

# UPLC 法测定朝鲜蓟叶中绿原酸含量

张 俊, 杜 刚, 田孟华, 苏海林, 吕福聪, 杨海英

(云南民族大学 化学与生物技术学院, 民族药资源化学重点实验室, 云南 昆明 650031)

**摘 要:**采用 Acquity BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 乙腈-2%的乙酸水溶液(11:89)等度洗脱, 柱温:30℃, 检测波长 328 nm, 流速:0.4 min/mL, 进样量:1 μL, 研究了测定朝鲜蓟叶中绿原酸含量的超高效液相色谱方法。结果表明:绿原酸在 0.013~1.3 mg/mL 范围类线性关系良好, 平均回收率为 99.10%, RSD 为 1.87%, 与常规 HPLC 方法比较, 该方法分析时间短, 节约溶剂, 适用于朝鲜蓟叶中绿原酸含量的快速测定。

**关键词:**超高效液相; 朝鲜蓟; 绿原酸

中图分类号:S 644.9 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2011)20-0046-03

朝鲜蓟(*Cynara scolymus* L.)为菊科菜蓟属多年生草本植物, 别名洋蓟、荷花百合、菊蓟、菜蓟。原产于地中海周边, 19 世纪 90 年代, 上海的法租界开始种植, 目前浙江、云南等地也有一定规模的栽培, 距今 100 多年<sup>[1-2]</sup>。朝鲜蓟具有很高的营养价值和药用价值, 含有天冬酰胺、绿原酸、黄酮类化合物和洋蓟素等成分, 有促进氨基酸代谢, 具有抗微生物、抗氧化、降低胆固醇等效果。对消化不良、肝病等疾病有一定疗效<sup>[3-4]</sup>。

绿原酸(Chlorogenic acid)别名氯原酸、咖啡鞣酸、3-咖啡酰奎尼酸, 为植物体内的代谢产物, 是一种苯丙素类物质, 具有增加白血球、抗菌、抗衰老、抗肌肉骨骼老化、补肾、增强机体免疫能力、利胆、兴奋神经中枢系统、促进胃液分泌和抗癌等药用作用<sup>[5]</sup>。目前已有应用 HPLC 法测定朝鲜蓟中绿原酸的报道<sup>[6]</sup>, 但未见 UPLC 法相关报道。该试验建立了快速准确测定朝鲜蓟叶中绿原酸含量的 UPLC 方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

朝鲜蓟叶来自昆明卡麦生物科技有限公司, 种植于云南省陆良县, 经云南中医学院杨礼攀副教授鉴定为正品。

### 1.2 仪器与试剂

美国 Waters 公司 Acquity 超高效液相系统, 配有

四元高压梯度泵、自动进样器、柱温箱、PDA 全波长检测器以及 Waters Empower 数据处理工作站, Agilent 1200 型高效液相色谱仪。超纯水器(EPED-10TH); 超声波清洗器(AS3120A, 天津瑞森特); 电子天平(Adventurer TM, AR2140, 上海奥豪斯有限公司); 旋转蒸发仪(N-1100s, 上海爱朗仪器有限公司)。试剂: 乙腈、甲醇为色谱纯, 试验用水为超纯水自制, 其它试剂为国产市售分析纯。绿原酸标准品购自成都普瑞法生物科技有限公司(纯度≥99%)。

### 1.3 试验方法

1.3.1 色谱条件 色谱柱为 Acquity BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm×100 mm, 1.7 μm), 流动相为乙腈-2%的乙酸水溶液(11:89), 流速 0.4 mL/min, 检测波长 328 nm, 柱温 30℃, 进样量 1 μL。

1.3.2 对照品溶液的制备 称取适量绿原酸, 精密称定, 用超纯水溶解, 制成每毫升含有绿原酸 1.3 mg 对照品储备液, 置于 4℃ 的冰箱中保存。取对照品溶液适量, 加超纯水制成 0.65、0.13、0.065、0.013 mg/mL 系列标准溶液。

1.3.3 供试品溶液的制备 精密称取 2.5 g 朝鲜蓟叶粉末(朝鲜蓟叶阴干, 粉碎过 50 目筛), 置入圆底烧瓶中, 加入 25 mL 超纯水提取 2 次, 每次加热回流 40 min, 放冷过滤, 合并提取液, 浓缩蒸干, 加入超纯水溶解, 转移到 100 mL 棕色容量瓶中, 定容至刻度线, 摇匀, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 作为供试品溶液。色谱图见图 1。

## 2 结果与分析

### 2.1 标准曲线的绘制

将“1.3.2”项下准备好的系列浓度的对照品溶液分别进样 1 μL, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标进行线性回归, 得到标准线性回归方程:  $y = 4.6521 \times 10^6 x + 117787$ ,  $r = 0.9992$ , 线性范围: 0.013~1.3 mg/mL。

第一作者简介:张俊(1987-),男,江西九江人,在读硕士,现主要从事天然产物化学研究工作。E-mail:zhangjun870703@163.com。

责任作者:杨海英(1975-),女,云南保山人,副教授,现主要从事天然产物化学与仪器分析研究工作。E-mail:yanghy200401@126.com。

基金项目:云南民族大学科研创新团队资助项目(201004);云南民族大学民族药资源化学国家民委-教育部重点实验室开放基金资助项目(MZY1108)。

收稿日期:2011-07-14

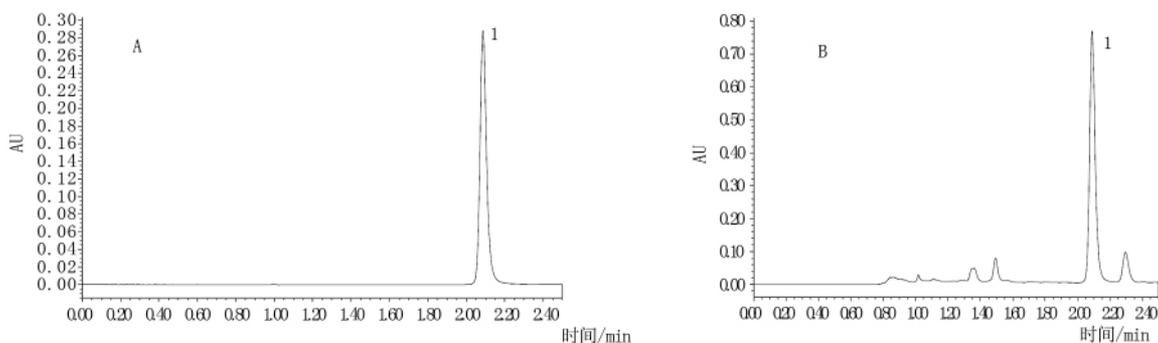


图1 UPLC 色谱图

注:A. 对照品;B. 朝鲜蓟叶提取物样品的绿原酸。下同。

## 2.2 精密度试验

将“1.3.2”项下制备的对照品溶液(1.3 mg/mL 绿原酸标准品)按上述色谱条件平行测定5次,测定绿原酸峰面积,计算出峰面积 RSD=0.11%。表明仪器精密度优良。

## 2.3 稳定性试验

取供试样品溶液放置0、6、12、18、24 h,分别用“1.3.1”色谱条件检测,测得绿原酸的峰面积 RSD=0.90%,说明样品放置24 h稳定。

## 2.4 回收率试验

精密称取已知含量的朝鲜蓟叶粉末5份,每份0.5 g,分别加入3 mg/mL 绿原酸标准品1 mL,按

“1.3.3”供试样品制备方法对样品预处理并测定,计算回收率,平均回收率为99.10%,RSD为1.87%(n=5)。

## 2.5 样品的测定

按“1.3.3”项方法制备样品溶液,采用上述色谱条件进行分离测定,利用外标法计算朝鲜蓟叶提取物中绿原酸的浓度为0.38 mg/mL,朝鲜蓟叶中绿原酸含量(质量分数)为1.52%(n=5)。该试验首次采用UPLC法测定朝鲜蓟叶中绿原酸的含量,在试验中HPLC与UPLC对比(图1、2)。采用UPLC方法测定,绿原酸保留时间从11.095 min缩至2.105 min,时间缩短了约9 min,样品分析时间控制在了2.5 min以内,流动相用量仅为1 mL。

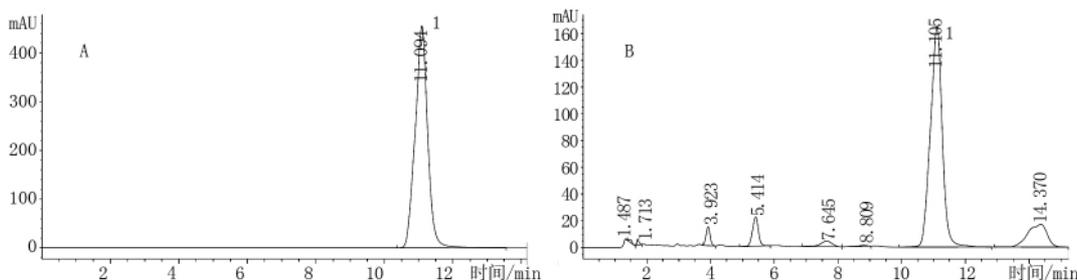


图2 HPLC 色谱图

## 3 讨论与结论

### 3.1 流动相的选择

绿原酸为有机酸,中性溶剂条件下拖尾现象较重,因此采用酸性流动相,减少拖尾增加绿原酸峰形的对称性。试验中对甲醇-2%乙酸、乙腈-2%乙酸、甲醇-0.1%磷酸、乙腈-0.1%磷酸水溶液进行筛选,流动相为乙腈-2%乙酸水时,供试样品中绿原酸峰形对称;而后通过不同比例筛选,最终确定乙腈-2%乙酸水(11:89)做为流动相。

### 3.2 提取溶剂的选择

试验中比较了甲醇、水做为提取溶剂对检测结果的影响。结果说明,采用甲醇作为提取溶剂提取率高,但杂质较多,对检测结果影响大。用水做为提取溶剂时,提取效率较好,因此用水作为提取溶剂。

该试验结果表明,UPLC法在保持了传统HPLC法高精密度和准确度的同时,绿原酸的峰宽变窄,峰高相应增高,提高了分析测定的灵敏度。该试验建立了快速准确测定朝鲜蓟叶中绿原酸含量的UPLC色谱法,为朝鲜蓟在食品和药学方面的应用提供了试验基础。

### 参考文献

- [1] 王天轶,王志云. 洋蓟叶中提取物的生物活性研究[J]. 中草药, 2006,37(8):5.
- [2] 周云,陈利琼,张孝友. HPLC法测定洋蓟茎叶提取物中绿原酸与洋蓟素的含量[J]. 农产品加工·学刊,2011(1):14-17.
- [3] 杨海英,杜刚,杨阳,等. 高效液相法测定洋蓟叶中洋蓟素的含量[J]. 时珍国医国药,2009,20(3):573-576.
- [4] 宋曙辉,赵霖. 朝鲜蓟的研究进展[J]. 长江蔬菜,2008(8b):5-8.
- [5] Zhu X, Zhang H, Lo R. Phenolic compounds from the leaf extract of aitchoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities[J]. Agric Food Chem, 2004,52(24):7272.
- [6] 熊杰,徐济仓,吕小芳,等. RP-HPLC法测定朝鲜蓟中绿原酸的含量[J]. 云南化工,2004,31(6):39.

# 代森锰锌对几种蔬菜种子萌发的影响

朱 茜, 彭文君, 李 岳, 汤东生

(云南农业大学 植物保护学院, 云南 昆明 650201)

**摘 要:**以代森锰锌为试材,研究了不同浓度代森锰锌对大白菜、小青菜、辣椒、苦瓜、甘蓝、豇豆、胡萝卜和西葫芦种子的发芽率、发芽势和发芽指数的影响。结果表明:1.6~40 mg/L的代森锰锌对辣椒、苦瓜和甘蓝种子的萌发有明显的促进作用;对其它蔬菜种子促进作用不大或有一定的抑制作用。

**关键词:**代森锰锌;种子萌发;发芽率;发芽势;发芽指数

**中图分类号:**S 604<sup>+</sup>.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)20-0048-03

种子萌发是指幼胚从休眠状态恢复到活跃生长状态的生命活动,这一过程通常包括种子吸胀、萌动、发芽和形态结成4个阶段<sup>[1]</sup>。种子萌发从胚到种苗的形态变化,种子内部进行着一系列的生理生化变化,包括细胞的活化与修复、酶的产生与活化、物质与能量的转化等,使胚细胞得以生长、分裂和分化<sup>[2]</sup>。种子的萌发除了受种子内部条件的影响外,也受到外部环境条件的影响。一般情况,种子萌发需要一定的水分、温度、氧气和光照等基本因素外,土壤环境及农业技术措施对种子萌发也起着重要的作用<sup>[3-5]</sup>。现代栽培技术措施中杀菌剂拌种是防治种子病害的一种重要措施<sup>[6]</sup>。这些杀菌剂除了能控制种子病害外,是否对种子萌发也有影响<sup>[7]</sup>。因此,开展杀菌剂对种子萌发能力的评估对于合理选用杀菌剂作为候选种子处理剂具有一定的意义。

Gange等研究表明,乐果、毒死蜱和咪唑霉对1a生杂草种子的萌发具有抑制作用,而对多年生的杂草种子萌发无效<sup>[8]</sup>。Nwachukwu等测定了几种对野山药(*Sphenstylis stenocarpa*)种子病害具有抑制作用的提取物对这种植物种子萌发具有促进作用<sup>[9]</sup>。Cook等研究表明,杀菌剂甲霜灵、莠锈灵和克菌丹对洋麻(*Hibiscus cannabinus* L.)并没有作用<sup>[10]</sup>。Javid也测试了4种杀菌剂对小麦种子萌发的作用,结果发现不同药剂处理间有差异,但差异不显著<sup>[11]</sup>。郭建军等曾测试了甲霜灵、多菌灵、戊唑醇等对玉米种子萌发的作用,发现除戊唑醇有抑制作用外,其它均没有作用<sup>[12]</sup>。过去各国科学家虽然在杀菌剂对种子萌发方面做了一些工作,但从已发表的结果来看,目前还缺乏系统地评价杀菌剂对种子萌发作用的研究报道。

代森锰锌是我国常用的一种杀菌剂,代森锰锌主要用于防治蔬菜霜霉病、炭疽病、褐斑病等<sup>[13]</sup>。目前仍是防治西红柿早疫病和马铃薯晚疫病理想药剂。该试验从杀菌剂对种子的发芽势、发芽指数和发芽率3个方面评价代森锰锌对几种蔬菜种子的影响,以期明确代森锰锌对不同蔬菜种子萌发的影响规律。

第一作者简介:朱茜(1988-),女,在读硕士,研究方向为植物生理学。

责任作者:汤东生(1978-),男,博士,讲师,现主要从事植物生理生态学方面的研究工作。E-mail: eastuptang@126.com。

收稿日期:2011-07-18

## Determination of Chlorogenic Acid in Leaves of *Cynara scolymus* L. by UPLC

ZHANG Jun, DU Gang, TIAN Meng-hua, SU Hai-lin, LV Fu-cong, YANG Hai-ying

(Key Laboratory of Nationalities Medicine Resources, School of Chemistry and Biotechnology, Yunnan University of Nationalities, Kunming, Yunnan 650031)

**Abstract:** The sample was extracted with water using regurgitation, UPLC separation was carried out in a Acquity BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) with acetomitrile-water-acetic acid (11:87:2) as mobile phase. The detection wave length was 328 nm, the Velocity was 0.4 min/mL, the column temperature was 30°C, incoming sample amount 1 μL. To develop an UPLC method for the determination of chlorogenic acid in leaves of *Cynara scolymus* L. The results showed that linear range was 0.013~1.3 mg/mL for chlorogenic acid. The average recovery was 99.10%, and RSD was 1.87%. Compared with conventional method HPLC, this established method could save analysis of time and solvent for determination of chlorogenic acid in leaves of *Cynara scolymus* L.

**Key words:** UPLC; *Cynara scolymus* L.; chlorogenic acid