中图分类号：R917；R927　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2025)10－0091－05
doi:10.3969 / j.issn.1006－4931.2025.10.019

在线凝胶色谱气质联用法检测胆舒软胶囊中多环芳烃

刘明容

（四川省药品监督管理局中药质量研究重点实验室·四川省乐山市食品药品检验检测中心，四川 乐山　614000）

摘要：目的　建立检测胆舒软胶囊中 16 种多环芳烃的在线凝胶色谱气质联用（GPC－GCMS）法。**方法**　以乙腈提取样品内容物，固相萃取柱净化处理，采用在线 GPC－GCMS 法测定 16 种多环芳烃的含量。**结果**　萘、苊烯、苊、芴、菲、蒽、荧蒽、芘、苯并(a)蒽、䓛、苯并(b)荧蒽、苯并(k)荧蒽、苯并(a)芘、茚并[1,2,3－cd]芘、二苯并(a,h)蒽、苯并(ghi)苝质量浓度均在 0～100 ng / mL 范围内与峰面积线性关系良好，定量限为 0.97～3.11 μg / kg；精密度、稳定性、重复性试验结果的 *RSD* 均小于 5.0%；平均加样回收率为 86.69%～101.95%，*RSD* 为 0.27%～9.36%（n = 9）。**结论**　该方法操作简便、批量处理时间短、定性定量准确、灵敏度高，适用于胆舒软胶囊中多环芳烃的检测。

关键词：胆舒软胶囊；多环芳烃；固相萃取；在线凝胶色谱；气相色谱质谱联用法

Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Danshu Soft Capsules by Online GPC－GCMS

LIU Mingrong

(Key Laboratory for Quality Research of Traditional Chinese Medicine, Sichuan Medical Products Administration·Leshan Institute for Food and Drug Control, Leshan, Sichuan, China　614000)

Abstract: Objective　To establish an online gel permeation chromatography－gas chromatography－mass spectrometry(GPC－GC / MS) method for the determination of 16 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons in Danshu Soft Capsules. **Methods**　The content of the sample was extracted by acetonitrile, purified it with a solid－phase extraction column, and determined the content of naphthalene, acenaphthylene, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benzo (a) anthracene, chrysene , benzo(b) fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, indeno[1,2,3-cd] pyrene, dibenzo (a,h) anthracene, benzo (ghi) perylene by online GPC－GCMS method. **Results**　The linear ranges of were all 0－100 ng / mL, with limits of quantification of 0.97－3.11 μg / kg. The *RSD*s of precision, stability, and repeatability test results were all lower than 5.0%. The average recovery of polycyclic aromatic hydrocarbons were 86.69%－101.95%, with *RSD*s of 0.27%－9.36% (n = 9). **Conclusion**　This method is easy to operate, has a short batch processing time, can accurate qualitative and quantitative detection results, has high sensitivity, and is suitable for the detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in Danshu Soft Capsules.

Key words: Danshu Soft Capsules; polycyclic aromatic hydrocarbon; solid phase extraction; online gel chromatography; GC－MS

中药在种植加工过程中易受外源性污染，污染物主要包括残留农药、残留兽药、二氧化硫、重金属、真菌毒素、多环芳烃等[1]。这类污染物普遍具有持久性长、难分解、危害大等特点，不仅影响中药的质量安全，并且对使用者的健康也可能造成负面影响[2－7]。多环芳烃（PAHs）为外源性污染物，在环境和食品领域备受关注，具有亲脂性、远距离迁移、持久性强，因其致癌、致畸和致突变性，世界各国对其制订了严格的限量要求，如2008 年欧洲食品安全局提出了食品中应优先检测的 16 种 PAHs，但对于中药材等复杂基质样品中 PAH s 残留量测定方面的报道较少。胆舒胶囊具有舒肝理气、利胆功效，临床主要用于慢性结石性胆囊炎、慢性胆囊炎及胆结石肝胆郁结、湿热胃滞证的治疗[8]。其主要成分为薄荷素油，新鲜薄荷的茎和叶经水蒸气蒸馏后加工处理可得[9]。该药加工过程中可能引入多环芳烃，但目前针对胆舒胶囊中多环芳烃的研究[10－11]较少。当前检

第一作者：刘明容，女，大学本科，主管中药师，研究方向为中药材质量安全，（电子信箱）307925768@qq.com。

2800－2804.
[15] LIU T, JIN Y, DONG M. Cost－effectiveness of Nivolumab Plus Cabozantinib Versus Cabozantinib as First－Line Treatment of Metastatic Renal Cell Carcinoma [J]. Clinical Genitourinary Cancer, 2023, 21(6): E449－E460.
[16] LULIANI M, SIMONETTI S, PANTANO F, et al. Antitumor Effect of Cabozantinib in Bone Metastatic Models of Renal Cell Carcinoma[J]. Biology－Basel, 2021, 10(8): 781.
[17] SCHMIDINGER M, MOTZER RJ, ROLLAND F, et al. Analysis by region of outcomes for patients with advanced renal cell carcinoma treated with cabozantinib or everolimus: a sub－analysis of the METEOR study [J]. Acta Oncologica, 2022, 61(1): 52－57.

（收稿日期：2024－07－09；修回日期：2025－01－23）

测多环芳烃的方法主要包括液相色谱法和气相色谱质谱联用法[12-16]。液相色谱仪价格较低，但定性能力较差；气相色谱质谱联用法有通量高、定性能力强、灵敏度高等优点。基于此，本研究中建立了测定胆舒软胶囊中多环芳烃的固相萃取结合在线凝胶色谱气质联用(GPC-GCMS)法，以期为中药外源性污染物多环芳烃分析和中药质量安全控制提供参考和借鉴。现报道如下。

1 仪器与试药

1.1 仪器

TQ-8030型在线式凝胶色谱-气质联用系统(岛津企业管理<中国>有限公司)；TGL-1650型高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司)；ME204型电子天平(梅特勒托利多上海有限公司，精度为0.1 mg)；MFV-12型氮吹仪(广州得泰仪器科技有限公司)；Multi Reax型试管振荡器(德国海道尔夫公司)；EV331型旋转蒸发仪(北京莱伯泰科仪器股份有限公司)；Rtx-5silMS型毛细管色谱柱(瑞思泰康科技<北京>有限公司)。

1.2 试药

胆舒软胶囊(20批，均为市售)。16种多环芳烃混合标准溶液(批号为800271b，含量200 μg/mL)，购于北京坛墨质检科技股份有限公司；乙腈、正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯均为色谱纯，其余试剂均为分析纯，水为纯化水。

2 方法与结果

2.1 试验条件

GPC条件：色谱柱为Shodex CLNpak EV-200柱(150 mm×2.1 mm)；流动相为丙酮-环己烷(3∶7，V/V)；流速为0.1 mL/min；柱温为40 ℃；进样量为10 μL。色谱时间控制程序见表1[17]。

GC条件：进样口温度为250 ℃，不分流(大体积进样)；升温程序为，起始温度90 ℃(保持1 min)，以20 ℃/min的速率升温至220 ℃，以5 ℃/min的速率升温至320 ℃(保持5 min)；线速率为37.2 cm/s；载气为高纯氦气，纯度大于99.999%；溶剂延迟时间：3 min。

MS条件：离子源为电子轰击离子(EI)源，温度为220 ℃，质谱接口温度为280 ℃。大体积进样口温度程序为初始温度120 ℃，保持5 min，然后以100 ℃/min的速率升至250 ℃，保持27.5 min；进样口压力程序为初始压力120 kPa，以100 kPa/min的速率升至180 kPa，保持4.4 min，然后以49.8 kPa/min的速率降至120 kPa，保持27.6 min；隔垫吹扫程序为初始流量5.0 mL/min，进样采集后以10 mL/min的速率降至0 mL/min，保持6 min，然后以10 mL/min的速率升至5 mL/min，保持5 min。16种多环芳烃质谱参数见表2。

表1 在线式凝胶色谱时间控制程序

Tab. 1 Online GPC time control program

t(min)	对象	事件
0.01	Option Box vp	Valve A Position 0
0.01	Option Box vp	Valve B Position 0
3.69	Option Box vp	Valve A Position 1
4.29	控制器	Event 1
5.69	Option Box vp	Valve A Position 0
5.89	Option Box vp	Valve B Position 1
8.57	Option Box vp	Degassing Unit State Operate
8.67	Option Box vp	Degassing Unit State OFF
8.69	Option Box vp	Valve B Position 0
8.70	控制器	Stop

表2 16种多环芳烃质谱参数

Tab. 2 Mass spectrum parameters of 16 kinds of polycyclic aromatic hydrocarbons

待测成分	保留时间(min)	特征离子(m/z)
萘	4.382	127,128*,102
苊烯	6.262	151,152*,150
苊	6.473	152,153*,154
芴	7.107	165,166*,82
菲	8.353	176,178*,152
蒽	8.428	176,178*,179
荧蒽	10.501	200,202*,203
芘	11.013	200,202*,201
苯并(a)蒽	14.524	226,228*,229
䓛	14.638	226,228*,229
苯并(b)荧蒽	18.305	250,252*,253
苯并(k)荧蒽	18.404	250,252*,253
苯并(a)芘	19.424	250,252*,253
茚并[1,2,3-cd]芘	23.219	276*,274,277
二苯并(a,h)蒽	23.354	276,278*,279
苯并(ghi)苝	24.015	274,276*,277

注：*为定量离子。

Note: * indicates quantitative ion.

2.2 溶液制备

混合对照品溶液：取16种多环芳烃混合标准溶液1 mL，用正己烷稀释并定容至10 mL，混匀，制成质量浓度为20 μg/mL的混合对照品贮备液；移取0.5 mL，用乙腈稀释并定容至10 mL，混匀，制成质量浓度为1 μg/mL的混合对照品溶液。

供试品溶液：取样品内容物0.5 g，精密称定，置50 mL玻璃离心管，加入2 mL乙腈饱和的正己烷溶解，再加入5 mL正己烷饱和的乙腈，涡旋2 min，5 000 r/min离心5 min，吸取下层乙腈层，置另一干净玻璃试管中，用5 mL正己烷饱和的乙腈重复提取1次，合并提取液于玻璃试管中，冷冻30 min，迅速将乙腈层倒入鸡心瓶，以40 ℃水浴减压浓缩至近干，加入2 mL正己烷涡旋振荡溶解。依次用5 mL二氯甲烷和10 mL正己烷活化多环

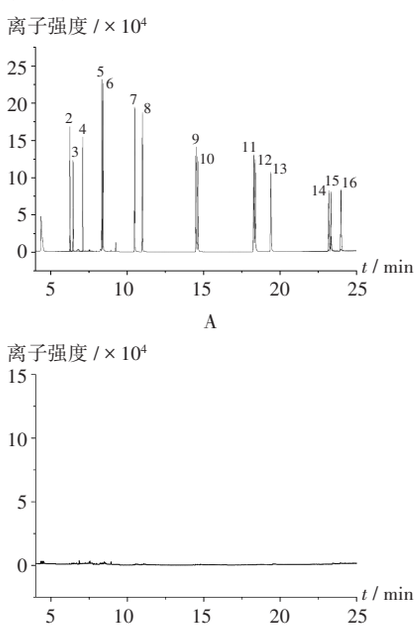
芳烃固相萃取柱，获得 2 mL 提取液，移至固相萃取柱中，再用 5 mL 正己烷淋洗，用 10 mL（二氯甲烷 - 正己烷混合溶液（1∶1，*V* / *V*）洗脱，收集流出物于玻璃氮吹管中。氮吹（温度低于 35 ℃）除去溶剂，吹至近干，用乙腈定容至 1 mL，涡旋混匀，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液，即得。

加标供试品溶液：取前述供试品溶液，加 16 种多环芳烃混合标准溶液适量，以乙腈稀释，即得。

阴性对照品溶液：按胆舒软胶囊处方及工艺制备不含主要有效成分的阴性样品，按供试品溶液制备方法制成阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

系统适用性试验：取 2.2 项下加标供试品溶液、阴性对照品溶液各适量，按 2.1 项下试验条件进样测定，记录峰面积。结果显示，加标供试品溶液在与混合对照品溶液相同保留时间处有相应色谱峰，理论板数按各成分峰计均应大于 3 000，分离度均大于 1.5，基线分离良好。详见图 1。



1. 萘 2. 苊烯 3. 苊 4. 芴 5. 菲 6. 蒽 7. 荧蒽 8. 芘 9. 苯并(a)蒽 10. 䓛 11. 苯并(b)荧蒽 12. 苯并(k)荧蒽 13. 苯并(a)芘 14. 茚并[1,2,3 - cd]芘 15. 二苯并(a,h)蒽 16. 苯并(ghi)苝

A. 加标供试品溶液 B. 阴性对照品溶液

图 1 总离子流图

1. Naphthalene 2. Acenaphthylene 3. Acenaphthene 4. Fluorene 5. Phenanthrene 6. Anthracene 7. Fluoranthene 8. Pyrene 9. Benzo（a）anthracene 10. Chrysene 11. Benzo（b）fluoranthene 12. Benzo（k）fluoranthene 13. Benzo（a）pyrene 14. Indeno［1,2,3 - cd］pyrene 15. Dibenzo（a,h）anthracene 16. Benzo（ghi）perylene

A. Spiked test solution B. Negative reference solution

图 1 Total ion chromatograms

线性关系与定量限考察：取 16 种多环芳烃混合标准溶液适量，加乙腈稀释，得质量浓度为 0，1，5，10、20，50，100 ng / mL 的系列混合对照品溶液，经 0.22 μm 微孔滤膜滤过，取续滤液按 2.1 项下试验条件进样测定，记录峰面积。以多环芳烃定量离子峰的峰面积（*Y*）为纵坐标、待测成分质量浓度（*X*，ng / mL）为横坐标进行线性回归，得回归方程和线性范围。并以信噪比为 10∶1 时的待测成分含量为定量限。结果见表 3。

表 3 线性关系及定量限考察结果（*n* = 7）

Tab. 3 Results of the linear ralationship and limit of quantitation（*n* = 7）

待测成分	回归方程	*r*	线性范围（ng / mL）	定量限（μg / kg）
萘	$Y_1 = 1\,762.1X_1 + 645.26$	0.998 2	0 ~ 100	3.11
苊烯	$Y_2 = 1\,822.8X_2 + 2\,148.8$	0.999 3	0 ~ 100	0.99
苊	$Y_3 = 1\,323.3X_3 + 1\,101.9$	0.999 7	0 ~ 100	1.01
芴	$Y_4 = 1\,418.9X_4 + 560.13$	0.999 6	0 ~ 100	0.98
菲	$Y_5 = 1\,980.3X_5 + 3\,077.8$	0.999 5	0 ~ 100	0.98
蒽	$Y_6 = 2\,220X_6 + 835.88$	0.999 8	0 ~ 100	1.02
荧蒽	$Y_7 = 2\,352X_7 + 1\,104.7$	0.999 9	0 ~ 100	1.01
芘	$Y_8 = 2\,524.5X_8 + 631.45$	0.999 8	0 ~ 100	0.99
苯并(a)蒽	$Y_9 = 2\,226.2X_9 + 3\,545.7$	0.999 4	0 ~ 100	1.02
䓛	$Y_{10} = 2\,158.1X_{10} + 1\,912.6$	0.999 8	0 ~ 100	1.03
苯并(b)荧蒽	$Y_{11} = 2\,655.2X_{11} - 2\,525.5$	0.998 7	0 ~ 100	0.97
苯并(k)荧蒽	$Y_{12} = 2\,555.2X_{12} - 2\,440.8$	0.999 7	0 ~ 100	1.01
苯并(a)芘	$Y_{13} = 2\,296.5X_{13} - 331.53$	0.999 8	0 ~ 100	1.04
茚并[1,2,3-cd]芘	$Y_{14} = 1\,426.4X_{14} + 1\,127.6$	0.998 6	0 ~ 100	1.47
二苯并(a,h)蒽	$Y_{15} = 1\,392.9X_{15} + 1\,166.6$	0.998 3	0 ~ 100	1.48
苯并(ghi)苝	$Y_{16} = 1\,581.8X_{16} - 1\,058.1$	0.998 6	0 ~ 100	1.46

精密度试验：取 2.2 项下混合对照品溶液，按 2.1 项下试验条件连续进样测定 6 次，记录峰面积。结果的 *RSD* 小于 5.0%（*n* = 6），表明仪器精密度良好。

稳定性试验：取 2.2 项下加标供试品溶液，分别于室温放置 0，2，4，6，12 h 时按 2.1 项下试验条件进样测定，记录峰面积。结果的 *RSD* 均小于 5.0%（*n* = 5），表明加标供试品溶液室温放置 12 h 内基本稳定。

重复性试验：取 2.2 项下加标供试品溶液，6 份，按 2.1 项下试验条件进样测定，记录峰面积。结果的 *RSD* 均小于 5.0%（*n* = 6），表明方法重复性良好。

基质效应（ME）考察：分别以纯溶剂和空白基质溶液制备低、中、高质量浓度的混合对照品溶液，按 2.1 项下试验条件进样测定，记录峰面积，拟合回归方程，评估基质效应的影响。计算公式为 ME = A / B，其中 A、B 分别为多环芳烃用基质溶液、纯溶剂制备的供试品溶液的标准曲线斜率。结果见表 4。16 种多环芳烃 ME 值为 0.8 ~ 1.2，表明本方法基质干扰较小，基质效应可忽略。

表4 基质效应测定结果

Tab. 4 Results of matrix effect determination

待测成分	质量浓度			待测成分	质量浓度		
	低	中	高		低	中	高
萘	1.04	1.11	1.12	苯并(a)蒽	1.14	1.06	1.05
苊烯	0.99	0.97	0.98	䓛	1.06	1.17	1.09
苊	0.95	0.91	0.95	苯并(b)荧蒽	0.99	0.98	0.99
芴	1.08	1.04	1.04	苯并(k)荧蒽	1.05	0.99	1.03
菲	1.10	1.10	1.12	苯并(a)芘	1.11	1.13	1.10
蒽	1.07	1.02	0.96	茚并[1,2,3-cd]芘	0.88	0.92	0.89
荧蒽	0.92	0.95	1.03	二苯并(a,h)蒽	1.05	1.05	1.01
芘	0.89	0.86	0.89	苯并(ghi)苝	1.11	1.04	1.02

加样回收试验：取阴性样品适量，加入一定量的低、中、高质量浓度混合对照品溶液，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下试验条件进样测定，记录峰面积，并计算待测成分含量。结果见表5。

表5 加样回收试验结果(%，$n=9$)

Tab. 5 Results of the recovery test(%, $n=9$)

待测成分	$\overline{X}$	*RSD*	待测成分	$\overline{X}$	*RSD*
萘	97.55	0.54	苯并(a)蒽	90.50	0.79
苊烯	99.89	5.82	䓛	93.55	1.04
苊	93.15	3.15	苯并(b)荧蒽	104.11	6.73
芴	96.28	0.27	苯并(k)荧蒽	91.70	0.96
菲	97.30	3.58	苯并(a)芘	97.68	9.36
蒽	93.91	5.82	茚并[1,2,3-cd]芘	101.95	2.22
荧蒽	94.22	1.72	二苯并(a,h)蒽	95.28	5.57
芘	98.73	7.52	苯并(ghi)苝	86.69	3.98

2.4 含量测定

取20批样品内容物各适量，按2.2项下方法制备供试品溶液，按2.1项下试验条件进样测定，记录峰面积，并计算样品含量。结果有4批样品中多环芳烃含量高于定量限，包括萘(3.4～5.6 μg/kg)、菲(2.9～7.4 μg/kg)、荧蒽(1.7～4.9 μg/kg)、芘(1.5～3.6 μg/kg)、䓛(1.2～2.6 μg/kg)等轻质多环芳烃。原因可能为原材料种植过程中受到水、土壤、空气等环境因素的影响。

3 讨论

3.1 提取剂种类和体积

多环芳烃属弱极性物质，根据相似相溶原理，以实验室常用试剂正己烷、乙腈、乙酸乙酯作为提取溶剂(从保护实验人员角度，排除同为实验室常用试剂但毒性较大的二氯甲烷)。结果显示，正己烷与乙腈对多环芳烃的提取效果近似，但样品内容物油脂与正己烷互溶，造成提取液颜色较深，且不利于后期净化处理。乙酸乙酯提取效果最差，涡旋过程中易发生乳化，较难处理。乙腈与油脂不互溶，引入的干扰物质最少，提取效果最佳。故选择乙腈作为提取溶剂。

然而，上述研究过程中乙腈的提取效果虽优于其他有机溶剂，但回收效果仍欠佳，因此从增加溶剂使用量和多次提取入手继续优化提取过程。溶剂使用量考察了5，10，15 mL，结果为15 mL时提取率较理想，进一步研究表明，15 mL与10 mL提取溶剂分2次提取的效果基本一致。为节省试剂，采用10 mL分2次提取。

3.2 净化方法

供试品经乙腈提取后采用GC-MS法全扫描模式分析，发现提取液中存在较多基质干扰物，虽然GC-MS仪有较强的选择定性能力，但较多的干扰物可能造成明显的基质效应，同时会加速色谱柱性能变差和离子源污染，缩短使用寿命，故需进一步考虑净化提取液。应用在线式凝胶色谱有利于解决此类问题，其原理主要根据不同化合物分子量的大小进行分离，通过仪器软件和硬件的时间程序控制，可精确分离目标成分与提取液中的油脂、色素、糖类等大分子物质，通过质谱扫描净化后的溶液中基质干扰物明显减少，基线更平稳，有利于提高定性准确性和检测的灵敏度。

3.3 涡旋时间

涡旋振荡可加速多环芳烃的提取过程，提高萃取效率。涡旋时间在0.5～4 min时萃取效果的研究结果显示，涡旋时间为0.5 min时的萃取效率明显低于涡旋2 min时，而涡旋超过2 min后，继续延长涡旋振荡时间并不会提高萃取效率，因此确定涡旋振荡时间为2 min[18]。

3.4 方法评价

多环芳烃为已知最主要的致癌物类别在大气、土壤、水等环境中广泛分布，表现出高度的亲脂性，不易被生物降解，且具有长距离迁移能力，是各行业重点关注的污染物[19-20]，但目前国内对于中药材多环芳烃的检测和限量标准的建立尚需进一步完善。本研究中优化了胆舒软胶囊的提取条件，供试品在经固相萃取和在线凝胶色谱净化后未表现出明显的基质效应，方法的线性关系、灵敏度、准确度和稳定性等方面均满足测定的需要，同时还具有高通量、检测时间短等优点。本研究结果有望为多环芳烃标准的制订提供一定的数据基础。

参考文献

[1] 王 莹，金红宇，李耀磊，等. 何首乌中外源性有害残留物的风险评估与其致肝毒相关性初评[J]. 中国药事，2022，36(10)：1134-1146.

[2] 张西梅，焦晓林，苏春燕，等. 我国果实种子类中药材黄曲霉毒素污染状况及防控策略研究进展[J]. 植物保护，2023，49(5)：118-126.

[3] 罗增明，马 晟，李 林，等. 土壤污染对中药材三七中重金属含量的影响[J]. 生态毒理学报，2022，17(5)：292-306.

[4] 曹德艳，赵思源，秦佳琪，等. 6种药食两用中药材中多环芳烃污染水平及健康风险评估[J]. 食品安全质量检测学报，2022，13(12)：3899-3906.

[5] 李亚男，魏金霞. 中药中二氧化硫和重金属的现状及阻控