

# 中药饮片特色应用文集

**全国免费服务热线**
400-810-7898
www.techcomp.cn
www.techcomp.com.hk

Techcomp 天美

最终解释权归天美所有

天美集团官方网站　天美色谱微信

scion INSTRUMENTS
A Techcomp Company

scion GC 60 Years

## 赛里安 LC6000 高效液相色谱仪

中药成分众多，含量、理化性质差异较大，中药质量科学评价是中医药现代化亟待解决的问题。《2020版药典》对中药材及饮片中活性物质测定方法做了相关规定，很多中药的质量评价体系以同一种活性物质进行计算，本文集对常见中药材中的活性物质进行了相关检测。此外，药材饮片在制作及日常储存过程中易受到真菌毒素、多环芳烃等外界的污染，针对此类情况也给出了解决方案。

### 检测器单元

6410紫外检测器
6430二极管阵列检测器
6440荧光检测器
6450蒸发光散射检测器
6460示差折光检测器

所有模块精密设计，最小化死体积

高精度输液泵兼具二元高压和四元低压的优势，具备更优的流量精度和更长的使用寿命，以保证用户更好的使用体验




CompassCDS色谱工作站完全反控，操作简便一体化，符合数据完整性和21 CFR part11 合规性要求，同时支持网络版，轻松对接主流LIMS系统

## 目录


| | | |
|---|---|---|
| AN44-001 | 柴胡中柴胡皂苷a和柴胡皂苷d的测定 | 01 |
| AN44-002 | 赤芍中芍药苷的含量测定 | 03 |
| AN44-003 | 黄芪中黄芪甲苷的测定 | 05 |
| AN44-004 | 山银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量测定 | 06 |
| AN44-005 | 关黄柏中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量的测定 | 08 |
| AN44-006 | 青叶胆片中獐芽菜苦苷的含量测定 | 10 |
| AN44-007 | 重楼的含量测定 | 12 |
| AN44-008 | 丹参中丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮 Ⅰ、丹参酮IIA的测定 | 15 |
| AN44-009 | 肉苁蓉中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量测定的介绍 | 18 |
| AN44-010 | 三七总皂苷的含量测定 | 20 |
| AN44-011 | 酸枣仁中斯皮诺素的测定 | 23 |
| AN44-012 | 天麻中天麻素和对羟基苯甲醇的总量的测定 | 25 |
| AN44-013 | 肠炎宁片的含量测定 | 27 |
| AN44-014 | 复方左炔诺孕酮片的含量测定 | 29 |
| AN44-015 | 药材中黄曲霉毒素B族和G族柱后衍生HPLC检测方案 | 31 |
| AN44-016 | 药材中黄曲霉毒素M族的测定 | 35 |
| AN44-017 | 药品胶囊外壳中苏丹红染料的测定 | 38 |
| AN44-018 | 中药材外包装中多环芳烃的测定 | 40 |

# 柴胡中柴胡皂苷a和柴胡皂苷d的测定

应用编号：AN44-001

## 前言

柴胡属解表类中药，发散风热药，用于感冒发热、寒热往来、疟疾、肝郁气滞、胸胁胀痛、脱肛、子宫脱垂、月经不调。具有解表退热、疏肝解郁、升举阳气作用。在此使用SCION-UV按照中国药典2020年版一部中的含量测定方法对柴胡中的柴胡皂苷a和柴胡皂苷d进行了分析测定。根据规定的实验条件确认了系统适用性，并对市售的柴胡样品进行了含量测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵

· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器

· SCION LC6310 柱温箱

· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

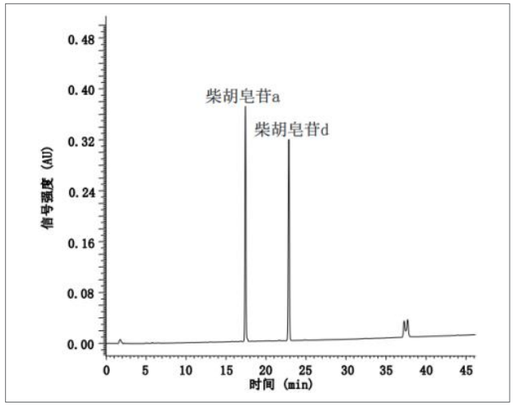
| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | A:乙腈　B:水 |
| 梯度洗脱 | 25%A(0min)→90%A（50-55min）→25%A（55.1-70min） |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 210nm |

### 样品的预处理

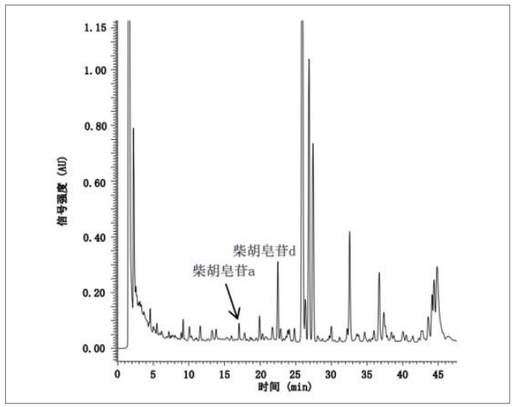
取本品粉末（过四号筛）约0.5 g，精密称定，置于具塞锥形瓶中加入含5%浓氨试液的甲醇溶液25mL，密塞，30 °C 水温超声处理（功率200 W，频率40 kHz）30 min；滤过，用甲醇20　mL分两次洗涤容器及药渣，洗液与滤液合并，回收溶剂至干。

残渣加入甲醇溶解，转移至5mL容量瓶中，加入甲醇至刻度，摇匀；

0.45 μm滤膜过滤；



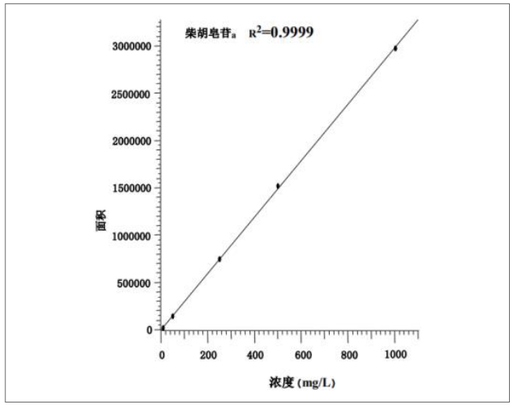

标准样品的色谱图(浓度：柴胡皂苷a,柴胡皂苷d各500mg/l)



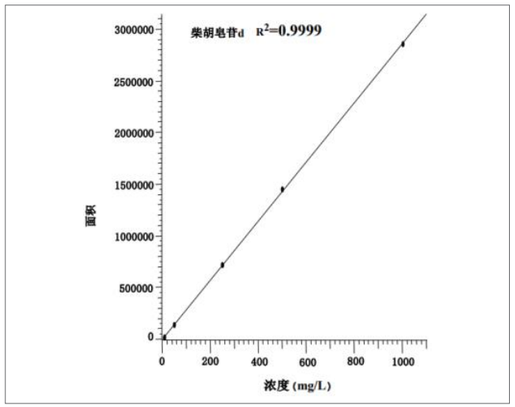

柴胡测定样品示例图

### 标准曲线

在10~1000mg/L的浓度范围内，标准曲线线性良好，$R^2$为0.9999。重现性也得到了良好的结果。




柴胡皂苷a标准曲线




柴胡皂苷d标准曲线

### 定量

| 成分名称 | 成分面积 | 测定结果（两成份的总含量%） | 药典规定值（两成份的总含量%） |
|---|---|---|---|
| 柴胡皂苷a | 259505 | 0.558 | ⩾0.30 |
| 柴胡皂苷d | 1355714 | | |

### 重现性

柴胡皂苷a、d 各500 mg/L，n=6

| | 保留时间(min) | | 面积 | |
|---|---|---|---|---|
| NO | 柴胡皂苷a | 柴胡皂苷b | 柴胡皂苷a | 柴胡皂苷b |
| RSD(%) | 0.06 | 0.04 | 0.12 | 0.15 |

### 系统适用性

将标准样品（柴胡皂苷a，500 mg/L)重复测定3次，理论塔板数结果如图所示，理论塔板数满足药典要求。

| 名称 | 理论塔板数要求值 | 理论塔板数实测值 |
|---|---|---|
| 柴胡皂苷a | a ⩾10000 | 102221 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对柴胡中的柴胡皂苷a和柴胡皂苷d进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为柴胡的品质分析提供了解决方法。

# 赤芍中芍药苷的含量测定

应用编号：AN44-002

## 前言

赤芍为毛茛科植物芍药或川赤芍的干燥根。春秋二季采挖，除去根茎、须根及泥沙，晒干得到。有清热凉血，散瘀止痛的功能，用于热入营血，温毒衄血，目赤肿痛，肝郁胁痛，跌扑损伤，痈肿疮疡等症。在此使用SCION-UV按照中 国药典2020年版一部赤芍项的含量测定方法对赤芍中的芍药苷进行了分析测定。根据规定的实验条件确认了系统适用性，并对市售的赤芍样品进行了含量测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

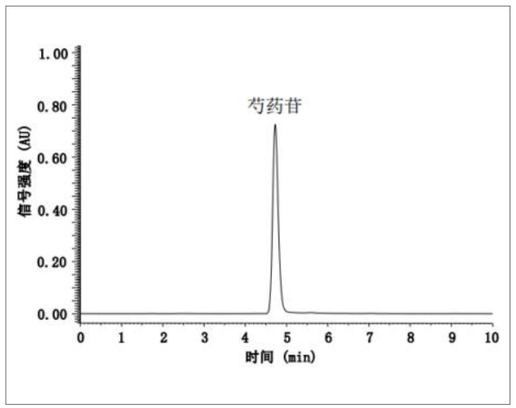
### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱(柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 甲醇-0.05mol/L磷酸二氢钾溶液=40:65 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 230 nm |
| 进样量 | 5μl |

### 样品的预处理

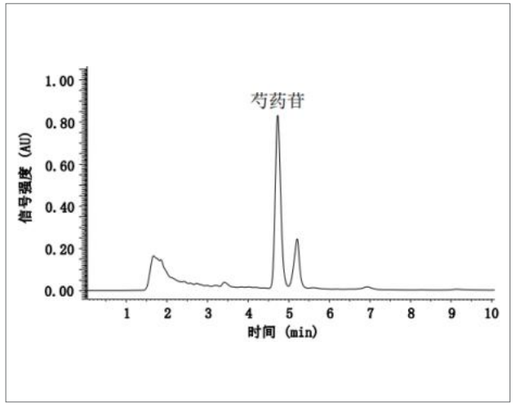
取本品粗粉约0.5g，精密称定，置于具塞锥形瓶中，精密加入甲醇水=40:65的混合液，称定重量；
浸泡4h，超声处理20min，放冷，再称定重量，用甲醇-水=40:65的混合液补足减失的重量；
0.45μm滤膜过滤；
分析

### 芍药苷标准样品测定示例



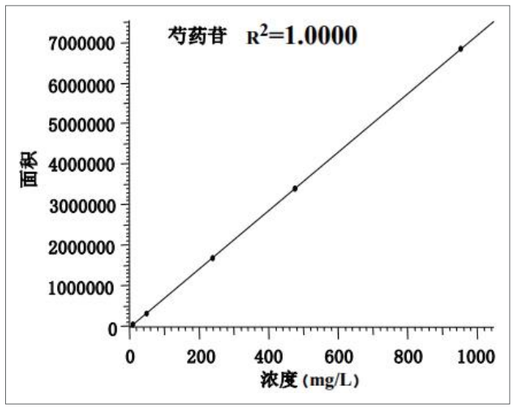

标准样品的色谱图 (浓度：500 mg/L)

### 赤芍样品测定示例




### 标准曲线

在10~1000mg/L的浓度范围内，标准曲线线性良好，$R^2$为1.0000。重现性也得到了良好的结果。




### 重现性

(500 mg/L，n=6)

| No. | 保留时间(min) | 面积 |
|---|---|---|
| RSD(%) | 0.03 | 0.11 |

### 系统适用性

将标准样品（芍药苷，500mg/L)重复测定3次，理论塔板数结果如图所示，理论塔板数满足药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 芍药苷 | 2500以上 | 11143 |

### 定量结果

| 成分名称 | 成分面积 | 芍药苷含量 (mg/g) | 标示值 (%) | 测定结果 (%) |
|---|---|---|---|---|
| 芍药苷 | 3935087 | 27.43 | ⩾1.8 | 2.7 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对赤芍中的芍药苷进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为赤芍的品质分析提供了解决方法。

# 黄芪中黄芪甲苷的测定

应用编号：AN44-003

## 前言

黄芪，中药材名。本品为豆科植物蒙古黄芪的根，其中含有的黄芪甲苷作为评价黄芪药材质量优劣的标准，药理研究表明，黄芪具有增强机体免疫功能、强心降压、降血糖、利尿、抗衰老、抗疲劳等作用。由于黄芪甲苷仅在201nm附件有弱紫外吸收，采用紫外检测器存在基线噪声大、重现性不好等现象，所以通用性检测器ELSD检测器成为检测的首选。

## 实验条件

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC 6210高精度、低残留自动进样器
· SCION LC 6310柱温箱
· SCION LC 6455蒸发光检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | SCION $C_{18}$(4.6mm×250 mm，5μm) |
| 流动相 | A：乙腈 B：水 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 柱温 | 35℃ |
| 漂移管温度 | 80℃ |
| 雾化流量 | 2.5L/min |
| 进样量 | 10μL |
| 稳定时间 | 5min |
| 洗脱程序 | 0min A35%：B65%；20min A35%：B65% |

### 系统适用性测试

使用上述的仪器条件，进样量10uL，分析黄芪甲苷。所得到的谱图如图1（0.5mg/L)所示，结合表1，可以看出峰型良好，完全满足相关国家标准要求。

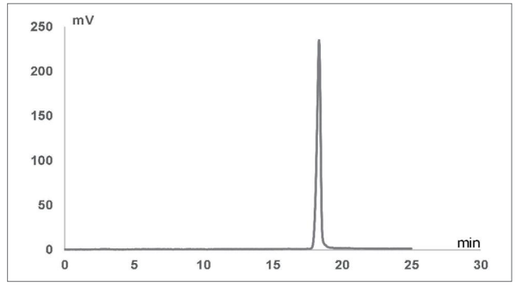



图1 0.5mg/mL黄芪甲苷对照品的检测谱图

表1 黄芪甲苷相关参数

| 峰 | 保留时间 | 化合物 | 理论塔板数 | RSD |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 18.35 | 黄芪甲苷 | 21316 | 1.0000 |

### 重复性测试

分别在同一时间连续进样6次，考察ELSD对黄芪甲苷的重复性结果，结果如表2所示，保留时间、峰高、峰面积RSD值均小于3%，完全满足标准要求。

表2 重复性结果(n=6)

| 序号 | 保留时间 | 化合物 | 峰面积 |
|---|---|---|---|
| 1 | 18.44 | 228.5 | 72.5 |
| 2 | 18.35 | 231.2 | 72.4 |
| 3 | 18.38 | 228.3 | 72.3 |
| 4 | 18.09 | 233.7 | 70.9 |
| 5 | 18.36 | 227.5 | 70.6 |
| 6 | 18.85 | 217.0 | 67.7 |
| 平均值 | 18.41167 | 227.7 | 71.06667 |
| RSD (%) | 1.22 | 2.29 | 2.36 |

## 结论

使用SCION LC6000-ELSD对黄芪中黄芪甲苷测定，得到了良好的重现性，理论塔板数满足药典要求，为黄芪的品质分析提供了解决方法。



# 山银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量测定

应用编号：AN44-004

## 前言

山银花为忍冬科植物灰毡毛忍冬、红腺忍冬、华南忍冬或黄褐毛忍冬的干燥花蕾或带初开的花。主要功效为清热解毒，疏散风热。用于痈肿疔疮，喉痹、丹毒，热毒血痢，风热感冒，温热发病。在2020版药典中灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙是作为山银花质量控制的指标成分，而二者紫外吸收很弱，采用紫外检测器测试时基线噪声大、重现性不好，所以通用性检测器ELSD检测器成为检测的首选。

## 实验条件

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC 6210高精度、低残留自动进样器
· SCION LC 6310柱温箱
· SCION LC 6455蒸发光检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | SCION $C_{18}$(4.6mm×250 mm，5μm) |
| 流动相 | A：乙腈 B：水 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 柱温 | 35℃ |
| 漂移管温度 | 80℃ |
| 雾化流量 | 2.5 L/min |
| 进样量 | 10μL |
| 稳定时间 | 5min |
| 洗脱程序 | 0min A35%：B65%；10min A35%：B65% |

### 系统适用性测试

使用上述的仪器条件，进样量10uL，分析灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙。所得到的谱图如图1（所示，结合表1，可以看出峰型良好，完全满足相关国家标准要求。

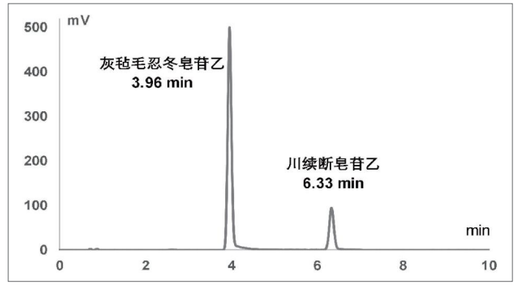



图1 灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙对照品的检测谱图

表1 灰毡毛忍冬皂苷川续断皂苷乙相关参数

| 峰 | 保留时间 | 化合物 | 分离度 | 理论塔板数 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 3.96 | 灰毡毛忍冬皂苷乙 | — | 8722 |
| 2 | 6.33 | 川续断皂苷乙 | 12.81 | 15917 |

### 重复性测试

分别在同一时间连续进样6次，考察ELSD对灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的重复性结果，结果如表2、表3所示，保留时间、峰高、峰面积RSD值均小于1%，完全满足标准要求。

表2 重复性结果(n=6)

| 序号 | 保留时间 | 化合物 | 峰面积 |
|---|---|---|---|
| 1 | 3.98 | 512.3 | 54.7 |
| 2 | 3.98 | 507.8 | 54.2 |
| 3 | 3.96 | 500.0 | 54.1 |
| 4 | 3.95 | 498.9 | 53.7 |
| 5 | 3.92 | 501.8 | 54.7 |
| 6 | 3.96 | 501.3 | 54.4 |
| 平均值 | 3.96 | 503.7 | 54.3 |
| RSD (%) | 0.51 | 0.95 | 0.65 |

表2 重复性结果(n=6)

| 序号 | 保留时间 | 化合物 | 峰面积 |
|---|---|---|---|
| 1 | 6.35 | 94.2 | 12.0 |
| 2 | 6.36 | 93.8 | 11.9 |
| 3 | 6.33 | 94.4 | 12.0 |

表2 重复性结果(n=6)

| 序号 | 保留时间 | 化合物 | 峰面积 |
|---|---|---|---|
| 4 | 6.36 | 94.3 | 12.0 |
| 5 | 6.31 | 93.7 | 12.2 |
| 6 | 6.33 | 93.5 | 12.0 |
| 平均值 | 6.34 | 94.0 | 12.0 |
| RSD (%) | 0.29 | 0.36 | 0.75 |

## 结论

使用SCION LC6000-ELSD对山银花中的灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙进行了测定，得到了良好的重现性，理论塔板数满足药典要求，为山银花的品质分析提供了解决方法。



# 关黄柏中盐酸小檗碱和盐酸巴马汀的含量的测定

应用编号：AN44-005

## 前言

关黄柏是一种常用中药，为芸香科植物黄檗的干燥树皮，性味苦，寒，归肾，膀胱经。具有清热燥湿，泻火除蒸，解毒疗疮的功效。用于湿热泻痢，黄疸尿赤，热淋涩痛，疮疡肿毒，湿疹湿疮等症状。关黄柏主要含小檗碱，巴马汀，药根碱，黄柏碱等活性成分，其中以小檗碱的含量最高。《中国药典》2020版第一部中关黄柏的含量测定参照高效液相色谱法测定，在此参考药典中的分析条件对关黄柏的含量进 行测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

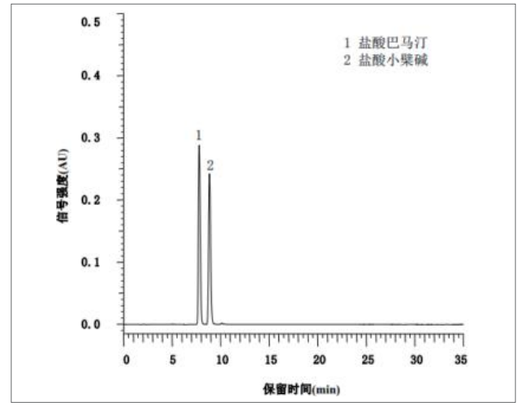
| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱 (柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | A:乙腈 B:0.1%磷酸水溶液 (含0.02 mol/L 磷酸二氢钠) (梯度洗脱) 25% A (0-20 min) →65% A (40 min) →90% A (45-50 min) → 25% A (50.1-65 min) |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 345nm |
| 进样量 | 10μl |

### 样品的预处理

[样品前处理]

关黄柏粉碎，过45目筛取本品粉末约0.2g，精密称定，置50mL容量瓶中加60%乙醇40mL，超声处理45min钟，放冷加60%乙醇至刻度，摇匀，滤过取续滤液，待上机分析

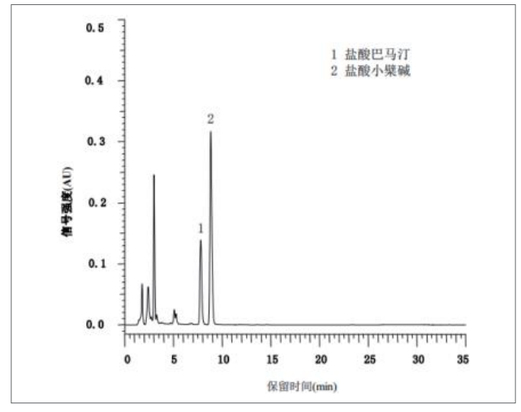
### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：50 μg/mL)

### 关黄柏的分析结果

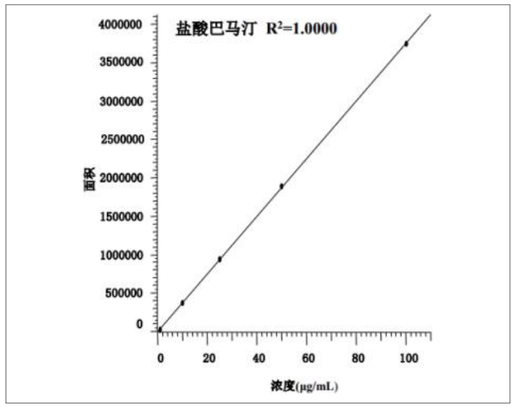
对关黄柏进行了含量的测定，其中大约含盐酸小檗碱1.61%，盐酸巴马汀0.60%，均满足药典要求。



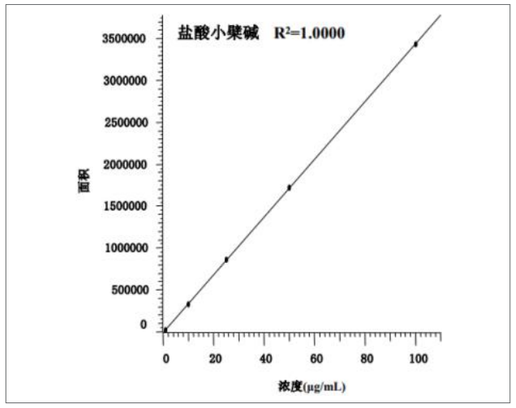

关黄柏的色谱图

## 标准曲线

盐酸巴马汀和盐酸小檗碱在1~100μg/mL浓度范围内均得到$R^2$=1.0000良好的线性关系。




盐酸巴马汀的标准曲线




盐酸小檗碱的标准曲线

## 重复性

(50 μg/mL 盐酸巴马汀和盐酸小檗碱混合标液，n = 6)

对50μg/mL标准溶液连续6次测定，考察了盐酸巴马汀和盐酸小檗碱的保留时间和峰面积的重现性，均得到了良好的结果。

| 名称 | 保留时间(%RSD) | 峰面积(%RSD) |
|---|---|---|
| 盐酸巴马汀 | 0.09 | 0.41 |
| 盐酸小檗碱 | 0.08 | 0.33 |

## 系统适用性

(50 μg/mL 盐酸小檗碱标准溶液)

对系统适用性进行了确认，理论塔板数按盐酸小檗碱峰计算，结果得到盐酸小檗碱的理论塔板数大于药典规定值，满足药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数(N) | 4000以上 | 9395 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对关黄柏中的盐酸巴马汀和盐酸小檗碱进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为关黄柏的品质分析提供了解决方法。



# 青叶胆片中獐芽菜苦苷的含量测定

应用编号：AN44-006

## 前言

青叶胆又叫肝炎草、小青鱼胆、七疸药，为龙胆科獐芽菜属植物的干燥全草。味苦，微寒，归肝胆经，具有清肝利胆、清热利湿的功效。用于黄疸尿赤，热淋涩痛。獐芽菜苦苷是青叶胆中的主要成分之一。《中国药典》2020版第一部中青叶胆片的含量测定以獐芽菜苦苷的含量计算，参照高效液相色谱法测定，在此依照药典中的分析方法对青叶胆片中獐芽菜苦苷的含量进行测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

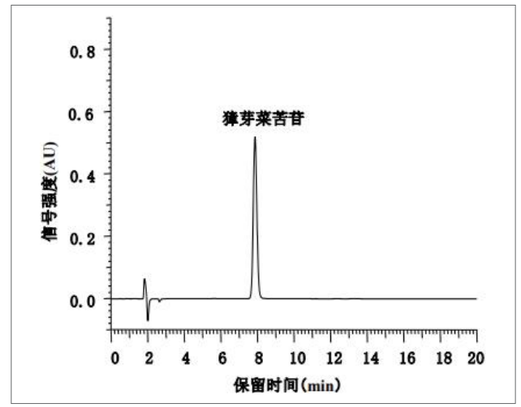
### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱 (柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 甲醇/0.3%甲酸溶液=25/75 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 237nm |
| 进样量 | 5μl |

### 样品的预处理

取本品30片，除去包衣，精密称定，研细取相当于12片的量，精密称定，置于100 mL瓶中，加甲醇80 mL，浸泡60min钟超声处理30min钟，放冷，加甲醇至刻度，摇匀，取上清液过滤取滤液待上机分析

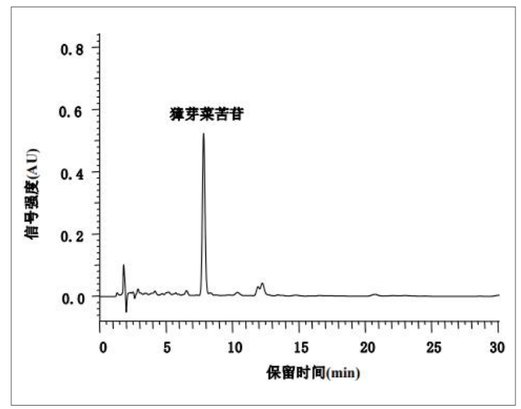
### 标准样品测定示例




獐芽菜苦苷的色谱图(浓度：500 μg/ml)

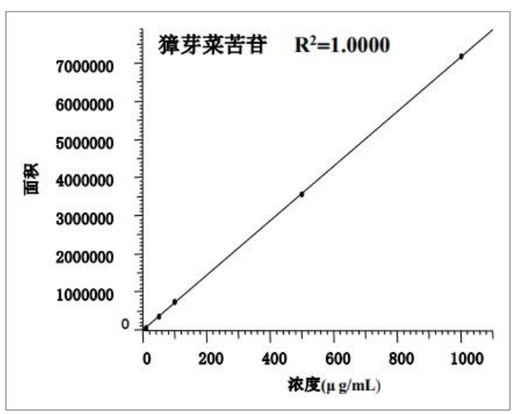
### 青叶胆片的分析结果

对青叶胆片中獐芽菜苦苷的含量进行了测定，结果得到每片药中獐芽菜苦苷的含量为4.2mg左右，符合药典要求。



## 标准曲线

在10 ~1000 μ g/mL浓度范围内得到$R^2$=1.0000良好的线性关系。




## 重复性

(500 μg/mL 獐芽菜苦苷, n = 6)

| 保留时间 (%RSD) | 峰面积 (%RSD) |
|---|---|
| 0.00 | 0.13 |

## 系统适用性

(500 μg/mL 獐芽菜苦苷)

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数 | 2000以上 | 7512 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对青叶胆片中的獐芽菜苦苷进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为青叶胆片的品质分析提供了解决方法。



# 重楼的含量测定

应用编号：AN44-007

## 前言

重楼，又称七叶一枝花，是百合科重楼属植物的泛称。本品味苦，性微寒，有小毒，归肝经，有清热解毒，消肿止痛，凉肝定惊之功效。常用于疔疮痈肿，蛇虫咬伤，跌扑伤痛，惊风抽搐。近年来，随着研究的深入，重楼的药用价值被日益重视。《中国药典》2020版第一部中重楼的含量测定参照高效液相色谱法测定，本报告参考药典的分析方法对重楼的含量进行 测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

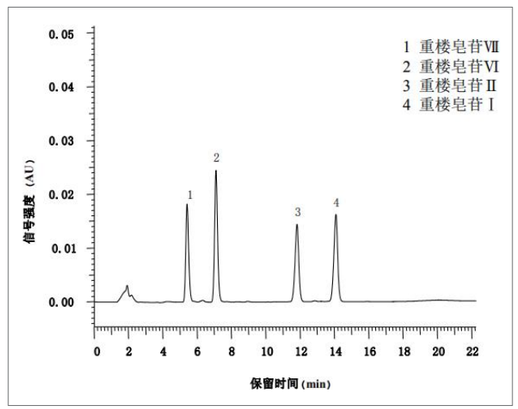
### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱 (柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | A: 乙腈 B: 水 (A,B 梯度洗脱) 44% A (0 min) → 60%A(20 - 25 min) →44%A(26 - 35 min) |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 203nm |
| 进样量 | 20μl |

### 样品的预处理

药材样品粉碎成末 (过45目筛)，精密称取2.500g置于具塞锥形瓶中精密加入乙醇25mL，称定重量，加热回流30分钟放冷，再称定重量，用乙醇补足减失的重量摇匀，过滤，取续滤液，待上机分析

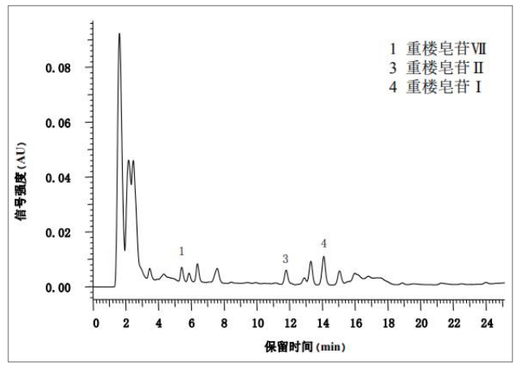
### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：400 mg/L)

### 重楼样品的分析结果

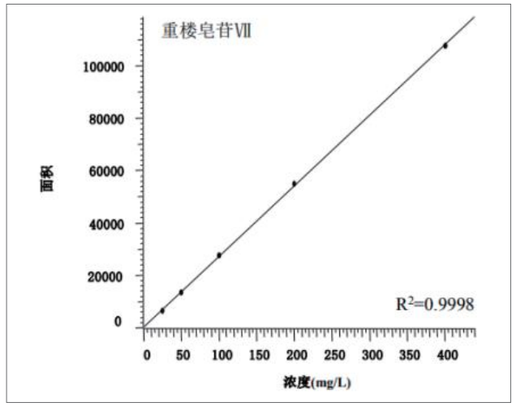
对药材样品重楼进行了含量的测定，结果在样品中未检测到重楼皂苷Ⅵ成分，其它皂苷成分均得到很好的分离，重楼中总皂苷的含量为0.46%。



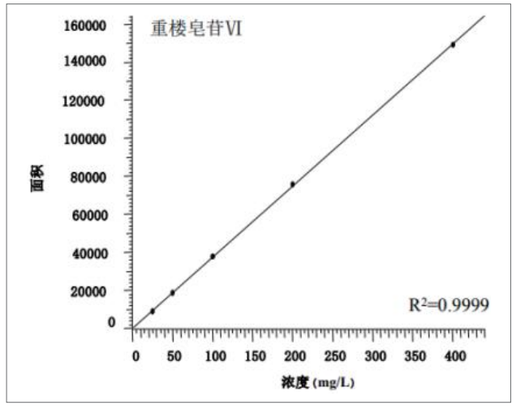

重楼的色谱图

## 标准曲线

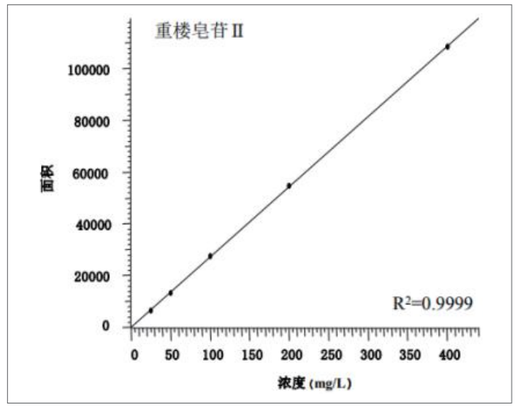
各种重楼皂苷成分在25~400mg/L标准混合液的浓度范围内，得到了$R^2 \geqslant 0.9998$良好的线性关系。



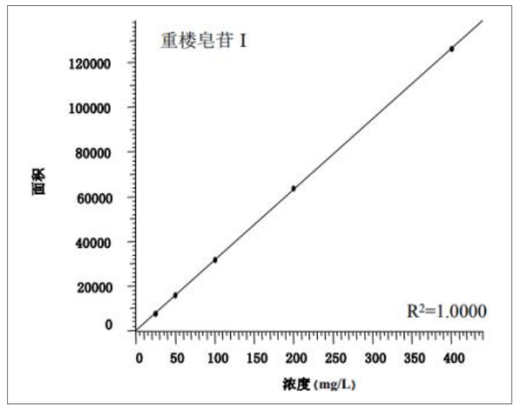

重楼皂苷Ⅶ的标准曲线




重楼皂苷Ⅵ的标准曲线




重楼皂苷Ⅱ的标准曲线




重楼皂苷Ⅰ的标准曲线

## 系统适用性

（400 mg/L 标准混合液）

对系统适用性试验进行了确认，理论塔板数按重楼皂苷Ⅰ峰计算，结果得到色谱柱的理论塔板数达到药典规定值，如表所示。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板（N）（以重楼皂苷Ⅰ计） | 19507 | ≥4000 |

## 重复性

（400 mg/L 标准混合液，n=6）

| 成分 | 重楼皂苷Ⅶ | 重楼皂苷Ⅵ | 重楼皂苷Ⅱ | 重楼皂苷Ⅰ |
|---|---|---|---|---|
| 保留时间（%RSD） | 0.12 | 0.14 | 0.18 | 0.16 |
| 峰面积（%RSD） | 0.50 | 0.49 | 0.42 | 0.40 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对重楼中的重楼皂苷进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为重楼的品质分析提供了解决方法。

# 丹参中丹酚酸 B、隐丹参酮、丹参酮Ⅰ、丹参酮ⅡA的测定

应用编号：AN44-008

## 前言

丹参（Salvia miltiorrhiza Bunge），唇形科鼠尾草属多年生直立草本植物，分布于中国安徽，山西，河北，四川，江苏等地。丹参根主含脂溶性的酮类成分和水溶性的酚酸成分，种根入药，为强壮性通经剂，有祛瘀，生新，活血，调经的效用。主治子宫出血，血瘀，腹痛。对冠心病有良好的治疗效果。此外亦治神经性衰弱失眠，关节痛，疮疖痛肿等。中药中活性物质含量对药效有着重要影响，因此，活性物质含量测定具有重要意义。

本文参考中国药典（2020版），应用SCION高效液相色谱仪对丹参中活性物质丹酚酸B，隐丹参酮，丹参酮Ⅰ，丹参酮ⅡA进行了分析测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵

· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器

· SCION LC6310 柱温箱

· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 0.1% 磷酸溶液/乙腈=78/22 |
| 流速 | 1.2mL/min |
| 检测波长 | 286nm |
| 进样量 | 10μl |

### 样品的预处理

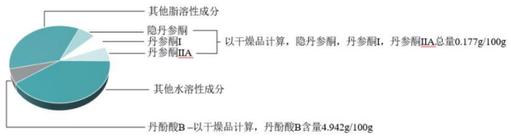
针对丹酚酸B的样品前处理方法

丹参样品粉碎→过3号筛→丹参粉末0.15g→加入50 mL甲醇-水（8：2）溶液溶解→超声提取30min→过滤→用甲醇-水（8:2）把滤液稀释一倍→HPLC分析

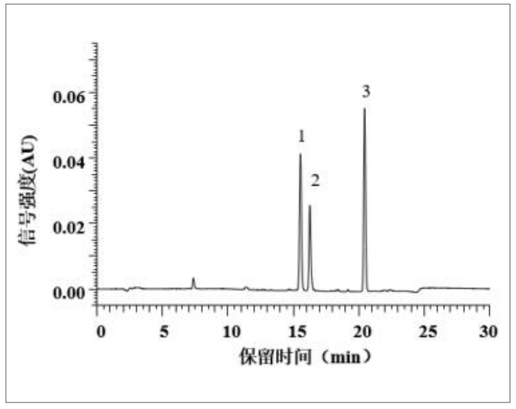
针对丹参酮类样品的前处理方法

丹参样品粉碎→过3号筛→丹参粉末0.3g→加入50 mL甲醇溶解→超声提取30 min→过滤→HPLC分析

丹参成分分析




### 标准样品测定示例

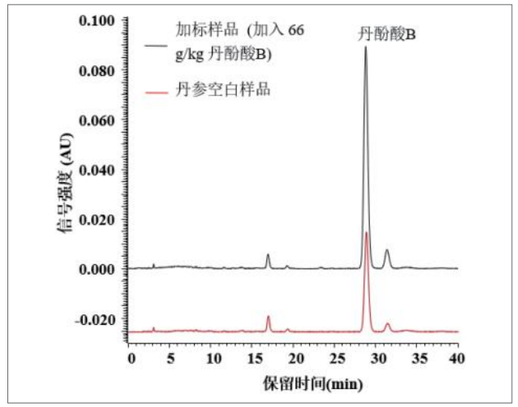



标准样品的色谱图

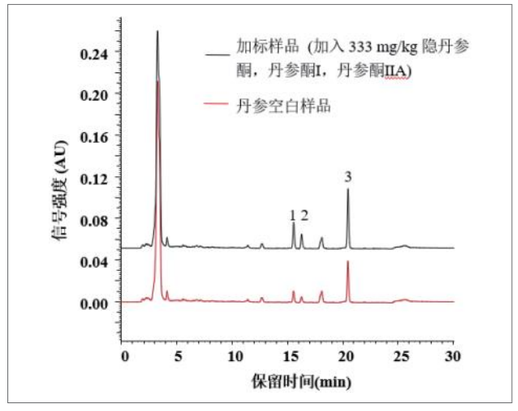
色谱峰: 1. 隐丹参酮(5 mg/L); 2. 丹参酮Ⅰ(5 mg/L); 3. 丹参酮ⅡA (5 mg/L)

### 样品添加回收率

对丹参样品进行添加回收率实验，在66g/kg的添加浓度下，丹酚酸B的加标回收率为97.59%。在333mg/kg的添加浓度下，丹参酮类物质的加标回收率在80.27%~85.64%之间。




丹参空白样品与添加样品的色谱重叠图




丹参空白样品与添加样品的色谱重叠图

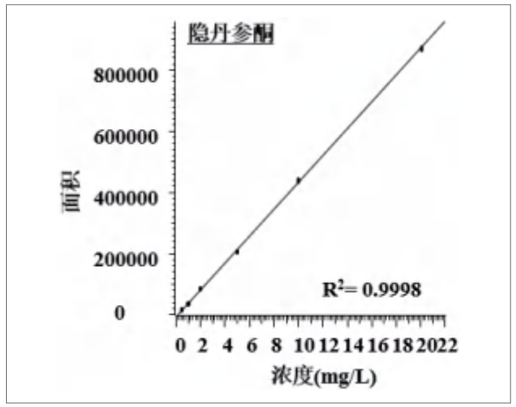
色谱峰：1. 隐丹参酮；2. 丹参酮Ⅰ；3. 丹参酮ⅡA

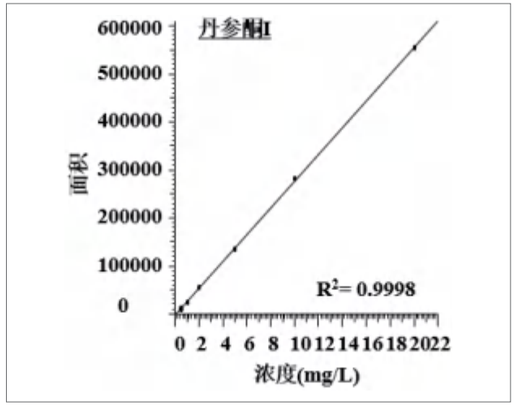
### 重现性

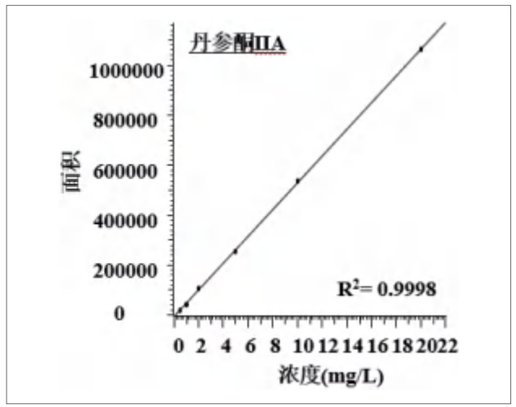
（隐丹参酮，丹参酮Ⅰ，丹参酮ⅡA 5 mg/L）

| 序号 | 隐丹参酮 | | 丹参酮Ⅰ | | 丹参酮ⅡA | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| NO. | RT(min) | Area | RT(min) | Area | RT(min) | Area |
| 1 | 15.553 | 208848 | 16.273 | 133504 | 20.460 | 259307 |
| 2 | 15.553 | 208822 | 16.273 | 133626 | 20.460 | 259427 |
| 3 | 15.553 | 207210 | 16.267 | 133550 | 20.460 | 256908 |
| 4 | 15.560 | 206997 | 16.273 | 133422 | 20.460 | 257575 |
| 5 | 15.553 | 208223 | 16.273 | 134182 | 20.460 | 257041 |
| 6 | 15.553 | 207041 | 16.273 | 133086 | 20.460 | 259054 |
| AVG | 15.554 | 207857 | 16.272 | 133562 | 20.460 | 258219 |
| SD | 0.003 | 880 | 0.002 | 357 | 0.000 | 1171 |
| RSD | 0.02% | 0.42% | 0.02% | 0.27% | 0.00% | 0.45% |

### 标准曲线






## 系统适用性

（丹参酮ⅡA 20 mg/L；n=5）

| 项目 | 测定1 | 测定2 | 测定3 | 测定4 | 测定5 | 测定均值 | 规定值 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 理论塔板数（按丹参酮ⅡA计） | 116649 | 116099 | 115826 | 116450 | 115902 | 116185 | 60000 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对丹参中活性物质丹酚酸B，隐丹参酮，丹参酮Ⅰ，丹参酮ⅡA进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为丹参的品质分析提供了解决方法。



# 肉苁蓉中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量测定的介绍

应用编号：AN44-009

## 前言

肉苁蓉是一种寄生在沙漠树木梭梭根部的寄生植物，从梭梭寄主中吸取养分及水份，素有“沙漠人参”之美誉，具有极高的药用价值，是中国传统的名贵中药材。肉苁蓉味甘、性温，具有补肾壮阳、填精补髓、养血润燥、悦色延年等功效。肉苁蓉药食两用，长期食用可增加体力、增强耐力以及抵抗疲劳，又可以增强人类及动物的性能力及生育力。《中国药典》2020版第一部中肉苁蓉的含量测定参照高效液相色谱法测定，在此参考药典中的分析条件对肉苁蓉的含量进行测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

- 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
- SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
- SCION LC6310 柱温箱
- SCION LC6410 紫外检测器

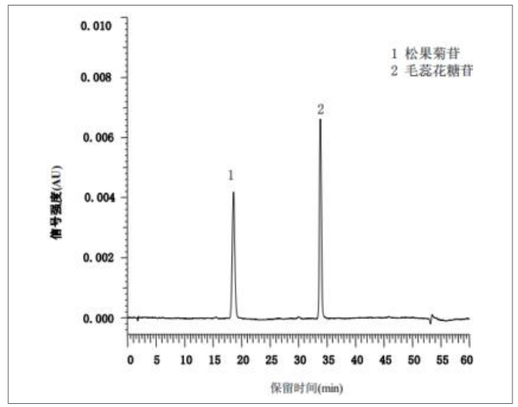
### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 30°C |
| 流动相 | A:甲醇 B:0.1%甲酸水溶液(梯度洗脱) 26.5%A(0-17min)→29.5%A(20min)→29.5% A(20-27min)→32%A(27.1-50min)→70%A(50.1-70min)→26.5%A(70.1-90min) |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 330nm |
| 进样量 | 5μl |

### 样品的预处理

肉苁蓉粉碎，过65目筛取本品粉末约1g，精密称定，置50mL棕色容量瓶中精密加入50%甲醇50mL，密塞，摇匀浸泡30分钟，超声处理40min钟，放冷加50%甲醇至刻度，摇匀，静置，取上清液，滤过

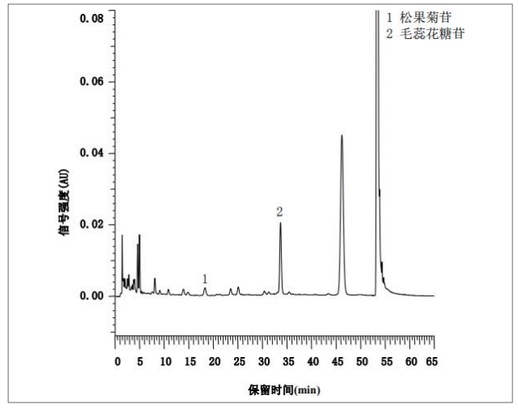
### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：10 μg/mL)

### 肉苁蓉的分析结果

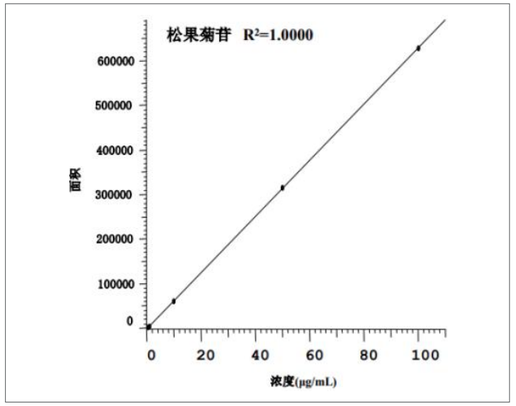
对肉苁蓉进行了含量的测定，通过计算得出肉苁蓉中含松果菊苷和毛蕊花糖苷的总量约为0.17%。



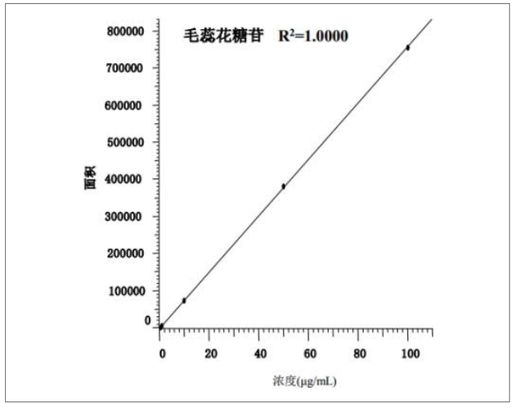

肉苁蓉的色谱图

### 标准曲线

松果菊苷和毛蕊花糖苷在0.5～100 μg/mL浓度范围内均得到$R^2$=1.0000良好的线性关系。




松果菊苷的标准曲线




毛蕊花糖苷的标准曲线

## 重复性

(10 μg/mL 松果菊苷和毛蕊花糖苷混合标液，n = 6)

对10μg/mL标准溶液连续6次测定，考察了松果菊苷和毛蕊花糖苷的保留时间和峰面积的重现性，均得到了良好的结果。

| 名称 | 保留时间(%RSD) | 峰面积(%RSD) |
|---|---|---|
| 松果菊苷 | 0.10 | 0.22 |
| 毛蕊花糖苷 | 0.07 | 0.50 |

## 系统适用性

(200 μg/mL 松果菊苷标准溶液)

对系统适用性进行了确认，理论塔板数按松果菊苷峰计算，结果得到松果菊苷的理论塔板数大于药典规定值，满足药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数(N) | 3000以上 | 8956 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对肉苁蓉中的松果菊苷和毛蕊花糖苷进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为肉苁蓉的品质分析提供了解决方法。



# 三七总皂苷的含量测定

应用编号：AN44-010

## 前言

三七总皂苷是三七的主要有效成份，其主要成份为:人参皂苷Rb1，人参皂苷Rg1，三七皂苷R1等。主要功效为活血祛瘀，通脉活络。具有抑制血小板聚集和增加脑血流量的作用，用于脑血管后遗症，视网膜中央静脉阻塞，眼前房出血等。《中国药典》2020版第一部中三七总皂苷的含量测定参照高效液相色谱法测定，在此参考药典中的分析条件对三七总皂苷的含量进行测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

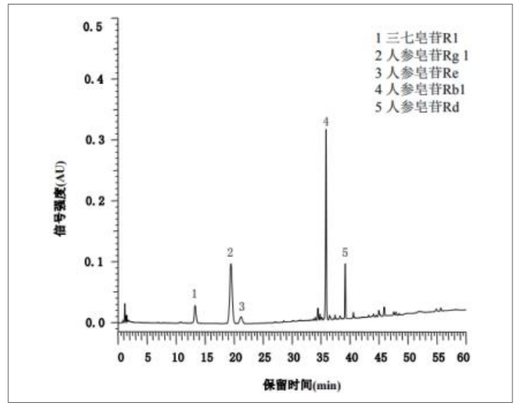
### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱 (柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | A:乙腈 B:水 (梯度洗脱) 20%A (0-20 min)→46%A (45 min) →55%A (55-60 min)→20%A(60.1-75 min) |
| 流速 | 1.5mL/min |
| 检测波长 | 203nm |
| 进样量 | 10μl |

### 样品的预处理

取本品 (粉末状) 25mg，精密称定置10mL容量瓶中加入70%甲醇溶解并稀释至刻度摇匀，待上机分析

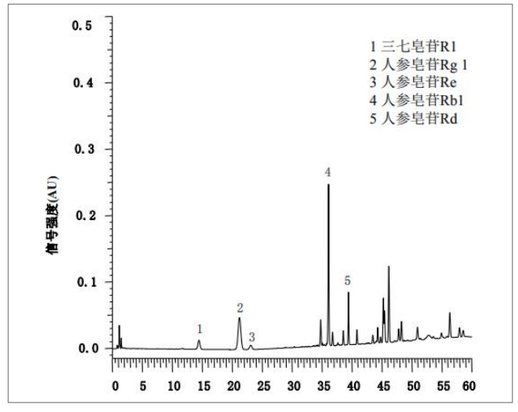
### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：2.5 mg/mL)

### 三七总皂苷的分析结果

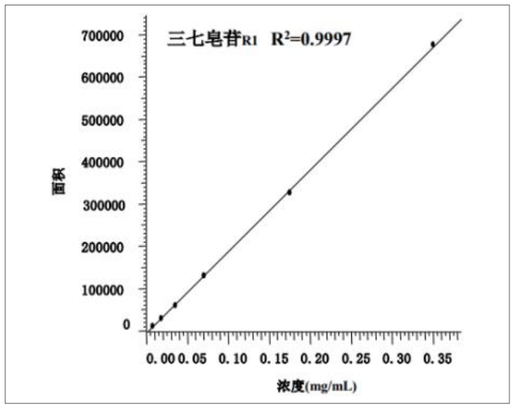
对三七总皂苷进行了含量的测定，通过计算得出三七总皂苷中含三七皂苷R1是1.71%，人参皂苷Rg1是7.26%，人参皂苷Re是0.94%，人参皂苷Rb1是 11.80%，人参皂苷Rd是 3.17%。



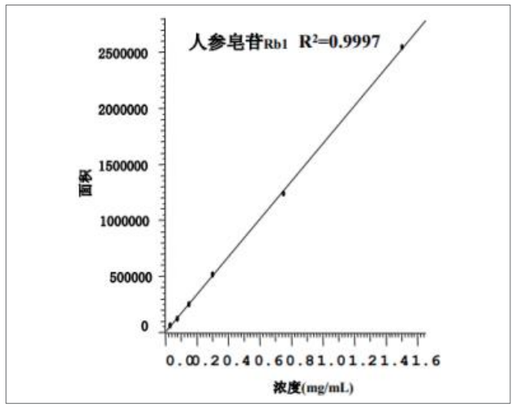

三七总皂苷的色谱图

### 标准曲线

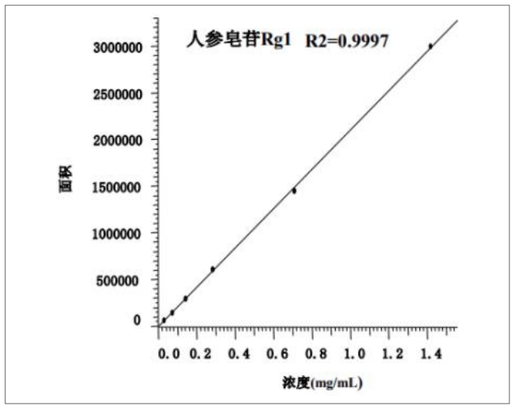
三七总皂苷中的各成分在0.1 ~ 5.0 mg/mL标准混合液的浓度范围内，得到了$R^2 \geqslant 0.9996$良好的线性关系。



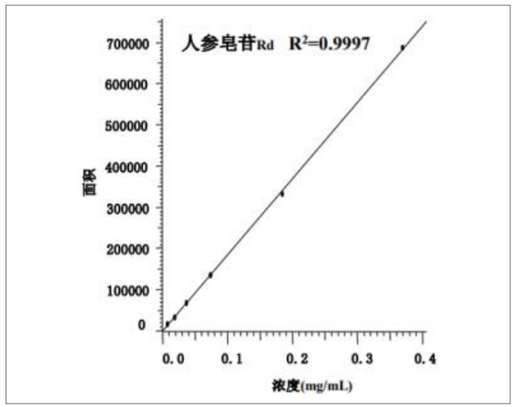

三七皂苷R1的标准曲线



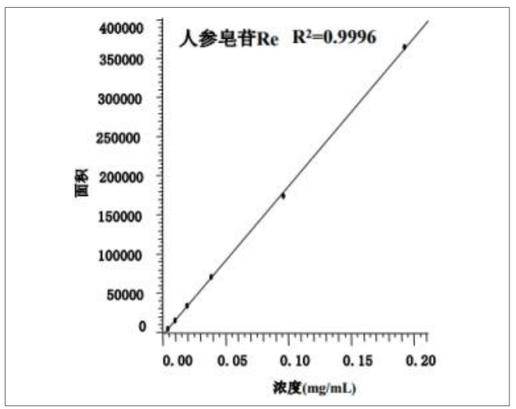

人参皂苷Rb1的标准曲线




人参皂苷Rg1的标准曲线




人参皂苷Rd的标准曲线




人参皂苷Re的标准曲线

## 系统适用性

（2.5 mg/mL 三七总皂苷标准混合液）

对系统适用性进行了确认，人参皂苷Rg1与人参皂苷Re的分离度为2.0，理论塔板数按人参皂苷Rg1峰计算，结果得到人参皂苷Rg1的理论塔板数和分离度均大于药典规定值，满足药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
| --- | --- | --- |
| 理论塔板数（N） | 6000以上 | 8956 |
| 分离度（R） | 1.5以上 | 2.0 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对三七中的三七总皂苷进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为三七的品质分析提供了解决方法。

# 酸枣仁中斯皮诺素的测定

应用编号：AN44-011

## 前言

酸枣仁别名枣仁、酸枣核、山枣仁、酸枣、酸枣核、酸枣子、棘仁、棘实、棘刺实、椹仁、椹枣仁、椹枣实、野枣仁、山酸枣仁、调睡参军、刺酸枣。有宁心安神；养肝；敛汗的功效，主治虚烦不眠；惊悸怔忡；体虚自汗、盗汗。在此使用SCION-UV按照中国药典2020年版一部中的含量测定方法对酸枣仁中的斯皮诺素进行了分析测定。根据规定的实验条件确认了系统适用性，并对市售的酸枣仁样品进行了含量测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25℃ |
| 流动相 | (A) 乙腈, (B) 水; 12% A (0min) → 17% A (10min) →18% A(16min) →100% A(22-30min) →12% A(30.1-45min) |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 335nm |
| 进样量 | 10μl |

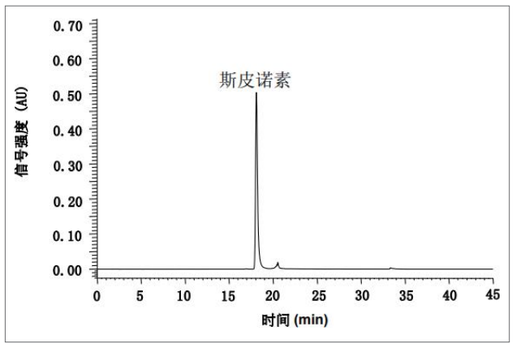
### 样品的预处理

精密称取本品粉末（过四号筛）1.0 g，置索式提取器中，加石油醚（60~90 ℃）适量；加热回流4小时，弃去石油醚液，药渣挥去溶剂，转移至锥形瓶中，加入70%乙醇20 mL；加热回流2小时，滤过，滤渣用70%乙醇5mL洗涤，合并洗液与滤液，回收溶剂至干，残渣加甲醇溶解，定容至5mL；

0.45μm滤膜过滤；

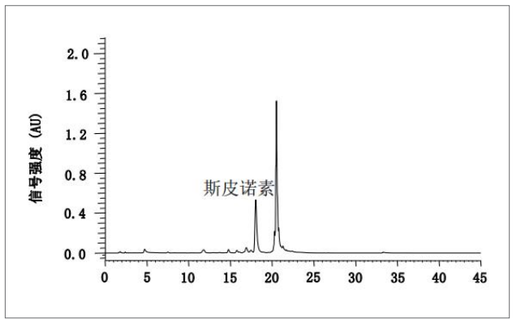
进样

### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：200 mg/L)

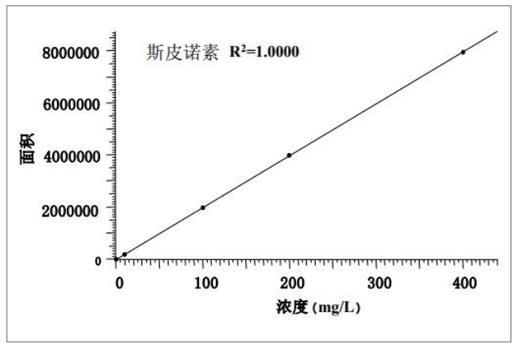
### 酸枣仁样品测定示例




斯皮诺素的色谱图

### 标准曲线

在1~400mg/L的浓度范围内，标准曲线线性良好，$R^2$为1.0000。重现性也得到了良好的结果。




### 系统适用性

| 名称 | 理论塔板数要求值 | 理论塔板数实测值 |
|---|---|---|
| 斯皮诺素 | ≥2000 | 36444 |

### 重现性

（200 mg/L，n=6）

| No. | 保留时间（min） | 面积 |
|---|---|---|
| RSD（%） | 0.06 | 0.36 |

### 定量结果

对市售的酸枣仁样品进行了测定，含量的测定结果满足药典中的要求值。

| 成分名称 | 成分面积 | 测定结果（成份含量%） | 药典规定值（成份含量%） |
|---|---|---|---|
| 斯皮诺素 | 4172487 | 0.104 | ≥0.030 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对酸枣仁中的斯皮诺素进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为酸枣仁的品质分析提供了解决方法。

# 天麻中天麻素和对羟基苯甲醇的总量的测定

应用编号：AN44-012

## 前言

天麻为兰科植物天麻的干燥块茎，具有平肝息风止痛之功效，它是一味常用而较名贵的中药，临床多用于头痛眩晕、肢体麻木、小儿惊风、癫痫抽搐、破伤风等病症。天麻的主要成分为天麻素、天麻苷元等酚类化合物及甾醇、有机酸、多种氨基酸、多糖、核苷等，其中天麻素为主要的活性物质之一。

《中国药典》2020版第一部中天麻的含量测定参照高效液相色谱法测定，以天麻素和对羟基苯甲醇的总量计。本报告参考药典中的分析方法，应用SCION LC6410紫外检测器对天麻中的天麻素和对羟基苯甲醇的总量进行了测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 乙腈 / 0.05%磷酸溶液 = 3 / 97 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 220nm |
| 进样量 | 5μl |

### 样品的预处理

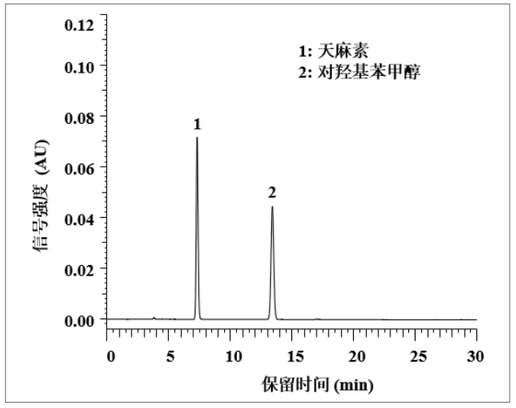
**样品制备**：粉碎成细粉，粉末过0.4mm孔径筛

**提取**：取本品粉末，精密称定2.000g，置50mL容量瓶中,加入稀乙醇至刻度，超声提取30min，冷却至室温

**浓缩**：过滤，取10 mL滤液在60°C下旋蒸浓缩至近干无醇味

**溶解待分析**：用乙腈-水（3:97）溶液将残渣溶解，转移至25mL容量瓶中，并用乙腈-水（3:97）溶液稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液，待分析。

### 标准样品测定示例

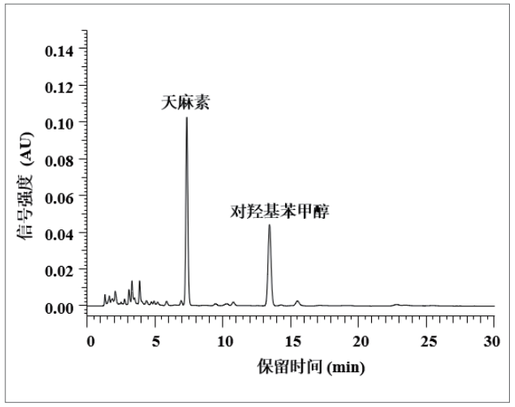



标准混合样品的色谱图 (浓度：1: 50 mg/L; 2: 25 mg/L)

### 含量测定

对天麻的含量进行了测定，以天麻素和对羟基苯甲醇的总量计，测得本品含天麻素和对羟基苯甲醇的总量为本品干燥品的0.59%左右，符合药典的要求。并测得其日内，日间等的精密度在3.25%以下，精密度良好。

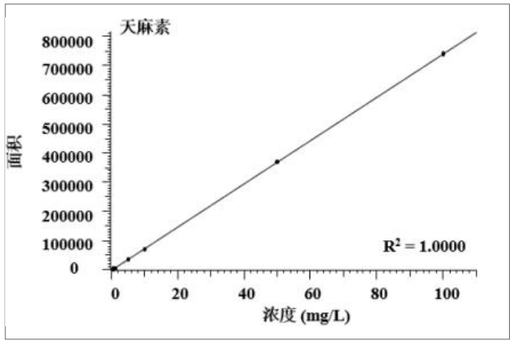


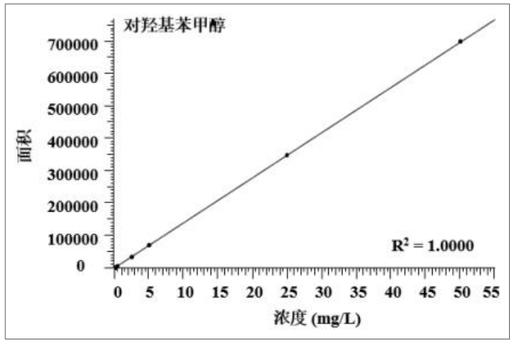



天麻的色谱图

### 标准曲线

天麻素和对羟基苯甲醇在一定的浓度范围内均得到了$R^2$ = 1.0000良好的线性关系。




### 系统适用性

进行了系统适用性实验，以标准混合溶液（50mg/L，25mg/L）为测试对象，确认了天麻素的理论塔板数，符合药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数（以天麻素计） | 5000以上 | 11993 |

### 重复性

（50mg/L, 25 mg/L 标准混合溶液，n=6）

| 成分 | 天麻素 | | 对羟基苯甲醇 | |
|---|---|---|---|---|
| NO | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 |
| 1 | 7.333 | 366631 | 13.427 | 345407 |
| 2 | 7.333 | 364748 | 13.427 | 344436 |
| 3 | 7.333 | 365422 | 13.427 | 345097 |
| 4 | 7.333 | 364976 | 13.433 | 344368 |
| 5 | 7.333 | 363066 | 13.427 | 343118 |
| 6 | 7.333 | 363878 | 13.433 | 342688 |
| AV. | 7.333 | 364787 | 13.429 | 344186 |
| RSD(%) | 0.00% | 0.34% | 0.02% | 0.31% |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对天麻中的天麻素和对羟基苯甲醇进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为天麻的品质分析提供了解决方法。

# 肠炎宁片的含量测定

应用编号：AN44-013

## 前言

肠炎宁片，一种中成药，由地锦草、金毛耳草、樟树根、香薷、枫树叶组成。它具有清热利湿，行气的功效，用于急慢性胃肠炎、腹泻、细菌性痢疾、小儿消化不良。《中国药典》2020版第一部中肠炎宁片的含量测定参照高效液相色谱法测定，本品每片含地锦草、金毛耳草以没食子酸计。本报告参考药典中的分析方法，应用SCION LC6430 二极管阵列检测器对肠炎宁片中没食子酸的含量进行了测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6430 二极管阵列检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱 (柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm) |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 甲醇 / 0.5%磷酸水溶液 = 10 / 90 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | DAD 220 - 400 nm (270 nm) |
| 进样量 | 10μl |

### 样品的预处理

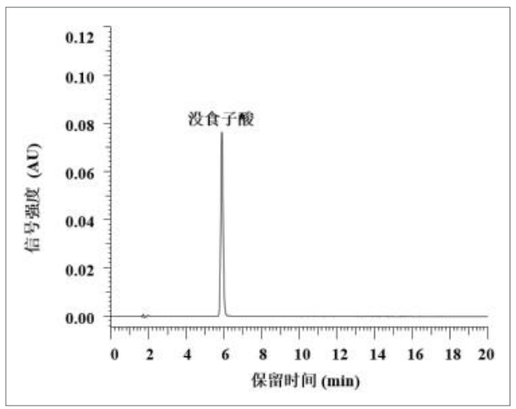
[肠炎宁片]

**样品制备**：取本品20片，除去包衣，精密称定，研细。

**回流提取**：取本品粉末，精密称定0.2000 g，加入50 mL甲醇，加热回流提取30 min，冷却至室温，过滤，用甲醇定容至50mL。

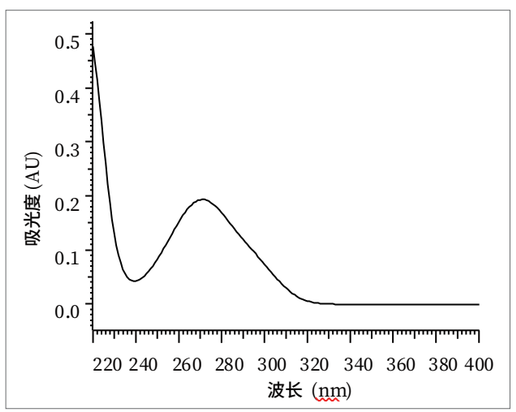
**浓缩定容**：取上述样液2mL，在70°C下用氮气吹干，残渣用2mL 10%甲醇水溶液溶解，涡旋混合1min。用0.45 μm微孔滤膜过滤，取续滤液，待分析。

### 标准样品测定示例




没食子酸标准样品的色谱图 (浓度：20 mg/L)

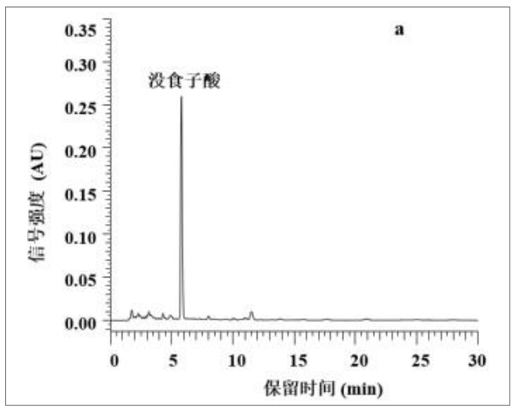
### 标准光谱图



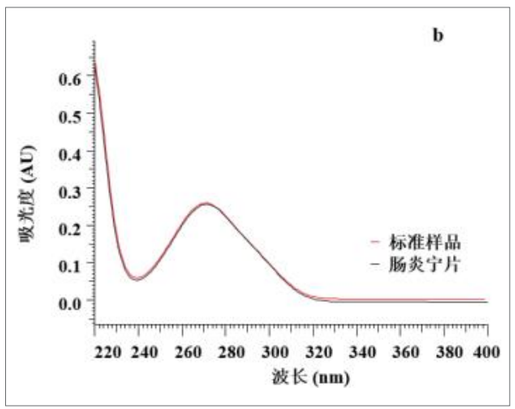

没食子酸标准样品的吸收光谱图

### 含量测定

对肠炎宁片的含量进行了测定，以没食子酸的含量计，测得肠炎宁片中没食子酸的含量为6.4mg左右，符合药典的要求。并测得其日内，日间等的精密度在2.27%以下，精密度良好。



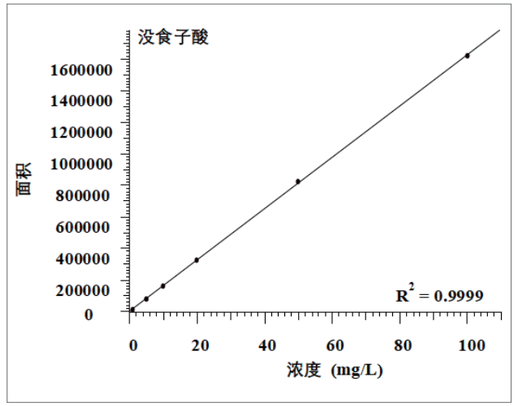

肠炎宁片的色谱图(a)




肠炎宁片中没食子酸与标准样品的光谱重叠图(b)

### 标准曲线

没食子酸在一定的浓度范围内得到了$R^2$=0.9999良好的线性关系。




### 重复性

(20 mg/L 标准溶液，n=6)

| 成分 | 没食子酸 | |
|---|---|---|
| NO. | 保留时间 | 峰面积 |
| 1 | 5.898 | 324817 |
| 2 | 5.900 | 324510 |
| 3 | 5.895 | 323708 |
| 4 | 5.895 | 325031 |
| 5 | 5.895 | 323251 |
| 6 | 5.892 | 323372 |
| AV. | 5.896 | 324115 |
| RSD% | 0.05% | 0.24% |

### 系统适用性

进行了系统适用性实验，以没食子酸标准溶液（20 mg/L）为测试对象，确认了没食子酸的理论塔板数，符合药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数（以没食子酸计） | 2500以上 | 11143 |

## 结论

使用SCION LC6000-DAD对肠炎宁片中的没食子酸进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为肠炎宁片的品质分析提供了解决方法。

# 复方左炔诺孕酮片的含量测定

应用编号：AN44-014

## 前言

复方左炔诺孕酮片，适应症为用于女性口服避孕。本品为复方制剂，其中的左炔诺孕酮能阻止孕卵着床，并使宫颈粘液粘稠度增加，阻止精子穿透。炔雌醇能抑制促性腺激素分泌，从而抑制卵巢排卵。两种成分配伍，既增强避孕作用，又减少了不良反应。

《中国药典》2020版第二部中复方左炔诺孕酮片的含量测定参照高效液相色谱法测定。本报告参考药典中的分析方法，应用 SCION LC6410紫外检测器对左炔诺孕酮片中的左炔诺孕酮和炔雌醇的含量进行了测定。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6410 紫外检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 乙腈 / 水 = 60 / 40 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | 220nm |
| 进样量 | 10μl |

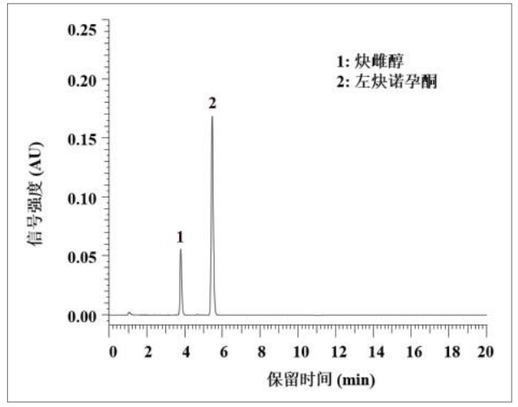
### 样品的预处理

[样品前处理]

复方左炔诺孕酮片（规格：含左炔诺孕酮0.15mg，炔雌醇0.03mg）

取本品10片，精密称定，研细，精密称取适量（约相当于1片的含量），置10mL容量瓶中加入流动相适量，超声40分钟使其样品溶解，放冷，并用流动相稀释至刻度，摇匀，过滤，取续滤液，待上机分析

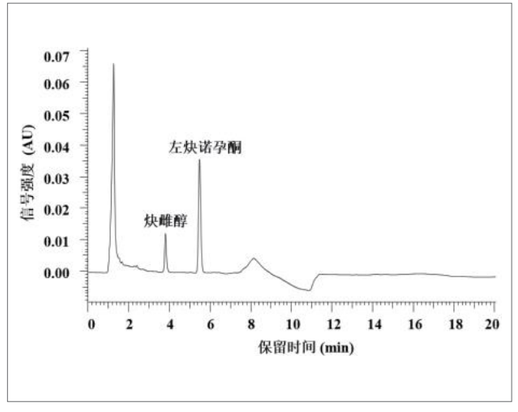
### 标准样品测定示例




标准混合样品的色谱图 (浓度：1: 15 mg/L; 2: 75 mg/L)

### 含量测定

对复方左炔诺孕酮片的含量进行了测定，测得本品含左炔诺孕酮为标示量的100.32%左右，含炔雌醇为标示量的101.45%左右，符合药典的要求。并测得其日内，日间等的精密度在0.38%和0.57%以下，精密度良好。

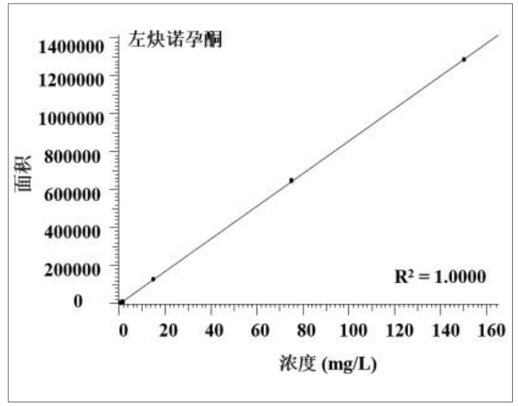


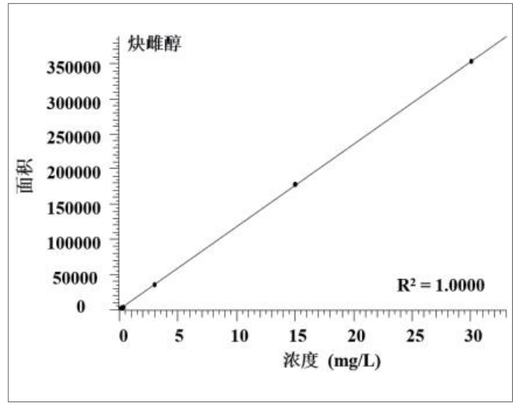

复方左炔诺孕酮片的色谱图



### 标准曲线

左炔诺孕酮和炔雌醇在一定的浓度范围内均得到了 $R^2$ = 1.0000良好的线性关系。




### 重复性

（15 mg/L, 75 mg/L 标准混合溶液，n=6）

| 成分 | 炔雌醇 | | 左炔诺孕酮 | |
|---|---|---|---|---|
| NO | 保留时间 | 峰面积 | 保留时间 | 峰面积 |
| 1 | 3.800 | 173914 | 5.473 | 642967 |
| 2 | 3.807 | 174486 | 5.473 | 644630 |
| 3 | 3.800 | 175166 | 5.467 | 646917 |
| 4 | 3.800 | 174663 | 5.467 | 648490 |
| 5 | 3.807 | 174910 | 5.480 | 649416 |
| 6 | 3.807 | 175596 | 5.473 | 648134 |
| AV. | 3.804 | 174789 | 5.472 | 646759 |
| RSD(%) | 0.10% | 0.33% | 0.09% | 0.38% |

### 系统适用性

进行了系统适用性实验，以标准混合溶液（15mg/L, 75 mg/L）为测试对象，确认了左炔诺孕酮的理论塔板数和左炔诺孕酮峰与炔雌醇峰峰之间的分离度，符合药典要求。

| 项目 | 规定值 | 测定值 |
|---|---|---|
| 理论塔板数（以左炔诺孕酮计） | 5000以上 | 11965 |
| 分离度（R） | 2.5以上 | 6.7 |

## 结论

使用SCION LC6000-UV对复方左炔诺孕酮片中的左炔诺孕酮和炔雌醇进行了测定，得到了良好的线性和重现性，理论塔板数满足药典要求，为复方左炔诺孕酮片的品质分析提供了解决方法。

# 药材中黄曲霉毒素B族和G族柱后衍生HPLC检测方案

应用编号：AN44-015

## 前言

黄曲霉毒素（Afatoxin，AF）作为黄曲霉和寄生曲霉的一类次级代谢产物，最早发现于20世纪60年代。现阶段已知其衍生产物约20余种（B1、B2、G1、G2、M1、M2等），广泛存在于药材中。

值得关注的是，黄曲霉毒素一直被世界卫生组织(WHO)癌症研究机构划定为I类致癌物，是一种毒性极强的剧毒物质（其中B1毒性最强），所以国际上对于霉菌毒素含量都有非常严格的限量要求。

目前，对于药材中B族和G族黄曲霉毒素的检测方法，主要参考如下标准：

·《中国药典》2020版，2351通则（具体项目见表 1）

对于常规反相液相色谱，由于所用的溶剂（水、甲醇、乙腈）会使黄曲霉毒素B1和G1发生荧光猝灭现象，很难直接测定。所以为了克服这一现象，通常选用柱前或柱后衍生的方式，来增加B1和G1的荧光响应值，以满足检测标准的需求。



目前常见的衍生方法有：TFA（三氟乙酸）柱前衍生法、柱后溴/碘试剂衍生法、柱后光化学衍生法以及柱后电化学衍生法。其中柱前衍生前处理过程较复杂、自动化程度低，所以现在主流方式为柱后衍生法，操作简单，灵敏度高。

本应用介绍了三种柱后衍生方案，使用赛里安LC6000高效液相色谱仪，配备高灵敏度的荧光检测器（FL6440）。三种方案均能满足检测标准的需求，而从使用便捷性和灵敏度方面考虑，柱后光化学衍生法更为简便。

表1 2020版《中国药典》检测黄曲霉毒素的药材品种

| 序号 | 药材品种 |
|---|---|
| 1 | 九香虫 |
| 2 | 土鳖虫 |
| 3 | 大枣 |
| 4 | 马钱子 |
| 5 | 水蛭 |
| 6 | 地龙 |
| 7 | 肉豆蔻 |
| 8 | 延胡索 |
| 9 | 全蝎 |
| 10 | 决明子 |
| 11 | 远志 |
| 12 | 麦芽 |
| 13 | 陈皮 |
| 14 | 使君子 |
| 15 | 柏子仁 |
| 16 | 胖大海 |
| 17 | 莲子 |
| 18 | 桃仁 |
| 19 | 蜈蚣 |
| 20 | 蜂房 |
| 21 | 槟榔 |
| 22 | 酸枣仁 |
| 23 | 僵蚕 |
| 24 | 薏苡仁 |



## 柱后碘衍生方案

参照2020年新版《中国药典》2351通则中真菌毒素测定法，以0.05%的碘溶液为衍生试剂，使用赛里安LC6000高效液相色谱仪四元梯度系统，搭配荧光检测器和柱后衍生单元测定四种黄曲霉毒素。

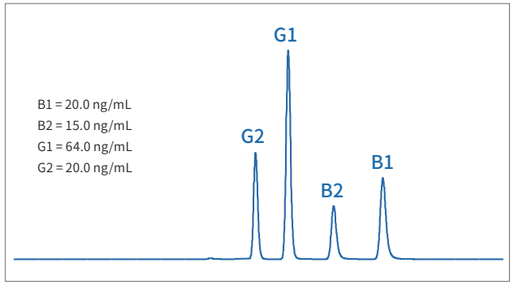
### 色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | BEH C18，5um，4.6mm×250mm |
| 流动相 | 甲醇：乙腈：水=40：18：42 |
| 流速 | 0.8ml/min |
| 柱温 | 40°C |
| 进样量 | 20μL |
| 衍生溶液 | 0.05%碘溶液 |
| 衍生溶液流速 | 0.30ml/min |
| 衍生温度 | 70°C |
| 检测波长 | Ex=360nm，Em=450nm |

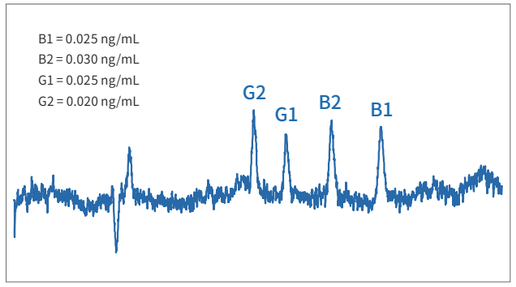
### 标准谱图示例

从谱图可以看出，使用柱后碘衍生法测定，四种黄曲霉毒素B1、B2、G1和G2得到了很好的分离，分离度均大于1.5，满足药典要求。

得益于赛里安 FL6440 高灵敏度的荧光检测器，四种黄曲霉毒素的最低检出限远小于2020药典所规定的B1、G1检出限0.5μg/kg（约0.30ng/mL）以及B2、G2检出限0.2μg/kg（约 0.12ng/mL）。




柱后碘衍生法标样谱图




柱后碘衍生法检出限谱图

## 柱后溴衍生方案

参考柱后溴衍生的检测方法，使用50mg/L三溴化吡啶作为衍生试剂，同样采用赛里安LC6000高效液相色谱仪四元梯度系统，搭配荧光检测器和柱后衍生单元测定四种黄曲霉毒素。

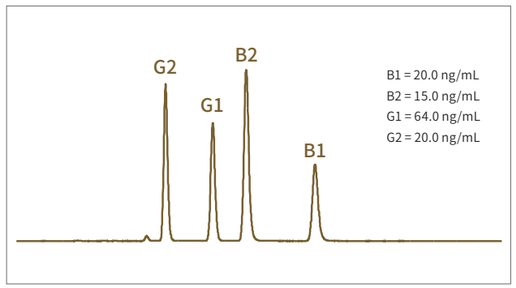
### 色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | BEH C18，5um，4.6mm×250mm |
| 流动相 | 甲醇：乙腈：水=16：16：68 |
| 流速 | 1.0ml/min |
| 柱温 | 40°C |
| 进样量 | 50μL |
| 衍生溶液 | 0.05g/L三溴化吡啶 |
| 衍生溶液流速 | 0.45ml/min |
| 衍生温度 | 70°C |
| 检测波长 | Ex=360nm，Em=440nm |

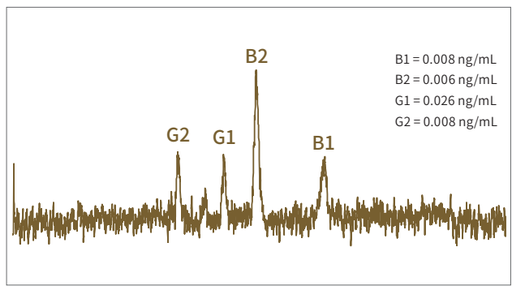
### 标准谱图示例

使用与碘衍生法相同浓度的标准品溶液，但是进样量有所差异。结果可见，B1、B2、G1、G2四种黄曲霉毒素同样实现了基线分离。

从检出限上看，B1和G1检出限为0.03μg/kg（约0.075ng/mL），B2和G2检出限为0.01μg/kg（约0.025ng/mL），实验结果完全满足。




柱后溴衍生法标样谱图




柱后碘衍生法检出限谱图

## 柱后光化学衍生方案

与柱后溴/碘试剂衍生相比，柱后光化学衍生具备更好的易用性。配置上光衍生单元连接于色谱柱和荧光检测器中间即可直接使用，同时无需配制任何化学试剂。操作简便的同时，灵敏度也能得到有效保证，特别适用于大量样品的常规分析测定。

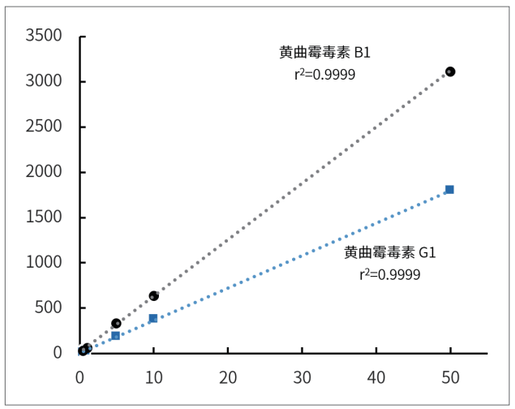
### 色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | BEH C18，5um，4.6mm×250mm |
| 流动相 | 甲醇：乙腈：水=16：16：68 |
| 流速 | 0.8ml/min |
| 柱温 | 40°C |
| 进样量 | 20μL |
| 光衍生单元 | 254nm |
| 检测波长 | Ex=360nm，Em=450nm |

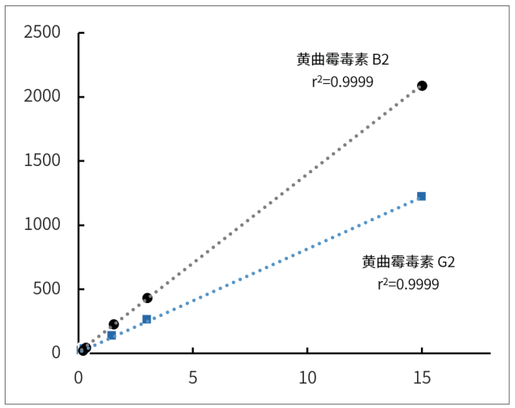
### 标准谱图示例

配制标准系列工作溶液：黄曲霉毒素B1和G1浓度0.1~50ng/mL、B2和G2浓度0.03~15ng/mL。按上述测试条件测试并建立标准曲线（如图所示），黄曲霉毒素B1、B2、G1、G2标准工作曲线线性相关性$r^2$均为0.9999。

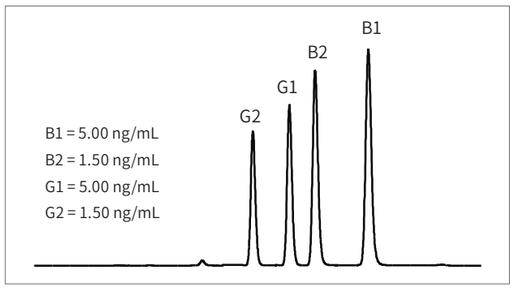
可见，采用柱后光化学衍生结合荧光检测器进行测定，可以满足法规对于黄曲霉毒素的检测需要，并且相比其他方法更易与操作。



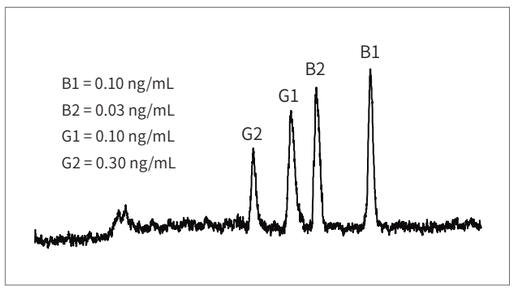

黄曲霉毒素B1和G1的标准曲线




黄曲霉毒素B2和G2的标准曲线




柱后光化学衍生法标样谱图




柱后光化学衍生法检出限谱图

## 结论

本应用介绍了三种柱后衍生方案，均使用赛里安LC6000高效液相色谱仪（配备高灵敏度的荧光检测器）。实验结果可靠，且能够满足各项标准对于黄曲霉毒素检测的灵敏度要求，尤其是对药材在生产储存过程中的品质把控提供了解决方案。

# 药材中黄曲霉毒素M族的测定

应用编号：AN44-016

## 前言

黄曲霉毒素是由黄曲霉和寄生曲霉产生的毒性致癌物，自然界至少存在14种以上不同的黄曲霉毒素。黄曲霉毒素B1是公认最具毒性的。黄曲霉毒素M1和黄曲霉毒素M2是黄曲霉毒素B1和黄曲霉毒素B2的代谢产物。高浓度的黄曲霉毒素可以产生急性肝坏死，导致肝硬化或肝癌。慢性接触黄曲霉毒素会增加患肝胆疾病的风险。本文参考 GB 5009.24-2016 中的检方法，应用 SCION LC6440 荧光检测器对药材饮片中黄曲霉毒素进行了分析。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6440 荧光检测器(超高灵敏度，水拉曼峰S/N＞3000)

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 40°C |
| 流动相 | 水 / 乙腈/甲醇= 70/15/15 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | FLD: Ex=360 nm ; Em=430 nm |
| 进样量 | 50μl |

### 样品的预处理

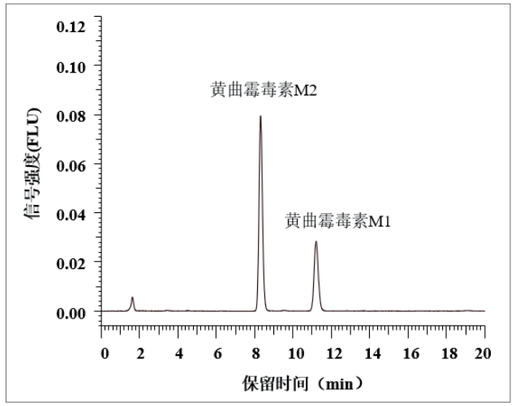
**药材饮片样品**

药材饮片样品4.0g → 加入10mL甲醇 → 旋涡混合3min → 10000r/min 离心10min → 取全部上精液（12mL）→ 加入40mL PBS缓冲液 → 获得稀释液

**免疫亲和净化**

全部的稀释液 → 滤液以1 滴/s流速通过免疫亲和柱 → 用10mL水以1 滴/s流速淋洗免疫亲和柱

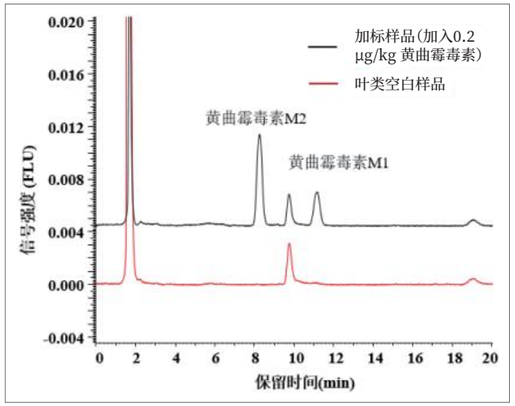
### 标准样品测定示例



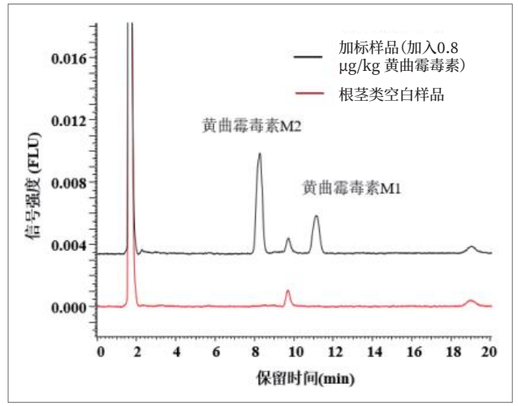

标准样品的色谱图(浓度：6.4μg/L)

### 样品的测定示例

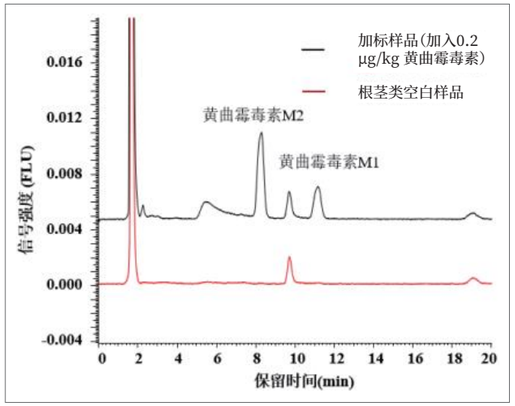
药材饮片等样品进行测定，均未检出M族黄曲霉毒素。对药材饮片样品进行加标回收率实验，在0.2μg/kg的添加浓度下，样品中黄曲霉毒素M族的加标回收率在99.37%-101.36%。对药材饮片样品进行加标回收率实验，在0.8μg/kg的添加浓度下，样品中黄曲霉毒素M族的加标回收率在94.02%-103.29%。



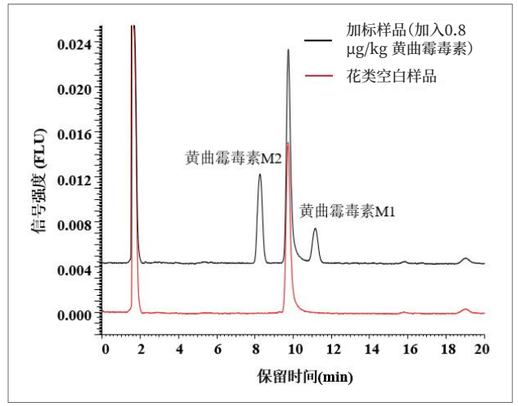

叶类饮片空白样品与添加样品的色谱重叠图



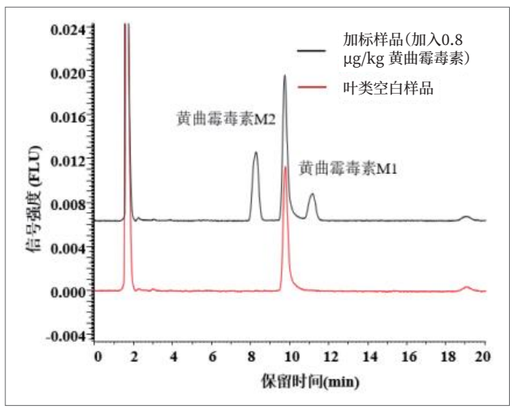

根茎类饮片空白样品与添加样品的色谱重叠图




根茎类饮片空白样品与添加样品的色谱重叠图



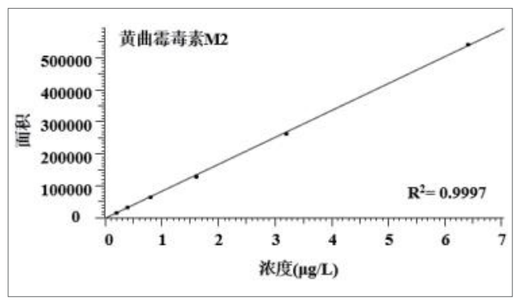

花类饮片空白样品与添加样品的色谱重叠图

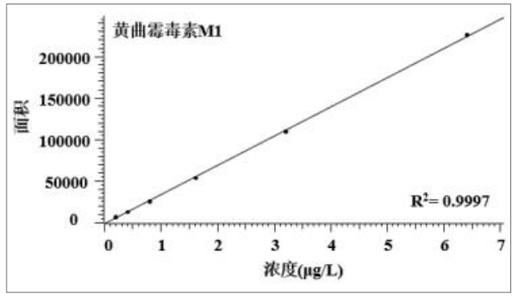



叶类饮片空白样品与添加样品的色谱重叠图

### 标准曲线

黄曲霉毒素M族在0.2 ~ 6.4 μg/L的浓度范围内线性关系良好，$R^2$为0.9997。重现性良好。






## 重复性

（6.4 μg/L 标准溶液，n=6）

| 序号 | 黄曲霉毒素 M2(6.4 μg/L) | | 黄曲霉毒素 M1(6.4 μg/L) | |
|---|---|---|---|---|
| NO. | RT(min) | Area | RT(min) | Area |
| 1 | 8.307 | 505888 | 11.193 | 221544 |
| 2 | 8.300 | 506057 | 11.193 | 221600 |
| 3 | 8.300 | 506723 | 11.193 | 221857 |
| 4 | 8.307 | 505794 | 11.200 | 220776 |
| 5 | 8.300 | 507825 | 11.193 | 220186 |
| 6 | 8.307 | 508939 | 11.200 | 221147 |
| AVG | 8.304 | 506871 | 11.195 | 221185 |
| SD | 0.004 | 1265 | 0.004 | 620 |
| RSD | 0.05% | 0.25% | 0.03% | 0.28% |

## 结论

本应用介绍了黄曲霉毒素M族的检测方案，使用赛里安LC6000高效液相色谱仪（配备高灵敏度的荧光检测器）。实验结果可靠，且能够满足各项标准对于黄曲霉毒素M族检测的灵敏度要求，对根茎类、叶类样品进行了添加回收率实验分析，均得到了良好的结果。



# 药品胶囊外壳中苏丹红染料的测定

应用编号：AN44-017

## 前言

苏丹红为亲脂性偶氮染料，主要用于油彩、机油、蜡和鞋油等产品的染色，是应用广泛的化工合成染色剂。苏丹红包括苏丹红Ⅰ、苏丹红Ⅱ、苏丹红Ⅲ和苏丹红Ⅳ四种，具有致突变性和致癌性，对人体的肝肾器官具有明显的毒性作用。《添加剂使用卫生标准》中允许使用的添加剂不包括苏丹红，即苏丹红是被国家标准明确禁止使用的，而在药品包衣、胶囊等实际生产中，为了使颜色更加鲜亮，不法商贩可能会添加此添加剂。本报告参考GB/T19681-2005中高效液相色谱法，应用SCION LC6430二极管阵列检测器对药材包衣、胶囊等中的苏丹红染料进行了检测。

## 实验部分

### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

· 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
· SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
· SCION LC6310 柱温箱
· SCION LC6430 二极管阵列检测器

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | C18柱（柱长150mm,柱内径4.6mm;填料粒径5μm） |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | 乙腈 / 水= 95 / 5 |
| 流速 | 1.0mL/min |
| 检测波长 | DAD: 220 - 600 nm (500 nm) |
| 进样量 | 10μl |

### 样品的预处理

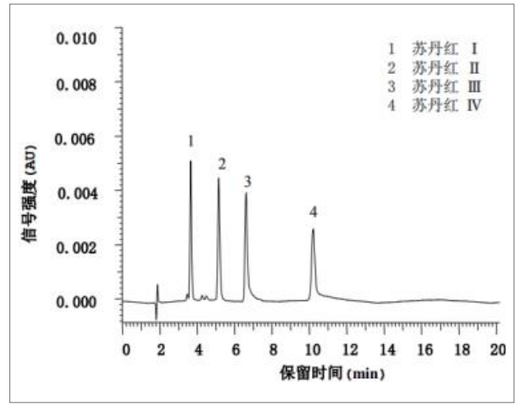
**辣椒粉**

称取1.000g样品于三角瓶中，加入10mL正己烷，超声5min过滤，用10mL正己烷洗涤残渣数次，至洗出液无色
合并正己烷液，用旋转蒸发仪浓缩至干，用5mL正己烷溶解残渣，待净化

**SPE柱净化操作过程**

活化：依次用5 mL二氯甲烷，5 mL正己烷活化小柱
上样：将待净化液上样到柱上，再用2mL正己烷润洗，润洗液也上样到柱上
淋洗：用5mL正己烷淋洗柱
洗脱：用5mL二氯甲烷洗脱收集
浓缩定容：将收集液在40°C下氮气吹干，用1mL乙腈定容，超声溶解，再漩涡混合10s，过0.45μm滤膜，待上机分析

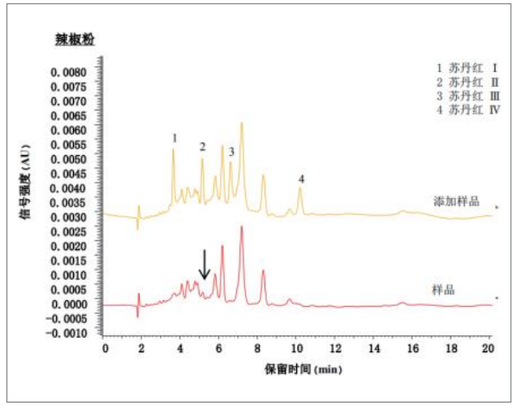
### 标准样品测定示例




标准样品的色谱图(浓度：1.00 mg/L)

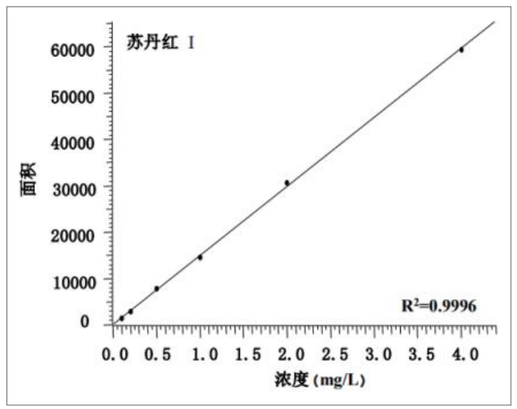
### 样品的测定示例

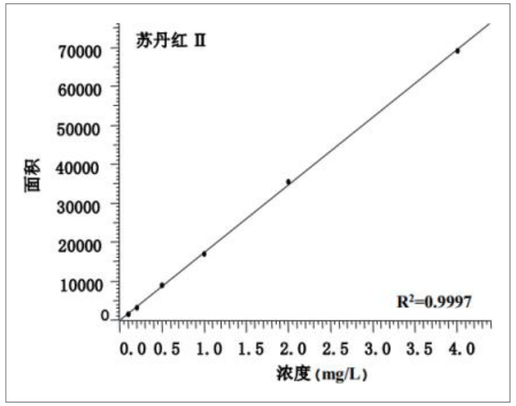
对胶囊包装中的苏丹红Ⅰ，苏丹红Ⅱ，苏丹红Ⅲ和苏丹红Ⅳ进行了测定，在样品中只检测到苏丹红Ⅱ组分，但不能达到定量限，且未检测到其它组分。因此，在样品中添加苏丹红各标准样品进行测定，加标回收率在84%～114%之间。




## 标准曲线

苏丹红各组分在0.1 ~ 4.00 mg/L标准溶液的浓度范围内，均得到了$R^2$≥0.9995良好的线性关系。




## 重复性

(1.00 mg/L 标准溶液，n=6)

| 成分 | 苏丹红 I | 苏丹红 II | 苏丹红 III | 苏丹红 IV |
|---|---|---|---|---|
| 保留时间 (%RSD) | 0.00 | 0.07 | 0.06 | 0.09 |
| 封面积 (%RSD) | 0.46 | 0.33 | 0.40 | 0.42 |

## 结论

本应用介绍了苏丹红染料的检测方案，使用赛里安LC6000高效液相色谱仪（配备高灵敏度的DAD检测器）。实验结果可靠，能够满足各项标准对于苏丹红检测的灵敏度要求，且对一些胶囊外壳样品进行了添加回收率检测，对药品生产包装的质量把控提供了解决方法。



# 中药材外包装中多环芳烃的测定

应用编号：AN44-018

## 前言

多环芳烃（Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs）是指分子中含有两个或两个以上并环苯环结构的烃类化合物，并且不包含任何杂原子和取代基，是一种重要的污染物，通常存在于煤、石油、木材、烟草、有机高分子化合物等有机物在不完全燃烧时产生的挥发性物质中。迄今已发现有200多种PAHs,其中有相当部分具有致癌性，对人体健康危害很大。

药材饮片、胶囊外包装等经常受到多环芳烃的污染，可能会引起对人体的毒性，所以对于外包装中多环芳烃的检测是尤为重要的。本文参考国家环境保护标准《HJ 647-2013 环境空气和废气气相和颗粒物中多环芳烃的测定高效液相色谱法》，应用SCION LC6440荧光检测器系统对15种常见的多环芳烃进行了测定。15种多环芳烃在选定的分析条件下获得了良好的分离，方法检出限远远低于标准要求值，充分体现了LC6440荧光检测器高灵敏度的特点。

## 实验部分

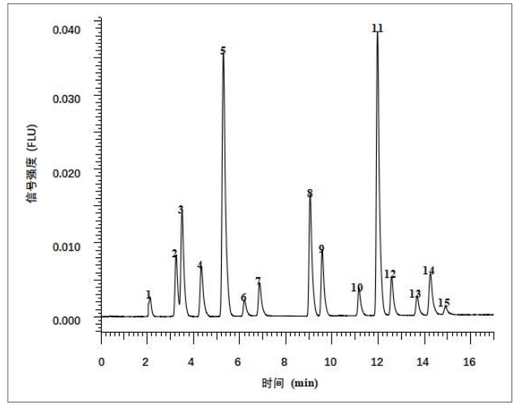
### 仪器

采用包含以下模块的赛里安LC6000高效液相色谱仪系统：

- 集成六通道真空脱气的SCION LC6100四元泵
- SCION LC6210 高精度、低残留自动进样器
- SCION LC6310 柱温箱
- SCION LC6440 荧光检测器（超高灵敏度，水拉曼峰S/N＞3000）

### 液相色谱条件

| | |
|---|---|
| 色谱柱 | 多环芳烃柱(柱长100mm,柱内径3.0mm;填料粒径3μm |
| 柱温箱 | 25°C |
| 流动相 | A:乙腈　B:水(A, B梯度洗脱) |
| 流速 | 0.75mL/min |
| 检测波长 | 波长程序设定 |
| 进样量 | 5μl |



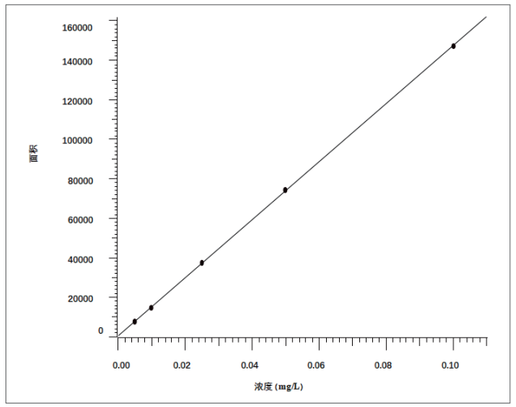

标准样品的色谱图(浓度各：0.005 mg/L)

### 多环芳烃及其对应的检测波长

| 序号 | 名称 | Ex(nm) | Em(nm) |
|---|---|---|---|
| 1 | 萘 | 280 | 324 |
| 2 | 苊 | 280 | 324 |
| 3 | 芴 | 280 | 324 |
| 4 | 菲 | 254 | 350 |
| 5 | 蒽 | 254 | 400 |
| 6 | 荧蒽 | 290 | 460 |
| 7 | 芘 | 336 | 376 |
| 8 | 苯并 (a) 蒽 | 275 | 385 |
| 9 | 屈 | 275 | 385 |
| 10 | 苯并 (b) 荧蒽 | 305 | 430 |
| 11 | 苯并 (k) 荧蒽 | 305 | 430 |
| 12 | 苯并 (a) 芘 | 305 | 430 |
| 13 | 二苯并 (a, h) 蒽 | 305 | 430 |
| 14 | 苯并 (g, h, i) 苝 | 305 | 430 |
| 15 | 茚并 (1,2,3-cd) 芘 | 305 | 500 |

### 标准曲线

在多环芳烃浓度为0.005~0.1mg/L范围内，所有成分均得到了$R^2$≥0.9998的良好线性关系。




多环芳烃标准曲线

## 重现性

| 序号 | 成分名 | 保留时间 (%RSD) | 峰面积 (%RSD) |
|---|---|---|---|
| 1 | 萘 | 0.07 | 0.39 |
| 2 | 苊 | 0.05 | 0.43 |
| 3 | 芴 | 0.05 | 0.47 |
| 4 | 菲 | 0.07 | 0.17 |
| 5 | 蒽 | 0.03 | 0.43 |
| 6 | 荧蒽 | 0.02 | 0.25 |
| 7 | 芘 | 0.03 | 0.23 |
| 8 | 苯并 (a) 蒽 | 0.03 | 0.36 |
| 9 | 屈 | 0.04 | 0.38 |
| 10 | 苯并 (b) 荧蒽 | 0.05 | 0.39 |
| 11 | 苯并 (k) 荧蒽 | 0.05 | 0.45 |
| 12 | 苯并 (a) 芘 | 0.05 | 0.45 |
| 13 | 二苯并 (a, h) 蒽 | 0.07 | 0.43 |
| 14 | 苯并 (g, h, i) 苝 | 0.07 | 0.28 |
| 15 | 茚并 (1,2,3-cd) 芘 | 0.08 | 0.41 |

## 检出限

| 序号 | 成分名 | 检出限 (mg/L) | 测定下限 (mg/L) |
|---|---|---|---|
| 1 | 萘 | 0.0007 (0.037) | 0.0023 (0.15) |
| 2 | 苊 | 0.0003 (0.015) | 0.0009 (0.06) |
| 3 | 芴 | 0.0002 (0.009) | 0.0005 (0.04) |
| 4 | 菲 | 0.0003 (0.017) | 0.001 (0.07) |
| 5 | 蒽 | 0.0001 (0.01) | 0.0002 (0.04) |
| 6 | 荧蒽 | 0.001 (0.015) | 0.0033 (0.06) |
| 7 | 芘 | 0.0005 (0.008) | 0.0016 (0.04) |
| 8 | 苯并 (a) 蒽 | 0.0001 (0.007) | 0.0004 (0.03) |
| 9 | 屈 | 0.0002 (0.01) | 0.0008 (0.04) |
| 10 | 苯并 (b) 荧蒽 | 0.0006 (0.009) | 0.002 (0.04) |
| 11 | 苯并 (k) 荧蒽 | 0.0001 (0.006) | 0.0002 (0.03) |
| 12 | 苯并 (a) 芘 | 0.0005 (0.007) | 0.0016 (0.03) |
| 13 | 二苯并 (a, h) 蒽 | 0.0008 (0.007) | 0.0028 (0.03) |
| 14 | 苯并 (g, h, i) 苝 | 0.0004 (0.013) | 0.0013 (0.06) |
| 15 | 茚并 (1,2,3-cd) 芘 | 0.0019 (0.01) | 0.0063 (0.04) |

## 结论

本应用介绍了多环芳烃的检测方案，使用赛里安LC6000高效液相色谱仪（配备高灵敏度的FLD检测器）。实验结果可靠，能够满足各项标准对于多环芳烃检测的灵敏度要求，对药品包装的质量把控提供了解决方法。



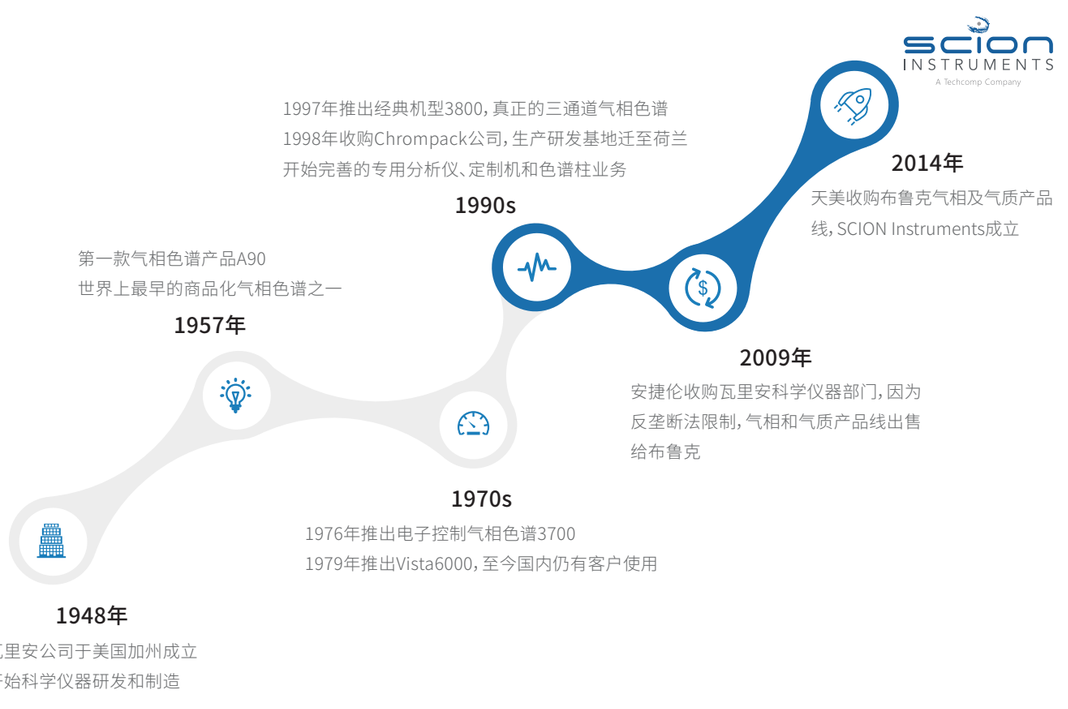
scion INSTRUMENTS
A Techcomp Company

# 赛里安（原瓦里安）气相色谱66周年

1957年瓦里安公司推出第一台商品化气相色谱A-90-C

天美色谱产品线拥有SCION（赛里安）和Techcomp（天美）两大品牌，2014年天美与布鲁克达成协议收购原瓦里安的气相色谱与气质联用产品线，经过数年的匠心培育，当初的这颗嫩芽在天美手中开枝散叶，如今天美色谱产品线拥有完善的产品体系，形成了基于色谱的全套解决方案，包括气相色谱，气质联用，液相色谱，样品处理及进样装置，色谱柱及消耗品和色谱数据系统等六大业务模块，为色谱用户的不同应用需求提供一站式解决方案。



# 天美色谱产品全套解决方案

## 气相色谱



Techcomp GC 7980



赛里安 436i

国产好仪器



赛里安 456i



SCION 8300 GC



SCION 8500 GC

## 液相色谱/氨基酸分析仪/离子色谱



赛里安 LC 6000



赛里安 Artemis 6000



Techcomp IC 1020

## 气质联用仪



赛里安436i-eSQ



SCION 8700 SQ GC-MS



SCION 8900 TQ GC-MS

## 色谱柱及消耗品



## SCION HT3 顶空自动进样器



## 色谱数据处理系统

Compass CDS