



GCMTI RD-2:2020

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
冰片含量

利用气相色谱法检测外用中药药油中的冰片含量

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。

1. 引言

本方法载列检测外用中药药油中的冰片(天然冰片或合成冰片)所涉的程序。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，定性及定量测定冰片的成分。^{1, 2}

本方法对冰片的最低适用水平为 10 毫克 / 克。

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. 氦气：纯度最少 99.999 %。

2.3. 内标物：萘，纯度最少 95 %。

2.4. 冰片标准品，纯度最少 95 %。

2.5. 标准储备溶液 Std-Stock(10 000 毫克 / 升)

准确地称出冰片标准品(2.4)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。

¹ 本方法不能用于区分天然冰片(*d*-冰片)和合成冰片(冰片的异构体)。

² 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、水杨酸甲酯及 / 或冰片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6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。

(标准储备溶液可于室温下妥当储存 3 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。

2.7. 标准中间溶液 Std-Int(400 毫克 / 升)

用移液器把 0.8 毫升的标准储备溶液 Std-Stock(2.5)放进 20 毫升的容量瓶(3.2)，并加入乙醇(2.1)至刻度。

2.8. 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 20 至 160 毫克 / 升(冰片)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)或交联 5%二苯基甲基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 (3.6)	聚乙二醇固定相 (30 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米)	交联 5%二苯基甲基硅氧烷 固定相 ³ (60 米 x 0.25 毫米 x 0.25 微米)
升温程序	初始 40℃，保持 15 分 钟后，以每分钟 20℃ 升至 190℃，保持 4 分 钟 (总运行时间 26.5 分 钟)	初始 65℃，保持 5 分钟后， 以每分钟 1℃升至 80℃，保 持 0 分钟；再以每分钟 20℃ 升至 190℃，保持 3 分钟 (总运行时间 28.5 分钟)

³ 虽然在使用低极性的色谱柱(即交联5%二苯基甲基硅氧烷固定相)进行分析时，含有薄荷油的中成药会出现干扰峰，但使用高极性的色谱柱(即聚乙二醇固定相)可以对含有薄荷油的中成药中的冰片进行定量。

5. 校准

以冰片相对于萘的峰面积比与校准标准溶液 Std-AS 的相应浓度绘画图表，从而得出冰片的 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。

$$\text{峰面积比} = \frac{\text{冰片的峰面积}}{\text{内标物的峰面积}}$$

6. 鉴别及计算

按下列方程式计算冰片的相对保留时间：

$$\text{相对保留时间} = \frac{\text{冰片峰的保留时间}}{\text{萘峰的保留时间}}$$

与校准标准溶液 Std-AS 色谱图中冰片峰的相对保留时间比较，鉴别样本溶液色谱图中的冰片峰。上述两种色谱图中的冰片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冰片的浓度(毫克 / 升)：

$$\text{冰片的浓度} = \frac{\text{峰面积比} - I}{m}$$

峰面积比 = 样本溶液中冰片的峰面积比

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冰片(毫克 / 克)的成分：

$$\text{冰片成分(毫克 / 克)} = \frac{C \times V / 1000 \times D}{W}$$

C = 样本溶液中冰片的浓度(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冰片的浓度。如采用外标校准,则可使用不添加萘内标溶液 Std-IS 的校准标准溶液 Std-AS 和样本溶液。

以冰片的峰面积(A)与相应的校准标准溶液 Std-AS 浓度作图,从而得出 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冰片的浓度(毫克 / 升):

$$\text{冰片成分} = \frac{A - I}{m}$$

A = 样本溶液中冰片的峰面积

I = 5 点校准曲线截距

m = 5 点校准曲线斜率