



GCMTI RD-2:2021

# 利用气相色谱火焰电离检测器及 气相色谱质谱仪检测枇杷膏的薄荷醇含量

## 政府中藥檢測中心方法



## 利用气相色谱火焰电离检测器及 气相色谱质谱仪检测枇杷膏的薄荷醇含量

**安全预防措施：**本检测程序涉及致癌化学品、腐蚀性化学品和可燃溶剂，处理有关化学品时请采取预防措施，如戴上护眼及护手用具，并在有需要时在抽气柜进行检测工作，以免吸入该等化学品气体。

### 1. 引言

1.1. 枇杷膏是中国和香港常见的中成药，用于缓解喉痛、咳嗽、声音嘶哑和失声的情况。由不同制造商制造的枇杷膏配方和生产程序各异，一般以川贝母、枇杷叶、化橘红、桔梗、苦杏仁、甘草、薄荷等中药材不断煎煮，然后加入溶于乙醇的糖浆和蜂蜜。这些中药材的常见化学指针如下：

| 中药材名称 | 常见化学指针名称 |
|-------|----------|
| 川贝母   | 贝母辛      |
| 枇杷叶   | 齐墩果酸和熊果酸 |
| 化橘红   | 柚皮苷      |
| 桔梗    | 桔梗皂苷 D   |
| 苦杏仁   | 苦杏仁苷     |
| 甘草    | 甘草苷和甘草酸  |
| 薄荷    | 薄荷醇      |

1.2. 本方法载列检测枇杷膏样本内的薄荷醇所涉的步骤。

1.3. 样本以溶剂稀释，利用气相色谱火焰电离检测器和气相色谱质谱仪就有关化学指针成分进行定性及 / 或定量测定。

### 2. 试剂

*注：除非另有说明，否则所有使用的试剂均为分析纯级别或同等级别的试剂。*

2.1 配制气相色谱火焰电离检测器标准溶液

2.1.1. 薄荷醇和萘(内标物)个别标准储备溶液(每毫升~10000 微克)

准确地称出薄荷醇和萘各约 100 毫克，分别放进 2 个 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，溶解该等物质，则可配制个别标准储备溶

液。

### 2.1.2. 薄荷醇和萘标准中间溶液(每毫升~1000 微克)

把个别标准储备溶液各 1 毫升分别转移至 2 个 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制标准中间溶液。

### 2.1.3. 校准标准品 CS1 至 CS5

2.1.3.1. 把适量薄荷醇标准中间溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇，则可配制每毫升~10、20、50、100、200 微克的校准标准溶液。配制校准标准溶液所建议使用的标准溶液体积载于下表：

| 校准标准品 | 薄荷醇标准中间溶液体积(毫升) | 最终体积(毫升) | 薄荷醇标准工作溶液浓度(微克 / 毫升) |
|-------|-----------------|----------|----------------------|
| CS1   | 0.1             | 10       | 10                   |
| CS2   | 0.2             | 10       | 20                   |
| CS3   | 0.5             | 10       | 50                   |
| CS4   | 1               | 10       | 100                  |
| CS5   | 2               | 10       | 200                  |

2.1.3.2. 接着用吸管把 1 毫升所得溶液和 0.05 毫升萘标准中间溶液转移至气相色谱样本瓶。

| 校准标准品 | 薄荷醇标准工作溶液体积(毫升) | 萘溶液体积(毫升) | 气相色谱样本瓶内最终体积(毫升) | 薄荷醇浓度(微克 / 毫升) | 萘浓度(微克 / 毫升) |
|-------|-----------------|-----------|------------------|----------------|--------------|
| CS1   | 1               | 0.05      | 1.05             | ~10            | ~50          |
| CS2   | 1               | 0.05      | 1.05             | ~20            | ~50          |
| CS3   | 1               | 0.05      | 1.05             | ~50            | ~50          |
| CS4   | 1               | 0.05      | 1.05             | ~100           | ~50          |
| CS5   | 1               | 0.05      | 1.05             | ~200           | ~50          |

### 2.1.4. 薄荷醇标准储备 ICV 溶液(每毫升~10000 微克)

准确地称出约 100 毫克另一来源的薄荷醇，放进 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，溶解该等物质，则可配制薄荷醇标准储备 ICV

溶液。

#### 2.1.5. 薄荷醇标准中间 ICV 溶液(每毫升~1000 微克)

把 1 毫升薄荷醇标准储备 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制薄荷醇标准中间 ICV 溶液。

#### 2.1.6. 标准 ICV 溶液(每毫升~100 微克)

把 1 毫升薄荷醇标准中间 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制标准 ICV 溶液。接着用吸管把 1 毫升所得溶液和 0.05 毫升萘标准中间溶液转移至气相色谱样本瓶，并加入乙醇至刻度标记。

| 标准品          | 薄荷醇<br>标准溶液<br>体积<br>(毫升) | 萘溶液体<br>积<br>(毫升) | 气相色谱<br>样本瓶内<br>最终体积<br>(毫升) | 薄荷醇<br>浓度<br>(微克 /<br>毫升) | 萘浓度<br>(微克 /<br>毫升) |
|--------------|---------------------------|-------------------|------------------------------|---------------------------|---------------------|
| 标准 ICV<br>溶液 | 1                         | 0.05              | 1.05                         | ~100                      | ~50                 |

#### 2.1.7. 加标标准溶液(每毫升~1000 微克)

把 1 毫升薄荷醇标准储备 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制加标标准溶液。

### 2.2. 配制气相色谱质谱仪标准溶液

#### 2.2.1. 薄荷醇和萘(内标物)个别标准储备溶液(每毫升~1000 微克)

准确地称出薄荷醇和萘各约 10 毫克，分别放进 2 个 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，溶解该等物质，则可配制个别标准储备溶液。

#### 2.2.2. 薄荷醇标准中间溶液(每毫升~10 微克)

把 100 微升薄荷醇个别标准储备溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制薄荷醇标准中间溶液。

#### 2.2.3. 萘标准中间溶液(每毫升~5 微克)

把 50 微升萘个别标准储备溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制萘标准中间溶液。

#### 2.2.4. 校准标准品 CS1 至 CS5

2.2.4.1. 把适量薄荷醇标准中间溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇，则可配制每毫升~100、250、750、1500、3000 奈克的校准标准溶液。配制校准标准溶液所建议使用的标准溶液体积载于下表：

| 校准标准品 | 薄荷醇标准中间溶液体积 (毫升) | 最终体积 (毫升) | 薄荷醇标准工作溶液浓度 (奈克 / 毫升) |
|-------|------------------|-----------|-----------------------|
| CS1   | 0.1              | 10        | 100                   |
| CS2   | 0.25             | 10        | 250                   |
| CS3   | 0.75             | 10        | 750                   |
| CS4   | 1.5              | 10        | 1500                  |
| CS5   | 3.0              | 10        | 3000                  |

2.2.4.2. 接着用吸管把 1 毫升所得溶液和 0.05 毫升萘标准中间溶液转移至气相色谱样本瓶。

| 校准标准品 | 薄荷醇标准工作溶液体积 (毫升) | 萘溶液体积 (毫升) | 气相色谱样本瓶内最终体积 (毫升) | 薄荷醇浓度 (奈克 / 毫升) | 萘浓度 (奈克 / 毫升) |
|-------|------------------|------------|-------------------|-----------------|---------------|
| CS1   | 1                | 0.05       | 1.05              | ~100            | ~250          |
| CS2   | 1                | 0.05       | 1.05              | ~250            | ~250          |
| CS3   | 1                | 0.05       | 1.05              | ~750            | ~250          |
| CS4   | 1                | 0.05       | 1.05              | ~1500           | ~250          |
| CS5   | 1                | 0.05       | 1.05              | ~3000           | ~250          |

#### 2.2.5. 薄荷醇标准储备 ICV 溶液(每毫升~1000 微克)

准确地称出另一来源的约 10 毫克薄荷醇，放进 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，溶解该等物质，则可配制薄荷醇标准储备 ICV 溶液。

## 2.2.6. 薄荷醇标准中间 ICV 溶液(每毫升~10 微克)

把 100 微升薄荷醇标准储备 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制薄荷醇标准中间 ICV 溶液。

## 2.2.7. 标准 ICV 溶液(每毫升~1500 奈克)

把 1.5 毫升薄荷醇标准中间 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制标准 ICV 溶液。接着用吸管把 1 毫升所得溶液和 0.05 毫升萘标准中间溶液转移至气相色谱样本瓶，并加入乙醇至刻度标记。

| 标准品       | 薄荷醇标准溶液体积(毫升) | 萘溶液体积(毫升) | 气相色谱样本瓶内最终体积(毫升) | 薄荷醇浓度(奈克/毫升) | 萘浓度(奈克/毫升) |
|-----------|---------------|-----------|------------------|--------------|------------|
| 标准 ICV 溶液 | 1             | 0.05      | 1.05             | ~1500        | ~250       |

## 2.2.8. 加标标准溶液(每毫升~120 微克)

把 1.2 毫升薄荷醇标准储备 ICV 溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记，则可配制加标标准溶液。

## 2.3. 蒸馏纯乙醇，99.5%

## 2.4. Milli-Q 超纯水

## 2.5. 溶剂空白样本，纯乙醇，99.5%

## 3. 器具

*所有玻璃量器用后均须尽快以丙酮冲洗，并以清洁剂清洗，随即先后以丙酮及水冲洗，然后再以丙酮冲洗两次。*

## 3.1. 10 毫升容量瓶

## 3.2. 300 微升、1000 微升和 10000 微升的自动移液器

## 3.3. 15 毫升的离心管

- 3.4. -20°C 冰箱
- 3.5. 分析天秤，感量为 0.1 毫克
- 3.6. 超声波清洗器
- 3.7. 0.45 微米聚四氟乙烯过滤薄膜

## 4. 步骤

### 4.1. 气相色谱火焰电离检测法

#### 4.1.1. 配制样本

- 4.1.1.1. 准确地称出约 1.0 克枇杷膏样本，把样本放进 15 毫升的离心管。
- 4.1.1.2. 把 500 微升 Milli-Q 超纯水加进离心管，涡旋振荡 1 分钟混匀样本。
- 4.1.1.3. 把 9.5 毫升纯乙醇加进离心管，然后把混合样本放在超声波清洗器中进行 20 分钟音波振动处理。
- 4.1.1.4. 把混合样本溶液存放在 -20°C 冰箱中 30 分钟。
- 4.1.1.5. 混合样本溶液以每分钟 4000 转的转速离心 15 分钟，所得的上清液以 0.45 微米聚四氟乙烯过滤薄膜过滤。
- 4.1.1.6. 用吸管把 1 毫升样本溶液转移至气相色谱样本瓶，加入 50 微升萘中间溶液(用作内标溶液)。
- 4.1.1.7. 混匀后使用气相色谱火焰电离检测器进行分析。
- 4.1.1.8. 每次进样后连续 3 次注入溶剂空白样本。

#### 4.1.2. 气相色谱火焰电离检测法

- 4.1.2.1. 气相色谱火焰电离检测器系统应按使用手册操作，样本也应在下方建议的条件下进行分析。如要取得最佳输出信号，实

际操作条件或须修订。

#### 4.1.2.2. 建议的气相色谱条件：

|       |   |   |
|-------|---|---|
| 气相色谱柱 | : | Restek Stabilwax-MS,<br>30 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米或<br>同等气相色谱柱            |
| 进样器温度 | : | 260°C   |
| 进样量   | : | 1 微升  |
| 进样模式  | : | 分流模式，分流比 20:1   |
| 载气    | : | 氦气，纯度 99.999%   |
| 流速    | : | 1.5 毫升 / 分钟   |
| 升温程序  | : | 初始 60°C，保持 1 分钟后，以每分钟<br>15°C 升至 190°C，紧接以每分钟 45°C 升<br>至 240°C，保持 3 分钟 |

#### 4.1.2.3. 建议的火焰电离检测器条件：

|           |   |             |
|-----------|---|-------------|
| 火焰电离检测器温度 | : | 260°C       |
| 空气流量      | : | 350 毫升 / 分钟 |
| 氢流量       | : | 35 毫升 / 分钟  |
| 补充气流量     | : | 40 毫升 / 分钟  |

## 4.2. 气相色谱质谱法

### 4.2.1. 配制样本

4.2.1.1. 准确地称出约 0.2 克枇杷膏样本，把样本放进 15 毫升的离心管。

4.2.1.2. 把 500 微升 Milli-Q 超纯水加进离心管，涡旋振荡 1 分钟混匀样本。

4.2.1.3. 把 9.5 毫升纯乙醇加进离心管，然后把混合样本放在超声波清洗器中进行 20 分钟音波振动处理。

4.2.1.4. 把混合样本溶液存放在 -20°C 冰箱中 30 分钟。

4.2.1.5. 混合样本溶液以每分钟 4000 转的转速离心 15 分钟，所得的上清液以 0.45 微米聚四氟乙烯过滤薄膜过滤。

4.2.1.6. 把 2 毫升样本溶液转移至 10 毫升的容量瓶，加入乙醇至刻度标记。

4.2.1.7. 用吸管把 1 毫升样本溶液转移至气相色谱样本瓶，加入 50 微升萘中间溶液(用作内标溶液)。

4.2.1.8. 混匀后使用气相色谱质谱仪进行分析。

#### 4.2.2. 气相色谱质谱法

4.2.2.1. 气相色谱质谱仪系统应按使用手册操作，样本也应在下方建议的条件下进行分析。如要取得最佳输出信号，实际操作条件或须修订。

4.2.2.2. 建议的气相色谱条件：

气相色谱柱 : Restek Stabilwax-MS,  
30 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米或  
同等气相色谱柱

进样器温度 : 260°C

进样量 : 1 微升

进样模式 : 分流模式，分流比 20:1

载气 : 氦气，纯度 99.999%

流速 : 1.0 毫升 / 分钟

升温程序 : 初始 60°C，保持 1 分钟后，以每分钟  
15°C 升至 190°C，紧接以每分钟 45°C 升至  
240°C，保持 3 分钟

4.2.2.3. 建议的质谱仪条件：

离子源温度 : 200°C

传输线温度 : 220°C

离子化模式 : 电子离子化(EI)

| 目标<br>分析物 | 特征碎片离子(m/z)  |                |                |
|-----------|--------------|----------------|----------------|
|           | 定量离子<br>(Q1) | 定性离子 1<br>(R1) | 定性离子 2<br>(R2) |
| 薄荷醇       | 81           | 71             | 95             |
| 萘         | 128          | -              | -              |

## 5. 计算 / 结果分析

### 5.1. 鉴别要求

- 5.1.1. 使用气相色谱火焰电离检测器和气相色谱质谱仪进行分析时，应比较样本与校准标准品的检测峰相对保留时间，以鉴别样本中的薄荷醇成分。样本的检测峰相对保留时间不应出现大于 0.5% 的偏差。
- 5.1.2. 使用气相色谱质谱仪进行分析时，应比较样本中与标准溶液中目标分析物的定性离子和定量离子的相对丰度(R1/Q1 和 R2/Q1)。有关的相对强度应符合以下偏差范围：

| 与基峰的相对强度(%) | 许可偏差% |
|-------------|-------|
| > 50 %      | ± 10% |
| > 20 至 50 % | ± 15% |
| > 10 至 20 % | ± 20% |
| ≤ 10 %      | ± 50% |

### 5.2. 校准曲线

- 5.2.1. 以薄荷醇相对于萘的峰面积比与校准标准溶液的浓度(气相色谱火焰电离检测器：微克 / 毫升；气相色谱质谱仪：奈克 / 毫升)绘画图表，从校准曲线得出斜率、截距与相关系数(r)。
- 5.2.2. 按下列方程式计算每一校准水平的偏差：

$$\text{校准水平的偏差 (\%)} = \frac{C - C_{theo}}{C_{theo}} \times 100\%$$

C = 从校准曲线得出的标准溶液浓度(气相色谱火焰电离检测器：微克 / 毫升；气相色谱质谱仪：奈克 / 毫升)；以及  
 C<sub>theo</sub> = 校准标准的理论浓度(气相色谱火焰电离检测器：微克 / 毫升；气相色谱质谱仪：奈克 / 毫升)

C 值应按下列算式计算：

$$C(\text{微克或奈克} / \text{毫升}) = \frac{A - Y}{M}$$

A = 标准溶液的峰面积比；  
 Y = 校准曲线截距；以及

M = 校准曲线斜率

5.3. 按下列方程式计算样本中分析物成分：

$$\text{分析物成分(微克/克)} = \frac{C \times V \times 1000 \times D}{W}$$

C = 从校准曲线得出的分析物浓度(气相色谱火焰电离检测器：  
微克 / 毫升；气相色谱质谱仪：奈克 / 毫升)

V = 最终体积(毫升)；

D = 稀释因子

W = 样本重量(克)

5.4. 按下列方程式计算一组重复样本平均数的平均偏差：

$$\text{平均数平均偏差 (\%)} = \frac{D_1 - (D_1 + D_2) / 2}{(D_1 + D_2) / 2} \times 100\%$$

D1 = 样本 1 的值；以及

D2 = 样本 2 的值

## 6. 参考数据

6.1. 国家药典委员会：《中华人民共和国药典》2015 年版一部，中国医药科技出版社。

6.2. *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Eurachem / CITAC Guide CG4, 3<sup>rd</sup> Edition, 2012.