

高效液相色谱法测定通便和减肥类保健食品中橙黄决明素的含量

方灿, 马莹, 庞秀清, 伍曦, 赵丽 (贵州省食品药品检验所, 贵州贵阳 550004)

摘要 [目的] 建立高效液相色谱法测定通便和减肥类保健食品中主要功效成分决明子中橙黄决明素的含量。[方法] 色谱条件: 采用 C_{18} 柱, 柱温 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 检测波长 284 nm , 流速为 1 mL/min , 乙腈- 0.1% 磷酸溶液(40:60)为流动相。[结果] 橙黄决明素在 $0.0402\sim 0.3216\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.9999$) 范围内呈良好的线性关系, 平均加样回收率为 99.87% , RSD 为 1.32% 。[结论] 该试验所建立的方法准确、重现性好, 可用于通便和减肥类保健食品的质量控制。

关键词 保健食品; 通便; 减肥; 橙黄决明素; 高效液相色谱法

中图分类号 $O657.7$ 文献标识码 A 文章编号 $0517-6611(2016)15-065-02$

Determination of Aurantio-obtusifolin Content in Health Food for Catharsis and Weight Loose by HPLC

FANG Can, MA Ying, PANG Xiu-qing et al (Guizhuo Institute for Food and Drug Control, Guiyang, Guizhou 550004)

Abstract [Objective] To set up a simple and accurate method to determine the aurantio-obtusifolin content in health food for catharsis and weight loose by HPLC. [Method] Chromatographic condition was as follows: C_{18} column was adopted; column temperature was $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, the detection wavelength was 284 nm , flow rate was 1 mL/min , mobile phase was acetonitrile - 0.1% phosphoric acid solution (40:60). [Result] Aurantio-obtusifolin showed good linear relationship within the range of $0.0402\sim 0.3216\text{ }\mu\text{g}$ ($r=0.9999$). The average recovery rate was 99.87% and RSD was 1.32% . [Conclusion] The established method is accurate, reproducible and can be used for quality control of health food for catharsis and weight loose.

Key words Health food; Catharsis; Weight loose; Aurantio-obtusifolin; HPLC

决明子在大多数通便和减肥类保健食品中作为主要原料被广泛使用, 主要功效成分决明子为历版药典收载品种, 为豆科植物决明 (*Cassia obtusifolia* L.) 或小决明 (*Cassia tora* L.) 的干燥成熟种子, 具有润肠通便的功效^[1], 其专属性成分为橙黄决明素^[2], 还含有大黄酚、大黄素等多种成分。目前多采用高效液相色谱法测定决明子药材或中药中决明子的橙黄决明素、大黄酚、大黄素成分^[1-8], 也有采用高效液相色谱法测定保健食品中蒽醌类成分^[9-10], 鲜见同时对通便和减肥类保健食品中决明子橙黄决明素检测方法的文献报道。

笔者选取了以决明子为主要成分制成的 4 个通便类、6 个减肥类保健食品进行检测, 产品均为胶囊和茶的固体制剂。以对减肥胶囊产品中橙黄决明素含量测定的方法学研究为基础, 建立了采用高效液相色谱法测定通便和减肥类保健食品的主要功效成分决明子中橙黄决明素含量的方法, 为评估通便和减肥类保健食品的功效作用、安全性和质量控制提供参考。

1 材料与方

1.1 材料 Waters e2695 型高效液相色谱仪、2998 二极管阵列检测器; 梅特勒 MS105DU 电子天平; 舒美 KQ-500DA 型数控超声波清洗器。橙黄决明素对照品, 中国食品药品检定研究院, 国家药品标准物质, 批号: 111900-201202; 通便类保健食品产品 4 批: 通便茶(A), 润通茶(B), 通秘茶(C), 常润茶(D); 减肥类保健食品产品 6 批: 减肥胶囊(E、F、G、H), 减肥茶(I、J)。乙腈为色谱纯; 甲醇、无水乙醇、乙酸乙酯、三氯甲烷等, 均为分析纯; 水为超纯水。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的制备。精密称定橙黄决明素标准物质 0.01005 g , 置 10 mL 容量瓶中, 加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)混合液溶解并稀释至刻度, 摇匀, 精密量取 2.0 mL 混合液至 100 mL 容量瓶中, 再加无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)混合液稀释至刻度, 摇匀, 即得标准溶液(每 1 mL 含橙黄决明素 $20.1\text{ }\mu\text{g}$)。

1.2.2 供试品溶液的制备。精密称取样品 1.0 g , 置具塞锥形瓶中, 精密加入甲醇 50 mL , 称定重量, 加热回流 2 h , 放冷, 再称定重量, 用 70% 甲醇补足减失的重量, 摇匀, 滤过, 精密量取续滤液 25 mL , 蒸干, 加稀盐酸 30 mL , 置水浴上加热水解 1 h , 立即冷却, 用三氯甲烷振摇提取 4 次, 每次 30 mL , 合并三氯甲烷液, 回收溶剂至干, 残渣用无水乙醇-乙酸乙酯(2:1)混合溶液使溶解, 转移至 25 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 经 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 微孔滤膜滤过, 取滤液, 即得。

1.2.3 色谱条件。十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂(Waters XBridgeTM C_{18} ; $5\text{ }\mu\text{m}$, $4.6\times 250\text{ mm}$); 乙腈- 0.1% 磷酸溶液(40:60)为流动相; 柱温为 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$; 检测波长为 284 nm ; 进样量为 $5\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.2.4 方法学考察。

1.2.4.1 检测波长的确定。取标准溶液在 $190\sim 400\text{ nm}$ 范围内用二极管阵列检测器检测, 标准溶液在 284 nm 处有最大吸收, 因此该试验选用 284 nm 为检测波长。

1.2.4.2 流动相的确定。橙黄决明素的含量测定方法目前主要是高效液相色谱法, 根据文献^[1]报道的方法进行研究并确定乙腈- 0.1% 磷酸溶液(40:60)为流动相, 样品中的橙黄决明素峰和其他成分峰基线分离, 分离效果良好。标准物质、供试品、溶剂色谱图分别见图 1、2、3。

1.2.4.3 线性关系考察。精密吸取标准溶液注入高效液相色谱仪中测定, 以峰面积 A 对浓度 C 进行线性回归, 考察两

基金项目 贵州省食品、保健食品、化妆品监测检测平台项目(黔科平台[2012]4001)。

作者简介 方灿(1968-), 男, 安徽枞阳人, 主任药师, 从事保健食品、化妆品、药品质量控制与研究。

收稿日期 2016-04-08

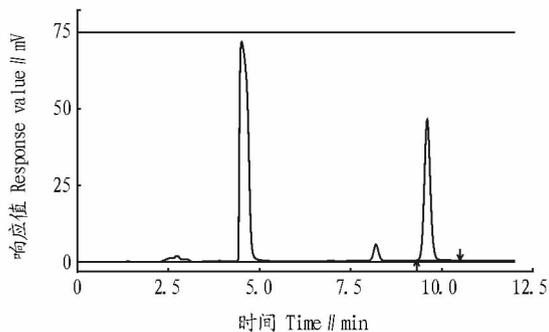


图1 橙黄决明素标准物质色谱

Fig. 1 Chromatogram of standard substances of aurantio-obtusifolin

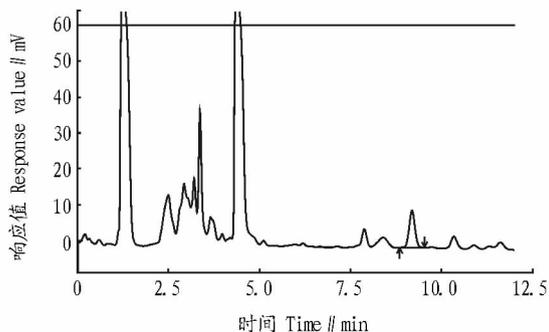


图2 供试品色谱

Fig. 2 Chromatogram of tested substances of aurantio-obtusifolin

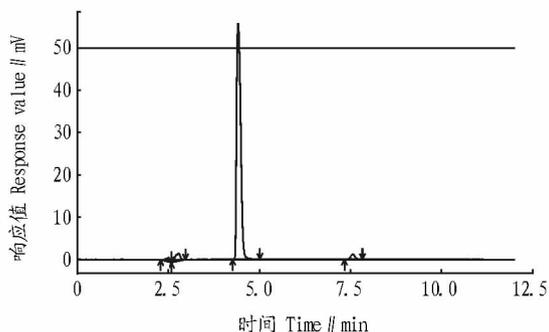


图3 溶剂色谱

Fig. 3 Chromatogram of the solvent

者的线性关系。

1.2.4.4 精密度试验 取标准溶液,连续进样6次,记录峰面积,考察仪器精密度。

1.2.4.5 重复性试验 按“1.2.2”项下供试品溶液制备方法处理6份供试品溶液,测定,考察试验的重复性。

1.2.4.6 加样回收率试验 精密称取供试品0.5 g,共6份,分别精密加入橙黄决明素标准溶液(20.1 μg/mL)3 mL,再按“1.2.2”项下供试品溶液制备方法处理,测定,计算回收率。

1.2.4.7 稳定性试验 取供试品溶液,分别在0、1、2、4、8、12、16 h进样,记录峰面积,考察试验的稳定性。

2 结果与分析

2.1 线性关系考察 按“1.2.4.3”项的方法得出,标准溶液

标准曲线方程 $Y = 26\ 917X - 6\ 618.5$, $r = 0.999\ 9$ 。结果表明,橙黄决明素在0.040 2~0.321 6 μg 范围内线性关系良好。

2.2 精密度试验 按“1.2.4.4”项的方法得出,峰面积RSD值为0.33%,表明仪器精密度良好。

2.3 重复性试验 按“1.2.4.5”项的方法得出,6份供试品溶液的橙黄决明素,平均含量为107.31 μg/g, RSD为0.79%,重复性良好。

2.4 加样回收率试验 试验得出,含供试品的平均回收率为99.87%, RSD为1.32%,方法回收率良好。

2.5 稳定性试验 按“1.2.4.7”项的方法得出,峰面积值的RSD值为0.28%,供试品溶液在16 h内稳定。

2.6 样品橙黄决明素含量测定 分别取10个品种供试品的内容物1.0 g,精密称定,按照供试品溶液的制备方法制备供试品溶液,测定峰面积,计算供试品中橙黄决明素含量测定结果分别为A:73.5 μg/g; B:13.6 μg/g; C:15.6 μg/g; D:18.8 μg/g; E:109.7 μg/g; F:77.3 μg/g; G:88.6 μg/g; H:9.3 μg/g; I:21.1 μg/g; J:6.2 μg/g。测定结果表明,通便类保健食品中橙黄决明素的含量范围为13.6~73.5 μg/g,减肥类保健食品中橙黄决明素的含量为9.3~109.7 μg/g,含量差异均较大。

3 结论与讨论

决明子为通便和减肥类保健食品的主要功效成分之一,橙黄决明素为决明子的专属性成分,根据相关文献方法^[1-9],选用乙醇、甲醇等溶剂进行超声及回流提取橙黄决明素,并对提取溶剂、提取方法、提取时间、酸水解时间、水解酸浓度、水解温度和萃取次数进行考察。该试验研究确定了70%甲醇回流提取2 h,10% HCl 水解1 h,三氯甲烷萃取4次供试品处理方法,建立了通便和减肥类保健食品中橙黄决明素含量的HPLC测定法,方法简便可行并具有良好的准确性和重现性,可用于通便和减肥类保健食品的质量控制。

该试验对通便类、减肥类保健食品10个样品中橙黄决明素含量进行了测定。检测结果表明,通便类、减肥类保健食品中橙黄决明素含量相差最大超过10倍。分析原因认为,由于现有保健食品质量标准存在处方备注不全、未明确处方量、无生产工艺或生产工艺不完整等情况,主要功效成分决明子等原材料的投料缺乏有效监控措施,部分生产企业如未严格按照生产工艺生产产品,是造成不能有效控制产品质量的主要因素,需要予以规范和完善,在产品质量标准中明确成分、处方量和主要生产工艺,确定功效成分指标和检测方法,并加强生产工艺监管力度,保障产品质量和使用安全。同时,需要评价其处方量的合理性,评估功效作用 and 安全性;防止使用者在无明确标示含量情况下长期大量服用对身体造成的损害,其潜在安全风险^[10]有关监管部门应予以关注。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:2010版[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 黄小平,钟国跃,张雪梅,等. HPLC法测定决明子中大黄酚和橙黄决明素[J]. 中国中药杂志,2010,35(16):2065-2067.

(下转第113页)

西运城调种,运城产区远志种子也是药商药贩从不同农户收集而来,农民只种不选,自繁自用,种质退化严重,导致所产远志药材品质不一,有效成分不稳定,影响远志价格及其相关产品的质量和临床疗效。

2.1.3 栽培方法各异。在栽培管理方面,没有统一技术标准,各地管理手段因人而异。首先是施肥种类与施肥量。由于农家肥来源有限,施用费工,仅有3个药农选择施60 000~75 000 kg/hm²农家肥作为基肥。其余有43%的选择施375~750 kg/hm²复合肥,也有不施底肥,来年追肥的,更有任何肥料都不投入,自然生长的;播种期大部分在6~8月,但仍有8.3%的药农选择在早春2月份播种,致使出苗得不到保障;播种量以45~60 kg/hm²居多,也有30~45 kg/hm²,更有襄汾荀董村用种量达82.5~90.0 kg/hm²;病虫害以根腐病、地老虎、红蜘蛛为主,出现病虫害后不是不管不顾,就是采用大量化学药品;平均产量差别极大,最低有3 000 kg/hm²,也有9 000 kg/hm²,收益差异过大。调查发现,由于种植技术的不规范,管理杂草费时费工,药农种植积极性不高。另外,在远志主产区山西运城、临汾等地,由于连作时间过长,病害增多,品质下降,总体栽培现状不容乐观。

2.2 远志栽培品种与栽培技术的研究现状 远志品种选育方面仅有山西省农业科学院经济作物研究所进行,其余尚无报道。该所建有全国野生及家种资源最全的远志资源保存库,并育出晋远1号、晋远2号等一系列优质品种。20世纪80年代山西省新绛县杨某开始驯化野生远志,开始了远志的人工栽培。随后各科研人员进行了全面的研究,不断研究适宜不同产区的远志栽培技术,栽培技术不断简约化^[5-10]。山西省农业科学院经济作物研究所多年来在新绛县设立试验示范基地进行远志栽培技术研究,研制的“晋产远志优质高效栽培模式”获国际先进水平成果,发明的远志质量检测方法(基于高效液相色谱指纹图谱)获得国家发明专利。

3 远志推广应用前景分析

远志栽培中存在不少问题,如种植区域表面看比较广阔,分布在很多省份,但实际是集中在山西运城、临汾地区,其余省份及地区均只是零星种植。过度的集中栽培,过长时间的连作致使主产区病害频发,所产药材品质下降,就形成了重新培育栽培区域的必要。加之调查发现,全国多地均适合远志栽培,故推广远志栽培就区域发展方面是可行的,也

是必要的。

随着人们生活节奏的加快和工作压力的加大,失眠健忘症患者人群正在急剧增加。而西药治疗这类慢性疾病又容易产生依赖性和副作用,中药远志在治疗失眠健忘以及神经衰弱等症有其独特疗效,且长期服用没有毒副作用。因此远志在国内外市场非常畅销,年销量约为2 000 t左右,尤其在韩国、日本、澳门和东南亚新加坡、马来西亚等地的出口量远远超过国内饮片的用量^[11-12]。随着远志药用价值的新开发和其他功效用途的开拓,其需求量每年以15%递增,社会库存消耗殆尽。因此发展远志栽培既可以保证国内市场需求,又是增加出口创汇的好选择。

科研人员对远志品种选育及栽培管理技术的深入研究,为远志农业生产提供了强有力的科技支撑,远志栽培推广也就有了坚强的技术后盾。远志栽培过程中,一般生长3 a采收,收干品5 250 kg/hm²左右,种子1 500 kg/hm²左右,接近5 a市场平均价格计算,远志栽培收益大概在12 000元/hm²。相对较高的经济效益,结合地方农业结构调整转型,在适宜发展远志栽培的地区进行远志栽培将是农民增收、农业增效的一条好途径。

参考文献

- [1] 张树生,马长武. 神农本草经贯通[M]. 北京:中国医药科技出版社,1997:66-67.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:107-108.
- [3] 李世全. 中药采购技术手册[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1998:411-412.
- [4] 赵云生,万德光,严铸云,等. 远志资源生产现状调查[J]. 亚太传统医药,2014,10(14):1-3.
- [5] 徐同印,徐杰. 远志的栽培管理技术[J]. 中国中药杂志,1992,17(2):80-81.
- [6] 赵云生,李占林,毛福英,等. 远志良种繁育研究[J]. 中药研究与信息,2005,7(12):33-34.
- [7] 赵云生,李占林,毛福英,等. 远志栽培密度试验报告[J]. 中药材,2006,29(7):652-653.
- [8] 邵伟国. 北药远志的开发及栽培技术[J]. 中国林副特产,2006(5):58-59.
- [9] 冯亦平,郭吉刚,王玉庆. 远志保护地栽培技术研究[J]. 山西农业大学学报,2007,27(2):168-170.
- [10] 张美淑,全雪丽. 远志丰产栽培技术[J]. 林业实用技术,2007(10):36-37.
- [11] 李全新,郑少锋,李瑞青. 中药材产业链特征及发展对策研究[J]. 中国农业资源与区划,2007,28(4):47-51.
- [12] 李爱宗. 大力发展中药材产业、积极推进中药材产业化[J]. 中国农业资源与区划,2010,31(2):71-74.

(上接第66页)

- [3] 何晓文,樊淑彦,付炎,等. 脂降宁片中丹参素、绿原酸、葛根素、二苯乙烯苷和橙黄决明素的HPLC法测定[J]. 中国工业医药杂志,2011,42(8):625.
- [4] 戴迎春,邓楠,刘文,等. 决明子中橙黄决明素的提取、分离及纯化方法的研究[J]. 中国药学,2011,9(3):179-182.
- [5] 祖若玉,曹冬梅,蔡亚兰. HPLC法同时测定明珠口服液中大黄酚和橙黄决明素的含量[J]. 航天航空医学杂志,2014,25(7):925.
- [6] 卫莹芳,谢达温,万丽,等. HPLC梯度洗脱法同时测定决明子中橙黄决明素、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚的含量[J]. 中国食品卫生杂志,2009,11(6):868-871.

- [7] 詹雁,阮佳,谭镭,等. UPLC同时测定决明子中橙黄决明素、大黄酚、大黄素、大黄素甲醚的含量[J]. 中国测试,2013,39(2):56-58.
- [8] 晏亮,龚千峰,陈伟康. 高效液相色谱法测定参芪十一味颗粒中橙黄决明素和大黄酚的含量[J]. 海峡药学,2014,26(11):58-60.
- [9] 肖晶,杨杰,高尚伟,等. HPLC法测定保健食品中蒽醌类成分的含量[J]. 中国食品卫生杂志,2010,22(1):27-30.
- [10] 邹义英,李军生. 决明子类保健食品的潜在安全风险分析[J]. 食品科技,2009,34(5):295-297.