



**GCMTI RD-1:2019**

## 政府中药检测中心方法



利用气相色谱法检测外用中药药油中的  
 $\alpha$ -蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯  
含量

**利用气相色谱法检测外用中药药油中的  
 $\alpha$ -蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯含量**

**安全预防措施：**本检测方法涉及危险物品，处理有关物品时，检测人员应采取适当的防护措施，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**

本方法载列检测外用中药药油中常见的 5 种化学指针( $\alpha$ -蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯)的程序。样本提取后以乙醇稀释，利用气相色谱氢火焰离子化检测器测定法(GC-FID)配合内标校准，定性及定量测定其有关化学指针成分。<sup>1</sup>

本方法适用于含有下表所列 5 种指标的中药药油，最低适用水平如下：

| 指标           | 最低适用水平 (毫克 / 克) |
|--------------|-----------------|
| $\alpha$ -蒎烯 | 50              |
| 桉油精          | 25              |
| 樟脑           | 50              |
| 薄荷醇          | 125             |
| 水杨酸甲酯        | 125             |

**2. 试剂**

除非另有说明，否则必须使用分析纯级别或同等级别的试剂。

**2.1. 乙醇**

**2.2. 氮气：**纯度最少 99.999 %。

<sup>1</sup> 本方法旨在提供一种可靠的测试方法，作为含有松节油、桉叶油、樟脑、薄荷醇及 / 或水杨酸甲酯为主要有效成分的中药药油的质量控制方法。在采用本方法时，使用者有责任评估其中药药油产品是否适用于本测试方法，特别是其产品中的其他成分或辅料是否含有选定的5种化学指针的任何一种或多种，以及其他中药材或中药材提取物的影响。

**2.3. 内标物：**萘，纯度最少 95 %。

**2.4. 标准品：** $\alpha$ -蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯，纯度最少 95 %。

**2.5. 个别标准储备溶液 Std-Stock (20 000 毫克 / 升)**

准确地称出每种标准品(2.4)约 200 毫克，分别放进 5 个 10 毫升的容量瓶(3.2)，并加入乙醇(2.1)至刻度，溶解该等物质。

(个别标准储备溶液可于室温下妥当储存 6 个月而不会出现降解迹象。)

**2.6. 萘内标溶液 Std-IS (10 000 毫克 / 升)**

准确地称出萘内标物(2.3)约 100 毫克，放进 10 毫升的容量瓶(3.2)，并加入乙醇(2.1)至刻度，溶解该物质。

**2.7. 混合标准中间溶液 Std-Int ( $\alpha$ -蒎烯和樟脑：2 000 毫克 / 升；桉油精：1 000 毫克 / 升；薄荷醇和水杨酸甲酯：5 000 毫克 / 升)**

用移液器把 2 毫升的  $\alpha$ -蒎烯和樟脑个别标准储备溶液 Std-Stock、1 毫升的桉油精个别标准储备溶液 Std-Stock 和 5 毫升的薄荷醇和水杨酸甲酯个别标准储备溶液 Std-Stock 放进 20 毫升的容量瓶(3.2)，并加入乙醇(2.1)至刻度稀释。

**2.8. 混合校准标准溶液 Std-AS**

用移液器把 0.2 毫升的萘内标溶液 Std-IS(2.6) 和 5 份不同体积的混合标准中间溶液 Std-Int(2.7) 分别放进 5 个 10 毫升的容量瓶，以乙醇(2.1)稀释，配制一共 5 份校准标准溶液，覆盖的校准范围分别为 100 – 800 毫克 / 升( $\alpha$ -蒎烯和樟脑)、50 – 400 毫克 / 升(桉油精)、250 – 2 000 毫克 / 升(薄荷醇和水杨酸甲酯)，以及 200 毫克 / 升(萘内标物)。

### 3. 器具

3.1. 分析天秤，感量为 0.1 毫克

3.2. 10 和 20 毫升容量瓶

3.3. 移液器

3.4. 超声波清洗器

3.5. 0.45 微米 聚四氟乙烯 过滤薄膜

3.6. 聚乙二醇固定相的熔融石英毛细管色谱柱(30 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米)或 5%苯基甲基聚硅氧烷固定相的熔融石英毛细管色谱柱(60 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米)

3.7. 配备氢火焰离子化检测器的气相色谱仪

## 4. 程序

### 4.1. 配制样本

准确地称出约 0.1 克样本，把样本放进 10 毫升的容量瓶溶解(必要时可借助超声波清洗器)，并加入乙醇至刻度。必要时用乙醇进一步稀释。用移液器把 2 毫升所得溶液和 0.2 毫升的萘内标溶液 Std-IS(2.6) 放进 10 毫升容量瓶中，并加入乙醇至刻度，溶解后再以 0.45 微米 聚四氟乙烯 过滤薄膜过滤而得出样本溶液。

### 4.2. 气相色谱分析

参照仪器说明书，装配气相色谱氢火焰离子化检测器系统。使用两种色谱柱(3.6) 的任何一种，按照以下条件注入混合校准标准溶液 Std-AS(2.8) 和样本溶液(4.1)：

进样量：1 微升

进样模式：分流模式，分流比 50:1

流速：1.5 毫升 / 分钟

升温程序：

|            |                                                                             |                                                                                               |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| 柱<br>(3.6) | 聚乙二醇固定相<br>(30 米 x 0.25 毫米 x<br>0.25 微米)                                    | 5%苯基甲基聚硅氧烷固定<br>相<br>(60 米 x 0.25 毫米 x 0.25<br>微米)                                            |
| 升温程序       | 初始 40℃，保持 15 分<br>钟后，以每分钟 20℃<br>升至 190℃，保持 4 分<br>钟<br>(总运行时间 26.5 分<br>钟) | 初始 65℃，保持 5 分钟后，<br>以每分钟 1℃升至 80℃，保<br>持 0 分钟；再以每分钟 20℃<br>升至 190℃，保持 3 分钟<br>(总运行时间 28.5 分钟) |

5. 校准

以 α-蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯相对于萘的峰面积比与混合校准标准溶液 Std-AS 相应浓度绘画图表，从而得出每种分析物的 5 点校准曲线。从校准曲线得出斜率(m)、截距(I)与相关系数(r<sup>2</sup>)的平方。

峰面积比

=

分析物的峰面积

内标物的峰面积

6. 鉴别及计算

按下列方程式计算每种分析物的相对保留时间：

相对保留时间

=

分析物峰的保留时间

萘峰的保留时间

与混合校准标准溶液 Std-AS 色谱图中 α-蒎烯峰、桉油精峰、樟脑峰、薄荷醇峰和水杨酸甲酯峰的相对保留时间比较，鉴别样本溶液色谱图中的 α-蒎烯峰、桉油精峰、樟脑峰、薄荷醇峰和水杨酸甲酯峰。上述两种色谱图中的 α-蒎烯峰、桉油精峰、樟脑峰、薄荷醇峰和水杨酸甲酯峰的相对保留时间不应相差多于 0.5 %。

按下列方程式计算样本溶液中分析物的浓度(毫克 / 升):

$$\text{分析物的浓度} = \frac{\text{峰面积比} - I}{m}$$

峰面积比 = 样本溶液中分析物的峰面积比

$I = 5$  点校准曲线截距

$m = 5$  点校准曲线斜率

按下列方程式计算样本中分析物(毫克 / 克)的成分:

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

$C$  = 样本溶液中分析物的浓度(毫克 / 升)

$D$  = 稀释因子

$V$  = 样本溶液最后制成体积(毫升)

$W$  = 用以配制样本溶液的样本的重量(克)

## 7. 参考数据

**7.1.** 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。

**7.2.** E. Gonzalez-Penas, M. Lopez-alvares, F. Martinez de Narvajas, A. Ursua Simultaneous. (2000). GC Determination of Turpentine, Camphor, Menthol and Methyl Salicylate in a Topical Analgesic Formulation (Dologex). *Chromatographia*(52), pp. 245-248.

**7.3.** 国家食品药品监督管理局:《国家药品标准·活络油》WS3-868(Z-166)-2005(Z)-2009。

## 附件

### (规范)

#### 外标校准

本方法亦可以外标校准代替内标校准来检测样本溶液中分析物的浓度。如采用外标校准，则可使用不添加萘内标溶液 Std-IS 的混合校准标准溶液 Std-AS 和样本溶液。

以  $\alpha$ -蒎烯、桉油精、樟脑、薄荷醇和水杨酸甲酯的峰面积(A)与相应的混合校准标准溶液 Std-AS 浓度作图，从而得出每种标准品的 5 点校准曲线。从校准曲线得出斜率(m)、截距(I)和相关系数( $r^2$ )的平方。

按下列方程式计算样本溶液中分析物的浓度(毫克 / 升):

$$\text{分析物成分} = \frac{A - I}{m}$$

A = 样本溶液中分析物的峰面积

I = 5 点校准曲线截距

m = 5 点校准曲线斜率