附錄 XIV 液相色譜 — 質譜聯用法（LC-MS）

LC-MS 是一種結合了物質分離（LC）和質譜分析（MS），具有高靈敏度和選擇性的分析技術。該法用途廣泛，特別是對複雜混合物進行定性定量分析。液相色譜（LC）是由固體固定相和液體流動相組成的分離技術。供試品經進樣閥，由流動相帶入柱內分離各待測成份。電噴霧離子化（ESI）是連接 LC 和質譜的常用離子源。由 LC 分離得到的液體分析物在進氣吹送和靜電作用下分散成噴霧，在高真空毛細管內被進一步加熱使溶劑揮發剩下帶電粒子。帶電粒子再經過離子聚焦進入四極桿 1（Q1），經此篩選后的選擇性離子進入活化碰撞室（四極桿 2，Q2）。離子在碰撞室成為碎片離子后進入四極桿 3（Q3），此第二次篩選能分離檢測從母離子至子離子的多個離子轉換過程（多反應監測模式，MRMs）。母離子/ 子離子對常用於表徵轉換過程，而子離子豐度可反映供試品中待測成份的含量。

（1） **供試品的製備** — 測定前，將藥材樣品粉碎，通過三號篩。粉碎的樣品量至少應為分析方法所需量的五倍。

（2） **儀器的一般要求** — 按各藥材品種項下的規定，選擇液相色譜的固定相和流動相。十八烷基鍵合硅膠為其中最常用的一種填充劑。離子交換填充劑用於離子交換色譜法，多孔硅膠或高分子微球填充劑用於分子排阻色譜法。色譜柱一般保持室溫，連於其後的一般為三重四極桿質譜檢測器。離子源一般為正離子模式電噴霧。

各藥材品種項下規定的固定相種類、流動相組分及檢測器類型，均不應改變。必要時，其餘條件可適當改變，以符合系統適用性試驗的要求。

（3） **系統適用性試驗** — 按各藥材品種項下有關系統適用性的規定，對儀器進行適用性試驗，用規定的化學對照品對儀器進行調整，以適應該藥材項下規定的參數要求，如色譜柱的理論塔板數（n）、重複性、分離度（R）和拖尾因子（T）。

（a） **理論塔板數（n）** — 理論塔板數用於衡量色譜柱的效能。其值應不低於各藥材品種項下的規定。按下列公式計算理論塔板數：

$$n=5.54\left(\frac{t_R}{W_{h/2}}\right)^2$$

式中 t_R = 對照品溶液指標成份峰或供試品溶液待測峰的保留時間；

$W_{h/2}$ = 對照品溶液指標成份峰或供試品溶液待測峰二分之一峰高處的峰寬。

(b) **重複性** — 重複性是指取對照品溶液，至少重複進樣5 次，計算峰面積及保留時間的相對標準偏差，應符合各藥材品種項下規定。

(c) **分離度 (*R*)** — 為保證定量分析準確，除另有規定外，待測峰與鄰近峰的分離度（圖1）應大於1.5。按下列公式計算分離度：

$$R=\frac{2(t_{R2}-t_{R1})}{W_1+W_2}$$

式中 t_{R1} 及 t_{R2} = 各為相鄰二峰（峰1 及峰2）的保留時間；

W_1 及 W_2 = 各為相鄰二峰（峰1 及峰2）的峰寬。

(d) **拖尾因子 (*T*)** — 測量時，尤其當採用峰高法，須檢查待測峰的拖尾因子（圖2）。該數值亦應符合各藥材品種項下的規定。按下列公式計算拖尾因子：

$$T=\frac{W_{0.05h}}{2d_1}$$

式中 $W_{0.05h}$ = 0.05 峰高處的峰寬

d_1 = 峰頂垂直線至0.05 峰高處前沿之間的距離。

(e) **相對豐度** — 待測成份各離子對的豐度比與對照品溶液對應離子對的豐度比應符合以下最大允許偏差範圍（與濃度相當的對照品溶液比較）。

表1 相對豐度最大允許偏差

與MRMs中基峰的相對豐度（%）	最大允許偏差（%）
> 50%	± 20%
> 20 to 50%	± 25%
> 10 to 20%	± 30%
< 10%	± 50%

（4） **定量操作程序** — 參照儀器說明書的操作說明，設置液相色譜- 質譜儀。按照規定的液相色譜- 質譜條件，往液相色譜儀注入適量系列濃度的對照品溶液，繪製標準曲綫，進行分析。在相同液相色譜- 質譜條件下，與對照品溶液的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜中的待測成份。或者，在供試品溶液中加入適量對照品進行分析，以確證供試品溶液中的待測峰。

用化學對照品的峰面積與標準溶液中相應濃度（mg/L）作圖，繪製5點標準曲綫。〔 附註1 〕。得到斜率、截距、回歸方程及相關係數（r^2）。按下列公式計算供試品溶液中待測成份的濃度（mg/L）：

$$\text{待測成份百分含量（\%）} = \frac{A - I}{m}$$

式中 A = 供試品溶液中待測成份峰面積；
I = 5點標準曲線的截矩；
m = 5點標準曲線的斜率。

按下列公式計算供試品溶液中待測成份的百分含量：

$$\text{待測成份的百分含量（\%）} = \frac{C \times V \times D}{10000W}$$

式中 C = 供試品溶液中待測成份的濃度（mg/L）；
D = 溶液稀釋因子；
V = 供試品溶液最後製成體積（mL）；
W = 用以製備供試品溶液的樣品量（g）。

〔附註1〕：如有必要，可在校準曲綫中運用加權因子。

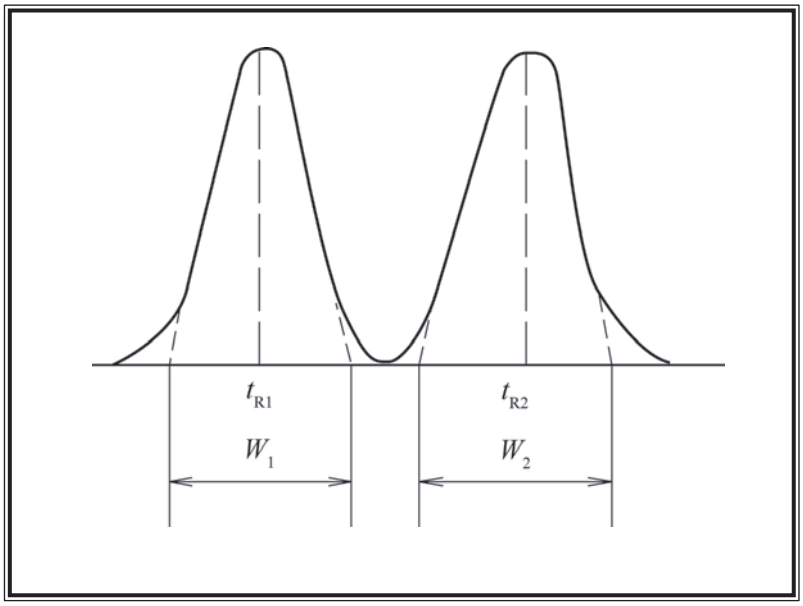

圖1　計算分離度（*R*）參數示意圖

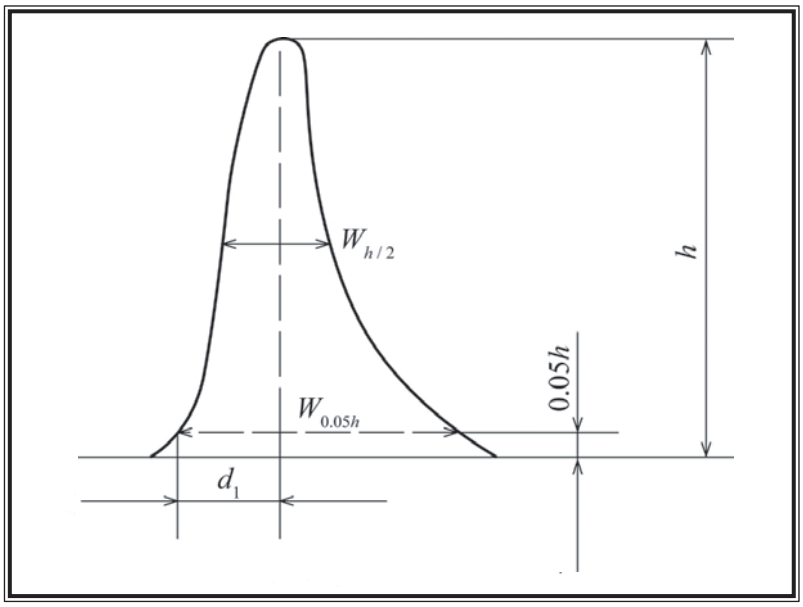

圖2　計算拖尾因子（*T*）參數示意圖