

高效液相色谱法测定余甘子中单宁酸的含量

郭佳莉^a 李国清 蔡英卿 刘燕兰

(泉州师范学院化学与生命科学学院 福建省泉州市 362000)

^a(泉州师范学院化学与生命科学学院 福建省泉州市泉秀路绿榕苑C408 362000)

摘 要 建立了高效液相色谱法测定余甘子中单宁酸含量的方法, 采用 Hypersil ODS (125 × 4.0 mm, 5 μm) 色谱柱; 检测波长 275 nm; 流动相为 80% 甲醇和 20% 水; 流速为 0.5 mL · min⁻¹。可在 3 min 内完成一次样品分析。所测单宁酸在 120—240 ng/mL 的范围内有良好的线性关系。相关系数达 99.996% 以上, 加标回收率在 99.7%—107.5% 之间。本法快速, 方便, 精确可靠。

关键词 高效液相色谱, 余甘子, 单宁酸。

中图分类号: O657.7⁺2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2007)05-0911-03

1 前言

余甘子 (*Phyllanthus Emblica* L.) 在我国广泛分布于福建、台湾、广东、广西、贵州、云南等省份, 在福建泉州市有丰富的野生资源。国内许多食品专家把余甘子、猕猴桃和山楂并列为我国三大高营养水果。现代医药研究表明中药余甘子有较强的心血管活性, 富含单宁类化合物, 对动脉粥样硬化有较好疗效^[1]。单宁酸 (Tannic acid) 广泛存在于植物的根、皮、叶及果实中。具有独特的化学特性及特殊的生理和药理功能, 因此在日用化学工业、医药工业、食品工业、皮革行业及其他方面获得了极为广泛的应用。最新研究表明, 单宁酸具有减少化学诱发皮肤癌, 处理或防治免疫力缺乏综合症 (艾滋病) 的功效^[2]。余甘子价廉易得且可再生, 其应用方兴未艾, 开发前景非常广阔。余甘子中单宁酸含量的测定, 对于余甘子的开发利用具有重要意义。

2 实验部分

2.1 主要仪器与药品

HP-1100 高效液相色谱仪 (美国安捷伦公司), 包括 HP1100 四元泵, 自动进样器, VWD 检测器和色谱工作站; UV-1800 紫外-可见分光光度计 (上海美普达有限公司), UPW S-N-107 超纯水器 (杭州永洁净化科技有限公司), 色谱纯甲醇 (美国天地 TEDIA)、超纯水, 单宁酸 (A. R. 分子式 C₇₆H₅₂O₄₆, 分子量 1701.25) 贵州遵义市第二化工厂, 余甘子 (采集于泉州惠安县)。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Hypersil ODS (4.0 × 125 mm, 5 μm) 色谱柱; VWD 检测器调节检测波长为 275 nm; 流动相为甲醇和水 (体积比 80:20); 流速为 0.5 mL · min⁻¹; 柱温: 室温; 进样量 2 μL。

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (E0640019) 和泉州师范学院校级科研课题项目 (校 2003KJ II 13)

联系人, 电话: (0595) 22919569; 手机: (0) 13599298982; E-mail: liguoqing@qztc.edu.cn

作者简介: 郭佳莉 (1978—), 女, 福建省龙海市人, 助理实验师, 研究生, 主要从事液相色谱方面的研究。

收稿日期: 2007-06-18; 接受日期: 2007-06-27

2.3 样品处理

筛选新鲜的余甘子, 清洗去核, 风干, 称取 350.0g 果肉于搅拌机中捣碎。将捣碎的余甘子果肉用水浸提, 得到 350.0mL 提取液。用 0.45 μ m 滤膜过滤, 进样 2 μ L。

2.4 标准溶液的制备

于电子天平上精确称取 0.0030g 单宁酸(A. R.), 用乙醇、水、丙酮体积比为 69.9%、29.8%、0.3% 的溶液作溶剂溶解并定容, 制备成浓度为 30.00 μ g/mL 的单宁酸标准溶液 100mL。上述标准溶液用 0.45 μ m 滤膜过滤备用。进样 2 μ L 分析, 在该条件下, 标样和余甘子样品色谱图见图 1—2。

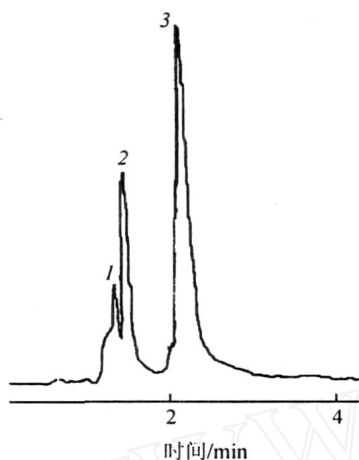


图 1 标样色谱图

1——单宁酸 1; 2——单宁酸 2; 3——丙酮的溶剂峰。

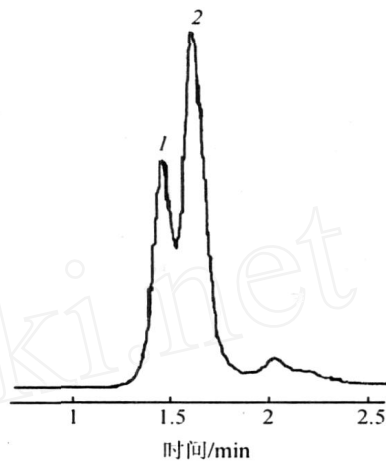


图 2 余甘子样品色谱图

1——单宁酸 1; 2——单宁酸 2。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件选择

用 UV-1800 紫外-可见分光光度计测得单宁酸在 275nm 处有强吸收, 虽然丙酮在 275nm 附近也有较大吸收, 但不影响单宁酸的分析定量, 故用 VWD 检测器调节检测波长为 275nm。实验用 Hypersil ODS 色谱柱, 改变流动相(甲醇和水)配比, 流速, 柱温, 结果表明流动相为甲醇和水(体积比 80:20); 流速为 0.5mL $\cdot$ min $^{-1}$; 柱温: 室温时的出峰情况为最佳。

3.2 单宁酸标准溶液溶剂的选择

水、乙醇、丙酮都可用于单宁酸的提取^[3], 为了使本方法的使用范围更广, 分别实验了以水、乙醇、丙酮不同配比的混和溶液作标液的溶剂, 实验结果表明用乙醇、水、丙酮体积比为 69.9%、29.8%、0.3% 的溶液作溶剂时出峰情况为最佳。

3.3 线性回归方程、相关系数

分别配制单宁酸标准溶液 120、150、180、210、240ng/mL 用 0.45 μ m 滤膜过滤, 进样后得到两种单宁酸的回归方程, 单宁酸 1: $y = m_1x + b_1$, $m_1 = 3.61220 \times 10^{-1}$, $b_1 = -12.62814$, $r = 0.99996$; 单宁酸 2: $y = m_2x + b_2$, $m_2 = 3.30394 \times 10^{-1}$, $b_2 = -4.24693$, $r = 0.99998$ 。线性范围为 120—240 ng/mL。

3.4 精密度实验

用 120ng/mL 单宁酸标准溶液, 重复进样 4 次, 测定结果见表 1。

表 1 单宁酸精密密度实验结果

物质 测定次数	单次测定值($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)				平均值 ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	相对标准偏差 (%)
	1	2	3	4		
单宁酸 1	95.20	96.01	96.51	97.36	96.28	0.9
单宁酸 2	93.78	93.35	92.49	92.27	92.97	0.8

3.5 余甘子中单宁酸提取液加标回收率的测定

取已知单宁酸含量的余甘子水提液稀释液 5mL, 加入 240ng/mL 的单宁酸标准溶液 5mL, 再用 70% 乙醇稀释, 定容至 25mL。将以上溶液用 0.45 μm 滤膜过滤, 按 2.2 项色谱条件进行 HPLC 分析, 测定单宁酸的回收率, 结果见表 2。

表 2 单宁酸加标回收率的测定

测定次数	单宁酸 1			单宁酸 2		
	1	2	3	1	2	3
单宁酸含量(ng/mL)		90.34			178.11	
添加量(ng/mL)	100.14	102.48	102.27	183.43	187.91	189.07
加标测得量(ng/mL)	194.89	200.40	199.87	360.98	369.99	369.47
回收率(%)	104.40	107.40	107.10	99.70	102.10	101.20
平均回收率(%)		106.30			101.00	

4 结论

应用高效液相色谱法测定余甘子中单宁酸的含量操作简便, 3min 可完成单次检测, 在 120—240ng/mL 的范围内有良好的线性关系, 相关系数达 0.9996% 以上, 加标回收率在 99.7%—107.5% 之间。本方法快速, 方便, 精确可靠, 可用于多种物质中单宁酸含量的测定。

参考文献

[1] 周涛, 邱德文, 廖波. 民族药余甘子的现代研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2002, 24(50): 50—52
[2] 马志红, 陆忠兵, 石碧. 单宁酸的化学性质及应用[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(1): 87—91
[3] 黄绍华, 严慧和, 孙健. 单宁的提取与纯化[J]. 南昌大学学报(理工版), 2000, 24(3): 278—282

Determination of Tannic Acid in *Phyllanthus Emblica* L.
by High Performance Liquid Chromatography

GUO Jia-Li LI Guo-Qing CAI Ying-Qing LU Yan-Lan

(School of Chemistry and Life Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou, Fujian 362000, P. R. China)

Abstract Tannic acid in *Phyllanthus Emblica* L. was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with a Hypersil ODS column (125 $\times$ 4.0 mm, 5 μm), 80% CH₃OH-20% H₂O as mobile phase at the flow rate of 0.5 mL/min and the UV detector at 275 nm. The linear range of two tannic acids covered 120—240 ng/mL. The correlation coefficients of the calibration graphs are 0.99996—0.99998 while the RSDs are 0.9%—0.8%. The runtime was less than 3 min. The method is fast, simple, accurate and reliable.

Key words High Performance Liquid Chromatography (HPLC), *Phyllanthus Emblica* L., Tannic Acid