

红树莓果实中鞣花酸和树莓酮的含量测定

张成涛, 万国盛, 赵余庆, 孙博航, 高慧媛*

(沈阳药科大学中药学院, 沈阳 110016)

[摘要] 目的: 利用高效液相色谱法(HPLC)测定红树莓 *Rubus corchorifolius* Linn. f. 果实中鞣花酸和树莓酮的含量。方法: 鞣花酸 ODS CAPCELL PAK C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 CH₃OH-0.2% 磷酸(45:55), 检测波长 254 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹; 树莓酮 ODS CAPCELL PAK C₁₈ 柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相 CH₃OH-H₂O(30:70), 检测波长 271 nm, 流速 1.0 mL·min⁻¹。结果: 鞣花酸含量在 0.056~0.402 g·L⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9994$ ($n=5$), 平均加样回收率为 100.2%, RSD 1.5%。树莓酮含量在 0.0144~0.0336 g·L⁻¹ 与峰面积呈良好的线性关系, $r=0.9995$ ($n=5$), 平均加样回收率为 99.4%, RSD 1.8%。结论: HPLC 简便, 准确, 重复性好, 可用于红树莓果实提取物中鞣花酸和树莓酮的含量测定。

[关键词] 红树莓; 鞣花酸; 树莓酮; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0140-04

[doi] 10.11653/syjf2013190140

Determination of the Content of Ellagic Acid and Raspberry Ketone in Red Raspberry (*Rubus corchorifolius*) Fruit

ZHANG Cheng-tao, WAN Guo-sheng, ZHAO Yu-qing, SUN Bo-hang, GAO Hui-yuan*

(School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

[Abstract] **Objective:** The purpose was to determine the content of ellagic acid and raspberry ketone extracted from red raspberry (*Rubus corchorifolius*) fruit by HPLC. **Method:** The chromatography conditions of ellagic acid were as follows: C₁₈ column of ODS CAPCELL PAK (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), CH₃OH-0.2% H₃PO₄ (45:55) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ as mobile phase and detection wavelength of 254 nm; the chromatography conditions of raspberry ketone were as follows: C₁₈ column of ODS CAPCELL PAK (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), CH₃OH-H₂O (30:70) at a flow rate of 1.0 mL·min⁻¹ as mobile phase and detection wavelength of 271 nm. **Result:** The results showed that there was a good linearity between the peak area and the content of ellagic acid in the range of 0.056-0.402 g·L⁻¹ ($r=0.9994$). The average recovery of sample was 100.2%, and RSD was 1.5%. The results showed that there was a good linearity between the peak area and the content of raspberry ketone in the range of 0.0144-0.0336 g·L⁻¹ ($r=0.9994$). The average recovery of sample was 99.4%, and RSD was 1.8%. **Conclusion:** The method is simple, accurate and reproducible for determination ellagic acid and raspberry ketone in the extract of red raspberry fruit.

[Key words] red raspberry; ellagic acid; raspberry ketone; HPLC

红树莓为蔷薇科悬钩子属植物,又名木莓,营养丰富而齐全,被誉为新兴的第 3 代果树^[1-2]。鞣花

酸、树莓酮为红树莓果实中主要功能因子。鞣花酸主要以缩合形式(如鞣花单宁、苷等)存在于自然界

[收稿日期] 20130122(016)

[基金项目] 辽宁省教育厅高等学校杰出青年学者成长计划项目(LJQ2011103)

[第一作者] 张成涛, 硕士研究生, Tel:024-23986482, E-mail: zhchtao20073294@163.com

[通讯作者] * 高慧媛, 博士, 副教授, 从事中药、天然药物活性成分研究, Tel:024-23986482, E-mail: gaohuiyuan1997@yahoo.com.cn

中,也能以游离形式存在^[3]。鞣花酸对多种癌变有明显的抑制作用,具有明显的抗氧化、抗癌变、抗诱变及抗突变作用,被认为是最有前景的天然化学抗癌药之一^[4-10]。树莓酮[4-(4-hydroxyphenyl)butan-2-one,PK]是红树莓中的主要芳香类化合物^[11],研究发现树莓酮具有抗菌、抗癌、抑制肥胖症,增加皮肤弹性的作用,并且其减少内脏脂肪的效果比其促使皮下脂肪减少的效果更加明显^[12]。为对红树莓果实中主要功能因子进行深入探讨,本文采用HPLC对红树莓果实中的鞣花酸和树莓酮含量进行了研究,旨在为红树莓相关产品研究提供质量控制方法。

1 材料

红树莓(购自辽宁新大地种植基地)经沈阳药科大学路金才教授鉴定为悬钩子属植物红树莓 *Rubus corchorifolius* Linn. F 的果实,鞣花酸对照品购自成都曼思特生物科技有限公司(批号 MUST-12110903),树莓酮对照品购自西格玛奥德里奇贸易有限公司(批号 MKBM7462V),甲醇(色谱纯,天津市康科德科技有限公司),水(杭州娃哈哈集团有限公司),其余试剂均为分析纯。

高效液相色谱仪(日本日立 L-7110 泵, L-7400 型紫外检测器, FL9500 色谱工作站), AB135-S 型电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司), KQ-250DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), JYL-A100 型九阳料理机(九阳股份有限公司)。

2 方法与结果

2.1 鞣花酸的含量测定

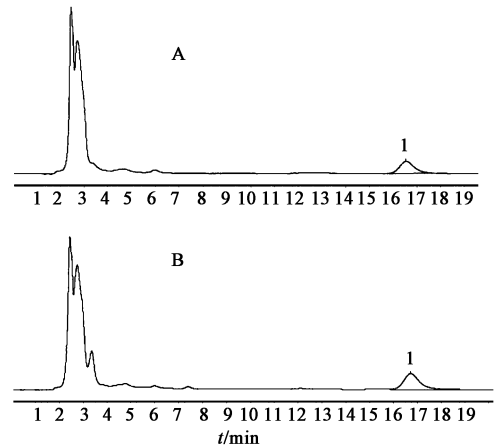
2.1.1 供试品溶液的制备 称取粉碎后的红树莓浆 0.35 g(精确到 0.000 1 g),加 70% 丙酮溶液 50 mL,浸渍 12 h,超声提取 2 次,每次 30 min,过滤,残渣用 70% 丙酮 30 mL 洗涤,合并 70% 丙酮滤液和洗涤液,减压回收丙酮溶液,残渣加 50% 甲醇溶液 50 mL(内含 1.2 mol·L⁻¹的盐酸),90 °C 回流 30 min,减压回收甲醇溶液,残渣用二甲基亚砜溶解,定容到 100 mL 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,作为供试品溶液。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取鞣花酸对照品 20.10 mg,置于 50 mL 量瓶中,用二甲基亚砜溶解并定容至刻度,摇匀。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,制成 0.402 g·L⁻¹的对照品溶液。

2.1.3 液相色谱条件 CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm),流动相 CH₃OH-0.2% 磷

酸(45:55),检测波长 254 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。见图 1。

2.1.4 标准曲线 精密吸取对照品溶液适量,分别配制成质量浓度为 0.056,0.161,0.201,0.273,0.402 g·L⁻¹鞣花酸对照品系列溶液,进样 20 μL,测定其峰面积,以峰面积为纵坐标、鞣花酸质量浓度为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程得 $Y = 645\ 687X - 12\ 576$ ($r = 0.999\ 4$),表明在 0.056 ~ 0.402 g·L⁻¹,鞣花酸峰面积值与浓度呈良好的线性关系。



A. 对照品;B. 样品;1. 鞣花酸

图 1 红树莓样品 HPLC

2.1.5 精密度试验 精密吸取同一鞣花酸对照品溶液 20 μL,连续重复进样 6 次,测定鞣花酸的峰面积值,RSD 0.8%,表明精密度良好;取同一鞣花酸供试品溶液 20 μL,连续重复进样 6 次,测定鞣花酸的峰面积值,RSD 1.2%,表明精密度良好。

2.1.6 重复性试验 取同一红树莓样品 6 份,分别按供试品溶液制备法制备,测定鞣花酸峰面积,计算样品中鞣花酸平均含量为 42.6 mg·g⁻¹,RSD 1.05%,表明仪器样品处理过程和测定方法均有良好的重复性。

2.1.7 加样回收率试验 称取已知鞣花酸含量的红树莓浆样品共 6 份,每份约 0.2 g,共 6 份,精密称定。分别加入鞣花酸对照品约 8.70 mg,按 2.1.1 方法制备加样供试品溶液,按 2.1.3 液相色谱条件测定鞣花酸含量,计算平均回收率为 100.2%,RSD 1.5%,结果见表 1。

2.1.8 试样测定结果 称取红树莓浆 3 份,每份 0.35 g,精密称定,按 2.1.1 供试品溶液制备方法及 2.1.3 色谱条件进行测定,计算 3 批样品中鞣花酸的含量,平均含量为 43.5 mg·g⁻¹,RSD 0.96%。

2.2 树莓酮的含量测定

表 1 鞣花酸加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
0.199 7	8.69	8.70	17.24	98.3	100.2	1.5
0.199 9	8.70	8.80	17.60	101.1		
0.199 8	8.69	8.72	17.64	102.6		
0.199 9	8.70	8.76	17.40	99.3		
0.200 1	8.70	8.64	17.30	99.5		
0.200 0	8.70	8.66	17.40	100.5		

2.2.1 供试品溶液的制备 称取粉碎后的红树莓浆 50 g(精确到 0.000 1 g),加入氯仿溶液 300 mL,加热回流提取 3 次,每次 2 h,合并提取液,过滤,减压回收氯仿溶液,残渣用色谱甲醇溶解,定容到 10 mL 量瓶中,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,作为供试品溶液。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取树莓酮对照品 6.00 mg,置于 25 mL 量瓶中,用色谱甲醇溶解并定容至刻度,摇匀。经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,制成 0.24 g·L⁻¹的对照品溶液。

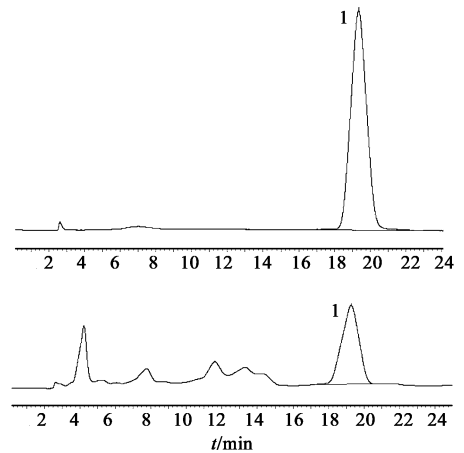
2.2.3 液相色谱条件 CAPCELL PAK C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相 甲醇-水(30:70),检测波长 271 nm,流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 20 μL。见图 2。

2.2.4 标准曲线 精密吸取对照品溶液适量,分别配制成质量浓度为 0.014 4, 0.019 2, 0.024 0, 0.028 8, 0.033 6 g·L⁻¹ 树莓酮对照品系列溶液,进样 20 μL,测定其峰面积,以峰面积为纵坐标、树莓酮质量浓度为横坐标绘制标准曲线,计算回归方程 $Y = 3 \times 10^6 X - 8 886.8 (r = 0.999 5)$,表明在 0.014 4 ~ 0.033 6 g·L⁻¹,树莓酮峰面积值与浓度呈良好的线性关系。

2.2.5 精密度试验 精密吸取同一树莓酮对照品溶液 20 μL,连续重复进样 6 次,测定树莓酮的峰面积值,RSD 0.6%,表明精密度良好;取同一树莓酮供试品溶液 20 μL,连续重复进样 6 次,测定树莓酮的峰面积值,RSD 0.8%,表明精密度良好。

2.2.6 重复性试验 取同一红树莓样品 6 份,分别按 2.2.1 法制备,测定树莓酮峰面积,计算样品中树莓酮平均含量为 3.35 μg·g⁻¹,RSD 1.2%,表明仪器样品处理过程和测定方法均有良好的重复性。

2.2.7 加样回收率试验 称取已知树莓酮含量的红树莓浆样品共 6 份,每份约 50 g,共 6 份,精密称定。分别加入树莓酮对照品约 0.150 mg,按 2.2.1



A. 对照品;B. 供试品;1. 树莓酮

图 2 红树莓样品 HPLC

方法制备加样供试品溶液,按 2.2.3 液相色谱条件测定树莓酮含量,计算平均回收率为 99.4%,RSD 1.8%,见表 2。

表 2 树莓酮加样回收率试验

称样量 /g	样品中含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率/%	RSD /%
49.999 5	0.167	0.155	0.320	98.7	99.4	1.8
50.000 5	0.168	0.162	0.328	98.8		
50.000 1	0.168	0.151	0.315	97.4		
49.999 8	0.167	0.155	0.325	101.9		
49.999 5	0.167	0.164	0.328	98.2		
50.000 3	0.168	0.150	0.320	101.3		

2.2.8 试样测定 称取红树莓浆 3 份,每份 50 g,精密称定,按 2.2.1 供试品溶液制备方法及 2.2.3 色谱条件进行测定,计算 3 批样品中树莓酮的含量,平均含量为 3.32 μg·g⁻¹,RSD 1.5%。

3 讨论

目前尚无文献报道红树莓中树莓酮的含量测定方法,参考相关文献^[13]建立了 HPLC 测定红树莓中鞣花酸和树莓酮的含量,并进行了方法学考察,结果显示鞣花酸含量较高,树莓酮含量较低,且方法快速、简便、准确,测定结果可靠。这将为红树莓作为新兴第 3 代水果的质量标准研究提供参考。

[参考文献]

[1] 刘丽娜,辛秀兰,崔丽娟. HPLC 法测定红树莓籽中鞣花酸含量[J]. 安徽农业科学,2012,40(18):9659.
[2] 王学勇,张均营. 树莓和黑莓的研究进展[J]. 安徽农业科学,2010,38(10):5070.

HPLC 测定胡日查六味丸中羟基红花黄色素 A 的含量

武晓兰, 邵文泉, 斯日棍其其格, 白玉霞*
(内蒙古民族大学蒙医药学院, 内蒙古 通辽 028300)

[摘要] 目的: 建立蒙药胡日查六味丸中羟基红花黄色素 A 的含量测定方法。方法: 采用高效液相色谱法, 以 Diamonsil C₁₈ 柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm) 为分离柱, 以甲醇-乙腈-0.7% 磷酸溶液(26:2:72) 为流动相, 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 403 nm, 柱温 30 °C。结果: 羟基红花黄色素 A 在 70 ~ 420 ng 呈良好的线性关系($r = 0.999 8$), 平均回收率 99.27%, RSD 0.86%。结论: 方法简便、准确、重复性好, 适合羟基红花黄色素 A 类样品的分析测定。

[关键词] 胡日查六味丸; 羟基红花黄色素 A; 高效液相色谱法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)18-0143-03

[doi] 10.11653/syfj2013180143

Determination of Hydroxysafflower Yellow A Contents of Huricha-6 Pills by RP HPLC

WU Xiao-lan, TAI Wen-quan, Sirigunqiqige, BAI Yu-xia*
(College of Mongolian Medicine and Pharmacy, Inner Mongolian University
for Nationalities, Tongliao 028300, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an HPLC method for determination of hydroxysafflower yellow A in

[收稿日期] 20121112(021)

[基金项目] 内蒙古民族大学蒙药研发工程实验室创新能力建设项目(2009FGW002)

[第一作者] 武晓兰, 实验师, 从事蒙药化学成分研究, Tel: 0475-8313112, E-mail: xiaolan239@163.com

[通讯作者] * 白玉霞, 教研室主任, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事蒙药化学成分、蒙药材及蒙药制剂质量标准研究, Tel: 0475-8314360, E-mail: baiyuxia165@sina.com

- [3] 刘艳, 宋立秋, 范俊娟, 等. HPLC 法测定蓝莓中鞣花酸含量[J]. 江苏农业科学, 2008(3):217.
- [4] 刘建华, 张志军, 李淑芳. 树莓中功效成分的开发浅论[J]. 食品科学, 2004, 25(10):371.
- [5] 刘艳, 熊伟, 田吉, 等. 可变波长同时测定泸州龙眼没食子酸和鞣花酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(6):84.
- [6] 王妙飞, 程庚金生, 张道英, 等. 水解法制备五倍子鞣花酸的研究[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2):233.
- [7] 刘振平, 陈祥贵, 杨潇, 等. RP-HPLC 同时测定石榴皮提取物中的 3 种鞣质成分[J]. 中国中药杂志, 2011, 36(19):2645.
- [8] 张目, 朱少娟, 严泽民, 等. HPLC 测定地榆中没食子酸和鞣花酸的含量[J]. 现代科学仪器, 2009, 10(5):69.
- [9] 张华, 裴桂珍, 李桂华, 等. 鞣花酸片剂的制备及其含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(13):40.
- [10] 裴贵珍, 陈文, 张华, 等. 鞣花酸片在家兔体内药代动力学研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(12):136.
- [11] Pabst A, Barron D, Etievant P, et al. Studies on the enzymic hydrolysis of bound aroma constituents from raspberry fruit pulp[J]. J Agric Food Chem, 1991, 39(1):172.
- [12] 黎庆涛, 王远辉, 王丽. 树莓功能因子研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2011(2):173.
- [13] Paterson A, Kassim A, Mc Callum S, et al. Environmental and seasonal influences on red raspberry flavour volatiles and identification of quantitative trait loci (QTL) and candidate genes[J]. Theor Appl Genet, 2013(126):33.

[责任编辑 顾雪竹]