

龙眼肉配方颗粒特征图谱分析及其糖类含量测定

LC-315

摘要： 本文使用岛津高效液相色谱仪建立了龙眼肉配方颗粒的特征图谱及其糖类含量测定的分析方法。龙眼肉配方颗粒特征图谱分析结果表明，色谱方法系统适应性和专属性良好。糖类含量测定结果表明，0.797~51.000 mg/mL（以果糖浓度计）范围内，三种糖类线性相关系数均大于 0.999；三种糖类混合工作溶液重复性保留时间 RSD% 为 0.11~0.15%，峰面积 RSD% 为 3.08~5.43%；方法回收率在 106.7~116.9% 之间。该方法准确可靠，可用于实际样品的检测。

关键词： 龙眼肉配方颗粒 特征图谱 含量测定 国家药品标准

龙眼肉作为滋补药品及保健食品，已有 1000 多年的应用历史，历版《中国药典》均有收载。龙眼肉性温、味甘，具有补益心脾、养血安神之功效。中药配方颗粒是中药汤剂的现代化产品，其在中医药理论指导下按照中医开具的临床处方调配，依照调配剂量冲服给患者使用，并且需要保证中药配方颗粒冲泡后的临床疗效应当和相应饮片煎煮中药汤剂保持一致。将其制备成中药配方颗粒相比传统中药饮片，可以免去临用前煎煮的麻烦，大大节省时间精力。

现行《中国药典》对龙眼肉的质控指标只有性状

与显微鉴别项目，缺乏内在质量的控制指标，对市场掺伪现象等难以控制。因此，有必要对其活性成分、作用机理及质控方法进行更深入的研究。目前，国家药典委员会对中药配方颗粒的质量检测标准进行拟修订，旨在全国性规范统一，其对中药市场的长远发展具有深远意义。

本实验使用岛津高效液相色谱仪建立龙眼肉配方颗粒的特征图谱及其糖类含量测定的分析方法，该项目已申报中药配方颗粒的国家药品标准。

■ 实验部分

1.1 仪器

龙眼肉配方颗粒特征图谱分析使用岛津 LC-20A 高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-20A
柱温箱：	CTO-20A	输液泵：	LC-20AT ×2
柱温箱：	DGU-20A5	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.109
脱气机：	SPD-M20A		

龙眼肉配方颗粒含量测定使用岛津 Nexera LC-40 系列高效液相色谱仪，配置信息如下：

系统控制器：	SCL-40	自动进样器：	SIL-40C XR
柱温箱：	CTO-40C	输液泵：	LC-40D XR ×2
脱气机：	DGU-405	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.109
检测器：	ELSD-LT III		

■ 样品前处理

2.1 特征图谱分析样品前处理

参照物溶液制备：取龙眼肉对照药材粉末约 1 g，置具塞锥形瓶中，加水 20 mL，加热回流 45 分钟，滤过，滤液蒸干，放冷，残渣精密加入甲醇 20 mL，密塞，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）45 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。取 5-羟甲基糠醛对照品适量，精密称定，加甲醇制成每 1 mL 各含 200 μg 的溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备：取本品约 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入甲醇 10 mL，密塞，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）45 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

2.2 含量测定样品前处理

对照品溶液的制备：取果糖、葡萄糖、蔗糖对照品适量，精密称定，加乙腈-水（1:1）制成每 1 mL 含 300.0 μg 的溶液，即得。

供试品溶液的制备：取本品约 0.1 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入乙腈-水（1:1）溶液 50 mL，密塞，称定重量，超声处理（功率 250 W，频率 40 kHz）30 分钟，放冷，再称定重量，用乙腈-水（1:1）溶液补足减失的重量，摇匀，滤过，取续滤液，即得。

■ 结果与讨论

3.1 龙眼肉配方颗粒特征图谱分析结果

3.1.1 系统适用性

取 2.1 中的供试品溶液和对照品溶液，按表 1~2 分析条件进行分析，验证龙眼肉饮片标准汤剂的色谱条件和系统适用性是否适用于龙眼肉配方颗粒，并考察龙眼肉配方颗粒阴性样品是否会造成干扰，色谱图如图 1~2 所示，结果见表 3。结果表明，空白对照对特征图谱无干扰，色谱方法系统适用性和专属性良好，可以作为龙眼肉配方颗粒特征图谱的检测方法（本方法规定理论板数按 5-羟甲基糠醛峰计算应不低于 2500）。

表 1 龙眼肉配方颗粒特征图谱分析条件

仪器	LC-20A
色谱柱	Ultimate AQ-C18 (250 mm×4.6 mm I.D., 5.0 μm)
流动相	A相-0.5%甲酸水；B相-甲醇
流速	1.0 mL/min
柱温	35°C
检测波长	PDA (285 nm)
进样体积	10 μL
洗脱方式	梯度洗脱，B相起始浓度为2%，时间程序见表2

表 2 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
10.00	泵	B Conc	2
20.00	泵	B Conc	10
35.00	泵	B Conc	15
40.00	泵	B Conc	20

55.00	泵	B Conc	40
57.00	泵	B Conc	90
60.00	泵	B Conc	90
62.00	泵	B Conc	2
72.00	控制器	Stop	

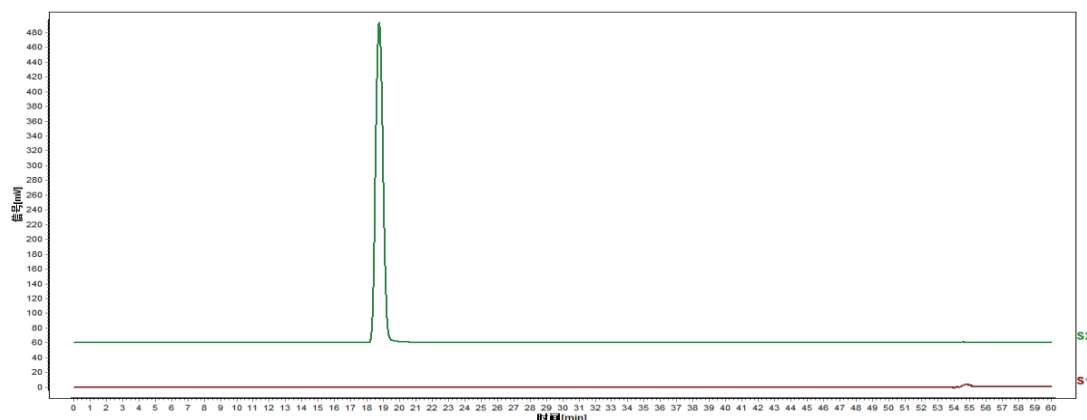


图 1 专属性试验色谱图 (中药色谱指纹图谱相似度评价系统)
(S1: 空白对照图谱; S2: 5-羟甲基糠醛对照品溶液图谱)

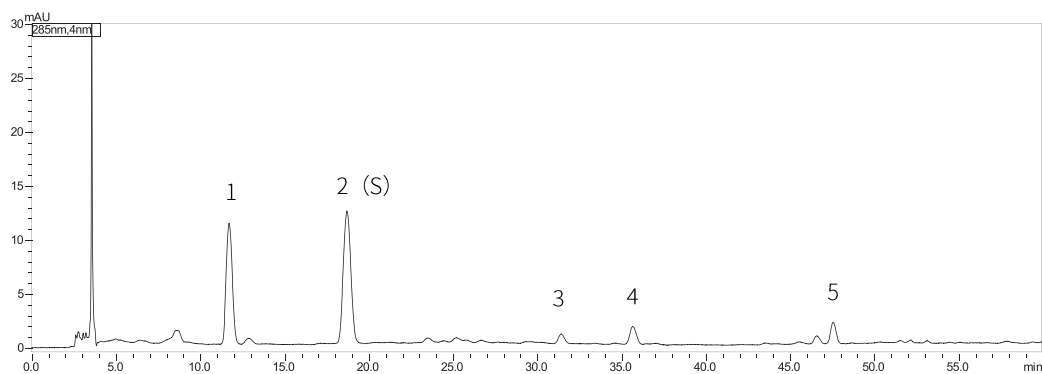


图 2 供试品溶液色谱图 (峰 2 (S) : 5-羟甲基糠醛)

表 3 系统适用性参数

类型	特征峰 No.	保留时间 (min)	峰面积	高度	拖尾因子	分离度	理论板数
对照品溶液	5-羟甲基糠醛	18.760	13697800	433779	1.091	28.733	7949
	1	11.842	360617	14399	1.073	4.540	5043
供试品溶液	2 (S)	18.923	12000	355	1.257	9.158	7409
	3	31.502	31522	1377	1.034	7.921	41592
	4	35.735	68460	2601	1.070	1.525	40517
	5	47.598	39286	1801	1.044	1.588	106485

3.1.2 精密度

取 2.1 制得的供试品溶液，按 3.1.1 中的分析条件，重复进样 6 次，测定 5 个特征峰的保留时间和峰面积并进行分析，结果见表 4~5。结果表明，各特征峰与参照物 S 峰 (2 号峰) 的相对保留时间 RSD% 为 0.07~0.37%，各特征峰与参照物 S 峰 (2 号峰) 的相对峰面积的 RSD% 为 0.44~2.55%，仪器精密度良好。

表 4 精密度试验结果 (n=6)

特征峰 No.	保留时间 (min)	相对保留时间	相对保留时间 RSD%(n=6)	峰面积	相对峰面积	相对峰面积 RSD%(n=6)
1	11.887	0.63	0.07	339274	0.75	0.44
2 (S)	18.948	/	/	449547	/	/
3	31.615	1.67	0.27	22628	0.05	2.55
4	35.921	1.9	0.29	49880	0.11	0.54
5	47.749	2.52	0.37	60360	0.13	1.30

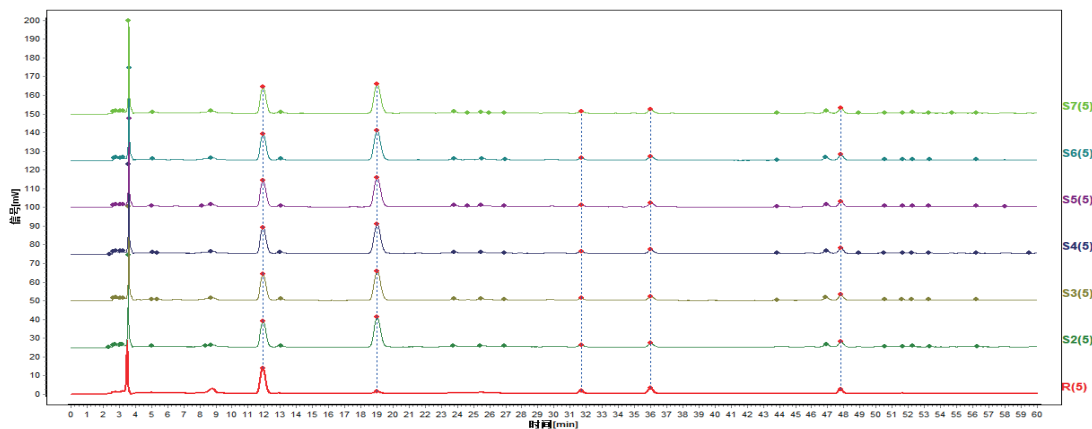


图 3 精密度试验色谱图 (中药色谱指纹图谱相似度评价系统)

(R: 龙眼肉饮片标准汤剂对照图谱; S2~S7: 龙眼肉配方颗粒供试品溶液图谱)

3.1.3 样品测定

取 3 批龙眼肉配方颗粒样品，按 2.1 分别制得供试品溶液，按 3.1.1 中的分析条件进行测定。结果表明，3 批龙眼肉配方颗粒样品的各特征峰规定的相对保留时间均在规定的允差范围 ($\pm 10\%$) 以内。

表 5 3 批龙眼肉配方颗粒样品相对保留时间结果

特征峰 No.	样品 1	样品 2	样品 3	相对保留时间允差范围 ($\pm 10\%$)
1	0.63	0.63	0.63	0.56-0.69
2 (S)	/	/	/	/
3	1.68	1.68	1.68	1.51-1.85
4	1.91	1.91	1.91	1.72-2.10
5	2.54	2.54	2.54	2.29-2.80

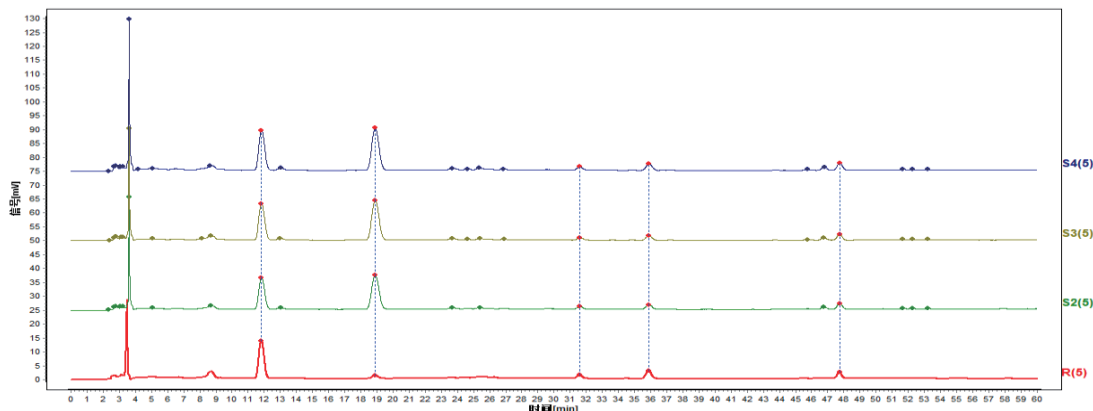


图 4 3 批龙眼肉配方颗粒样品色谱图（中药色谱指纹图谱相似度评价系统）
（R 龙眼肉饮片标准汤剂对照特征图谱；S2-S4 3 批龙眼肉配方颗粒特征图谱）

3.2 龙眼肉配方颗粒含量测定结果

3.2.1 系统适用性

取 2.2 中的对照品溶液和供试品溶液，按表 6 分析条件进行分析，色谱图见图 5~6，系统适用性结果见表 7。结果表明，对照品溶液和供试品溶液色谱图基线平稳，对照品色谱峰峰面积，峰形，分离度，拖尾因子，理论塔板数合适，且对照品溶液目标峰位置无干扰，可以作为龙眼肉配方颗粒含量测定的分析条件。

表 6 龙眼肉配方颗粒含量测定分析条件

仪器	LC-40 (Nexera XR)
色谱柱	Inertsil NH ₂ (250 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)
流动相	A相-水; B相-乙腈
流速	1.0 mL/min
柱温	35°C
进样体积	10 μL
ELSD条件	Gain = Wide, T = 40°C, Filter = 4 s, P = 250 kPa
洗脱方式	等度洗脱, B相浓度为80%

表 7 龙眼肉配方颗粒含量测定系统适用性结果

类型	化合物名称	保留时间 (min)	峰面积	峰高	拖尾因子	分离度	理论塔板数
对照品	果糖	9.415	36049151	3019121	1.048	18.273	13606
	葡萄糖	10.869	32192852	1717568	0.958	3.584	7927
	蔗糖	16.477	21259314	963241	0.948	10.484	12844
供试品	果糖	9.356	23616782	1799283	1.037	17.035	11099
	葡萄糖	10.725	18232657	1041715	0.945	3.229	7577
	蔗糖	16.154	29556932	1455863	0.934	10.718	15436

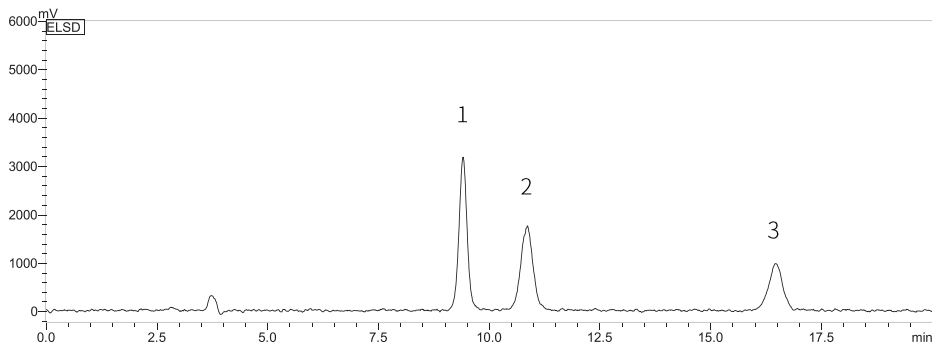


图 5 300 µg/mL 混合对照品溶液色谱图 (峰 1: 果糖, 峰 2: 葡萄糖, 峰 3: 蔗糖)

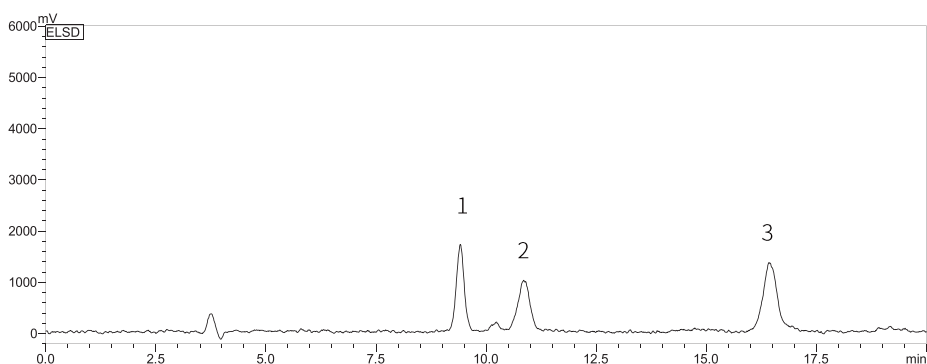


图 6 供试品溶液图谱 (峰 1: 果糖, 峰 2: 葡萄糖, 峰 3: 蔗糖)

3.2.2 线性

按 2.2 中的对照品溶液制备方式, 用乙腈 - 水 (1: 1) 分别制成以果糖浓度计 0.797~51.000 mg/mL 的混合标准工作溶液, 按照 3.2.1 中的分析条件进行测定。以浓度对数为横坐标, 峰面积对数为纵坐标, 进行线性回归分析。结果表明, 果糖、葡萄糖、蔗糖线性良好, 线性相关系数均大于 0.999, 具体结果见表 8。

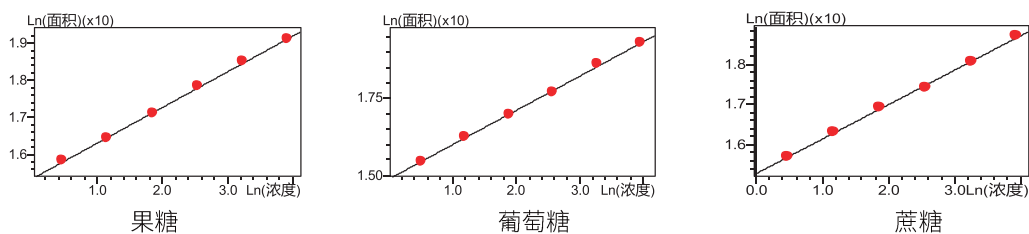


图 7 果糖、葡萄糖、蔗糖校准曲线

表 8 果糖、葡萄糖、蔗糖标准曲线结果

化合物名称	线性范围 (µg/mL)	回归方程	相关系数 (r)	准确度 (%)	检测限 LOD (µg/mL)	定量限 LOQ (µg/mL)
果糖	0.797-51.000	$Y = X^{0.956984} \times \text{EXP}(15.3474)$	0.9996	90.9-111.4	0.101	0.343
葡萄糖	0.828-52.992	$Y = X^{1.09086} \times \text{EXP}(14.9088)$	0.9997	90.8-110.9	0.232	0.750
蔗糖	1.628-52.070	$Y = X^{0.852364} \times \text{EXP}(15.2865)$	0.9996	88.5-111.2	0.152	0.503

3.2.3 精密度

取混合标准工作溶液（以果糖浓度计为 4.775 mg/mL）按照 3.2.1 分析条件连续进样 6 次，考察仪器精密度。结果如表 9，果糖、葡萄糖、蔗糖保留时间 RSD% 为 0.11~0.15%，峰面积 RSD% 为 3.08~5.43%，仪器精密度良好。

表 9 精密度试验结果 (n=6)

化合物名称	保留时间 (min)	峰面积 (mV)
果糖	0.11	5.41
葡萄糖	0.11	5.43
蔗糖	0.15	3.08

3.2.4 样品测定

取 3 批龙眼肉配方颗粒样品，按 2.2 制得供试品溶液，按 3.2.1 中的分析条件进行测定，含量测定结果见表 10。3 批龙眼肉颗粒样品果糖含量为 6.669~9.338%，RSD% 为 1.13~1.53%；葡萄糖含量为 5.134~8.159%，RSD% 为 0.69~1.53%；蔗糖含量为 12.522~15.004%，RSD% 为 0.98~1.11%。

表 10 供试品溶液测试结果 (n=3)

化合物名称	样品 1		样品 2		样品 3	
	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)	含量 (%)	RSD (%)
果糖	8.446	1.52	6.669	1.53	9.338	1.13
葡萄糖	8.159	1.53	5.134	0.69	7.689	0.70
蔗糖	15.004	1.11	12.522	1.10	13.428	0.98

3.2.5 加样回收率

取同一批号、同一浓度的 9 份样品，分别精密加入混合对照品溶液，配制成低、中、高浓度的加样回收率溶液，按 2.2 中供试品溶液的制备进行样品前处理，使用随行样品含量计算回收率，回收率测定结果见表 11。果糖回收率为 106.7~115.2%；葡萄糖回收率为 107.8~116.9%；蔗糖回收率为 111.3~115.7%，表明方法准确性良好。

表 11 回收率测定结果 (n=3)

化合物名称	低浓度	中浓度	高浓度
果糖	106.7	113.5	115.2
葡萄糖	107.8	109.6	116.9
蔗糖	115.7	111.3	115.5

■ 结论

本文使用岛津高效液相色谱仪建立了龙眼肉配方颗粒的特征图谱及其糖类含量测定的分析方法。龙眼肉配方颗粒特征图谱及含量测定结果表明，系统适应性和专属性良好，线性、精密度、回收率结果良好，该方法为制药药检相关行业对药品质量控制和分析的检验检测工作提供了参考。

岛津应用云

