

不同生长期的粤北产广山药中尿囊素的含量动态研究

陈华龙*(韶关市食品药品检验所,广东 韶关 512028)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2015)12-1698-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2015.12.40

摘要 目的:对不同生长期粤北产广山药中尿囊素含量进行研究,确定粤北产广山药的最佳采收期。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Diamonsil C₁₈,流动相为甲醇-水(5:95, V/V),流速为 1.0 ml/min,检测波长为 224 nm,柱温为 30 ℃,进样量为 20 μl。分别测定不同生长期粤北产广山药中尿囊素的含量。结果:尿囊素进样量在 0.218 2~1.309 2 μg 范围内与峰面积呈良好线性关系($r=0.999\ 6, n=6$);精密度、稳定性、重复性试验的 RSD≤1.1%;平均加样回收率为 102.54%(RSD=1.43%, $n=6$)。粤北产广山药中尿囊素含量在生长期第 1~8 个月内逐渐升高,并于第 8~10 个月时达到峰值。结论:该方法操作简单、可靠、重复性好,可为粤北产广山药质量控制提供科学依据;以尿囊素为指标,粤北产广山药的最佳采收期为生长到第 8~10 个月之间。

关键词 粤北产广山药;尿囊素;高效液相色谱法;采收期

Dynamic Study on the Content of Allantoin from Wide Yam in Different Growing Periods Produced in North Guangdong

CHEN Hua-long(Shaoguan Institute for Food and Drug Control, Guangdong Shaoguan 512028, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the allantoin content from wide yam produced in different growing periods produced in North Guangdong and determine the optimal harvest time. METHODS: HPLC method was adopted. The column was Diamonsil C₁₈ with the mobile phase of methyl alcohol-water (5:95, V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was 224 nm, and column temperature was 30 ℃. The sample size was 20 μl. The allantoin content from wide yam produced in different growing periods produced in North Guangdong was determined. RESULTS: There was a good linear relationship between the amount of allantoin and the peak area in the range of 0.218 2-1.309 2 μg($r=0.999\ 6, n=6$). RSDs of precision, stability and repeatability tests were≤1.1%. The average recovery was 102.54%(RSD=1.43%, $n=6$). The allantoin content was gradually increased from the 1st month to the 8th month and it was reached the peak value during the 8th month and 10th month. CONCLUSIONS: The method is simple, reliable, reproducible and can provide scientific reference for the quality control of wide yam produced in North Guangdong. With the index of allantoin, the optimal harvest time of wide yam produced in North Guangdong is 8th to 10th month.

KEYWORDS Wide yam produced in north Guangdong; Allantoin; HPLC; Harvest time

粤北产广山药是薯蓣属(*Dioscorea*)植物山薯(*D. fordii* Prain et Burk)的地下块茎^[1],与 2010 年版《中国药典》(一部)^[2] 收录的广山药同属不同种。粤北产广山药的功效在《本草纲目》中被概括为“益肾气、健脾胃、止泄痢、化痰涎、润皮毛”5 个主要方面。据文献报道,粤北产广山药含有丰富的尿囊素、薯蓣皂苷元和多糖等成分^[3],其中尿囊素具有促进细胞生长、加快伤口愈合、软化角质蛋白等生理功能,是皮肤创伤的良好愈合剂和抗溃疡药剂^[4]。2010 年版《中国药典》(一部)山药质量标准未见含量测定项,故本研究采用高效液相色谱(HPLC)法测定粤北产广山药中尿囊素的含量,并对不同生长期的粤北产广山药中尿囊素的含量进行了研究,以为其采收时间的确定提供科学依据。

1 材料

LC-20AT 型 HPLC 仪(日本岛津公司);DS10260 超声波清洗机(天津市东康科技有限公司);XS105DU 电子天平(精度:0.01 mg,瑞士梅特勒-托利多有限公司)。

尿囊素对照品(批号:111501-200202,中国食品药品检定研究院);粤北产广山药供试品(武江区某淮山种植基地;鉴定人:韶关市食品药品检验所中药室李庆斌副主任中药师;保存

地:韶关市食品药品检验所样品室);甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 样品的采集与处理

对不同生长期的粤北产广山药进行定人、定点、定期采样,采样量为 1~1.5 kg。采挖地下块茎,洗净,除去外皮和须根,干燥。

2.2 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇-水(5:95, V/V);检测波长:224 nm;流速:1.0 ml/min;进样量:20 μl;柱温:30 ℃。理论板数按尿囊素峰计应不低于 5 000,分离度应不低于 2.0。

2.3 溶液的制备

2.3.1 对照品溶液 精密称取尿囊素对照品 10.91 mg,置于 50 ml 量瓶中,加入 50% 甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为贮备液(0.218 2 mg/ml)。精密吸取贮备液 10 ml,置于 50 ml 量瓶中,加 50% 甲醇稀释至刻度,摇匀,制成每 1 ml 含尿囊素 0.043 64 mg 的对照品溶液。

2.3.2 供试品溶液 取供试品粉末(过 3 号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入 50% 甲醇 50 ml,密塞,摇匀,称定质量,超声(功率:250 W,频率:40 kHz)处理 30 min,放冷,

* 副主任药师。研究方向:药品质量控制。电话:0751-8722975。E-mail:765482622@qq.com

再称定质量,用50%甲醇补足减失的质量,摇匀,0.45 μm的微孔滤膜滤过,取续滤液作为供试品溶液。

2.4 方法学考察

2.4.1 专属性试验 精密吸取对照品溶液和供试品溶液各20 μl,注入HPLC仪,测定。结果,在对照品色谱峰保留时间对应的位置上,供试品溶液有色谱峰,色谱见图1。

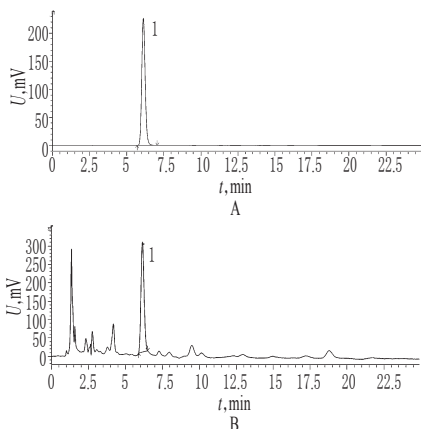


图1 高效液相色谱图

A. 尿囊素对照品; B. 粤北产广山药供试品; 1. 尿囊素

Fig 1 HPLC chromatograms

A.allantoin reference; B.test samples of wide yam produced in North Guangdong; 1.allantoin

2.4.2 线性关系考察 取“2.3.1”项下对照品溶液适量,分别进样5、10、15、20、25、30 μl,按“2.2”项下色谱条件测定尿囊素峰面积。以尿囊素进样量(x)为横坐标、峰面积(y)为纵坐标,进行线性回归,得回归方程 $y=3.0208 \times 10^4 x + 6.7350 \times 10^3$ ($r=0.9996, n=6$)。结果表明,尿囊素进样量在0.2182~1.3092 μg范围内,与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.3 精密度试验 精密吸取“2.3.1”项下对照品溶液20 μl,重复进样5次。结果,RSD=0.95% ($n=5$),表明仪器精密度良好。

2.4.4 重复性试验 取同一生长期供试品,精密称定,按“2.3.2”项下方法平行制备6份供试品溶液,进样测定。结果,RSD=1.1%,表明该方法重复性良好。

2.4.5 稳定性试验 精密吸取供试品溶液,分别于0、3、6、9、12、15 h进样20 μl,测定尿囊素峰面积。结果,RSD=0.88%,表明供试品溶液在15 h内稳定。

2.4.6 加样回收率试验 取已知尿囊素含量的粤北产广山药(0.32%)约0.3 g,共6份,精密称定。分别精密加入尿囊素对照品溶液适量,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,按“2.2”项下色谱条件测定,计算加样回收率,结果见表1。

表1 加样回收率试验结果 ($n=6$)

Tab 1 Results of recovery test ($n=6$)

称样量, g	样品含量, mg	加入量, mg	测得量, mg	加样回收率, %	平均加样回收率, %	RSD, %
0.3115	0.9968	0.8728	1.8752	100.64		
0.3280	1.0496	0.8728	1.9359	101.55		
0.3024	0.9677	0.8728	1.8688	103.24	102.54	1.43
0.3051	0.9763	0.8728	1.8654	101.87		
0.3099	0.9917	0.8728	1.8928	103.24		
0.3117	0.9974	0.8728	1.9114	104.72		

2.5 样品含量测定

取不同生长期的粤北产广山药约0.5 g,每一生长期平行3

份,按“2.3.2”项下方法制备供试品溶液,并按“2.2”项下色谱条件测定尿囊素峰面积,计算其质量分数。以生长期为横坐标,以每一生长期的3份粤北产广山药中尿囊素质量分数平均值

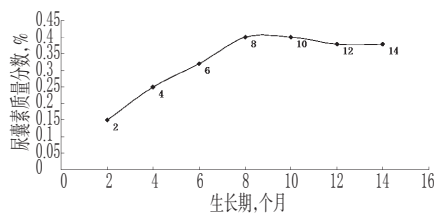


图2 不同生长期粤北产广山药中尿囊素的含量

Fig 2 Allantoin content of wide yam produced in North Guangdong in different growing periods

3 讨论

3.1 提取条件的选择

笔者考察了水、20%甲醇、50%甲醇、20%乙醇、50%乙醇作为超声提取剂^[4-6]、回流提取后进样的效果分析,且对超声提取20、30、50 min的提取效果进行了比较。结果表明,用50%甲醇30 min超声提取测得尿囊素含量较高,延长超声时间对样品尿囊素提取率无显著影响。

3.2 流动相的选择

笔者考察了不同比例的甲醇-水、乙腈-水、甲醇-乙腈-水、甲醇-冰醋酸^[7-8]作为流动相时的分离效果。结果表明,采用甲醇-水(5:95, V/V)为流动相时尿囊素的峰形好、保留时间适中、柱效高、与其他峰分离度大,故选择其作为流动相。

3.3 最佳采收期的确定

粤北产广山药中尿囊素含量在生长期第1~8个月内逐渐升高,并于第8~10个月时达到峰值,而后有所下降,但差异并不明显。因此,高含量尿囊素粤北产广山药的最佳采收期为生长到第8~10个月之间。

综上所述,该方法操作简单、可靠、重复性好,可为粤北产广山药质量控制提供科学依据;以尿囊素为指标,粤北产广山药的最佳采收期为生长到第8~10个月之间。

参考文献

- [1] 何海玲,单承莺,张卫明,等.山药研究进展[J].中国野生植物资源,2006,25(6):1.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2010年版.北京:中国医药科技出版社,2010:27.
- [3] 袁书林.山药的化学成分和生物活性作用研究进展[J].食品研究与开发,2008,29(3):176.
- [4] 凌育赵.高效液相色谱法检测淮山米粉尿囊素的研究[J].粮油食品科技,2006,14(1):52.
- [5] 郑琴,胡鹏翼,龚莹莹,等.HPLC法测定不同产地山药饮品中尿囊素和腺苷的含量[J].江西中医学院学报,2013,25(3):33.
- [6] 李军,岳易恒,张丽萍,等.HPLC测定不同产地山药中腺苷含量[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(24):55.
- [7] 张军,秦雪梅,薛黎明,等.HPLC-ELSD法测定山药中尿囊素含量的研究[J].药物分析杂志,2008,28(10):1648.
- [8] 文庆,聂平,丁野,等.HILIC-HPLC法测定山药中尿囊素的含量[J].中南药学,2014,12(2):169.

(收稿日期:2014-11-19 修回日期:2015-01-04)

(编辑:余庆华)