

直接顶空 GC测定罗浮山百草油中的薄荷脑和水杨酸甲酯

何小稳¹, 蒋 懿², 蒋 晔^{1*}

(1. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050017; 2 邯郸电力医院, 河北 邯郸 056001)

摘要: 目的 采用顶空 GC快速测定罗浮山百草油中薄荷脑和水杨酸甲酯的含量。方法 将样品液直接注入 2 ml水中顶空分析, 顶空温度 80 , 平衡时间 30 min, 采用 30 mm ×0.53 mm ×0.50 μm的毛细管柱, 聚乙二醇为固定液, FID检测器。结果 薄荷脑、水杨酸甲酯和其他成分的分离度良好, 加样回收率分别为 99.2%、98.1%, RSD分别为 0.5%、0.8%。其线性范围分别为 62.40~9.98 ×10²、1.25 ×10²~2.00 ×10³ μg·ml⁻¹ (r>0.9990)。结论 该法操作简便快速, 定量准确, 既减少了对待测物的干扰, 又不污染色谱系统, 适用于罗浮山百草油的质量控制。

关键词: 顶空气相色谱法; 罗浮山百草油; 薄荷脑; 水杨酸甲酯

中图分类号: R917

文献标识码: A

文章编号: 1006 - 0103 (2009) 05 - 0524 - 02

Determination of menthol and methyl salicylate in Luofushan Baicao oils by headspace GC

HE Xiao - wen¹, JIANG Yi², JIANG Ye^{1*}

(1. College of Pharmacy, Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei, 050017 P. R. China; 2 Handan Electric Power Hospital, Handan, Hebei, 056001 P. R. China)

Abstract: **OBJECTIVE** To establish a simple and rapid method for determination of menthol and methyl salicylate in Luofushan Baicao oils by headspace GC (HS - GC). **METHODS** Sample was performed by injection of 50 μl methanol dilution with microliter syringes into 2 ml matrix medium - water, then detected by headspace injection directly. The analytes were equilibrated in oven temperature 80 for 30 min. **RESULTS** The calibration curves were linear in the range of 62.4 - 9.98 ×10² μg·ml⁻¹ for menthol (r = 0.9996) and 1.25 ×10² - 2.00 ×10³ μg·ml⁻¹ for methyl salicylate (r = 0.9990), respectively. The average recoveries were 99.2% and 98.1% for two components mentioned above respectively with RSD of 0.5% and 0.8%. **CONCLUSION** The method is simple, rapid and accurate. It not only decreases the interference to the analytes but also has no contamination for GC system. It is suitable for quality control of Luofushan Baicao oils.

Key words: HS - GC; Luofushan Baicao oils; Menthol; Methyl salicylate

CLC number: R917

Document code: A

Article ID: 1006 - 0103 (2009) 05 - 0524 - 02

罗浮山百草油由水杨酸甲酯、薄荷油、薄荷脑等七十九味药及适量叶绿素加茶油制成, 具有祛风解毒、消肿止痛的作用。罗浮山百草油成分复杂, 薄荷脑和水杨酸甲酯为其主要成分, 文献^[1]采用乙酸乙酯溶解直接进样 GC法测定, 样品中大量难或不挥发的组分易污染色谱柱。文献^[2]改进了样品处理方法, 采用挥发油提取器提取后测定, 但操作烦琐费时, 且挥发性成分在操作过程中易损失。现采用直接顶空气相色谱法测定罗浮山百草油中薄荷脑和水杨酸甲酯的含量, 避免了繁杂的提取过程, 减少了干扰成分及对色谱柱的污染, 简便快速, 定量准确。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SP - 3420型气相色谱系统 (北京北分天普仪器技术有限公司)。薄荷脑 (批号: 110728 - 200506)、

水杨酸甲酯 (批号: 110707 - 200107) 对照品 (中国药品生物制品检定所); 罗浮山百草油 (广东罗浮山药业有限公司, 批号: L07D11、L08A181、L08D151); 甲醇为色谱纯; 水为重蒸水。

1.2 方法与结果

1.2.1 色谱条件 色谱柱为 SMA - WAX毛细管柱 (30 m ×0.53 mm ×0.50 μm), 固定液为聚乙二醇; 程序升温起始温度 100 , 保持 3 min, 4 ·min⁻¹升到 112 , 再以 10 ·min⁻¹到 152 , 保持 5 min; 进样口温度 200 ; 检测器温度 230 。

1.2.2 顶空进样条件 采用微量注射器精密吸取对照品或供试品的甲醇溶液 50 μl, 注入盛有 2 ml 水的顶空瓶中, 加盖, 密封, 置 80 恒温箱中平衡 30 min, 用在同一恒温箱中保温的进样器抽取顶部气体 1 ml 进样测定。

1.2.3 溶液的配制 分别取薄荷脑和水杨酸甲酯对照品各约 200、400 mg, 精密称定, 置 5 ml 量瓶中,

作者简介: 何小稳 (1985 -), 女, 正攻读药物分析专业的硕士学位。

* 通讯作者 (Correspondent author), Email: jiangye@hebmu.edu.cn

加甲醇定容,配制成含薄荷脑 $39.9 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、水杨酸甲酯 $80.0 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品贮备液。精密量取贮备液适量于 5 mL 量瓶中,加甲醇定容,即得对照品溶液。精密量取罗浮山百草油 1 mL ,置 5 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容,得供试品溶液。

1.2.4 系统适用性试验 按“1.2.1 项下方法分

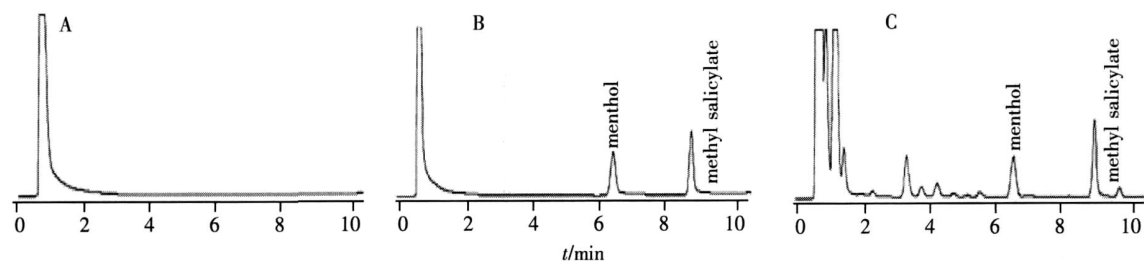


图 1 空白 (A)、对照品 (B) 和供试品 (C) 溶液的 GC 色谱图

Fig 1 Gas chromatograms of blank solution (A), control solution (B) and sample solution (C)

1.2.5 线性试验 精密量取“1.2.3 项下对照品贮备液 2.5 mL ,置 5 mL 量瓶中,用甲醇定容,依此法对倍稀释得 5 种系列标准溶液。分别吸取系列标准溶液,按“1.2.1 项下方法进样测定,记录色谱图。以各成分峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,进行线性回归,回归方程分别为: $A_{\text{薄荷脑}} = 247C - 790$ ($r = 0.9996$) 和 $A_{\text{水杨酸甲酯}} = 148C - 1.23 \times 10^4$; 两者分别在 $62.4 \sim 9.98 \times 10^2 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 和 $125 \sim 2.00 \times 10^3 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 与峰面积成良好的线性关系。

1.2.6 最低检测限 取线性最低检测限的低点对对照品溶液对倍稀释,按“1.2.1 项下方法测定,按 $S/N = 3$ 计,薄荷脑和水杨酸甲酯的最低检测限分别为 1.95 、 $7.81 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.2.7 稳定性试验 取“1.2.3 项下的供试品溶液,于 0 、 2 、 4 、 8 、 12 、 24 h ,按“1.2.1 项下方法测定,计算薄荷脑和水杨酸甲酯色谱峰峰面积的 RSD 分别为 3.1% 、 3.7% 。表明样品在 24 h 内稳定。

1.2.8 重复性试验 取同一批号的罗浮山百草油,按“1.2.1 项下制备 6 份供试品溶液,分别按“1.2.1 项下方法测定,计算薄荷脑和水杨酸甲酯含量的 RSD 分别为 1.8% 、 3.0% 。

1.2.9 准确度试验 精密量取已知薄荷脑和水杨酸甲酯含量的同一批样品 6 份,分别加入定量的混合对照品溶液,用甲醇溶解,按“1.2.1 项下方法进样测定,薄荷脑、水杨酸甲酯的回收率分别为 99.2% 、 98.1% , RSD 分别为 0.5% 、 0.8% ($n = 6$)。

1.2.10 样品的测定 取 3 批样品,按“1.2.3 项下方法制备供试品溶液,按“1.2.1 项下方法抽取顶部气体 1 mL 进样测定。每份样品平行测定 3 次,记录色谱图,按外标标准曲线法以峰面积计算罗浮山百草油中薄荷脑和水杨酸甲酯的含量 (表 1)。

别吸取空白甲醇、对照品溶液和供试品溶液,按“1.2.2 项下方法进样测定。由色谱图可知薄荷脑、水杨酸甲酯与其他成分的分离良好,分离度均大于 2.0 ,理论板数以薄荷脑计大于 9×10^3 。空白甲醇溶液、对照品溶液和供试品溶液的色谱图见图 1。

表 1 样品含量测定结果 ($n = 3$)

Table 1 Determination results of samples ($n = 3$)

Batch No	Menthol		Methyl salicylate	
	$C/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$RSD/\%$	$C/\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$	$RSD/\%$
L07 D11	101	1.3	231	0.7
L08A181	98.0	1.6	238	1.9
L08D151	103	0.9	232	1.5

2 讨论

薄荷脑和水杨酸甲酯为罗浮山百草油中的主要成分,二者均有挥发性,常用的提取方法有蒸馏法和溶剂提取法^[3],但提取时间长、提取效率低,且热不稳定和易氧化的成分易受到破坏。样品经顶空分析技术处理后,仅挥发性成分进入色谱系统,既减少了干扰,又不易污染或损坏色谱柱^[4],适合于药物中挥发性成分的含量测定和质量控制。实验曾固定顶空时间 30 min ,考察了不同顶空温度下薄荷脑和水杨酸甲酯的峰面积。结果表明,顶空温度达 80 时,峰面积基本稳定。平衡时间本质上取决于被测组分分子从样品基质到气体的扩散速度。因此,考察了顶空平衡温度为 80 时,不同顶空平衡时间下薄荷脑和水杨酸甲酯的峰面积。结果表明, 30 min 时,两成分的气液两相已达平衡。

参考文献:

- [1] 陈日添,廖建良,廖志钟.罗浮山百草油鉴别和含量测定研究[J].中成药,1998,20(6):12-14.
- [2] 曾惠芳,黄耀海,李湘力,等.百草油中薄荷脑、肉桂醛、丁香酚的含量测定[J].中成药,2007,29(4):558-560.
- [3] 李晓瑞,李奉勤,薛彦朝,等.中药挥发油提取工艺研究概况[J].中医药管理杂志,2006,14(8):66-67.
- [4] 刘虎威.气相色谱方法及应用[M].北京,化学工业出版社,2000:144-146.

收稿日期:2008-11