

高效液相色谱法测定叶黄素软胶囊中主含量

贺秋璟¹ 张焱²

(1.湖南省分析测试中心,湖南长沙 410004;2.湖南神舟科技股份有限公司,湖南长沙 410004)

摘要 文章采用高效液相色谱法(HPLC)测定叶黄素软胶囊中叶黄素的含量。色谱柱为 Ultimate AQ-C18(4.6×250 mm; 5 μm),流动相为乙腈-甲醇(95:5),流速为 0.8 ml/min,用紫外检测器检测波长为 446 nm,柱温为 25 °C。结果为:叶黄素在 2.58-10.21 μg/ml 范围内线性良好,检测限为 0.01 μg/ml,相关系数为 r=0.9997,平均回收率为 90.3%,RSD 为 1.47%。此方法快速,且操作简单、准确,可用作叶黄素含量的测定。

关键词 叶黄素;含量测定;高效液相色谱

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1006-8937(2011)03-0035-02

Determining the main content of the lutein soft capsule with high performance liquid chromatography

HE Qiu-jing¹ ZHANG Yan²

(1.Hunan Analysis and Testing Center,Changsha,Hunan 410004,China;

2.Hunan Shenzhou Science&Technology Co.,Ltd.,Changsha,Hunan 410004,China)

Abstract: This paper determines the content of lutein in lutein soft capsule with high performance liquid chromatography (HPLC in short). The chromatographic column is Ultimate AQ-C18(4.6×250 mm 5 μm), the mobile phase is acetonitrile-methylate(95:5), the flow speed is 0.8 ml/min, the wavelength detected by UV-detector is 446 nm, and the column temperature is 25 °C. The result is the linearity of lutein is good within the area of 2.58~10.21 μg/ml, the detect limits is 0.01 μg/ml, the correlation coefficient is r=0.9997, the average recovery rate is 90.3%, RSD is 1.47%. This method is very quick, easy to operate and correct, which can be used for determining the content of lutein.

Keywords: lutein; content determination; high performance liquid chromatography

叶黄素(phytoanthin)又名“植物黄体素”,为棱格状黄色晶体,易溶于乙醇、丙酮,不溶于水。有金属光泽,对光和氢不稳定,需贮存于阴凉干燥处,避光密封。是一种广泛存在于蔬菜、花卉、水果与某些藻类生物中的天然色素,属于类胡萝卜素族物质,在西兰花、羽衣甘蓝、菠菜等深绿色叶菜以及金盏花、万寿菊等花卉中含量最高。医学实验证明植物中所含的天然叶黄素是一种性能优异的抗氧化剂,在食品中加入一定量的叶黄素可预防细胞衰老和机体器官衰老,对于眼睛具有抑制视网膜氧化、清除眼睛自由基、过滤危害眼睛的蓝光、吸收电视的屏幕辐射、维持眼睛正常运转的作用,通过一系列的医学研究,类胡萝卜素已被建议用作癌症预防剂、生命延长剂、溃疡抵制剂、心脏病发作与冠状动脉疾病的抵制剂。同时,叶黄素还可作为饲料添加剂用于家禽肉蛋的着色,同时也已在食品工业中用作着色与营养保健剂。

本文采用高效液相色谱法来测定叶黄素软胶囊中叶黄素的含量,操作简便快速,结果正确、可靠,重现性好。

1 实验

1.1 仪器与试剂

LC-2010AHT 型高效液相色谱仪;紫外检测器,

收稿日期:2010-11-28

作者简介:贺秋璟(1983—)女,江西南昌人,大学本科,助理工程师,主要从事分析测试工作。

Ultimate AQ-C18(4.6×250 mm 5 μm)色谱柱,超声波清洗仪(AS2060B),电子天平(AB204-A),精确度 1×10⁻⁵ g;甲醇、乙腈均为(色谱纯 AR),95%乙醇(分析纯),水为蒸馏水,叶黄素对照品(含量 90.0%)。

1.2 液相色谱条件

色谱柱为 Ultimate AQ-C18(4.6×250 mm 5 μm);流动相:V(乙腈)-V(甲醇)=95:5(流动相经过 0.45 μm 的微孔滤膜过滤和超声波脱气处理);流速 0.8 ml/min,检测波长 446 nm,进样量为 5 μl。在上述条件下测得叶黄素的保留时间约为 12.08 min。

1.3 标准溶液的配制

用电子天平(精确至 0.0001 g)称取 0.0118 g 的叶黄素对照品,用 95%乙醇溶解并定容至 50 ml 容量瓶中,则所配母液浓度为 212.4 mg/ml,待用。

1.4 样品的提取

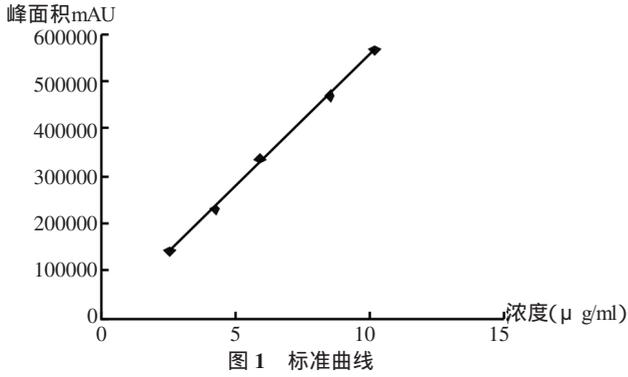
准确称取样品叶黄素软胶囊 13.9 mg 置于 50 ml 烧杯中,再用 95%乙醇洗入 25 ml 容量瓶中,使之溶解并稀释至刻度。过 0.45 μm 滤膜,待仪器稳定后,上液相测定。

2 结果与讨论

2.1 标准曲线的确定

用移液管分别从上述配制好的母液中移取 0.3、0.5、0.7、1.0、1.2 ml 置于 25 ml 容量瓶中,用 95%的乙醇稀释至刻度,摇匀。在上述条件下,进样 5 μl,以峰面积(Y)对溶

度(C)($\mu\text{g/ml}$)作图1得到回归方程为 $y=55\ 623x-2\ 012$, $r=0.9995$,线性范围为 2.58~10.21 $\mu\text{g/ml}$ 。

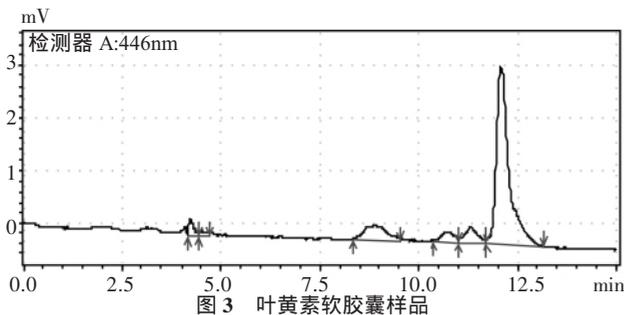
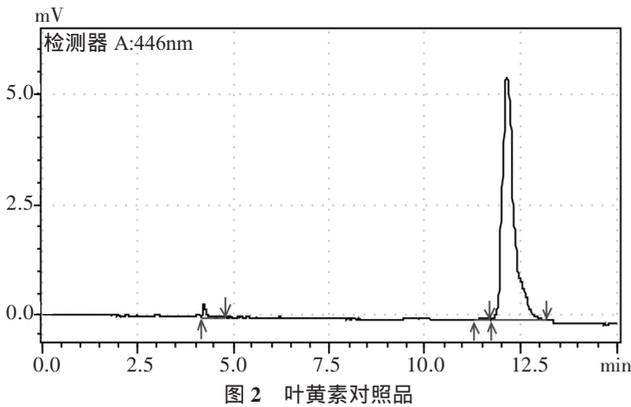


2.2 检测波长的确定

将叶黄素标准溶液在紫外分光光度计进行波长为 200~500 范围的扫描,叶黄素在 446 nm 处有最大吸收,因此,选择 446 nm 作为检测波长。

2.3 色谱条件的选择

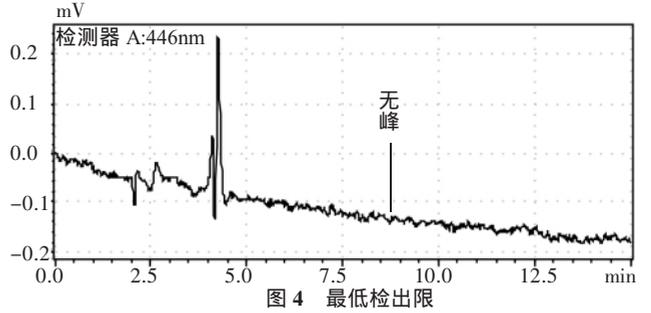
叶黄素在自然界中与玉米黄素共同存在。且叶黄素软胶囊中含有的成分复杂,当选用流动相甲醇和水时,调节流动相的比例与流速,不见峰出来。把水换成乙腈,甲醇与乙腈的体积比为 1:19,作流动相,流速为 0.8 ml/min 时,样品中的玉米黄不干扰测定,分离效果非常好。在上述条件下,叶黄素对照品及软胶囊样品的液相色谱图如图 2、图 3 所示。



2.4 精密度和最低检出限测定

取浓度为 2.55 $\mu\text{g/ml}$ 叶黄素对照品,进样量为 5 μl ,重复进样 4 次,峰面积的 RSD 为 1.03%。

将标准溶液 212.4 mg/ml 稀释成一系列浓度,以基线噪声三倍峰面积对应的叶黄素最低检出限为 0.01 $\mu\text{g/ml}$,见图 4。



2.5 回收率实验

准确称取已知含量的叶黄素软胶囊样品 3 份,分别置于 25 ml 容量瓶中,每份分别加入浓度为 2.12 $\mu\text{g/ml}$ 、5.94 $\mu\text{g/ml}$ 、10.2 $\mu\text{g/ml}$ 的叶黄素对照品 1 ml,加 95% 乙醇稀释至刻度,按样品测定方法进行测定,见表 1。

表1 叶黄素回收率

样品	添加量(μg)	回收率	RSD(%)
叶黄素软胶囊	2.12	89.1	1.47
	5.95	90.3	
	10.20	91.4	

3 结论

本文采用高效液相色谱法,流动相为乙腈-甲醇(95/5, V/V),流速 0.8 ml/min,紫外检测器的检测波长为 446 nm,柱温 25 $^{\circ}\text{C}$ 的色谱条件下,有很好分离效果,且解决了峰的拖尾问题。本实验结果表明,叶黄素在一定浓度范围内呈良好的线性关系,回收率高,重复性好,无杂质干扰,是应用于制备叶黄素产品中控制和测定叶黄素含量、指导生产和控制产品质量的良好方法。

参考文献:

[1] 《全国中草药汇编》编写组.全国中草药汇编(下册)[M].北京:人民卫生出版社,1978.
 [2] 张关顺.HPLC 法测定叶黄素的含量[J].海峡药学,2004,(6).