

HPLC-ELSD 法测定枸杞子中甜菜碱

黄蘅^{*}, 陈学松, 廖强

(梧州食品药品检验所, 广西 梧州 543002)

[摘要] 目的: 研究以 HPLC-ELSD 法测定枸杞子中甜菜碱的含量。方法: 采用 HPLC-ELSD 法。Luna 5 u SCX 100A 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相甲醇 - 0.10 mol · L⁻¹ 醋酸铵 (15 : 85), 体积流量 1.0 mL · min⁻¹, 柱温 30 ℃, 检测器参数为雾化器温度 60 ℃, 蒸发器温度 90 ℃, 蒸发器气流 1.0 L · min⁻¹。结果: 甜菜碱线性范围为 0.75 ~ 3.75 μg ($r=0.9997$), 平均回收率为 99.86%, RSD 为 2.05% ($n=6$)。结论: 该方法快速, 准确, 适用于测定枸杞子中甜菜碱的含量。

[关键词] 枸杞子; 甜菜碱; 高效液相色谱-蒸发光散射法

[中图分类号] R284.1 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)07-0059-02

Determination the Contents of Betaine in *Lycium barbarum* L. by HPLC-ELSD

HUANG Heng^{*}, CHEN Xue-song, LIAO Qiang

(Wuzhou institute for food and drug control, Wuzhou 543002, China)

[Abstract] **Objective:** Aim to establish a HPLC-ELSD method for determination of betaine in *Lycium barbarum*. **Method:** HPLC-ELSD method was used Luna 5 u SCX 100A (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), was used with methanol - 0.10 mol · L⁻¹ ammonium acetate (15 : 85), the flow rate was 1.0 mL · min⁻¹, the column temperature was at 30 ℃; Detector parameter were as follow: the nebulizer temperature was at 60 ℃, and the evaporation temperature was at 90 ℃, the flow rate was 1.0 L · min⁻¹. **Result:** The linear range of betaine was in 0.75 ~ 3.75 μg ($r=0.9997$); The average recovery ($n=6$) was 99.86%, with RSD 2.05%. **Conclusion:** The method is suitable for the determination the contents of the betaine in *L. barbarum*.

[Key words] *Lycium barbarum* L; betaine; HPLC-ELSD

枸杞子为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* 的干燥成熟果实。枸杞子性平、味甘。归肝、肾经。具有滋补肝肾, 益精明目的功效。用于虚劳精亏, 腰膝酸痛, 眩晕耳鸣, 内热消渴, 血虚萎黄, 目昏不明等作用^[1]。2005 年版《中国药典》一部中对枸杞子中甜菜碱的含量采用薄层扫描法测定^[1], 但该方法操作较繁琐, 检测灵敏度低, 重复性不佳, 误差较大。另有文献^[2]报道用高效液相色谱法对枸杞子中的甜菜碱进行含量测定, 但由于甜菜碱结构中无共轭体系, 仅能在低紫外吸收波长处测定, 条件要求较高, 灵敏度不够理想, 亦有将甜菜碱制成衍生物, 再进行 HPLC 测定^[3], 操作较为繁琐。本实验采用 HPLC-蒸发光散射

检测器(ELSD)对枸杞子中的甜菜碱进行了测定, 方法快速、简便, 测定结果令人满意。

1 仪器与试剂

安捷伦 Agilent-1200 高效液相色谱仪; PL-ELS2100 蒸发光散射检测器; ChemStation 色谱工作站; 日本 AND GR-202 电子分析天平。甜菜碱对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 110712-200508); 枸杞子药材样品购自广西梧州市各药店, 经本所张涛主任中药师鉴别为茄科植物宁夏枸杞 *L. barbarum* 的干燥成熟果实; 色谱纯甲醇; 水为纯净水; 其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 Luna 5u SCX 100A 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相甲醇-0.10 mol · L⁻¹ 醋酸铵 (15 : 85); 体积流量 1.0 mL · min⁻¹; 柱温 30

[收稿日期] 20100114(002)

[通讯作者] * 黄蘅, Tel: (0774) 3823896, E-mail: yjs-hh@tom.com

;检测器参数为雾化器温度 60 ,蒸发器温度 90 ,蒸发器气流 1.0 L·min⁻¹。

在上述色谱条件下,甜菜碱峰形良好,与其他组分的分离度大于 1.5,见图 1。

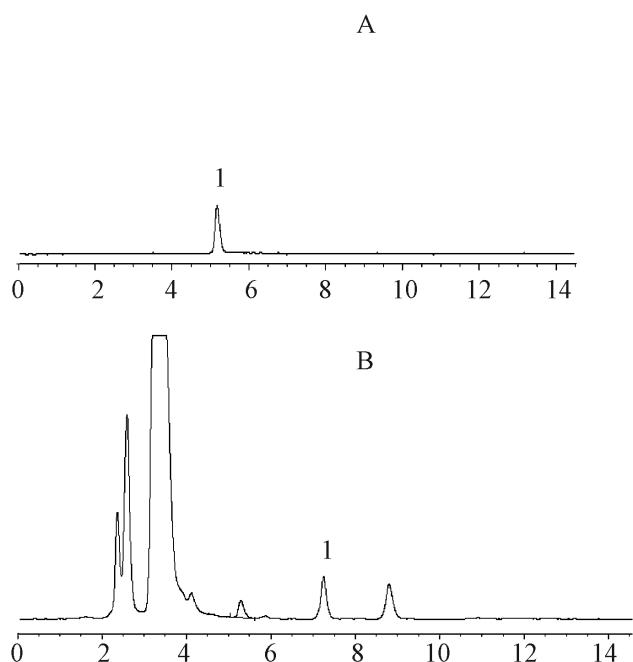


图 1 甜菜碱对照品(A)及枸杞子供试品(B)的 HPLC 图谱

1. 甜菜碱

2.2 对照品溶液的制备 精密称取甜菜碱对照品适量,置容量瓶中加入甲醇制成每 1 mL 含甜菜碱 0.25 mg 的溶液,即得。

2.3 供试品溶液的制备 取枸杞子药材剪碎,取约 0.5 g,精密称定,置 50 mL 的锥形瓶中,精密加入 80% 甲醇 25 mL,称定质量,加热回流 1 h,放冷,再称定质量,用 80% 甲醇补足减失的质量,摇匀,滤过,取续滤液,用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得枸杞子供试品溶液。

2.4 线性关系考察 精密配制不同质量浓度系列甜菜碱溶液进行分析,进样体积 10 μL,以峰面积积分值的常用对数值为纵坐标(Y),对照品进样量(μg)的常用对数值为横坐标(X)绘制标准曲线,得回归方程为 $Y=1.23X+2.57$, $r=0.9997$,甜菜碱在进样量 0.75~3.75 μg 时线性关系良好。

2.5 精密度试验 精密吸取 0.25 mg·mL⁻¹ 甜菜碱对照品溶液,在上述色谱条件下重复进样 6 次,计算得甜菜碱峰面积积分值的常用对数值的 RSD 为 1.15%。表明仪器精密度良好。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,在 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 分别测定 1 次,其峰面积的 RSD 为 1.38%。表明在 24 h 内,被测物稳定。

2.7 重复性试验 对同一批样品,平行测定 6 份,结果样品中甜菜碱平均含量是 0.64%,RSD 为

2.31%。表明方法重复性良好。

2.8 回收率试验 取已知甜菜碱含量的枸杞子(甜菜碱 0.64%) 样品 6 份,各约 0.25 g,精密称定,分别精密加入 1.612 mg·mL⁻¹ 甜菜碱对照品液各 1 mL,制备供试品溶液,进行测定,计算得平均回收率为 99.86%,RSD 为 2.05%。

表 1 甜菜碱回收率试验(n=6)

称样量 /g	取样含量 /mg	对照品加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
0.2538	1.6243	1.6120	3.2607	101.51	99.86	2.05
0.2555	1.6352	1.6120	3.2827	102.20		
0.2561	1.6390	1.6120	3.2327	98.86		
0.2511	1.6070	1.6120	3.1684	96.86		
0.2483	1.5891	1.6120	3.1797	98.67		
0.2496	1.5974	1.6120	3.2265	101.06		

2.9 样品测定 照 2.3 项下方法制备供试品液,分别精密吸取对照品溶液 5 μL, 10 μL 及供试品溶液 10 μL,注入液相色谱仪,将峰面积及对照品进样量取常用对数后采用外标两点法进行计算,含量分别为 0.71%, 1.11%, 0.55%, 0.86%, 0.64%。

3 讨论

曾考察过不同方法提纯甜菜碱,如过中性氧化铝柱、碱性氧化铝柱等,由于 80% 甲醇提取样品后直接进样,不影响甜菜碱色谱峰与其他杂质峰的分离度,故采用加热回流提取后直接过滤进样。

在实验中采用 SCX 强阳离子交换柱^[2],流动相缓冲盐采用挥发性的醋酸铵溶液,在试验中曾考察过不同比例的流动相对甜菜碱色谱峰峰形及其分离度的影响,最终选用甲醇 - 0.10 mol·L⁻¹ 醋酸铵(15:85)为流动相。

在试验中曾考察过不同漂移管温度和、雾化室温度气体流速对测量结果的影响,结果表明在漂移管温度 90 ,雾化室温度 60 ,测量的灵敏度较高,且峰面积比较稳定,故本试验采用了此条件作为测量条件。

[参考文献]

[1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 174.

[2] 甄录旭, 方宗华, 吴海林, 等. HPLC 法测定枸杞子中甜菜碱的含量[J]. 安徽医药, 2007, 11(8): 703.

[3] 许明旺, 袁秀枝, 刘焱文, 等. HPLC 测定复方龟鹿颗粒中甜菜碱的含量[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 462.

[责任编辑 顾雪竹]