

花生壳中5,7-二羟基色原酮及 圣草酚的HPLC测定

姚利¹, 林玉萍¹, 龚云麒¹, 饶高雄^{1*}, 孙汉董²

(1. 云南中医学院中药学院, 昆明 650200;

2. 中国科学院昆明植物研究所植物化学国家重点实验室, 昆明 650204)

摘要: 建立了测定花生壳中5,7-二羟基色原酮和圣草酚的HPLC方法。色谱选用Kromasil C₁₈柱(4.6mm×150mm×5μm), 以甲醇:1%磷酸(48:52, v/v)为流动相, 流速1.0mL/min, 检测波长254nm。5,7-二羟基色原酮和圣草酚标准曲线的线性范围分别为0.064~0.48μg和0.080~0.60μg, 相关系数分别为0.9999和0.9999。此方法样品前处理简单、方便, 测定结果准确、重现, 可用于花生壳及其提取产品的质量分析与控制。

关键词: 花生壳; HPLC; 5,7-二羟基色原酮; 圣草酚

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-9989(2006)03-0116-03

HPLC determination of 5,7-dihydroxychromone and eriodictyol of peanut hulls

YAO Li¹, LIN Yu-ping¹, GONG Yun-qi¹, RAO Gao-xiong^{1*}, SUN Han-dong²

(1. Yunnan College of TCM, Kunming 650200;

2. Kunming Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204)

Abstract: A HPLC method was established for determination of 5,7-dihydroxychromone and eriodictyol of peanut hulls. The methods used a Kromasil C₁₈ Column (4.6mm×150mm×5μm) as stationary phase and a mixture of methanol: 1% phosphoric acid (48:52, v/v) as the mobile phase. The detection wavelength was 254nm and the flow rate was 1mL/min. The result showed the standard curve was linear ($r=0.9999$) in the range of 0.064~0.48μg of 5,7-dihydroxychromone and also linear ($r=0.9999$) in the range of 0.080~0.60μg of eriodictyol. The pretreatment method is simple, rapid and the results were accurate, so, the method is valuable for the controlling quality for peanut hulls and its products.

Key words: peanut hull; HPLC; 5,7-dihydroxychromone; eriodictyol

落花生(*Arachis hypogaea* L.)是重要的经济作物, 花生壳是其加工过程的主要副产品, 目前除极少部分用于饲料、食用菌栽培或药材外, 尚未找到有价值的用途^[1]。寻找新的用途, 进一步开发利用花生壳资源, 是花生产业发展中值得重视的领域。

花生壳有降血脂作用, 以其为原料开发了降血脂中药“脉舒胶囊”^[2]。近来研究发现花生壳提取物具有很强的抗氧化能力, 且耐热稳定性较好^[3-6]。由于花生壳来自粮油作物, 其提取物作为天然抗氧化剂应用, 在安全性方面比化学抗氧化剂更具特色和优势, 为

收稿日期: 2005-09-30 *通讯作者

基金项目: 云南省中青年学术带头人培养基金项目; 云南省天然药物化学重点实验室研究基金项目。

作者简介: 姚利(1981-), 男, 湖南人, 硕士研究生, 研究方向为天然药物化学及中药质量控制研究。

此,我们系统研究了其抗氧化活性成分,从中得到一系列酚性化合物。这些化合物可归为3类:黄酮(以木犀草素luteolin为主)、二氢黄酮(以圣草酚eriodictyol为主)、色原酮(以5,7-二羟基色原酮为主),均具有抗氧化作用(系统的化学及生物活性研究工作另文报道)。

为更好地检测和比较各个产地花生壳中主要抗氧化成分的含量差异,我们已对花生壳中木犀草素的测定方法已进行过系统研究^[7]。在其后的化学研究中,我们制备了圣草酚、5,7-二羟基色原酮标准对照品,并在此基础上测定了国内7个省区的18份花生壳样品中圣草酚及5,7-二羟基色原酮的含量,希望对花生壳资源的进一步开发利用以及花生壳提取产品的质量,提供科学的依据和质量分析的具体技术方法。

1 实验材料与仪器

花生壳样品:国内7个省区收集(共18份,见表1),经本院钱子刚副教授鉴定,均为豆科植物落花生的成熟果壳。

提取用乙醇等试剂为分析纯;水为反渗透纯水;流动相用色谱纯溶剂;5,7-二羟基色原酮和圣草酚标准对照品:本实验室分离制备,结构经光谱测定分析确定,含量用高效液相色谱标定均大于98.5%;

岛津LC-10AvP高效液相色谱仪,N2000色谱工作站,C₁₈烷基键合硅胶柱。

2 实验方法

2.1 色谱分析条件

色谱柱用Kromasil C₁₈柱(4.6mm×150mm×5μm),流动相用甲醇:1%磷酸(48:52, v/v)系统,流速1.0mL/min,检测波长254nm,柱温30℃。理论塔板数以5,7-二羟基色原酮(A)及圣草酚(B)色谱峰计算均不小于3000。在此色谱条件下,对照品和药材样品均具有较好的分离效果(见图1、图2),对照品色谱峰拖尾因子分别为1.04(A)、0.99(B),样品色谱中测定组分峰分离度大于1.5,符合HPLC测定方法要求。

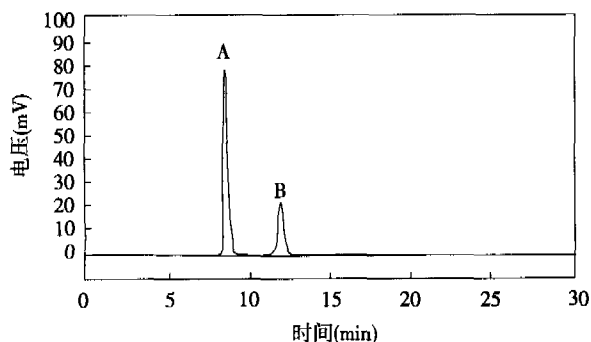


图1 对照品HPLC色谱图

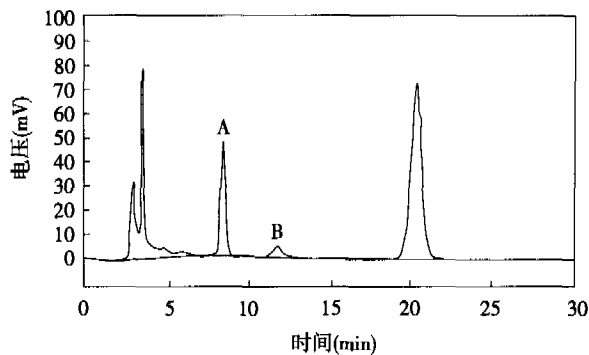


图2 花生壳样品HPLC色谱图

2.2 分析方法考察

2.2.1 精密度和稳定性 分别精密称取对照品适量,加甲醇溶解制成含5,7-二羟基色原酮0.032mg/mL、圣草酚0.04mg/mL的对照品溶液。吸取上述对照品溶液10μL,重复进样5次,5,7-二羟基色原酮保留时间RSD=1.02%(n=5),色谱峰面积RSD=1.12%(n=5);圣草酚保留时间RSD=1.07%(n=5),色谱峰面积RSD=0.98%(n=5),符合测定要求。

分别取上述对照品溶液10μL在0、2h、4h、8h、16h、24h内进样测定,5,7-二羟基色原酮面积RSD=0.97%(n=6),圣草酚面积RSD=1.09%(n=6),表明对照品溶液至少在24h内是稳定的,可用于含量测定。

2.2.2 线性关系 分别取上述对照品溶液2μL、5μL、8μL、10μL、15μL,按上述色谱条件进样分析,用峰面积(Y)与进样量(X, μg)做线性回归处理,回归方程为:

5,7-二羟基色原酮: $Y = 31822092X - 8069$, $r = 0.9999$ (n=5),线性范围0.064~0.48μg。

圣草酚: $Y = 270425X - 11448$, $r = 0.9999$ (n=5),线性范围0.080~0.60μg。

2.2.3 重现性和回收率 精密称取同批次花生壳药材粉末2g,共5份,按“花生壳样品测定”项下方法操作测定含量,5,7-二羟基色原酮含量RSD=1.20%(n=5),圣草酚含量RSD=1.13%(n=5)。

分别取已知5,7-二羟基色原酮含量(0.14%)、圣草酚含量(0.19%)的花生壳药材约2g,精密称定6份,分成3组,加入相当于样品含量约80%、100%、120%的5,7-二羟基色原酮和圣草酚对照品,按“花生壳样品测定”项下方法测定含量,计算回收率。5,7-二羟基色原酮的回收率在99.3%~102.6%之间,平均值为99.7%,回收率RSD=1.07%(n=6);圣草酚的回收率在99.0%~101.1%之间,平均值为100.3%,回收率RSD=0.98%(n=6)。

2.3 花生壳样品测定

干燥的花生壳药材粉碎,过60目筛备用。经过比

分析检测

较研究,提取方法确定为:取花生壳细粉2g,精密称定,置三角瓶中,准确加入90%乙醇50mL,称定质量后放置过夜,超声提取30min,放冷后补充缺失的质量,取5mL溶液稀释至50mL,过滤,取过滤液,用0.45 μ m微孔滤膜过滤,即为供试品溶液。吸取供试品溶液进样测定含量,结果见表1。

3 实验结果

3.1 HPLC分析方法

花生壳中5,7-二羟基色原酮、圣草酚的HPLC分析方法为:花生壳样品用90%乙醇为溶剂超声提取;色谱柱用C₁₈烷基键合硅胶填料,流动相用甲醇:1%磷酸(48:52)系统,检测波长254nm。理论塔板数以5,7-二羟基色原酮(A)及圣草酚(B)色谱峰计算均不小于3000。

3.2 花生壳样品分析结果

对国内7个省区的18份花生壳样品平行测定结果见表1。

表1 花生壳样品中5,7-二羟基色原酮(A)和圣草酚(B)的含量

样品	产地	A含量(%)	B含量(%)
1	云南宾川县	0.053	0.096
2	云南景谷县	0.054	0.22
3	云南建水县	0.076	0.081
4	云南蒙自县	0.14	0.19
5	云南曲靖市	0.15	0.26
6	云南双柏县	0.11	0.26
7	云南安宁市	0.078	0.14
8	云南大理市	0.13	0.22
9	云南玉溪市	0.10	0.17
10	四川邻水县	0.11	0.11
11	山东平度市	0.11	0.20
12	湖南韶东县	0.085	0.18
13	河南新乡市	0.13	0.20
14	辽宁朝阳市	0.11	0.13
15	辽宁营口市	0.026	0.16
16	湖南浏阳市	0.12	0.23
17	贵州普安县	0.071	0.12
18	贵州盘县	0.055	0.091

4 讨论

建立了花生壳中5,7-二羟基色原酮、圣草酚的

HPLC分析测定方法,经过系统的方法学考察表明,该方法样品前处理简单、方便,测定结果准确、重现,可用于花生壳及其提取产品的质量分析与控制,为研究生产相应的药品、功能食品等,提供了质量控制的方法和具体的技术手段,具有实际应用价值。对各地花生壳样品测定,结合对木犀草素测定^[7]的研究提示,花生壳中抗氧化的功能成分以木犀草素(黄酮类)、圣草酚(二氢黄酮类)含量较高,5,7-二羟基色原酮相对较少。并且,木犀草素和圣草酚因具有邻二酚羟基结构,抗氧化的活性也强于5,7-二羟基色原酮,是主要的活性成分,所以,其提取产品的控制指标应以木犀草素和圣草酚为主。

花生壳提取物的主要成分木犀草素、圣草酚、5,7-二羟基色原酮等具有明确的抗氧化作用,也具有一定的抑菌作用^[8-10],感官上还具有明显的花生食品风味,且资源丰富,有望开发成为一种天然的食品抗氧化剂、防腐剂。

参考文献:

- [1] 杨伟强,秦晓春,张吉民,等.花生壳在食品工业中的综合开发与利用[J].花生学报,2003,32(1):488-489
- [2] 中华人民共和国卫生部.中华人民共和国卫生部部颁药品标准《脉舒胶囊》.WS₃-B-2390,1997
- [3] 孟阳,于丽娟,洪伯铿,等.花生壳中黄酮类抗氧化物的提取及在食品中的应用[J].食品科学,1997,18(12):27-29
- [4] 詹沛鑫,李庆生.花生壳提取物的抗氧化活性研究[J].四川轻工业学院学报,2000,13(2):37-39
- [5] 黎碧娜,曾庆赞,陈楚光.从花生壳中提取天然抗氧化成分的研究[J].现代化工,1995,(10):31-33
- [6] 柳爱莲,何建英,周嵘.花生壳中生物抗氧化剂及其抗氧化活性研究[J].郑州工程学院学报,2000,21(4):59-61
- [7] 唐丽萍,龚云麒,吴晓燕,等.不同产地花生壳中木犀草素的HPLC测定[J].花生学报,2005,34(2):1-4
- [8] DUH P D, YEF D B, YAN G C, et al. Extraction and Identification of an Antioxidative Component from Peanut Hulls[J]. J Am Oil Chem Soc,1992,69:814-819
- [9] VAUGHN S F. Phytotoxic and Antimicrobial Activity of 5,7-Dihydroxychromone from Peanut Shells[J]. J Chem Ecol, 1995,21(2):107-114
- [10] LIN Y-L, SHIAO M-S, KUO Y-H, et al. Antioxidative Principles from Peanut Hulls[J]. Chim Pharm J,1999,51(6):397-401

《食品科技》2006年每册15元,全年180元
 订 阅 热 线: 010-83557685