



# 陕西绿清生物工程有限公司

## Shaanxi Green Bio-Engineering Co., Ltd

### 染料木素含量的高效液相色谱检测方法

#### 1. 目的:

建立染料木素含量测定的 HPLC 标准检验操作规程。

#### 2. 范围:

适用于染料木素的含量测。

#### 3. 对照品:

染料木素（标品）。

#### 4. 试剂:

4.1 乙腈(色谱纯)

4.2 甲醇（色谱纯）

4.3 甲醇（分析纯）

4.4 磷酸（分析纯）

4.5 水（超纯水）

#### 5. 仪器:

5.1 高效液相色谱仪: Waters 2695 输液泵; Waters 2487 紫外检测器; Empower 色谱数据工作系统

5.2 分析天平: 感量 0.00001g

5.3 超声波清洗仪: 功率 250W, 频率 40KHz 玻璃流动相过滤器 (0.45 $\mu$ m)

5.4 针式微孔滤膜 (0.45 $\mu$ m)

5.5 玻璃量器: 量筒 (100ml)、容量瓶 (25、50ml) 等。

#### 6. 溶液的制备:

##### 6.1 对照品溶液的制备:

精密称取染料木素对照品约 10mg 于 50ml 的容量瓶中, 加入甲醇约 40ml, 超声溶解后, 放置至室温, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得。

##### 6.2 样品溶液的制备:

精密称取样品约 10mg 于 50ml 的容量瓶中，加入甲醇约 40ml 超声振荡提取约 30min 后，放置至室温，用甲醇定容至刻度，用 0.45 $\mu$ m 的针式过滤器过滤，即得样品溶液。

#### 7. 色谱条件：

色谱柱：Intersil ODS-C18 (150mm $\times$ 4.6 mm ,5 $\mu$ m)  
检测波长：262nm  
流动相：甲醇:乙腈:0.1%磷酸水溶液（30:38:60 v/v）  
柱温：室温进  
样量：10 $\mu$ l  
灵敏度：2.000AUFS

系统适应性：理论塔板数以染料木素峰计不得低于 3000。

#### 8. 样品测定：

在上述色谱条件下，等仪器稳定基线平稳后，精密吸取对照品溶液和样品溶液各 10 $\mu$ l,分别进样测定，染料木素的保留时间约为 6min,用面积外标法计算样品含量。

#### 9. 含量计算

$$\text{含量}(\%) = \frac{A_1 \times W_0 \times V_1 \times K}{A_0 \times V_0 \times W_1} \times 100$$

其中 A1：样品溶液中染料木素的峰面积

A0：对照品溶液中染料木素的峰面积

W1：样品的称样量 mg W0：对照品的称样量 mg

V1：样品的体积 ml V0：对照品的体积 ml

K：对照品的纯度

样品含量结果取两个平行样品含量的平均值。