

反相液相色谱法测定白藜芦醇胶囊中的白藜芦醇

赵海燕 赵榕 王正 罗仁才
(北京市疾病预防控制中心,北京 100013)

摘要:为监测保健食品中的有效成分,建立了高效液相色谱法测定白藜芦醇胶囊中白藜芦醇含量的方法。实验采用 Kromasil C₁₈柱,以乙腈+水(体积比 30+70)溶液为流动相,用紫外检测器于 304 nm 处检测。结果表明,白藜芦醇浓度在 10~250 μg/mL 时,浓度与峰面积呈良好的线性关系($r=0.9999$);加标回收率为 92.5%~102.6%;最低检出浓度 0.6 mg/g。方法的精密度高,相对标准偏差(RSD)为 3.3%。方法快速、简便、准确,可作为胶囊类保健食品质量检验的一个定量检验方法。

关键词:色谱法,高压液相;营养保健品;植物

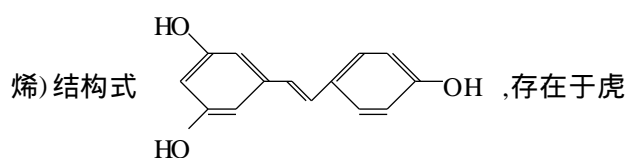
Quantitative analysis of resveraerol by HPLC

Zhao Haiyan Zhao Rong Wang Zheng Lo Rencai
(Beijing Municipal Center for Disease Prevention and Control, Beijing 100013, China)

Abstract: Resveraerol in resveraerol capsule was quantitatively determined by high performance liquid chromatography with Kromasil C₁₈ column, a mixture of CH₃CN+H₂O (30+70, volume ratio) as mobile phase and UV detection at 304 nm. There was a good linear relationship within the concentration of 10~250 μg/mL ($r=0.9999$). The recovery was 92.5%~102.6% and the relative standard deviation was 3.3% ($n=6$). The detection limit was 0.6 mg/g. The method is rapid, simple, accurate and reproducible. The method is proposed to be used for quality control of aloe products.

Key Words: Chromatography, High Pressure Liquid; Dietary Supplements; Plants

白藜芦醇(resveraerol, 3,4,5-三羟基二苯乙烯)结构式



白藜芦醇能够阻止低密度脂蛋白的氧化,具有潜在的防治心血管疾病、防癌、抗病毒及免疫调节作用,其作用主要是由于它的抗氧化特性,^[1]能抑制血小板聚集,减少心脏病的发生和控制其发展;^[2]还具有抗菌、抗衰老作用。近年来,美国天然药物研究所(CNN)研究发现,白藜芦醇具有抗艾滋病的作用。因此,现在市场上出现了很多以白藜芦醇为主要原料和功效成分的保健食品。

目前,对白藜芦醇的定量分析报道较少,有薄层

扫描法、^[3]紫外分光光度法。^[4]本文建立了反相高效液相色谱法测定保健食品中白藜芦醇的方法。

1 材料与方法

1.1 方法原理 样品中的白藜芦醇用甲醇超声提取,液相色谱 C₁₈柱分离,相对保留时间定性,峰面积外标法定量。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 美国 Waters-2690 高效液相色谱仪,配 996 二极管矩阵检测器,Millennium32 工作站,超纯水发生器(美国 Milliore 公司),超声波提取器。

1.2.2 试剂 白藜芦醇标准品(中国药品生物制品检定所);乙腈(色谱纯,美国 Fisher 公司);去离子水(超纯水器发生);甲醇(分析纯,北京化工厂)。

1.3 色谱条件 色谱柱 Kromasil C₁₈柱(200 mm × 4.6 mm × 5 μm);流动相 水+乙腈=70+30;流速 1.0 mL/min;紫外检测波长 304 nm,光谱检测范围

作者简介:赵海燕 女 助理工程师

200 ~ 400 nm;进样量 10 μ L。

1.4 标准溶液的配制 准确称取白藜芦醇标准品 10.0 mg,用甲醇溶液定容至 10.0 mL 容量瓶中,摇匀,配制成白藜芦醇标准储备液(1.0 mg/mL)。

1.5 试样处理 取部分胶囊(大于 20 个)去壳粉碎混合均匀后准确称取固体试样 0.5 g 左右,于 50 mL 比色管中,加入约 20 mL 甲醇溶液,超声波提取 10 min,经 2 次提取后混合提取液并用甲醇溶液定容到 50 mL,过滤,滤液再经 0.45 μ m 滤膜过滤后进行色谱分析。

2 结果与讨论

2.1 试样提取溶剂的选择 选择甲醇、甲醇水(1+1)、甲醇水(1+2)3 种不同溶剂进行超声提取实验。结果(表 1)表明,用甲醇作为提取溶剂,超声提取较完全,另外考虑到试样中的淀粉类、糖类物质不溶或微溶于甲醇,故选用甲醇作为试样提取溶剂。

表 1 不同提取溶剂的测定结果 mg/g

试样编号	甲醇	甲醇 水(1 1)	甲醇 水(1 2)
1	7.3	6.7	4.3
2	7.1	6.5	4.5
3	6.7	6.8	4.6
均值	7.0	6.7	4.5

2.2 色谱流动相的选择 选择乙腈+水(分别为 40+60、35+65、38+62、30+70)溶液作为流动相进行实验,结果发现,乙腈含量对白藜芦醇的出峰时间影响很大,随着乙腈含量的降低,出峰时间不断增加。经过反复实验,选择乙腈+水(30+70)溶液作为流动相。此条件下白藜芦醇的出峰时间在 7.8 min 左右(见图 1),这样可以将试样峰与杂质峰完全分离(见图 2),满足分析要求。

2.3 检测波长的选择 选择较高灵敏度的检测波长可以提高分析的精密性,同时也可以降低最小检测量。在 200 ~ 400 nm 对白藜芦醇进行了吸收强度扫描,根据图 3,选择 304 nm 为检测波长。

2.4 方法的线性及检出限 用甲醇配制 10、20、50、100、150、200、250 μ g/mL 浓度的标准系列溶液,混匀后进行 HPLC 分析。以峰面积 y 为纵坐标,其质量浓度 x (μ g/mL)为横坐标作校正曲线,得回归方程 $y = 138\,000x - 839\,000$ 相关系数 $r = 0.9998$;

本方法检出限为 6 μ g/mL;当试样的取样量为 0.5 g 时,方法的最低检出浓度为 0.6 mg/g。

2.5 方法的回收率实验 在已知含量的试样中分别加入高低两个浓度的标准溶液,每个加标试样分别测定 6 次,计算加标回收率,见表 2。

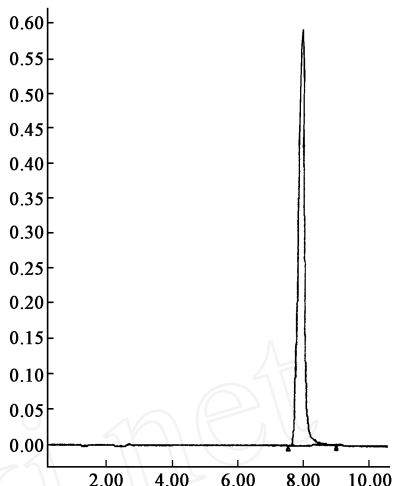


图 1 白藜芦醇标准图

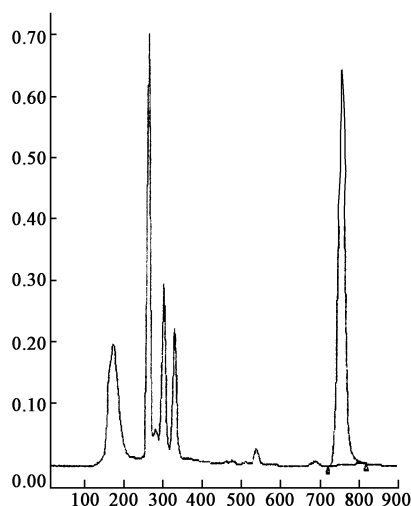


图 2 白藜芦醇试样色谱图

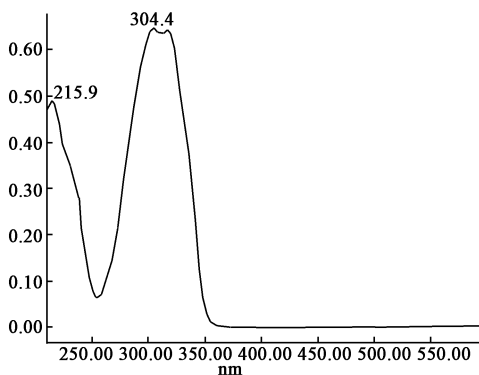


图 3 白藜芦醇紫外光谱图

表 2 回收率实验结果($n = 6$)

试样编号	本底值	加标量	测定次数	测定值	回收率	平均回收率 %
					范围 %	
1	70.3	20	6	88.8 ~ 90.3	92.5 ~ 98.5	96.9
2	70.3	100	6	166.7 ~ 172.9	98.7 ~ 102.6	99.7

2.6 方法的精密度实验 用上述的检测方法测定

同一试样,其检测结果的相对标准偏差 RSD 为 3.3% ($n=6$),表明该检测方法的重现性较好。

2.7 试样测定 将本文所建立的方法用于实际试样的测定,对3批白藜芦醇胶囊进行测定的结果见表3。

表3 实际试样测定结果 mg/g

试样批号	1	2	3	平均含量
20011218	6.7	7.1	6.9	6.9
20011226	6.7	6.2	7.1	6.7
20011228	7.3	7.1	6.7	7.0

参考文献:

- [1] Yoshiyuki Kimura, Hiroji Ohnami, Hiromochi Okuda, et al. Effects of stilbene components of roots of poygonum ssp. on live injury in peroxidized oil-fed rats[J]. *Planta Medica*, 1983, 49(1): 51.
- [2] 朱佐江,赵克森,吴坤莹,等.虎杖4号结晶可改善重症不可逆性失血性休克微循环的紊乱[J]. *第一军医大学学报*, 1987, 7(2): 13.
- [3] 王丹,唐盈.中药虎杖中白藜芦醇苷含量测定研究[J]. *中草药*, 1987, 18(11): 16.
- [4] 姚桂根,胡赛娣,钟友红,等.虎杖浸膏片中白藜芦醇苷的含量测定[J]. *中成药*, 1988, (12): 15.

[收稿日期:2003-09-26]

中图分类号:R15;O657.72;Q946.827 文献标识码:B 文章编号:1004-8456(2004)04-0337-03

单扫描极谱法测定食品及水样中氰化物

杜洪凤 向仕学 殷德桂⁽¹⁾ 王迪⁽¹⁾

(四川省疾病预防控制中心,四川 成都 610031)

摘要:为测定食品及水样中氰化物建立单扫描极谱法。通过仪器分析条件、不同介质及其用量的选择,探索氰化物出峰电位及峰形。在 0.01 g/mL 硼砂溶液中,氰化物于 -280 mV (vs. SCE) 附近产生一个清晰的极谱波峰。氰化物浓度在 0.05 ~ 5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好,相关系数 (r) 为 0.9992,相对标准偏差为 1.2% ~ 2.9%,试样加标回收率 89.0% ~ 99.8%。所建立的方法用于食品及水样中氰化物的测定,结果令人满意。

关键词:氰化物;食品;水;极谱法

Determination of cyanides in foods and water by single-sweep polarography

Du Hongfeng Xiang Shixue Yin Degui Wang Di

(Sichuan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Sichuan Chengdu 610031, China)

Abstract: This work was aimed at establishing a method to determine cyanides in foods and water by single-sweep polarography. The instrumental conditions, the sorts and amounts of medium and the peak voltage and shapes of cyanides were studied. It was found that in 0.01 g/mL borax solution, cyanides had a clear-cut polarography peak at about -280 mV (vs. SCE). The linear correlation was significant at 0.05 ~ 5 $\mu\text{g/mL}$ CN^- ($r = 0.9992$, $RSD: 1.2\% \sim 2.9\%$, recovery: 89.0% ~ 99.8%). The established method has been satisfactorily used to determine cyanides in rice, wheat flour, wine and water.

Key Words: Cyanides; Food; Water; Polarography

氰化物主要以氰酸盐、络合盐、卤化氰及有机氰化物等形式存在。氰酸盐如 KCN 、 NaCN 等大量用于冶炼、电镀及感光工业,从而造成环境和水质污染。含菜豆亭碱的豆类如四季豆、五色豆,含苦杏仁

苷的青梅,已作为食物供人食用,因此氰化物是重要的卫生监测指标之一。据文献报导,氰化物的检测方法,其浓度在 1 mg/mL 以上常使用硝酸银容量法,低于此浓度常采用异烟酸(吡啶)-吡啶啉酮、异烟酸(吡啶)-巴比妥酸、吡啶-联苯胺、苦味酸分光光度法等。但在弱碱性硼砂介质中,用单扫描极谱法

作者简介:杜洪凤 男 主管检验师

(1) 实习生

单扫描极谱法测定食品及水样中氰化物——杜洪凤 向仕学 殷德桂等

— 339 —