

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.05.018

气相色谱法测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮含量*

刘 斌

(四川省德阳市食品药品安全检验检测中心,四川 德阳 618000)

摘要:目的 建立测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮含量的气相色谱法。方法 色谱柱为 HP-INNOWax 石英毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μm),程序升温(初始温度为 90℃、维持 1 min,以 3℃/min 的速率升至 130℃、维持 2 min,再以 30℃/min 的速率升至 220℃、维持 2 min),载气为高纯氮,载气流速为 1.5 mL/min,分流比为 10:1,进样口温度为 220℃,检测器温度为 250℃,进样量为 1 μL。结果 薄荷脑和薄荷酮的质量浓度分别在 99.335 9~1 490.039 0 μg/mL、69.530 7~1 042.959 9 μg/mL 范围内与峰面积线性关系良好($r=0.999\ 8$, $n=5$);检测限分别为 0.476 8、0.139 1 mg/L,定量限分别为 1.589 4、0.556 2 mg/L;平均回收率分别为 100.01% 和 72.77%, RSD 分别为 2.97% 和 1.47% ($n=6$);精密性、稳定性、重复性试验结果的 RSD 均小于 4.00%。结论 该方法操作简便快速、结果准确,可用于同时测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮的含量。

关键词:银柴颗粒;薄荷脑;薄荷酮;气相色谱法;含量测定

中图分类号:R932;R284.1;R286.0

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)05-0079-03

Content Determination of Menthol and Menthone in Yinchai Granules by Gas Chromatography

LIU Bin

(Deyang Municipal Center for Food and Drug Safety Inspection, Deyang, Sichuan, China 618000)

Abstract: Objective To establish a gas chromatography (GC) method for the content determination of menthone and menthol in Yinchai Granules. **Methods** The chromatographic column was HP-INNOWax quartz capillary column (30 m×0.32 mm, 0.25 μm) with programmed temperature (the initial temperature was 90℃ and maintained for 1 min, it was programmed to 130℃ at the rate of 3℃/min for 2 min, and then it was programmed to 220℃ at the rate of 30℃/min for 2 min). The carrier gas was high purity nitrogen, and the flow rate of carrier gas was 1.5 mL/min, the split ratio was 10:1, the temperature of injection port was 220℃, the temperature of detector was 250℃, and the injection volume was 1 μL. **Results** The mass concentrations of menthone and menthol showed a good linear relationship with the peak area in the range of 99.335 9–1 490.039 0 μg/mL and 69.530 7–1 042.959 9 μg/mL ($r=0.999\ 8$, $n=5$), respectively. The limits of detection (LOD) were 0.476 8 mg/L and 0.139 1 mg/L and the limits of quantitation (LOQ) were 1.589 4 mg/L and 0.556 2 mg/L, respectively. The average recoveries of menthone and menthol were 100.01% and 72.77% with RSD s of 2.97% and 1.47% ($n=6$), respectively. The RSD s of precision, stability

*基金项目:四川省德阳市科技计划重点研发项目[2020SZZ066]。

第一作者:刘斌,女,大学本科,主管中药师,研究方向为中药材、中成药检验和质量标准,(电子信箱)14090590@qq.com。

- macopieial Convention, 2006:3802–3803.
- [5] GB 5009.238–2016, 食品安全国家标准食品水分活度的测定[S].
- [6] GB/T 9695.12–1988, 肉与肉制品水分活度测定[S].
- [7] 绳金房,李 辉,马仁溪,等. 浅析水分活度测定在非无菌制剂微生物控制中的应用[J]. 药物分析杂志, 2018, 38(10): 1837–1841.
- [8] 杨晓莉,李 辉,许华玉,等. 药品微生物控制中水分活度测定的应用前景[J]. 中国药业, 2018, 27(23): 1–4.
- [9] 杨 静,李 翠,周志云,等. 生孢梭菌生长所需最低水分活度研究[J]. 中国药业, 2020, 29(7): 102–104.
- [10] 鲍方名,沈海英. 水分活度与非无菌药品微生物控制[J]. 中国药事, 2008, 32(7): 913–918.
- [11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 160–175.
- [12] 胡昌勤. 药品微生物控制现状与展望[J]. 中国药学杂志, 2015, 50(20): 1747–1751.
- [13] 闵 红,杨晓莉,李 翠,等. 阿莫西林胶囊微生物检查方法学研究[J]. 中国抗生素杂志, 2019, 44(2): 218–223.
- [14] 闵 红,杨晓莉,李 翠,等. 复方氟己定地塞米松膜微生物检查方法学研究[J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(7): 881–886.
- [15] 曹寒梅,蔡 虎,杨晓莉,等. 氧氟沙星胶囊微生物限度检查方法的建立[J]. 中国药业, 2019, 28(16): 35–38.
- [16] 姬 俊,刘婷婷,牛萌萌,等. 卵磷脂和聚山梨酯-80 联用在中药制剂抑菌活性中的中和作用[J]. 中国药师, 2017, 20(3): 586–588.
- [17] 陈 静,严 佳,钟桂香,等. 复方特比萘芬软膏微生物限度检查方法适用性试验研究[J]. 药学实践杂志, 2019, 37(4): 357–361.
- [18] 王 超,刘国鹏,郭绍琦,等. 水活度用于食品质量与安全控制的研究进展[J]. 粮食科技与经济, 2020, 45(10): 35–36.
- [19] 张 滕. 水活度用于食品微生物安全检验控制的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [20] 聂少勇. 水活度测定及其在制药工业的应用[J]. 中国医药工业杂志, 2018, 49(12): 1710–1715.

(收稿日期:2021-05-29;修回日期:2021-08-20)

and repeatability test were less than 4.00%. **Conclusion** The method is rapid, simple and accurate, which can be used to evaluate the quality of *Menthae Haplocalycis Herba* in Yinchai Granules.

Key words: Yinchai Granules; menthol; menthone; gas chromatography; content determination

银柴颗粒由忍冬藤、柴胡、枇杷叶、薄荷、芦根5味中药材组方,具有清热、解表、止咳功效,用于风热感冒、发热咳嗽等症。现行药材质量标准^[1]仅对薄荷脑进行薄层色谱定性鉴别,但薄荷含有以薄荷脑和薄荷酮为主的挥发性成分^[2]。本研究中建立了同时测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮含量的气相色谱(GC)法,为银柴颗粒薄荷质量的有效控制提供参考。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Agilent 7890B型气相色谱仪(美国安捷伦公司),配有氢火焰离子化检测器、Agilent 7693型自动进样器;SPH-300A型氢气发生器,SPB-3型全自动空气源(北京中惠普分析技术研究所);XS205型电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司,精度为十万分之一);KQ-700D型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为700 W,频率为40 kHz)。

1.2 试剂

薄荷脑对照品(批号为110728-201707,纯度为99.8%),薄荷酮对照品(批号为111705-201105,纯度为99.8%),均购自中国食品药品检定研究院;其余试剂均为分析纯;银柴颗粒(厂家GD,批号为190701;厂家YN,批号为190701;厂家HB,批号为200102;厂家FD,批号为200901;厂家KH,批号为191203;厂家FC,批号为200807)。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

色谱柱:HP-INNOWax石英毛细管柱(30 m × 0.32 mm, 0.25 μm);程序升温:初始温度90℃、维持1 min,以3℃/min的速率升至130℃、维持2 min,再以30℃/min的速率升至220℃、维持2 min;载气:高纯氮;载气流速:1.5 mL/min;分流比:10:1;进样口温度:220℃;检测器温度:250℃;进样量:1 μL。

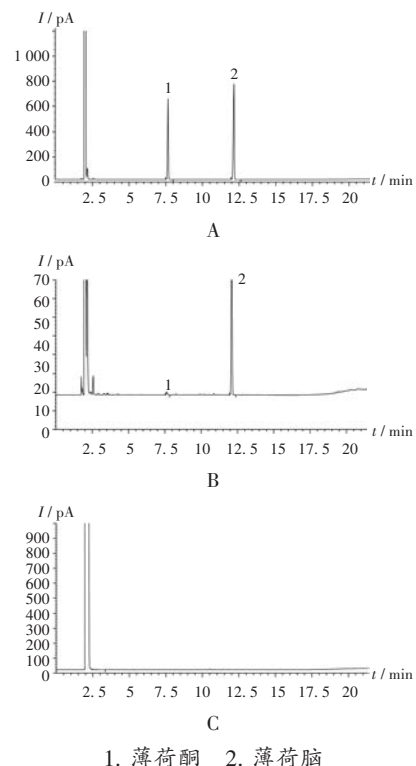
2.2 溶液配制

分别称取薄荷脑对照品199.07 mg,薄荷酮对照品139.34 mg,精密称定,置100 mL容量瓶中,加乙酸乙酯溶解并定容,摇匀,即得每1 mL含薄荷脑1.986 7 mg、薄荷酮1.390 6 mg的混合对照品溶液。取样品适量,研细,取6 g,精密称定,置150 mL具塞锥形瓶中,精密加入乙酸乙酯20 mL,密封,称定质量,超声处理(功率为420 W,频率为10 kHz)10 min,放冷,再称定重量,补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,即得供试品溶液。取缺薄荷的其余药材,按处方比例和制备工艺制备缺

薄荷的阴性样品,按供试品溶液制备方法制备阴性对照品溶液。

2.3 方法学考察

专属性试验:精密吸取2.2项下3种溶液各1 μL,按2.1项下色谱条件分别进样检测,色谱图见图1。结果薄荷脑和薄荷酮的理论板数分别为142 311和83 216,供试品溶液色谱中在与对照品溶液色谱相应位置有相同保留时间的色谱峰,且阴性对照无干扰,表明方法专属性良好。



A. 对照品溶液 B. 供试品溶液 C. 阴性对照品溶液

图1 气相色谱图

1. Menthol 2. Menthone

A. Reference solution B. Test solution C. Negative reference solution

Fig. 1 GC chromatograms

线性关系考察、检测限和定量限确定:精密量取2.2项下混合对照品溶液0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 7.5 mL,分别置10 mL容量瓶中,加乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,按2.1项下色谱条件进样测定。以待测成分质量浓度(X , μg/mL)为横坐标、峰面积(Y)为纵坐标进行线性回归,得回归方程分别为 $Y_{\text{脑}} = 1.871 1X_{\text{脑}} + 1.099 7$ ($r = 0.999 8, n = 5$), $Y_{\text{酮}} = 1.824 3X_{\text{酮}} + 2.157 2$ ($r = 0.999 8, n = 5$),表明薄荷脑和薄荷酮的质量浓度分别在99.335 9 ~ 1 490.039 0 μg/mL, 69.530 7 ~ 1 042.959 9 μg/mL范围内与峰面积线性关系良好。根据各成分的信噪比(S/N)。计算检测限($S/N = 3$)和定量限($S/N = 10$)。结果薄

表 1 加样回收试验结果($n = 6$)
Tab.1 Results of the recovery test($n = 6$)

取样量(g)		样品含量(mg)		加入量(mg)		测得量(mg)		回收率(%)		$\bar{X}$ (%)		RSD(%)	
薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮	薄荷脑	薄荷酮
3.031 9	3.031 9	2.147 5	0.042 90	1.390 7	0.973 4	3.520 4	0.741 3	98.72	71.75	100.01	72.77	2.97	1.47
3.031 2	3.031 2	2.147	0.042 89	1.390 7	0.973 4	3.533 8	0.744 1	99.72	72.04				
3.032 9	3.032 9	2.148 2	0.042 92	1.390 7	0.973 4	3.506 7	0.743 0	97.68	71.92				
3.035 5	3.035 5	2.150 0	0.042 95	1.390 7	0.973 4	3.583 3	0.769 1	103.06	74.60				
3.031 9	3.031 9	2.147 5	0.042 90	1.390 7	0.973 4	3.568 2	0.756 9	102.16	73.35				
3.033 6	3.033 6	2.148 7	0.042 93	1.390 7	0.973 4	3.521 3	0.752 9	98.70	72.94				

荷脑的检测限和定量限分别为 0.476 8 mg / L 和 1.589 4 mg / L;薄荷酮的检测限和定量限定性检测限分别为 0.139 1 mg / L 和 0.556 2 mg / L。

精密度试验:精密吸取 2.2 项下混合对照品溶液 1 μ L, 按 2.1 项下色谱条件连续进样测定 6 次,记录峰面积。结果薄荷脑和薄荷酮峰面积的 RSD 分别为 0.87% 和 0.86%($n = 6$),表明仪器精密度良好。

重复性试验:取同一批(批号为 200807)样品 6 份,精密称定,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定。结果薄荷脑和薄荷酮峰面积的 RSD 分别为 1.81% 和 3.84%($n = 6$),表明方法重复性良好。

稳定性试验:取同一批(批号为 200807)样品 6.0 g,精密称定,按 2.2 下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件分别于 0,4,8,12,16,20,24 h 时进样测定,记录峰面积。结果薄荷脑和薄荷酮峰面积的 RSD 分别为 0.46% 和 2.13%($n = 7$),表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

加样回收试验:取已知薄荷脑和薄荷酮含量的样品(批号为 200807,薄荷脑含量为 0.792 4 mg / g,薄荷酮含量为 0.124 3 mg / g)6 份,精密称定,分别精密加入薄荷脑和薄荷酮对照品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,计算回收率。结果见表 1。薄荷酮的回收率偏低,主要原因为样品中薄荷所含薄荷酮的含量低于 0.01%,属痕量级。

2.4 样品含量测定

取 6 批样品,按 2.2 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件进样测定,记录峰面积,计算样品中薄荷脑和薄荷酮的含量。结果见表 2。

3 讨论

曾比较提取溶剂环己烷、石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)、乙酸乙酯的提取效果,结果乙酸乙酯优于其他溶剂。曾考察了超声时间对提取效果的影响,结果超声处理 20 min 和 10 min 后两者含量无显著差异,且均优于超声 30 min,故选择超声提取 10 min。

由表 2 可知,6 个厂家的样品中薄荷脑和薄荷酮的

表 2 样品含量测定结果(mg / g)
Tab.2 Results of content determination of menthol and menthone in the samples(mg / g)

生产厂家	生产批号	薄荷脑	薄荷酮
GD	190701	0.035 89	0.003 838
YN	190701	0.060 84	0.004 749
HB	200102	0.138 70	0.006 397
FD	200901	1.250 40	0.003 473
KH	191203	0.369 50	0.017 090
FC	200807	0.792 40	0.012 430

含量差异较大,且 FD 厂家的薄荷脑与薄荷酮含量的比值远大于其他厂家,提示存在非法添加薄荷脑的可能性。查阅文献[3-7],发现不同地理位置、环境因素对薄荷药材薄荷油化学成分均有影响,其含量与薄荷种类、品种产地、采收时间、不同部位均密切相关。为提高银柴颗粒的质量标准,建议加强对薄荷饮片的质量控制;针对可能存在薄荷脑代替市售薄荷药材入药的情况,建议提升银柴颗粒制剂的质量标准。

综上所述,本研究中建立的方法操作快捷,结果准确,可用于同时测定银柴颗粒中薄荷脑和薄荷酮含量。

参考文献

[1] WS₃-B-2612-97,中华人民共和国卫生部药品标准·中药成方制剂第十三册[S].
[2] 彭蕴茹,钱士辉,石磊,等.薄荷非挥发性提取部位的药理活性研究[J].中药材,2008,31(1):104-107.
[3] 田伟,甄亚钦,王鑫国,等.HPLC 法同时测定薄荷配方颗粒中 3 种成分[J].中成药,2016,38(12):2602-2605.
[4] 黄兴雨,杨黎燕,尤静.薄荷挥发油研究进展[J].化工科技,2019,27(3):70-74.
[5] 许一鸣,乐巍,桑梦如,等.不同产地薄荷药材商品质量及差异研究[J].中国中药杂志,2017,42(17):3391-3397.
[6] 叶丹,赵明,邵扬,等.基于化学分析的薄荷药材商品规格划分的相关性研究[J].中国中药杂志,2015,40(2):251-257.
[7] 李民生,崔宇宏,王爱娜,等.种植、野生薄荷原药材调研考察及分析[J].中国药事,2019,33(4):435-445.

(收稿日期:2021-03-22;修回日期:2021-07-25)