

高效液相色谱法测定冰茶栓中的咖啡因

黄百芬,铁晓威,任一平

(浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310009)

摘要:本文叙述了应用 HPLC 法对戒毒新药冰茶栓中咖啡因含量的测定方法,样品经 1:1 的乙醚-石油醚溶化,用 1:1 的甲醇水溶液提取,用 20 mmol/L 醋酸铵缓冲液和甲醇(80:20)作为流动相,经 ODS-C₁₈柱分离,紫外 270 nm 检测,加标平均回收率为 98.22%,相对标准偏差(CV)日内为 0.30%,日间为 0.97%,最低检出浓度为 25 μg/L,最低定量浓度为 100 μg/L,线性范围为 10 μg/mL—250 μg/mL,相关系数为 0.9999。

关键词:高效液相色谱法;冰茶栓;咖啡因

中图分类号:O658

文献标识号:A

文章编号:1671-8798(2003)S0-0079-03

目前,常用的咖啡因含量测定方法有紫外分光光度法^[2]、高效液相色谱法^[1,2,3]等。紫外分光光度法虽然简便、快速,但当样品中含有 270 nm 附近具有紫外吸收的杂质时,可产生较大的误差,使结果偏高;用高效液相色谱法测定各种饮料中的咖啡因已有许多报道,但冰茶栓作为一种新药,测定其中的咖啡因还未见报道。

冰茶栓为一种具有戒毒效果的复方栓剂,内含桂皮醛、咖啡因、冰片和微量蛇毒蛋白,本栓剂的填充剂为单甘酯,占总量的 90% 以上,而咖啡因只占总量的 6%。本文的关键在于试样的前处理方法,要找到一种既能完全提取试样中的咖啡因,又能去除试样中的其他组分的方法。由于单甘酯不溶于水、甲醇、乙腈等强极性溶剂,易溶于乙醚、石油醚等弱极性溶剂中,而咖啡因正相反。根据本试样的实际,本文利用试样中各组分的极性差异,样品用乙醚-石油醚(1:1)溶化后,再用 1:1 的甲醇水溶液提取其中的咖啡因,用 ODS-C₁₈柱进行分离,用紫外检测器进行检测。文中对检出限和定量限、标准曲线、方法回收率、系统精密度、方法精密度及系统干扰性试验均作了验证。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

1.1.1 仪器:Beckman System Gold HPLC,带 166 紫外检测器;超声波清洗器。

1.1.2 试剂:乙醚(AR 级);石油醚(AR 级,30~60℃);甲醇(AR 级);重蒸水;咖啡因标准品(Merck 公司)

1.2 色谱条件:

色谱柱:ODS-C₁₈柱,5 μm particle size, 150 mm×4.6 mm;流动相 A:0.02 mol/L 醋酸铵水溶液;B:甲醇。A:B = 80:20;流速:1 mL/min;检测波长:270 nm;进样量:20 μL;数据运行时间:20 min。

1.3 样品处理:

准确称取试样一颗(约 2.5 g)于 150 mL 的小烧杯中,加入 100 mL 的乙醚-石油醚(1:1),于超声波振荡器中超声 10 min,待试样溶化后,转入 250 mL 的分液漏斗中,用 1:1 的甲醇水溶液 150 mL 分 3 次萃取,收集

收稿日期:2003-10-10

作者简介:黄百芬(1965—),女,工程师,浙江余姚人,主要从事食品及药物分析方法的研究。

下层溶液于 250 mL 的容量瓶中,并用 1:1 的甲醇水溶液定容至刻度。摇匀后分取 5 mL 该溶液于 50 mL 的容量瓶中,用水定容至刻度。过 0.3 μm 的滤膜,取滤液进样。

2 结果与讨论

2.1 咖啡因的检出限和定量限

将 3 倍于基线噪音的信号确认为峰,此时的溶液浓度为该组分的检出限。当峰高 10 倍于基线噪音且 6 次重复进样峰面积相对标准偏差(RSD)均小于 10,此时的溶液浓度为该组分的最低定量限。以此为条件,将咖啡因标准品浓度以 3 倍信噪比浓度为起点,用流动相稀释至 0.025 $\mu\text{g/mL}$, 0.10 $\mu\text{g/mL}$ 分别重复进样 6 次,结果见表 1。

表 1 咖啡因的检出限和定量限

名 称	浓度($\mu\text{g/mL}$)	S/N	RSD %	名 称	浓度($\mu\text{g/mL}$)	S/N	RSD %
检测限	0.025	3.0	23.4	定量限	0.10	17.3	4.87

2.2 标准曲线的制作

分别吸取 1.0 mg/mL 的咖啡因标准储备液 100, 250, 500, 1000, 2000, 2500 μL 于 10 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。依次重复进样 3 次,得线性回归方程为 $Y = 5.42X + 6.8$,相关系数 $R = 0.998$ 。标准色谱见图 1。

2.3 方法回收率试验

称取 2.66 g 试样 12 份,在试样中加入相当于试样浓度的 50%, 70%, 100%, 120%, 150% 的咖啡因标准溶液,按照与试样相同的方法处理,在上述五点重复两次,取其平均浓度求得各点的平均回收率,平均回收率可达 98.22%。

2.4 重现性的试验

2.4.1 系统精密度试验:制备试样一份,日内重复六次进样,日间重复六天进样,结果见表 2。由表 2 可见,日内精密度为 0.33%,日间精密度为 0.97%,表明系统精密度良好。

表 2 咖啡因的系统精密度

日 内 精 密 度		日 间 精 密 度	
进样次数	测得浓度($\mu\text{g/mL}$)	检测日期	测得浓度($\mu\text{g/mL}$)
1	56.12	2002-02-05	56.12
2	56.25	2002-02-06	56.46
3	56.28	2002-02-07	55.12
4	56.24	2002-02-08	55.26
5	56.30	2002-02-09	55.33
6	56.62	2002-02-10	55.46
平均浓度	56.30	平均浓度	55.63
RSD 值 %	0.30	RSD 值 %	0.97

2.4.2 方法精密度试验 重复取样五份,按上述方法处理试样后,依次进样,每份重复进样两针。测得样品中咖啡因的平均含量为 55.45 mg/g,相对标准偏差为 3.99。样品色谱图见图 2。

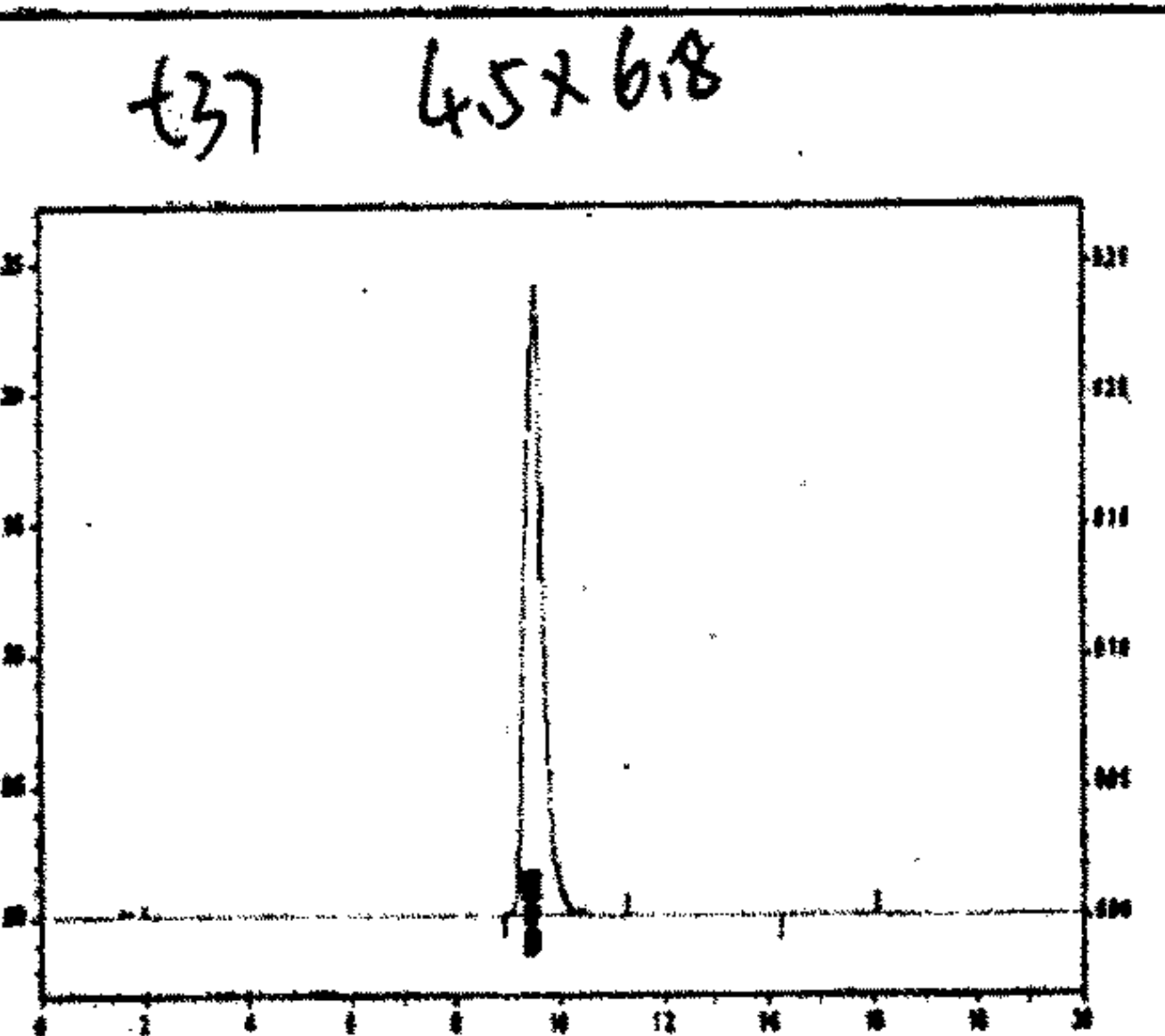


图 2 咖啡因标准色谱图

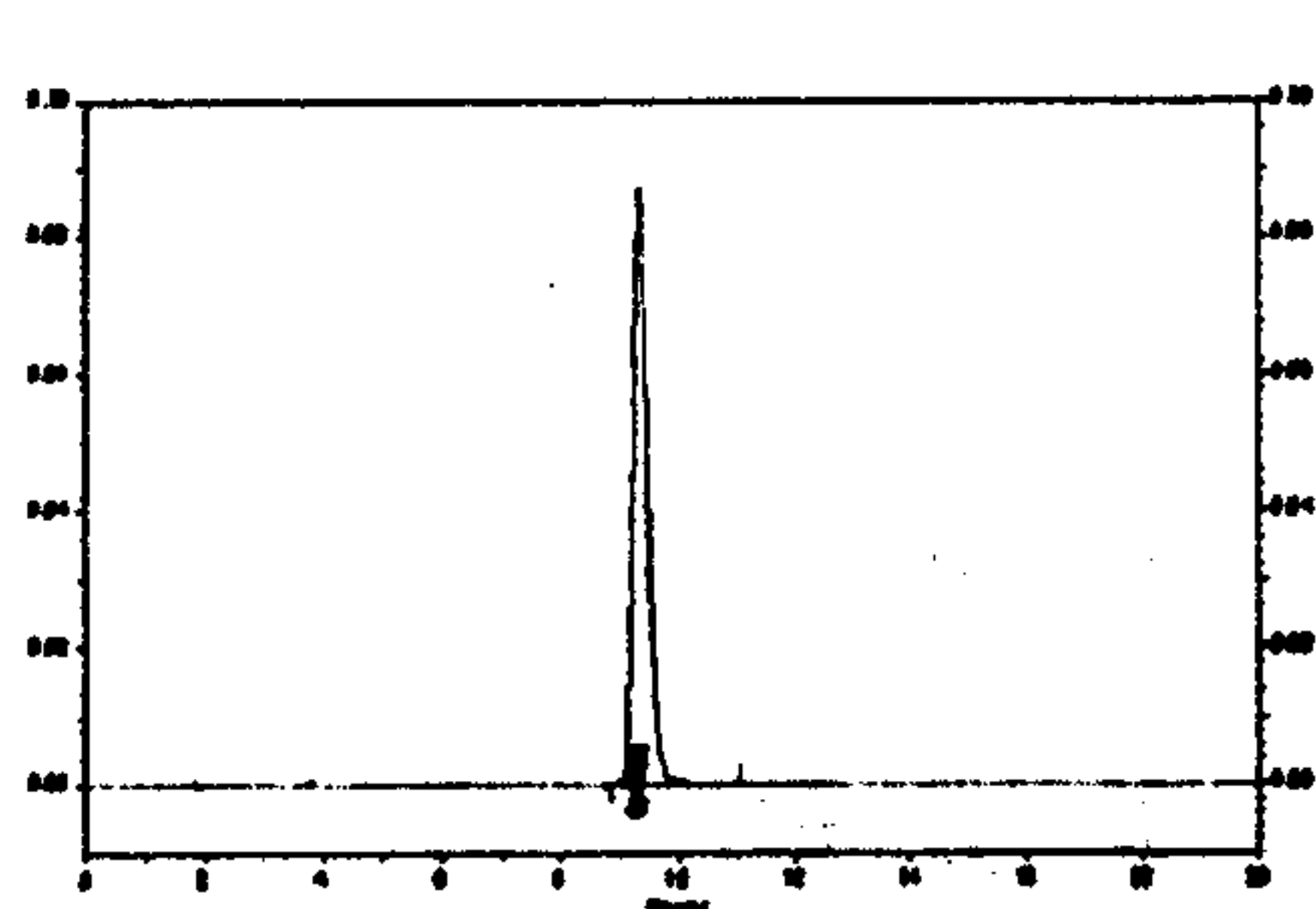


图2 冰茶栓中咖啡因色谱图

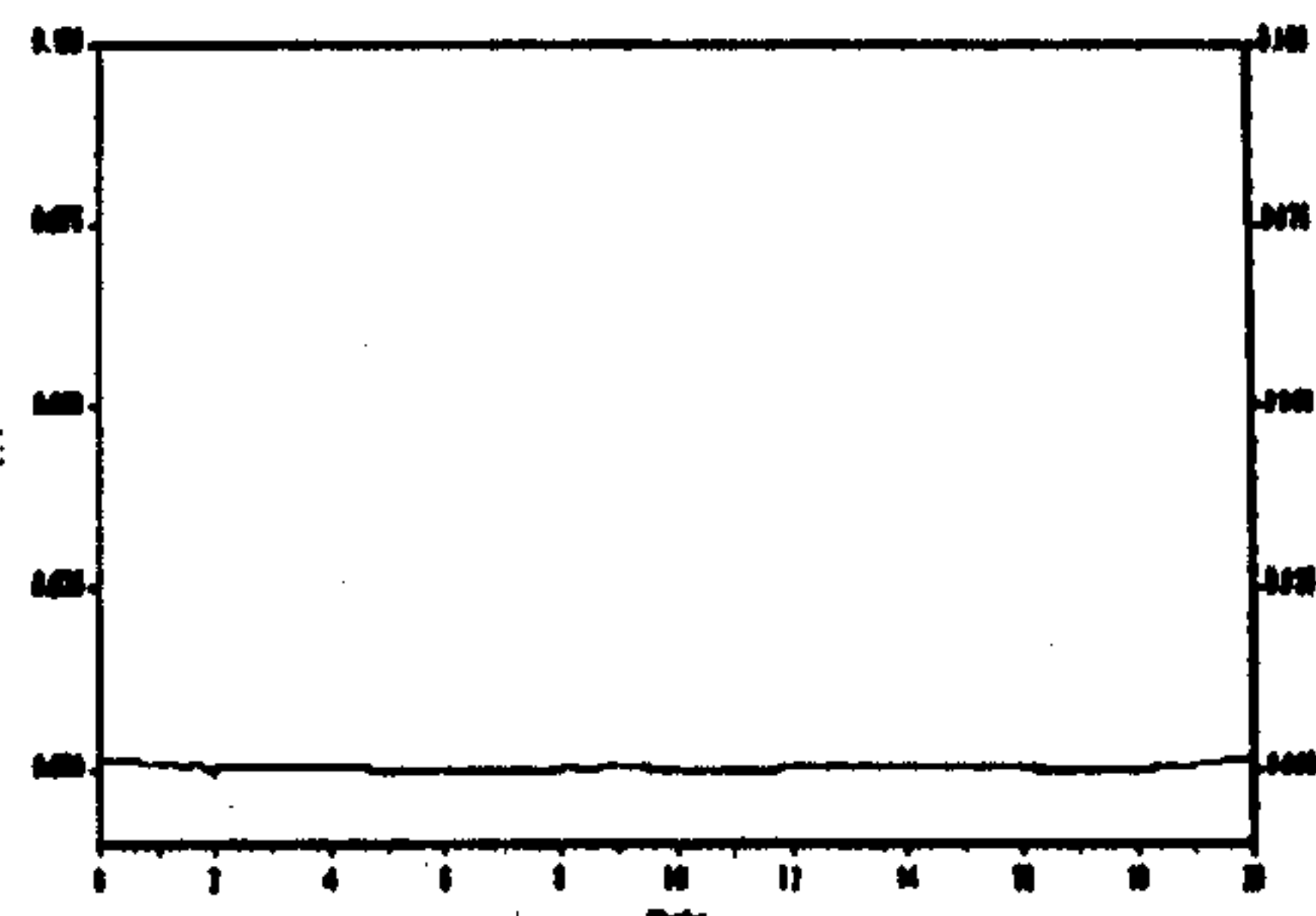


图3 干扰性试验色谱图

2.5 方法选择性试验

取相当量的药栓填充物单甘酯,桂皮醛,蛇毒,冰片与试样相同方法处理,色谱图见图3。可见这些成分对测定没有干扰。

3 小结

本方法适合于复杂样品中咖啡因的测定,操作简便,快速,灵敏度高。经验证,加标平均回收率为98.22%,变异系数(CV)日内为0.30%,日间为0.97%,最低检出限为25 $\mu\text{g/L}$,最低定量限为100 $\mu\text{g/L}$,线性范围为10 $\mu\text{g/mL}$ —250 $\mu\text{g/mL}$,相关系数为0.999 9。

参考文献:

- [1] 王慕敏,常用中草药高效液相色谱分析[M].北京:科学出版社,2001.
- [2] 国家标准 GB/T16344-1996,饮料中咖啡因的测定方法[S].
- [3] 中国药典[M].2000.

Determination of caffeine in abnegating drug with HPLC

HUANG Bai-feng, TIE Xiao-wei, REN Yi-ping

(ZHEJIANG center for disease prevention and control, HangZhou 310009, China)

Abstract: The method for detecting caffeine in a new abnegating drug by HPLC has been reported in this paper. After dissolution and extraction, sample was separated in ammonium acetate buffer - methanol (80:20) and ODS - C18 column. The detection wavelength is 270 nm. The linear range is 10 ~ 250 ($\mu\text{g/mL}$), the recovery is above 98.22%.

Key words: HPLC; abnegating drug; caffeine

(上接第72页)

Study on enantiomeric separation of 2,2 - biphenyl - cyclopropanecarboxylic acid by HPLC

HE Hong-mei, PAN Chun-xiu, CAI Xiao-jun, XU Xiu-zhu

(Center of Analysis & Measurement of Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Abstract: Separation of the enantiomers of 2,2 - biphenyl - cyclopropanecarboxylic acid which is a pesticide intermediate has been studied in (s,s) - Whelk - O1 chiral column by HPLC. Effect of concentration of isopropanol in the mobile phase has been investigated and chiral separation mechanism has also been discussed.

Key word: 2,2 - biphenyl - cyclopropanecarboxylic acid; enantioseparation; HPLC; chiral stationary phase