

超高效液相色谱法测定葛根酒中葛根素含量

王明强 李和平 陈顺浩

(云南省曲靖市质量技术监督综合检测中心,云南 曲靖 655000)

摘要: 采用戴安 UltiMate3000 超高效液相色谱仪,AcclaimPA2 C₁₈ 色谱柱(2.2 μ m, 2.1×50 mm),甲醇:水=25:75 为流动相,检测波长为 250 nm,快速测定葛根酒中葛根素含量。结果表明,与传统方法相比,该法的回收率在 97.1%~105.3%之间,其平均回收率为 100.3%,该方法操作简单,准确度高,精密度好,样品处理方便,为准确、快速测定葛根酒中葛根素提供一种简单的方法。

关键词: HPLC; 葛根酒; 葛根素

中图分类号:O657.72;TS262.91;TS261.4;TS261.7 文献标识码:B 文章编号:1001-9286(2012)12-0103-02

Determination of Puerarin Content in Pueraria Wine by Super High Performance Liquid Chromatography

WANG Mingqiang, LI Heping and CHEN Shunhao

(Qujing Quality and Technology Supervision Center, Qujing, Yunnan 655000, China)

Abstract: UltiMate3000 Dianne super highly-efficient liquid phase color spectrometer was used for rapid measurement of puerarin content in pueraria wine (AcclaimPA2 C₁₈ column (2.2 μ m, 2.1×50 mm), methanol:water=25:75 as mobile phase, and detection wavelength was 250 nm). Compared with traditional methods, the recovery of such method was 97.1%~105.3% and the average recovery was 100.3%. Besides, such method had the advantages including simple operation, high accuracy, high precision, and convenient sample treatment.

Key words: HPLC; puerarin wine; puerarin

葛根素(puerarin)是由豆科植物野葛(*puerarialobata*)甘葛藤(*puerarin thomsonii*)根中提取的一种黄酮苷。葛根素化学名为 8-C- β -D-葡萄糖基-7,4'-二羟基-2-异黄酮(8-C- β -D-Glucopyranosyl-7,4'-hydroxy-isoflavone),呈白色针状结晶体,易溶于甲醇,次溶于乙醇,能溶于水,但溶解度小(6.24 g/L),不溶于氯仿或乙醚中,其水溶液为无色或微黄色^[1]。葛根素具有保护肝组织、心肌细胞、红细胞的变形,增强心肌收缩力、能扩张血管、降低血压、改善微循环、抗血小板聚集、降低血粘度等药理作用,具有疗效好、副作用小等特点,是临床上心血管疾病的常用药物。有关葛根中葛根素含量测定的方法主要有:薄层层析法、薄层扫描法(TLCS)、紫外分光光度法、液相色谱法(HPLC)等方法,但液相色谱法(HPLC)对葛根酒中葛根素含量测定报道不多^[2-6]。葛根酒主要包括纯葛根酿造的蒸馏酒(葛根白酒),利用白酒浸泡的葛根黄酒,其他粮食与葛根酿造的其他酒类。本课题组现以超高效液相色谱法测定葛根酒中的葛根素,有效提高检测效率。

1 材料与方法

1.1 样品、试剂及仪器

收稿日期:2012-06-25

作者简介:王明强(1982-),男,工程师,从事食品安全检测与研究工作,电子信箱:wmq2002031120@126.com。

优先数字出版时间 2012-11-19 地址 <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.1051.TS.20121119.0951.003.html>。

样品:葛根酒,云南省沾益福上福葛根酒业有限公司生产。

仪器:戴安 UltiMate3000 超高效液相色谱仪;VWD-3400 紫外检测器;TTC-3000 柱温箱;WPS-3000 自动进样器;变色龙色谱工作站;超纯水制造系统,成都超纯科技有限公司;pH 计,上海精密科学仪器有限公司;微孔溶剂过滤器,天津津腾过滤器件厂;津腾微孔过滤膜(直径 50 mm,孔径 0.45 μ m)。

试剂:葛根素标准储备液。取葛根素标准物质(96.0%,中国食品药品检定研究院),用 50%vol 乙醇溶解配制成浓度为 200 μ g/mL 的葛根素标准储备液;甲醇为色谱纯,乙醇为分析纯。

色谱条件:色谱柱 AcclaimPA2 C₁₈ (2.2 μ m, 2.1×50 mm);流动相为甲醇:水=25:75(V/V)(经超声脱气和膜过滤);检测波长:250 nm;流速:0.4 mL/min;柱温:30 $^{\circ}$ C;进样量:1 μ L。

1.2 实验方法

准确移取一定量试样,用 0.45 μ m 微孔过滤膜过滤。按仪器工作条件进样品溶液和葛根素标准系列溶液各 1 μ L,

测得峰面积,按标准曲线计算样品中葛根素的含量。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

试验了甲醇-水、乙腈-水、醇-乙酸等流动相对色谱分离效果和葛根素保留时间的影响,结果表明,甲醇-水分离效果好并且保留时间短。甲醇-水中甲醇的比例越大,物质出峰时间越早。综合考虑,当甲醇-水比例为 25:75 时,流速为 0.4 mL/min 时,样品分离效果好,峰面积值最大,葛根素的峰形较好,所以选用甲醇-水(25:75)作为流动相,葛根素的保留时间为 2.97 min。

2.2 色谱图对照

标液及样品经 0.45 μm 滤膜过滤后,按照色谱工作条件的要求对葛根素标准品与葛根酒样品进行测定,所得到的色谱图见图 1。

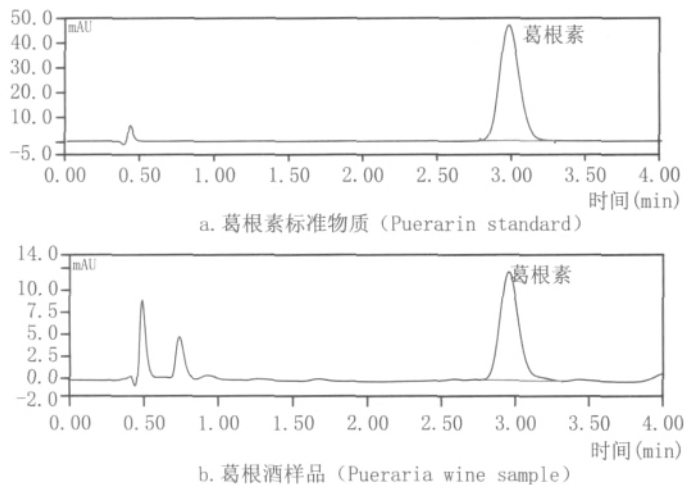


图 1 样品色谱图

2.3 校准曲线

分别移取葛根素标准储备液 (200 $\mu\text{g/mL}$) 0.5 mL、2.50 mL、5.00 mL、7.50 mL、10.0 mL 放入 10 mL 容量瓶中,用甲醇稀释至刻度,所配浓度分别为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、150.0 $\mu\text{g/mL}$ 、200.0 $\mu\text{g/mL}$ 。经 0.45 μm 滤膜过滤后,按色谱条件进样 1 μL ,以峰面积 Y 为纵坐标,葛根素标品浓度 X 为横坐标,得到其线性回归方程 (见图 2): $Y=0.1427X+0.0304$, 相关系数 $r=0.9996$,结果表明,葛根素在 10.0~200.0 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内,所得峰面积与葛根素的含量线性关系良好。

2.4 精密度和重现性试验

按试验条件取 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 的葛根素标准对照品重复进样 10 次,检测葛根素含量分别为 50.987 $\mu\text{g/mL}$ 、50.975 $\mu\text{g/mL}$ 、50.968 $\mu\text{g/mL}$ 、50.236 $\mu\text{g/mL}$ 、50.563 $\mu\text{g/mL}$ 、50.475 $\mu\text{g/mL}$ 、50.236 $\mu\text{g/mL}$ 、49.920 $\mu\text{g/mL}$ 、49.957 $\mu\text{g/mL}$ 、49.981 $\mu\text{g/mL}$ 。均值为 50.430 $\mu\text{g/mL}$, 相对平均偏差为 0.7214%, RSD 为 0.856%。

2.5 样品回收率及样品加标回收率实验

按照试验条件在样品中加入已知浓度的葛根素标准溶液,用超高效液相色谱仪测定未加样品和已加标样中

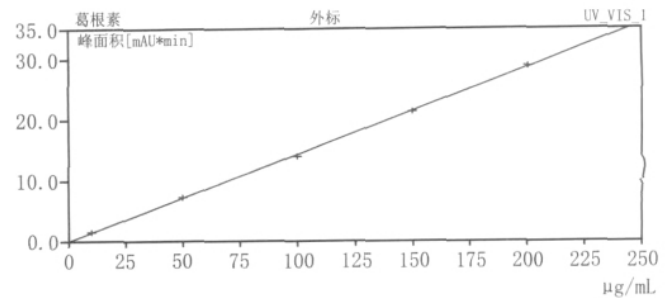


图 2 线性回归方程

的葛根素含量,检测结果表明,所测葛根酒 A 中葛根素的含量为 1.0 mg/100 mL; 葛根酒 B 中葛根素的含量为 1.5 mg/100 mL; 葛根酒 C 中葛根素含量为 1.3 mg/100 mL; 葛根酒 D 中葛根素的含量为 0.79 mg/100 mL。在葛根酒 A 中分别加入 10.00 $\mu\text{g/mL}$ 、20.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.00 $\mu\text{g/mL}$ 的葛根标准品,按色谱条件进样,检测结果见表 1、表 2,根据检测结果计算其回收率,从表 2 可以看出,该方法的回收率在 97.1%~105.3% 之间,其平均回收率为 100.3%, RSD 为 4.39%,回收率高。

表 1 方法回收率的检测结果

名称	次数					平均 样品量	RSD (%)
	1	2	3	4	5		
样品 A	10.11	10.18	10.204	10.028	9.976	10.1	0.96
样品 A 加标 10	20.607	20.646	20.759	20.579	20.576	20.633	0.37
样品 A 加标 20	29.478	29.508	29.486	29.527	29.602	29.52	0.17
样品 A 加标 30	39.855	39.656	39.785	39.583	39.175	39.61	0.67

表 2 方法加标回收计算

项目	样品 A	样品 A	样品 A
样品值 ($\mu\text{g/mL}$)	10.10	10.10	10.10
加入量 ($\mu\text{g/mL}$)	10.00	20.00	30.00
测定值 ($\mu\text{g/mL}$)	20.633	29.520	39.610
回收值 ($\mu\text{g/mL}$)	10.533	19.420	29.510
回收率 (%)	105.3	97.1	98.4
平均值回收率 (%)		100.27	
RSD (%)		4.39	

3 结论

实验结果表明,本实验方法操作简便,样品处理方便,结果准确可靠,重现性好。

参考文献:

- [1] 王靖,吉民,华维一,戴德哉.葛根素研究进展[J].药学进展,2003(2):70-73.
- [2] 杨薇,帅琴,张欣.葛酒、葛粉中葛根素的高效液相色谱分析[J].分析科学学报,2003(1):99-100.
- [3] 孙林超.高效液相色谱法测定葛粉保健品中葛根素的含量[J].理化检验(化学分册),2008(10):945-946.
- [4] 李洪玉,戴诗文,寿旦,章建民.葛根中葛根素的高效液相色谱分析[J].中国实用医药,2008(7):7-8.
- [5] 迟霏菲,张国刚.高效液相色谱法测定不同产地葛根中葛根素的含量[J].中南药学,2006,114(14):307-308.
- [6] 刘泰然.反相液相色谱法测定保健品中葛根素[J].中国卫生检验杂志,2005,15(2):147-148.