

反相高效液相色谱法测定花生红衣中 白藜芦醇的含量

董秀丽 陈向明^①

(滨州医学院基础学院 山东省烟台市莱山区观海路 346 号 264003)

摘 要 建立了反相高效液相色谱测定白藜芦醇的方法, 采用 Ultimate-C18 色谱柱, 以乙腈: 水 (30: 70) 为流动相, 流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长 306nm, 采用外标法进行定量。结果为白藜芦醇在 $1.22 \times 10^{-5} - 0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内线性关系良好, 检出限为 $3.6 \times 10^{-7} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。所建立的方法具有分析速度快、灵敏度高、线性范围宽和重现性好的优点。应用此方法测定了花生红衣中白藜芦醇的含量。

关键词 高效液相色谱; 白藜芦醇; 花生红衣

中图分类号: O657.7⁺ 2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0810-03

1 引言

白藜芦醇属于蒽醌萜类化合物, 是一种天然的抗氧化剂, 可降低血液粘稠度, 抑制血小板凝结, 保持血液畅通, 还可预防癌症的发生及发展。目前测定白藜芦醇含量的方法主要有, 紫外分光光度法^[1], 气相色谱法^[2,3]和高效液相色谱法^[4,5], 但未发现对花生红衣中白藜芦醇含量测定的报道。本研究建立了反相高效液相色谱测定白藜芦醇的方法, 并对花生红衣中白藜芦醇进行了分析, 具有分析速度快, 灵敏度高, 结果准确的特点。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

Waters 600-2489 型高效液相色谱仪(美国 Waters 公司, 配备四元梯度泵, 在线真空脱气机, 紫外-可见检测器, 手动进样器); Ultimate-C18 柱 (300mm × 4.6mm, 5 μm , 美国月旭公司); 微孔滤膜 (0.45 μm)。

白藜芦醇对照品(美国 Sigma 公司); 乙腈(色谱纯, 天津福晨化学试剂厂); 其他试剂均为分析纯。实验用水为娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈公司)。

样品取产自山东省招远市的花生。

2.2 色谱条件

色谱柱: Ultimate-C18 柱 (300mm × 4.6mm, 5 μm); 柱温为室温; 流动相: 乙腈: 水(含 3% 乙酸) = 30: 70, 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 进样体积 20 μL ; 检测波长: 306nm。

2.3 对照品溶液的制备

准确称取 0.0100g 白藜芦醇对照品, 用甲醇溶解并定容至 100mL 容量瓶中作为对照品储备

^① 联系人, 电话: (0535) 6913409; E-mail: x mch913@ 163. com

作者简介: 董秀丽(1979—), 女, 山东省烟台市人, 讲师, 主要从事药物分析研究工作。

收稿日期: 2010-07-23; 接受日期: 2010-08-24

液, 实验用低浓度对照品溶液由储备液稀释而得。各溶液保存于冰箱中(4℃)直到进样分析。

2.4 供试品溶液的制备

准确称取花生红衣 0.1g 于 10mL 离心管中, 加入 1mL 甲醇密封, 于 70℃ 水浴中加热 1h, 离心 10min, 取清液经 0.45μm 微孔滤膜过滤, 并用甲醇定容至 5mL, 即得供试品溶液。将对照品溶液和供试品溶液在前述色谱条件下分析, 色谱图见图 1。

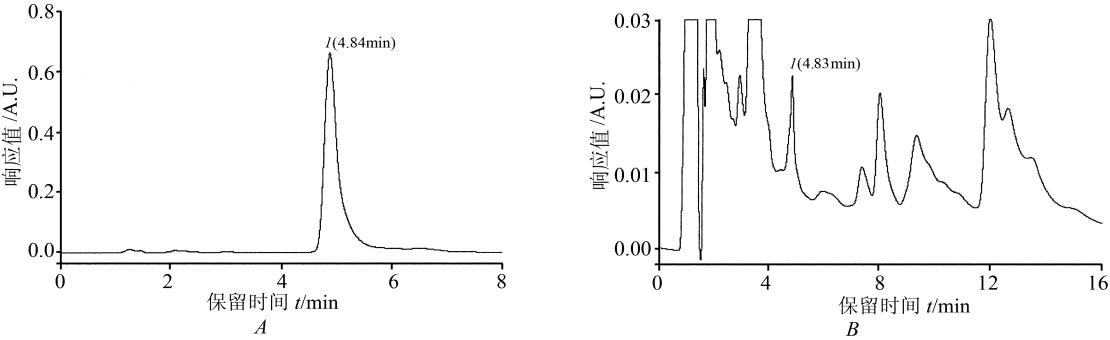


图 1 白藜芦醇的高效液相色谱图
A —— 对照品; B —— 供试品; I —— 白藜芦醇。

3 结果与讨论

3.1 线性关系和检出限

将白藜芦醇对照品储备液依次两倍稀释进样分析, 以对照品溶液浓度对峰面积进行线性回归, 结果表明白藜芦醇在 1.22×10^{-5} — $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内线性关系良好, 所得回归方程为 $y = 8 \times 10^{-9}x - 0.0004$ ($r = 0.9999$)。检出限按照信噪比为 3 计算 ($S/N = 3 : 1$) 为 $3.6 \times 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

3.2 精密度实验

取同一浓度白藜芦醇对照品溶液, 连续进样 6 次, 记录白藜芦醇的保留时间和峰面积, 计算相对标准偏差得到保留时间的 RSD 为 0.23%, 峰面积的 RSD 为 4.3%, 表明精密度良好。

3.3 重现性实验

按“2.4”项下操作, 平行配制 5 份样品, 按照“2.2”项下色谱条件, 分别测定, 峰面积的 RSD 为 2.53%, 说明方法的重现性良好。

3.4 稳定性实验

取同一浓度溶液, 分别于 0、2、4、6、8h 进样测定, 结果供试品溶液在 8h 内峰面积 RSD 为 0.96%, 说明白藜芦醇溶液在 8h 内稳定。

3.5 回收率实验

取 5 份已知含量的同批花生红衣各 0.1g, 分别加入白藜芦醇对照品储备液各 60μL, 按“2.4”项下操作, 配制成加标回收供试液, 按照“2.2”项下色谱条件进样分析, 样品的回收率结果见表 1。

3.6 样品分析

利用建立的方法测定了花生红衣中白藜芦醇的含量, 取干燥花生红衣研成粉末, 准确称取 0.1g, 按照“2.4”项下操作制得供试品溶液, 进样 20μL 分析, 记录色谱图, 按外标法以峰面积计算,

得样品花生红衣中白藜芦醇得含量为 $5.96\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

表 1 白藜芦醇的加标回收率实验结果 (n= 5)

序号	样品中的量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	加入量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	测得量 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	5.96	6.00	11.79	97.2	95.4	1.3
2	5.96	6.00	11.67	95.2		
3	5.96	6.00	11.61	94.2		
4	5.96	6.00	11.71	95.8		
5	5.96	6.00	11.63	94.5		

4 结论

实验建立了测定白藜芦醇的方法,具有分析速度快,线性范围宽,重现性好、灵敏度高的优点,应用反相高效液相色谱法测定了花生红衣中白藜芦醇的含量。所建立的方法可应用于各种样品中白藜芦醇含量的测定。

参考文献

[1] 郑湘娟,余淑娴,徐晓芳等.紫外分光光度法测定虎杖中白藜芦醇的含量[J].时珍国医国药,2008,19(8):1881—1882.
[2] 顾秀英,鲍忠定,许荣年等.气相色谱法测定葡萄酒中的反式白藜芦醇[J].食品科技,2008,19(33):216—219.
[3] 吴平谷,丁钢强.葡萄酒中游离白藜芦醇的气相色谱质谱测定法[J].营养学报,2003,25(2):38—41.
[4] 吴献花,朱惠贤,章新等.快速分离柱高效液相色谱法测定葡萄酒中的白藜芦醇[J].光谱实验室,2005,22(3):593—594.
[5] 李磊,张宏桂,乔延江.HPLC 法测定土茯苓药材中落新妇苷和白藜芦醇得含量[J].药物分析杂志,2007,27(5):654—656.

Determination of Resveratrol in Peanut Skin by RP-HPLC

DONG Xiu-Li CHEN Xiang-Ming

(College of Basic Science, Binzhou Medical University, Yantai, Shandong 264003, P. R. China)

Abstract The method for determination of resveratrol was developed by reversed-phase high performance liquid chromatography with ultraviolet detector. A Ultimate-C18 column was used with 30% acetonitrile as the mobile phase at a flow rate of $1.0\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, and detection wavelength was 306nm. Resveratrol had good linear between 1.22×10^{-5} — $0.1\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, and the detection limit was $3.6 \times 10^{-7}\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. The method is fast, sensitive, reproducible, and has wide linear range, that is applied to analyze content of resveratrol in peanut skin.

Key words High Performance Liquid Chromatography; Resveratrol; Peanut Skin

欢迎有敬业精神的同志自荐为本刊编委

本刊编委产生的方式有三种:自荐、推荐和聘请,自荐是本刊提倡的方式。凡不计报酬、乐意献身于科技期刊出版事业、基本具有副高级以上技术职称、对本刊有所贡献的同志,都可以自荐为本刊编委。

自荐者,请将本人简历发至 光谱实验室编辑部电子邮箱: gpsy_s@ 263.net

光谱实验室编辑部