

## 高效液相色谱法测定铁皮石斛中的甘露糖

铁皮石斛为兰科植物铁皮石斛 *Dendrobiumofficinale* Kimura et Migo 的干燥茎，具有益胃生津，滋阴清热之功效，因其特殊的生存环境和卓越的滋补功效名列“中华九大仙草”之首。由于石斛药材在化学成分和结构组织上具有一定相似性，使鉴定和质量评价工作较困难。目前常用的方法之一是高效液相色谱法，《中国药典》2015 第一部规定：供试品色谱中，甘露糖与葡萄糖的峰面积比应为（2.4~8.0）；所采用高效液相色谱的理论塔板数按甘露糖峰计算应不低于 4000；按干燥品计算，含甘露糖（CHO）应为（13.0~38.0）%。本文采用北京东西分析仪器有限公司的 LC-5510 型高效液相色谱仪按照《中国药典》2015 第一部所提供的方法对铁皮石斛中的甘露糖含量进行检测。

### 1 材料与方法

#### 1.1 主要材料与试剂

甘露糖对照品：中国药品生物检定所；

葡萄糖对照品：中国药品生物检定所；

盐酸氨基葡萄糖：贵州迪大科技有限责任公司；

PMP（1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮）（分析纯）；

甲醇（优级纯）；

氢氧化钠（分析纯）；

盐酸（优级纯）；

三氯甲烷（分析纯）；

乙醇（优级纯）；

乙腈（色谱纯）；

乙酸铵（优级纯）

#### 1.2 主要仪器与设备

北京东西分析仪器有限公司 LC-5510 高效液相色谱仪（配有紫外检测器）及在线脱气机、离心机、索氏提取器、水浴锅、超声清洗器等。

#### 1.3 试验条件

##### 1.3.1 色谱条件

色谱柱：EWA C18-2 柱

缓冲液：0.02mol/L 乙酸铵溶液

流动相：乙腈：缓冲液=20：80

流速：1.0ml/min；进样量 20 $\mu$ L；柱温：室温；检测波长：250nm

### 1.3.2 校正因子计算

取盐酸氨基葡萄糖适量，配置成 1ml 含 12mg 的溶液，作为内标溶液。另取甘露糖对照品置于容量瓶中，加入内标溶液，加水适量使溶解并稀释至刻度，摇匀，吸取 400 $\mu$ l，加入 PMP (1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮) 甲醇溶液与氢氧化钠溶液各 400 $\mu$ l，混匀，加热水浴反应。再加盐酸溶液混匀，用三氯甲烷洗涤，弃去三氯甲烷液，水层离心后，取上清液 10 $\mu$ l，注入液相色谱仪，测定，计算校正因子。

### 1.3.3 样品制备与测定

取本品粉末 0.1219g，置索氏提取器中，乙醇加热回流提取，弃去乙醇液，药渣挥干乙醇，滤纸筒拆开置于烧杯中，加水再加入内标溶液，搅拌下煎煮小时，室温加水、混匀，离心，吸取上清液适量置顶空瓶中，加盐酸溶液、封口，混匀、水解、放冷，用氢氧化钠溶液调节 pH 值至中性，取上清液注入液相色谱仪，测定，即得。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱图及甘露糖含量

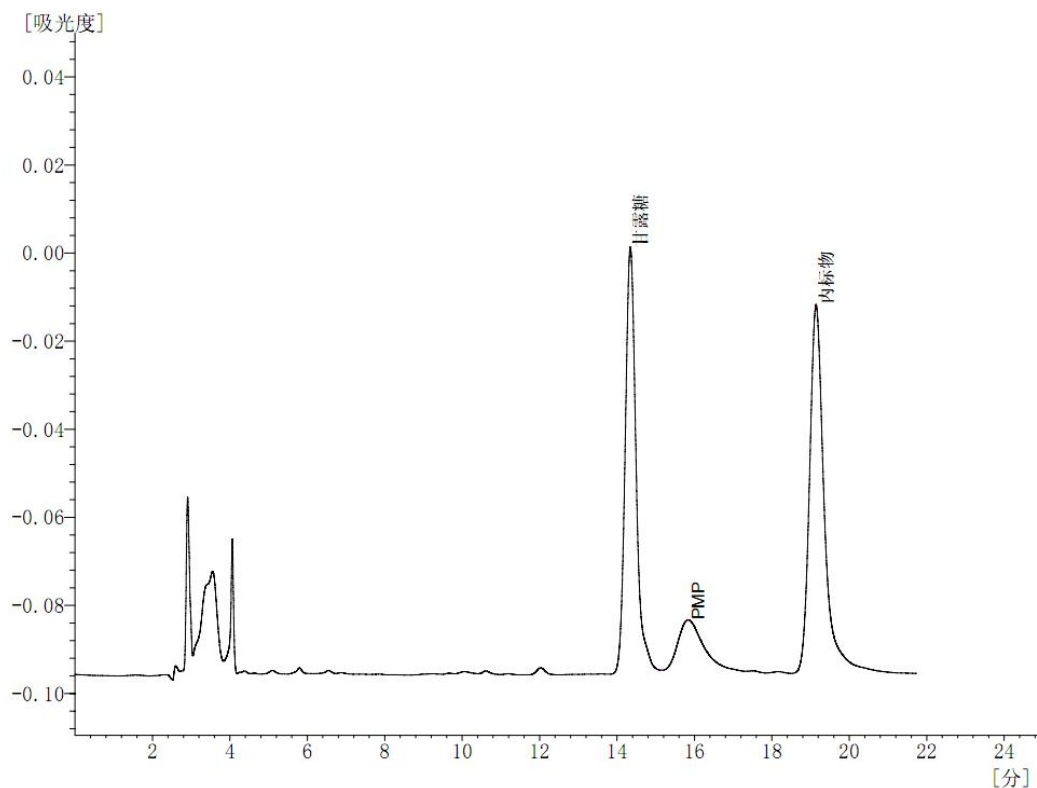


图 1 甘露糖对照品谱图

对谱图进行积分，输入内标物含量及甘露糖含量，由 LC5510 操作软件直接获取校正

因子见下表:

| 组分名    | 保留时间  | 峰面积     | 峰高    | 浓度 (mg/ml) | 校正因子   |
|--------|-------|---------|-------|------------|--------|
| 甘露糖对照品 | 14.34 | 932946  | 48310 | 0.098      | 0.5944 |
| PMP    | 15.84 | 257741  | 5741  |            |        |
| 内标物    | 19.14 | 1118490 | 41883 | 0.12       |        |

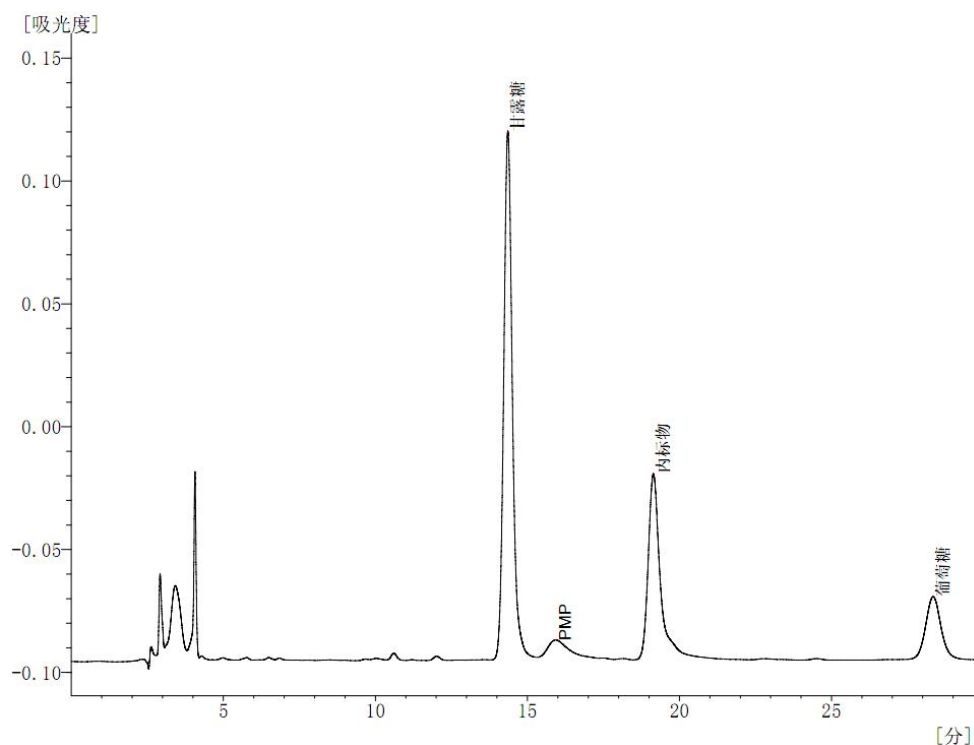


图 2 铁皮石斛样品谱图

对谱图进行积分，输入内标物含量及甘露糖含量，由 LC5510 操作软件直接获取甘露糖浓度见下表:

| 组分名 | 保留时间  | 峰面积     | 峰高     | 理论塔板数 | 浓度 (mg/ml) |
|-----|-------|---------|--------|-------|------------|
| 甘露糖 | 14.36 | 2098964 | 107425 | 13378 | 0.2268     |
| PMP | 15.92 | 162863  | 3545   |       |            |
| 内标物 | 19.14 | 1087723 | 37885  |       | 0.12       |
| 葡萄糖 | 28.34 | 434464  | 12686  |       |            |

经计算该铁皮石斛样品中甘露糖的含量为 18.61% ,符合《中国药典》2015 第一部“按干燥品计算,含甘露糖(CHO)应为(13.0~38.0)%”的要求。

### 3 结论

高效液相色谱法以其较高的灵敏度与优异的重复性在制药行业被越来越多的使用。利用 LC5510 高效液相色谱仪分析铁皮石斛中甘露糖,谱图基线漂移小,色谱峰峰型良好,理论塔板数按甘露糖峰计算为 13378 完全符合《中国药典》2015 第一部要求,体现出 LC5510 高效液相色谱仪作为分析复杂样品有力工具的优越性。