

RP-HPLC 测定樱桃中槲皮素的含量^①

王万慧^② 胡 骥

(洛阳理工学院环化系 河南省洛阳市洛龙区王城大道 90 号 471023)

摘 要 采用色谱柱 Sinochrom. ODS-BP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.4% 磷酸溶液 (55 : 45), 流速为 1.0 mL/min, 检测波长为 373 nm, 柱温选择室温, 建立测定樱桃中槲皮素含量的反相高效液相色谱法。结论表明槲皮素在 0.36—7.2 μg/mL 范围内线性关系良好 ($r = 0.9989$), 方法平均回收率为 101.5%。本方法简便准确、灵敏度高、重复性好, 可为评价樱桃质量提供依据。

关键词 樱桃; 槲皮素; 反相高效液相色谱法

中图分类号: O 657.7⁺2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2010)01-0112-04

1 前言

樱桃属蔷薇科植物落叶核果。宋代《本草图经》记载: 樱桃处处有之, 洛中南者为盛。食之, 调中益气, 美颜色^[1]。《本草衍义》载: 今西洛一种紫樱, 至熟时正紫色, 皮里间有细碎黄点, 此最珍也^[2]。樱桃含樱桃苷、槲皮素、维生素 C、松稀油、鞣花酸、褪黑素等营养成分。槲皮素能治疗关节炎, 结肠肿瘤, 在抗氧化及止痛消炎等方面有潜在的疗效^[3,4]。樱桃在我国分布较广, 其果实是人们熟知并喜爱的果品, 但国内外学者对樱桃果实的化学成分研究报道较少, 对于樱桃中槲皮素含量色谱测定的方法研究也尚未报道。为更好的利用这一丰富的植物资源, 本文研究了用反相高效液相色谱法测定樱桃中槲皮素含量, 为评价樱桃质量提供了可借鉴的依据, 对樱桃进一步的开发和利用具有科学的指导意义。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

P230 高效液相色谱仪 (P230 高压恒流泵, UV 230+ 紫外-可见检测器, EC2000 色谱数据处理系统, 大连依利特公司), 配 Sinochrom. ODS-BP 色谱柱; KQ 5200 型超声波清洗器 (昆山超声仪器有限公司); RE-52 型旋转蒸发器 (上海亚荣生化仪器厂)。

槲皮素对照品购自中国药品生物制品检定所 (批号 110709-200304); 流动相所用色谱纯甲醇购自美国 Fisher 公司; 实验用水为市售娃哈哈纯净水; 硅胶 G 购自青岛海洋化工公司; 其他试剂均为分析纯。

樱桃样品为新安五头独树村种植樱桃, 采摘于 2009 年 5 月, 经河南科技大学化工与制药学院王忠东教授鉴定, 均为蔷薇科植物樱桃 [*Cerasus pseudocerasus* (L. Indl.) G. Don] 成熟果实。

① 洛阳理工学院青年基金项目 (2008QZ14)

② 联系人, 电话: (0379) 65928271; E-mail: gracewong11@126.com

作者简介: 王万慧 (1981—), 女, 河南省洛阳市人, 助教, 主要从事中草药质量控制研究工作。

收稿日期: 2009-09-01; 接受日期: 2009-09-18

2.2 色谱条件

色谱柱: Sinochrom. ODS-BP (4.6mm × 250mm, 5 μ m); 流动相: 甲醇-0.4% 磷酸溶液 (55 : 45); 流速: 1.0mL/min; 检测波长 373nm; 柱温: 室温。

2.3 对照品溶液的制备

准确称取槲皮素对照品适量, 加甲醇制成每 1mL 含槲皮素 7.2mg 的溶液, 作为对照品溶液。

2.4 供试品溶液的制备

准确称定鲜樱桃 20g 置于圆底烧瓶中, 加入 75% 乙醇 100mL、浓盐酸 10mL, 加热回流提取 60min。提取液水浴蒸干, 加入乙酸乙酯 50mL, 超声 20min。定量吸取 25mL, 置于水浴中蒸干, 加甲醇定容至 10mL 容量瓶中, 摇匀, 过 0.45 μ m 微孔滤膜, 取续滤液即为供试品溶液。

3 结果与讨论

3.1 样品提取方法的选择

在实验过程中, 对槲皮素提取方法进行了筛选, 比较超声、回流两种提取方法, 结果表明超声法的提取率不高, 故选用回流法。将样品在 85℃时分别回流 30、60、120min 后测定, 发现提取时间为 60min 时槲皮素已提取完全, 故确定回流时间为 60min。

3.2 提取溶液的选择

考察了 70% 乙醇、75% 乙醇、95% 乙醇、甲醇和不同浓度的盐酸混合溶液作为提取溶剂。当提取溶剂为 75% 乙醇和 10% 盐酸 (10 : 1) 时, 提取出槲皮素的含量最大。

3.3 流动相的选择

考察了不同比例的甲醇-水-磷酸系统。结果表明, 磷酸含量的多少对出峰时间和峰面积有影响, 含量越高出峰时间越早而且峰面积小, 因此考虑峰面积、分离度以及对色谱柱的保护等因素, 采用甲醇-0.4% 磷酸系统。

3.4 线性关系的考察

取对照品溶液 1、2、4、8、10、20mL, 分别置于 20mL 容量瓶中, 加甲醇稀释至刻度, 摇匀进样, 测定峰面积值。将各自的峰面积值与各自的含量进行线性回归, 槲皮素的线性回归方程为 $y = 1814.5x - 58402$, $r = 0.9989$, 线性范围为 0.36—7.2 μ g/mL。

3.5 精密度试验

准确吸取对照品溶液各 10 μ L, 重复进样 6 次, 结果槲皮素峰面积的 RSD 为 0.3%。

3.6 重现性考察

准确称取同一批次新安樱桃样品 20g, 按“2.4”项平行制备 6 份, 取 15 μ L 进样。测定其平均含量为 0.46 μ g/g, RSD 为 0.4%。

3.7 稳定性试验

准确吸取供试品溶液 15 μ L, 分别于 0、3、6、12、24h 进行测定, 峰面积的 RSD 为 0.5%, 表明样品溶液在 24h 内稳定。

3.8 加标回收试验

准确称取同一批次新安樱桃样品 20g, 按样品中已知槲皮素量的 80%、100%、120% 准确加入槲皮素对照品, 按照“2.4”项的方法处理后进样测定, 测定结果见表 1。

表 1 回收率测定

编号	原样量(μg)	加标量(μg)	检测量(μg)	回收率(%)	RSD (%)
1	8.95	7.37	16.83	103.6	0.8
2	9.25	7.37	16.85	103.8	
3	8.93	7.37	16.74	102.3	
4	8.95	9.20	18.41	100.1	1.7
5	9.20	9.20	18.62	102.4	
6	9.08	9.20	18.31	99.0	
7	9.50	11.05	20.30	100.4	1.3
8	9.19	11.05	20.19	99.5	
9	9.23	11.05	20.67	102.0	

3.9 样品测定

准确吸取供试品溶液 $15\mu\text{L}$, 测定新安樱桃中槲皮素的含量。结果见表 2, 典型色谱图见图 1。

4 结论

樱桃中的槲皮素经 75% 乙醇和 10% 盐酸 (10:1) 提取溶剂提取后, 在反相色谱柱上进行含量测定, 减少了样品在提取过程中的氧化和损失。本实验建立的方法操作简便、分离度好、结果重现性好、准确度高, 为进一步开发利用樱桃资源提供了有利依据。

表 2 样品测定结果

测定次数	槲皮素含量($\mu\text{g/g}$)
1	0.449
2	0.456
3	0.466
4	0.464
5	0.462
平均值	0.460
RSD (%)	1.5

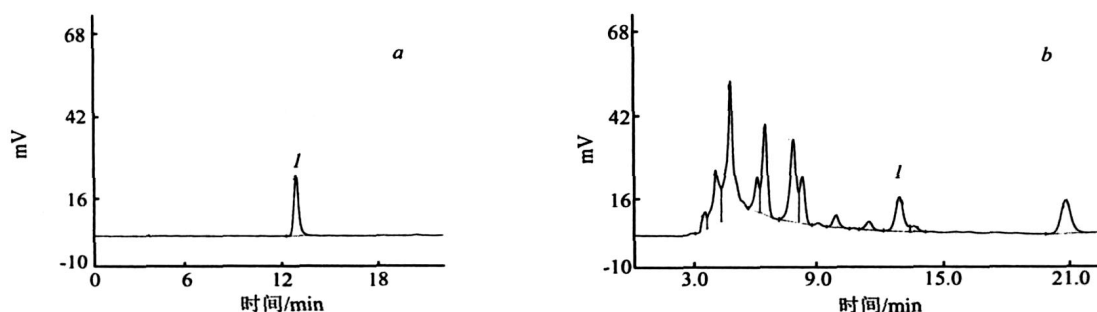


图 1 槲皮素对照品(a) 樱桃样品(b)

1——槲皮素。

参考文献

- [1] 寇宗爽 本草衍义[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 75
- [2] 苏颂 本草图经[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994: 559
- [3] 崔新颖, 李香艳, 孔祥雨等 酸樱桃果实有效成分及药理作用的研究[J]. 北华大学学报(自然科学版), 2007, 8(2): 145—149
- [4] 孙烨 櫻桃叶化学成分的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2007.

Determination of Quercetin in *Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don by RP-HPLC

WANG Wan-Hui HU Ji

(Department of Chemistry and Environmental, Luoyang Institute of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, P. R. China)

Abstract A method for the determination of quercetin content in *Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don by RP-HPLC was established. The Sinochrom. ODS-BP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) was used for analysis, methanol-0.4% H₃PO₄ (55 : 45) as mobile phase with detection wavelength 373 nm, 1.0 mL/min of flow rate and column temperature at room temperature. A good linear curve in the range of 0.36—7.2 μg/mL ($r = 0.9989$) was obtained. The average recovery was 101.5%. This simple and reproducible HPLC analysis provided reference to estimate the quality of *Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don. The results are reliable and accurate.

Key words *Cerasus pseudocerasus* (Lindl.) G. Don; Quercetin; RP-HPLC

本刊编辑部再次忠告: 请作者勿将联系地址省略! 尽管你单位的名称和你的姓名大名鼎鼎, 但并非人人皆知

某作者只告诉了本编辑部他所在单位的所在城市, 未告知街道名称和门牌号数。确实, 他单位是该城市鼎鼎有名的大单位, 所以编辑部发给他的信每次都能收到, 但是后来给他寄样刊时, 印刷品却被退回了, 邮局在上盖了个戳: 地址不详, 退! 可见, 虽然你单位大名鼎鼎, 但还并不是邮局人人皆知。“退”! 这还是一个好运, 因为“退”! 毕竟你还遇上一个邮局负责任的人, 他还要花费人力物力来“退”! 也只好让邮件寄出者清楚“退”的缘故。若碰上一个不负责任的, 将邮件丢进了垃圾箱, 你到哪儿去叫苦呢! 有的作者联系地址只写上他单位的大名, 好像他在本单位也是大名鼎鼎, 本单位人人皆知的, 但情况往往并非如此。这种邮件, 单位的收发室, 也通常予以退回, 甚至丢进垃圾箱。所以, 请各位作者勿将你单位的地址(县、区、街道名称, 门牌号)和你自己的地址(院、部、系、室、组)省略, 举手之劳, 何乐不为? 邮件丢失才是一件大事, 请勿因小失大。

以上意见也是邮局对我们的要求。

若作者对我们的再次忠告和邮局的要求置之不理(甚至还同我们辩论), 本刊不得不停发邮件, 直到作者补齐详细地址后恢复。因此而延误出版的责任, 只好由您自己负责。

《光谱实验室》编辑部