

高效液相色谱法测定金盏银盘中的绿原酸

周亚新

(福建济生堂药业发展有限公司 福建 漳州 363704)

摘要: 本文采用70%乙醇回流提取4个小时,再用流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(15:85)检测波长为327nm的高效液相色谱进行分析。结果重复性RSD为0.38%,平均加标回收率分别为97.7%、104.2%、97.7%,RSD<2%,该方法简便,易于操作,结果准确可靠。

关键词: 高效液相色谱 金盏银盘 绿原酸

中图分类号: O657.72 文献标识码: A 文章编号: 1009-8143(2010)03-0079-04

Determination of Chlorogenic Acid in Railway Beggarticks Herb by HPLC

Zhou ya-xin

(Fujian Jishengtang Pharmaceutical Development Co., Ltd, Zhangzhou, Fujian 363704, China)

Abstract: Used 70% alcohol to reflux and distill for four hours, then used mobile phase of acetonitrile-0.4% phosphoric acid (15:85) and 327nm detection wavelength of high performance liquid chromatography to analyse. The result was that RSD of repeatability was 0.38% and average recovery rate were 97.7%、104.2%、97.7% respectively, RSD<2%. The method was simple, easy to operate, accurate and reliable.

Keywords: high performance liquid chromatography; railway beggarticks herb; chlorogenic acid

感冒灵颗粒对绿原酸有严格的限制含量,而金盏银盘是感冒灵颗粒的一种原辅料,其含有绿原酸,为了保证感冒灵颗粒绿原酸的含量在合格范围内,有必要知道金盏银盘中绿原酸的含量,才能在生产中酌情进行添加绿原酸,从而保证成品感冒灵颗粒的质量。直到目前为止,金盏银盘中绿原酸的检测还未有准确可靠的方法。本文通过采用70%乙醇回流提取4个小时,再用流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(15:85)检测波长为327nm的高效液相色谱进行分析,结果重复性RSD为0.38%,平均加标回收率分别为97.7%、104.2%、97.7%,RSD<2%,该方法简便,易于操作,结果准确可靠。

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

日本岛津 LC2010A 高效液相色谱仪,色谱柱:

Diamond C₁₈ 柱(4.6×150mm 5μm)。

乙腈为一级色谱纯,甲醇为一级色谱纯,乙醇为色谱纯,重蒸水,磷酸为分析纯。

1.2 实验条件

用十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂,以乙腈-0.4%磷酸溶液(15:85)为流动相,检测波长为327nm,流速1mL/min。

2 结果与讨论

2.1 色谱分析条件选择

2.1.1 流动相的选择:开始采用经网上查阅^[1,2]的流动相乙腈-0.1%磷酸(9:91),经试验,该流动相对样品中绿原酸的分离效果不好,采用流动相乙腈-0.4%磷酸(15:85)则分离效果和峰面积都非常好,流速为1.0ml/min,柱温为30℃。

2.1.2 检测波长的选择:取绿原酸对照品,加甲醇

制成 20 $\mu\text{g/mL}$ 溶液,用紫外可见分光光度仪进行 200nm-400nm 波长扫描,可知绿原酸在 327nm 处有最大吸收峰,故选择 327nm 作为检测波长。

2.2 供试品制备方法选择

分别采用 4 种制备方法进行供试品的制备,实验结果见表 1。

表1 4种供试品制备方法的结果

样品号	制备方法	取样量(g)	绿原酸含量(%)
1	70%乙醇回流 4 小时	0.2633	0.06184
2	50%甲醇回流 4 小时	0.2638	0.05684
3	100%甲醇回流 4 小时	0.2654	0.03910
4	100%乙醇回流 4 小时	0.2645	0.00642

从表 1 可看出,采用 70%乙醇回流 4 小时所得的绿原酸含量最高,效果最好,所以选择用 70%乙醇回流 4 小时。

在 70%乙醇回流的时间选择上,经用 70%乙醇回流 2、3、4、5 小时的实验,其结果如表 2。

表2 70%乙醇回流时间的结果

样品号	回流时间(小时)	取样量(g)	绿原酸含量(%)
1	2	0.2644	0.05932
2	3	0.2658	0.05991
3	4	0.2654	0.06123
4	5	0.2646	0.05892

从表 2 可看出,回流 4 小时,绿原酸的提取效果最好,所以采用回流时间为 4 小时。

2.3 空白试验

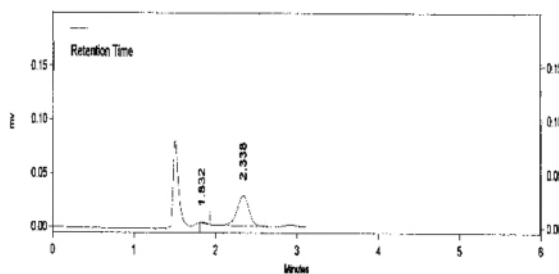
没有金盏银盘样品在内,按照 2.2 制备工艺的提取方法,制成空白溶液,对该溶液进行液相色谱检查,结果表明,在绿原酸出峰位置未见其它峰(图 1,样品 HPLC 图;缺金盏银盘的空白溶液 HPLC 图),说明整个提取方法对绿原酸的测定无干扰。

2.4 线性关系考察

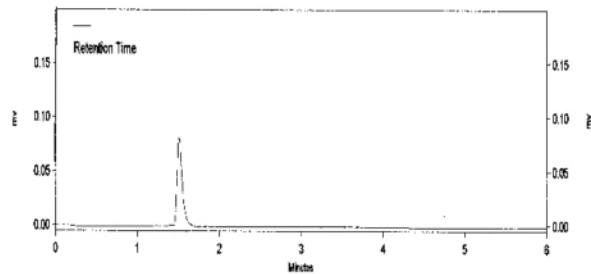
分别精密称取绿原酸对照品适量,加 70%乙醇溶解定容,配制成 1.43、2.39、4.77、9.55、23.87、47.74、95.48、143.22、190.96 $\mu\text{g/mL}$ 9 种不同浓度的溶液,分别进样 10 μL ,测定峰面积,结果见表 3。

表3 线性关系考察

对照品浓度($\mu\text{g/mL}$)	峰面积
1.43	21663
2.39	53612
4.77	107658
9.55	216109
23.87	547852
47.74	1108521
95.48	2181874
143.22	3250035
190.96	4273850



样品 HPLC 图

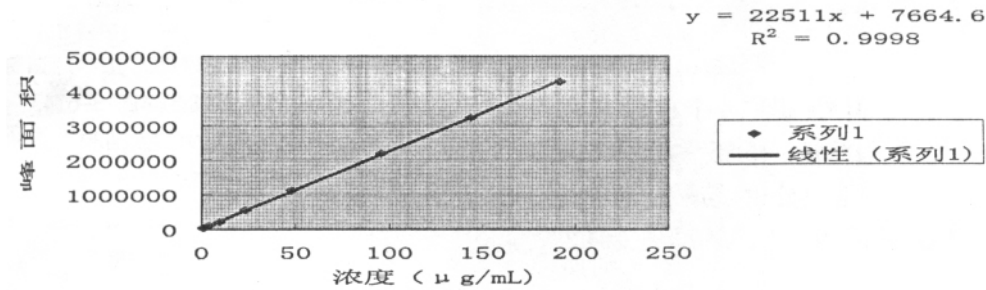


空白 HPLC 图

图1 2种液相色谱图

以对照品浓度为横坐标,色谱峰峰面积为纵坐标,绘制标准曲线(见图2 绿原酸标准曲线图),并以对照品浓度对峰面积进行线性回归,得回归方程为 $y=22511x+7664.6$ $\gamma=0.9998$,说明绿原酸进样量在 $0.014\mu\text{g}\sim 1.91\mu\text{g}$ 之间,线性关系良好。

图2 绿原酸标准曲线图



2.5 稳定性试验

取样品按本文方法制成供试品溶液,在所确定的HPLC条件下,重复进样6次,结果见表4。

表4 精密度实验

样品号	峰面积	平均峰面积	RSD(%)
1	189080	187946.5	0.62
2	186850		
3	186370		
4	189277		
5	187774		
6	188328		

由表4可知,RSD%为0.62,说明本品基本稳定。

2.6 重复性试验

精密称取样品6份,按上述提取方法制得6个样品溶液。按上述色谱条件进行测定,以外标一点

法计算绿原酸的含量,结果见表5,相对标准偏差<1%,说明方法的重复性较好。

表5 重复性实验数据表

样品号	峰面积	含量(%)	平均峰面积	RSD(%)
1	189080	0.06167	0.06151	0.38
2	186850	0.06152		
3	186370	0.06126		
4	189277	0.06121		
5	187774	0.06158		
6	188328	0.06181		

由表5可知,重复性结果符合要求。

2.7 回收率实验

采用加标回收法测定。精密称取已知含量的样品粉末,称取3份,分别加入一定量的绿原酸对照品,按照本文方法测定,以外标一点法计算绿原酸的含量,计算回收率,结果见表6。

表6 回收率测定结果

编号	样品取样量(g)	样品中绿原酸的量(mg)	加入绿原酸对照品的量(mg)	测出的绿原酸的量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	0.2637	0.4019	0.3136	0.6859	95.51	97.7	1.91
2	0.2633	0.4013		0.7097	98.89		
3	0.2653	0.4043		0.7105	98.60		
4	0.2659	0.07480	0.07758	0.1585	104.0	104.2	0.15
5	0.2623	0.07378		0.1577	104.2		
6	0.2669	0.07508		0.1593	104.3		
7	0.2634	0.1620	0.1910	0.3458	97.96	97.7	0.27
8	0.2662	0.1637		0.3463	97.63		
9	0.2660	0.1636		0.3455	97.43		

由表 6 可知,该方法平均加样回收率分别为 97.7%、104.2%、97.7% ,RSD<2%。说明该方法准确可靠。

97.7% ,RSD<2%,方法简便 ,易于操作 ,结果准确可靠。

参考文献

3 结 论

本文采用 70%乙醇回流提取 4 个小时 ,再用流动相为乙腈 -0.4%磷酸溶液 (15:85) ,检测波长为 327nm 的高效液相色谱进行分析 ,结果重复性 RSD 为 0.38% ,平均加标回收率分别为 97.7%、104.2%、

- [1] 陈晓颖,郭文婷,宋粉云. HPLC 法测定菌毒清颗粒中绿原酸的含量[J]. 中药材,2008,31(4):613-614.
- [2] 宁文. 菊花不同炮制品中挥发油和绿原酸含量的测定[J]. 广西中药学,2003,26(5):56-57.

仪器信息网举办 “第三届科学仪器网络原创文章大奖赛”

为促进分析人员的技术交流 ,提高行业的仪器应用水平 ,仪器信息网于 2010 年 7 月 1 日至 2010 年 12 月 31 日举办“第三届科学仪器网络原创文章大奖赛” ,活动历时 6 个月 ,设有色谱、质谱、光谱、材料表征、食品检测、药品检测、环境监测、采购交流、实验室建设和综合类 10 个赛区。

本次活动征文主要范围涉及行业综述、新技术发展、分析实验的操作过程、分析方法的开发及应用、仪器的操作过程与维护、仪器采购选型、仪器维修及故障解决、仪器拆机及仪器的构造、实验室的仪器配置及环境要求、实验室管理等方面 ,将文章发表在仪器论坛相关版面即可参与本次活动。作品要求 1、文章必须是作者独家发表在仪器论坛上的原创作品 2、文章字数不得少于 500 字 ,以图文并茂尤佳 3、文章发表时间在本次活动的时间内。

活动期间每类专题赛区每月分别评奖 ,活动结束后进行总评选 ,本次大赛为参赛者准备了总价值超过 80000 元的奖品 ,年终特等奖为笔记本电脑一台 ,同时优秀参赛作品将推荐给与本次大赛合作的《分析化学》、《色谱》、《分析实验室》、《现代仪器》、《分析仪器》等多家专业核心科技期刊 ,并可享受快速审稿“绿色通道” ,您的投稿作品将在 10-30 个工作日完成审稿流程 ,是您快速投稿的绝佳机会 !

“科学仪器网络原创文章大奖赛”作为仪器信息网一项重要活动将长期举办 ,欢迎广大用户踊跃投稿 ,也欢迎各相关单位赞助合作。

活动地址 <http://www.instrument.com.cn/activity/2010yc/>

活动时间 2010 年 7 月 1 日 --- 2010 年 12 月 31 日

活动咨询热线 010-51299927 转 114

(仪器信息网 供稿)