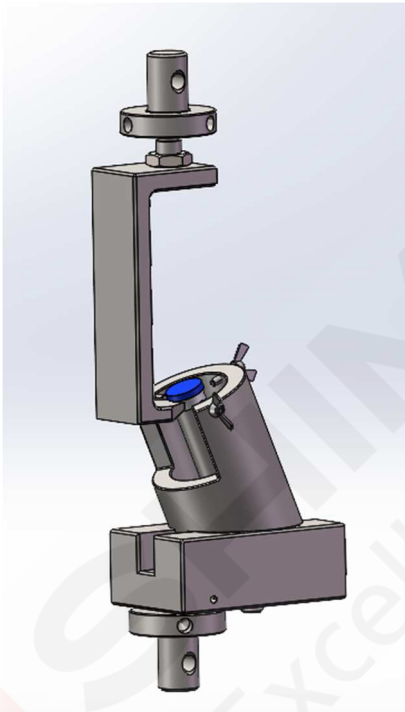


图2. 夹具示意图



图3 实际样品测试图

2.2 试验结果

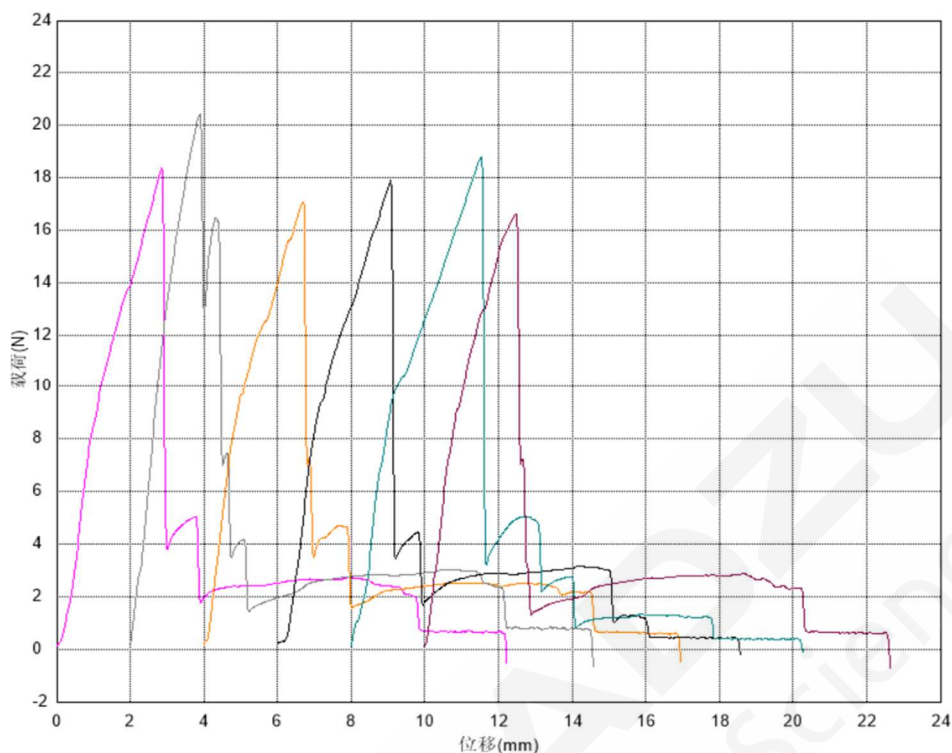


图4. 试验曲线

表1. 试验结果

试样编号	最大力 (N)
1-1	18.3641
1-2	20.4105
1-3	17.0744
1-4	17.8928
1-5	18.7928
1-6	16.6176
平均力	18.1920
标准差	1.35127

如图表显示了6个试样的试验曲线和结果，从表中可知最大为20.4 N未超标过标准中规定的力值要求（塑料件去除力最小值6 N，塑料件去除力最大力25 N，撕片撕开力最大值30 N），且各试验曲线表现出高同步性。

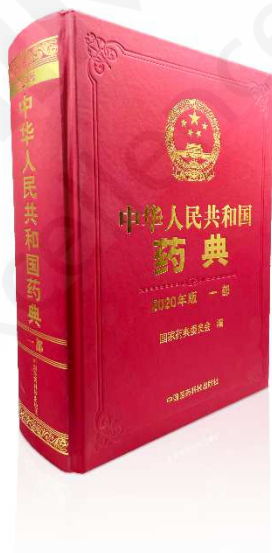
3. 结论

综上所述，本试验中使用 EZ-LX 1000N 电子万能试验机，配合岛津非标特制夹具，可以满足标准《YBB00372003-2015 抗生素瓶用铝塑组合盖》《YBB00402003-2015 输液瓶用铝塑组合盖》要求，获取稳定的铝塑盖开启力测试曲线，曲线趋同性较好，有望为医用铝塑组合盖的研究与生产质量控制提供良好的应用方案与可靠的数据。

3.4 中成药检验与质量控制

中成药是中医药学的重要组成部分，是中医发挥临床作用的重要工具之一，其质量直接关系到人民用药安全。国家高度重视中成药的安全性和质量可控性。药典是一个国家对药品质量标准和检验方法所作出的一种技术性规定，也是药品生产、供应、使用、检测和管理部門必須共同遵循的法定标准。中国药典主要收录我国范围内使用较广、疗效较好的药品，是中国对药品质量进行控制的法定标准。中国药典中中成药的质量标准通常包含名称、处方制法、性状、鉴别、检查、浸出物测定、含量测定、功能与主治、用法与用量、注意、规格、贮藏。对于药典收录的中药品种，应严格按照药典相关规定进行样品检测并符合药典要求，非药典收录品种，应严格执行企业内控标准或其他标准。

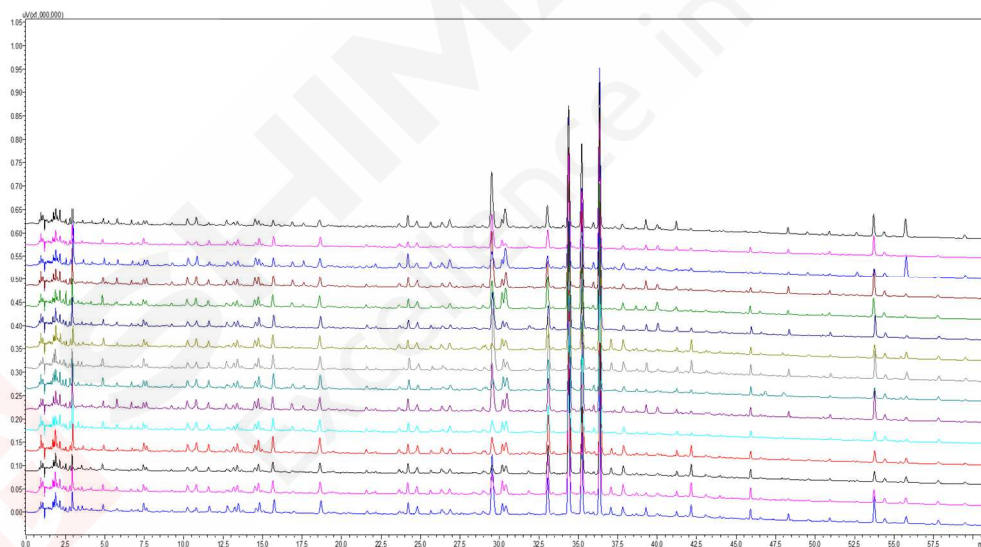
为更好地了解国内中成药质量，保障人民用药安全，自 2006 年 7 月起，原国家食品药品监督管理局开始组织实施国家药品评价性抽检，进行中成药的质量评价工作，目前已连续 17 年(每年近 40 个中成药品种)。这项工作从安全性、有效性、真实性和产品批间质量稳定性等方面对中成药品种进行综合评价。虽然样本检验总合格率达 97%以上，但同时也发现存在一些质量问题，如含量差别大、掺伪、染色、批间质量差异大等问题，给中成药质量带来了风险。此章节从中成药检验和备受关注的掺杂使假问题出发，展现了岛津部分相关的解决方案，供相关研究人员参考。



3.4.1 中成药检验

我国有中成药品种 9000 多种，剂型从传统的丸、散、膏、丹发展到现代的片剂、颗粒剂、胶囊剂和注射剂等。中成药由于直接应用于临床，其质量直接关系到临床有效性和安全性。而中成药的生产又涉及药材原料、辅料、生产工艺及包装等环节，因此，影响中成药质量与安全的因素众多。加强中成药的检验是促进我国医疗事业稳健发展的重要工作，也是人民群众安全用药的重要保障。中成药检验部门应根据国家药品标准等对药品进行全项目检验。

本章节主要收录了岛津在中成药含量测定、指纹图谱及内源性毒性物质检测方向的部分应用报告。含量测定是中成药质量分析的关键部分。目前，大多数中成药质量标准中含量测定项是测定君药中的某一组分或某一药味(如臣药佐药)的指标成分。由于中成药的成分复杂且含有多味中药，多组分含量测定也越来越受到人们的关注。指纹图谱可以整体、宏观地表征被测样品主要化学成分的特征，经过多年的发展和应用，是目前公认的最适合中药及天然药物物质群质量控制的手段之一。内源性毒性物质是指在药用植物(或动物)生长发育过程中经生物代谢形成的一类有毒性作用的物质，其中化学成分是其主要物质类型，主要包含生物碱类、苷类、毒蛋白、萜类及内酯类、金属元素类物质。对内源性毒性成分的研究与分析是确保药物安全性的重要手段之一。



HPLC法测定逍遥丸中芍药苷的含量

摘要：本文采用岛津 LC-40 高效液相色谱仪，建立了逍遥丸中芍药苷含量测定的方法。该方法中，芍药苷在 2.0-300.0 $\mu\text{g/mL}$ 线性范围内线性良好，相关系数为 0.9999。精密度实验中，芍药苷的保留时间相对标准偏差为 0.08-0.19%；峰面积的相对标准偏差为 0.20-0.39%。供试品中每 1 g 含白芍以芍药苷计，芍药苷含量为 13.2 mg。实验结果表明，该方法能快速准确地测定逍遥丸中芍药苷的含量。

关键词：LC-40 高效液相色谱仪 逍遥丸 芍药苷

逍遥丸具有疏肝健脾，养血调经的功能，用于肝郁脾虚所致的郁闷不舒、胸胁胀痛、头晕目眩、食欲减退、月经不调。其主成分芍药苷，具有扩张血管、镇痛镇静、抗炎抗溃疡、解热解痉、利尿的作用。

国家药典委员会2019年发布了“关于射麻口服液、小儿清热镇静散、逍遥丸（浓缩丸）国家药品标准修订草案”。按照逍遥丸检定标准含量测定项下要求，使用高效液相色谱仪对主成分芍药苷含量进行测定。系统适用性试验中，按芍药苷峰计不低于2000；供试品中每1 g含白芍以芍药苷计，芍药苷不得少于4.0 mg。

本实验使用LC-40(Nexera XR)高效液相色谱仪建立了逍遥丸中芍药苷的含量测定方法，该系统具有分析速度快、稳定性高的特点，适用于制药药检相关行业对药品质量控制和分析的检验检测工作。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera XR 液相色谱仪，具体配置如下：

系 统 控 制 器	: SCL-40	脱 气 机	: DGU-405
输 液 泵	: LC-40B XR	柱 温 箱	: CTO-40C
自 动 进 样 器	: SIL-40C XR	检 测 器	: SPD-M40
色 谱 工 作 站	: Labsolutions Ver. 5.97		

1.2 分析条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2.0 μm , 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30001-04)

流 动 相 : A 相-0.1%磷酸水溶液; B 相-乙腈

进 样 体 积 : 4 μL 柱 温 : 40 $^{\circ}\text{C}$

流 速 : 0.4 mL/min 检 测 波 长 : 230 nm

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 12%, 时间程序如表 1 所示。

表 1. 梯度洗脱时间程序

时间(min)	单元	处理命令	值
6.50	泵	B Conc	12
7.00	泵	B Conc	80
10.00	泵	B Conc	80
10.10	泵	B Conc	12
16.00	控制器	Stop	



图 1. 岛津 LC-40 高效液相色谱仪

2. 样品前处理

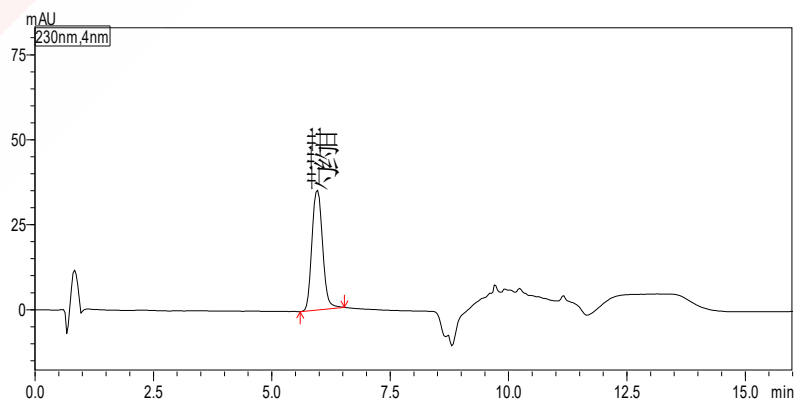
对照品溶液制备：取芍药苷对照品适量，精密称定，加稀乙醇制成每1 mL中约含60 μg 的溶液，即得。

供试品溶液制备：取本品适量，研细，取约0.4 g，精密称定，加入稀乙醇25 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率250 W，频率33 kHz）30分钟，放冷，再称定重量，用稀乙醇补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

3. 结果与讨论

3.1 系统适用性试验

按照1.2中分析条件对2中对照品溶液进行测定，色谱图如图2所示。芍药苷峰理论塔板数为3443，符合系统适用性要求（含量测定项下系统适用性试验按芍药苷峰计不低于2000）。

图 2. 对照品溶液系统适用性色谱图 (60 $\mu\text{g}/\text{mL}$)

3.2 校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积比为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，结果如图 3 所示，芍药苷在 2.0-300.0 μg/mL 线性浓度范围内，线性相关性良好，相关系数为 0.9999，具体结果见表 2。

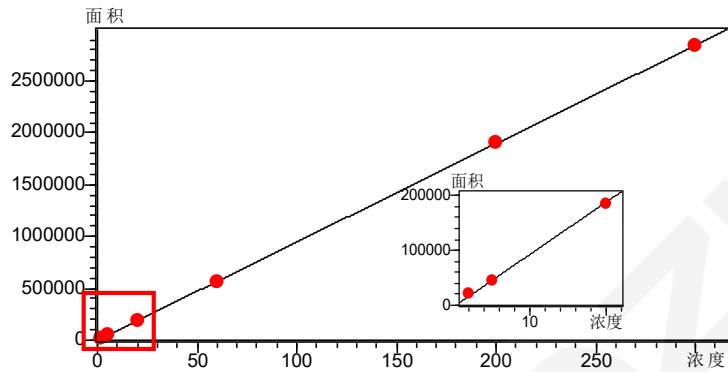


图 3. 对乙酰氨基酚校准曲线

表 2. 校准曲线参数

名称	英文名称	CAS No.	线性范围 (μg/mL)	线性方程	相关系数 r	准确度%
芍药苷	Paeoniflorin	23180-57-6	2.0-300.0	$Y = (9485.23)X + (-633.029)$	0.9999	95.6-106.8

3.3 精密度实验

按照 1.2 分析条件测定，选择浓度为 5.0、60.0 和 200.0 μg/mL 的芍药苷对照品溶液分别连续进样测定 6 次重复性色谱图如图 4 所示。芍药苷的保留时间 RSD%为 0.08-0.19%；峰面积 RSD%为 0.20-0.39%，结果见表 3。精密度实验结果表明，LC-40 液相色谱仪具有良好的精密度。

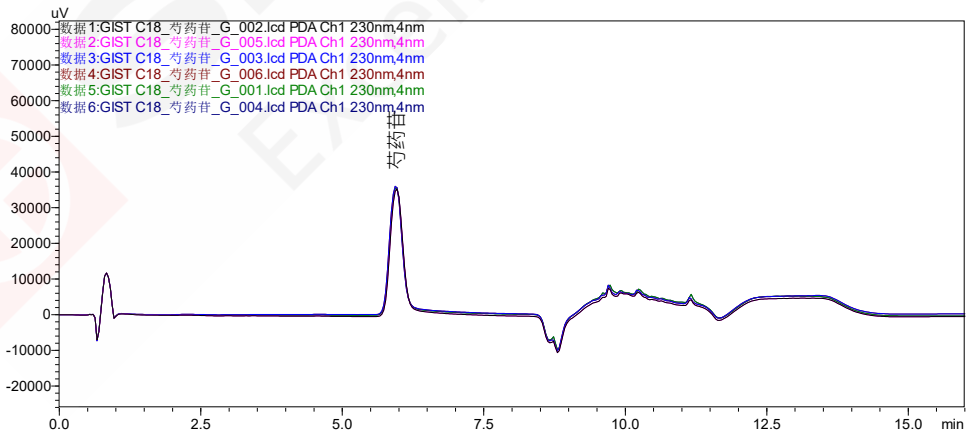


图 4. 对照品溶液重复性色谱图 (60 μg/mL)

表 3. 芍药苷对照品溶液精密度的结果 (n=6)

No.	5.0 µg/mL		60.0 µg/mL		200.0 µg/mL	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	6.054	44,405	6.068	566,561	6.058	1,904,065
2	6.049	44,605	6.071	563,155	6.049	1,901,788
3	6.057	44,223	6.079	563,161	6.044	1,906,296
4	6.060	44,532	6.049	565,371	6.045	1,906,045
5	6.061	44,563	6.052	565,032	6.060	1,899,060
6	6.062	44,216	6.057	564,231	6.031	1,910,113
平均值	6.057	44,424	6.063	564,585	6.048	1,904,561
RSD(%)	0.08	0.39	0.19	0.24	0.17	0.20

3.4 样品含量测定

取某厂家生产的逍遥丸（规格：每8丸相当于饮片3 g）适量，研细，精密称取40.12 mg粉末，按照2中步骤得到供试品溶液，上机分析。供试品溶液连续进样测定6次，芍药苷的保留时间RSD%为0.10%，峰面积为0.20%，仪器精密度良好。供试品溶液色谱图及重复性色谱图如图6-图7所示，供试品溶液重复性结果见表4。使用外标法定量，计算得到供试品中每1 g含白芍以芍药苷计，芍药苷含量为13.2 mg，符合标准要求（含量测定项下供试品中每1 g含白芍以芍药苷计，不得少于4.0 mg）。

Nexera LC-40系列SPD-M40具备UV cut-off滤光片，可抑制低波长紫外光照射到检测池，从而避免样品溶液受到低波长紫外光照射后发生降解。如图5所示，图中分别展示了开启和关闭cut-off功能后的供试品溶液主成分芍药苷光谱图。

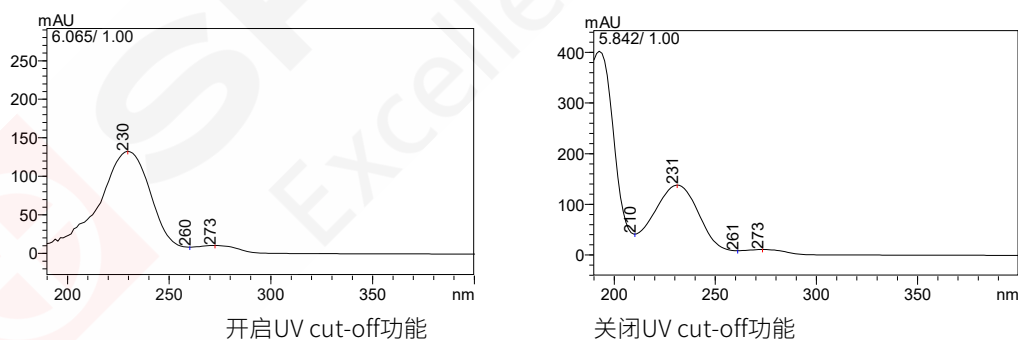


图 5. 供试品溶液主成分芍药苷光谱图

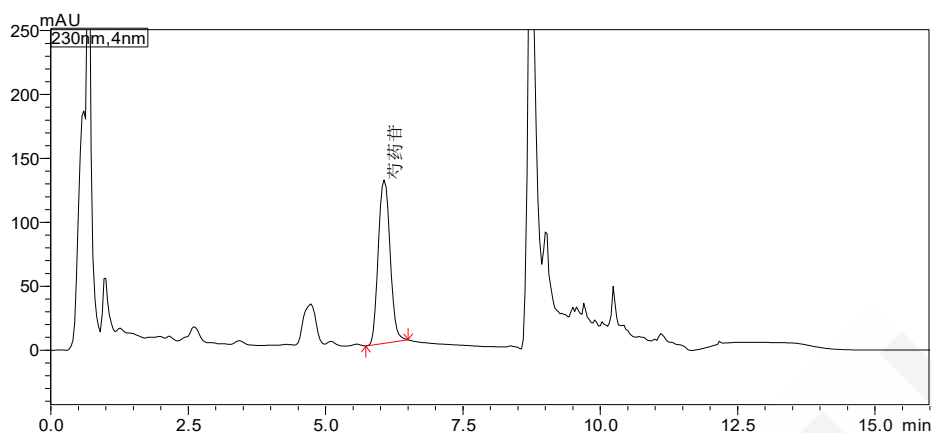


图 6. 供试品溶液色谱图

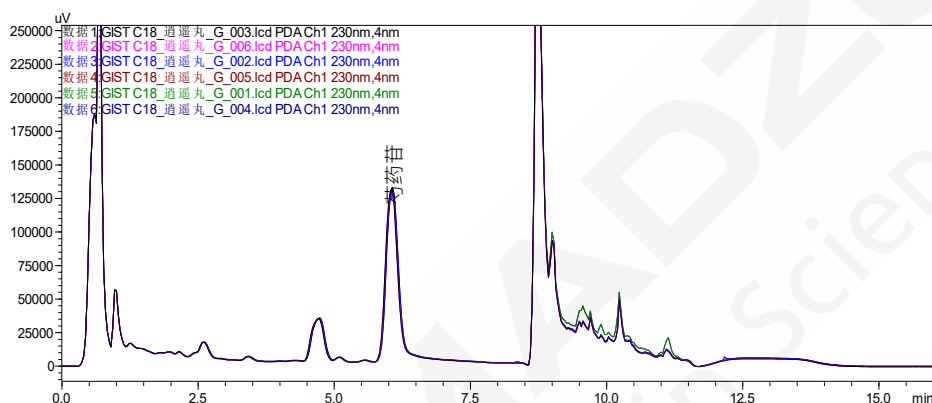


图 7. 供试品溶液连续 6 针重复性色谱图

表 4. 供试品溶液重复性结果 (芍药苷, n=6)

#	R.T.	Area	浓度 (μg/mL)
1	6.079	2,010,684	211.81
2	6.087	2,005,715	211.29
3	6.082	2,002,800	210.98
4	6.083	2,002,996	211.00
5	6.074	2,001,689	210.86
6	6.091	1,999,365	210.62
平均值	6.083	2,003,875	211.09
RSD (%)	0.10	0.20	

4. 结论

本实验使用岛津LC-40高效液相色谱仪, 参照逍遥丸(浓缩丸)国家药品标准含量测定项下条件, 建立了逍遥丸中芍药苷含量测定的方法。结果表明, 芍药苷峰理论塔板数为3443; 芍药苷在2.0-300.0 μg/mL 线性范围内线性良好, 相关系数为0.9999。精密度实验中, 芍药苷的保留时间相对标准偏差为0.08-0.19%; 峰面积的相对标准偏差分别为0.20-0.39%, 仪器精密度良好; 供试品中每1 g含白芍以芍药苷计, 芍药苷含量为13.2 mg, 结果均符合标准要求。

HPLC法应用于复方丹参滴丸指纹图谱的分析

摘要：本文采用岛津 LC-40 高效液相色谱系统，建立了复方丹参滴丸指纹图谱的测定方法。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算供试品色谱图和国家药典委员会规定的复方丹参滴丸标准指纹图谱的相似度，8 个特征峰相似度在 0.969 以上，满足药典中不低于 0.90 的规定。供试品溶液连续 6 针进样，8 个目标峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.18%~0.67%和 0.11%~1.3%之间，仪器精密度良好。LC-40 全新功能 FlowPilot 可抑制色谱柱寿命降低，降低系统超压风险。该方法可为复方丹参滴丸的质量控制提供帮助。

关键词：LC-40 高效液相色谱仪 复方丹参滴丸 指纹图谱

复方丹参滴丸，中医方剂名，主要成分是丹参、三七、冰片。方中丹参味苦、性微寒，长于活血祛瘀、通经止痛，为方中之主药。三七活血祛瘀、通络止痛，为本方之辅药；冰片辛香走窜、芳香开窍、引药入心、通脉止痛，为本方之佐药。全方具有活血化瘀，理气止痛功效。本品在临床上广泛用于冠心病、心绞痛的预防、治疗、急救。

指纹图谱分析手段是中药分析领域进行宏观监测的有效措施，在国际范围内被认为是控制中药或天然药物质量最有效的手段之一。它可以全面的反应化合物所含的化学成分种类、数量以及相互之间比例关系，从而有效表征其内在质量。2020版中国药典规定，复方丹参滴丸供试品色谱图中，应呈现8个与对照指纹图谱相对应的特征峰。

本实验使用LC-40(Nexera XR)高效液相色谱系统对复方丹参滴丸指纹图谱进行研究，该方法分析时间短，精密度高，指纹图谱相似度满足药典中不低于0.90的规定，能够满足中国药典规定复方丹参滴丸质量控制检测要求。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera XR 液相色谱仪，具体配置为：

系统控制器	: CBM-40 Lite	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40B XR	自动进样器	: SIL-40C XR
柱温箱	: CTO-40S	检测器	: SPD-M40
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.97		

1.2 分析条件

色谱柱	: 复方丹参滴丸测定专用色谱柱 (2.1 mm I.D.×100 mm L., 1.8 μm)		
流动相	: A: 0.02%磷酸水溶液; B: 80%乙腈溶液 (含 0.02%磷酸)		
流速	: 0.4 mL/min	柱温	: 40℃

进样体积：2 μ L

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.60	Pumps	Pump B Conc.	9
1.80	Pumps	Pump B Conc.	22
7.30	Pumps	Pump B Conc.	26
8.00	Pumps	Pump B Conc.	39
8.40	Pumps	Pump B Conc.	9
10.00	Controller	Stop	

供试品溶液制备：参照2020版中国药典一部复方丹参滴丸项下制备。

3.1 复方丹参滴丸谱图

按照1.2中色谱分析条件，对复方丹参滴丸和丹参素钠对照品溶液分别进行上机分析，空白溶剂色谱图如图2，目标物出峰处无干扰。丹参素钠和复方丹参滴丸色谱图见图3、4所示，其中供试品色谱图中丹参素峰保留时间为1.071 min，与对照品出峰时间一致。其余7个主峰与药典规定一致。

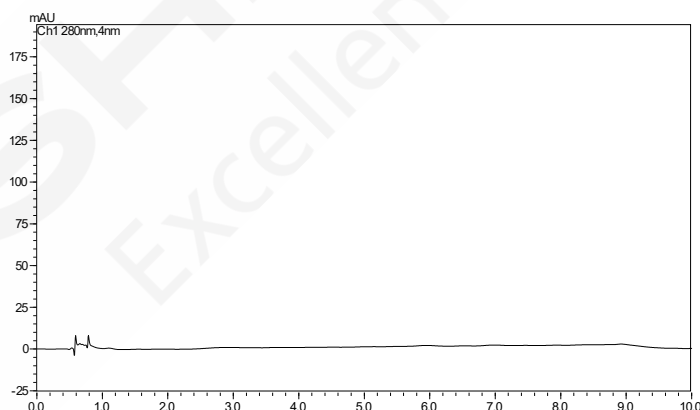


图 2. 空白溶剂色谱峰

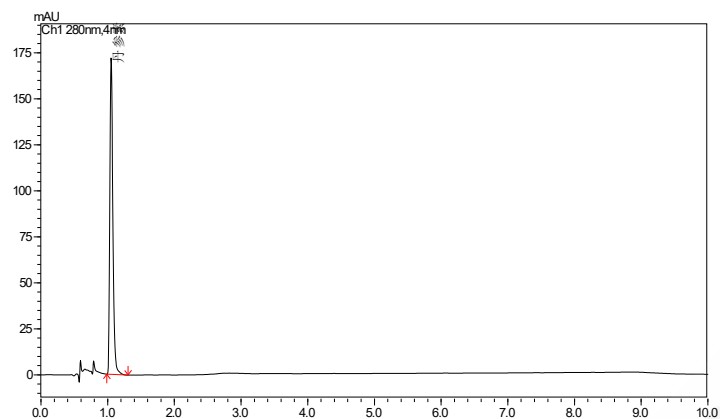


图 3. 参照丹参素钠色谱峰

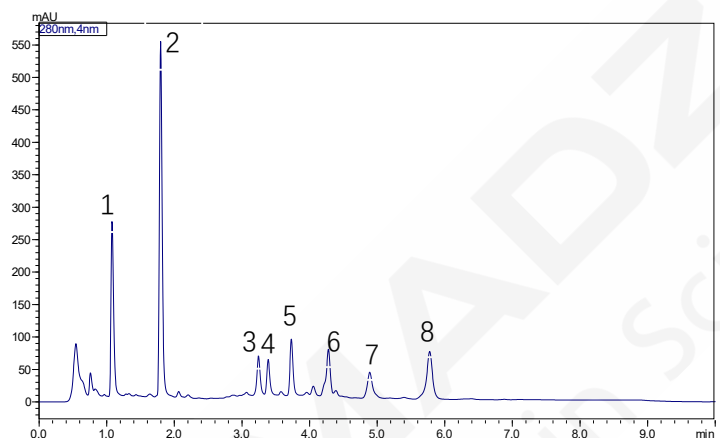


图 4. 复方丹参滴丸指纹图谱

3.2 供试品和对照提取物相似度评价

采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统，将市售复方丹参滴丸指纹图谱与国家药典委员会公布的复方丹参滴丸标准指纹图谱进行相似度比较，结果见图5。结果表明，方丹参滴丸指纹图谱与国家药典委员会公布的复方丹参滴丸标准指纹图谱相似度为0.969，满足药典中不低于0.90的规定。

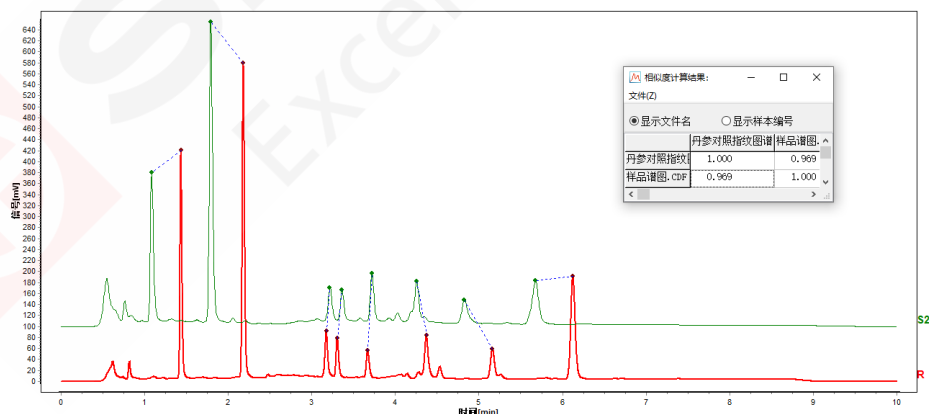


图 5. 供试品色谱图和标准指纹图谱相似度比较 (R: 标准指纹图谱 S2: 供试品色谱图)

3.3 精密度实验

将方法2中配制的复方丹参滴丸溶液连续进样6次，考察仪器精密度。8个主峰的保留时间和面积RSD值分别在0.18%~0.67%和0.11%~1.3%之间，表明仪器精密度良好，具体数据详见表2。

表 2. 复方丹参滴丸溶液重复性结果 (n=6)

峰号	RSD%	
	保留时间	峰面积
1	0.26	0.69
2	0.22	0.11
3	0.33	0.96
4	0.35	1.1
5	0.18	1.3
6	0.27	0.47
7	0.51	0.53
8	0.67	0.59

3.4 FlowPilot 功能介绍

LC-40 高效液相色谱系统采用智能系统启动设计, 可根据柱温箱的温度自动设定系统启动时流动相流量, 与传统液相色谱启动系统时流速直接达到预设值相比, LC-40 高效液相色谱系统的智能设计可以让流速随着柱温的升高缓慢增加, 直至柱温到达预设值才将流速增加到预设值, 这样降低开始送液时柱压剧增损坏色谱柱的风险, 抑制色谱柱寿命降低, 降低系统超压风险。普通液相及 LC-40 液相系统启动时柱温及系统压力变化过程见图 6。

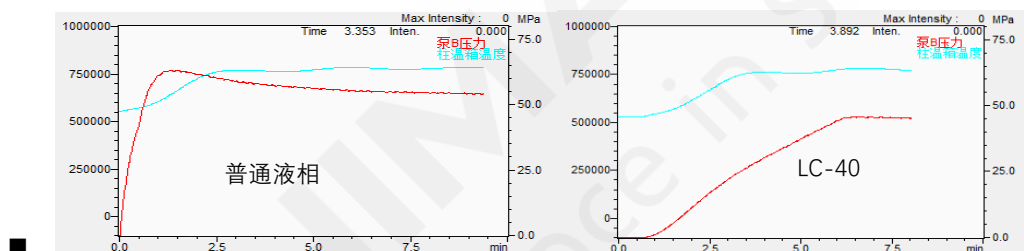


图 6. 普通液相及 LC-40 液相系统启动时柱温及系统压力变化过程

4. 结论

本文采用岛津 LC-40 高效液相色谱系统, 建立了复方丹参滴丸指纹图谱的测定方法。该方法按照药典规定测定条件, 供试品色谱图中 8 个主色谱峰分离效果良好。采用中药色谱指纹图谱相似度评价系统计算供试品色谱图和国家药典委员会规定的复方丹参滴丸标准指纹图谱的相似度, 8 个特征峰相似度在 0.969 以上, 满足药典中不低于 0.90 的规定。供试品溶液连续 6 针进样, 8 个目标峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.18%~0.67%和 0.11%~1.3%之间, 表明仪器精密度良好。LC-40 全新功能 FlowPilot 抑制色谱柱寿命降低, 降低系统超压风险。因此, 该方法可为复方丹参滴丸质量控制提供帮助。

LC-MSMS法测定银杏酮酯中的总银杏酸

摘 要：本文参考国家药典委员会发布的《银杏酮酯》国家药品标准中的总银杏酸检查相关方法，利用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪对银杏酮酯样品中的总银杏酸进行了测定。测定结果显示：白果新酸、银杏酸 C15:1 和银杏酸 C17:1 在 0~200 ng/mL 浓度范围内各组分线性关系良好，相关系数均达到 0.999 以上，准确度范围在 88.9%~102.2%之间；在最高线性点后对空白样品进行分析，3 种成分均未发现明显残留；以 10 ng/mL 和 50 ng/mL 的对照品溶液连续进样 6 次，保留时间和峰面积 RSD 分别在 0.30%~0.43% 和 0.53%~1.53%之间，准确度范围为 105.8%~112.5%，仪器重复性良好；对银杏酮酯未知样品进行检测，3 种银杏酸组分均被检出，总银杏酸含量为 3.488 mg/kg。采用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪能有效检测银杏酮酯中的总银杏酸。

关键词：液质谱联用仪 银杏酮酯 总银杏酸

银杏酮酯为银杏科植物银杏 *Ginkgo biloba* L. 的干燥叶经加工制成的提取物。银杏药用价值最高的部位是银杏叶，其主要的活性成分为黄酮类、内酯类化合物和银杏酸。黄酮类化合物主要以黄酮苷形式存在，可有效清除自由基；内酯类化合物为强效血小板活化因子(PAF)拮抗剂；而银杏酸成分具有潜在的致敏和致突变作用以及强烈的细胞毒性和免疫毒性，因此在银杏相关制剂中应严格限定其含量。

对于银杏叶提取物中银杏酸的控制，2015年版《中国药典》采用高效液相色谱法对总银杏酸进行检测，并规定银杏叶提取物中总银杏酸含量不得过10 mg/kg。2019年5月30日，国家药典委员会公示了拟修订的银杏酮酯、银杏酮酯片、银杏酮酯胶囊等银杏提取物相关制剂的国家药品标准，公示期3个月。该部分国家药品标准中均采用了高效液相色谱-质谱法对总银杏酸进行检测，其中银杏酮酯药品标准规定了总银杏酸含量不得过5 mg/kg。

本文参考国家药典委员会发布的《银杏酮酯》国家药品标准中的方法条件，采用岛津LCMS-8045三重四极杆液质联用仪对银杏酮酯样品中的总银杏酸进行了分析。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用 LCMS-8045 三重四极杆液质联用系统。具体配置如下：

系 统 控 制 器	: CBM-20A	脱 气 机	: DGU-20A 5R
输 液 泵	: LC-20AD XR×2	柱 温 箱	: CTO-20AC
自 动 进 样 器	: SIL-30ACMP	质 谱 仪	: LCMS-8045
色 谱 工 作 站	: Labsolutions Ver. 5.89		

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 2.0 μ m, 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N:227-30001-04)

流 动 相 : A 相- 1%冰醋酸水溶液; B 相-甲醇

流 速 : 0.4 mL/min

柱 温 : 40°C

进 样 体 积 : 1 μ L

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为90%, 时间程序见表1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
8.00	Pumps	Pump B Conc.	90
8.10	Pumps	Pump B Conc.	99
17.00	Pumps	Pump B Conc.	99
17.10	Pumps	Pump B Conc.	90
22.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI(-) 加热模块温度 : 400°C

雾化气流速 : 3.0 L/min 干燥气流速 : 10.0 L/min

加热气流速 : 10.0 L/min 扫描模式 : 多反应监测(MRM)

接口温度 : 300°C 接口电压 : 3.0 KV

D L 温度 : 250°C 驻 留 时 间 : 50 ms

碰 撞 气 : 氦气 230 kPa M R M 参 数 : 见表2

表 2. MRM 参数

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	白果新酸	Ginkgoneolic acid	20261-38-5	319.25	275.20*	16.0	23.0	28.0
					106.10	16.0	39.0	10.0
2	银杏酸 C15:1	Ginkgolic acid(C15:1)	22910-60-7	345.20	301.20*	12.0	23.0	20.0
					119.00	24.0	47.0	20.0
3	银杏酸 C17:1	Ginkgolic acid(C17:1)	111047-30-4	373.30	329.30*	19.0	25.0	22.0
					106.00	19.0	43.0	10.0

*代表定量离子对。

2. 样品前处理

2.1 对照品溶液制备

分别取白果新酸对照品、银杏酸 C15:1 对照品、银杏酸 C17:1 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每

1 mL 各含 50 μg 的混合溶液, 作为对照品贮备液。临用前, 分别精密量取对照品贮备液适量, 加甲醇制成每 1 mL 各含 0 ng、10 ng、20 ng、50 ng、100 ng、200 ng 的系列混合溶液, 作为对照品溶液。

2.2 供试品溶液制备

取本品粉末约 0.4 g, 平行两份, 精密称定, 分别置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 10 mL, 称定重量, 超声处理 20 分钟 (功率 180 W, 频率 42 kHz), 放冷, 再称定重量, 用甲醇补足减失的重量, 滤过, 取续滤液, 即得。

3. 结果与讨论

3.1 MRM 色谱图

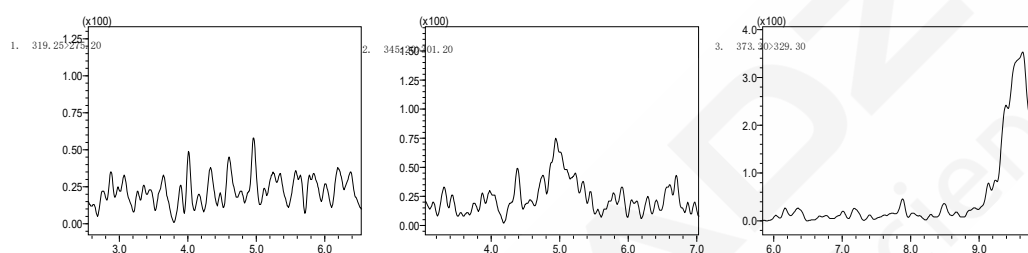


图 1. 对照品溶液 MRM 图 (0 ng/mL)

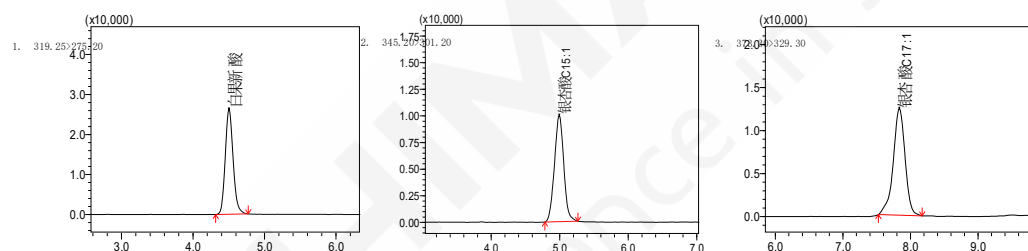


图 2. 对照品溶液 MRM 图 (10 ng/mL)

3.2 校准曲线

分别取 0 ng、10 ng、20 ng、50 ng、100 ng、200 ng 的对照品溶液 1 μL 进样, 以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标做校准曲线, 校准曲线相关信息如图 3 和表 3 所示。

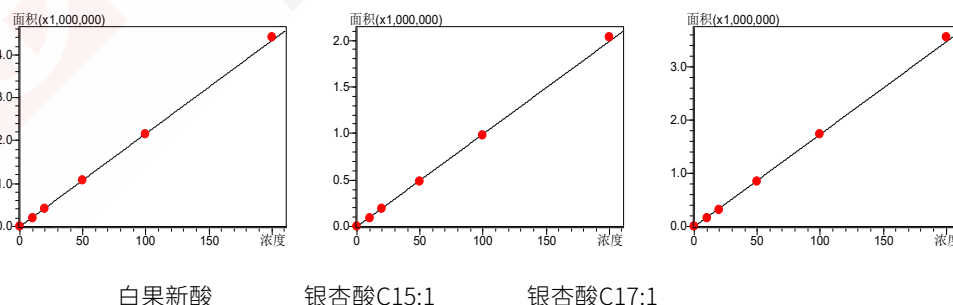


图 3. 3 种银杏酸组分校准曲线

表 3.3 种银杏酸组分校准曲线结果

目标物	线性方程	线性范围(ng/mL)	相关系数	准确度(%)
白果新酸	$Y = (21696.1)X + (-2758.70)$	0~200	0.9997	93.2~101.5
银杏酸 C15:1	$Y = (9941.56)X + (-1187.32)$	0~200	0.9997	94.0~102.0
银杏酸 C17:1	$Y = (17342.1)X + (-3368.61)$	0~200	0.9994	88.9~102.2

3.3 残留考察

在200 ng/mL的对照品溶液分析完成后对空白样品进行分析,结果如图4所示。空白样品在3种银杏酸组分出峰位置均无明显色谱峰,不影响样品中待测组分的检测。

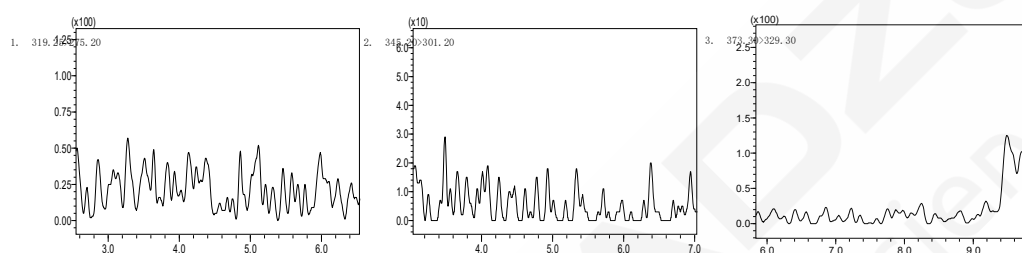


图 4.3 种银杏酸组分残留结果

3.4 重复性实验

取10 ng/mL、50 ng/mL对照品溶液,连续进样6次,考察仪器的重复性,测定结果见表4。结果表明:3种银杏酸组分的保留时间和峰面积RSD分别在0.30%~0.43%和0.53%~1.53%之间,准确度范围为105.8%~112.5%,仪器重复性良好。

表 4.3 种银杏酸组分重复性结果

目标物	理论浓度	保留时间	峰面积 RSD(%)	实测浓度	准确度
白果新酸	10	0.43	0.95	10.97	109.7
	50	0.42	0.46	52.92	105.8
银杏酸 C15:1	10	0.41	1.14	11.17	111.7
	50	0.41	0.88	56.26	112.5
银杏酸 C17:1	10	0.37	1.53	10.98	109.8
	50	0.30	0.53	55.64	111.3

3.5 样品测定

取 2.2 项下的供试品溶液各 1 μ L 进样,样品测定图谱及结果如图 5 和表 5 所示。结果表明:在银杏酮酯未知样品中,检出与白果新酸、银杏酸 C15:1 和银杏酸 C17:1 对照品保留时间对应的色谱峰,且监测离子对与对照品监测离子对丰度比一致,待测样品总银杏酸含量为 3.488 mg/kg。

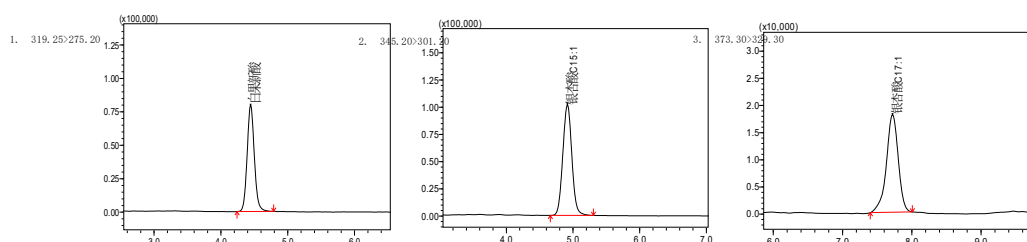


图 5. 银杏酮酯样品分析图谱

表 5. 银杏酸定性分析结果

目标物	白果新酸	银杏酸 C15:1	银杏酸 C17:1
参比离子	319.25>106.10	345.20>119.00	373.30>106.00
离子丰度识别范围	15.75 - 26.25	3.50 - 10.50	7.00 - 13.00
相对离子丰度	10 ng/mL 对照品	22.03	7.50
	20 ng/mL 对照品	21.44	6.92
	50 ng/mL 对照品	21.25	7.65
	100 ng/mL 对照品	21.66	7.77
	200 ng/mL 对照品	21.19	7.61
	样品 1	20.52	8.11
	样品 2	21.36	7.98
定性结果	通过	通过	通过

注：相对离子丰度>50%，允许±20%的相对偏差；相对离子丰度 20%~50%，允许±25%的相对偏差；相对离子丰度 10%~20%，允许±30%的相对偏差；相对离子丰度<10%，允许±50%的相对偏差

表 6. 银杏酸定量分析结果

结果	样品 1	样品 2	总银杏酸平均含量(mg/kg)
白果新酸含量 (mg/kg)	0.700	0.710	
银杏酸 C15:1 含量 (mg/kg)	2.458	2.472	3.488
银杏酸 C17:1 含量 (mg/kg)	0.319	0.318	

4. 结论

本文参考国家药典委员会发布的《银杏酮酯》国家药品标准中的液相色谱-质谱法检测总银杏酸的相关条件，采用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪对银杏酮酯样品中的总银杏酸进行了测定。测定结果显示：白果新酸、银杏酸 C15:1 和银杏酸 C17:1 在 0~200 ng/mL 浓度范围内各组线性关系良好；在最高线性点后对空白样品进行分析，3 种成分均未发现明显残留；以 10 ng/mL 和 50 ng/mL 的对照品溶液连续进样 6 次，仪器重复性良好；对银杏酮酯未知样品进行检测，3 种银杏酸组分均被检出，总银杏酸含量为 3.488 mg/kg。本实验为重现国家药品标准方法，结果表明采用岛津 LCMS-8045 三重四极杆液质联用仪能有效检测银杏酮酯中的总银杏酸。

LC-MS/MS法分析中药九味羌活丸中的马兜铃酸I

摘 要：本文参考 2020 版《中国药典》九味羌活丸相关检查标准，建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定九味羌活丸中马兜铃酸 I 含量的方法。实验结果表明：在本系统条件下，空白溶剂对马兜铃酸 I 检测无干扰；马兜铃酸 I 在 1~100 ng/mL 浓度范围内线性关系良好，相关系数为 0.9998；对 20 ng/mL 的对照品溶液重复进样 6 针，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.055%和 2.90%，仪器精密度良好；6 次加标回收实验中，马兜铃酸 I 的平均回收率为 96.23%，RSD 为 2.18%，方法准确度良好。该方法为采用 LC-MS/MS 方法检测马兜铃酸 I 的检测人员提供很好的参考。

关键词：九味羌活丸 LCMS-8040 马兜铃酸

马兜铃酸是一种具有致癌性和肾毒性的硝基菲类有机酸，其中以马兜铃酸I的毒性最强。中国药典自 2005版起，已不再收录关木通、广防己、青木香等含马兜铃的中药方，细辛药用部位也将“全草”修改为“根和根茎”，原因是细辛地上部分马兜铃的含量较高。《中国药典（2010年版）》进一步规定，采用HPLC法检测细辛中的马兜铃酸I含量不得超过0.001%。《中国药典（2020年版）》首次规定采用LC-MS/MS法检测九味羌活丸中的马兜铃酸I，该处方中含有细辛药材，并规定1 g九味羌活丸中马兜铃酸I的含量不得过500 ng。

本文参考《中国药典（2020年版）》九味羌活丸“检查”项下马兜铃酸I相关要求，利用岛津高效液相色谱仪LC-20A和三重四极杆质谱仪LCMS-8040联用，建立九味羌活丸中马兜铃酸I的检测方法，供相关检测人员参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验使用高效液相色谱仪 LC-20A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统，具体配置为：

系统控制器	: CBM-20A	脱 气 机	: DGU-20A
输 液 泵	: LC-20AD XR×2	自动进样器	: SIL-20AC XR
柱 温 箱	: CTO-20AC	质 谱 仪	: LCMS-8040
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.91		

1.2 分析条件

液相条件

色 谱 柱	: Shim-pack Velox C18 (50 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μm, 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N:227-32007-02)		
流 动 相	: A 相- 0.1%甲酸水溶液；B 相-乙腈	流 速	: 0.3 mL/min

柱 温 : 30℃

进样体积 : 1 μL

洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为35%, 时间程序见表1。

表 1. 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
10	Pumps	Pump B Conc.	38
10.1	Pumps	Pump B Conc.	35
13	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI(+)

加热模块温度 : 400℃

雾化气流速 : 3.0 L/min

干燥气流速 : 10.0 L/min

D L 温度 : 150℃

接口电压 : 3.0 KV

碰撞气 : 氦气

驻留时间 : 200 ms

离子源位置 : +2 mm

扫描模式 : 多反应监测(MRM)

MRM 参数 : 见表2

表 2. MRM 参数

序号	化合物	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	马兜铃酸 I	313-67-7	359.10	296.10*	-13.00	-13.00	-29.00
				298.00	-10.00	-12.00	-30.00

*表示定量离子

2. 样品前处理

(1) 供试品溶液: 取市售九味羌活丸适量, 研细, 取约 1 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 70%甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 (功率 250 W, 频率 40 kHz) 30 分钟, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 70%甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 作为供试品溶液。

(2) 标准工作液: 取马兜铃酸 I 对照品适量, 精密称定, 加 70%甲醇溶解并制成每 1 mL 含 25 μg 的溶液, 作为标准储备液。精密量取标准储备液适量, 加 70%甲醇稀释制成系列浓度的标准工作液。

3. 结果与讨论

3.1 标准样品定量定性通道 MRM 色谱图

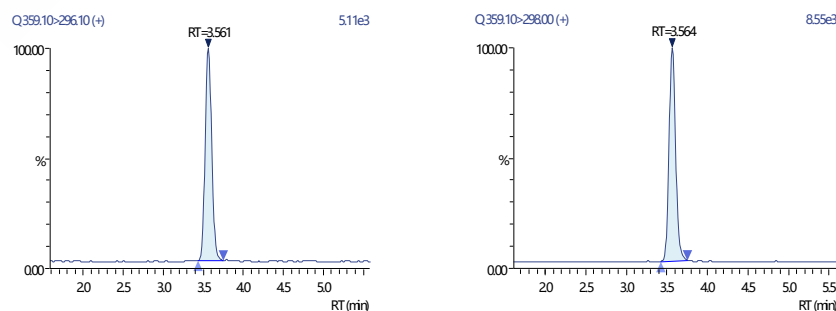


图 1. 20 ng/mL 标准样品 MRM 色谱图（左图为定量离子）

3.2 专属性实验

对空白溶剂进行分析，目标峰保留时间处，无干扰，如图 2 所示。

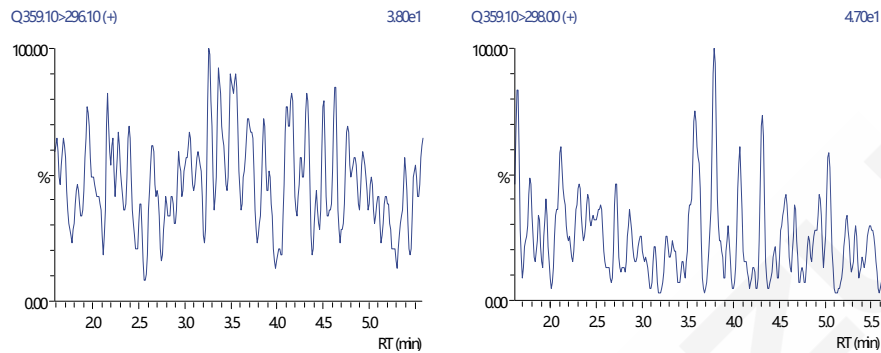


图 2. 空白色谱图

3.3 线性范围

将浓度为 1、2、5、10、20、50、100 ng/mL 标准工作液，按 1.2 中的分析条件上机分析，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法建立校准曲线，结果如图 3，线性方程、线性范围和相关系数见表 3。

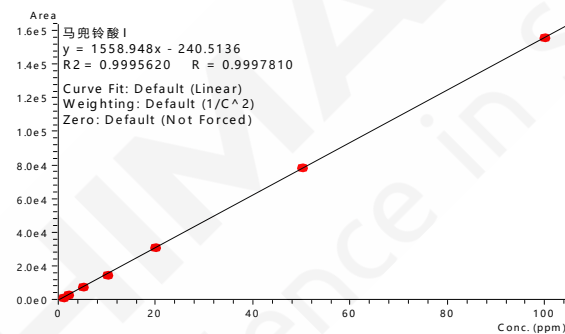


图 3. 校准曲线

表 3. 校准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
马兜铃酸 I	$Y = (1558.948)X + (-240.5136)$	1~100	0.9998	97.0~101.1

3.4 精密度实验

对浓度为 20 ng/mL 的标准溶液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，结果如表 4 所示，保留时间和峰面积的 RSD 分别为 0.055%和 2.90%，仪器精密度良好。

表 4. 精密度测试结果

项目	保留时间(min)	峰面积
1	3.557	28171
2	3.560	29947
3	3.563	28851
4	3.561	30553
5	3.559	29454
6	3.561	28890
RSD(%)	0.055	2.90

3.5 样品测定

取供试品溶液按 1.2 中的分析条件上机分析，供试品中检出马兜铃酸 I，以外标法定量计算马兜铃酸 I 的浓度为 5.294 ng/mL，含量为 132.35 μg/g。根据《中国药典》2020 版对九味羌活丸中马兜铃酸 I 的含量要求，供试品溶液中 m/z 359.0→298.0 和 m/z 359.0→296.0 两个通道的色谱峰应小于 20 ng/mL 对照品色谱峰。本品结果符合药典规定，色谱图如图 4 所示。

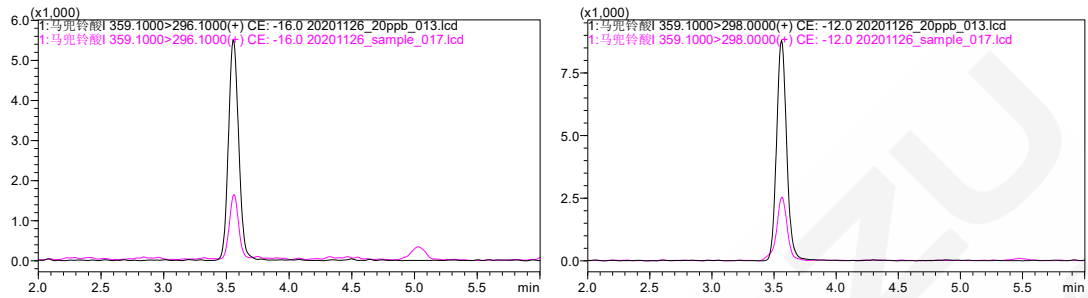


图 4. 供试品及限度对照品色谱图（红色：供试品，黑色：对照品 20 ng/mL）

3.6 加标回收率实验

取本品细粉 6 份，精密称定，分别精密加入马兜铃酸 I 对照品溶液适量，按 2 方法进行前处理，考察回收率，回收率如表 6 所示。

表 6. 加标回收率考察

序号	样品中含量 (ng)	加标量 (ng)	实测值 (ng)	回收率 (%)	平均回收率± RSD(%)
1	130.44	250.00	366.65	96.38	96.23±2.18
2	133.71	250.00	371.33	96.77	
3	132.15	250.00	374.35	97.96	
4	130.68	250.00	375.60	98.67	
5	144.55	250.00	372.98	94.53	
6	142.41	250.00	365.25	93.08	

4. 结论

本文参考 2020 版《中国药典》九味羌活丸相关检查标准，建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-20A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定九味羌活丸中马兜铃酸 I 含量的方法。该方法具有专属性强、灵敏度高、重复性好的特点，满足 2020 版《中国药典》九味羌活丸马兜铃酸 I 的检查需求。

3.4.2 中成药掺杂使假

中成药的生产涉及药材原料、辅料、生产工艺及包装等环节，各环节均会对中成药质量与安全带来影响。为更好地保障人民用药的安全性和有效性，国家药品监管部门已持续开展了多年的药品评价抽验工作。抽检结果显示我国中成药总体质量情况良好，但探索性研究结果表明掺伪掺杂、多基原、染色、外源性有毒有害残留物质等现象依然存在。

本章节主要收录了岛津在中成药非法染色、掺伪掺杂以及非法添加方面的部分应用案例。中药染色染料多为有害化工染料，对人体健康存在严重安全隐患。因此，国家药品监管部门相继批准了一系列补充检验方法作为这些问题产品认定的技术依据，以严厉打击非法染色产品。随着我国药品监管力度的不断加大，当前市场上直接采用伪品替代正品使用的情况已得到有效遏制，但受经济利益驱使或同属近缘种外观性状难以甄别导致掺伪掺杂的现象还时有发生。中药非法添加成分是近年来屡见不鲜的危及中成药安全的问题，非法添加成分的种类和数量都呈逐年上涨趋势，常见的非法添加成分有安神、降糖、减肥等化学成分，为了有效打击非法添加行为，国家药监部门不定期颁布中药非法添加的补充检验方法，以保证中成药的用药安全。



HPLC用于参三七伤药胶囊中苏丹红IV染色的定性检测

摘要：本文采用岛津 LC-40 高效液相色谱仪建立了参三七伤药胶囊中苏丹红IV染色的定性方法，参三七伤药胶囊经乙醇超声提取，采用 PDA 检测器在 520 nm 波长下检测苏丹红IV紫外吸收峰，样品中未检出目标物苏丹红IV，参三七伤药胶囊加标样品在 RT=34.57 min 处检测到苏丹红IV，理论塔板数为 222337，与苏丹红IV在 400-600 nm 光谱图比较，相似度为 99.99%，可判定为苏丹红IV。该方法准确可靠，可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红IV提供帮助。

关键词：高效液相色谱法 苏丹红IV 参三七伤药胶囊

参三七伤药胶囊由三七、红花、血竭等中药材制成，具有活血祛瘀、通经活络的作用。据报道在市场流通的劣质中药材，如血竭、红花等药材中被检出到用苏丹红IV进行非法染色。苏丹红IV，是一种人工合成的偶氮类化工原料，也是实验室常用的化学试剂，主要用于油脂、橡胶玩具、塑料制品等的染色，其代谢产物具有一定的致癌性，因此多数国家禁止将其用于食品生产。

国家药监局此前发布了《参三七伤药胶囊（片）中松香酸与苏丹红IV检查项补充检验方法（BJY 202005）》规定了苏丹红IV染色的定性测定方法。要求采用液相色谱法，以保留时间、PDA光谱图信息对苏丹红IV进行定性识别。

本实验使用岛津LC-40（Nexera X3）液相色谱仪，参考补充检验方法中的要求对参三七伤药胶囊中的苏丹红IV进行定性测定，该方法准确可靠，可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红IV提供帮助。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera X3 液相色谱仪，具体配置如下：

输 液 泵	: LC-40B X3	系 统 控 制 器	: CBM-40Lite
柱 温 箱	: CTO-40S	检 测 器	: SPD-M30A
自动进样器	: SIL-40C X3	色 谱 工 作 站	: LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m, 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N:227-30017-08)

流 动 相 : A-20 mM 乙酸铵水溶液; B-乙腈

流 速 : 1 mL/min

柱 温 : 40°C

检 测 波 长 : 520 nm

进样体积：10 μ L

洗脱方式：梯度洗脱，B相初始浓度为20%，时间程序如表1所示。

表1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
20.00	Pumps	Pump B Conc.	80
21.00	Pumps	Pump B Conc.	85
30.00	Pumps	Pump B Conc.	95
42.00	Pumps	Pump B Conc.	95
43.00	Pumps	Pump B Conc.	20
55.00	Controller	Stop	

1.3 样品前处理

对照品溶液的制备：取苏丹红IV对照品适量，加乙醇制成每1 mL含10 μ g的溶液。

供试品溶液的制备：取参三七伤药胶囊内容物2 g，加20 mL乙醇，超声处理20 min，过滤后取续滤液，即得。

1.4 结果判断

供试品色谱中，在与苏丹红IV对照品溶液色谱峰保留时间相应的位置上不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰在400 nm—600 nm波长范围内的紫外-可见吸收光谱，吸收光谱应不相同。（源自《参三七伤药胶囊（片）中松香酸与苏丹红IV检查项补充验方法（BJY 202005）》，国家药品监督管理局，2020年05月）

2. 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

按1.2中的分析条件，对苏丹红IV标准品溶液进行测定，苏丹红IV的保留时间为34.59 min，理论塔板数为226744，系统适用性满足要求，苏丹红IV对照品、供试品溶液、供试品加标溶液色谱图如图1、2、3所示。供试品中未检出苏丹红IV，供试品加标样品中可检出苏丹红IV，因此可判定参三七伤药胶囊中不含苏丹红IV，结果符合预期。

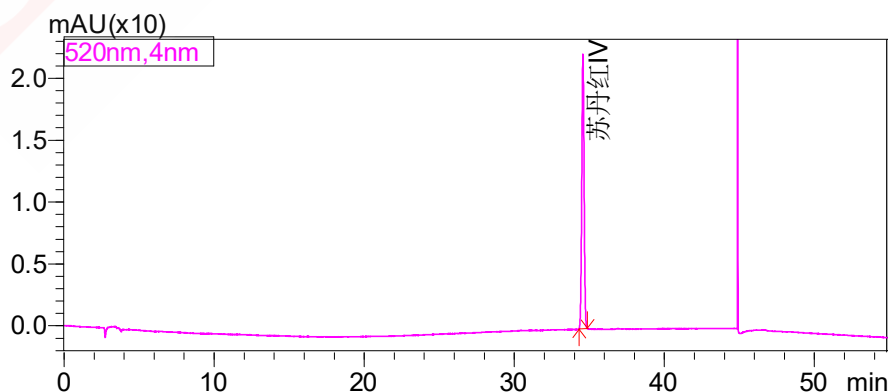


图1. 苏丹红IV对照品溶液色谱图（10 μ g/mL）

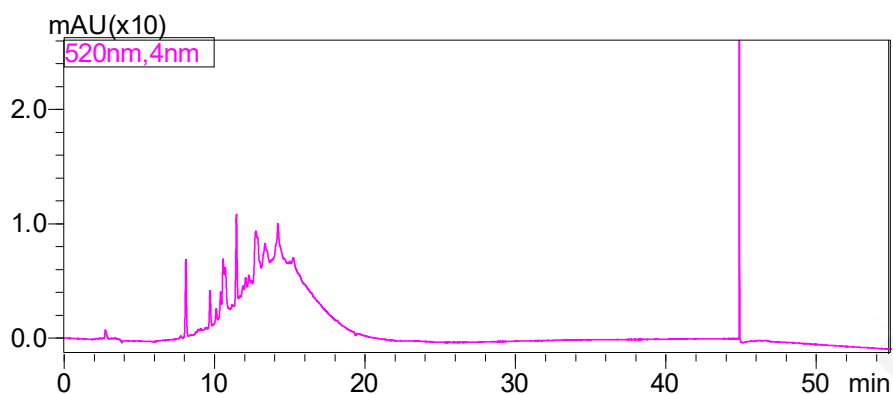


图 2. 参三七伤药胶囊供试品溶液色谱图

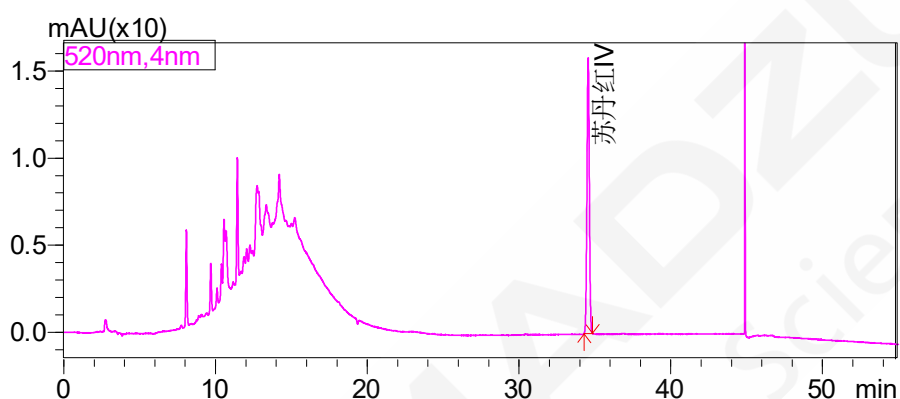


图 3. 供试品加标溶液色谱图

2.2 光谱相似度判定结果

供试品加标溶液中苏丹红IV的保留时间为34.59 min，苏丹红IV对照品和供试品加标样品对应色谱图的光谱图和相似度对比结果，如图4、5所示，其光谱相似度为99.99%，光谱相似度高，可判定为苏丹红IV。

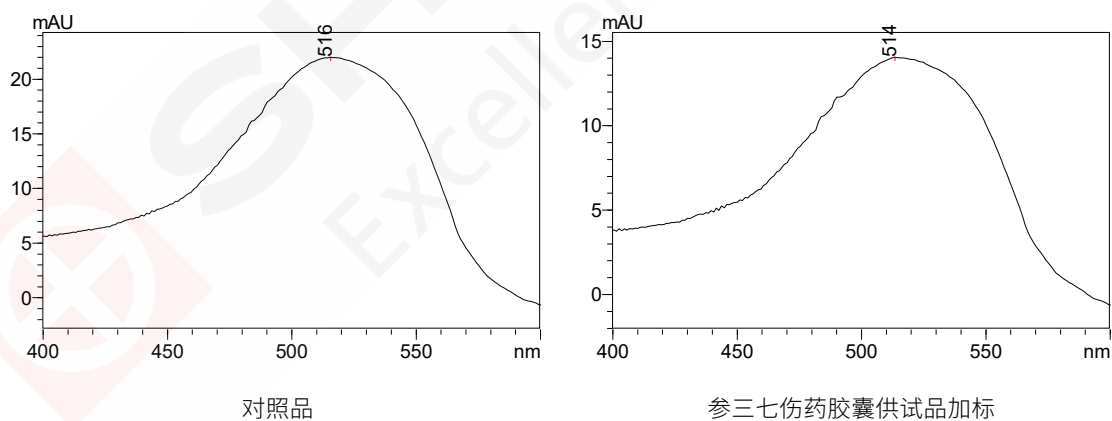


图4. 对照品、供试品加标样品光谱图(RT=34.59 min)

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	☒	时间	34.59040	设置	1.00	514		0.9999	1
2	☒	光谱	苏丹红IV.jcm	设置	1.00	516		Ref	

图5. 光谱相似度对比

2.3 检出限及定量限

对加标浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的参三七伤药胶囊供试品加标溶液进样分析, 由信噪比计算苏丹红 IV 的检出限及定量限 (LOD, $S/N=3$; LOQ, $S/N=10$), 结果如表 2 所示。

表 2. 苏丹红 IV 的检出限和定量限

名称	基质	检出限($\mu\text{g/mL}$)	定量限($\mu\text{g/mL}$)
苏丹红 IV	参三七伤药胶囊	0.07	0.21

3. 结论

本文采用岛津 LC-40 液相色谱系统, 参考补充检验方法中的要求对参三七伤药胶囊中的苏丹红 IV 进行定性测定。该方法基于色谱保留时间、UV 光谱进行定性, 准确度高, 可为相关企业检测参三七伤药胶囊中苏丹红 IV 提供帮助。

LC-MSMS法用于金鸡颗粒中毛两面针素的定性测定

摘要：本文采用岛津Nexera XR高效液相色谱系统、LCMS-8040高效液相色谱串联质谱系统，建立了金鸡颗粒中毛两面针素的定性方法。金鸡颗粒经70%乙醇提取，Shim-pack GIST C18色谱柱分离，未检出毛两面针素；金鸡颗粒加标样品在RT=33.4 min检出色谱峰（330 nm），经与毛两面针素光谱图（190-400nm）比较，初步识别为毛两面针素。采用LCMS-8040对目标峰进行分析，SCAN+触发产物离子扫描模式，目标峰与毛两面针素一级、二级质谱图相似度极高，判断目标峰为毛两面针素。本文建立了基于液相色谱、UV光谱以及串联质谱的金鸡颗粒掺伪毛两面针的鉴别方法，该方法选择性强，灵敏度高，有效保障了临床用药安全。

关键词：Nexera XR LCMS-8040 两面针 毛两面针 毛两面针素 掺伪

两面针，为芸香科植物两面针的干燥根，具有活血化瘀，行气止痛的功效。然而，市售大多数商品药材为毛两面针，不符合药典要求。已有研究表明，两面针与毛两面针药材成分差异较大，不适合替代使用。两面针主要含有乙氧基白屈菜红碱和氯化两面针碱成分，少数含有橙皮苷，毛两面针中木兰花碱，橙皮苷的含量均较高，毛两面针素为特有成分。

2020年2月，国家药监局发布了《金鸡颗粒中毛两面针素检查项补充检验方法》，对金鸡颗粒中使用毛两面针进行规定。根据保留时间、PDA光谱图、以及质谱图等信息对毛两面针素进行定性识别。

本文参考《金鸡颗粒中毛两面针素检查项补充检验方法》，建立了金鸡颗粒中添加毛两面针的定性测定方法。该方法综合考虑色谱分离、UV光谱以及质谱定性要素，选择性强，灵敏度高，供相关行业参考。

1. 实验部分

1.1 仪器

本文采用岛津LCMS-8040超高效液相色谱-串联质谱系统，配备PDA检测器。具体配置如下：

输液泵	:LC-20ADXR×2	系统控制器	:CBM-20A
自动进样器	:SIL-20AC	三重四极杆质谱仪	:LCMS-8040
柱温箱	:CTO-20AC	色谱工作站	:LabSolutions Ver. 5.98
在线脱气机	:DGU-20A _{SR}	二极管阵列检测器	:SPD-M20A

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μm，岛津（上海）实验器材有限公司，P/N:227-30017-08)

流动相：A-0.1%磷酸水溶液；B-乙腈

流 速 : 1 mL/min 柱 温 : 40℃
进 样 体 积 : 10 μL 波 长 : 330 nm
洗 脱 方 式 : 等度洗脱, B 相浓度为21%

质谱条件

离 子 源 : ESI+ 加 热 模 块 温 度 : 400 °C
雾 化 气 流 速 : 3.0 L/min 干 燥 气 流 速 : 15.0 L/min
D L 温 度 : 250 °C 扫 描 模 式 : MS SCAN/触发产物离子扫描
M S 参 数 : 扫描范围 m/z100-500, 触发产物离子, 优选离子 m/z 309.1, CE=-35V

1.3 对照品溶液配制

精密称取毛两面针素标准品 2.5 mg, 用 1.0 mL 乙醇溶解, 并稀释至 30 μg/mL 工作液, 待测。

1.4 供试品制备

取金鸡颗粒适量, 研细, 置具塞锥形瓶中, 精密加入70%乙醇20 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理40分钟, 放冷, 再称定重量, 用70%乙醇补足失重, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

1.5 结果判断

供试品色谱中, 应不得出现与对照品色谱保留时间相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰, 则采用二级管阵列检测器比较相应色谱峰的紫外-可见吸收光谱, 吸收光谱应不相同。必要时采用高效液相色谱-质谱联用方法确证。建议使用乙腈-0.01 mol/L乙酸铵溶液流动相系统。(源自《金鸡颗粒中毛两面针素检查项补充检验方法》, 国家药品监督管理局, 2020年2月)

2. 结果与讨论

2.1 色谱图

对照品进行分析, 毛两面针素保留时间RT=33.4 min, 理论塔板数16428, 大于3000, 系统适应性通过。对照品、供试品、供试品加标进行分析, 如下图1, 供试品中未检出毛两面针素, 而供试品加标样品可检出毛两面针素, 初步判定金鸡颗粒中无毛两面针, 结果符合预期。

2.2 检出限及定量限

对浓度为 30 μg/mL 的毛两面针素溶液进样分析, 由信噪比计算其检出限及定量限 (LOD, S/N=3; LOQ, S/N=10), 结果如表 1 所示。

表 1. 毛两面针素的检出限和定量限

名称	检出限(μg/mL)	定量限(μg/mL)
毛两面针素	0.09	0.27

2.3 光谱图相似度判别

供试品加标样品中毛两面针素与对照品的保留时间一致，保留时间 RSD<2%。对照品、供试品加标样品在 RT=32.9 min 色谱峰，在 190-400nm 波长范围内的紫外光谱图见图 2，其光谱相似度为 92.2%（图 8）。

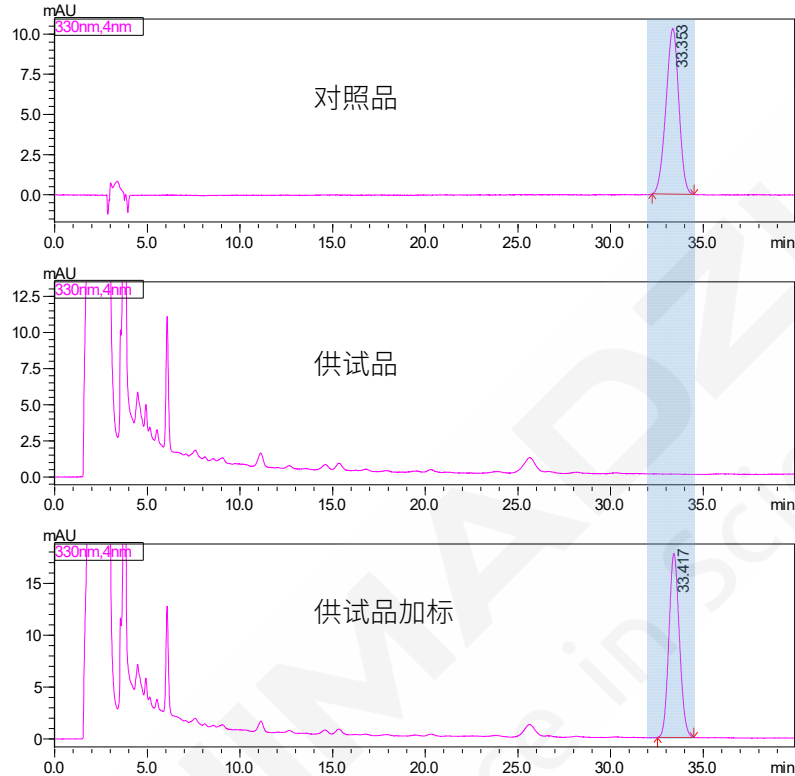


图1. 对照品、供试品、供试品加标色谱图

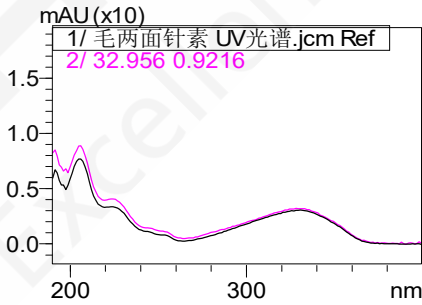


图 2. 供试品、供试品加标样品光谱图(RT=32.9 min)

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	☒	光谱	毛两面针素 UV光谱.jcm	设置	1.0	205/329/484/655/626	262/406/620/671/647	Ref	
2	☒	时间	32.95615	设置	1.0	205/224/328/766/663	199/219/265/643/670	0.9216	1

图 3. 光谱相似度对比结果

2.4 液相色谱质谱联用方法确证结果

为了进一步进行定性确认，使用 LCMS-8040 对 RT=33.4 min 色谱峰进行分析。在使用液质联用分析时，选择 10 mM 乙酸铵作为水相，并进行柱后分流进样，以保证质谱的离子化效率。对照品中毛两面针素质谱图如下图 4，观测到正离子模式[M+H]⁺峰，m/z 309.05，对前体离子进行碰撞，碰撞能 CE=35V，

二级质谱图登录 MSn 库。金鸡颗粒样品加标样品在 RT=33.4 min 色谱峰检出色谱峰,一级质谱图基峰为 m/z 309.00,二级质谱图进行谱库检索,与毛两面针素相似度 99 分(满分 100),主要碎片离子 m/z 235.00、 m/z 219.00、 m/z 205.00、 m/z 191.00 均与毛两面针素碎片离子一致,如图 5 所示。以上结果表明,串联质谱用于毛两面针素定性选择性强,重现性好。

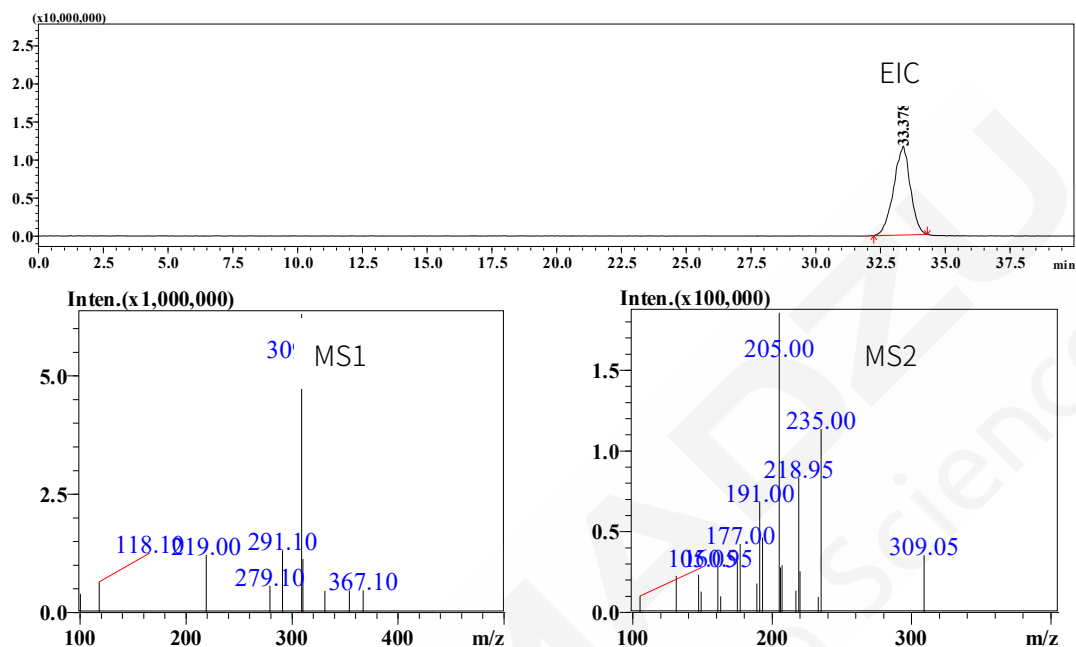


图4. 对照品中毛两面针素一级提取离子流图(EIC)、一级质谱图(MS1)、二级质谱图(MS2)

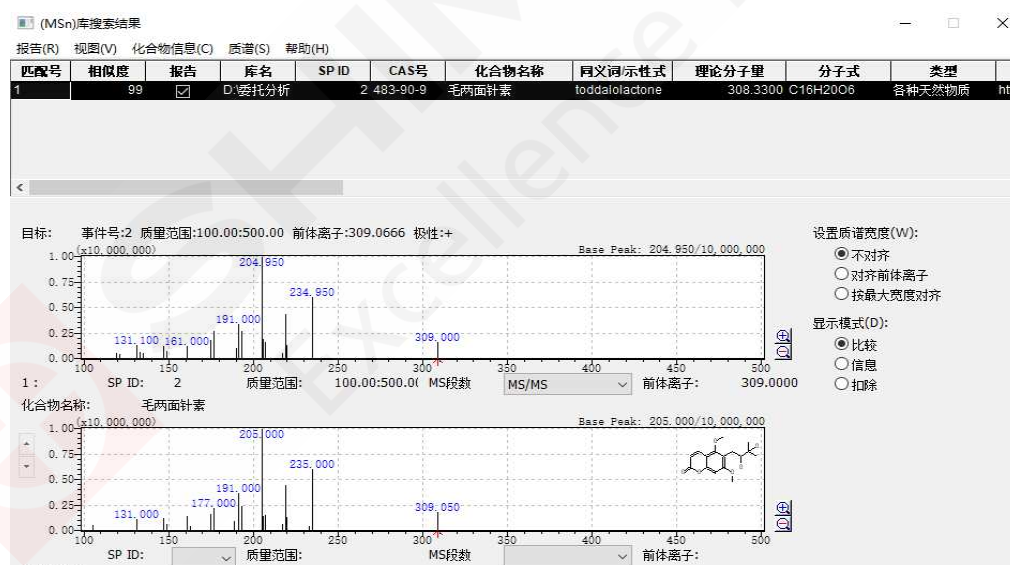


图5. 加标样品二级质谱图谱库检索结果

3. 结论

本文采用岛津Nexera XR高效液相色谱系统、LCMS-8040高效液相色谱质谱系统,建立了金鸡颗粒中违规添加毛两面针的定性识别方法。该方法基于色谱保留时间、UV光谱以及一级、二级质谱图定性,选择性强,准确度高,供相关行业参考。

LC-MSMS法测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷F11

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的方法。参考国家药品监督管理局的发布的《乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 检查项补充检验方法》，乌鸡白凤丸处理后，用超高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。结果显示拟人参皂苷 F11 线性良好，校准曲线相关系数均 ≥ 0.99 ，准确度在 90.6%~110.0%之间；中浓度的标准溶液连续分析 6 次，其保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.20%和 1.87%；低、高浓度加标样品回收率在 90.31%-94.08%之间，相对标准偏差不大于 2.16%，方法准确可靠；检出限为 0.048 ng/mL，定量限为 0.145 ng/mL。该方法重复性好，准确度高，可用于乌鸡白凤丸中非法添加西洋参的筛查和检测。

关键词：三重四极杆液相色谱质谱联用仪 乌鸡白凤丸 非法添加 拟人参皂苷 F11

乌鸡白凤丸由乌鸡、鹿角胶、醋鳖甲、煅牡蛎、人参、黄芪、当归、白芍等20味药组成，是中医妇科常用的良药。方中人参为临床常用的贵细中药材，具有大补元气、强心固脱、补脾益肺、安神生津的功效，而西洋参苦寒清泄、甘寒凉补，入心肺肾经，为寒补之品。从化学成分来看，人参和西洋参的化学成分基本相似，均以人参皂苷为代表性有效成分，其人参皂苷的种类大体相同，但两者所含皂苷种类与含量及比例各有不同，有些皂苷类成分又是它们各自所特有的，西洋参的特征性成分拟人参皂苷F11，在人参中未发现，人参的特征性成分人参皂苷Rf，在西洋参中亦未发现。因此，筛查该样品中的拟人参皂苷F11可以作为非法添加的参考依据。

随着现代分析技术的发展，UHPLC-MSMS以其快速、简便，专属性强等优势在中药分析中日益得到广泛应用。本文采用UHPLC-MSMS，建立了乌鸡白凤丸中拟人参皂苷F11的检测方法，该方法操作简捷、重复性好，可为乌鸡白凤丸的质量控制提供依据。

1. 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，具体配置为：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A _{5R}
输液泵	: LC-30AD×2	自动进样器	: SIL-30ACMP
柱温箱	: CTO-30A	质谱仪	: LCMS-8050
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.99		

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱 : Shim-pack Velox C18 (100 mm x 2.1 mm I.D., 1.8 μ m, 岛津 (上海))

实验器材有限公司, P/N: 227-32007-03)

流动相 : A-水; B-乙腈

流速 : 0.35 mL/min

柱温 : 40°C

进样量 : 5 µL

洗脱方式 : 梯度洗脱, B 相初始浓度为 20%, 时间程序见表 1。

表 1. 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	泵	B.Conc	50
4.50	泵	B.Conc	80
4.51	泵	B.Conc	20
7.50	控制器	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI(-)

碰撞气 : 氦气

雾化气 : 氮气 3.0 L/min

接口温度 : 300°C

干燥气 : 空气 10.0 L/min

D L 温度 : 250°C

加热气 : 氮气 10.0 L/min

加热模块温度 : 400°C

扫描模式 : 多反应监测(MRM), MRM 参数见表 2。

表 2. MRM 参数

名称	MW	CAS No.	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
拟人参皂苷 F11	800.50	69884-00-0	799.30	653.20	24.0	30.0	22.0

1.3 样品前处理

取不同厂家的(厂家 A, B)的大蜜丸, 剪碎, 取约 2.25 g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 精密加入 80%甲醇 25 mL, 密塞, 称定重量, 置 80°C 水浴中加热回流 75 分钟, 取出, 放冷, 再称定重量, 用 80% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 1 mL, 置 100 mL 量瓶中, 加 20%乙腈稀释至刻度, 摇匀, 滤过, 即得。

1.4 校准曲线制备

取拟人参皂苷 F11 对照品适量, 精密称定, 加甲醇制成每 1 mL 含 0.1 mg 的溶液, 精密量取适量, 用 20%乙腈稀释制成 0.2、0.4、1、5、10、50、100、200 ng/mL, 即得, 上机测定。

1.5 结果判断

供试品的提取离子流色谱中, 未同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰, 视为未检出; 供试品的提取离子流色谱中, 同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰, 且供试品色谱中 m/z 799.3→653.2 的色谱峰面积值不大于对照品溶液(检验标准中规定对照品溶液浓度为 0.4 ng/mL)中相应的峰面积值者视为未检

出；供试品的提取离子流色谱中，同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰，且供试品色谱中 $m/z799.6 \rightarrow 653.6$ 的色谱峰面积值大于对照品溶液（检验标准中规定对照品溶液浓度为 0.4 ng/mL）中相应的峰面积值者，视为检出。（参考国家药品监督管理局的发布的《乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 检查项补充检验方法》）

2. 结果与讨论

2.1 色谱图

对空白溶剂、拟人参皂苷 F11、A 厂家乌鸡白凤丸、B 厂家乌鸡白凤丸提取液进行分析，其色谱图分别见图 1、2、3、4，A 厂家乌鸡白凤丸样品在与拟人参皂苷 F11 对照品色谱峰保留时间相同的位置出现色谱峰，根据标准要求，进行定量分析。

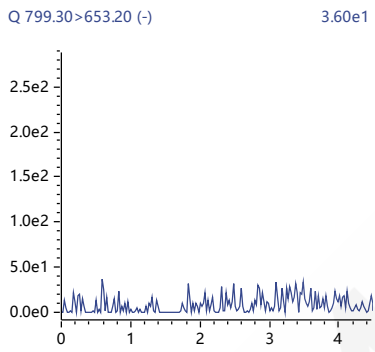


图 1. 空白溶剂 MRM 色谱图

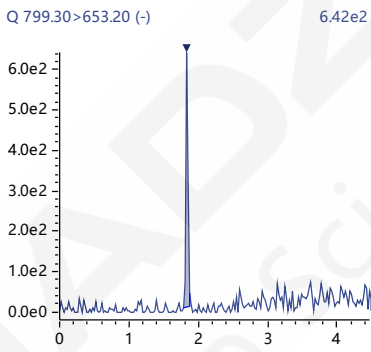


图 2. 拟人参皂苷 F11 色谱图 (0.4 ng/mL)

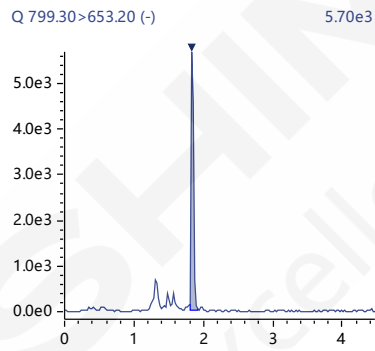


图 3. A 厂家乌鸡白凤丸提取液色谱图

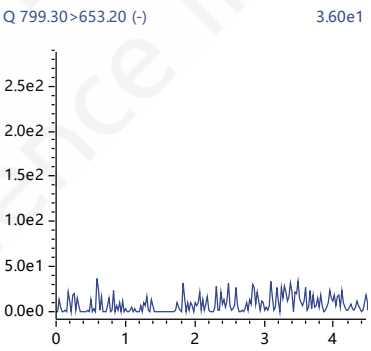


图 4. B 厂家乌鸡白凤丸提取液色谱图

2.2 线性范围

对系列校准曲线溶按 1.2 中的分析条件进行分析，以面积为纵坐标，浓度为横坐标，进行线性拟合。校准曲线结果见表 3，线性相关系数 $r \geq 0.99$ ，准确度在 90.6%~110.0%之间，满足测定需求。

表 3. 校准曲线信息

化合物	线性方程	线性范围 (ng/mL)	相关系数 r	准确度 (%)
拟人参皂苷 F11	$Y = (2726.56)X + (157.884)$	0.2-200	0.998	90.6-110.0

2.3 检出限及定量限

选取标曲线性范围的最低点浓度的标品进样分析确定其检出限及定量限，分别以 3 倍信噪比($S/N=3$)和 10 倍信噪比($S/N=10$)确定其检出限和定量限,计算检出限和定量限见表 4。

表 4. 检出限和定量限

化合物	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
拟人参皂苷 F11	0.048	0.145

2.4 精密度实验

对 50 ng/mL 标准连续分析 6 次, 计算保留时间和峰面积的 RSD, 其保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.20%和 1.87%, 仪器重复性良好。

2.5 加标回收

取乌鸡白凤丸样品, 加入低, 高浓度标品 (每个浓度重复三次), 按照 1.3 中方法制备, 通过计算测得量与加入量的比值, 计算回收率, 回收率数据见下表 5, 不同浓度下拟人参皂苷加标回收率范围均在 90.31%-94.08%之间, 相对标准偏差<2.16%, 方法准确可靠。

表 5. 加标回收实验结果 (n=3)

中文名称	低水平			高水平		
	加标浓度	加标回	加标回收率	加标浓度	加标回	加标回收率
	(ng/mL)	收率%	RSD%	(ng/mL)	收率%	RSD%
拟人参皂苷 F11	0.4	94.08	2.03	100	90.31	2.16

2.6 实际样品测定

取乌鸡白凤丸样品按文中方法处理。上机测定, 测定结果见表 6。其中 A 厂家乌鸡白凤丸提取液在 799.3→653.2 通道同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰, 且色谱峰面积值大于检验标准中规定的相应的对照品溶液 (0.4 ng/mL) 的峰面积值, 检出拟人参皂苷 F11; B 厂家乌鸡白凤丸提取液未同时出现与对照品溶液色谱相应的色谱峰。

表 6. 乌鸡白凤丸样品测定结果

待测样品	峰面积
0.4 ng/mL 拟人参皂苷 F11	1287
A 厂家乌鸡白凤丸	11720
B 厂家乌鸡白凤丸	N.D.

注: N.D.表示未检出

3. 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪测定乌鸡白凤丸中拟人参皂苷 F11 的方法。乌鸡白凤丸样品经处理后, 用超高效液相色谱分离, 三重四极杆质谱仪进行定性定量分析。校准曲线该方法简便、快速、灵敏度高, 被测成分色谱峰峰形良好, 分离度好, 相互之间无干扰, 可用于乌鸡白凤丸的质量控制。

HPLC法用于根痛平片中松香酸含量测定

摘要：本文参照国家药品监督管理局 2021 年第 47 号通告《根痛平片中松香酸检查项补充检验方法》（BJY 202101），使用高效液相色谱仪对根痛平片中松香酸进行测定。实验结果表明，对照品的理论塔板数 17003，大于 2000，系统适应性满足检测要求；样品中松香酸的检出限为 0.05 $\mu\text{g/mL}$ （0.005%），定量限为 0.15 $\mu\text{g/mL}$ （0.015%），可满足检测要求。

关键词：根痛平片 松香酸 高效液相色谱仪 二极管阵列检测器

松香酸（Abietic acid）是松香的主要成分。因其价廉易得，常被不法分子作为中药乳香、没药等的造假材料。但本品对人体有较大危害，早年曾在某中成药中发现有非法添加松香酸导致多人中毒的现象。因此对根痛平片中的松香酸进行监测是必要的。

本法采用乙醇对供试品进行超声提取，过滤后直接上机测定，具有操作简单，效率高，重现性好、准确度高等特点。利用岛津液相色谱-二极管阵列检测器，通过比对供试品与对照品的保留时间及其光谱图，对根痛平片中松香酸进行定性定量检查，建立了松香酸的检测方法。对《中国药典》现有的检测提供了行之有效的补充，且对劣质药材药品流入市场起积极作用，供相关行业参考。

1. 实验部分

1.1 仪器配置

本实验采用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 液相色谱仪，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	在线脱气机	: DGU-20A _{5R}
输液泵	: LC-30AD $\times$ 2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-20AC	二极管阵列检测器	: SPD-M30A
色谱工作站	: LabSolutions		

1.2 分析条件

色谱柱	: Shim-pack Scepter C18-120 (250 mm $\times$ 4.6 mm I.D., 5 μm ; 岛津（上海）实验器材有限公司, P/N:227-31020-06)		
流动相	: A-0.1%甲酸水溶液; B-乙腈		
流速	: 1.0 mL/min	柱温	: 35 $^{\circ}\text{C}$
进样量	: 10 μL	洗脱方式	: 等度洗脱, A:B=12:88 (v/v)
检测波长	: 241 nm		

2. 样品前处理

2.1 标准溶液的配制

对照品溶液的制备：取松香酸适量，加乙醇配制成 1 mg/mL 的储备液；然后用乙醇稀释至 10 µg/mL 的溶液，作为对照品溶液。

参照品溶液的制备：取 11-羧基-β-乙酰乳香酸适量，加乙醇配制成 1 mg/mL 的储备液；然后用乙醇稀释成 4 µg/mL 的溶液，作为参照品溶液。

2.2 供试品溶液的制备

参照《根痛平片中松香酸检查项补充检验方法》（BJY 202101）。

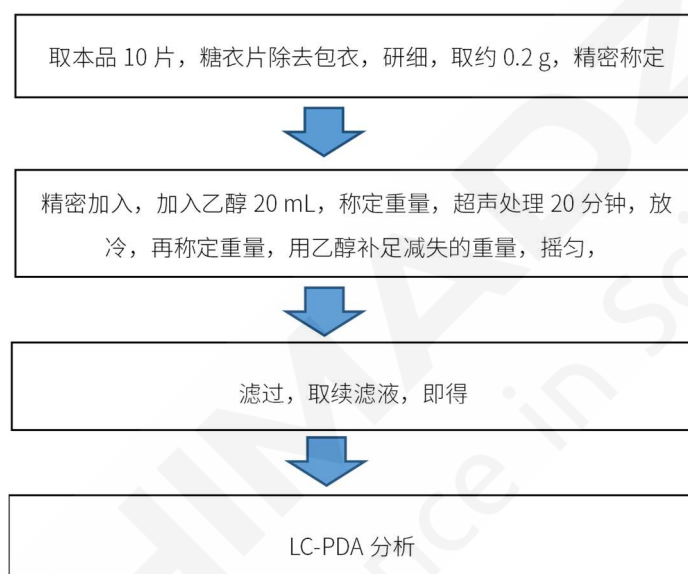


图 1. 前处理流程图

3. 结果判断

供试品色谱中，在与松香酸对照品溶液色谱峰保留时间相应的位置不得出现相同的色谱峰。若出现保留时间相同的色谱峰，采用二极管阵列检测器比较相应色谱峰的紫外-可见吸收光谱，吸收光谱应不同（松香酸对照试剂色谱峰在 241 nm 显示最大吸收）；若吸收光谱相同，且该色谱峰的峰面积值大于 11-羧基-β-乙酰乳香酸参照溶液色谱峰的峰面积值，则视为阳性检出。[源自《根痛平片中松香酸检查项补充检验方法》（BJY 202101），国家药品监督管理局，2021 年 04 月]

4. 结果与讨论

4.1 色谱图

松香酸对照品按照等度条件分析，松香酸保留时间为 RT=9.039 min，理论塔板数 17003，大于 2000，系统适应性通过。对照品、参照品、供试品、供试品加标样品进行分析，如下图 2，供试品中未检出松香酸，而供试品加标样品可检出松香酸，结果符合预期。

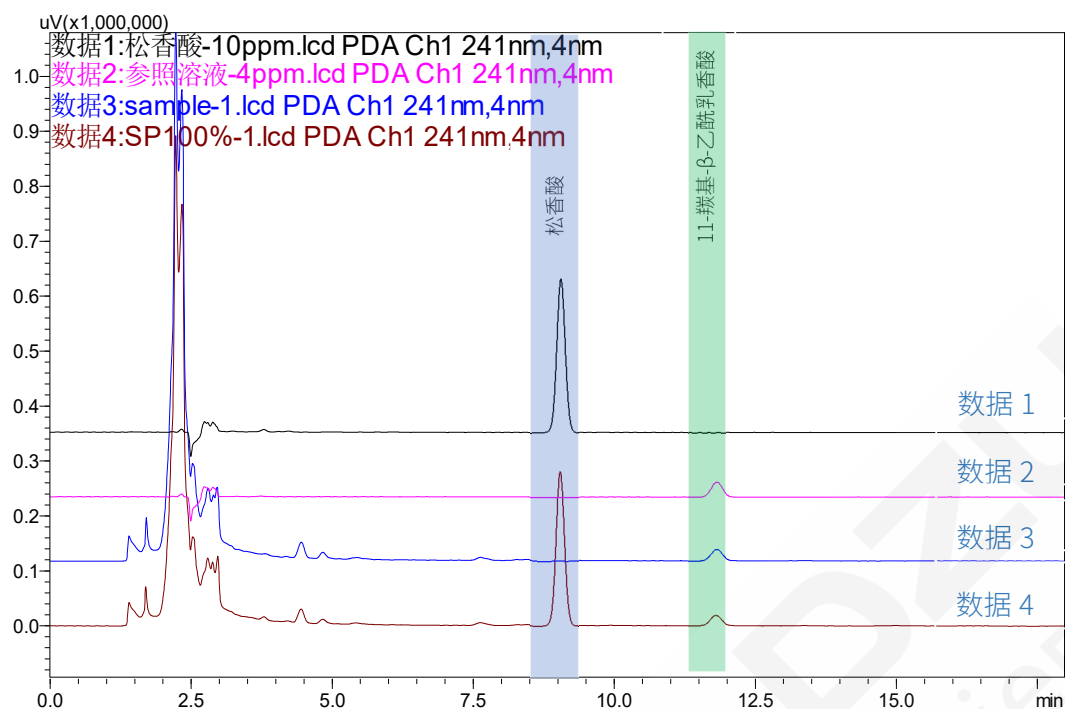


图2. 对照品、参照溶液、供试品、供试品加标样品色谱图（数据1为对照品；数据2为参照溶液；数据3为供试品；数据4为供试品加标样品）

4.2 检出限及定量限

对浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的松香酸溶液进样分析，由信噪比计算其检出限及定量限（LOD, $S/N=3$; LOQ, $S/N=10$ ），结果如表 1 所示。

表 1. 松香酸的检出限和定量限

名称	基质	检出限($\mu\text{g/mL}$)	定量限($\mu\text{g/mL}$)
松香酸	根痛平片	0.05	0.15

4.3 光谱图相似度判别

将松香酸对照品溶液按照上述分析条件进行上样分析，得到标准的色谱图以及光谱图。供试品和供试品加标溶液在相同条件下进行上样分析，供试品中未检测到峰，供试品加标溶液中松香酸保留时间为 9.026 min，与对照品溶液保留时间一致。将供试品加标样品中对应色谱图的光谱图与松香酸对照品标准光谱图进行比较如图 3 所示，其光谱相似度为 99.97%。

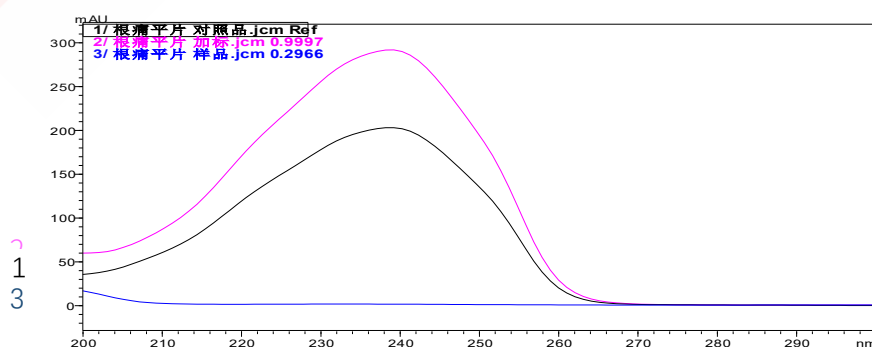


图 3. 松香酸对照品、供试品加标和供试品光谱图（1：对照品；2：供试品加标；3：供试品）

ID#	显示	对象	对象参数	比例	缩放倍率	λ_{max}	λ_{min}	相似度	Ch#
1	☒	光谱	对照品 .jcm	正常化	1.44	239/662/520	198/321/566/482/676	Ref	
2	☒	光谱	加标 .jcm	正常化	1.00	239/662/644/490	200/293/569/482/651	0.9997	
3	☒	光谱	样品 .jcm	正常化	13.33	195/232/299	219/274/490/662	0.2966	

图 4. 光谱相似度对比结果（1：对照品；2：供试品加标；3：供试品）

5. 结论

本文采用岛津超高效液相色谱系统搭配二极管阵列检测器，建立了根痛平片中违规使用松香酸的定性确认方法。试验证明，该方法基于色谱保留时间以及 UV 光谱图定性，选择性强，准确度高，可有效地检测根痛平片中的松香酸，供相关行业参考。

LC-MSMS法测定中成药中镇静安神类违禁化学成分

摘 要：本文建立了使用岛津三重四极杆液质联用仪测定中药中违禁化学成分艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑、氯硝西泮和地西泮镇静催眠药物的含量测定方法。以格列齐特为内标的方法建立校准曲线，校准曲线范围为 5~400 ng/mL，相关系数均为 0.999 以上；精密度试验连续 6 次进样的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.076%和 1.98%以下，艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑、地西泮的样品溶液定量限为 0.25 ng/mL，氯硝西泮的样品溶液定量限为 5 ng/mL，可为有效筛查中药非法添加镇静催眠化学成分提供方法和手段。

关键词：艾司唑仑 阿普唑仑 三唑仑 氯硝西泮 地西泮 三重四级杆质谱

近年来，在中成药中非法添加某些西药成分的现象时有发生。常被添加至中成药中的西药有减肥药、降糖药、补肾壮阳药、止咳平喘药、消肿止痛药以及镇静安神药，这六大类产品是中药掺西药的重灾区。西药成分毒副作用相对较大，中药产品非法加入西药而不标明药物成分和剂量，使得医生无法预知和掌握可能产生的毒副作用，极易导致患者出现不良反应，加剧病情，甚至危及患者生命。

本文建立了中成药中添加镇静安神类化学成分艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑，地西泮及氯硝西泮的 LC-MSMS 含量测定方法，为快速筛和判断中药中是否存在非法添加西药提供手段和工具。

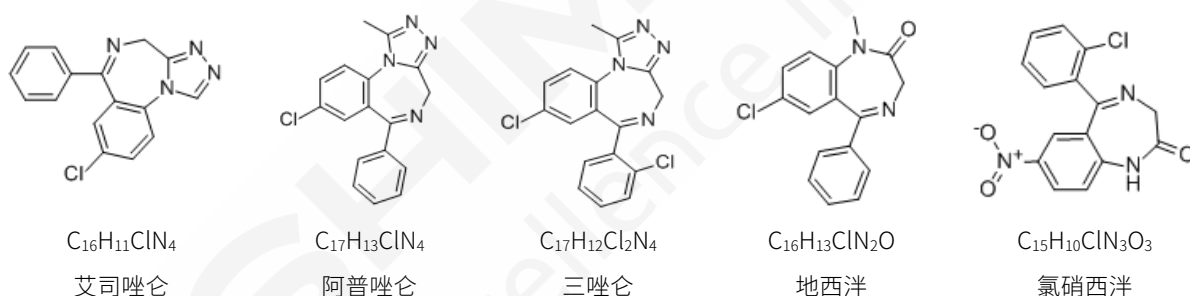


图 1.5 种化合物的化学结构式

1. 实验部分

1.1 仪器

实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8030 联用系统，具体配置如下：

系统控制器	: CBM-20A	脱气机	: DGU-20A _{5R}
输液泵	: LC-30AD×2	自动进样器	: SIL-30AC
柱温箱	: CTO-30AC	质谱仪	: LCMS-8030
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.41		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack XR-ODS II (100 mm x 2.0 mm I.D., 2.2 μ m; 岛津 (上海) 实验器材有限公司, P/N: 228-41623-92)

流 动 相 : A-10 mM 甲酸铵+0.1%乙酸水溶液; B-乙腈

流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 40°C

进 样 量 : 5 μ L

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 初始浓度为 5%, 时间程序见表 1。

表 1. 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	5
3.00	Pumps	Pump B Conc.	50
7.00	Pumps	Pump B Conc.	50
7.10	Pumps	Pump B Conc.	5
10.00	Pumps	Pump B Conc.	5
10.10	Controller	stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI(+)

接口电压 : 4.5 kV

干燥气 : 15.0 L/min

加热模块温度 : 400°C

延迟时间 : 2 ms

M R M 参 数 : 见表 2

碰撞气 : 氦气

雾化气 : 3.0 L/min

D L 温 度 : 250°C

驻 留 时 间 : 20 ms

扫 描 模 式 : 多反应监测 (MRM)

表 2. MRM 参数列表

No.	Name	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q1 Pre Bias (V)
1	艾司唑仑	295.00	267.05*	-15.0	-25.0	-18.0
			205.10	-15.0	-40.0	-21.0
2	阿普唑仑	309.10	205.10*	-15.0	-45.0	-21.0
			281.00	-15.0	-25.0	-20.0
3	氯硝西洋	316.00	270.05*	-16.0	-25.0	-19.0
			214.00	-16.0	-40.0	-15.0
4	三唑仑	343.00	308.05*	-17.0	-25.0	-22.0
			239.00	-17.0	-45.0	-26.0
5	格列齐特(IS)	324.10	127.15*	-16.0	-20.0	-13.0
			110.15	-16.0	-20.0	-23.0
6	地西洋	285.00	193.10*	-14.0	-30.0	-13.0
			154.10	-14.0	-30.0	-30.0

*表示定量离子

2. 样品前处理

2.1 标准溶液配制

分别精密称取艾司唑仑、氯硝西洋、阿普唑仑、三唑仑、地西洋，内标物格列奇特约 2 mg（精确到 0.01 mg），置 10 mL 量瓶中，加甲醇使溶解并定容至刻度，摇匀，即得浓度约为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的艾司唑仑、氯硝西洋、阿普唑仑、三唑仑、地西洋、格列齐特的标准储备溶液。甲醇依次稀释得内标格列奇特溶液 1 $\mu\text{g/mL}$ 。

取空白基质溶液适量配制成标准混合溶液，校准曲线工作溶液中内标物格列奇特浓度为 50 ng/mL ，各化合物浓度如表 3 所示。

表 3. 标准工作溶液浓度（单位 ng/mL ）

Name	Conc.(1)	Conc.(2)	Conc.(3)	Conc.(4)	Conc.(5)	Conc.(6)	Conc.(7)
艾司唑仑	5.12	10.26	20.5	51.26	103.04	328	410
阿普唑仑	5.18	10.36	20.7	51.76	103.5	331.2	414
氯硝西洋	5.16	10.3	20.6	51.5	103	329.6	412
三唑仑	5.06	10.12	20.24	50.6	101.2	323.82	404.78
地西洋	5.28	10.56	21.1	52.76	105.5	337.6	422

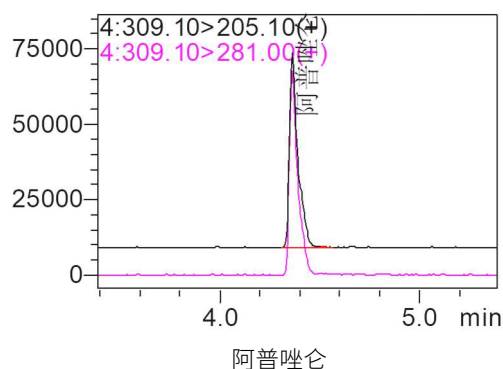
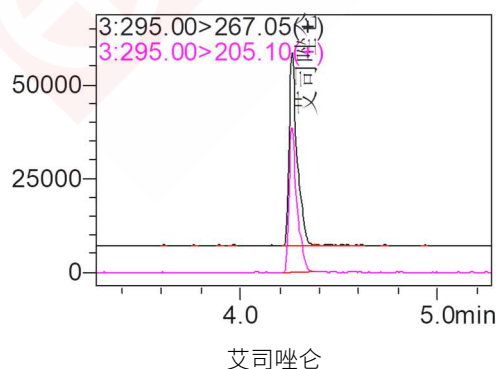
2.2 样品溶液制备

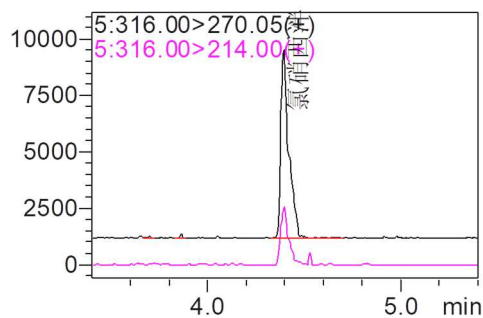
取样品（两种胶囊样品，两种颗粒样品）约 0.2 g（精确至 1 mg）于 10 mL 塑料离心管中，加入适量内标及甲醇共 5 mL，称重。涡旋 60 s 后，超声 15 min，放冷后，再称重，用甲醇补足减失的重量。4500 rpm 离心 10 min。取该溶液 20 μL ，加甲醇稀释至 0.4 mL，涡旋 30 s 后，13000 转离心 10 min，取上清液转入液相小瓶中得到供试品溶液。

3. 结果与讨论

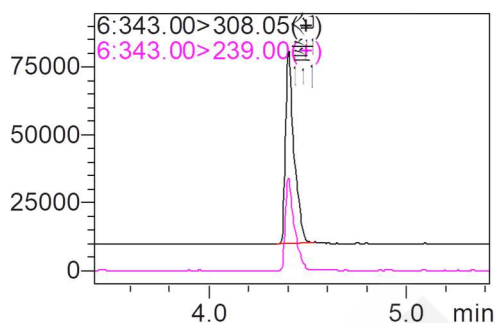
3.1 标准溶液的 MRM 色谱图

50 ng/mL 艾司唑仑、氯硝西洋、阿普唑仑、三唑仑、地西洋和内标格列齐特的混合标准品溶液谱图如图 2。

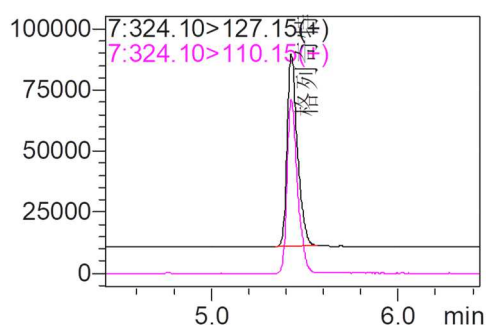




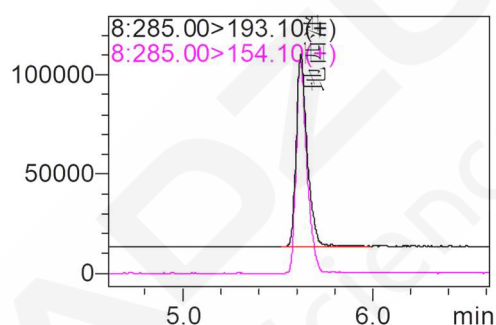
氯硝西洋



三唑仑



格列齐特

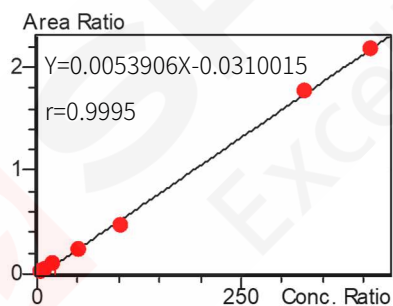


地西洋

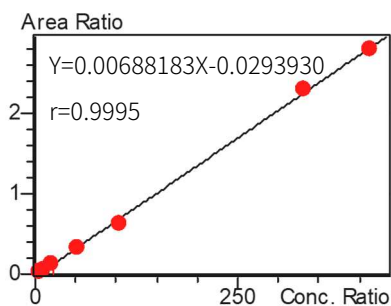
图 2.5 种化合物色谱图

3.2 线性关系

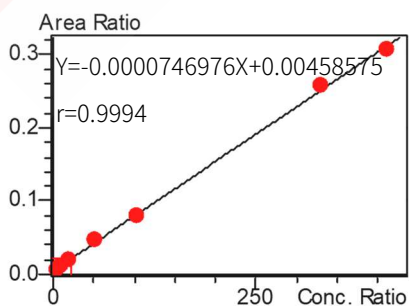
艾司唑仑、氯硝西洋、阿普唑仑、三唑仑和地西洋标准品溶液实际浓度如表 3 所示。按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标（格列齐特内标物浓度设为 1），峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线及标曲方程见图 3。所得五个组分校准曲线线性关系良好，相关系数 $r>0.999$ 。



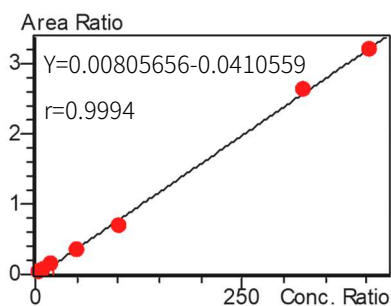
艾司唑仑



阿普唑仑



氯硝西洋



三唑仑

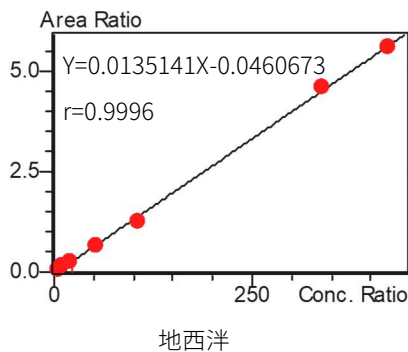


图 3.5 种化合物校准曲线及方程

3.3 精密度试验

对浓度(4)的标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重现性结果如表 4 和表 5 所示。结果显示：标准品和内标物峰面积的 RSD%在 2%以内，保留时间的 RSD%在 0.08%之内，仪器精密度良好。

表 4. 保留时间和峰面积重现性结果(n=6)

No.	艾司唑仑		阿普唑仑		氯硝西洋	
	Area	Area	Area	R.T	Area	R.T
1	81045	120450	120450	3.984	6172	4.393
2	82074	123414	123414	3.984	6467	4.390
3	80205	125774	125774	3.984	6319	4.399
4	77678	125958	125958	3.983	6524	4.392
5	81549	122874	122874	3.983	6435	4.390
6	80113	122896	122896	3.982	6433	4.391
Average	80444	123561	123561	3.983	6392	4.393
RSD%	1.153	阿普唑仑	阿普唑仑	0.018	1.98	0.076

表 5. 保留时间和峰面积重现性结果(n=6)

No.	三唑仑		地西洋	
	Area	R.T	Area	R.T
1	128433	4.405	158250	5.630
2	129324	4.406	160096	5.626
3	131829	4.407	158638	5.625
4	130670	4.406	156750	5.621
5	130011	4.403	157629	5.622
6	135343	4.406	155184	5.623
Average	130935	4.404	157758	5.624
RSD%	1.87	4.405	1.07	0.061

3.4 方法灵敏度

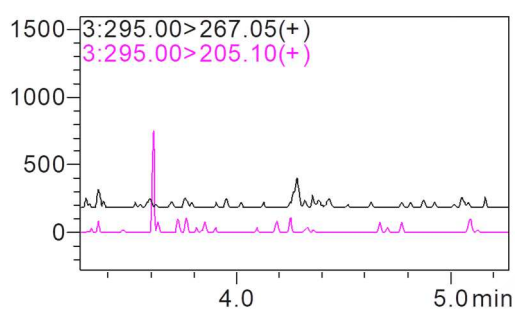
以 S/N=10 计算样品溶液各化合物的定量限，结果如表 6 所示。

表 6. 定量限结果

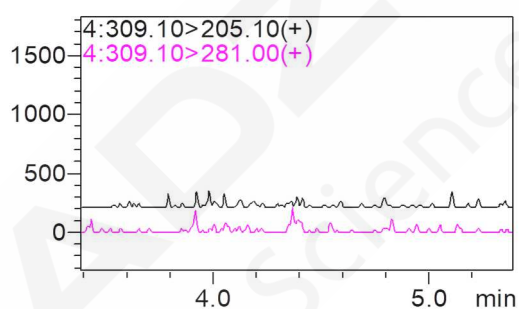
化合物	最终样品溶液浓度 (ng/mL)	样品含量 (μg/g)
艾司唑仑	0.5	0.25
阿普唑仑	0.5	0.25
氯硝西泮	5	2.5
三唑仑	0.5	0.25
地西泮	0.5	0.25

3.5 样品及样品加标溶液谱图

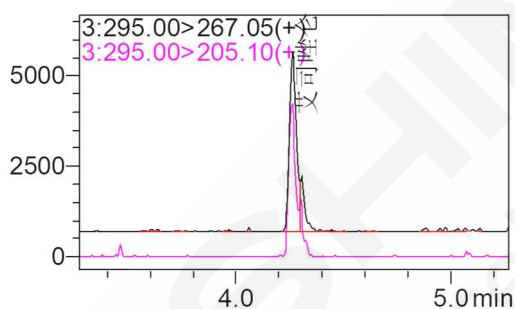
某中药颗粒样品中各组份和内标的谱图及加标后（上机浓度为 5 ng/mL）谱图如图 4。



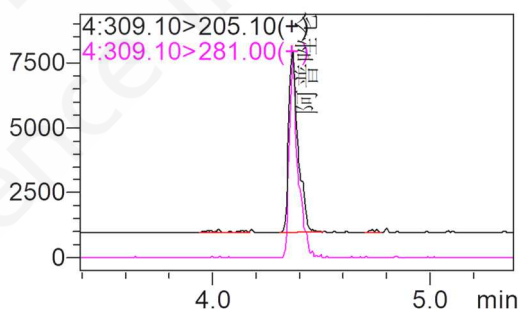
颗粒样品艾司唑仑 MRM 色谱图



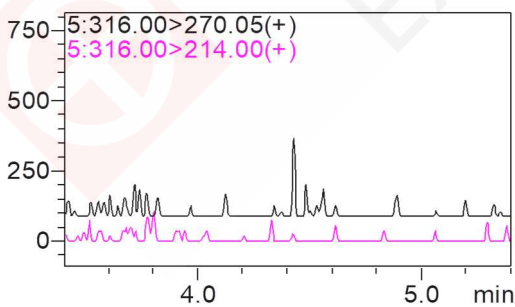
颗粒样品阿普唑仑 MRM 色谱图



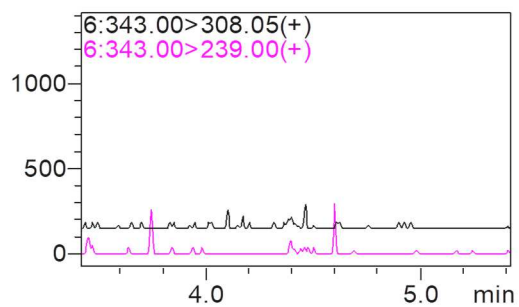
颗粒加标样品艾司唑仑 MRM 色谱图



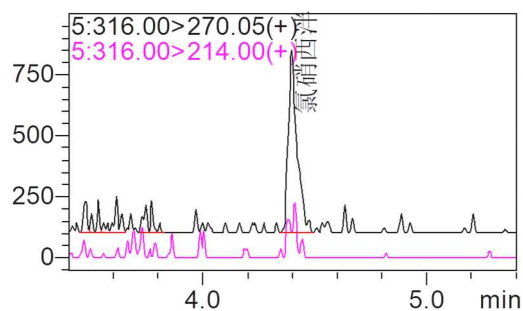
颗粒加标样品阿普唑仑 MRM 色谱图



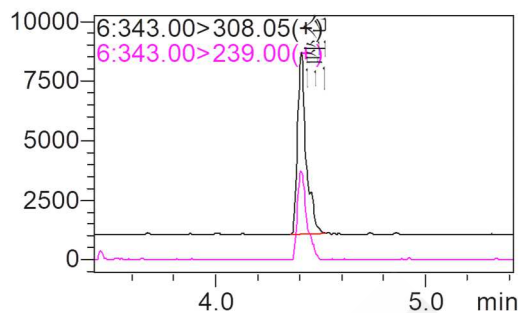
颗粒样品氯硝西泮 MRM 色谱图



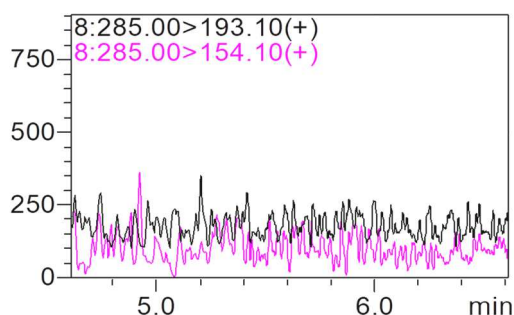
颗粒样品三唑仑 MRM 色谱图



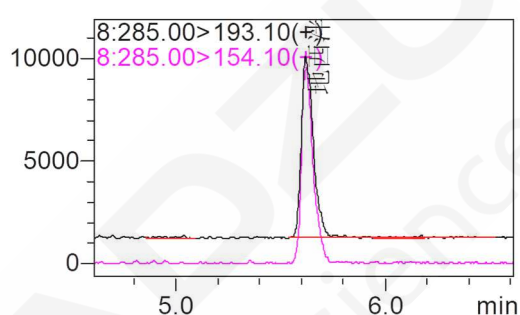
颗粒加标样品氯硝西洋 MRM 色谱图



颗粒加标样品三唑仑 MRM 色谱图



颗粒样品地西洋 MRM 色谱图



颗粒加标样品地西洋 MRM 色谱图

图 4.5 种化合物及内标空白基质和样品溶液谱图

4. 结论

建立了使用岛津超高效液相三重四极杆质谱联用仪快速测定中成药中非法添加的镇定安神类西药成分的方法。该方法以格列齐特为内标，测定艾司唑仑、阿普唑仑、三唑仑、氯硝西洋和地西洋的含量。此法分析速度快，精密度良好，线性关系好，可为有效筛查非法添加此类西药成分提供手段和工具。

附录 1 中药全过程质量控制检测项目和岛津仪器应对一览表

序号	检测领域	检测项目	检测样本	岛津应对仪器类型	页码
1	中药种植环境	有机磷农药	地表水	GC	12
		重金属	地下水	ICPMS	16
		多环芳烃	土壤	LC	21
2	炮制用辅料分析	羟甲基糠醛	蜂蜜	LC	28
		芝麻素和芝麻林素	芝麻油	LC	32
3	饮片检验	农药残留	金银花	GCMS	37
		禁用农药及代谢物	陈皮	LC-MSMS	41
		形态汞	甘草	HPLC-ICPMS	50
		黄曲霉毒素	大枣	LC	54
		特征肽	阿胶	LC-MSMS	60
		阿多尼弗林碱	银杏酮酯	LCMS	64
4	饮片掺杂使假	水麦冬酸	清半夏	LC-MSMS	69
		金胺 O	绿袍散、妇科止带片	LC-MSMS	75
		基因序列	金银花、山银花	MultiNA	80
		麝香酮	麝香	SFE-SFC-LC-MSMS	84
5	物质基础研究	气味成分	冬虫夏草	GCMSMS	94
		姜黄素	干姜黄	iMScope	102
		化学成分	穿心莲	Nexera-e	110
		苯乙醇苷类成分	管花肉苁蓉	LCMS-QTOF	113
		寡糖	北沙参	MALDI-TOFMS	122
		内部结构	高丽参	CT	125
		活性成分	丹参	全谱二维液相色谱系统	131
		有效成分制备	车前子	LC-Prep	139
		人参皂苷 Rg1 及代谢物	大鼠胆汁	LC-MSMS	145
		盐酸小檗碱	大鼠粪便	LC-MSMS	149
		地榆苷 I	大鼠血浆	LC-MSMS	156
6	药学研究	无机砷	安宫牛黄丸	HPLC-ICPMS	162
		芍药苷	血府逐瘀胶囊	IR	166
		粒度、粒形和颗粒数量	藿香正气水和抗病毒中药口服液	DIA	170
		6 种人参皂苷	高丽红参、生脉注射液	UHPLC 方法开发系统	175
		特征图谱	赤芍配方颗粒	LC、MethodTransfer	183

		人参皂苷 Re、Rg1 和 Rb1	中药注射液	LC	190
		萜类内酯	银杏叶提取物	ATLAS-LEXT NHD、LC	194
		4 种马兜铃酸	辛芩颗粒	LC-MSMS	199
		环氧乙烷等杂质	聚山梨酯 80	GC	204
		杂质元素	磺丁基-β-环糊精钠	ICPMS	208
		总有机碳	制药用水	TOC	212
		环氧乙烷	预灌封注射器	GC、GCMS	215
		溶剂残留	容器类药包材	GC	221
		拉伸试验	医用铝塑盖	试验机	225
7	中成药检验	芍药苷	逍遥丸	LC	230
		指纹图谱	复方丹参滴丸	LC	235
		总银杏酸	银杏酮酯	LC-MSMS	239
		马兜铃酸 I	九味羌活丸	LC-MSMS	244
8	中成药掺杂 使假	苏丹红 IV	参三七伤药胶囊	LC	249
		毛两面针素	金鸡颗粒	LC、LC-MSMS	253
		拟人参皂苷 F11	乌鸡白凤丸	LC-MSMS	257
		松香酸	根痛平片	LC	261
		镇静催眠药物	中药胶囊、颗粒	LC-MSMS	265

附录 2 参考文献

- [1] 黄菊,李耿,张霄潇等.新时期下中医药产业发展的有关思考[J].中国中药杂志,2022,47(17):4799-4813.
- [2] 马忠明,李同辉,张丰聪.从历史维度展望中药发展[J].中国食品药品监管,2023(03):16-27.
- [3] 李慧,牟蓉.我国中药相关政策法规的发展现状与解析[J].中医药管理杂志,2019,27(11):5-8.
- [4] 李国强.中药国际化现状与发展对策[J].今日财富(中国知识产权),2022(12):10-12.
- [5] 杨平,阳长明.建立完善符合中药特点的中药药学研究技术指导原则体系[J].中国现代中药,2020,22(12):1951-1956.
- [6] 杨明,杨逢柱.日本汉方药国际化路径研究及对我国中药行业发展的启示[J].世界中医药,2020,15(20):3174-3178.
- [7] 朱蕾.我国中药产业国际化发展的挑战、机遇及推进策略[J].对外经贸实务,2020(11):57-60.
- [8] 陈玉婷,杨瑶琨,张媛.中药出口重在品牌——浅谈中药出口在东南亚国家中存在的问题[C]//中国商品学会.第二届全国中药商品学术大会论文集.[出版者不详],2010:47-49.
- [9] 唐健元,艾彦伶,孙搏等.面向中医药高质量发展的中药监管科学概论[J].科学通报,2023,68(22):2934-2942.
- [10] 李艺清,侯胜田,李享等.“一带一路”国家中医药差异化发展策略研究[J].世界中医药,2023,18(12):1755-1758.
- [11] 宋鑫,吴剑,蒋维晏等.基于全生命周期管理的中药饮片质量提升研究[J].光明中医,2021,36(07):1173-1177.
- [12] 董玲,孙裕,裴纹萱等.基于全程质量控制理念的中药标准化体系研究思路探讨[J].中国中药杂志,2017,42(23):4481-4487.
- [13] 熊皓舒,田埂,刘朋等.中药生产过程质量控制关键技术研究进展[J].中草药,2020,51(16):4331-4337.
- [14] 姜梦华,孙娥,封亮等.中药产品生产全过程动态质量控制技术与发展[J].世界中医药,2020,15(15):2210-2215.
- [15] 田嘉禾,严夏继,尹相宜等.中药在非洲种植现状与前景分析[J].中华中医药杂志,2022,37(07):4133-4136.
- [16] 中药材产地初加工方法[J].农村新技术,2022(12):58-60.
- [17] 熊艺芬.中药材产地加工与炮制一体化技术分析[J].科技创新与应用,2021(05):140-142.
- [18] 胡晓茹,王海南,王亚丹等.中成药质量控制的思考与建议[J].中国食品药品监管,2021(09):10-15.
- [19] 徐芳琴,张新睿,郭凤伟等.中成药质量控制研究进展[J].现代生物医学进展,2014,14(31):6159-6163.
- [20] 国家药品监督管理局审评中心.中药复方制剂生产工艺研究技术指导原则(试行)[EB/OL].<https://www.cde.org.cn/zdyz/>,2020-11-27
- [21] 国家药品监督管理局审评中心.中药新药研究各阶段药学研究技术指导原则(试行)[EB/OL].<https://www.cde.org.cn/zdyz/>,2020-11-04
- [22] 许冬瑾,刘茂贵.浅谈中药饮片、炮制辅料质量标准和药材包装规范化[C]//中华中医药学会(China Association of Chinese Medicine),青海省中藏医药管理局,青海省中医学会.现代化中药制剂发展与中药药理学研究交流会论文集.,2009:192-196.
- [23] 原野.浅谈中药炮制辅料及其对中药饮片质量的影响[J].石河子科技,2021(01):68-70.
- [24] 荆文光,程显隆,张萍等.2017—2021年全国中药饮片抽检质量状况分析[J].中国现代中药,2023,25(05):969-976.
- [25] 张王宁,李爱平,李科等.中药药效物质基础研究方法进展[J].中国药学杂志,2018,53(10):761-764.
- [26] 乔宏志,狄留庆,平其能等.结构中药学:中药药效物质基础研究的新领域[J].中国中药杂志,2021,46(10):2443-2448.
- [27] 马双成,王翀,朱炯等.中成药的整体质量状况及有关问题分析[J].中国药学杂志,2019,54(17):1369-1373.



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司 <http://www.shimadzu.com.cn>

北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层
邮政编码: 100020
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层
邮政编码: 110016
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501
邮政编码: 710065
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座
邮政编码: 830002
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室
邮政编码: 450007
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋
邮政编码: 200233
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼
B座12层
邮政编码: 610063
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

南京

南京市鼓楼区汉中门2号亚太商务楼27层B座
邮政编码: 210005
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座
邮政编码: 400010
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室
邮政编码: 430060
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦
邮政编码: 510656
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室
邮政编码: 650021
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C
邮政编码: 518040
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室
邮政编码: 410005

香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知