

液相色谱法检测女贞子中特女贞苷的系统适用性试验

裴波

(安徽皖仪科技股份有限公司, 安徽省合肥市 230088)

摘要: 本案例以甲醇为流动相, 使用 C18 色谱柱进行分离, 使用超高效液相色谱, 利用紫外检测器检测女贞子中特女贞苷。

关键词: 超高效液相色谱法; 检测方法; 特女贞苷

1 实验目的

- 1) 验证 LC3100 在女贞子中特女贞苷检测中的系统适用性
- 2) 验证特女贞苷在药典规定下进样量不同和峰形的关系
- 3) 验证特女贞苷水解后色谱图与未水解之前的变化

2 实验原理

详见《中国药典》2010 版第一部 43 页

3 实验材料、试剂耗材及仪器设备

3.1 实验材料:

特女贞苷标准溶液 (亳州豪门中药饮片厂, 含量约 0.25mg/ml)

3.2 试剂耗材:

十八烷基键合硅胶色谱柱, 甲醇 (色谱纯, 国药), 超纯水 (皖仪纯水机自制)

3.3 仪器设备:

LC3100 高效液相色谱仪 (梯度系统), 超声波脱气机, 超纯水机, 恒温水浴锅

4 实验方法及步骤

4.1 实验方法:

- 1) 根据药典规定的要求做系统适用性方案

液相色谱条件:

色谱柱: Agilent TC-C18(2), 4.6*250mm, 5 μ m,

流动相: 甲醇-水 (40:60)

流速: 1ml/min

检测波长: 224nm

进样量：2-10ul ul

柱温：室温

- 2) 在以上条件下，研究不同的进样量对色谱峰形的影响，并比较色谱峰和进样量的对应关系，找到最适合的进样量。
- 3) 将特女贞苷的对照溶液与高温水浴中水解，色谱图测定水解之后色谱图中反映的组分变化情况。

4.2 实验步骤：

1) 系统性实验

- (1) 按照药典规定的要求配置好仪器和流动相，并将流动相超声脱气 15 分钟
- (2) 连接好仪器，用配置好的流动相平衡色谱柱至极限稳定。
- (3) 待基线稳定后，进样 5ul 特女贞苷标准对照溶液，记录色谱图

2) 进样量和色谱图关系对比

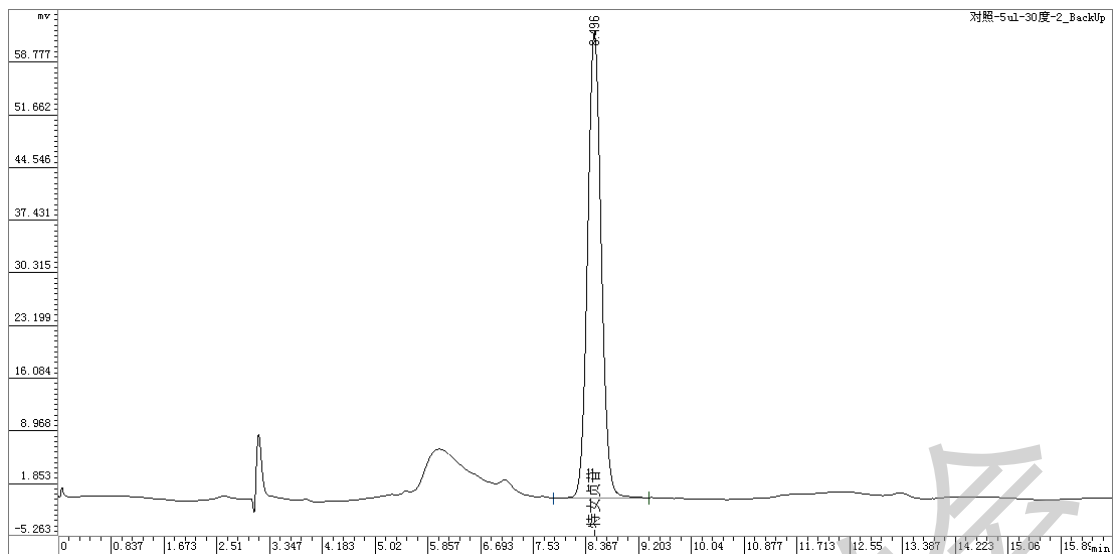
分别进样 2-20ul 不同体积的对照溶液，记录色谱图，比较进样量增大后对色谱峰形的影响。

3) 水解对照品对比试验

- (1) 取一定量的特女贞苷对照品，将其放置于 90 摄氏度的水浴中加热水解 60 分钟后待测。
- (2) 分别取 2、4、6、8、10ul 的水解样品和未水解样品注入液相色谱仪中，采集谱图，比较水解样品和未水解样品在组分上的变化。

5 实验数据

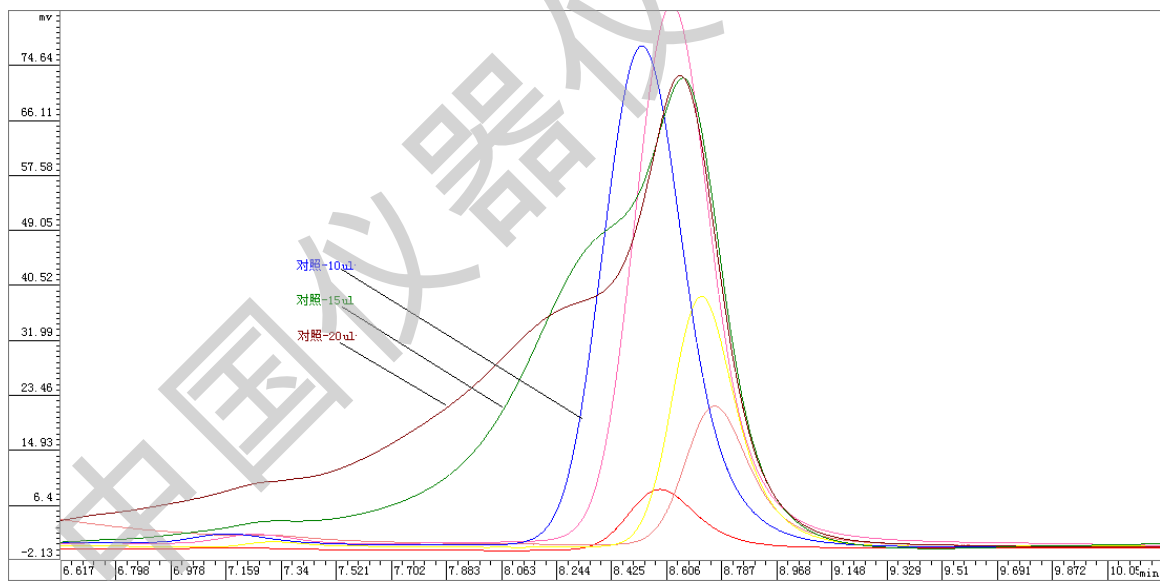
5.1 系统适应性试验谱图



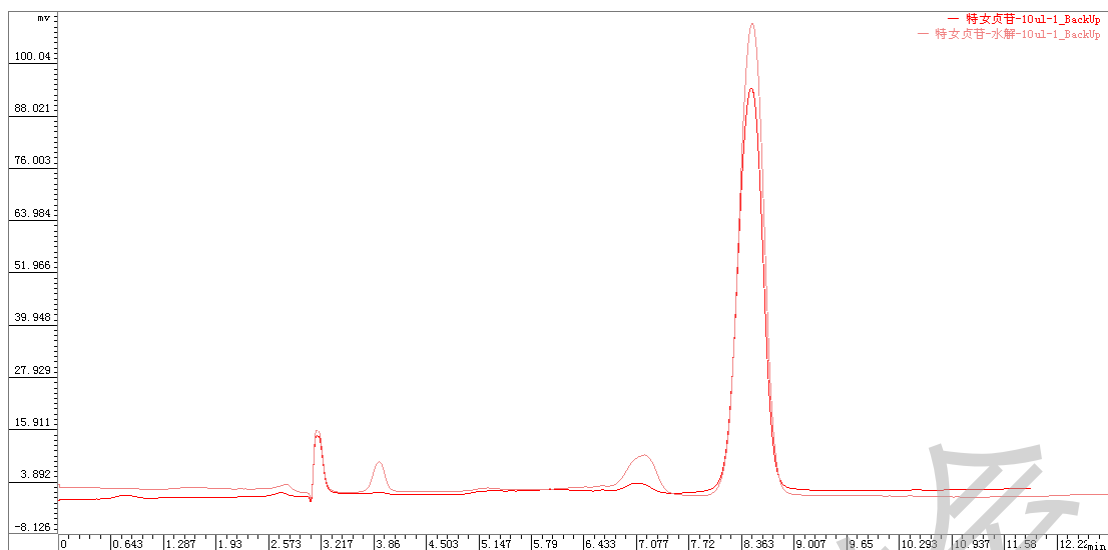
分析结果表

| 时间 | 名称 | 峰面积 | 峰高 | 浓度 | 理论塔板 | 拖尾因子 | 分离度 |
|-----|------|--------|-------|---------|------|-------|-----|
| 8.5 | 特女贞苷 | 946056 | 62749 | 5 | 7182 | 1.073 | 0 |
| 总计: | | 946056 | 62749 | 5.00000 | | | |

5.2 进样量和峰形关系对比



6 水解对照品的实验谱图



7 实验结论及分析

- 1) 根据图（1）我们看到特女贞苷对照品在此条件下峰形良好，柱效较高，基本重现药典的实验方法。
- 2) 根据图（2）我们可以看到，特女贞在 15 和 20ul 进样体积下峰形发生扭曲，10ul 及 10ul 以下峰形较好。
- 3) 如图（3）所示，特女贞苷在经过加热水解之后，在主峰的前面出现两个较高的峰，而主峰相对于为处理过的主峰的峰高有所降低。这说明，样品在加热的条件下发生水解。