

# 鱼腥草中甲基正壬酮气相色谱的定量方法研究

臧琛, 杨立新, 李慧\*, 聂其霞, 张保献, 王国华, 林岭  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 气相色谱内外标法测定鱼腥草含量比较。方法: 采用气相色谱测定鱼腥草中甲基正壬酮的含量, HP-5 弹性石英毛细管柱。结果: 甲基正壬酮在 24 ~ 366 ng 线性关系良好,  $r=0.999$ , 平均回收率 99.61%。结论: 气相色谱外标法甲基正壬酮的测定方法稳定, 重复性好, 可作为鱼腥草药材质量控制方法。

**[关键词]** 气相色谱法; 外标法; 内标法; 甲基正壬酮

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)14-0082-02

鱼腥草是我国传统常用中药, 具有清热解毒, 消痈排脓, 利尿通淋等功效<sup>[1]</sup>。甲基正壬酮是其挥发油中主要的有效成分之一<sup>[2]</sup>。目前文献报道鱼腥草药材中甲基正壬酮含量测定方法一般采用气相色谱内标法定量, 虽然内标法是标准的实验方法, 但操作过程较复杂, 并且还需要使用内标物。为求实验方法简便、快捷、准确, 本文采用外标法定量法测定, 并与内标法相比, 测定结果无显著性差异, 为鱼腥草含量测定提供了方便。

## 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** 美国 Agilent7890A 气相色谱仪, FID 检测器, 7683B 自动进样器, TH-300 氢气发生器, SPB-3S 全自动空气源。

**1.2 试剂** 鱼腥草药材采自贵州、河北、四川、浙江、福建、湖南、湖北、江苏等地。甲基正壬酮(批号 110834-200502, 纯度为 98% 以上) 购自中国药品生物制品检定所。内标物正十四烷, 色标, 北京化学试剂公司, 乙酸乙酯分析纯, 北京化学试剂公司。

## 2 方法与结果

**2.1 色谱条件** HP-5 石英毛细管色谱柱(0.32 mm × 30 m, 0.25 μm), 交联 5% 苯基甲基聚硅氧烷为固定相; 氢火焰离子检测器; 流动相高纯

氮恒流模式, 流速 1 mL·min<sup>-1</sup>, 进样器温度 250 °C, 检测器温度 250 °C; 程序升温 2 °C·min<sup>-1</sup> 升至 120 °C, 15 °C·min<sup>-1</sup> 升至 200 °C; 进样 2 μL, 不分流, H<sub>2</sub> 流量 40 mL·min<sup>-1</sup>, N<sub>2</sub> 流量 350 mL·min<sup>-1</sup>, 见图 1。

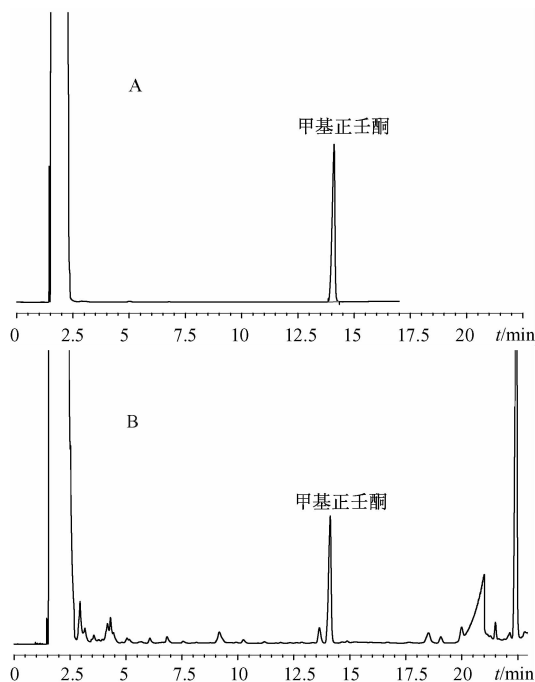


图 1 甲基正壬酮(A)及鱼腥草气(B)相色谱图

## 2.2 外标法溶液的制备

**2.2.1 对照品溶液的制备** 取甲基正壬酮对照品约 30 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯溶解并至刻度。

**2.2.2 供试品溶液的制备** 取鱼腥草约 4 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 精密加入乙酸乙酯 50 mL, 超声处理 45 min, 放置室温, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣用乙酸乙酯定量转移至 5 mL 量瓶中并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**[收稿日期]** 2010-04-19

**[基金项目]** 2009 年中医药行业科研专项(200907001-5), 重大新药创制(2009ZX0930-005-05)

**[第一作者]** 臧琛, 主管技师, 研究方向中药制剂, Tel: 010-84014127, E-mail: siwfe188@sina.com

**[通讯作者]** \* 李慧, 副研究员, 研究方向中药制剂研究及其质量控制, Tel: 010-64014411-2957, E-mail: lihuiyiren@163.com

**2.2.3 测定法** 吸取供试品溶液 2 μL, 注入气相色谱仪, 测定, 根据色谱图的峰面积计算, 即得。

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取 2.2.1 项下甲基正壬酮对照品溶液 20, 50, 100, 200, 300 μL 置 1 mL 量瓶中, 乙酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 吸取 2 μL 注入气相色谱仪, 连续进样 2 次, 测定峰面积, 以对照品/峰面积为纵坐标 (Y), 对照品进样量 (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 其回归方程为  $Y = 1.52 \times 10^4 X + 6.48 \times 10$ ,  $r = 0.999$ , 结果表明甲基正壬酮在 24 ~ 366 ng 线性关系良好。

### 2.3 内标法溶液的制备

**2.3.1 内标溶液的制备** 精密称取内标物正十四烷 50 mg, 置 50 mL 量瓶中, 以乙醇溶解并稀释至刻度, 制成  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的内标溶液。

**2.3.2 校正因子测定** 取甲基正壬酮对照品约 27 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯溶解并至刻度, 精密量取加乙酸乙酯适量使溶解并稀释至刻度, 取 100 μL 及内标溶液 40 μL, 置 1 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 取 2 μL, 注入气相色谱仪, 计算校正因子。

**2.3.3 供试品溶液的制备** 取鱼腥草约 4 g, 精密称定, 置 100 mL 量瓶中, 精密加乙酸乙酯 50 mL, 超声处理 45 min, 放置室温, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL, 蒸干, 残渣用乙酸乙酯转移至 5 mL 量瓶中, 加入内标溶液 200 μL, 并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

**2.3.4 测定法** 吸取供试品溶液 2 μL, 注入气相色谱仪, 测定, 根据色谱图的峰面积, 以内标校正因子计算, 即得。

**2.3.5 线性关系考察** 取甲基正壬酮对照品制成  $0.55 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的溶液, 精密吸取 25, 50, 100, 150, 200 μL 置 1 mL 量瓶中, 加入内标贮备液 40 μL, 以醋酸乙酯稀释至刻度, 摇匀, 吸取 2 μL 注入气相色谱仪, 连续进样 2 次, 测定峰面积。以对照品/内标物峰面积之比为纵坐标 (Y), 对照品进样量 (ng) 为横坐标, 绘制标准曲线, 结果表明甲基正壬酮在 27.5 ~ 220 ng 呈良好的线性关系。回归方程为  $Y = 8.8 \times 10^{-3} X - 2.14 \times 10^{-2}$ ,  $r = 0.999$ 。

**2.4 精密度试验** 取供试品溶液, 连续进样 5 次, 测得内外标法甲基正壬酮峰面积的 RSD 分别为 1.28%, 1.43%。

**2.5 重复性试验** 取同一批号样品按 2.2.2 项下操作制备供试品溶液 6 份, 按 2.1 色谱条件测定,

计算样品中甲基正壬酮平均含量为  $0.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 内、外标法 RSD 分别为 2.76%, 2.96%。

**2.6 加样回收率试验** 取已知含量鱼腥草 6 份, 每份约 0.2 g, 精密称定, 分别精密加入甲基正壬酮对照品约 0.31 mg, 测定并计算加样回收率, 见表 1。

表 1 甲基正壬酮加样回收率

No.	取样量 /g	加入量 /mg	样品中量 /mg	测出量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.752 6	0.31	0.268 4	0.571 9	97.90	99.61	2.35
2	2.105 7	0.31	0.322 5	0.631 3	99.63		
3	2.101 2	0.31	0.321 8	0.622 9	97.12		
4	2.104 7	0.31	0.322 3	0.627 9	98.57		
5	2.109 8	0.31	0.323 1	0.635 7	100.85		
6	2.504 3	0.31	0.383 5	0.704 6	103.56		

**2.7 样品测定** 精密称取鱼腥草药材, 按 2.2.2 项下方法制备成供试品溶液, 精密吸取供试品溶液 2 μL, 注入气相色谱仪, 按内、外标法计算, 鱼腥草中甲基正壬酮含量, 见表 2。

表 2 甲基正壬酮含量测定 (n=3)  $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$

药材来源	含量	
	外标法	内标法
贵州	0.15	0.17
河北	0.21	0.22
四川	0.01	0.01
浙江	0.09	0.09
福建	0.03	0.03
湖南	0.05	0.05
湖北	0.02	0.02
江苏	0.13	0.12

### 3 讨论

气相色谱内标法含量测定能够消除进样量不准造成的系统误差, 而建立内标法色谱条件显然要麻烦些, 在采用自动进样器的前提下, 这两种方法的精密度差别并不大。所以在采用自动进样器的仪器上, 可以采用外标法进行测定。

本文对供试品曾进行了水蒸气蒸馏与超声提取方式比较, 进行了乙酸乙酯、氯仿、甲醇等提取溶剂及提取时间的考察, 结果表明乙酸乙酯超声提取 45 min 已提取完全。结果表明本方法简便, 准确, 重复性好。

### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:208.  
 [2] 阮桂平, 贾薇, 曾元儿. 不同产地鱼腥草甲基正壬酮的含量测定[J]. 中成药, 2006, 28(6): 824.

[责任编辑 顾雪竹]