

高效液相色谱法测定玉米须中刺芒柄花素的含量

张彦青, 鲁晓翔*, 董彩霞

(天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300314)

摘 要: 目的: 建立玉米须中刺芒柄花素含量测定的方法。方法: 运用高效液相色谱法测定, 色谱柱为 Hypersil C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(55:45, V/V), 流速 0.8ml/min; 检测波长 254nm。结果: 刺芒柄花素在 2.3~23 μg/ml 范围内线性关系良好, $r=0.9991$ 。平均回收率为 96.93%, RSD 为 1.30%。结论: 本法方便、准确, 可以用于玉米须的质量控制。

关键词: 玉米须; 刺芒柄花素; 高效液相色谱

HPLC Determination of Formononetin in Corn Silk

ZHANG Yan-qing, LU Xiao-xiang*, DONG Cai-xia

(College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, Tianjin 300134, China)

Abstract : Objective: To develop an HPLC method for the determination of formononetin in corn silk. Method: Analysis was carried out by using Hypersil C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) column with CH₃OH-0.1% H₃PO₄ (55:45, V/V) as the mobile phase. The flow rate was 0.8 ml/min and the UV detection wavelength was set at 254 nm. Results: There is good linear relationship between integral value (Y) of peak area and formononetin reference substance concentration (X) in the range of 2.3 to 23 μg/ml ($r = 0.9991$). The average recovery of formononetin is 96.93% with the RSD of 1.30%. Conclusion: The method is convenient and accurate, and can be used for the quality determination of corn silk.

Key words : corn silk ; formononetin ; HPLC

中图分类号: TQ244.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)06-0178-02

玉米须为禾本科植物玉蜀黍(*Zea mays* L.)的干燥花柱和柱头。最早药用记载见于《滇南本草》, 具有利尿消肿, 平肝利胆之功效, 临床用于急、慢性肾炎, 肝炎, 高血压, 糖尿病, 湿热黄疸等症, 为《中华人民共和国卫生部药材标准》1985 版收录的常用药材品种之一^[1]。据分析, 玉米须中含有黄酮类、多糖和有机酸类成分^[2-3], 其中的刺芒柄花素具有抗脂质过氧化、抑制螺杆菌等活性^[4-5]。目前有关玉米须中该种黄酮类成分的含量测定尚未见报道^[6]。为此, 本实验采用 HPLC 法测定玉米须中刺芒柄花素的含量, 从而为玉米须的质量控制研究提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米须采自山东省汶上县, 经本校鲁晓翔教授鉴定为禾本科植物玉蜀黍(*Zea mays* L.)的干燥花柱和柱头。

刺芒柄花素对照品自制(含量大于 98%); 甲醇(色谱纯); 娃哈哈纯净水; 其余所用试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Agilent1100 高效液相色谱仪(DAD 检测器); BP211D 型电子天平 Sartorius 公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱: Hypersil C₁₈ 色谱柱 (250mm × 4.6mm, 5 μm); 柱温: 25℃; 流动相为甲醇-0.1% 磷酸(55:45, V/V); 流量: 0.8ml/min; 紫外检测波长为 254nm; 进样量 20 μl。

1.3.2 对照品溶液的制备

收稿日期: 2008-04-21

基金项目: 天津市科技攻关项目(06YFGPNC03800)

作者简介: 张彦青(1976-), 女, 讲师, 博士研究生, 研究方向为药物制剂与药物动力学。E-mail: zhyqing@tjcu.edu.cn

* 通讯作者: 鲁晓翔(1962-), 女, 教授, 硕士, 研究方向为食物资源研究与开发。E-mail: lxxiang@tjcu.edu.cn

精密称取干燥至恒重的刺芒柄花素对照品适量, 置 50ml 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成每毫升含刺芒柄花素 23 μg 的溶液, 即得对照品溶液。

1.3.3 供试样品溶液的制备

取玉米须, 减压干燥, 粉碎。取粉末(过一号筛)约 5.0g, 精密称取, 加 100ml 甲醇, 索氏提取器提取 4h, 滤液减压回收溶剂至近干, 用甲醇溶解并定容至 10ml 容量瓶中, 即得供试样品溶液。

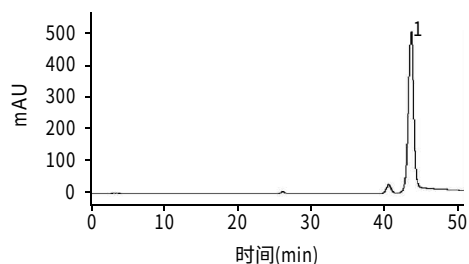


图1 刺芒柄花素对照品溶液色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of formononetin reference substance solution

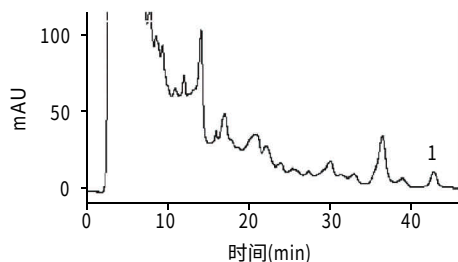


图2 供试品溶液色谱图

Fig.2 HPLC chromatogram of formononetin sample solution

2 结果与分析

2.1 标准曲线的制备

精密吸取对照品溶液 2、4、6、8、10ml, 分别置于 10ml 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀, 按 1.3.1 色谱条件进行分析测定。以对照品进样量(X)为横坐标, 色谱峰面积积分值(Y)为纵坐标绘制标准曲线。计算得刺芒柄花素回归方程为: $Y = 195.24X - 120.79$, $r = 0.9991$, 线性范围 2.3~23 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

2.2 精密度实验

取玉米须供试样品溶液 20 μl , 重复进样 5 次, 测定刺芒柄花素峰面积积分值, 结果表明精密度良好, RSD 为 1.57%($n=5$)。

2.3 稳定性实验

取玉米须供试样品溶液, 分别于 0、2、4、6、8h 各进样 20 μl , 测定刺芒柄花素峰面积积分值。结果表明样品在 8h 内性质稳定, RSD 为 2.01%。

2.4 重复性实验

精密称取玉米须样品 5 份, 按 1.3.3 项制备供试样品

溶液, 按 1.3.1 色谱条件进行分析测定, 计算刺芒柄花素含量。结果刺芒柄花素平均含量 0.264mg/g, RSD 为 2.41%。

2.5 回收率实验

分别取同批玉米须样品 5 份, 精密称取, 分别加入对照品溶液适量, 按 1.3.3 方法操作, 高效液相色谱测定, 结果见表 1。

表1 回收率测定结果

Table 1 Spike recoveries of formononetin

样品含量 (mg/g)	加入量 (mg/g)	测得量 (mg/g)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
0.5213	0.4606	0.9645	96.23	96.93	1.30
0.5310	0.4606	0.9805	97.58		
0.5284	0.4606	0.9721	96.32		
0.5193	0.4606	0.9590	95.47		
0.5120	0.4606	0.9682	99.05		

测定结果表明, 本方法测定玉米须中刺芒柄花素回收率在 95.47%~99.05% 之间, RSD 为 1.30%。

2.6 样品测定

分别取不同产地、品种的玉米须粗粉, 按 1.3.1 色谱条件进行测定。结果见表 2。

表2 不同品种玉米须中刺芒柄花素的含量

Table 2 Contents of formononetin in silk of different cultivars of corn

品种	金娃娃 958	玉清一号
刺芒柄花素含量(mg/g)	0.264	0.179

3 讨论

实验曾选用 70% 乙醇、95% 乙醇、甲醇连续回流索氏提取、超声提取、回流提取等方法提取玉米须中刺芒柄花素, 结果发现采用甲醇连续回流索氏提取刺芒柄花素含量较高, 故选择甲醇连续回流索氏提取法。

应用 HPLC 测定玉米须中的刺芒柄花素的含量, 分离良好, 快速、准确、重现性好。可作为玉米须中这种黄酮成分的质量控制方法。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部药材标准委员会. 中华人民共和国卫生部药材标准: 一部[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1986: 12.
- [2] 王英平, 李向高. 玉米须化学成分和药理作用研究进展[J]. 特产研究, 2004(2): 42-46.
- [3] 张慧恩, 徐德平. 玉米须黄酮类成分的研究[J]. 中药材, 2007, 30(2): 164-166.
- [4] HOWES J B, SULLIVAN D, LAI N, et al. The effects of dietary supplementation with isoflavones from red clover on the lipoprotein profiles of post menopausal women with mild to moderate hypercholesterolaemia[J]. Atherosclerosis, 2000, 152: 143-147.
- [5] FUKAI T, MARUMO A, KAITOU K, et al. Anti-helicobacter pylori flavonoids from licorice extract[J]. Life Sciences, 2002, 71: 1449-1463.
- [6] 李钦, 田智勇, 贾天柱. 反相高效液相色谱法测定玉米须中尿囊素的含量[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(10): 958-959.