

槟榔提取物质量标准研究

朱晓瑜 邢建华 许启太*

(海南绿槟榔科技发展有限公司, 海南 定安 571200)

摘要: 目的: 研究和建立槟榔提取物的质量标准。方法: 参照《中国药典》2015年版附录相关方法, 建立槟榔提取物性状标准; 采用薄层色谱法进行定性鉴别; 采用高效液相色谱法建立槟榔提取物的槟榔碱含量测定方法并规定限度。结果: 结果表明薄层色谱斑点清晰, 分离度好; 槟榔碱按干品计算不少于6.0%。结论: 本研究建立的质量标准可以控制槟榔提取物的质量。

关键词: 槟榔提取物; 质量标准; 槟榔碱; 含量测定

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1008-021X(2019)04-0069-05

DOI: 10.19319/j.cnki.issn.1008-021x.2019.04.026

Study on the Quality Standard of Areca Extract

Zhu Xiaoyu, Xing Jianhua, Xu Qitai*

(Hainan Green Betel Technology Development Co., Ltd., Dingan 571200, China)

Abstract: Objective: To study and establish a quality standard of areca extract. Methods: According to the "Chinese Pharmacopoeia" 2015 version of the relevant technical requirements, the trait standards, TLC, water content, ash content items of areca extract are respectively established. The corresponding limits are constituted. The HPLC is applied to determine the contents of arecoline for areca extract and their limits are constituted. Results: The results showed that the TIC spots were clear and the resolution was good. The moisture of areca extract should be not more than 10.0%, and the heavy metals should not exceed 10 ppm; and arecoline should not be less than 6.0% on a dry basis. Conclusion: The quality standards established by this study can control the quality of areca extracts.

Key words: areca extract; quality standard; arecoline; content determination

槟榔是棕榈科槟榔属植物槟榔(*Areca catechu* L.)的成熟果实。槟榔始载于晋代著名医家李当之的《药录》中^[1-2]。原产于马来西亚,在我国栽培已有1500多年历史^[3]。槟榔提取物(Areca extract)是以槟榔果为原料,经提取分离制成的植物提取物^[4],该提取物作为中间体或者原料用于药品、保健品等^[5]。历代医家在临床当中不断总结,发现槟榔具有很多不可替代的疗效,在历次出版的《中华人民共和国药典》均有收录。2015年版《中国药典》记载:槟榔(槟榔干燥成熟种子)具有杀虫、消积、行气、利水、截疟的功效;大腹皮(槟榔干燥果皮)具有行气宽中、行水消肿的功效^[6]。现代科学研究表明槟榔对神经系统^[7]、内分泌系统^[8]和消化系统^[9]具有保护作用。目前尚未检索到槟榔提取物国内、外标准,对此,本课题组初步建立其质量标准,拟为槟榔提取物的质量控制提供依据。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

FA2004型分析电子天平(上海良平仪器仪表有限公司); BS-6K型电子天平(上海友声衡器有限公司); KQ-100型超声波清洗器(昆山超声仪器有限公司生产); SX-2.5-10型马

弗炉(北京中兴伟业仪器有限公司); DHG-9240A烘箱(江苏江东精密仪器有限公司); Agilent 1260系列高效液相色谱仪(附紫外检测器),色谱柱:强阳离子交换键合硅胶柱 Phenomenex Luna SCX Column 250 mm × 4.6 mm 5 μm。

1.2 药品及试剂

槟榔提取物:海南绿槟榔科技发展有限公司提供(样品批号为:20151208、20151209、20151223、20160110、20160113、20160302、20160806、20161022、20170115、20170118); 氢溴酸槟榔碱对照品:中国食品药品检定研究院提供,111684~201401。

槟榔提取物所用槟榔果采集于海南省万宁市,由河南大学中药研究所李昌勤教授鉴定为棕榈科槟榔属植物槟榔(*Areca catechu* L.)的成熟果实。

水为纯净水,甲醇和乙腈为色谱纯;其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 感官要求

取本品三批样品,嗅其气味和尝其滋味;另取试样适量置于白色瓷盘中观察其色泽、外观,并检查有无异物,结果见表1。

表1 槟榔提取物感官要求

Table1 Areca extract sensory requirements

批号	20151223	20161022	20170115
色泽	棕褐色,色泽均匀	棕黄色,色泽均匀	浅棕黄色,色泽均匀
滋味与气味	具有槟榔特殊气味,味微涩	具有槟榔特殊气味,味微涩	具有槟榔特殊气味,味微涩
外观	干燥均匀的粉末,无肉眼可见杂质	干燥均匀的粉末,无肉眼可见杂质	干燥均匀的粉末,无肉眼可见杂质

根据观察结果,本标准规定槟榔提取物的感官要求描述为:本品为浅黄色至棕褐色粉末,色泽均匀;具有槟榔特殊气

收稿日期: 2018-11-20

基金项目: 海南省重大科技计划资助(ZDKJ2016003)

作者简介: 朱晓瑜(1971—),河南淮滨人,高级工程师,主要从事食品、药品研发及生产工艺研究;通信作者: 许启太。

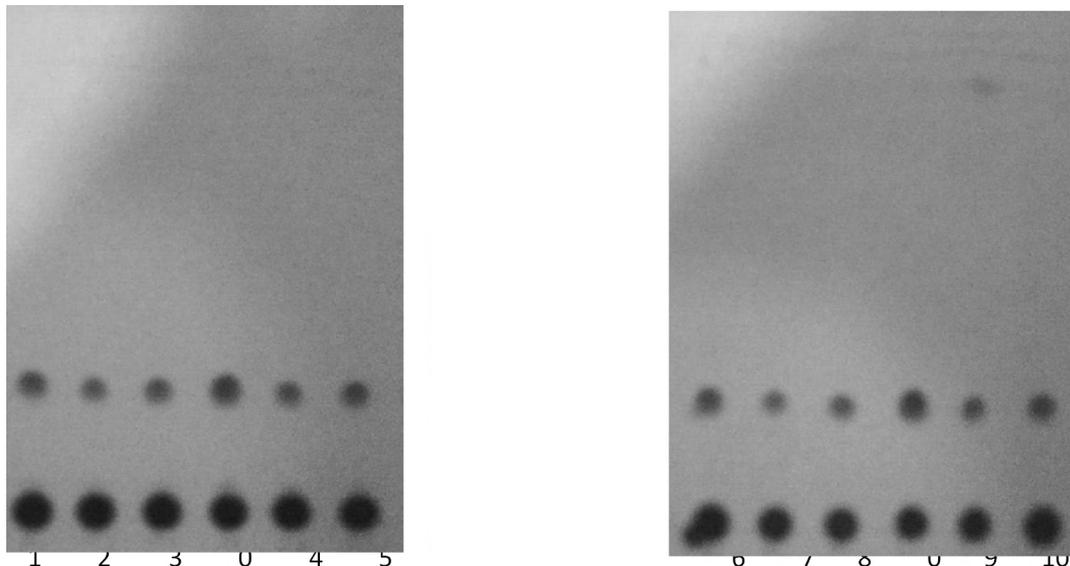
味 味微涩; 外观均匀 无肉眼可见杂质。

2.2 鉴别实验

参照中华人民共和国药典(2015年版)一部槟榔中鉴别项方法, 制定槟榔提取物鉴别方法。

取氢溴酸槟榔碱对照品, 加甲醇制成每 1 mL 含 1.5 mg 的溶液, 作为对照品溶液。取槟榔提取物粉末 2.5 g, 置 50 mL 容

量瓶中, 加适量甲醇, 超声(150 W) 处理 20 min, 用甲醇定容, 静置, 即得供试品溶液。分别吸取供试品溶液、对照品溶液各 5 μ L, 点于硅胶 G 板上, 展开剂为 V(环己烷):V(乙酸乙酯):V(浓氨试液) = 7.5:7.5:0.2, 展开约 8 cm, 取出晾干。置碘蒸气中熏至斑点清晰, 置可见光下检视。结果: 供试品薄层色谱中, 在与对照品色谱相应的位置上显示相同的褐色斑点。



1 ~ 10 槟榔提取物; 0 氢溴酸槟榔碱对照品

1 ~ 10 Areca extract; 0 Reference substance for arecoline hydrobromide

图 1 槟榔提取物薄层鉴别图谱

Fig. 1 Thin layer identification map of areca extract

2.3 槟榔碱含量测定

槟榔碱是槟榔提取物中重要的活性成分之一, 参考《中国药典》2015年版一部槟榔【含量测定】项, 采用高效液相色谱法测定。

2.3.1 参考色谱条件与系统适用性

色谱柱: SCX - 强阳离子交换树脂柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m); 流动相: V(乙腈):V(0.2% 磷酸) = 55:45(浓氨试液调节 pH 值至 3.8) 溶液; 检测波长: 215 nm; 柱温: 室温; 流速: 1.0 mL \cdot min⁻¹; 理论塔板数按氢溴酸槟榔碱峰计算应不低于 3000。

2.3.2 溶液制备

对照品溶液制备 取氢溴酸槟榔碱对照品适量, 精密称定,

加流动相制成 1 mL 含 0.1 mg 的溶液, 即得(槟榔碱重量 = 氢溴酸槟榔碱重量/1.5214)。供试品溶液制备 取本品约 0.25 g, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加 50% 乙腈溶液适量, 超声处理 30 min, 并用 50% 乙腈溶液定容至刻度, 摇匀, 过滤。取续滤液 5 mL, 置 25 mL 量瓶中, 加 50% 乙腈溶液定容至刻度, 摇匀, 即得。

2.3.3 系统适用性试验

分别吸取供试品溶液、对照品溶液及空白流动相各 10 μ L, 按“3.1”项下色谱条件进样, 记录色谱图, 结果供试品色谱中, 在与对照品色谱相同保留时间有对应的峰, 空白流动相溶液无干扰。表明系统适用性较好。如图 2、图 3、图 4 所示。

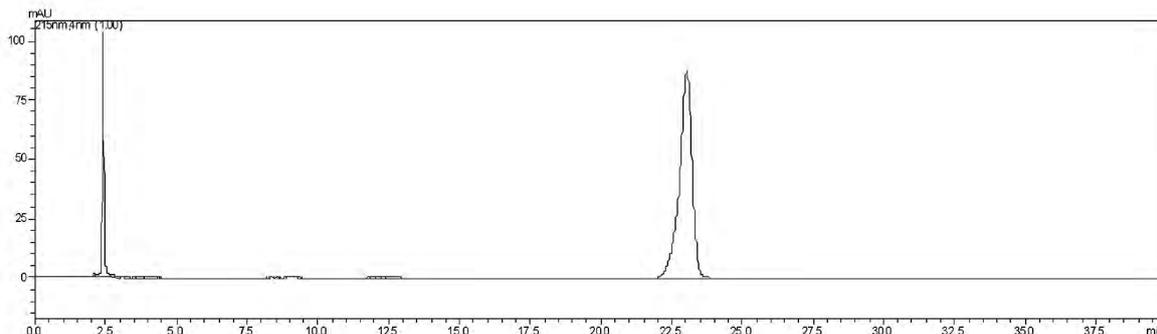


图 2 槟榔提取物

Fig. 2 Areca Extract

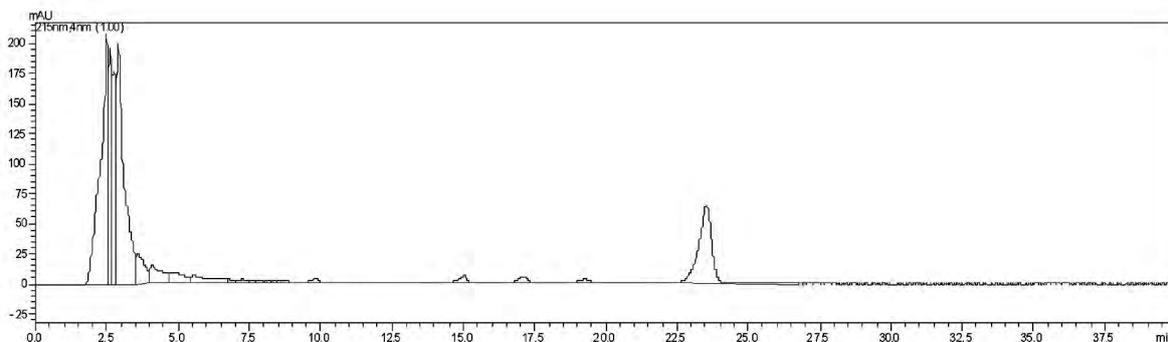


图 3 氢溴酸槟榔碱对照品

Fig. 3 Reference substance for Arecoline hydrobromide

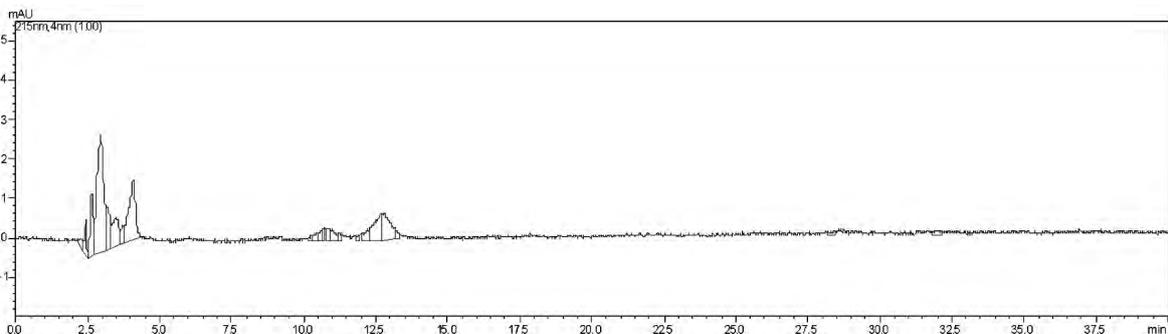


图 4 空白流动相

Fig. 4 Blank mobile phase

2.3.4 测定法

分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL,注入液相色谱仪,测定,记录色谱图。

2.3.5 计算

供试品中槟榔碱含量以质量分数 W 计,数值以%表示,按公式 E.1 计算。

$$W = \frac{A_1 \times C_0}{A_0 \times C_2} \times 100\%$$

式中: W——槟榔提取物中槟榔碱含量, %;

A₁——供试品溶液中槟榔碱的峰面积;

A₀——对照品溶液中槟榔碱的峰面积;

C₂——供试品溶液中槟榔提取物的浓度(mg · mL⁻¹);

C₀——对照品溶液中槟榔碱的浓度(mg · mL⁻¹)。

本品按干燥品计算,含槟榔碱(C₁₃H₁₈O₇)不得少于 6.0%。

2.3.6 重复性试验

精确称量供试品(批号: 20160110)样品 6 份,按"3.2.2"项下处理,并按照色谱条件进样 10 μL,记录峰面积,计算槟榔碱的含量和 RSD 值, RSD 为 1.48%,表明本实验方法重复性好。见表 2。

表 2 重复性试验结果

Table 2 Repeatability test results

编号	槟榔碱含量 / %	平均含量 / %	RSD / %
1	7.19		
2	7.05		
3	7.34	7.19	1.48
4	7.21		
5	7.27		
6	7.10		

2.3.7 中间精密度试验

精密称量供试品(批号: 20160110)样品,在不同日期、不同分析人员、不同仪器测定 6 次,每次 10 μL,结果槟榔碱含量的 RSD 为 1.63%,表明仪器精密度良好,可以准确反映物质的量。见表 3。

表 3 中间精密度试验(n=5)

Table 3 Intermediate precision test(n=5)

序号	槟榔碱 / %
1	7.28
2	7.16
3	6.99
4	7.05
5	7.25
6	7.07
平均含量 / (%)	
	7.13
RSD / (%)	
	1.63

2.3.8 稳定性试验

取供试品(批号: 20160302)制成供试液,分别于 0、2、4、6、12、24 h 进样 10 μL,记录色谱图,结果供试品中槟榔碱峰面积的 RSD 为 2.77% (n=6),表明供试液中槟榔碱在 24 h 内基本稳定。见表 4。

表4 稳定性试验结果
Table 4 Stability test result

时间/h	0	2	4	6	12	24	RSD(% n=6)
面积(Area)	2 102 280	2 092 660	2 001 886	2 002 580	1 982 890	1 975 850	2.77

2.3.9 准确度试验

称取已知槟榔碱含量的槟榔提取物样品(批号: 20160302) 约0.25 g, 共6份, 按“3.2.2”项下制备供试品溶液, 分别置50 mL量瓶中, 加50%乙腈溶液适量, 超声处理30 min, 并用50%乙腈溶液定容至刻度, 摇匀, 过滤。取续滤液5 mL, 置25 mL量瓶中, 加50%乙腈溶液定容至刻度, 摇匀即得, 测定样品中所含

槟榔碱含量。另取50 mL量瓶中续滤液5 mL, 分别置于25 mL量瓶中, 分别加入按“3.2.1”项下配置的对照品溶液(含槟榔碱浓度 $0.13146 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) 12.5 mL, 50%乙腈溶液定容至刻度, 混合均匀即得进样样品25 mL, 按照上述色谱条件进样 $10 \mu\text{L}$, 槟榔碱的平均加样回收率为97.5%, 其RSD值为2.6%。见表5。

表5 槟榔碱回收率结果
Table 5 Arecoline recovery results

序号(No.)	样品中槟榔碱的含量/ μg	对照品加入量/ μg	加标后测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD(% n=6)
1	0.6322	0.6573	1.3027	102.0	97.5	2.6
2	0.5691	0.6573	1.1990	95.8		
3	0.6313	0.6573	1.2699	97.2		
4	0.5944	0.6573	1.2240	95.8		
5	0.6638	0.6573	1.2913	95.5		
6	0.6177	0.6573	1.2679	98.9		

2.3.10 线性关系试验

精密称取氢溴酸槟榔碱对照品适量, 加流动相制成1 mL含5.02 mg氢溴酸槟榔碱的溶液, 即得对照品母液。然后稀释, 使对照品溶液理论含氢溴酸槟榔碱浓度分别为0.502, 0.251, 0.1255, 0.06275, 0.041833 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ (含槟榔碱浓度 = 含氢溴

酸槟榔碱浓度/1.5214)。每次进样 $10 \mu\text{L}$ 。照含量测定项下的方法测定, 以峰面积为横坐标, 槟榔碱浓度($\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$)为纵坐标, 绘制回归曲线, 计算线性回归方程。结果见图2。结果表明, 槟榔碱浓度在 $0.02750 \sim 0.32996 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的范围内成良好线性关系。

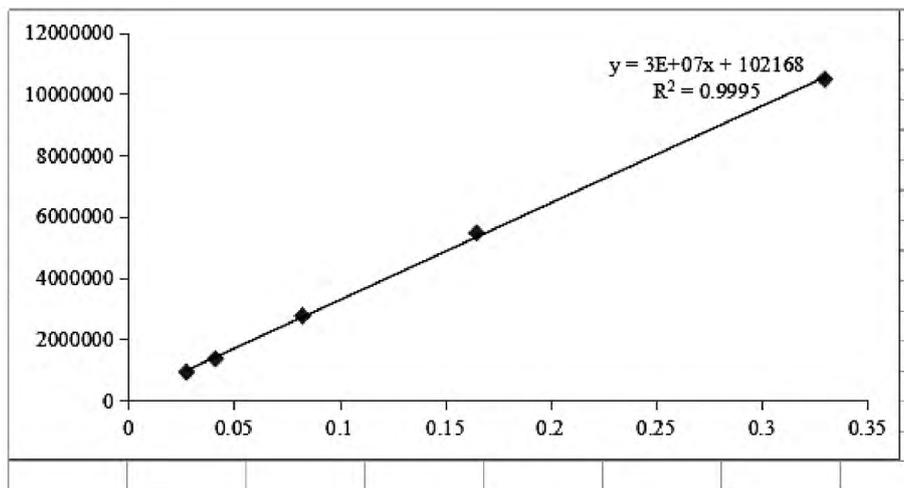


图5 氢溴酸槟榔碱标准曲线
Fig.5 Standard curve of arecoline hydrobromide

2.3.11 样品测定

取本品按“2.3.2”项下制备供试品溶液, 按照“2.3.1”项下色谱条件测定, 精密量取 $10 \mu\text{L}$, 注入液相色谱仪, 记录色谱图。另取氢溴酸槟榔碱对照品按“2.3.1”项下制备对照品溶液, 同法测定, 按“2.3.5”项下公式计算, 即得。槟榔提取物槟榔碱含量测定结果见表7。

表7 槟榔提取物槟榔碱含量测定结果

批号	平均含量/%
20151208	6.93
20151209	6.43
20151223	6.3

表7(续)

批号	平均含量/%
20160110	7.13
20160113	7.29
20160302	7.06
20160806	12.35
20161022	11.53
20170115	11.90
20170118	8.59

上述方法学验证表明, 本文建立的高效液相色谱法测定槟榔碱提取物中的槟榔碱的含量, 其精密性、线性关系、准确度等

均符合要求,该方法稳定、可靠、可行,可以作为槟榔提取物中槟榔碱的含量测定方法,订入本标准。

表7可见,10批槟榔提取物中槟榔碱含量按干燥品计算均不低于6.0%。因此,将本品含槟榔碱按干燥品计算不少于6.0%订入本标准。

3 讨论

本品符合感官要求;薄层鉴别色谱斑点清晰,分离度好;高效阳离子交换色谱法,流动相为乙腈-0.2%磷酸(浓氨试液调节pH值至3.8)溶液(55:45,v/v);检测波长215 nm;柱温30℃;流速1.0 mL·min⁻¹色谱条件下,槟榔碱的分离度良好,此方法操作简便,重复性、精密度、准确度良好;从线性回归方程 $y = 3E + 07x + 102168$, $R^2 = 0.9995$ 可以看出槟榔碱浓度在0.02750~0.32996 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的范围内成良好线性关系;槟榔碱按干燥品计算都大于6.0%,符合要求;所以,本研究建立的质量标准可以控制槟榔提取物的质量。

此次实验从数据分析来看,结果不错,实验成功。目前,测定槟榔碱含量的方法主要有滴定法^[10]、薄层色谱法^[11]、毛细管电泳法^[12]、分光光度法^[13]、气相色谱-质谱联用仪^[14]、阳离子交换色谱法^[15-16]、反相高效液相色谱法^[17-22]及高效液相色谱-质谱联用法^[23-24]等,但滴定法操作繁琐,准确度不高,薄层扫描法虽然也可以测量,但是要求高。采用高效阳离子交换色谱法,分离度良好,此方法操作简便,具有良好的专属性和准确度,可有效控制产品质量操作简便,快速,重现性好。可为以后类似实验提供方法学借鉴。

参考文献

- [1] 乔立新. 槟榔炮制历史沿革的探讨[J]. 中成药, 1993, 15(8): 19-20.
- [2] 乔立新, 赵扶叶, 张兴国. 中药槟榔与大腹子的考证[J]. 中药材, 1997, 20(6): 312-313.
- [3] 贾敏如, 王甜甜, 卢晓琳, 等. 我国使用进口传统药物(药材)的历史(春秋至明清)和品种概况[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(9): 1659-1667.
- [4] 张兴, 梅文莉, 曾艳波, 等. 槟榔果实的酚类化学成分与抗菌活性的初步研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(1): 74-76.
- [5] 郑亚平, 张雪, 鲜洁晨, 等. 基于挤出物质构特性的挤出工艺对微丸成型质量的影响研究[J]. 中草药, 2017, 48(16): 3288-3299.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 365.
- [7] 赵贤武, 黄丽平, 邓敏贞, 等. 高良姜、胡椒和槟榔有效成分对岗田酸诱导p-tau细胞模型的作用研究[J]. 中医学报, 2017, 32(11): 2176-2180.
- [8] 元竹青, 姚起鑫. 槟榔碱对2型糖尿病大鼠胰腺β细胞

PDX-1 mRNA表达的影响[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2010, 30(1): 14.

- [9] 王宏伟, 马淑颖, 朱生樑, 等. 疏肝和胃中药对家兔肠道调控机制研究[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1071-1073.
- [10] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 299.
- [11] 林励, 徐鸿华, 郑沛峰. 槟榔中槟榔碱含量的薄层扫描测定[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(8): 491.
- [12] 袁炜, 吕建德, 傅小芸. 槟榔中槟榔碱和槟榔次碱的毛细管电泳分析[J]. 分析化学, 2000, 28(6): 749-752.
- [13] 高敏, 高淑芹. 光度法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 化学分析计量, 2003, 12(1): 28-30.
- [14] 陈好, 闫晓楠. 藿香正气软胶囊中槟榔碱的限量检查方法研究[J]. 天津药学, 2017, 29(5): 21-23.
- [15] 陈浩桢, 赖宇红, 王晓钰, 等. 高效阳离子交换色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中药材, 2002, 25(1): 27-28.
- [16] 高珊珊. 高效阳离子交换色谱法测定大腹皮中槟榔碱的含量[J]. 医药导报, 2015, 34(S1): 85-86.
- [17] 杨春, 苏少忠, 徐杏云, 等. RP-HPLC法测定胃通颗粒中槟榔碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(5): 459-460.
- [18] 宋英, 朱兰, 淡静. 反相高效液相色谱法测定痛风口服液中槟榔碱的含量[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(5): 742-744.
- [19] 何际婵, 董志超, 王建荣. 反相高效液相色谱法测定槟榔中槟榔碱的含量[J]. 中华中医药学刊, 2011, 29(9): 1969-1971.
- [20] 涂佳, 邓学良, 陈翠梅, 等. 反相高效液相色谱法测生物材料中槟榔碱的含量[J]. 毒理学杂志, 2009, 23(4): 328-329.
- [21] 周丹, 刘启兵, 刘月丽, 等. 海南槟榔提取物中多酚和槟榔碱的含量测定[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(19): 2224-2227.
- [22] 周军, 陈飞, 曲佳, 等. HPLC法测定越鞠保和丸中槟榔碱的含量测定[J]. 天津药学, 2017, 29(5): 26-27.
- [23] 文开齐. 高效液相色谱/质谱联用法测定槟榔食品中槟榔碱的含量[J]. 中国实用医药, 2008, 3(8): 12-13.
- [24] 丁芳林, 彭书练. HPLC/ESI-MS法测定槟榔中的槟榔碱[J]. 农产品加工·学刊, 2008(4): 76-79.

(本文文献格式: 朱晓瑜, 邢建华, 许启太. 槟榔提取物质量标准研究[J]. 山东化工, 2019, 48(04): 69-73.)

(上接第68页)

6 结果与讨论

通过对气相色谱质谱联用测定消费品中三环氧丙基二异氰酸酯(TGIC)的测定不确定度进行分析,系统地分析了不确定度的来源,并对其不确定度进行了评定,得出测定结果的相对不确定度为5.52%,在95%的置信概率下,取包含因子 $k = 2$,其扩展不确定度为11%;同时判定其测定不确定度的主要来源是三环氧丙基二异氰酸酯的浓度,在三环氧丙基二异氰酸酯的浓度分量中,又以仪器的重复测定分量不确定值最大,为了保证测定结果的有效性,应将气相色谱质谱联用仪送有校准资格的机关定期进行校准,并在测试前严格按照规定对仪器进行校准和核查。

致谢: 本项测试工作得到了深圳市计量质量检测研究院石

油化工部陈丽琼博士的指导与帮助,在此深表感谢。

参考文献

- [1] 国家质量技术监督局认证与实验室评审管理司. 计量认证/审查认可(验收)评审准则宣贯指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2001.
- [2] 全国法制计量管理计量技术委员会. JJF1059-2012 测量不确定度评定与表示[S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [3] 魏昊. 化学分析中不确定度的评估指南[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002.

(本文文献格式: 胡志国, 孙隆生. 消费品中三环氧丙基二异氰酸酯(TGIC)测定不确定度评定[J]. 山东化工, 2019, 48(04): 66-68, 73.)