

基于 HPLC-ELSD 的巴戟天含量测定方法研究

【摘要】目的：通过 HPLC - ELSD 的巴戟天含量测定方法研究，以耐斯糖和蔗糖进行含量测定，初步确定了对药材巴戟天的质量控制的标准，使得得到一种相对较为快速、简便、有效的测定方法。**方法：**应用 HPLC - ELSD，对巴戟天中耐斯糖和蔗糖进行含量测定。**结果：**耐斯糖在 19.9742 μ g/mL~59.9226 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好，线性方程式为： $y = 41.873x - 576.2$ ， $R^2 = 0.9954$ ，精密度和重复性 RSD 值均小于 2%，样品溶液 12 小时候内稳定性良好；蔗糖在 18.0788 μ g/mL~54.2361 μ g/mL 浓度范围内线性关系良好，线性方程式为： $y = 51.166x - 606.28$ ， $R^2 = 0.9965$ ，精密度和重复性 RSD 值均小于 2%；样品溶液 12 小时候内基本稳定，耐斯糖加样回收率在 97.15%~100.15%之间；蔗糖回收率在 94.00%~98.85%之间。**结论：**该方法实验操作简单，专属性、准确度、重复性及稳定性良好，能够初步确定巴戟天质量标准，具有一定参考价值。

【关键词】高效液相色谱法；蒸发光散射检测器；巴戟天；含量测定；耐斯糖

Content Determination Method Study on the *Morinda officinalis* Radix Based on HPLC-ELSD

[Abstract] Objective: Through the method of HPLC-ELSD to determine the quality control standard and establish a fast, simple and accurate method. **Methods:** Content determination was performed using high-performance liquid chromatography–evaporative light scattering detector on Nystose and Sucrose of *Morinda officinalis* Radix. Column: ECOSIL 120-5-C18 AQ column, mobile phase: methanol water mixed solution (3:97), flow rate: 1.0 mL/min, column temperature: 30°C, injection volume: 10 µL. **Results:** Well linear in the range of 19.9742 µg/mL to 59.9226 µg/mL, The linear equation is: $y = 41.873x - 576.2$, $R^2 = 0.9954$, Precision and reproducible RSD values were less than 2%. The sample solution has good stability in 12 hours. The sucrose was linearly correlated well in the concentration range of 18.0788 µg/mL to 54.2361 µg/mL, The linear equation is: $y = 51.166x - 606.28$, $R^2 = 0.9965$, Precision and reproducible RSD values were less than 2%, The sample solution was basically stable within 12 hours, The recovery rate of the nice sugar addition is between 97.15% and 100.15%; Sucrose recovery rates ranged between 94.00% and 98.85%. **Conclusion:** This method is simple in operation, has good specificity, accuracy, repeatability and stability, and can preliminarily determine the quality standard of seed, and has certain reference value.

[Keywords] High-Performance Liquid Chromatography Evaporative Light Scattering Detector *Morinda officinalis* Radix Content determination Nystose

目 录

1 前言	1
2 仪器与材料	3
2.1 仪器	3
2.2 试剂	3
2.3 试药	4
3 方法与结果	5
3.1 色谱条件	5
3.2 样品及对照品溶液的制备	5
3.2.1 样品溶液的制备	5
3.2.2 对照品溶液的制备	6
3.3 含量测定	6
3.3.1 色谱条件	6
3.3.2 方法学验证	6
3.3.3 样品含量测定	12
4 讨论	13

4.1 预实验前处理.....	13
4.2 不足之处.....	13
5 结论	15
参考文献	16
致谢	17

1 前言

巴戟天，为茜草科植物巴戟天 *Morinda officinalis* How 的干燥根。味甘、辛，性微温，归肾、肝经，具有补肾阳、强筋骨、祛风湿的功效 Error! Reference source not found.。作为岭南道地药材的它，与槟榔、益智仁、砂仁三者一起享有四大南药的称号 Error! Reference source not found.。用于治疗阳痿遗精，宫冷不孕，月经不调，少腹冷痛，风湿痹痛，筋骨痿软 Error! Reference source not found.。巴戟天含有糖类、蒽醌类成分、环烯醚萜苷类成分、氨基酸及微量元素等^[3-6]。巴戟天中糖类的含量占比较高，主要是多糖以及寡糖，而且在巴戟天药材中，耐斯糖以及蔗糖的含量相对较高，具有一定研究价值。2020 年版中国药典对于巴戟天中耐斯糖含量不得低于 2%Error! Reference source not found.，常将其作为巴戟天药材的定性定量指标。蔗糖作为寡二糖于糖类成分来说具有较为重要的意义，是现在社会人类日常生活不可缺少的一部分，当然其含量的控制也是很有必要的；于药材本身来说，它具备着不同于食用糖类的作用，它可以结合其他的化学成分以发挥中药的药理药效。再者，中药多成分多指标的质量控制势在必行，所以耐斯糖以及蔗糖两者相结合的方式作为巴戟天含量测定方法的研究具备一定研究意义。

高效液相色谱法具有的高效性，高准确度，高灵敏性的特性，是它较于传统经典气相色谱法与经典液相色谱法的优势，使得其在应用于实验研究可以为实验减少分析的时间，减短实验所需的周期，进一步提高工作的效率。高效液相色谱法（HPLC）在 1960s 就已经被科学家们进行较为深入的研究和发明，尤其是该分离分析技术从 1971 年起开始被广泛地接受以及应用，近几十年来以磅礴之势迅猛发展^[7,8]。在社会的高速发展状态以及国家政策出台的大力扶持下，中药材包括中成药成为当今时代下及其备受关注的发展对象之一，有关中药的研究开始了新一批的热潮，中药成分、相关生物效应甚或新型、创新型药物的研究成为研究中药的重点内容。但是由于中药本身具有的化学成分较为复杂，各成分的结构、作用机制以及效应等都大不相同，成分与成分之间的效应或会对药物本身的功能以及疗效产生不可避免的影响，研究起来具有一定的挑战性。1985 年版《中国药典》开始收载高效液相色谱法，见于药品检验，但当时的高效液相色谱法仅用于小部分药品的含量检测，至 2015 年版《中国药典》收载的用高效液相色谱法测

定用于药品的鉴别、检查、含量测定的品种、数量都有大幅度的增加 **Error! Reference source not found.**。据

2020 年国家药典，发现其中运用高效液相色谱法运用于中药的占比较高，已经达 66%和 72%**Error! Reference source not found.**。

根据光散射原理进行检测的高效液相色谱法串联蒸发光散射检测器法 (Evaporative Light Scattering Detection, ELSD)，因为其不依赖于待测物如紫外吸收、荧光吸收等化学结构特点以及相对高的灵敏度，检出限低，线性范围广，蒸发光散射器（ELSD）作为一种通用性较强的检测器，对有质量的物质都能检测，所以应用于中药含量测定等实验具有较为实用的价值 **Error! Reference source not found.**。高效液相色谱和蒸发光散射器相结合的先进技术应用在中药上有一定的先进性，通过其分离检测出来的有效成分峰，协助指纹特征图谱进行有效的分析，或将为中药成份的研究、找寻中药材化学的特征以及食品药品安全提供有价值的参考 **Error! Reference source not found.**。

本实验选取耐斯糖和蔗糖作为巴戟天药材的定性定量指标，进行巴戟天含量测定方法的研究，利用高效液相色谱法、蒸发光散射器检测器进行两种寡糖含量的测定分析。该实验方法可以为巴戟天的进一步开发利用提供可靠的提取纯化工艺方案以及分析检测手段，为巴戟天的质量控制提供新途径的同时也为巴戟天中药确定质量标准以及巴戟天中药多指标质量控制提供实验参考。

2 仪器与材料

2.1 仪器

表 2-1 主要仪器

仪器	型号/规格	仪器厂家
高效液相色谱仪	RIGOL L-3000	北京普源精电科技有限公司
色谱柱	ECOSIL 120-5-C18 AQ	北京普源精电科技有限公司
电热恒温水浴锅	DK-98-IIA 双列八孔	天津市泰斯特仪器有限公司
数控超声波清洗器	KQ5200DV 型	昆山市超声仪器有限公司
万分之一天平	ME204TE/02	梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司
百万分之一天平	T-1000	宁波经济技术开发区汉狮仪器有限公司
超纯水系统	Synergy	广州东锐科技有限公司

2.2 试剂

表 2-2 试剂

名称	级别	厂家
甲醇	分析纯	赛孚瑞化邯郸有限公司
纯化水	超纯水	广州东锐科技有限公司

2.3 试药

表 2-3 试药

名称	批号	含量	厂家
耐斯糖	111891-201704	92.2%	中科华检（北京）科技有限公司
蔗糖	111507-202105	99.8%	中科华检（北京）科技有限公司
巴戟天药材	S22302001	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司
巴戟天药材	S22302002	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司
巴戟天药材	S22302003	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司
巴戟天药材	S22302004	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司
巴戟天药材	S22302005	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司
巴戟天药材	S22302006	—	冯了性（佛山）药材饮片有限公司

3 方法与结果

3.1 色谱条件

高效液相色谱仪应用的色谱条件如下，见表 3-1。

表 3-1 色谱条件

色谱条件的选择	
色谱柱	ECOSIL120-5-C18AQ 柱
流动相	甲醇水混合溶液（3：97）
流速	1.0mL/min
柱温	30℃
进样量	10μL
检测器漂移管温度	60℃

3.2 样品及对照品溶液的制备

3.2.1 样品溶液的制备

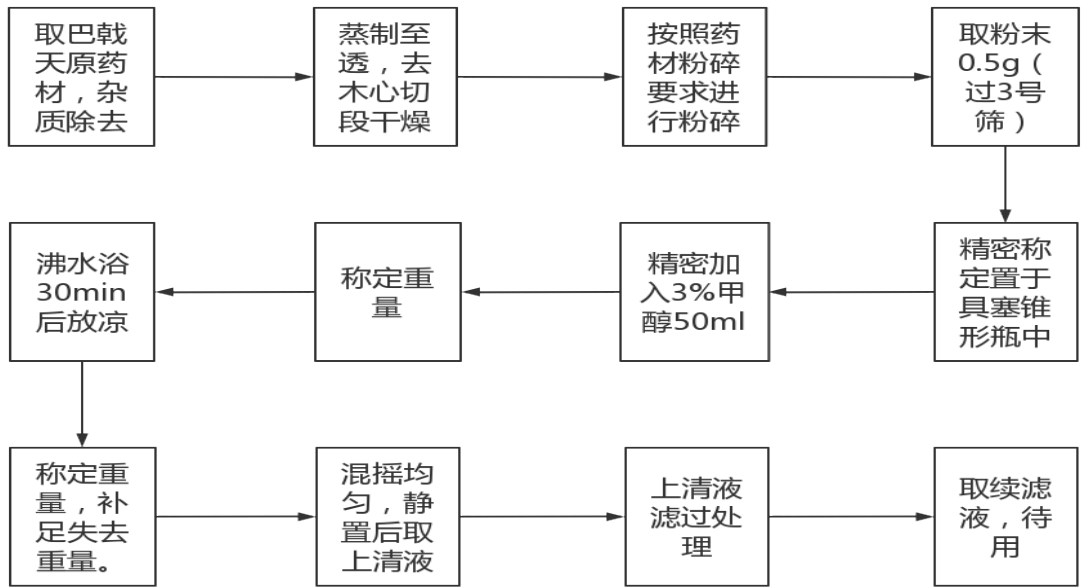


图 3-1 样品溶液制备流程图

3.2.2 对照品溶液的制备

依照实验称量操作准则，精密称取耐斯糖以及蔗糖对照品适量，使用 3%甲醇溶液制备得下列混合对照品储备液。见表 3-2。

表 3-2 混合对照品溶液

混合对照品中含有对照品	对照品浓度（mg/mL）
耐斯糖	0.1997
蔗糖	0.1808

3.3 含量测定

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。

如要下载或阅读全文，请访问：

<https://d.book118.com/488040063142006054>