

高效液相色谱法测定橙皮苷含量

胡 立 (杭州 310011 杭州民生药业集团公司)

本实验采用梯度洗脱高效液相色谱法,对橙皮苷样品进行分析,能较好地将杂质与橙皮苷分离,并对样品中橙皮苷含量进行测定。

1 实验部分

1.1 仪器与色谱条件

岛津 LC-6A 液相色谱仪,CR-4A 终端处理机, ODS(150mm×4.6mm)色谱柱。检测波长为 280nm,流速为 1.1ml/min,流动相为甲醇:(0.01mol/L)H₃PO₄,在 20min 内,甲醇和 H₃PO₄ 的比例 1:9 变化至 5:5,成梯度洗脱过程。

1.2 试剂

橙皮苷标准品(北京试剂一厂),橙皮苷样品(临海上盘食品厂,共 4 个批号)。甲醇、H₃PO₄、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)均为分析纯。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的制备

精密称取 0.0101g 橙皮苷标准品,溶于 100ml 量瓶中,用 DMF 溶解,并稀释至刻度。分别准确移取 5.00, 10.00, 15.00, 20.00 和 25.00ml 至 100ml 量瓶中,稀释至刻度,使其浓度分别为 5.05, 10.10, 15.15, 20.20 和 25.25μg/ml,得标准曲线方程为: $A = -188.4 + 656.4c$ ($r = 0.9999, n = 5$)。

2.2 回收率的测定

在样品中分别加入不同浓度的标准品,用 2.1 中同样的方法处理后进行测定。结果外加标准品量在 2.5, 5.0 和 7.5μg/ml 的回收率分别为: 98.22 ± 2.1 , 101.1 ± 1.8 和 102.0 ± 2.0 。

2.3 橙皮苷含量测定

称取一定量橙皮苷样品于 100ml 量瓶中,用 DMF 溶解,稀释至刻度,过滤,滤液进行高效液相色谱分析。不计橙皮苷及其它杂质的差别,用外标一点法测定并计算得样品中橙皮苷的含量,外标的浓度为 15.15μg/ml,结果橙皮苷含量分别为: 91.25 ± 1.6 (批号: 980602), 93.21 ± 1.8 (批号: 980812), 96.21 ± 2.0 (批号: 981218), 92.67 ± 1.1 (批号: 981205)。

据文献报导,在橙皮苷中,主要混有异柚苷(Isonaringin),新积属柚苷(didmin)。它们的出峰时间分别为 3.2 和 8.9min,而橙皮苷的出峰时间为 4.5min。

梯度洗脱色谱法应用较为广泛,但存在基线容易飘动的问题,在本实验的洗脱过程中基线能基本保持平稳。实验曾比较了恒组分洗脱,其分离效果没有梯度洗脱为好,主要是异柚苷峰易与主峰重叠。此外,实验对样品进行了过滤,主要是因为样品中存在着少量的不溶物,并进行了回收率实验。