

应用高效液相法测定金银花中绿原酸的含量

张焱¹,贺秋璟²,曹钰²

(1.湖南神舟科技股份有限公司,湖南长沙 410004;2.湖南省分析测试中心,湖南长沙 410004)

摘要:文章采用50%甲醇溶解,超声波超30 min,再用流动相为乙腈-0.4%磷酸溶液(80:20),色谱柱为Ultimate AQ-C18(4.6×250, 5 μm),检测波长为327 nm,流速1.0 ml/min,柱温25 °C。在该色谱条件下,绿原酸在2.85~14.05(μg/ml)范围内线性良好,相关系数为0.9998,加样回收率为90.6%,RSD1.02%,该方法简单,易操作,分离度好,适用于金银花中绿原酸的测定。

关键词:高效液相;金银花;绿原酸

中图分类号:S567.239

文献标识码:A

文章编号:1006-8937(2011)05-0006-02

Determination of chlorogenic acid in Honeysuckle by HPLC

ZHANG Yan¹, HE Qiu-jing², CAO Yu²

(1.Hunan Shenzhou Science & Technology Co., Ltd, Changsha, Hunan 410004, China;

2.Analysis and Testing Center of Hunan Province, Changsha, Hunan 410004, China)

Abstract: This paper uses 50% methanol solution, ultrasonic over 30min, and then mobile phase of acetonitrile - 0.4% phosphoric acid (80:20), column for the Ultimate AQ-C18 (4.6×250, 5 μm), detection wavelength of 327nm, flow rate 1.0ml/min, column temperature 25 °C. In the chromatographic conditions of chlorogenic acid in the 2.85- 14.05 (μg/ml) a good linear range, correlation coefficient of 0.9998, recovery was 90.6%, RSD1.02%, the method is simple and easy to operate, separation Well, for chlorogenic acid determination.

Keywords: HPLC; Honeysuckle; Chlorogenic acid

金银花(*Flos lonicerae*),又名忍冬、双花,是常见中药材之一,具有清热解毒、凉散风热、消除皮疥疮、降血脂、降血压、预防心血管病、抗氧化等多种功效,其主要有效成分为绿原酸,结构式见图1。

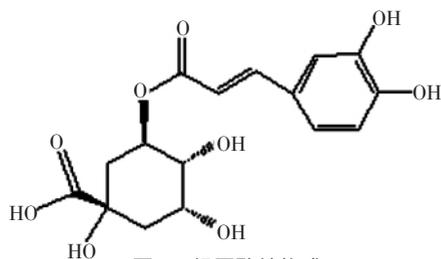


图1 绿原酸结构式

绿原酸由咖啡酸与奎尼酸缩合而成的缩酚酸,也叫咖啡鞣酸。绿原酸半水化合物为白色或微黄色针状结晶,易溶于乙醇、甲醇、丙酮等极性溶剂,微溶于乙酸乙酯,难溶于三氯甲烷、乙醚、苯等亲脂性有机溶剂,是一种重要的生理活性物质。在药学上有多种功效:降压、抗肿瘤作用;助阳补肾、增强机体免疫;抗氧化、抗衰老、抗肌肉骨骼老化;作为抗菌消炎的主要成分,对金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、痢疾杆菌、伤寒杆菌、肺炎球菌有显著的抑制作用;有升高白细胞、保肝利胆、清除自由基等作用;与人体血小板凝集和凝血因子的生成有关,还具有抗生育作用及对免疫系统的调节作用。总之,绿原酸具有多种药理作用且分布广泛,而加快对其研究开发具有非常重要的意义。

收稿日期:2010-12-15

作者简介:张焱(1981—),男,黑龙江鹤岗人,大专,助理工程师,主要从事电力电磁售后服务工作。

本文采用高效液相色谱法测定金银花中绿原酸的含量,方法简便、快速,分离效果好。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和材料

1.1.1 仪器

日本岛津 LC-2010AHT 型高效液相色谱仪;UV2450 紫外分光光度器;超声波清洗仪(AS2060B);电子天平(AB204-A) 精确度 1×10^{-5} g。

1.1.2 材料与试剂

金银花,绿原酸标准(98.5%含量);甲醇、磷酸均为分析纯;乙腈为色谱纯;二次蒸馏水。

1.2 实验方法

1.2.1 液相色谱条件

色谱柱为 Ultimate AQ-C₁₈(4.6×250 mm 5 μm),流动相为乙腈-0.4%磷酸水溶液(80%/20%),流动相经过 0.45 μm 的微孔滤膜过滤和超声波脱气处理,流速为 1.0 ml/min,柱温为 25 °C,检测波长为 327 nm,进样量为 5 μl。

1.2.2 标准溶液的配制

用电子天平(精确至 0.0001 g)称取 7.2 mg 杜仲粉(98.5%含量)对照品,用 50%甲醇超声 30 min 溶解并定容至 50 ml 容量瓶中,则母液浓度为 140.96 μg/ml,待用。

1.2.3 样品的提取

用捣碎机将金银花捣碎成粉末,准确称取 0.3901 g 样品,加入 50%甲醇定容至 50 ml,超声 30 min,过 0.45 μm 滤膜,按以上色谱条件测定,见图 2。

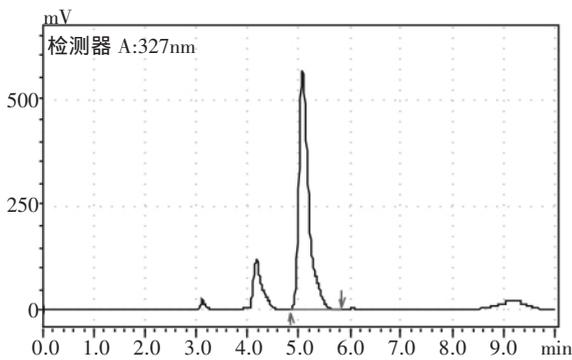


图 2 金银花样品

2 结果与讨论

2.1 色谱条件

2.1.1 色谱柱的选择

绿原素为极性化合物,可以用选用反向色谱柱来分离测定,实验时选用了氟柱与 C₁₈ 柱,氟柱未出峰,C₁₈ 柱较好地达到分离测定效果。

2.1.2 检测波长的选择

杜仲粉甲醇标准溶液在紫外分光光度仪进行(200~400 nm)波长扫描,可知绿原酸在 327 nm 处有最大吸收峰,故选择 327 nm 波长检测。

2.1.3 流动相的选择

选择乙腈与 0.4%磷酸水溶液的不同配比做流动相,采用乙腈-0.4%磷酸水溶液(88:12)的流动相时,绿原酸未分离开(见图 3)。采用乙腈-0.4%磷酸水溶液(80:20)的流动相时,分离得很好附近没什么杂峰(见图 4)。故实验选用乙腈-0.4%磷酸水溶液(80:20)的流动相。

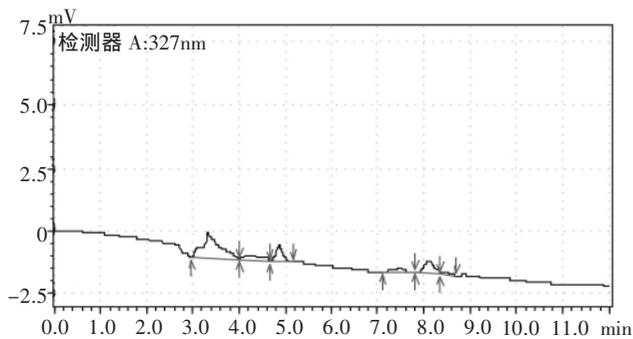


图 3 绿原酸标准

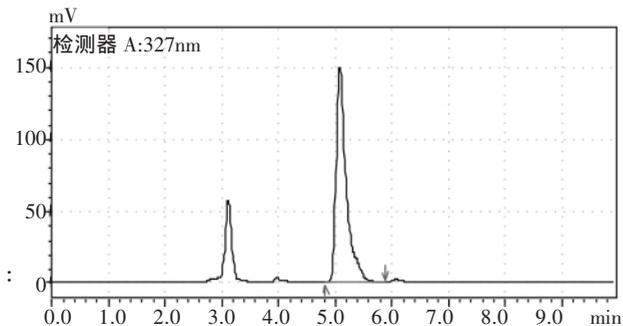


图 4 绿原酸标准

2.2 精密实验

2.2.1 标准曲线的制作

用移液管分别从上述配制好的母液中准确移取

0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 ml 置于 10 ml 容量瓶中,其浓度分别是 2.82、5.64、8.46、11.28、14.09 μg/ml,用 50%的甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀。以上述条件下,进样 25 μl,以峰面积(Y)对溶度(C)(μg/ml)绘制标准曲线(见图 5),得到回归方程 $y=67940x-2327.3$ $r=0.9998$,绿原酸在含量在 2.85~14.05 μg/ml 范围内具有良好的线性。

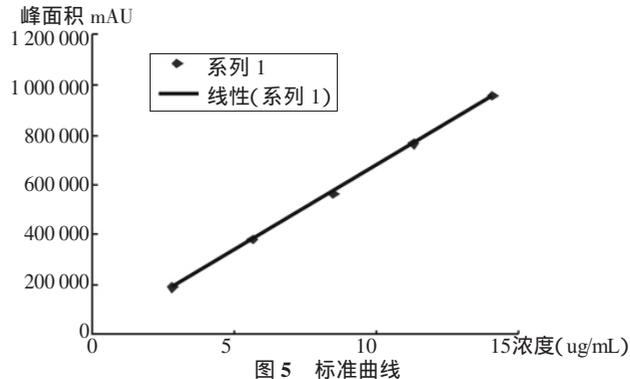


图 5 标准曲线

2.2.2 重现性

称取一份样品按上述提取方法制成供试品溶液,按该色谱条件,重复进样 5 次,结果见表 1。

表 1 重现性实验结果

| 编号 | 峰面积 | 平均峰面积 | RSD(%) |
|----|---------|---------|--------|
| 1 | 694 488 | 695 255 | 0.48 |
| 2 | 697 245 | | |
| 3 | 696 388 | | |
| 4 | 698 366 | | |
| 5 | 689 788 | | |

2.2.3 回收率

准确称取已知含量的金银花样品 3 份,分别加入 8.46 μg/ml、46.98 μg/ml、140.96 μg/ml 绿原酸标准品 1.00 ml,按样品处理的方法,以 50%甲醇超声提取 30 min,过滤,过膜,上机测定,结果见表 2。

表 2 回收率测定结果

| 样品 | 添加量(μg) | 回收率(%) | RSD(%) |
|-----|---------|--------|--------|
| 金银花 | 8.46 | 89.6 | 1.02 |
| | 46.98 | 90.8 | |
| | 140.96 | 91.5 | |

3 结论

金银花提取物以有机酸为有效成分,本实验以绿原酸含量作为金银花提取物的质量控制指标,采用 50%甲醇超声 30 min 提取,流动相为乙腈-0.4%磷酸水溶液(88:12),检测波长为 327 nm 的高效液相色谱进行分析,回收率为 90.6%,RSD1.02%,方法简单,分离度好,适用于金银花中绿原酸的测定。

参考文献:

[1] 周亚新.高效液相色谱法测定金盏银盘中的绿原酸[J].福建分析测试,2010(3).
 [2] GB/T22250-2008,保健食品中绿原酸的测定[S].
 [3] 乌兰,张泽生.金银花中绿原酸的提取及检测[J].食品科学,2005,26(6).