

山东联众分析仪器有限公司

蜂王浆中 10-羟基-2-癸烯酸液相色谱分析

10-羟基-2-癸烯酸是科学家从蜂王浆中分离出一种有机酸，其分子式为 $C_{10}H_{18}O_3$ ，称为 10-羟基-2-癸烯酸（简称 HAD），是蜂王浆的重要成分之一，是一种特殊的不饱和有机酸，由于这种酸在自然界的其它物质中没有，只存在于蜂王浆中，所以也称为王浆酸。10-羟基-2-癸烯酸含量是蜂王浆质量的重要指标之一，一般含量在 1.4%~4% 之间，约占总脂肪酸的 50% 以上。分离出的纯王浆酸呈白色晶体，在新鲜的蜂王浆中多以游离形式存在，性质比较稳定，有很好的杀菌、抑菌作用和抗癌、抗放射的功能。10-羟基-2-癸烯酸大大提高了蜂王浆的保健和医疗的效用。

一、试剂

1. 本实验所用水为重蒸馏水；
2. 甲醇：分析醇
3. 乙醇：优级纯
4. 内标物：对羟基苯甲酸甲酯含量 99.0%；
5. 10-HAD 标准品：99.0% 以上。使用前应在放有浓硫酸的减压干燥器内减压干燥 24h；
6. 10-HAD 标准溶液：取干燥后的 10-HAD 标准品约 25mg，精密称定，加无水乙醇溶解并移入 1000ml 容量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，摇匀。此溶液每毫升含内标物约 0.65mg。
7. 盐酸（ $C=0.03\text{mol/L}$ ）：量取 0.1mol/L 盐酸 100ml，加入 200ml 重蒸馏水中。
8. 流动相：甲醇 55%+0.03mol/L 盐酸 10%+水 35%

二、仪器配置：

LC-3000 液相色谱仪：配紫外检测器，泵头带冲洗功能；
色谱处理工作软件：能通过电脑键盘输入 LC-3000 液相色谱仪所有参数，并能对柱温箱参数设定；
色谱柱：C18，250*4.6*10 或 250*4.6*5
柱温箱；
离心机：不低于 3000r/min，50ml
超声波清洗机；
漩涡混合器；
分析天平：精度 0.0001g

三、样品处理

样品解冻至室温后用玻璃棒搅匀，取约 0.5g，置于已称定的 50ml 容量瓶中，精密称定，加 0.03mol/L 盐酸 1ml 和水 2ml，置漩涡混合器上混合使样品溶解，加无水乙醇 30ml，边加边轻轻摇动，再精密加入内标溶液 10ml，并用无水乙醇稀释至刻度，摇匀，立即置超声波中超声 15min，或置漩涡混合器上振荡 15min，取出，在 3000r/min 下离心 10min 后测定。如不能及时测定，应放置在冰箱中冷藏待测。

四、色谱条件

测定波长：210nm；柱温：35 度；流动相流速：1ml/min。

五、校正因子测定

精密吸取 10-HAD 标准溶液 0.5、1、2、3、4、5ml 至 10ml 容量瓶中。精密加入内标溶液 2ml，用无水乙醇稀释至刻度，摇匀。分别吸取此溶液 2ul，注入色谱仪，用峰面积比值计算，应呈线性，求出校正因子 F。

注：平行试验相对偏差不得超过 2.0%

六、样品测定

吸取样品溶液 4ul，注入色谱仪，按“内标法”定量。

七、计算

蜂王浆中 10-羟基-2-癸烯酸含量按式中计算：

山东联众分析仪器有限公司

式中：

$$X_2 = F \times \frac{A_i}{A_s} \times \frac{M_s}{M_i} \times 100$$

X₂---蜂王浆中 10-羟基-2-癸烯酸含量%

F---校正因子

A_i---样品中被测组分峰面积

A_s—试样中内标物峰面积

M_s—内标物质量，单位为克（g）

M_i—样品质量，单位为克（g）