

HPLC-ELSD 法测定玉米须中  $\beta$ -谷甾醇李 钦<sup>1,2</sup>, 田智勇<sup>1</sup>, 贾天柱<sup>2</sup>, 许启泰<sup>1</sup>

(1. 河南大学药学院, 河南 开封 475001; 2. 辽宁中医学院, 辽宁 沈阳 110032)

玉米须最早药用记载见于《滇南本草》, 为禾本科植物玉蜀黍 *Zea mays* L. 的干燥花柱和柱头。为《中国药典》1977年版收载品种<sup>[1]</sup>。能够利尿消肿, 降血压。临床用于肾炎水肿, 小便不利, 湿热黄疸, 高血压症。 $\beta$ -谷甾醇为玉米须的主要有效成分之一<sup>[2~4]</sup>, 实验证明 $\beta$ -谷甾醇具有明显的降胆固醇、止咳、抗癌、抗炎等药理作用。

目前国内外报道的分析 $\beta$ -谷甾醇的方法有毛地黄皂苷法、薄层扫描法、气相色谱法、高效液相色谱-紫外检测法、HPLC-ELSD法<sup>[5~9]</sup>。本研究采用蒸发光散射检测器(ELSD)测定玉米须中 $\beta$ -谷甾醇, 与以上方法比较具有对样品不必进行处理就可以直接提取进样, 能克服紫外检测器时系统不稳定的困难。在选定的色谱条件下, 供试溶液中 $\beta$ -谷甾醇与相邻组分分离度良好。经方法学考察, 方法的重现性、稳定性、精密度、回收率试验均符合有关规定, 可用于该药材的质量控制。

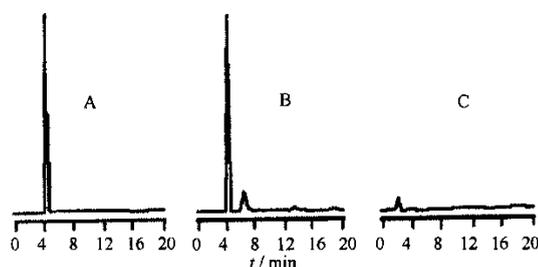
## 1 仪器、试剂与实验样品

仪器: 日本岛津 LC-2010A 液相色谱仪, Class-VP 工作站, SEDEX-75 型蒸发光散射检测器。 $\beta$ -谷甾醇对照品(中国药品生物制品鉴定所, 批号: 0851-9601)经 HPLC-ELSD 归一法测定, 质量分数为 98.3%, 甲醇为色谱纯。玉米须(采自山东、河南等地)。经河南大学生药学院张保国教授鉴定为禾本科植物玉蜀黍 *Zea mays* L. 的干燥花柱和柱头。

## 2 方法和结果

2.1 色谱条件: 色谱柱: Shim-pack CLC-ODS (250 mm  $\times$  4.6 mm)。流动相为: 甲醇; 体积流量: 0.6 mL/min; ELSD 检测器漂移管温度: 40  $^{\circ}$ C; 载气流速:  $3.5 \times 10^5$  Pa。在此色谱条件下,  $\beta$ -谷甾醇峰的保留时间约为 4.2 min, 与共存的其他成分分离良好, 见图 1, 以  $\beta$ -谷甾醇峰计算色谱柱的理论板数为 2 443。

2.2 对照品溶液制备: 精密称取 $\beta$ -谷甾醇对照品适量, 加甲醇溶解, 制成 0.435 mg/mL 的溶液, 作为对



A- $\beta$ -谷甾醇对照品 B-样品液 C-甲醇溶剂  
A- $\beta$ -sitosterol B-test solution C-methanol

图 1 玉米须 HPLC 图谱

Fig. 1 HPLC chromatogram of corn silk

照品溶液。

2.3 供试品溶液制备: 取玉米须粉末(过一号筛)约 3 g(同时另取本品粗粉按照《中国药典》2005年版一部附录 X H 第一法测定水分), 精密称定, 置索氏提取器中, 加入氯仿 150 mL, 放置过夜, 加热回流 4 h, 提取液浓缩至近干, 残渣用甲醇使溶解, 转移置 50 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 用微孔滤膜(0.45  $\mu$ m)滤过, 即得。

2.4 线性范围考察: 精密称取干燥至恒重的 $\beta$ -谷甾醇对照品 4.35 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 制成 0.435 mg/mL 的溶液。分别精密吸取 2、5、10、15、20、25  $\mu$ L 溶液, 注入液相色谱仪中, 测定色谱峰面积, 以进样量的自然对数为横坐标, 峰面积的自然对数为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为:  $Y = 1.30783 X + 13.30917$ ,  $r = 0.9992$ 。表明 $\beta$ -谷甾醇对照品进样量在 0.870 ~ 10.875  $\mu$ g 线性关系良好。

2.5 精密度试验: 取供试品溶液 10  $\mu$ L, 在上述色谱条件下连续进样 6 次, 分别测定 $\beta$ -谷甾醇峰面积, 结果 $\beta$ -谷甾醇峰面积自然对数 RSD=1.16%, 表明仪器精密度良好。

2.6 重现性试验: 取同一批样品(山东临沭县)粉末约 3 g, 5 份, 精密称定, 分别依法进行测定, 得平均值为 6.97 mg/g, RSD=1.93%。

收稿日期: 2005-01-08

基金项目: 河南大学科学研究基金项目(XK03YBYX164)

作者简介: 李 钦(1965—), 男, 河南中牟人, 教授, 博士。Tel: (0378) 5956970 E-mail: liqin@henu.edu.cn

2.7 稳定性试验:取同一份供试品溶液分别在配制后 0、2、4、6、8 h 进样测定,测得  $\beta$ -谷甾醇峰面积自然对数的 RSD 为 1.85%,表明供试品溶液在 8 h 内稳定。

2.8 回收率试验:取同一批样品(山东临沭县)粉末约 1.5 g, 5 份,精密称定,精密加入  $\beta$ -谷甾醇对照品溶液(0.435 mg/mL) 25.0 mL,按样品测定项下方法操作,测定,结果平均回收率 98.2%,RSD 为 1.10%。

2.9 不同产地玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的测定:分别精密吸取上述对照品溶液 2.10  $\mu$ L,供试品溶液 5~20  $\mu$ L,注入高效液相色谱仪,测定峰面积,以外标二点法对数方程求出  $\beta$ -谷甾醇的量。结果表明,不同产地玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的差异较大,见表 1。

表 1 不同产地玉米须中  $\beta$ -谷甾醇 ( $n=3$ )

Table 1  $\beta$ -Sitosterol in corn silk of *Z. mays* from different habitats ( $n=3$ )

产 地	$\beta$ -谷甾醇/(mg·g <sup>-1</sup> )
山东省临沭县	6.97
河南省西平县	1.57
河南省新密市	0.76
河南省中牟县	7.19
河南省巩义市	5.06

### 3 讨论

3.1 色谱条件的选择:选择色谱柱是保证分离测定的首要条件,本实验对比了大连依利特 Hyper ODS C<sub>18</sub> 柱(250 mm×4.6 mm),日本岛津 Shim-pack VP-ODS 柱(250 mm×4.6 mm),发现 Shim-pack VP-ODS 柱在本实验条件下  $\beta$ -谷甾醇与其他组分的分离情况良好,结果见图 1。通过比较,选用甲醇作为流动相既简单又能保证  $\beta$ -谷甾醇与其他组分的有效分离。

#### 3.2 供试品溶液制备方法的选择

3.2.1 提取溶剂选择:根据  $\beta$ -谷甾醇的化学性质,本试验分别用氯仿和石油醚为提取溶媒回流提取 4 h,以  $\beta$ -谷甾醇提取量为指标加以考察。结果表明,氯仿提取效率较高,故选用氯仿为提取溶剂。

3.2.2 回流提取时间考察:用氯仿为提取溶剂,对不同回流时间进行了考察,结果提示,回流提取 3 h, $\beta$ -谷甾醇的提取率较低,回流提取 4、5 h, $\beta$ -谷甾醇的提取率相近,为节约提取时间,故确立回流提取时间为 4 h。

3.3 本实验采用 HPLC-ELSD 法,测定玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的量,操作在常温下进行,样品不需要衍生化处理,本方法灵敏度高,操作简便、快速,可广泛应

用于  $\beta$ -谷甾醇的测定,为玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的测定提供了可靠的方法。结果可按外标两点法对数方程计算。并对方法进行验证,标准曲线在 0.870~10.875 mg/mL 进样量的自然对数与峰面积的自然对数线性关系良好。

3.4 近年来研究表明,植物甾醇是一类具有生理活性的物质,广泛地运用于医药、食品、化妆品等行业,尤其是  $\beta$ -谷甾醇,经实验证明其具有明显的降胆固醇、消炎、抗癌、退热等疗效。因此甾醇的分离精制及分析测定也受到研究者的普遍重视<sup>[11]</sup>。动物实验表明,玉米须的乙醇提取物具有抗肿瘤作用,对骨癌细胞 SGC 的体外抑制率为 90.70%<sup>[10]</sup>, $\beta$ -谷甾醇为玉米须的有效物质之一。进一步研究玉米须  $\beta$ -谷甾醇与抗肿瘤的关系,对玉米须的开发利用具有重要意义。

3.5 实验结果表明:不同产地玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的量差异显著,河南省中牟县与山东省临沭县产的玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的量较高,河南省新密市与西平县产的玉米须中  $\beta$ -谷甾醇的量较低,可能与品种、采收时间、产地等因素有关。

### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 1977.
- [2] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977.
- [3] Bobryshev N E. Corn—a medicinal plant [J]. *Kukuruza*, 1962 (9): 59.
- [4] Nozzolillo C, Reid L. Anihocyanin pigmentation of maize silk [J]. *Bull Liaison-Groupe Polyphenols*, 1992 (16): 187.
- [5] Peng Y, Liu F Z, Gao X. Research on and application of phytosterols [J]. *Chem Indust Eng Progr* (化工进展), 2002, 21 (1): 49.
- [6] Dai L M, Zhu X R, Zhao T G. Analysis of free sterol in Vg by gas chromatography [J]. *Chin Oil* (中国油脂), 2000, 25 (3): 41.
- [7] Abidi S L. Chromatographic analysis of plant sterols in food and vegetable oils [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 935 (2): 173-201.
- [8] Careri M, Elviri L, Mangia A. Liquid chromatography-UV determination and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometric characterization of sitosterol and stigmasterol in soybean oil [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 935 (2): 249-257.
- [9] Liu F P, Dai H, Li Y J, et al. Determination of sterol by HPLC with evaporative light-scatter detector [J]. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2002, 18 (3): 230.
- [10] Ma H. Effect of extract of stigma maydis on K562 and SGC Cell [J]. *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 1998, 14(1): 28.
- [11] Sun W J, Sheng J F. *Concise Handbook of Bioactive Compounds from Natural Products* (天然活性成分简明手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1997.