



超高效液相色谱技术 在食品与药品分析中的应用

赵静 薛晓锋 ◎ 主编



中国轻工业出版社

超高效液相色谱技术在食品与 药品分析中的应用

赵 静 薛晓锋 主 编
陈兰珍 周金慧 耿 瑜 副主编

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

超高效液相色谱技术在食品与药品分析中的应用/
赵静, 薛晓锋主编. —北京: 中国轻工业出版社,
2012. 4

ISBN 978-7-5019-8683-5

I. ①超… II. ①赵…②薛… III. ①液相色谱-应
用-食品分析②液相色谱-应用-药物分析 IV. ①TS207.3
②TQ460.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 013722 号

责任编辑: 涂润林 责任终审: 张乃柬 封面设计: 锋尚设计
版式设计: 王超男 责任校对: 晋洁 责任监印: 张可

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

印刷: 河北高碑店市德裕顺印刷有限责任公司

经销: 各地新华书店

版次: 2012 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

开本: 720×1000 1/16 印张: 14

字数: 282 千字

书号: ISBN 978-7-5019-8683-5 定价: 38.00 元

邮购电话: 010-65241695 传真: 65128352

发行电话: 010-85119835 85119793 传真: 85113293

网址: <http://www.chlip.com.cn>

Email: club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社邮购联系调换

070998K1X101ZBW

前言

20 世纪 60 年代, 科学家们为了分离蛋白质、核酸等不易汽化的大分子物质, 将气相色谱的理论和方法引入到经典液相色谱中, 液相色谱理论的雏形诞生。在 20 世纪 60 年代末, 科克兰教授等开发了世界上第一台高效液相色谱仪, 开启了高效液相色谱的时代。1971 年, 科克兰等出版了《液相色谱的现代实践》一书, 标志着高效液相色谱法 (HPLC) 的正式建立。此后, 经过三十多年的发展, 高效液相色谱已经成为科技工作者最为常用的分离和检测方法之一, 在有机化学、生物化学、医学、药物开发与检测、化工、食品科学、环境监测、商品检验等各个领域都有广泛的应用。

自从高效液相色谱诞生以来, 高效和快速分析一直是色谱分析技术永恒不变的主题。科学家们一直致力于研究出能够进行高效分离, 同时超快速分析的液相色谱仪。根据经典的液相色谱理论, 当色谱柱填料粒径接近或低于亚 $2\mu\text{m}$ 水平时, 不但能获得极高的柱效, 而且柱效不会随流速或线速度的增大而减小。根据这一经典理论, 超高效液相色谱技术诞生了。自 2004 年后, 一些世界知名分析仪器生产企业, 如 Waters, Agilent, Shimadzu, Dionex 等先后推出了基于亚 $2\mu\text{m}$ 填料的超高效液相色谱。可以说, 是填料科学 (小粒径材料, 装填技术) 的进步推动了超高效液相色谱的诞生, 在实现“超高效、超快速”方面, 液相色谱的填料技术功不可没。

超高效液相色谱与传统的高效液相色谱技术相比效率更高, 因而具有更强的分离能力。各式各样商品化的超高效液相色谱仪的出现是分离科学和技术的巨大进步, 液相色谱分析技术亦由此进入了全新的时代。

基于亚 $2\mu\text{m}$ 小颗粒技术的超高效液相色谱与人们熟知的 HPLC 技术具有相同的分离原理。不同的是, 超高效液相色谱不仅比传统 HPLC 具有更高的分离能力, 而且结束了人们多年来不得不在速度和分离度之间取舍的历史。

超高效液相色谱具有以下优点: ①超高分离度。以 Waters 公司推出的 $1.7\mu\text{m}$ 颗粒小柱为例, $1.7\mu\text{m}$ 颗粒提供的柱效比普通 $5\mu\text{m}$ 颗粒提高了 3 倍, 根据公式, 分离度与粒度的平方根成反比, $1.7\mu\text{m}$ 颗粒的分离度比 $5\mu\text{m}$ 颗粒提高了 70%。由于 $1.7\mu\text{m}$ 颗粒提高了分离能力, 可以分离出更多的色谱峰, 因此对样品的检测水平达到了一个新的高度。比如, 用超高效液相色谱分析蜂胶未知物, 比普通高效液相色谱多分离出 10 多种物质, 提供了更为丰富的样品信息。②超高速。 $1.7\mu\text{m}$ 颗粒的色谱柱柱长仅为 $5\mu\text{m}$ 颗粒色谱柱的 $1/3$ 并保持柱效不变, 而且使分离在高流速下进行, 结果使分离过程快了多倍而分

离度保持不变,大大缩短了分析时间。以分离蜂胶黄酮为例,用普通高效液相色谱分析10种黄酮,需要75min,用超高效液相色谱分析,仅需要11min。由于分析单个样品的时间减少,消耗的试剂也明显减少,降低实验成本的同时,也有利于节约能源,保护生态环境。③超高灵敏度。小颗粒技术可以得到更高的柱效(分离度提高)、更窄的色谱峰宽,即更高的灵敏度。

自从2004年Waters公司推出第一台商品化的超高效液相色谱(UPLC)仪以来,超高效液相色谱技术就在食品安全、药物分析中逐渐得到了广泛应用。目前,发表的有关超高效液相色谱的论文以UPLC为主。2004年,第一台商品化的超高效液相色谱仪推出后,当年发表的论文为35篇,2005年为103篇,2006年为217篇,2008年为398篇,2009年为624篇,2010年为798篇,2011年1月~6月为719篇。从论文的数量就可以看出,超高效液相色谱技术受到越来越多分析者的青睐,超高效液相色谱技术的应用也越来越广泛。超高效液相色谱的应用普及是必然趋势。

随着超高效液相色谱技术的成熟,超高效液相色谱仪的种类也越来越多,除了Waters公司的UPLC系统,其他分析仪器生产商也推出了自己的超高效液相色谱仪,如Agilent公司的UHPLC(Agilent 1290 Infinity),Shimadzu公司的Nexera UHPLC LC-30A, Dionex公司的Ultimate-RS-3000等。超高效液相色谱仪领域出现了百花争艳的局面,在为广大分析工作者提供了更多选择机会的同时,也标志着液相色谱分析进入了超高效液相色谱时代。

虽然超高效液相色谱与普通高效液相色谱相比具有明显的优势,但是我们认为,超高效液相色谱还不能完全取代普通的高效液相色谱,在样品纯化、制备领域,普通高效液相色谱的地位仍然不可替代。另外,目前超高效液相色谱柱的种类有限,有些样品仍然需要应用普通高效液相色谱进行分析。虽然超高效液相色谱的许多技术仍待改进,但是,作为分析工作者,我们更相信我们还没有完全认识到超高效液相技术的潜能,还需要广大分析工作者去不断发掘,就像Waters公司在发布第一台超高效液相色谱仪时描述的那样,对于超高效液相色谱技术,我们也许只看到了“冰山一角”。

超高效液相色谱技术在食品与药品分析中的应用越来越广泛,许多关于超高效液相色谱技术的优秀论文也已经发表,但尚没有一本完整的相关参考书出版。鉴于液相色谱分析技术的发展趋势及推广新技术的需要,编者编写了此书。此书可以作为食品与药品分析工作者、色谱分析工作者的参考书籍。由于本书内容涉及食品与药品分析的很多方面,加上编者水平和经验有限,书中难免有疏忽与遗漏的地方,请同行专家和广大读者批评指正,提出宝贵意见。

编者

2011年10月

第一章 超高效液相色谱技术在功能成分分析中的应用	1
一、超高效液相色谱分析蜂胶中多种活性物质.....	1
二、超高效液相色谱分析保健品中二十八烷醇.....	3
三、超高效液相色谱分析雪莲中多种活性物质.....	5
四、超高效液相色谱分析葡萄汁及葡萄酒中的谷胱甘肽、儿茶素、 咖啡酸.....	8
五、超高效液相色谱串联质谱测定乳粉中的肌醇	10
六、超高效液相色谱串联质谱测定酒水中的酚酸	12
七、超高效液相色谱串联质谱同时测定鼠尿中 17 种人参皂苷.....	15
八、超高效液相色谱紫外法检测人参中的 PNFY A、PNFY B	18
九、超高效液相色谱紫外法测定饲草、牛血浆、牛乳中的类胡萝卜素、 维生素 A、维生素 E	19
十、超高效液相色谱紫外法测定硬质小麦中的类胡萝卜素	22
十一、超高效液相色谱串联质谱测定猪肉制品中的嘌呤类和嘧啶类 化合物	24
十二、超高效液相色谱紫外法分析蜂王浆中的磷酸腺苷	27
十三、超高效液相色谱串联质谱测定血浆及尿液中的乙酰胆碱、胆碱、 甜菜碱、二甲甘氨酸	30
十四、超高效液相色谱串联质谱测定大米中的叶酸	32
十五、超高效液相色谱串联质谱测定鼠血清中葛根素、大豆素、黄 芩苷、汉黄芩苷	35
十六、超高效液相色谱串联质谱同时测定婴儿乳粉中 α -乳白蛋白、 β -乳球蛋白	37
十七、超高效液相电喷雾四极杆耦合时间飞行色谱串联质谱法定性 定量分析藤黄属植物中的多环多异戊烯基间苯三酚类成分	39
十八、超高效液相色谱检测食品中氨基酸	42
十九、超高效液相色谱紫外法测定食品中的生物胺	45
二十、超高效液相色谱串联质谱快速测定食品中的丙烯酰胺	47
第二章 超高效液相色谱技术在农药分析中的应用	50
一、超高效液相色谱串联质谱测定茶叶中的 65 种农药残留.....	50

二、超高效液相色谱串联质谱测定地表水中的农药残留	52
三、超高效液相色谱飞行时间质谱测定食用作物中的农药残留	55
第三章 超高效液相色谱技术在兽药、激素及兴奋剂分析中的应用	58
一、超高效液相色谱串联质谱测定乳粉中的喹诺酮残留	58
二、超高效液相色谱串联质谱测定牛乳中的克伦特罗、氯霉素、 己烯雌酚	61
三、超高效液相色谱串联质谱测定人血浆中的阿奇霉素	63
四、超高效液相色谱串联质谱测定城市污水中 21 种抗生素残留	66
五、超高效液相色谱串联质谱测定肌肉中的四环素、磺胺、甲氧苄氨 嘧啶、氨苯砒残留	69
六、超高效液相色谱串联质谱测定牛乳中的兽药残留	72
七、超高效液相色谱串联质谱测定肉中的磺胺残留	75
八、超高效液相色谱飞行时间质谱测定原料乳中的 150 种兽药残留	78
九、超高效液相色谱紫外法测定液态猪廐肥中的四环素及差向物	81
十、超高效液相色谱串联质谱测定 7 种肾上腺皮质类固醇激素	83
十一、超高效液相色谱串联质谱测定蛋制品中的性激素	85
十二、超高效液相色谱串联质谱测定环境水体中的雄激素、孕激素	89
十三、超高效液相色谱串联质谱测定猪内脏中的 β -兴奋剂	92
十四、超高效液相色谱串联质谱测定猪组织中的莱克多巴胺	95
十五、超高效液相色谱飞行时间质谱测定尿液中的兴奋剂	98
第四章 超高效液相色谱技术在环境污染物分析中的应用	102
一、超高效液相色谱串联质谱测定熟食制品中的多环芳烃及醛类 物质	102
二、超高效液相色谱串联质谱测定牛乳、鱼肉中的全氟化烷基化 物质	106
三、超高效液相色谱串联质谱测定饮用水中的 <i>N</i> -亚硝基二甲胺	110
第五章 超高效液相色谱技术在生物毒素分析中的应用	114
一、超高效液相色谱串联质谱测定中药中的玉米赤霉烯酮及其 衍生物	114
二、超高效液相色谱飞行时间质谱测定谷物中的镰刀霉菌毒素	117
三、超高效液相色谱荧光测定啤酒及啤酒原料中的赭曲霉毒素 A	119
四、超高效液相色谱分离微囊藻毒素和节球藻毒素	122
五、超高效液相色谱串联质谱快速同时测定谷类及其制品中的 多种霉菌	123

六、超高效液相色谱串联质谱同时测定食品和饲料中的 17 种真菌毒素·····	127
七、超高效液相色谱串联质谱同时测定多种脂溶性海洋毒素·····	130
八、超高效液相色谱串联质谱法同时测定淡水中的多种蓝藻毒素·····	133
九、超高效液相色谱串联质谱同时测定花生中的黄曲霉毒素·····	137
十、超高效液相色谱串联质谱测定水样中的微囊藻毒素·····	139
第六章 超高效液相色谱技术在医用药物分析中的应用·····	143
一、超高效液相色谱串联质谱测定血浆中的非那雄胺·····	143
二、超高效液相色谱串联质谱测定尿液中的阿片类、可卡因类物质·····	145
三、超高效液相色谱串联质谱测定尿液及全血样品中的芬太尼、正芬太尼·····	148
四、超高效液相色谱串联质谱同时测定鼠血清中三七皂苷 R_1 ，人参皂苷 R_{g1} 、 R_e 、 R_{b1} 及淫羊藿苷·····	151
五、超高效液相色谱光电二极管阵列和串联质谱测定黄连中的生物碱·····	153
六、超高效液相色谱串联质谱测定黄连中的生物碱·····	155
七、超高效液相色谱串联质谱测定废水中的药物·····	158
八、超高效液相色谱串联质谱同时测定环境和废水样品中 50 种药物（含 26 种抗生素）·····	161
九、超高效液相色谱串联质谱测定人血浆中的米格列奈·····	164
十、超高效液相色谱串联质谱测定血浆中的氨氯地平·····	166
十一、超高效液相色谱串联质谱测定人血浆中的表柔比星·····	168
十二、超高效液相色谱串联质谱测定血浆中的甲氧沙林·····	171
十三、超高效液相色谱飞行时间质谱测定毛发中的 52 种药物·····	173
十四、超高效液相色谱飞行时间质谱测定藤黄树脂中的氧杂蒽酮类化合物·····	176
十五、超高效液相色谱荧光检测法测定细胞中的阿霉素及其代谢物·····	178
十六、超高效液相色谱蒸发法散射检测法测定牛黄及相关中成药中的 5 种胆汁酸衍生物·····	180
十七、超高效液相色谱串联快速分离和鉴定全血中的安非他明类和氯胺酮·····	182
十八、超高效液相色谱串联质谱测定尿液中的安非他明和代谢物·····	184
十九、超高效液相色谱串联质谱测定尿液中的氯胺酮及其代谢物·····	187
二十、超高效液相色谱串联质谱测定鼠血清中补骨脂素、异补骨脂素·····	189

二十一、超高效液相色谱串联质谱测定新生儿血浆中的左乙拉西坦·····	192
二十二、超高效液相色谱串联质谱测定血浆中的熊果酸·····	194
二十三、超高效液相色谱串联质谱测定人尿中的苯二氮草类药物·····	196
二十四、超高效液相色谱串联质谱在临床上分析辛伐他汀和阿托伐他汀·····	199
二十五、超高效液相色谱串联质谱测定生物样品中的鞘氨醇磷酸酯·····	201
二十六、超高效液相色谱串联质谱测定人尿液中的尿囊素·····	204
二十七、超高效液相色谱串联质谱测定大鼠血浆中的青蒿素·····	206
二十八、UPLS-MS 测定人血浆中的阿奇霉素·····	208
第七章 超高效液相色谱使用问题·····	211
一、样品的准备·····	211
二、流动相的选择·····	211
三、常见色谱故障·····	212
四、色谱柱的使用问题·····	212

一、超高效液相色谱分析蜂胶中多种活性物质

蜂胶是蜜蜂从植物芽孢或树干上采集的树脂（树胶），混入其上腭腺、蜡腺的分泌物加工而成的一种具有芳香气味的胶状固体物。蜂胶含有多种活性物质，比如黄酮、萜烯、酯类等。我国药典记载蜂胶的功能主要有：内服补虚弱、化浊脂、止消渴；外用解毒消肿。

（一）原理

蜂胶中含有阿魏酸、芦丁、杨梅酮、槲皮素、茨菲醇、芹菜素、松鼠素、柯茵、高良姜素、咖啡酸苯乙酯等活性物质。在紫外 270nm 处均有吸收，用液相色谱在反相 C_{18} 柱上，多种活性物质因极性的不同被分离出来。用峰面积外标法定量，计算出活性物质的含量。

（二）仪器与试剂

1. 仪器

- （1）超高效液相色谱（配有紫外检测器）；
- （2）超声波。

2. 试剂

本实验用水均为去离子水或同等蒸馏水；所用试剂若不加说明，均为分析纯试剂。

- （1）甲醇（色谱纯）；
- （2）阿魏酸、桑色素、芦丁、杨梅酮、槲皮素、茨菲醇、芹菜素、松鼠素、柯茵、高良姜素、金合欢素、咖啡酸苯乙酯标准品。

（三）测定方法

1. 样品的制备

称取蜂胶样品 0.1g（精确到 0.001g，不同蜂胶制剂应该根据其蜂胶含量来确定称取样品的质量），放入 50mL 的容量瓶中，加入 40mL 甲醇，在超声波浴槽超声至样品完全溶解，用甲醇定容，用 0.45 μ m 的滤膜过滤，滤液用作

上机分析。

2. 色谱条件

(1) 色谱柱: Waters BEH Shield RP18 柱 (100mm×2.1mm, 1.7μm) 或相当者;

(2) 流动相: A 相为甲醇, B 相为 0.4% 甲酸水溶液;

(3) 流速: 0.5mL/min;

(4) 梯度洗脱见表 1;

表 1 梯度洗脱表

时间/min	0	4	6	7	8	9.5	12
流动相 A/%	30	30	62	80	100	30	30
流动相 B/%	70	70	38	20	0	70	70

(5) 柱温: 40℃;

(6) 检测波长: 270nm;

(7) 进样体积: 5μL。

3. 测定

准确吸取标准溶液和样品提取液各 5μL 分别注入色谱系统, 以标准物保留时间定性, 通过峰面积计算各种黄酮的含量。标准样品测定色谱图见图 1。

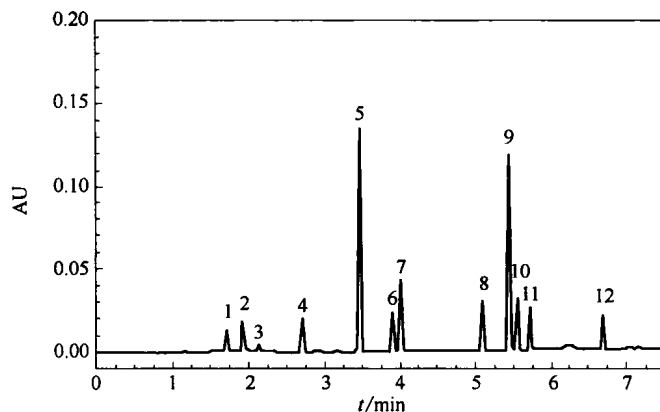


图 1 阿魏酸、芦丁、杨梅酮、桑色素、槲皮素、槲非醇、芹菜素、松鼠素、柯茵、咖啡酸苯乙酯、高良姜素和金合欢素标准物质的高效液相色谱图

(四) 结果计算

样品中某活性物质含量以 w 计, 数值单位以 mg/g 表示, 按以下公式计算:

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V}{A_s \times m}$$

式中 A ——待测液中某种活性物质的峰面积

ρ_s ——标准溶液中某种活性物质浓度, mg/mL

V ——样品溶液定容的体积, mL

m ——样品称取量, g

A_s ——标准溶液中某种活性物质的峰面积

参考文献

李熠, 赵静, 薛晓峰, 周金慧. 超高效液相色谱法同时测定蜂胶中的 12 种活性成分. 色谱, 2007, 25 (6): 857~860.

二、超高效液相色谱分析保健品中二十八烷醇

二十八烷醇对人体的主要功效为: ①增进耐力、精力; ②提高反应灵敏性; ③提高应激能力; ④减轻肌肉疼痛; ⑤改善心肌功能; ⑥降低收缩期血压; ⑦提高机体的新陈代谢。作为一种药用及保健食品功能成分, 二十八烷醇的研究开发方兴未艾, 尤其是在保健食品开发方面发展迅速, 在日本、美国, 以二十八烷醇为主要功能成分的饮料已在市场上销售。建立二十八烷醇的分析方法对于研究其活性及产品质量控制有着重要意义。

(一) 原理

样品中的二十八烷醇以乙醇为溶剂, 用超声波提取, 超高效液相色谱法测定蜂蜡提纯物中二十八烷醇, 外标法定量。

(二) 仪器与试剂

1. 仪器

- (1) 超高效液相色谱 (UPLC, 配蒸发光检测器);
- (2) 超声清洗器。

2. 试剂

所用试剂若不加说明, 均为分析纯试剂。

- (1) 乙醇 (色谱纯);
- (2) 二十八烷醇标准品。

(三) 测定方法

1. 样品的制备

精密称取样品 10mg 于 100mL 容量瓶中, 用乙醇溶解, 在超声波清洗器

上于 40℃ 水浴中超声 15min 定容至刻度, 用 0.22 μ m 过滤器将试样溶液过滤到样品瓶内, 供 UPLC 分析。

2. 仪器条件

(1) 色谱柱: Waters BEHShieldRPC₁₈ 柱 (100mm $\times$ 2.1mm, 1.7 μ m) 或相当者;

(2) 流动相: 100% 乙醇;

(3) 流速: 0.5mL/min;

(4) 柱温: 45℃;

(5) 蒸发光条件: ELSD 的漂移管温度: 5℃; 载气: 氮气; 气流: 3MPa;

(6) 进样量: 3 μ L。

3. 测定

准确吸取标准溶液和样品提取液各 3 μ L 分别注入色谱系统, 以标准物保留时间定性, 通过峰面积的 log 值与标样浓度的 log 值做线性方程, 通过线性方程计算样品中二十八烷醇的含量。标准样品测定色谱图见图 1。

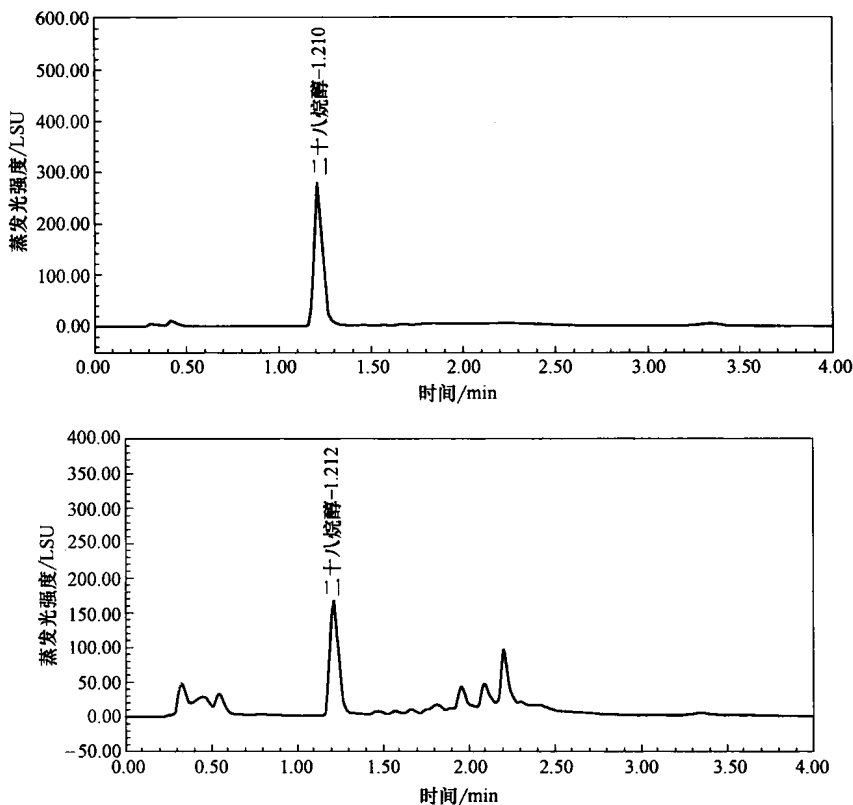


图1 蜂蜡二十八烷醇标样与实际样品测定图

三、超高效液相色谱分析雪莲中多种活性物质

天山雪莲中含丰富的多酚类成分，如绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素等，具有广泛的生物活性，如抗氧化作用、抗菌、抗病毒、抑制突变和抗肿瘤作用。建立快速分析方法对于研究雪莲的活性、指纹图谱、质量控制有着重要的作用。

（一）原理

试样用 80% 的乙醇水溶液提取，超高效液相色谱分离，二极管阵列检测器和电喷雾质谱检测定性，外标法定量，测定天山雪莲中绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素的含量。

（二）仪器与试剂

1. 仪器

- （1）超高效液相色谱（二极管阵列检测器和电喷雾质谱检测器）；
- （2）超声波提取仪。

2. 试剂

除特殊说明外，所用试剂为分析纯，水为超纯水。

- （1）甲醇（色谱纯）；
- （2）甲酸（色谱纯）；
- （3）乙腈（色谱纯）；
- （4）绿原酸标准品；
- （5）紫丁香苷标准品；
- （6）芦丁标准品；
- （7）洋蓟素标准品；
- （8）木樨草素标准品；
- （9）牛蒡子苷标准品；
- （10）芹菜素标准品；
- （11）高车前素标准品。

（三）测定方法

1. 样品的制备

将整株干燥的天山雪莲药材研磨成粉末，取 2.0g 天山雪莲的粉末，用 20mL 的乙醇超声波 15min 提取三次，合并提取液并转移至鸡心瓶中，真空蒸

发干后,用 10mL 甲醇溶解,经 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤,待测。

2. 仪器条件

(1) 高效液相色谱二极管阵列法

- ① 色谱柱: C_{18} ($1.7\mu\text{m}$, $2.1\text{mm}\times 50\text{mm}$) 或相当者;
- ② 流动相: A 相为含 0.2% 甲酸水溶液; B 相为乙腈;
- ③ 流速: $0.5\text{mL}/\text{min}$;
- ④ 梯度洗脱见表 1;

表 1 梯度洗脱表

时间/min	0	7	10	13	16	17	18
流动相 A/%	95	95	85	65	50	20	95
流动相 B/%	5	5	15	35	50	80	5

- ⑤ 进样量: $4\mu\text{L}$;
- ⑥ 检测波长: 280nm 。
- (2) 高效液相色谱质谱法
- ① 色谱部分条件同“高效液相色谱二极管阵列法”;
- ② 离子源: ESI^+ ;
- ③ 检测模式: MRM;
- ④ 毛细管电压: 3.0V ;
- ⑤ 锥孔电压: 35V ;
- ⑥ 去簇电压: 4V ;
- ⑦ 离子源温度: 120°C ;
- ⑧ 干燥器温度: 400°C 。

3. 测定

准确吸取标准物溶液和样品提取液各 $2\mu\text{L}$ 分别注入液相色谱串联质谱仪,以标准物出峰时间与多反应监测定性,通过峰面积计算天山雪莲中绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素含量。样品提取液测定色谱图见图 1、图 2。

(四) 结果计算

试样中绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素含量以 w 计,单位以 $\mu\text{g}/\text{g}$ 表示,按以下公式计算:

$$w = \frac{A \times \rho_s \times V}{A_s \times m}$$

式中 w ——试样中绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子

苷、芹菜素和高车前素的含量, $\mu\text{g/g}$

ρ_s ——标准溶液质量浓度, $\mu\text{g/mL}$

V ——试样溶液最终定容体积, mL

A_s ——标准溶液的峰面积

A ——待测液的峰面积

m ——试样质量, g

计算结果保留两位有效数字。

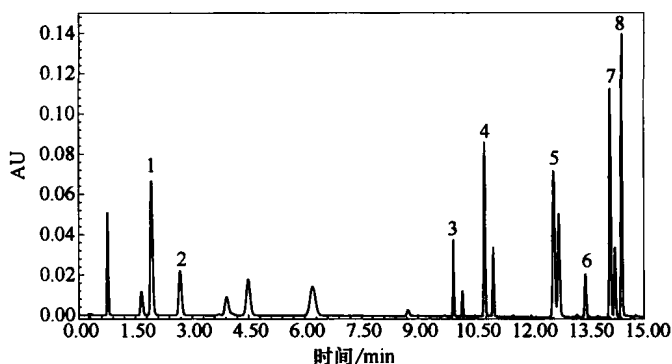


图1 绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素标准物质的高效液相色谱图

1—绿原酸 2—紫丁香苷 3—芦丁 4—洋蓟素 5—木樨草素
6—牛蒡子苷 7—芹菜素 8—高车前素

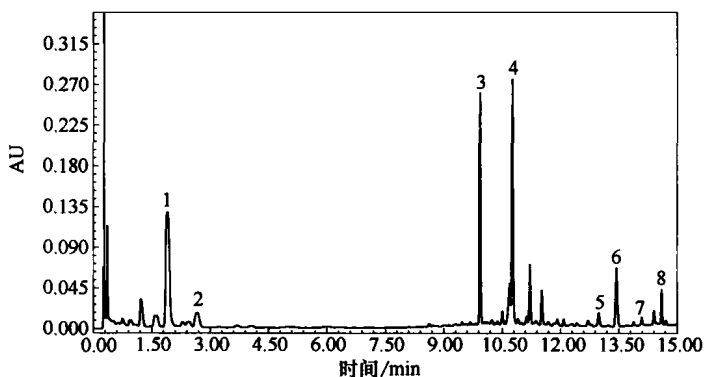


图2 天山雪莲样品中绿原酸、紫丁香苷、芦丁、洋蓟素、木樨草素、牛蒡子苷、芹菜素和高车前素的高效液相色谱图

1—绿原酸 2—紫丁香苷 3—芦丁 4—洋蓟素 5—木樨草素
6—牛蒡子苷 7—芹菜素 8—高车前素

参考文献

Qiu J, Xue X, Chen F, et al. . Quality evaluation of snow lotus (*Saussurea*): quantitative chemical analysis and antioxidant activity assessment, *Plant Cell Rep.* 2010, 29 (12): 1325~1337.

四、超高效液相色谱分析葡萄汁及葡萄酒中的谷胱甘肽、儿茶素、咖啡酸

谷胱甘肽 (GSH) 是一种重要的抗氧化剂, 酒水中谷胱甘肽可通过减少酚氧化而降低酒水的褐变反应, 对白酒成色有积极作用, 使陈酿过程中颜色更稳定; GSH 可以竞争性地抑制对苯醌与硫醇的反应, 从而保持了酒中硫醇芳香族物质的较高含量; GSH 还可以保持其他芳香化合物, 例如乙酸异戊酯、己酸乙酯、芳樟醇。这些芳香剂在有酚类物质 (尤其是咖啡酸) 存在时更活跃。而儿茶素、咖啡酸等多羟基酚类化合物, 可生成半醌自由基, 后者具有抗氧化作用, 能保持酒的抗氧化特性。其中咖啡酸是葡萄中含量最丰富的羟基苯乙烯物质, 是酵母发酵的代谢产物; 儿茶酸为葡萄中基本的单体成分, 其含量与葡萄压榨技术密切相关。

(一) 原理

样品中目标物用对苯醌衍生处理后, 经超高效液相色谱紫外检测法测定。外标法定量, 谷胱甘肽、儿茶素、咖啡酸的检出限分别为 0.017, 0.014, 0.0026mg/L。

(二) 仪器与试剂

1. 仪器

- (1) 超高效液相色谱 (配有二级阵列管检测器);
- (2) 液体混匀器;
- (3) 离心机。

2. 试剂

所用水均为去离子水或同等蒸馏水; 所用试剂不加说明均为分析纯试剂。

- (1) 甲醇 (色谱纯);
- (2) 三氟乙酸 (色谱纯);
- (3) 对苯醌;
- (4) 3-巯基丙酸;
- (5) 乙醛;