

# 胆酸钠原料中有机溶剂残留的研究

李效宽,黄瑞丽,闫曦月,朱津瑞,杨光忠\*

(中南民族大学 民族药理学国家级实验教学示范中心,武汉 430074)

**摘要** 为建立气相色谱-氢火焰离子化检测法(GC-FID)定量测定胆酸钠原料中乙醇、乙醚溶剂残留的新方法,将胆酸钠用乙腈提取,采用 HP-INNO Wax 气相毛细管柱分离,以氮气为载气,流速为  $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,使用氢火焰离子化检测器进行检测,进样口温度为  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ ,检测器温度为  $250 \text{ }^\circ\text{C}$ .结果表明:胆酸钠原料中乙醇、乙醚的百分含量分别为 0.7, 0.9,  $0.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  和 30, 40,  $30 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ,按《中国药典》规定,均处于正常范围内.此方法简便易操作,重现性好,可适用于胆酸钠原料药中残留溶剂的研究和检测.

**关键词** 气相色谱法; FID 检测器; 胆酸钠

**中图分类号** O657.7; R917 **文献标识码** A **文章编号** 1672-4321(2019)02-0176-03

**DOI** 10.12130/znmzdk.20190204

**引用格式** 李效宽,黄瑞丽,闫曦月,等.胆酸钠原料中有机溶剂残留的研究[J].中南民族大学学报(自然科学版),2019,38(2):176-178.

LI Xiaokuan, HUANG Ruili, YAN Xiyue, et al. Research of residual solvents in crude sodium cholate [J]. Journal of South-Central University for Nationalities ( Natural Science Edition ), 2019, 38(2): 176-178.

## Research of residual solvents in crude sodium cholate

LI Xiaokuan, HUANG Ruili, YAN Xiyue, ZHU Jinrui, YANG Guangzhong

(National Demonstration Center for Experimental Ethnopharmacology Education,  
South-Central University for Nationalities, Wuhan 430074, China)

**Abstract** In order to establish a new method for the quantitative determination of residual solvents(ethanol and ether) in sodium cholate by gas chromatography equipped with flame ionization detector (GC-FID), sodium cholate was extracted by acetonitrile and separated on HP-INNO Wax column by using nitrogen as the carrier gas ( $1.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ), with the detector temperature at  $250 \text{ }^\circ\text{C}$  and the injection port temperature at  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ . The results indicated that the contents of ethanol and ether in several crude sodium cholate samples were 0.7, 0.9,  $0.6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and 30, 40,  $30 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  respectively, which was within the specified range according to "Chinese Pharmacopeia". This method is simple, easy to operate, and reproducible, which can be applied to the study and detection of residual solvents in crude sodium cholate.

**Keywords** gas chromatography; flame ionization detector; sodium cholate

胆酸钠是自猪、牛、羊等动物胆汁中提取的胆汁酸盐的混合物<sup>[1]</sup>,为淡黄色或棕黄色粉末,具有镇咳、平喘等功效<sup>[2-4]</sup>,在临床上应用广泛.胆酸钠生产一般采用胆红素、胆酸钠联产工艺,即将猪胆汁加入饱和石灰水加热煮沸,分出胆钙盐,用以制取胆红素母液(猪胆汁水)以盐酸水解,析出的粗胆酸经干燥后,以 6 倍量乙醇溶解,再加入饱和氢氧化钠的乙醇溶液,使之反应成钠盐,经过脱色、回流、过滤、蒸馏、浓缩、真空干燥等工序得胆酸钠原粉.但工艺所

用乙醇和乙醚有机溶剂对人体有害,在产品中的残留须加以控制.原国家胆酸钠质量标准<sup>[5]</sup>中无残留溶剂的检查,不利于该品种质量的控制.国内外学者对胆酸钠的研究主要在其溶解度与被吸附的难易程度上或提取工艺上的研究,或是对其药理活性和作用上及其它方面的研究,较少涉及到对胆酸钠原料药的质量控制上<sup>[6-8]</sup>,本文旨在建立定量测定胆酸钠原料中溶剂残留的方法,以对其进行有效检测和控制,为胆酸钠残留溶剂标准奠定基础.

**收稿日期** 2018-03-08 \* **通信作者** 杨光忠,研究方向:天然产物,E-mail: yanggz888@126.com

**作者简介** 李效宽(1972-),男,实验师,研究方向:药物质量及色谱应用研究,E-mail: lbzhan123@163.com

**基金项目** 国家自然科学基金资助项目(31370379)

## 1 实验部分

### 1.1 材料和仪器

乙腈(Sigma, 色谱纯); 二次蒸馏水(UPH-I-10T, 成都优普电子产品); 乙醇对照品(201610502, 中国药品生物制品检定所); 乙醚对照品(201510401, 中国药品生物制品检定所); 胆酸钠样品(批号401, 402, 403)。

气相色谱仪(6890N型, 美国安捷伦, FID检测器); 1.0  $\mu\text{L}$  进样针, HP-INNO Wax 气相毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ , 美国安捷伦); 氢气发生器(CH-1型, 武汉科林普丰仪器); 静音无油空气泵(CA-1型, 武汉科林普丰仪器); 电子分析天平(EX125ZH, 1/10<sup>5</sup>, 奥豪斯仪器); 数据分析软件(Chemstations 32 色谱工作站)。

### 1.2 色谱分析条件

色谱条件: 以氮气为载气, 流速为 1.5 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 不分流, 进样量为 0.5  $\mu\text{L}$ , 空气流量 400 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 氢气流量 40 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>, 进样口温度 200  $^{\circ}\text{C}$ , 检测器温度 250  $^{\circ}\text{C}$ , 色谱柱温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.3 标准品和供试品溶液的制备

精密称取乙醚 31.62 mg, 乙醇 31.05 mg 于 5 mL 的容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 摇匀; 精密量取 1 mL 于 25 mL 容量瓶中, 乙腈定容, 摇匀, 作为混合标准品溶液。

精密称定约 2.0 g 胆酸钠样品(取平行样各 2 份)于 25 mL 容量瓶中, 用适量乙腈溶解并超声 20 min, 放冷, 用乙腈定容, 摇匀, 再用微孔滤膜过滤, 作为供试品溶液。

## 2 结果与分析

### 2.1 系统适应性考察

分别取乙醇 29.70 mg 和乙醚 31.30 mg 于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 制成乙醇、乙醚单标溶液。按上述色谱条件, 分别进样空白溶液(乙腈)、单标溶液、混合标准品溶液及样品溶液, 记录并分析色谱图(见图 1)。由图 1 可见: 乙腈溶剂色谱图峰对乙醇、乙醚色谱峰不产生干扰, 而且乙醇、乙醚色谱峰峰型对称, 分离良好, 分离度大于 1.5, 同其溶剂及杂质峰也分离良好, 样品色谱图分离良好。

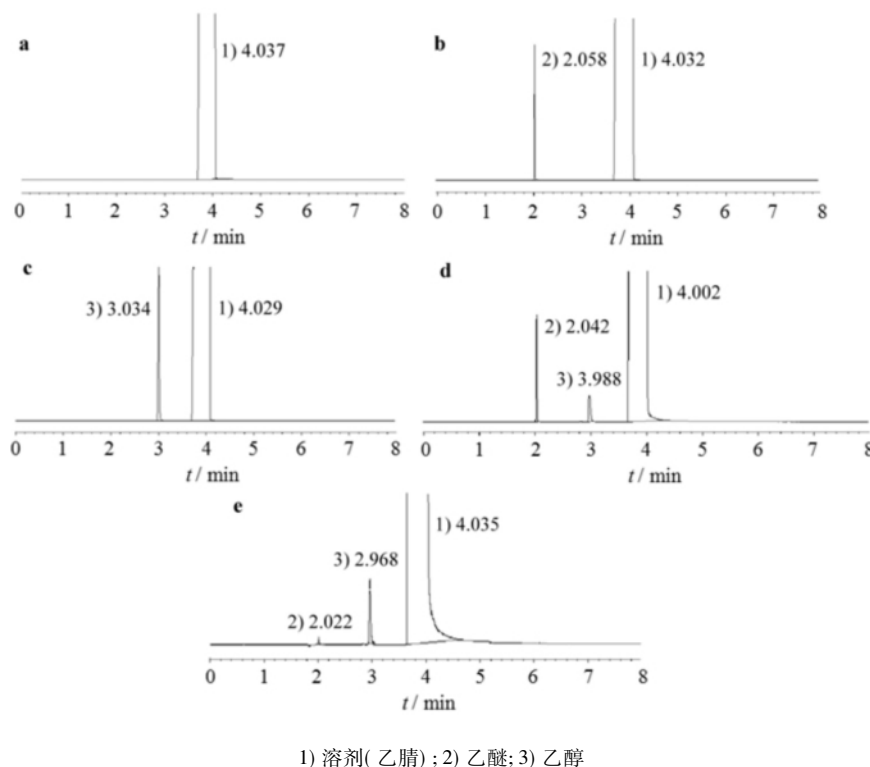


图 1 空白溶剂(a)、乙醚标准品(b)、乙醇标准品(c)、混合标准品溶液(d)和样品溶液(e)的色谱图

Fig.1 Chromatograms of blank solvent(a), standard ether(b), standard ethanol(c), mixed standard solution(d) and sample solution(e)

### 2.2 线性关系考察

分别取乙醇对照品 33.26 mg 和乙醚对照品

39.34 mg 混合于 25 mL 容量瓶中, 用乙腈定容至刻度, 制成含乙醇 1.3304 mg $\cdot$ mL<sup>-1</sup>和乙醚 1.5736 mg

• mL<sup>-1</sup>的混合溶液,作为线性储备液.分别精密量取线性储备液 0.5, 1, 2, 3, 5 mL 置于 10 mL 容量瓶中,用乙腈依次稀释成系列对照品溶液,分别进样 0.5 μL,以进样量浓度  $c$  为横坐标,峰面积  $A$  为纵坐标,得出乙醇和乙醚的线性回归方程分别为  $A = 309.23c + 11.242$ ,  $r = 0.9976$ ;  $A = 373.89c + 5.2939$ ,  $r = 0.9982$ .说明乙醇在 66.5 ~ 665.2 μg • mL<sup>-1</sup> 范围内,乙醚在 78.7 ~ 786.8 μg • mL<sup>-1</sup> 范围内呈现良好的线性关系.

### 2.3 精密度实验

取乙醇、乙醚对照品溶液(乙醇浓度 266.1 μg • mL<sup>-1</sup>,乙醚浓度 314.7 μg • mL<sup>-1</sup>),照上述色谱条件重复进样 6 次,记录色谱图及峰面积,经计算,乙醇和乙醚峰面积的 RSD 分别为 1.31% 和 1.25%,表明此法的精密度较好.

### 2.4 加样回收率实验

在已测定乙醇、乙醚含量的胆酸钠原料中分别取 6 份,准确加入已知的乙醇、乙醚,按照上述方法制备供试品溶液,在相同的条件下进行测定,乙醇回收率为 100.18%,乙醚回收率为 101.02%.结果表明:2 种溶剂的回收率好,方法准确可靠.

### 2.5 样品含量测定

按照上述供试品溶液的制备方法制备 3 批样品溶液(批号 401, 402, 403),并按照上述色谱条件测定供试品中乙醇和乙醚的含量( $n = 3$ ),乙醇、乙醚的百分含量分别为 0.7, 0.9, 0.6 mg • g<sup>-1</sup> 和 30, 40, 30 μg • g<sup>-1</sup>(色谱结果见图 1).

## 3 结果与讨论

### 3.1 结果分析

依照标准测定方法,按外标法计算样品中溶剂的残留量,根据《中国药典》2015 年版二部附录 VIII P 第一法,残留溶剂测定法及 ICH 的规定,本品中的待测溶剂乙醇和乙醚为 3 类溶剂,按规定:乙醚和乙醇均不得超过 5 mg • g<sup>-1</sup>.本法测定中乙醚和乙醇残留量均符合药典要求.

### 3.2 色谱条件的选择和优化

在色谱柱的选择上<sup>[9]</sup>,选用 HP-INNO Wax 气相毛细管柱,发现其具有重现性好、柱效高、峰形尖锐、信噪比低等优点.在溶剂的选择上,使用甲醇作为溶

剂,其溶剂峰会对乙醚、乙醇的出峰情况造成干扰,不利于定量定性分析;而以乙腈为溶剂,对色谱柱的影响较小,分离效果更佳,重复性较好,最为理想.

### 3.3 胆酸钠标准的提高

工艺过程中所使用的乙醇和乙醚有机溶剂对人体有害,其在产品中的残留须加以控制.受检查技术和检查仪器所限,原国家胆酸钠质量标准中无残留溶剂的检查,不利于该品种质量的控制,导致产品质量对人体健康有隐患.本文有效地建立了定量测定胆酸钠原料中溶剂残留的方法,为建立胆酸钠残留溶剂标准奠定基础,能有效检测胆酸钠原料中有机溶剂残留.

## 参 考 文 献

- [1] 汪祺,何轶,郑笑为,等.牛磺胆酸钠对照品标定方法的建立[J].中国现代中药,2016,18(10):1279-1284.
- [2] 朱强,石朝周,孙汉清.牛磺胆酸钠的合成及其药理作用[J].中国药学杂志,1997,32(4):236-238.
- [3] 公瑞煜,张达,吕志良,等.牛磺鹅去氧胆酸钠的提取及与鹅去氧胆酸钠的药理作用比较[J].精细化工,2007,24(10):975-978.
- [4] 石志辉,徐麟皓,周锐.牛磺熊去氧胆酸钠抑制小鼠间歇性低氧模型肺组织中内质网应激的激活[J].中南大学学报(医学版),2015,40(11):1165-1172.
- [5] 中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国卫生部药品标准[S].二部第六册.北京:中华人民共和国卫生部药典委员会,1998:98.
- [6] 梁爽,洪松,汤峥,等.生物表面活性剂胆酸钠对氯酚的增溶[J].环境化学,2017,36(2):345-355.
- [7] 贾霖,黄国清,王宝维,等.鹅胆汁中鹅脱氧胆酸和胆红素提取工艺研究[J].食品工业科技,2012,33(9):292-294.
- [8] Kumar K, Patial B S, Chauhan S. Conductivity and fluorescence studies on the micellization properties of sodium cholate and sodium deoxycholate in aqueous medium at different temperatures: Effect of selected amino acids[J]. J Chem Thermodyn,2015,82:25-33.
- [9] 邓旭坤,吴非,陈旅翼,等.气相色谱法分析大麻药多糖成分中单糖组成[J].中南民族大学学报(自然科学版),2015,34(2):48-51.

(责任编辑 刘钊)