

附錄 IV (B) 色譜法 — 高效液相色譜法 / 超高效液相色譜法

高效液相色譜法 / 超高效液相色譜法是由固體固定相及液體流動相組成的分離技術。供試品經進樣閥注入，由流動相帶入柱內，各成份被固定相分離，依次通過檢測器，記錄色譜圖。

- (1) **供試品的製備** — 測定前，將藥材樣品粉碎，通過二號篩。供粉碎的樣品量應為測定量的五倍以上。
- (2) **儀器的一般要求** — 按各藥材品種項下的規定，選擇固定相和流動相。十八烷基鍵合硅膠為其中一種最常用的填充劑。離子交換填充劑，用於離子交換色譜法。多孔硅膠或高分子微球填充劑，用於分子排阻色譜法。色譜柱溫度常為室溫，常用檢測器為紫外吸收檢測器。

各藥材品種項下規定的固定相種類及流動相組分、檢測器類型，均不應改變。必要時，其餘條件可適當改變，以符合系統適用性試驗的要求。

- (3) **系統適用性試驗** — 是指按各藥材品種項下有系統適用性的規定，對儀器進行適用性試驗，用規定的化學對照品對儀器進行調整，以適應該藥材項下規定的參數要求，如色譜柱的理論塔板數 (n)、重複性、分離度 (R) 和拖尾因子 (T)。

- (a) **理論塔板數 (n)** — 理論塔板數用於衡量色譜柱的效能。其值應不低於各藥材品種項下的規定。按下列公式計算理論塔板數：

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{W_{h/2}} \right)^2$$

式中 t_R = 對照品溶液指標成份峰或供試品溶液待測峰的保留時間；
 $W_{h/2}$ = 對照品溶液指標成份峰或供試品溶液待測峰二分之一峰高處的峰寬。

- (b) **重複性** — 重複性是指取對照品溶液，至少重複進樣5次，計算峰面積及保留時間的相對標準偏差，應符合各藥材品種項下規定。
- (c) **分離度 (R)** — 為保證定量分析準確，除另有規定外，待測峰與鄰近峰的分離度 (圖1) 應大於1.5。按下列公式計算分離度：

$$R = \frac{2(t_{R2} - t_{R1})}{W_1 + W_2}$$

式中 t_{R1} 及 t_{R2} = 各為相鄰二峰 (峰1及峰2) 的保留時間；
 W_1 及 W_2 = 各為相鄰二峰 (峰1及峰2) 的峰寬。

- (d) **拖尾因子 (T)** — 測量時，尤其當採用峰高法，須檢查待測峰的拖尾因子 (圖2)。該數值亦應符合各藥材品種項下的規定。按下列公式計算拖尾因子：

$$T = \frac{W_{0.05h}}{2d_1}$$

式中 $W_{0.05h}$ = 0.05 峰高處的峰寬；
 d_1 = 峰頂垂直綫至 0.05 峰高處前沿之間的距離。

- (4) **定量操作程序** — 參照儀器說明書的操作說明，裝配液相色譜儀器。按規定的液相色譜條件，注入適量系列濃度的對照品溶液，繪製標準曲綫，進行分析。在相同色譜條件下，與對照品溶液的保留時間比較，鑒定供試品溶液色譜中的待測成份。或者，在供試品溶液中加入適量對照品，進行分析，以確證供試品溶液中的待測峰。

用化學對照品的峰面積與標準溶液中相應濃度 (mg/L) 作圖，繪製 5 點標準曲綫，得斜率、截距、回歸方程及相關系數。按下列公式計算供試品溶液中待測成份的濃度：

二極管陣列檢測器

$$\text{待測成份濃度} = \frac{A - I}{m}$$

式中 A = 供試品溶液中待測成份峰面積；
 I = 5 點標準曲綫的截距；
 m = 5 點標準曲綫的斜率。

蒸發光散射檢測器

$$\text{待測成份濃度} = e^{[\ln(A)-I]/m}$$

式中 A = 供試品溶液中待測成份峰面積；
 I = 5 點標準曲綫的截距；
 m = 5 點標準曲綫的斜率。

按下列公式計算樣品中待測成份的百分含量：

$$\text{待測成份百分含量 (\%)} = \frac{C \times V \times D}{10000 W}$$

式中 C = 供試品溶液中待測成份的濃度 (mg/L)；
 D = 溶液稀釋因子；
 V = 供試品溶液最後製成體積 (mL)；
 W = 用以製備供試品溶液的樣品量 (g)。

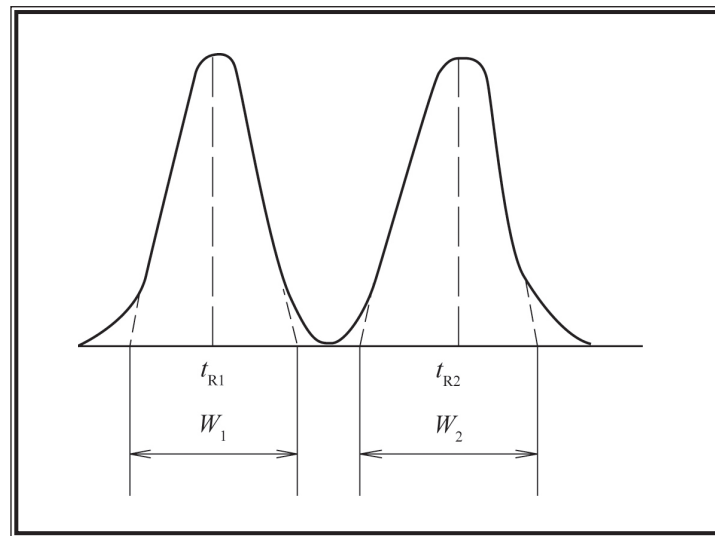


圖1 計算分離度 (R) 參數示意圖

Tamaricis Cacumen
西河柳

大血藤
Sargentodoxae Caulis

紅早蓮
Hyperici Ascyri Herba

Deinagkistrodon (Agkistrodon)
蕘蛇

Fici Pumilae Receptaculum
廣東王不留行

紫萁貫眾
Osmundae Rhizoma

野老鸛草
Geranii Caroliniani Herba

Polygonati Rhizoma
黃精

巴豆(生)
Crotonis Fructus (unprocessed)

Valerianae Radix et Rhizoma
纈草

Impatientis Caulis
鳳仙透骨草

Catharanthi Rosei Herba
長春花

附錄 IV (B) 色譜法 — 高效液相色譜法 / 超高效液相色譜法

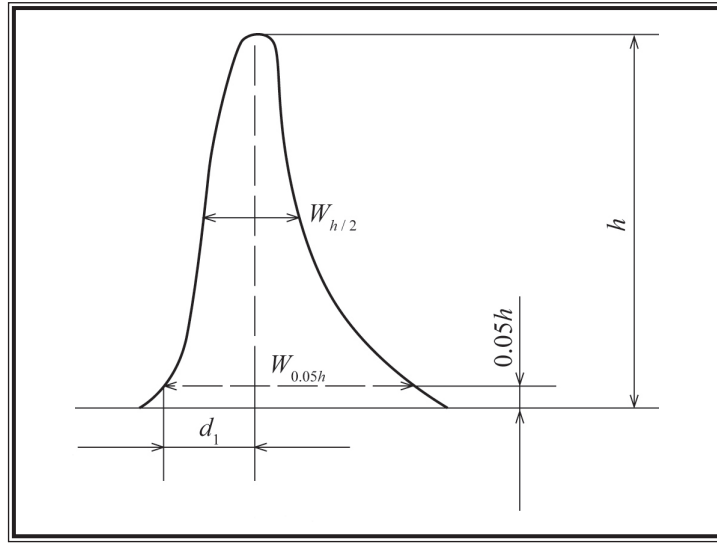


圖 2 計算拖尾因子 (T) 參數示意圖