

液质联用法测定广山楂有机酸含量

王乃平, 袁艳, 江海燕*, 李阳杰
(广西中医学院, 南宁 530001)

[摘要] 目的: 建立广山楂有机酸含量测定方法。方法: 采用液质联用的方法。色谱柱 Kinetex HILIC100A (4.6 mm × 100 mm, 2.60 μm), 流动相-乙腈-乙酸铵水 (30:70), 流速 0.5 mL·min⁻¹, 进样量 0.5 μL; 柱温 35 °C。结果: 苹果酸、柠檬酸、酒石酸 3 种有机酸回收率分别为 103.07% (RSD 3.85%), 99.51% (RSD 4.12%), 85.03% (RSD 4.39%)。结论: 方法灵敏、准确, 重现性好, 为广山楂的质量控制提供了实验依据。

[关键词] 液质联用; 广山楂; 有机酸

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0077-02

Content of Determination Organic Acids in Malus Doumeri by HPLC-MS

WANG Nai-pin, YUAN Yan, JIANG Hai-yan*, LI Yang-jie
(Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for determination the content of the organic acids in Malus doumeri. **Method:** The content of the organic acids in Malus doumeri was determined by HPLC-MS. The Kinetex HILIC100A column (4.60 mm × 100 mm, 2.6 μm) was used with acetonitrile and acetic ammonia (30:70) as mobile phase. The flow rate was 0.5 μL and the column temperature was at 35 °C. **Result:** The recovery of malic acid was 103.07% with RSD 3.85%; the citric acid was 99.51% with RSD 4.12%; and the tartaric acid was 85.03% with RSD 4.39%. **Conclusion:** The method is sensitive and accurate; it can achieve very good reproducibility and provide the experimental basis for quality control of Malus doumeri.

[Key words] HPLC-MS; Malus doumeri; organic acids

广山楂为蔷薇科苹果属植物台湾林檎 *Malus doumeri* (Bois) Chev. 和光萼林檎 (广西苗 *Malus leiocalyca* S. Z. Huang) 的干燥成熟果实。别名尖嘴林檎、大果山楂, 又称古蝉子、乌蝉子、麻缺顿、墨鸡屯 (广西壮族)^[2]。具有和气健脾、消食导滞之功能^[1], 性味甘、酸、涩、微温。其果实和叶在广西作为

山楂使用已久。广山楂主要含有黄酮类、有机酸、萜类、苷类等成分。其中有机酸类的定性定量研究已有报道^[3-5]。本文采用液质联用法对来自广西 10 个不同产地广山楂中的苹果酸、柠檬酸、酒石酸进行了定量测定。

1 仪器与试剂

三重四级杆液相质谱联用仪 (美国 Agilent 公司液相 LC1260, 质谱 QQQ6430)。苹果酸、柠檬酸、酒石酸对照品 (美国 supelco 公司提供批号分别为 1b73180, 46933, 46987); 广山楂药材来源广西梧州、贵港、凭祥、靖西、天峨等地, 经广西中医学院药学院刘寿养教授鉴定为蔷薇科植物台湾林檎 *M. doumeri* 的果实。流动相乙酸铵、氨水, 及其他试剂均为分析纯。

[收稿日期] 20101221(002)

[基金项目] 广西科技攻关项目 (桂科攻 0815005-1-9)

[第一作者] 王乃平, 博士, 教授, 主要从事中药药理与质量控制研究

[通讯作者] * 江海燕, 教授, 主要从事中药质量控制与管理研究, Tel: 0771-2135536, Fax: 0771-3140360, jhywe@sina.com

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱为 Kinetex HILIC100A (4.60 mm × 100 mm, 2.6 μm), 流动相为乙腈-乙酸铵水溶液(30:70), 流速 0.5 mL·min⁻¹, 进样量 0.5 μL, 柱温 35 ℃。

2.2 质谱条件 ESI 离子源, 检测方式为 MRM 多重反应监测, 负离子模式, 干燥气温度 35 ℃, 雾化器压力 40 Psi, 干燥气流速 10 L·min⁻¹, 扫描方式选择离子监测(SIM)。

2.3 对照品溶液的制备 精密称取对照品苹果酸, 柠檬酸, 酒石酸(分别为 7.23, 4.44, 5.27 mg), 置 25 mL 量瓶中加纯水定容至刻度, 摇匀, 得混合对照品贮备液。

2.4 供试品溶液的制备 分别取不同产地广山楂药材饮片打粉过 200 目筛, 取细粉 1g, 精密称量, 加适量水常温超声 30 min, 加水定容至 50 mL, 15 000 r·min⁻¹ 高速离心, 取上层清液 0.5 mL 置 5 mL 量瓶, 加乙腈至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得。

2.5 标准曲线的制备 精密吸取 2.3 项下混合对照品溶液适量, 按 2.1, 2.2 项下条件测定 3 个组分, 以峰面积对质量浓度进行线性回归, 绘制标准曲线, 求得各自的回归方程。苹果酸回归方程 $Y = 9823.41X + 1852.86$ ($r = 0.9975$), 线性范围 0.15 ~ 289.2 mg·L⁻¹; 柠檬酸回归方程 $Y = 42179.99X - 4311.85$ ($r = 0.9993$), 线性范围 0.09 ~ 177.6 mg·L⁻¹; 酒石酸回归方程 $Y = 3771.90X + 415.67$ ($r = 0.9976$), 线性范围 0.15 ~ 210.8 mg·L⁻¹; 结果表明 3 个组分在各自浓度范围内呈良好的线性关系。

2.6 精密度试验 按 2.1, 2.2 项下条件混合对照品溶液重复进样 5 次, 进样量 0.5 μL。各组分的峰面积的 RSD 分别为 2.66%, 2.95%, 2.55% ($n = 5$)。

2.7 重复性试验 精密称取同一批号的供试品 5 份, 分别按 2.4 项下方法操作, 测得的各组分含量的 RSD 分别为 3.85%, 4.12%, 4.39% ($n = 5$)。

2.8 加样回收试验 分别精密吸取已知含量的山楂提取物 3 份, 每份 10 mL, 精密加入 5 mL 混合对照品溶液, 超声溶解, 定容至刻度, 摇匀, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 按 2.1, 2.2 项下条件测定各组分的含量, 计算回收率。各组分的平均加样回收率分别为 103.07%, 99.51%, 85.03%。

2.9 样品的测定 10 个产地样品的处理按照上述 2.4 项下方法操作, 照 2.1, 2.2 项下条件进行测定,

根据峰面积采用外标法计算出各组分的含量, 结果见表 1。

表 1 不同产地广山楂中有机酸含量测定 ($n = 5$)

样品产地	样品量/g	组分/mg·g ⁻¹		
		柠檬酸	苹果酸	酒石酸
梧州	1.002 7	23.439 4	41.047 7	6.047 6
贵港	1.055 9	31.226 0	57.818 3	6.321 3
凭祥	0.995 6	33.035 7	36.604 2	5.167 0
天峨	1.001 3	23.541 3	30.770 0	2.733 8
柳州	1.011 4	18.744 4	47.846 3	1.228 9
荔浦	1.076 8	18.011 4	34.778 6	1.114 3
贺州	1.087 7	20.341 9	34.258 6	0.601 1
阳朔	1.033 9	23.313 4	43.496 3	0.291 9
靖西	0.998 6	22.148 8	32.634 0	0.460 7
那坡	1.010 9	13.637 4	24.796 7	0.319 8

3 讨论

实验结果表明, 不同产地的广山楂有机酸含量有一定差异, 其中贵港的广山楂苹果酸含量最高, 与柠檬酸、酒石酸总量之和也是 10 个产地样品中最高的, 提示广山楂有机酸的含量的高低与产地、生长期、采收期都有一定关系。

从选择的有机酸来看, 广山楂中柠檬酸和苹果酸含量远远要高于酒石酸, 可以把柠檬酸和苹果酸作为广山楂中有机酸含量的测定指标。

本文首次采用液质联用的方法测定广山楂有机酸的含量, 其测定结果均远远高于国内现有其他测定方法如酸碱滴定法、高效液相色谱法测定南北山楂中的有机酸含量^[3-5], 且本方法灵敏、准确, 重复性好, 为广山楂的质量控制提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 广西壮族自治区卫生厅. 广西中药材标准[S]. 南宁: 广西科技出版社, 1992; 21, 22, 139.
- [2] 黄燮才. 中药山楂原植物的研究[J]. 广西植物, 1989, 9(4): 303.
- [3] 陈勇, 甄汉深, 陆雪梅. 广山楂主要化学成分的定量研究[J]. 中药研究与信息, 2000, 2(11): 18.
- [4] 张峻松, 贾春晓, 张文叶. 山楂中有机酸的定量分析研究[J]. 中州大学学报, 2003, 32(12): 1624.
- [5] 金高娃, 章飞芳, 薛兴亚, 等. 反相高效液相色谱法测定山楂中的有机酸[J]. 分析化学研究简报, 2006, 34(7): 987.

[责任编辑 蔡仲德]