

巴西人参中齐墩果酸的测定 高效液相色谱法

Determination of oleanolic acid in *Pfaffia glomerata*-High performance liquid chromatography

2016 - 12 - 15 发布

2017 - 01 - 15 实施

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂	1
5 仪器与设备	2
6 测定步骤	2
7 计算公式和结果表达	3
8 重复性	3
附录 A（资料性附录） 齐墩果酸标准品和巴西人参样品高效液相色谱图	4

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由广西壮族自治区卫生和计划生育委员会提出。

本标准由广西卫生标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：广西壮族自治区药用植物园。

本标准主要起草人：陈路、蓝鸣生、闫炳雄、黄健。

巴西人参中齐墩果酸的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了高效液相色谱法测定巴西人参(*Pfaffia glomerata* (Spreng.) Pedersen)中齐墩果酸含量的方法。

本标准适用于巴西人参中齐墩果酸的测定。本标准的方法检出限为0.06 mg/g。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

中华人民共和国药典(2015年版)

3 原理

巴西人参干燥后经2%的硫酸水溶液水解处理,甲醇回流提取,提取液经过滤后,浓缩、定容,高效液相色谱—紫外测定,外标法定量。

4 试剂

4.1 一般规定

除另有说明外,本标准所使用试剂均为分析纯,水应符合GB/T 6682中一级水的规定。

4.2 试剂

4.2.1 甲醇:色谱纯。

4.2.2 硫酸。

4.2.3 甲醇。

4.2.4 磷酸:色谱纯。

4.2.5 齐墩果酸标准品:分子式 C₃₀H₄₈O₃、含量≥99%。

4.2.6 2%硫酸水溶液:取2 mL硫酸(4.2.2),加98 mL水,混匀。

4.2.7 0.4%磷酸水溶液:取2 mL磷酸(4.2.4),加498 mL水,混匀。

4.3 标准溶液

4.3.1 齐墩果酸标准储备液:取齐墩果酸标准品50.0 mg(精确至0.01 mg),于50 mL容量瓶中,用甲醇(4.2.1)溶解并定容至刻度,配制成1.0 mg/mL的标准品储备液。

4.3.2 齐墩果酸标准工作液：分别准确吸取 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL、6 mL、7 mL、8 mL 齐墩果酸标准品储备液（4.3.1），用甲醇（4.2.1）稀释并定容至 10 mL，得到浓度分别为 100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、300 $\mu\text{g/mL}$ 、400 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、600 $\mu\text{g/mL}$ 、700 $\mu\text{g/mL}$ 、800 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液。

5 仪器与设备

5.1 液相色谱仪带紫外检测器、进样器，其灵敏度及稳定性符合中华人民共和国药典（2015 年版）的要求。

5.2 液相色谱工作站色谱数据处理机。

5.3 烘箱。

5.4 水浴锅。

5.5 分析天平：感量 0.1 mg。

5.6 电热套。

5.7 粉碎机。

5.8 滤膜：孔径 0.45 μm ，有机系。

5.9 分样筛：三号筛，筛孔内径 355 μm 。

6 测定步骤

6.1 样品的制备

取经粉碎过三号筛后的样品粉末 10 g（精确至 0.1 mg），置于 250 mL 圆底烧瓶内，加入 2% 硫酸水溶液（4.2.6）100 mL，电热套加热回流提取 3 h，冷却到室温，滤纸过滤，滤纸及不溶物用蒸馏水洗到中性，滤液弃去，滤纸及不溶物放入烘箱烘干后用甲醇（4.2.3）回流提取 3 次，每次 50 mL，各提取 50 min，合并每次提取液，水浴蒸干后用甲醇（4.2.1）溶解并定容至 100 mL 量瓶中，摇匀，滤纸过滤，即得待测样品。用 0.45 μm 微孔滤膜过滤，上高效液相色谱仪测定。

6.2 液相色谱参考条件

色谱参考条件如下：

——色谱柱： C_{18} （4.6 mm×250 mm，5 μm ），或性能相当的色谱柱；

——柱温：室温；

——流动相：流动相 A：甲醇，流动相 B：0.4% 磷酸水溶液（4.2.7），A：B（V：V）= 88：12；

——进样量：20 μL ；

——流动相流速：1.0 mL/min；

——检测波长：220 nm；

——检测灵敏度：1 AUFS；

——齐墩果酸理论塔板数： ≥ 5000 。

6.3 测定

外标峰面积法定量。分别吸取等体积的齐墩果酸标准品溶液和样品溶液进行分析，测定色谱峰面积，以系列浓度梯度的标准品溶液的浓度与相应的峰面积绘制标准曲线，样品溶液中齐墩果酸峰面积应在仪器检测的线性范围之内，计算样品含量可采用单点计算或工作曲线法计算。在 6.2 色谱条件下，标准品溶液和试样溶液的高效液相色谱图参见附录 A。

7 计算公式和结果表达

7.1 计算公式

试样中馥芳香艾纳素的质量含量 X (%)，按式(1)计算：

$$X = \frac{A_s \times V \times c \times 100}{A_{sd} \times m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

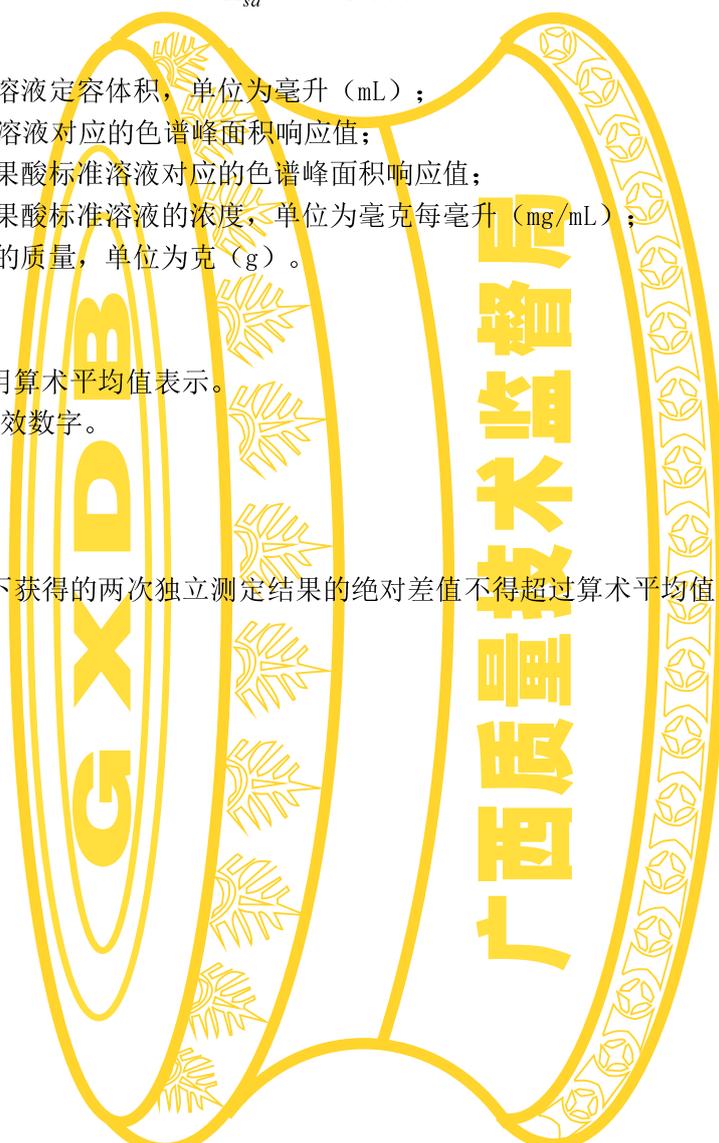
- V —— 样品溶液定容体积，单位为毫升（mL）；
- A_s —— 样品溶液对应的色谱峰面积响应值；
- A_{sd} —— 齐墩果酸标准溶液对应的色谱峰面积响应值；
- c —— 齐墩果酸标准溶液的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；
- m —— 样品的质量，单位为克（g）。

7.2 结果表达

平行测定结果用算术平均值表示。
结果保留3位有效数字。

8 重复性

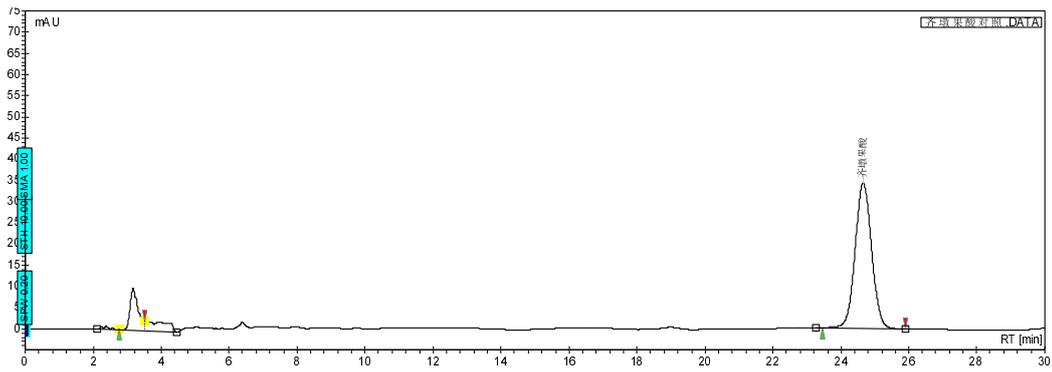
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的5%。



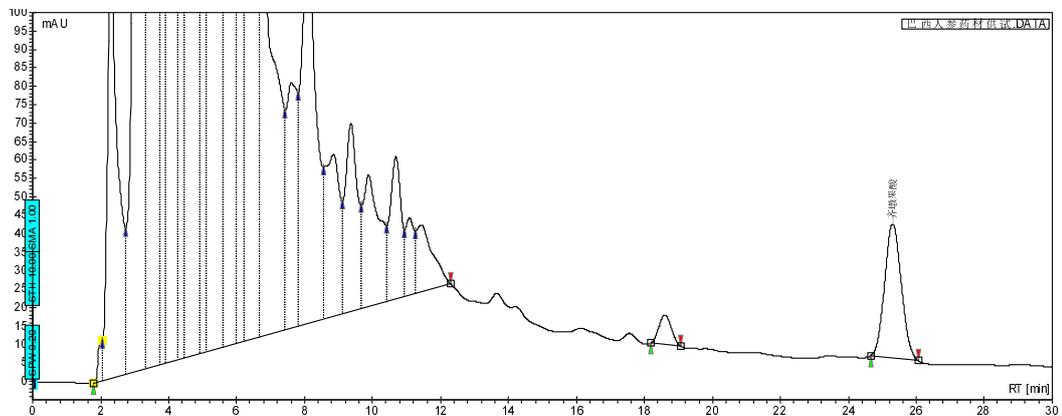
附录 A
(资料性附录)

齐墩果酸标准品和巴西人参样品高效液相色谱图

齐墩果酸标准品和巴西人参样品高效液相色谱图分别见图A.1、图A.2。



图A.1 齐墩果酸标准品高效液相色谱图



图A.2 巴西人参样品高效液相色谱图

中华人民共和国广西地方标准
巴西人参中齐墩果酸的测定高效液相色谱法
DB45/T 1429—2016
广西壮族自治区质量技术监督局统一印刷
版权专有 侵权必究