

EXTREVA ASE与Vanquish CAD创新技术在药材酸枣仁含量测定中的应用

柴瑞平 赵星 汪明芳 冉良骥 郑洪国 金燕
赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词：中药酸枣仁，中国药典，加速溶剂萃取，ASE，CAD

摘要

本文采用赛默飞新一代加速溶剂萃取仪EXTREVA ASE与液相色谱-电雾式检测器CAD分别对药材酸枣仁质量评价中前处理、含量测定方法尝试优化，实现了提取效率极大提升，同时获得更高灵敏度的色谱分析方法，为2020版中国药典该品种标准优化提供参考。

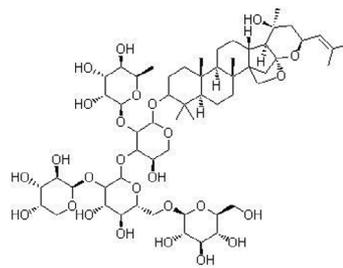
引言

中药与天然产物质量评价体系中，样品前处理步骤至关重要，对目标成分要充分萃提与保留，同时还需尽可能地净化基质，减少对后续色谱质谱检测中的干扰。目前中药提取仍多采取传统的提取方式，传统的中药提取方法主要有蒸馏法与溶剂萃取法。蒸馏法常见的有常压蒸馏、分馏、水蒸气蒸馏、真空蒸馏、抽提蒸馏等；溶剂萃取法分为液固萃取、液液萃取和液气萃取等，广泛应用于中药薄层鉴定与含量测定项的样品制备阶段。传统提取方式往往耗时较长，1至8小时不等，个别品种还需要多次回流提取、吹干复溶等步骤，消耗大量有机溶剂，对操作人员技术熟练程度要求高，还浪费大量水资源用于冷凝回流。因此，高效、实用、环保、经济的样品前处理技术迫切需要引入中药分析领域，进而简化前处理流程，整个分析流程提速增效。

药材酸枣仁属于药典收录品种之一，是鼠李科植物酸枣的干燥成熟种子，具有镇静催眠、抗焦虑等功效，其药典收录的提取方法为“索氏提取法+回流提取法+吹干复溶”，处理一份样品至少需要7小时，繁琐且耗时^[1]。



酸枣仁药材



酸枣仁皂苷A

赛默飞EXTREVA ASE即新一代加压流体萃取设备，该技术通过在一定温度和压力下使用有机溶剂快速有效地萃取样品中目标组分，从而产生高质量色谱结果的样品制备技术。该设备同时具有萃取与蒸发浓缩的功能，可实现药材酸枣仁从“粉末状态”到“提取物储存在样品瓶内”全自动化前处理流程，再转移至液相色谱进行后续分析。

实验部分及结果

1.1 仪器

- EXTREVA ASE快速溶剂萃取仪：22184-60101
样品萃取池（10ml）：068087
收集瓶（60mL）：048784
收集瓶（250mL）：056284
纤维素滤膜：068093
- Vanquish Core高效液相色谱仪，
泵：VC-P20-A
自动进样器：VC-A12-A
柱温箱：VH-C10-A
CAD检测器：VH-D20-A
- 变色龙色谱管理软件 Chromeleon CDS 7.3

1.2 试剂与标准品

1.2.1 试剂：己烷、甲醇、乙腈（色谱级，Fisher公司），纯水机制水，硅藻土（1 kg 瓶装，P/N 062819），GCB 石墨化碳（50g，安谱科技SBEQ-CA1600）。

1.2.2 标准品：酸枣仁皂苷A（纯度：98%，上海同田）。

1.2.3 样品：药材酸枣仁（市售）

2.1 ASE部分

2.1.1 样本制备：

将药材酸枣仁放置于研钵中研细，称取1g药材粉末，并加入约2.5g硅藻土混匀；选取10mL规格的萃取池，依次放入滤膜、200mg GCB粉末、硅藻土与药材混合粉末、滤膜后，拧紧萃取池，放入EXTRA ASE待萃提开始。

2.1.2 ASE参数设置：

样品的制备采用先除杂再提取的方式；除杂过程：使用正己烷进行第一遍萃取，萃取的条件参见下方表格参数，流出的正己烷萃取液转移至收集瓶后弃去；提取和蒸发浓缩过程：样品经除杂后再使用甲醇进行第二遍萃取，萃取液进入蒸发瓶后，直接蒸发浓缩至2mL进样瓶中。

在EXTREVA ASE操作软件上分别编辑除杂和提取的方法，设置序列运行模式，样品在运行完除杂方法后直接运行提取和蒸发浓缩方法，中间无需人工参与，仪器自动化操作方便快捷。此外，EXTREVA ASE也支持仪器自动复溶，可进一步减少人工干预过程。

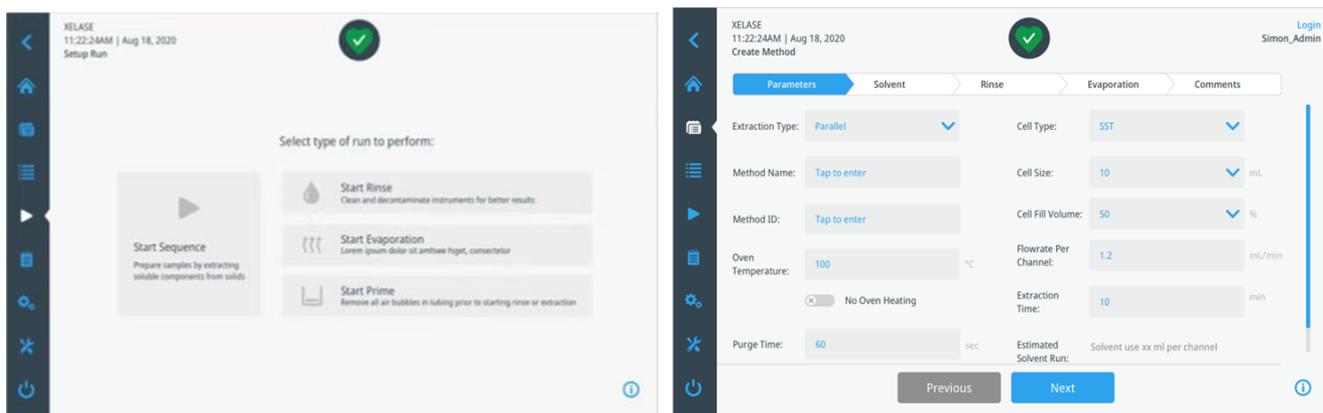


图1 左：ASE软件控制界面——序列准备；右：ASE参数设置向导

步骤	参数设置	
除杂	除杂溶剂	正己烷
	萃取温度	80°C
	气体压力	200psi
	吹扫时间	300s
	气体流速	10mL/min
	溶剂流速	1mL/min
	萃取时间	10min
萃取与蒸干	消耗溶剂	约20mL
	萃取溶剂	甲醇
	萃取温度	100°C
	吹扫时间	45s
	溶剂预填充	50%
	气体流速	10mL/min
	溶剂流速	1mL/min
	萃取时间	10min
	蒸发模式	蒸干
	蒸发真空	155 torr (3 psi)
蒸发温度	70°C	
蒸发气体流速	每个通道 50 L/min 氮气	
消耗溶剂	约20mL	

2.2 HPLC-CAD部分

2.2.1 溶液制备

2.2.1.1 对照品溶液制备

取酸枣仁皂苷A对照品适量，精密称定，加甲醇制成每1mL含0.1mg的溶液，即得，并稀释成系列浓度1-100 μ g/mL,供线性用。

2.2.1.2 样品溶液制备

取蒸干后的样品，在样品瓶直接加入1mL纯甲醇复溶，充分振摇至完全溶解，再稀释8倍后，过0.22 μ m滤膜至新的液相样品瓶中待上机分析。

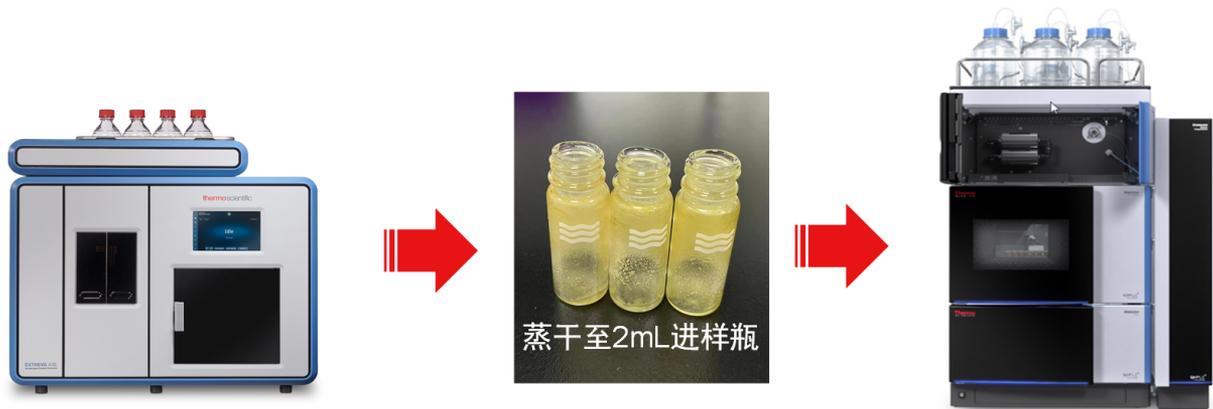


图2 药材酸枣仁质量评价分析流程简图

2.2.1.4 样品典型色谱图

依次进样Vanquish Core液相色谱仪测试，经ASE处理过的药材酸枣仁样品溶液中，目标成分酸枣仁皂苷A响应适中，分离度良好，完全适用于酸枣仁质量评价。

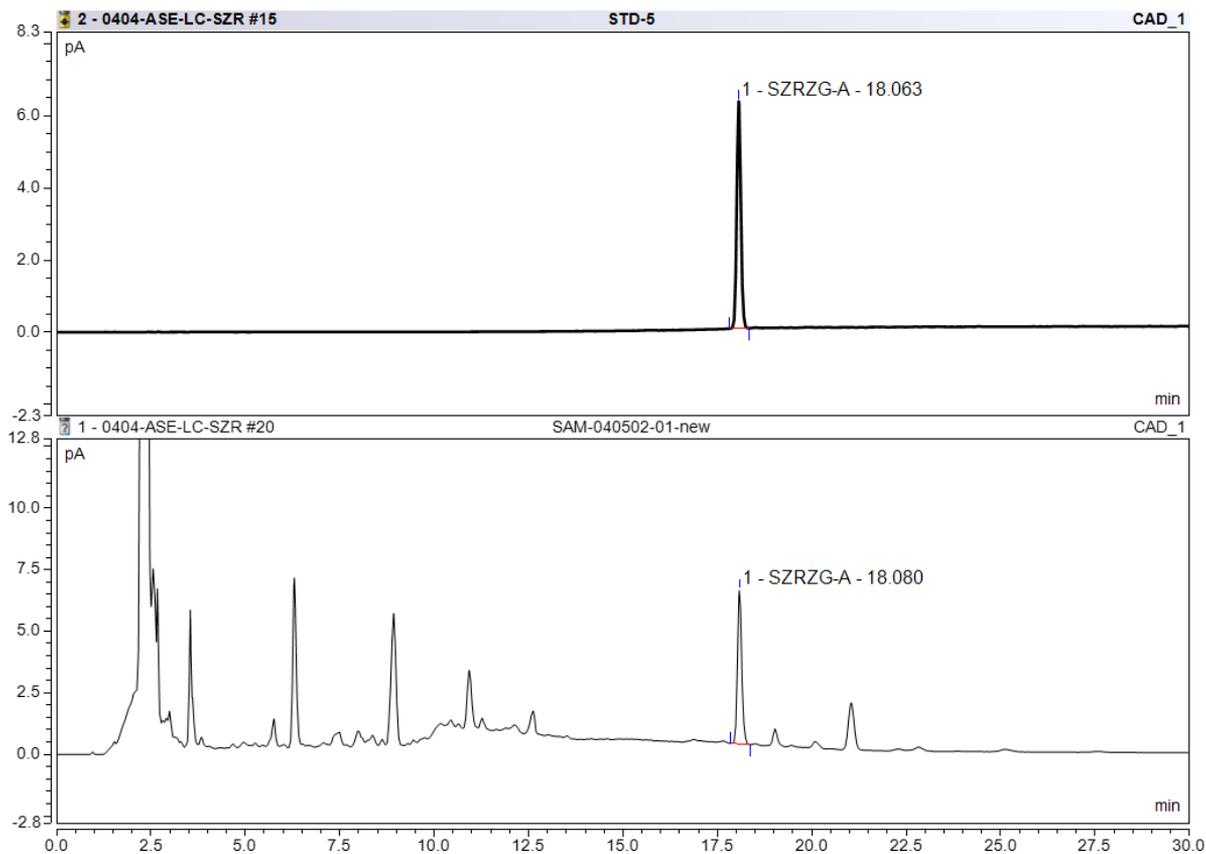


图3 上：100 μ g/mL酸枣仁皂苷A的CAD色谱图

下：经ASE处理后的药材酸枣仁的CAD色谱图

2.2.1.5 HPLC-CAD检测酸枣仁皂苷A部分方法学结果

实验结果表明，使用CAD检测器用于无紫外吸收的酸枣仁皂苷A检测，重复性好，灵敏度高，线性范围宽，相较于文献报道的ELSD方法^[2]具有明显优势。市售药材经检测，酸枣仁皂苷A含量符合2020版中国药典的要求。

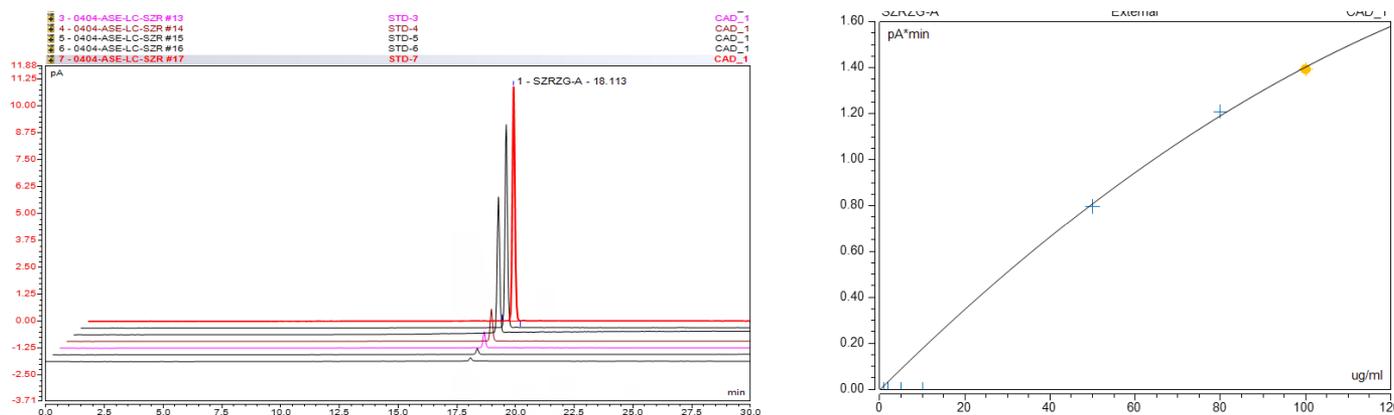


图4 1-100 μ g/mL酸枣仁皂苷A叠加色谱图与线性结果

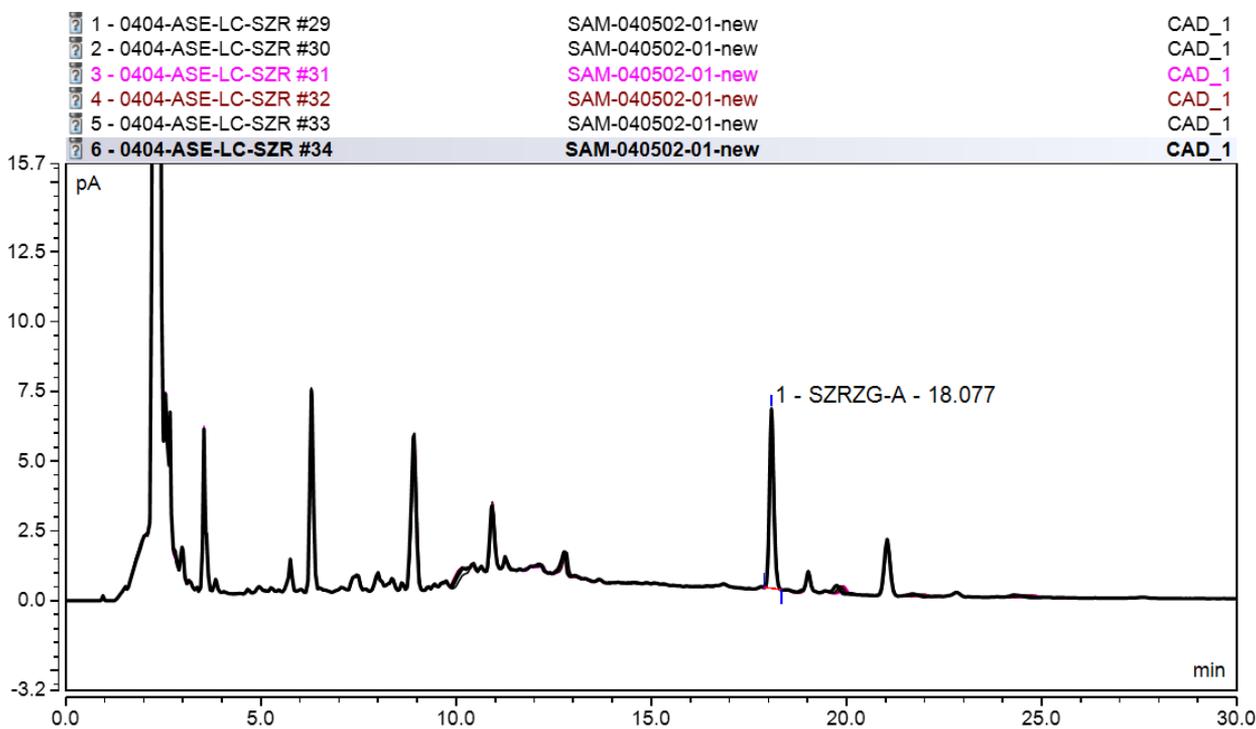


图5 经ASE处理后的药材酸枣仁样品连续进样6针叠加色谱图

表1 HPLC-CAD用于酸枣仁皂苷A检测的色谱分析结果

ASE-LC-CAD考察	实测值
LOD (S/N=3)	0.5ng (S/N=4.2)
LOQ (S/N=10)	1ng (S/N=11)
线性范围	1-100 μ g/mL
线性相关系数	0.9995
6针保留时间重复性	0.04%
6针峰面积重复性	0.93%
样品中酸枣仁皂苷含量	0.041% (药典要求 \geq 0.03%)

3.1 讨论

3.1.1 除色素除杂的必要性

药材酸枣仁属于种子类药材，表面紫红色或紫褐色，富油性，因此在样品前处理中需要注意：（1）避免色素影响：药材表皮颜色很深，如果不除色素，易造成后续提取与检测仪器的污染，故建议使用GCB除色素，用量200-300 μ g，效果很好；（2）去除油脂类成分干扰：药典方法与文献中采用石油醚或正己烷作为除杂溶剂，有效降低色谱分析中杂质数量，本次实验采用己烷除杂，甲醇萃提，效果相当，同样可以满足该药材检测要求。

3.1.2 与传统提取方式比较

EXTREVA ASE通过无缝一体化操作自动萃取和浓缩样品，无需将样品萃取液手动移至另一台设备进行溶剂蒸发；减少溶剂用量和费用，系统采用气体辅助萃取专利技术，单份样品可节省50%萃取溶剂消耗；在萃取和淋洗步骤中，最多可使用六种不同的溶剂，并且可通过精确的流量控制实现方法优化，相对于传统提取方法，真正做到了高效、实用、环保、经济，为样品前处理提供了全自动、高重复性、灵活可靠的创新技术支撑。

表2 EXTREVA ASE用于酸枣仁皂苷A检测的技术优势

酸枣仁前处理技术比较	溶剂种类	溶剂消耗量	处理时长/个	人力消耗	其他
索氏提取法	石油醚、乙醇、甲醇	至少350mL	至少7h	多次加热回流、样品过滤转移，全程手动	消耗大量水用于辅助冷凝回流
EXTREVA ASE法	己烷、甲醇	40mL	约50min	除杂-萃取-蒸干，全程自动化	消耗少量氮气用于辅助萃取

结论

EXTREVA ASE与Vanquish CAD两项创新技术同时用于药材酸枣仁质量评价，从样品制备到检测完成耗时极短，检验检测效率极大提升；Vanquish Core液相色谱仪配备CAD检测器，实现高灵敏定量无紫外吸收成分，有助于中药科学全面表征。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[M]. 一部
- [2] 陈婧, 刘焱文. HPLC-ELSD法测定酸枣仁汤中酸枣仁皂苷A的含量[J]. 中药材, 2006, 29(7):2.
- [3] 陈学松, 张杨刚. 快速溶剂萃取-电雾式检测器同时测定酸枣仁中4种成分[J]. 中草药, 2017(10).



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

thermo scientific