

中,用氮气吹至近干时发生凝固,若离心会损失部分农药,使回收率降低,并且色素也存在于测定液中,为黄色,影响农药检出。而用GPC处理得到的待测液无色澄清,色素和油脂量大大减少,并且因为从浓缩到净化为全自动,消除了许多人为的误差,实验精密度提高。而且操作方便,但溶剂消耗量大,成本高。

3.4 杭白菊花期短,采摘后,经蒸、晒等处理,受土壤影响和受热易降解的农药污染并不严重。

3.5 中药的农药残留问题不仅影响食用安全,而且严重影响了中药国际化发展和中药现代化进程,发展快速、简便、可靠、灵敏、实用的农残分析技术显得尤为重要。GPC-GC-MS是GPC纯化系统和GC-MS连接而成的在线装置,农残分析将更为自动化、更为高效。

参考文献:

- [1] 姜宁华,陈紫红.杭白菊研究进展[J].浙江中医药大学学报,2007,31(2):253-254.
- [2] 原产地域产品杭白菊[S].GB18862-2002:278.
- [3] 陆君良,黄海龙.毛细管气相色谱法测定杭白菊中乐果的残留量[J].化学分析计量,2004,13(4):38-39.
- [4] 郝丽丽,薛健.菊花中18种有机氯农药的多残留分析[J].药物分析杂志,2006,26(12):1838-1841.
- [5] Armishaw P, Majewski J M, McLay P J, et al. Development and certification of reference materials for residues of organochlorine and organophosphorus pesticides in beef fat ACSL CRM 1 and 2 [J]. *Fresenius J Anal Chem*, 1998, 360(6): 630-639.
- [6] 杨秀伟,韩美华,陶海燕,等.微波加工和蒸制杭白菊挥发油成分的GC-MS分析[J].中国中药杂志,2007,32(3):227-231.
- [7] 李拥军,戴华,易伟亮,等.GC-MS-SIM法测定茶叶中异稻瘟净残留量[J].农药,2007,46(4):263-264.
- [8] 吴永江,朱炜,程翼宇.气相色谱-质谱联用检测中药材中16种残留农药[J].中国药理学杂志,2006,41(19):1497-1501.

柱前衍生-高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸

杨毅,谢慧明,吴方睿,吴泽宇

(合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心,安徽 合肥 230009)

摘要:目的 建立了柱前衍生化高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸的方法。方法 衍生化试剂为邻苯二甲醛(OPA),采用 Waters Symetry C₁₈色谱柱(150 mm×3.9 mm),以0.05 mol/L pH 7.0的磷酸缓冲液-乙腈(70:30)为流动相,体积流量0.8 mL/min,检测波长337 nm。结果 蒜氨酸在0.01~0.20 mg/mL与峰面积线性关系良好, $r=0.99$,检测限为0.01 mg/mL,平均回收率为93.9%,RSD为2.1% ($n=5$)。结论 本方法检测快速,定量准确,可用于大蒜中蒜氨酸的定量测定。

关键词:大蒜;蒜氨酸;高效液相色谱;柱前衍生化

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)10-1572-03

蒜氨酸是百合科葱属植物大蒜 *Allium sativum* L. 中的含硫氨基酸,化学名称为 *S*-烯丙基-*L*-半胱氨酸亚砷(*S*-allyl-cysteine sulfoxide),具有抗肿瘤、降血糖、调血脂、保护心血管系统、保肝、降低血糖等功效。但《中国药典》和食品卫生标准均未规定蒜氨酸的检测方法,由于大蒜及富含蒜氨酸的产品倍受关注^[1~3],因此对蒜氨酸检测方法的研究日趋活跃。

蒜氨酸的传统测定方法有定硫法、硝酸汞测定法、苯胺法、薄层扫描法,这些测定方法存在专一性差、结果准确度不高等问题;王伟、黄雪松、常军明等^[1~3]采用反相HPLC直接进样检测大蒜及其制品中的蒜氨酸,由于选择检测波长为210 nm附近,检测结果易受其他物质的干扰^[4];Arnaut等^[5,6]采用

液质联用(HPLC-MS)测定大蒜及其制品中的蒜氨酸,但该方法因仪器昂贵而限制其应用。本研究参考美国药典^[7],采用邻苯二甲醛(OPA)柱前衍生化测定大蒜中的蒜氨酸。

1 仪器与试剂

1.1 仪器与试剂: Waters 2487 紫外检测器, Waters 515 泵, Empower 色谱工作站, SH2501 超声波清洗器(上海普超), Sigma 3k 离心机(德国 Sigma), 多功能食品打浆机(上海西贝乐), 万分之一电子天平(梅特勒)。

蒜氨酸对照品(>95%), Fluka; 蒜氨酸粉(52%), 自制; 羟甲氧胺半盐酸盐, Sigma; 叔丁基硫醇, Merck; 磷酸二氢钠等均为分析纯。

收稿日期:2008-01-15

基金项目:科技部“十一五”科技支撑项目(2006BAI06A14-5)

作者简介:杨毅(1974-),男,安徽合肥人,讲师,研究方向为农产品加工及贮藏。 Tel:(0551)2901833-8216 13305607751

Fax:(0551)2901862 E-mail:yxcxy2176@yahoo.com

1.2 衍生化试剂的配制:准确称取28 mg 邻苯二甲醛,置10 mL 量瓶中,1 mL 甲醇溶解,再加20 μ L 叔丁基硫醇,用0.05 mol/L pH 9.5 磷酸缓冲液定容至10 mL。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: Waters Symmetry C₁₈ 柱(150 mm×3.9 mm, 5 μ m);柱温:室温;检测波长:337 nm;流动相:0.05 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液-乙腈(70:30);体积流量0.8 mL/min,进样10 μ L。

2.2 对照品溶液制备:精密称取蒜氨酸对照品并溶于甲醇-水(50:50),配制使其质量浓度为0.01~0.2 mg/mL。取对照品溶液0.1 mL,加0.5 mL 衍生化试剂,反应2 min,进样10 μ L 检测。

2.3 供试品溶液制备:精密称取去皮蒜籽两粒(6~9 g),置食品打浆机中,加0.01 mol/L 羟甲氧胺半盐酸盐溶液50 mL,高速匀浆1 min,将匀浆液转移至100 mL 量瓶中并以甲醇-水(50:50)定容至刻度。取该溶液用甲醇-水(50:50)稀释10倍,取0.1 mL 溶液,加0.5 mL 衍生化溶液,反应2 min 后进样10 μ L 检测。

2.4 标准曲线的绘制:将质量浓度分别为0.01、0.02、0.05、0.10、0.20 mg/mL 蒜氨酸对照品溶液,分别进样3次取平均值,以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标作标准曲线,得到标准回归曲线方程为: $Y = 404.3 X - 0.402$, $r = 0.990$,可见蒜氨酸在0.01~0.20 mg/mL 与峰面积的线性关系良好。蒜氨酸保留时间为14.7 min,蒜氨酸对照品与样品色谱图见图1。

2.5 精密度试验:0.05 mg/mL 蒜氨酸对照品液衍

生化后,准确吸取10 μ L 连续5次进样,计算得峰面积的RSD为1.3%。

2.6 重现性试验:取同一批样品(合肥产)5份,制备成供试品溶液,衍生化后进样检测,测定峰面积,计算蒜氨酸质量分数,得其RSD为1.82%。

2.7 稳定性试验:取同一批样品(合肥产),制备供试品溶液,衍生化后分别于0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 h 精密吸取10 μ L 进样检测,测定蒜氨酸峰面积,计算得其RSD为1.69%。结果表明供试品溶液衍生化后4 h 内稳定。

2.8 加样回收率试验:精密称取去皮蒜籽40.7 g,置食品打浆机中,加0.01 mol/L 羟甲氧胺半盐酸盐溶液250 mL,高速匀浆1 min,将匀浆液转移至500 mL 量瓶中并以甲醇-水(50:50)溶液定容至刻度。平行取该溶液5份各100 mL,每份加入40 mg 蒜氨酸,置食品打浆机中,高速匀浆1 min。取该溶液用甲醇-水(50:50)稀释10倍,取此溶液衍生化后进样检测,测定蒜氨酸面积计算其质量分数,结果蒜氨酸的平均回收率为93.9%,RSD为2.12%。

2.9 样品测定:取不同产地的大蒜,制备供试品溶液,衍生化后进样10 μ L 检测,采用外标法计算蒜氨酸的质量分数,结果见表1。

表1 不同产地大蒜中蒜氨酸的测定结果($n=3$)

Table 1 Determination of alliin in garlic from various habitats ($n=3$)

产地	蒜氨酸/%	产地	蒜氨酸/%
安徽合肥	0.97	山东菏泽	1.08
安徽阜阳	1.15	山东泰安	1.29
安徽淮北	1.22	山东巨野	1.13

3 讨论

3.1 用邻苯二甲醛(OPA)加巯基试剂,30 s 内与氨基酸在碱性条件下反应生成1-硫代-2-烷基异噁唑,在紫外下其检测限可达到 1×10^{-12} mol。该法优点是衍生反应迅速,灵敏度高,成本低,且过量衍生试剂不干扰分离^[8]。

3.2 色谱条件优化:实验考察了磷酸缓冲液的pH及磷酸缓冲液-乙腈的比例对分离效果的影响。研究发现,随pH值的升高,蒜氨酸的出峰时间延长,峰响应值升高,其他干扰物峰对蒜氨酸峰的干扰降低,选择pH 7.0的磷酸缓冲液分离效果较好;随乙腈比例升高,蒜氨酸的出峰时间加快,当磷酸缓冲液-乙腈(70:30)时既不影响分离,又可以缩短时间,较为理想。故选0.05 mol/L pH 7.0 磷酸缓冲液-乙腈(70:30)为流动相。

3.3 检测波长的选择:在 Waters 996 二极管阵列

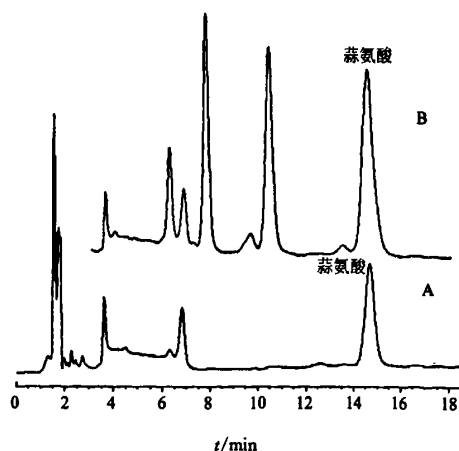


图1 蒜氨酸对照品(A)与样品(B)色谱图

Fig. 1 Chromatograms of alliin reference substance (A) and garlic sample (B)

检测器上检测发现,蒜氨酸-OPA 衍生物峰的最大吸收波长依次为205、254、337 nm,但峰型和分离度最好的为337 nm,故选择337 nm为检测波长。

参考文献:

- [1] 王伟,乔旭光,李福伟. 高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸含量[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(4): 115-118.
- [2] 常军民,向阳,美丽万,等. 蒜氨酸在大鼠的药代动力学研究[J]. 中成药, 2004, 26(3): 184-186.
- [3] 黄雪松,温丽儿,袁日安. 反相高压液相色谱法测定鲜蒜中的蒜氨酸[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(6): 106-109.
- [4] 徐洪霞. 蒜氨酸检测方法及其提取分离工艺研究[D]. 合肥:

合肥工业大学, 2004.

- [5] 常军民,向阳,张丽静,等. HPLC-MS测定小鼠血浆中蒜氨酸的浓度[J]. 新疆医科大学学报, 2003, 26(6): 534-536.
- [6] Arnault I, Christides J P, Mandon N, et al. High-performance pair chromatography method for simultaneous analysis of alliin, deoxyalliin, allicin and dipeptide precursors using multiple mass spectrometry and UV detection[J]. J Chromatogr A, 2003, 991: 69-75.
- [7] USP [S]. NF21. 2005.
- [8] 罗晓健,吴志鹏,黄璐琦,等. 氨基酸的柱前衍生高效液相色谱分析在中草药研究中的应用[J]. 中草药, 2005, 36(4): 630-632.

山茱萸不同生长期鞣质的动态积累研究

李 君,陈随清*

(河南中医学院药学院,河南 郑州 450008)

摘要:目的 研究山茱萸不同生长期鞣质的积累动态。方法 采用干酪素法测定不同生长期山茱萸中鞣质的量。结果 山茱萸中鞣质的量呈规律性变化,以青果时量较高。结论 为山茱萸规范化种植及药材的质量评价提供了一定的科学依据。

关键词:山茱萸;鞣质;动态积累

中图分类号:R282.6

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2008)10-1574-02

山茱萸为山茱萸科植物山茱萸 *Cornus officinalis* Sieb. et Zucc. 的干燥果肉。该药始见于《神农本草经》,《中国药典》2005年版一部有收载,味酸、涩,微温,归肝肾经,有补益肝肾,涩精固脱的功效,主治眩晕耳鸣、腰酸膝痛、阳痿遗精、遗尿尿频、崩漏带下、大汗虚脱、内热消渴,是中医临床常用的抗衰老药物之一^[1]。山茱萸中含有多种成分,如有机酸类、环烯醚萜苷类、鞣质类、多糖类、氨基酸、维生素及矿质元素等,鞣质类成分为其有效成分之一^[2]。本实验采用紫外-可见分光光度法结合干酪素法测定了不同产区、不同生长期山茱萸中鞣质的量。

1 仪器与试药

Aglient 8455 型紫外-可见分光光度计, HS6150D 超声提取仪(昆山市超声仪器有限公司), BS224S 电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。山茱萸样品由河南西峡山茱萸GAP基地(河南宛西制药股份有限公司)、浙江临安山茱萸GAP基地(北京同仁堂浙江中药材有限公司)、陕西佛坪山茱萸GAP基地(汉中汉江山茱萸科技开发有限责任

公司)提供,经河南中医学院生药教研室陈随清教授鉴定为山茱萸科植物山茱萸 *C. officinalis* Sieb. et Zucc. 的果实。没食子酸对照品(中国药品生物制品检定所),干酪素(北京双旋微生物培养基制品厂),无水碳酸钠(天津市化学试剂三厂)。

2 方法与结果

2.1 对照品溶液的制备:精密称取没食子酸对照品 50 mg,置 100 mL 棕色量瓶中,加水稀释至刻度,精密量取 5 mL,置 50 mL 棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得(没食子酸 0.05 mg/mL)。

2.2 供试品溶液的制备:取山茱萸粉末约 2 g,精密称定,置 250 mL 棕色量瓶中,加水 150 mL,放置过夜,超声处理 10 min,放冷,用水稀释至刻度,摇匀,静置(使固体物沉淀),滤过,弃去初滤液 50 mL,精密量取续滤液 20 mL,置 100 mL 棕色量瓶中,用水稀释至刻度,摇匀,即得。

2.3 标准曲线的制备:精密量取对照品溶液 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL,分别置 25 mL 棕色瓶中,各加入磷钼钨酸试液 1 mL,再分别加入 11.5、

收稿日期:2007-12-28

基金项目:科技部“十一五”科技支撑项目(2006BAI09B00-8)

作者简介:李 君(1983—),男,河南南阳人,现为河南中医学院生药专业 2005 硕士研究生,主要从事中药材规范化种植及质量标准的研究。

* 通讯作者 陈随清 Tel: (0371)65680002 E-mail: suiqingchen@sohu.com

柱前衍生-高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸

作者: 杨毅, 谢慧明, 吴方睿, 吴泽宇
作者单位: 合肥工业大学农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽, 合肥, 230009
刊名: 中草药 **ISTIC** **PKU**
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2008, 39(10)

参考文献(8条)

1. 王伟;乔旭光;李福伟 高效液相色谱法测定大蒜中蒜氨酸含量[期刊论文]-[食品与发酵工业](#) 2006(04)
2. 常军民;向阳;美丽万 蒜氨酸在大鼠的药代动力学研究[期刊论文]-[中成药](#) 2004(03)
3. 黄雪松;温丽儿;宴日安 反相高压液相色谱法测定鲜蒜中的蒜氨酸[期刊论文]-[食品与发酵工业](#) 2005(06)
4. 徐洪霞 蒜氨酸检测方法及其提取分离工艺研究[学位论文] 2004
5. 常军民;向阳;张丽静 HPLC-MS测定小鼠血浆中蒜氨酸的浓度[期刊论文]-[新疆医科大学学报](#) 2003(06)
6. Arnau I;Christides J P;Mandon N High-performanceion-pair chromatography method for simul-taneous analysis of alliin,deoxyalliin,allicin and dipeptide precursorsingarlic products using multiple mass spectrometry and UV detection[外文期刊] 2003
7. USP.NF21 2005
8. 罗晓健;吴志鹏;黄璐琦 氨基酸的柱前衍生高效液相色谱分析在中草药研究中的应用[期刊论文]-[中草药](#) 2005(04)

本文读者也读过(10条)

1. 常军民. 尔西丁·买买提. 向阳. 王岩. 陈坚. CHANG Jun-min. ERXIDING Maimaiti. XIANG Yang. WANG Yan. CHEN Jian 高效液相色谱法测定大蒜肠溶片中蒜氨酸的含量[期刊论文]-[食品科学](#)2008, 29(5)
2. 黄洪勇. 崔利娜. 唐辉. 职晓燕. 黄瑞廷. HUANG Hong-yong. CUI Li-na. TANG Hui. ZHI Xiao-yan. HUANG Rui-ting 蒜氨酸原料药的质量控制标准研究[期刊论文]-[中国医院药学杂志](#)2008, 28(5)
3. 张文广. 杜永峰. 姚秉华 定硫法检测蒜氨酸含量[期刊论文]-[化学分析计量](#)2008, 17(5)
4. 蒋利. 常军民. JIANG Li. CHANG Junmin 高效液相色谱法测定大蒜提取物中蒜氨酸的含量[期刊论文]-[西北药学杂志](#)2009, 24(1)
5. 李燕菊. 常军民. 于鲁海. 陈坚 大蒜的薄层色谱鉴别研究[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2009, 20(2)
6. 孙桂琳. 刘小平. 王红丽. 苟萍. 田歆珍. SUN Gui-lin. LIU Xiao-ping. WANG Hong-li. GOU Ping. TIAN Xin-zhen 大蒜生理活性物质对几种植物病原真菌的体外抑菌活性[期刊论文]-[新疆农业科学](#)2008, 45(6)
7. 苏本玉. 王骏. Su Benyu. Wang Jun 液相色谱-质谱联用测定大蒜中的蒜氨酸[期刊论文]-[粮食与食品工业](#) 2007, 14(5)
8. 黄雪松. 温丽儿. 宴日安. HUANG Xue-song. WEN Li-er. YAN Ri-an 利用4-MP测定大蒜中的蒜氨酸[期刊论文]-[食品科学](#)2006, 27(1)
9. 韩晓雁. 蔡真 凋亡抑制因子survivin在CD+34细胞上的表达及意义[期刊论文]-[医学综述](#)2005, 11(4)
10. 沈文 大蒜与癌症[期刊论文]-[食品与健康](#)2001(2)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200810041.aspx