

## ★ 成分分析 ★

## RP - HPLC 法同时测定枸杞子中 5 个酚酸类成分的含量 \*

谭亮,董琦,肖远灿,胡风祖 \*\*

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810008)

**摘要 目的:**建立 RP - HPLC 法同时测定不同产地、同产地不同种之间、同产地不同野生与人工栽培枸杞子中原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的含量。**方法:**使用快速溶剂萃取仪(ASE 350)用 50% 甲醇水溶液提取出酚酸类成分,采用 Spursil C<sub>18</sub> - EP(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) 色谱柱;流动相为甲醇 - 0.04% 冰乙酸水溶液梯度洗脱,流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,检测波长 280 nm,柱温 30 ℃。**结果:**原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的进样浓度分别在 24.05 ~ 601.2 mg · L<sup>-1</sup>、4.396 ~ 109.9 mg · L<sup>-1</sup>、17.06 ~ 426.6 mg · L<sup>-1</sup>、0.7104 ~ 17.76 mg · L<sup>-1</sup>、1.085 ~ 27.12 mg · L<sup>-1</sup> 范围内与峰面积呈良好的线性 ( $r = 0.9995 \sim 0.9998$ );平均加样回收率( $n = 6$ )分别为 97.4%、97.7%、98.7%、95.5%、96.3%。**结论:**本方法快速、准确,重现性好,适用于枸杞子中 5 个酚酸类成分的含量测定,可为枸杞的质量控制提供依据。

**关键词:**高效液相色谱法;枸杞子;不同产地;同产地不同种;同产地不同野生与栽培;测定酚酸类成分含量;原儿茶醛;儿茶素;表儿茶素;咖啡酸;阿魏酸

中图分类号:R917 文献标识码:A 文章编号:0254 - 1793(2013)03 - 0376 - 07

## Application of RP - HPLC method for simultaneous determination of five phenolic acids components in Lycii Fructus \*

TAN Liang, DONG Qi, XIAO Yuan - can, HU Feng - zu \*\*

(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China)

**Abstract Objective:** To establish a RP - HPLC method for simultaneous determination of protocatechuic aldehyde, catechin, epicatechin, caffeic acid and ferulic acid in Lycii Fructus from different habitats, different species in same habitats, different wild and artificial cultivation in same habitats. **Methods:** The five phenolic acids were extracted using accelerated solvent extraction(ASE 350) with 50% methanol - water. The chromatographic method was carried out on a Spursil C<sub>18</sub> - EP column(250 mm × 4.6 mm, 5 μm) with gradient elution using mobile phase consisting of methanol - 0.04% acetic acid; The flow rate was 1.0 mL · min<sup>-1</sup> with the column temperature at 30 ℃, and the absorbance was monitored at 280 nm. **Results:** The linear response ranges of protocatechuic aldehyde, catechin, epicatechin, caffeic acid and ferulic acid were 24.05 - 601.2 mg · L<sup>-1</sup>, 4.396 - 109.9 mg · L<sup>-1</sup>, 17.06 - 426.6 mg · L<sup>-1</sup>, 0.7104 - 17.76 mg · L<sup>-1</sup>, and 1.085 - 27.12 mg · L<sup>-1</sup> ( $r = 0.9995 - 0.9998$ ), respectively; The average recoveries( $n = 6$ ) were 97.4%, 97.7%, 98.7%, 95.5%, and 96.3%, respectively. **Conclusion:** The established method has adequate accuracy and selectivity, which is suitable for the determination of five phenolic acids components in Lycii Fructus. Moreover, it gives additional evidence for the quality evaluation of *Lycium barbarum* L. **Key words:** HPLC; Lycii Fructus; different habitats; different species in same habitats; different wild and artificial cultivation in same habitats; determination the content of phenolic acid scomponents; protocatechuic aldehyde; catechin; epicatechin; caffeic acid; ferulic acid

枸杞子 Lycii Fructus 为茄科植物宁夏枸杞 *Lycium barbarum* L. 的干燥成熟果实。夏、秋二季果实

\* 中国科学院知识创新工程重要方向项目:高原生物的分子适应机制与资源持续利用(KSCX2 - EW - J - 26)

\*\* 通讯作者 Tel:(0971) 6132750; E - mail:hufz@nwipb.cas.cn

呈红色时采收,热风烘干,除去果梗。或晾至皮皱后,晒干,除去果梗<sup>[1]</sup>。生于沟崖及山坡或灌溉地埂和水渠边等处,野生和栽培均有。主要分布于华北、西北等地,其他地区也有栽培<sup>[2]</sup>。枸杞全身是宝,明李时珍《本草纲目》记载:“春采枸杞叶,名天精草;夏采花,名长生草;秋采子,名枸杞子;冬采根,名地骨皮”。枸杞嫩叶亦称枸杞头,可食用或作枸杞茶。性甘、味平,归肝、肾经。功能主治滋补肝肾,益精明目<sup>[3]</sup>。用于虚劳精亏,腰膝酸痛,眩晕耳鸣,内热消渴,血虚萎黄,目昏不明。现代药理学研究表明:枸杞子有抑菌、抗突变、清除自由基抗氧化、降血糖、降血脂、调节免疫、调节神经系统等作用<sup>[4-8]</sup>。枸杞子之所以具有这些药理活性可能与其中的酚酸类成分有着一定联系,如:原儿茶醛有广谱抗菌抗炎、抗氧化清除自由基等作用<sup>[9]</sup>;儿茶素、表儿茶素具有清除自由基、抗癌、抗炎、抗突变、延缓衰老、降低胆固醇等作用<sup>[10]</sup>;咖啡酸有抗菌抗病毒、凝血、降血脂、中枢兴奋等作用<sup>[11]</sup>;阿魏酸有抗血小板凝集和血栓、清除自由基、抗菌消炎、增加免疫、抗突变等作用<sup>[12]</sup>。所以,这些酚酸类成分可能成为枸杞子生物活性的物质基础之一。

有关枸杞化学成分的研究有多糖、甜菜碱、黄酮、原花青素、 $\beta$ -胡萝卜素、东莨菪内酯、农药残留、枸杞子中脂溶性成分以及中药处方中枸杞子的定性鉴别<sup>[13-20]</sup>等,也有测定枸杞子中总酚酸<sup>[21]</sup>、黑果枸杞果汁中的酚酸类成分<sup>[22]</sup>,而同时测定枸杞子中多种酚酸类成分的文献甚少。本文使用快速溶剂萃取仪(ASE350)用50%甲醇水溶液提取出酚酸类成分,再采用RP-HPLC法同时对枸杞子中多种酚酸类成分进行定量分析,为枸杞的质量控制提供依据。

## 1 仪器及试剂

美国 Agilent 1260 系列高效液相色谱仪,自动进样器,Agilent ChemStation 色谱工作站;ASE 350 快速溶剂萃取仪;AG135 电子天平(METTLER TOLEDO)。

对照品原儿茶醛(批号 0810-200004),儿茶素(批号 110877-200001),表儿茶素(批号 110878-200102),咖啡酸(批号 110885-200102),阿魏酸(批号 0773-9910)均购自中国食品药品检定研究所,标示纯度均 $\geq 98\%$ 。自不同产地收集 21 批枸杞子,经中国科学院西北高原生物研究所分析测试中心胡风祖教授鉴定确认为正品。样品预处理:收集的枸杞子阴干,剪碎,置密封袋中密封保存。甲醇为色谱纯,水为一级超纯水,其余试剂为分析纯。

## 2 色谱条件及系统适用性试验

色谱柱:Spursil C<sub>18</sub>-EP 柱(250mm × 4.6mm, 5  $\mu$ m);流动相:A 相为 0.04% 冰乙酸水溶液,B 相为甲醇,梯度洗脱(0~15 min,B 相维持 25% 的比例不变;15~30 min,B 相从 25% 线性改变至 70%;30~40 min,B 相维持 70% 的比例不变);流速:1.0 mL · min<sup>-1</sup>;检测波长:280 nm;柱温:30  $^{\circ}$ C;进样量:20  $\mu$ L。

在上述色谱条件下取供试品溶液进样分析,理论塔板数按表儿茶素计算不低于 4000。在相同色谱条件下,将样品与各对照品的色谱图进行对照,根据保留时间及紫外吸收光谱图对枸杞子中各酚酸类成分进行定性,各色谱峰的峰形和分离度较好,与相邻色谱峰的分度均大于 1.5,拖尾因子在 0.95~1.05 之间,达到理想的分离效果。可以准确测定其峰面积,并以峰面积进行定量分析,样品及对照品的色谱图见图 1。

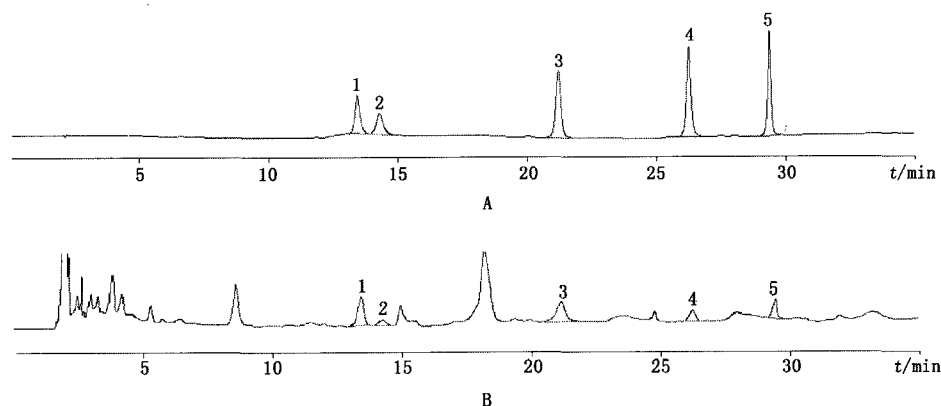


图1 对照品(A)和样品(青海海西州塔湾克里)(B)HPLC图

Fig 1 HPLC chromatograms of reference substances(A)and sample(Tawankeli, Haixi State, Qinghai Province)(B)

1. 原儿茶醛(protocatechuic aldehyde) 2. 儿茶素(catechin) 3. 表儿茶素(epicatechin) 4. 咖啡酸(caffeic acid) 5. 阿魏酸(ferulic acid)

### 3 溶液制备

**3.1 混合对照品溶液** 取对照品原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸适量,精密称定,分别置于 5 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇水溶液使溶解,并稀释至刻度,摇匀,即得对照品储备液(原儿茶醛  $5.010 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、儿茶素  $4.580 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、表儿茶素  $4.740 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、咖啡酸  $4.438 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和阿魏酸  $4.520 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ )。根据样品色谱峰和对照品储备溶液色谱峰峰面积的比较,对部分对照品溶液进行了稀释,最终对照品溶液浓度分别为:原儿茶醛  $5.010 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、儿茶素  $0.4580 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、表儿茶素  $2.370 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、咖啡酸  $0.1110 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  和阿魏酸  $0.2260 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。分别精密移取原儿茶醛储备溶液 3 mL、儿茶素稀释溶液 6 mL、表儿茶素稀释溶液 4.5 mL、咖啡酸稀释溶液 4 mL 和阿魏酸稀释溶液 3 mL,置同一 25 mL 量瓶中,加 50% 甲醇水溶液稀释至刻度,得混合对照品溶液(原儿茶醛  $601.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、儿茶素  $109.9 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、表儿茶素  $426.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、咖啡酸  $17.76 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和阿魏酸

$27.12 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

**3.2 供试品溶液** 使用美国戴安公司 ASE 350 快速溶剂萃取仪提取枸杞子中酚酸类成分。取本品碎粒 1.0 g,精密称定,与硅藻土拌匀后填入仪器配备的 34 mL 不锈钢萃取池中。在  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  条件下用 50% 甲醇水溶液静置提取 15 min,循环提取 1 次。放冷收集瓶,将提取液转移至 25 mL 棕色量瓶中,加 50% 甲醇水溶液稀释至刻度,摇匀。微孔滤膜 ( $0.45 \text{ }\mu\text{m}$ ) 过滤后取续滤液,即得。

### 4 方法学考察

**4.1 线性关系考察** 分别精密移取上述混合对照品溶液 0.2、0.4、1.0、2.0、4.0、5.0 mL,置 5 mL 量瓶中,加 50% 甲醇水溶液稀释至刻度,摇匀,作为系列标准溶液。分别取  $20 \text{ }\mu\text{L}$  按“2”项下色谱条件进行分析,记录色谱图。以对照品浓度  $X (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$  为横坐标,色谱峰面积  $Y$  为纵坐标绘制标准曲线并进行回归计算,各酚酸类成分的回归方程及其线性关系见表 1。结果表明:各酚酸类成分的线性关系良好。

表 1 枸杞子中 5 个酚酸类成分的线性关系、定量限和检测限结果

Tab 1 Linearity, LOQ and LOD of five phenolic acids components in Lycii Fructus

成分 (component)	回归方程 (regression equation)	$r$	线性范围 (linear range)/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	定量限 (limit of quantitation)/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	检测限 (limit of detection)/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde)	$Y = 1.352 \times 10^4 X + 1.681 \times 10^4$	0.9995	24.05 - 601.2	0.86	0.24
儿茶素 (catechin)	$Y = 2.394 \times 10^4 X + 1.489 \times 10^4$	0.9997	4.396 - 109.9	0.25	0.08
表儿茶素 (epicatechin)	$Y = 2.839 \times 10^4 X - 1.525 \times 10^4$	0.9998	17.06 - 426.6	0.54	0.16
咖啡酸 (caffeic acid)	$Y = 1.075 \times 10^4 X - 5.177 \times 10^2$	0.9996	0.7104 - 17.76	0.16	0.04
阿魏酸 (ferulic acid)	$Y = 1.308 \times 10^4 X + 1.908 \times 10^3$	0.9996	1.085 - 27.12	0.12	0.40

**4.2 精密度试验** 取混合对照品溶液(原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的浓度分别为  $120.2$ 、 $21.98$ 、 $85.32$ 、 $3.552$ 、 $5.424 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )，按“2”项下色谱条件连续进样 6 次,记录各色谱峰面积值,结果测得原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸峰面积的 RSD 分别为 1.6%、1.2%、1.6%、2.0%、2.2%。

**4.3 重复性试验** 精密称取同一样品(青海海西州塔湾克里),按“3.2”项下方法平行制备 6 份供试品溶液,并按“2”项下色谱条件进行测定。计算原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的平均含量分别为  $5.194$ 、 $0.488$ 、 $8.515$ 、 $0.038$ 、 $0.083 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,RSD 分别为 2.3%、2.6%、2.0%、2.8%、2.2%。

**4.4 稳定性试验** 取青海海西州塔湾克里枸杞供试品溶液,室温放置,分别在 0、0.5、1、2、3、4、6、8 h 时取  $20 \text{ }\mu\text{L}$ ,按“2”项下色谱条件进行测定。记录各色谱峰面积值,结果峰面积的 RSD 分别为 2.2%、2.5%、2.1%、2.0%、2.3%。表明供试品溶液在 8 h 内稳定性良好。

**4.5 加样回收率试验** 采用加样回收法,称取已知含量的枸杞子样品(青海海西州塔湾克里)粉末 6 份,每份 0.5 g,精密称定,分别精密加入混合对照品溶液(原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的浓度分别为  $105.3$ 、 $9.54$ 、 $172.9$ 、 $0.7481$ 、 $1.678 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )适量(所取对照品的含量与所取供试品中各酚酸类成分含量相当)。按“3.2”项下方法制备供试溶液,并按“2”项下色谱条件进行回收率测定。

结果原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的平均加样回收率及 RSD 分别为 97.4% (RSD = 2.3%)、97.7% (RSD = 3.0%)、98.7% (RSD = 3.0%)、95.5% (RSD = 2.8%)、96.3% (RSD = 2.1%)。

**4.6 定量限和检测限** 取已知同时含有 5 个酚酸且含量较低的供试品溶液(青海格尔木大格勒枸杞子),用该样品测出的信号与空白样品测出的平均信号(做空白试验 5 次,取信号均值)进行比较,不

断稀释供试品溶液后进样,直到信噪比(S/N)为 10 时的相应浓度作为定量限(LOQ),信噪比(S/N)为 3 时的相应浓度作为检测限(LOD)。结果见表 1。

**5 样品的含量测定**

取所收集的不同产地的枸杞子,按“3.2”项下方法制备供试品溶液。按“2”项下色谱条件进样测定,采用标准曲线法计算样品中原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的含量,结果见表 2~4。

表 2 不同产地人工栽培枸杞子的测定结果(mg · g<sup>-1</sup>)

Tab 2 Content of artificial cultivation of Lycii Fructus in different habitats

产地 (habitat)	原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde)	儿茶素 (catechin)	表儿茶素 (epicatechin)	咖啡酸 (caffeic acid)	阿魏酸 (ferulic acid)
青海共和县塔拉镇 (Tala, Gonghe, Qinghai)	2.666	—	2.854	0.019	0.026
青海德令哈尕斯海镇 (Gahai, Delingha, Qinghai)	15.260	0.476	9.582	—	0.062
青海都兰县诺木洪 (Nuomuhong, Dulan, Qinghai)	1.812	—	1.522	—	—
青海海西州塔湾克里 (Tawankeli, Haixi, Qinghai)	5.194	0.488	8.515	0.038	0.083
青海格尔木大格勒 (Dagele, Geemu, Qinghai)	2.376	0.223	3.506	0.079	0.025
内蒙古 (Inner Mongolia)	3.072	0.237	5.827	0.111	0.050
甘肃 (Gansu)	2.524	0.339	4.788	0.085	0.040
新疆 (Xinjiang)	1.921	—	3.608	0.179	0.045
宁夏固原 (Guyuan, Ningxia)	2.761	0.291	5.270	0.199	0.032
宁夏中宁 (Zhongning, Ningxia)	2.181	0.263	6.167	0.047	0.066

注(note): “—”表示未检出(“—” indicates not detected)

表 3 同产地枸杞子不同种之间的测定结果(mg · g<sup>-1</sup>)

Tab 3 Content of different species of same genus Lycii Fructus in same habitats

产地 (habitat)	种 (species)	原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde)	儿茶素 (catechin)	表儿茶素 (epicatechin)	咖啡酸 (caffeic acid)	阿魏酸 (ferulic acid)
青海德令哈 尕斯海镇 (Gahai, Delingha, Qinghai)	红果(野生) [ <i>Lycium barbarum</i> L. (wild)]	3.264	0.368	6.198	0.040	0.030
	黄果(野生) [ <i>Lycium barbarum</i> L. var. <i>auranticarpum</i> K. F. Ching var. nov. (wild)]	2.950	0.292	2.084	0.020	0.062
	黑果(野生) [ <i>Lycium ruthenicum</i> Murr. (wild)]	0.648	0.630	0.440	—	0.036
青海共和县 塔拉 (Tala, Gonghe, Qinghai)	红果(种植) [ <i>Lycium barbarum</i> L. (cultivation)]	2.666	—	2.854	0.019	0.026
	黄果(种植) [ <i>Lycium barbarum</i> L. var. <i>auranticarpum</i> K. F. Ching var. nov. (cultivation)]	4.385	0.252	5.830	0.056	0.056
	黑果(种植) [ <i>Lycium ruthenicum</i> Murr. (cultivation)]	4.131	0.256	4.910	0.178	0.051

注(note): “—”表示未检出(“—” indicates not detected)

表 4 同产地中不同野生和人工栽培枸杞子的测定结果 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )Tab 4 Content of different wild and artificial cultivation of same genus *Lycii Fructus* in same habitats

产地 (habitat)	野生/人工栽培 (wild/artificial cultivation)	原儿茶醛 (protocatechuic aldehyde)	儿茶素 (catechin)	表儿茶素 (epicatechin)	咖啡酸 (caffeic acid)	阿魏酸 (ferulic acid)	
青海德令哈 尕斯海镇 (Gahai, Delingha, Qinghai)	红果(野生) [ <i>Lycium barbarum</i> L. (wild)]	3.264	0.368	6.198	0.040	0.030	
	黄果(野生) [ <i>Lycium barbarum</i> L. var. <i>auranticarpum</i> K. F. Ching var. nov. (wild)]	2.950	0.292	2.084	0.020	0.062	
	黑果(野生) [ <i>Lycium ruthenicum</i> Murr. (wild)]	0.648	0.630	0.440	—	0.036	
	柴杞 1 号(栽培) [Chaiqi, No. 1 (cultivation)]	4.042	—	3.982	—	0.030	
	柴杞 2 号(栽培) [Chaiqi, No. 2 (cultivation)]	15.264	0.476	9.582	—	0.062	
	柴杞 3 号(栽培) [Chaiqi, No. 3 (cultivation)]	3.646	—	5.134	—	0.036	
	青海都兰县 诺木洪 (Nuomuhong, Dulan, Qinghai)	诺木洪路北村 2(野生) [Lubei village 2, Nuomuhong (wild)]	0.618	—	1.158	0.358	—
		诺木洪路北村 3(野生) [Lubei village 3, Nuomuhong (wild)]	1.754	—	1.352	0.398	0.040
		宁杞 1 号(栽培) [Ningqi, No. 1 (cultivation)]	1.812	—	1.522	—	—
	宁杞 2 号(栽培) [Ningqi, No. 2 (cultivation)]	0.820	—	1.280	0.170	—	

注 (note): “—” 表示未检出 (“—” indicates not detected)

## 6 讨论

**6.1 在线净化**——可以简化或免去后续的净化过程 ASE 是多组分高效萃取技术, 在萃取过程中一些干扰物质有时会被一起萃取出来, 这些共萃取物可能会干扰分析或损害分析仪器。在供试品溶液制备中若直接加 50% 甲醇水溶液提取, 经 HPLC 分析发现色谱峰很多, 枸杞子中的脂类物质对部分酚酸类化合物成分造成一定干扰, 无法分离, 且脂溶性成分会附着在专用的色谱柱中, 对色谱柱造成一定的损害。故在用 50% 甲醇水溶液提取前先加除脂溶剂石油醚, 以除去大部分的脂溶性成分, 减免干扰峰的出现, 使各酚酸类成分与其他杂质峰分离度均大于 1.5。

**6.2 ASE 提取条件的选择** (1) 提取溶剂: 考察了乙醇, 40%、50%、60% 甲醇水溶液; (2) 提取温度: 考察了 40、50、60、70 °C; (3) 提取静置时间: 考察了 5、10、15、20、30 min; (4) 提取循环次数: 考察了 1、2、3、4 次。结果表明在 60 °C 下用 50% 甲醇水溶液静置提取 15 min, 循环提取 1 次时提取效率最高。

**6.3 色谱条件的选择** (1) 在对流动相等条件考察时发现, 等度洗脱分析时间较长, 且极性相近的成分较多, 对测定组分有一定的干扰, 故选用梯度洗脱。不仅达到物质色谱峰的分度要求, 而且大大减短了出峰时间; (2) 对不同的流动相乙腈-水、甲醇-水和甲醇-0.04% 冰乙酸水溶液洗脱体系进行了考察, 经分析可知甲醇-0.04% 冰乙酸水溶液洗脱体系可达到分度要求。加入一定量的冰乙酸抑制了酸的解离, 使色谱峰形较佳, 故选用甲醇-0.04% 冰乙酸水溶液。 (3) 在 190~400 nm 波长范围内进行紫外扫描。通过对色谱图的分析, 结果各酚酸类成分在 280 nm 附近出峰多, 面积大, 且各色谱峰分度良好, 故选 280 nm 作为检测波长。

**6.4 结果分析** 由实验测定结果可知: (1) 所有样品中 5 个酚酸平均含量大体上依次为表儿茶素 > 原儿茶醛 > 儿茶素 > 咖啡酸 > 阿魏酸, 但也有特例; (2) 不同产地样品中总酚酸含量大体上依次为部分青海样品 > 内蒙古 > 宁夏 > 甘肃 > 新疆, 但也有部分青海产地枸杞子中总酚酸含量较低; (3) 同产地

样品不同种之间总酚酸含量有所差异:野生枸杞子依次为红果枸杞子 > 黄果枸杞子 > 黑果枸杞子,而种植枸杞子依次为黄果枸杞子 > 黑果枸杞子 > 红果枸杞子;(4)同产地不同野生和人工栽培样品中总酚酸含量不一:青海德令哈尕斯海镇样品总酚酸含量人工栽培 > 野生,具有显著性差异;青海都兰县诺木洪样品总酚酸含量人工栽培与野生枸杞子相当,无显著性差异。

**6.5 小结** 有文献报道<sup>[22]</sup>“固相萃取快速测定黑果枸杞果汁中酚酸类化合物”,该文章测定的是黑果枸杞 *Lycium ruthenicum* Murr. 果汁中 6 个酚酸类成分没食子酸、原儿茶素、儿茶素、绿原酸、咖啡酸和丁香酸的含量,包括本文中的酚酸类成分儿茶素和咖啡酸,但其他成分不同。本文使用快速溶剂萃取仪(ASE 350)用 50% 甲醇水溶液提取出枸杞子中酚酸类成分原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸,并采用 RP-HPLC 法对其进行了含量测定,扩充了枸杞子中其他酚酸类成分。结果原儿茶醛、儿茶素、表儿茶素、咖啡酸和阿魏酸的浓度分别在 24.05 ~ 601.2 mg · L<sup>-1</sup>、4.396 ~ 109.9 mg · L<sup>-1</sup>、17.06 ~ 426.6 mg · L<sup>-1</sup>、0.7104 ~ 17.76 mg · L<sup>-1</sup>、1.085 ~ 27.12 mg · L<sup>-1</sup> 范围内与峰面积呈良好的线性关系;平均加样回收率(n = 6)分别为 97.4%、97.7%、98.7%、95.5%、96.3%。本方法快速、准确,重现性好,适用于枸杞子中 5 个酚酸类成分的含量测定,可为枸杞的质量控制提供依据。

**参考文献**

- 1 ChP(中国药典). 2010. Vol I (一部):232
- 2 Materia medica Medicinal Plants Committee(《中华本草》编委会). Materia medica Medicinal Plants(中华本草). Shanghai(上海): Shanghai Science and Technology Publishers(上海科学技术出版社),1999. 19,268
- 3 QIAN Yan-cong(钱彦丛),YU Wen-ping(宇文萍). New Progression of Chemical Component and Pharmacological Studies of *Lycium barbarum* L. (枸杞子的化学成分及药理研究新进展). *Acta Chin Med Pharm*(中医学报),2000(4):33
- 4 JIN Zhi-cui(金治萃),JIA Yan-bin(贾彦彬),WANG Lu-yi(王陆一), et al. The experimental study of inhibitory effect on bacteria of Chinese wolfberry seed infusum(中药枸杞子浸出液抑菌作用的实验研究). *Inner Mongolia Med J*(内蒙古医学杂志),1995, 15(4):203
- 5 ZHANG Tao(张涛),ZHENG Gang(郑刚). Study on antimutagenesis of aqueous extract of *Lycium barbarum* L. (枸杞子水提物抗诱变作用的研究). *J Improv Birth Outcome Child Dev China*(中国优生优育),1997,8(2):74

- 6 WANG De-shan(王德山),XIAO Yu-fang(肖玉芳),DONG Zhao-hui(董朝晖), et al. Study on the toxic of Fructus Lycii on dose-effect relationship of anti-experimental hyperlipemia and hepatic lipid(枸杞抗实验性高血脂肝脂量效关系及毒性研究). *Liaoning J Tradit Chin Med*(辽宁中医杂志),1997,24(12):567
- 7 YANG Xin-bo(杨新波),HUANG Zheng-ming(黄正明),CAO Wen-bin(曹文斌), et al. Effects of *Lycium barbarum* L. polysaccharide(LBP) on blood glucose in normal and diabetic mice(枸杞多糖对正常小白鼠及四氧嘧啶致高血糖小鼠血糖的影响). *Pharm J Chin PLA*(解放军药学报),1998,14(1):11
- 8 YAN Xiu-ying(闫秀英),XU Zhi-hua(许志华),HAN Li-sha(韩丽莎), et al. The Inhibitory effect of Fructus Lycii on carbon tetrachloride-caused peroxidation action of lipid in rats(枸杞子对四氯化碳致大鼠肝脂类过氧化作用的抑制). *J Baotou Med Coll*(包头医学院学报),1998,14(1):7
- 9 LIU Mei(刘梅),XIA Xin-hua(夏鑫华),ZHANG Zhi-min(张志敏), et al. Research on comparison of antioxidant activity of Danshensu, protocatechuic aldehyde, caffeic acid and salvianolic acid B in vitro(丹参素、原儿茶醛、咖啡酸和丹酚酸 B 体外抗氧化活性比较研究). *J Chin Med Mater*(中药材),2009,32(2):265
- 10 LIU Chao(刘超),CHEN Ruo-yun(陈若芸). Advance of chemistry and bioactivities of catechin and its analogues(儿茶素及其类似物的化学和生物活性研究进展). *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志),2004,29(10):1017
- 11 GE Bing(葛冰),LU Xiang-yang(卢向阳),YI Ke(易克), et al. The active constituent and pharmaceutical action of Flos Lonicerae and its application(金银花活性成分、药理作用及其应用). *Chin Wild Plant Res*(中国野生植物资源),2004,23(5):13
- 12 HU Yi-yong(胡益勇),XU Xiao-yu(徐晓玉). Progress of chemical and pharmacological studies on ferulic acid(阿魏酸的化学和药理研究进展). *Chin Tradit Pat Med*(中成药),2006,28(2):253
- 13 LIU Wan-cang(刘万仓),SUN Lei(孙磊),QIAO Shan-yi(乔善义), et al. Content determination of polysaccharides in *Lycium barbarum* L. from different areas(不同产地枸杞药材中多糖的含量测定). *J Int Pharm Res*(国际药学研究杂志),2011,38(3):229
- 14 ZHANG Zi-ping(张自萍),GUO Rong(郭荣),LIAO Guo-ling(廖国玲), et al. Comparative study on methods for determination of betaine from *Lycium barbarum* L. (枸杞甜菜碱含量测定方法的比较研究). *Acta Agric Boreal-Occident Sin*(西北农业学报),2007, 16(6):292
- 15 ZHANG Lu-yan(张芦燕),HE Kai(贺凯),MA Ling(马玲), et al. HPLC determination of rutin in *Lycium barbarum* leaves(HPLC法测定枸杞叶中芦丁的含量). *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志),2009,29(5):858
- 16 CHEN Chen(陈晨),WEN Huai-xiu(文怀秀),ZHAO Xiao-hui(赵晓辉), et al. Determination of oligomeric proanthocyanidins in *Lycium ruthenicum* Murr. pigment(黑果枸杞色素中原花青素含量测定). *Chin J Spectrosc Lab*(光谱实验室),2011,28(4):1767
- 17 BAO Hui-mei(鲍会梅). Beta-carotene content analysis in *Lycium barbarum* L. (枸杞中β-胡萝卜素含量及影响因素的分析). *Food Ferm Technol*(食品与发酵科技),2008,44(2):63

- ELSD and pressurized liquid extraction. *J Sep Sci*, 2006, 29 (14):2190.
- 17 Park Man - ki, Park Jeong - hill, Han Sang - beom, *et al.* High - performance liquid chromatographic analysis of ginseng saponins using evaporative light scattering detection. *J Chromatogr A*, 1996, 736 (1 - 2):77
- 18 Bao Hai - ying, Zhang Jing, Yeo Soo - jeong, *et al.* Memory enhancing and neuroprotective effects of selected ginsenosides. *Arch Pharm Res*, 2005, 28(3):335
- 19 TAO Hou - quan (陶厚权), YAO Ming (姚明), ZOU Shou - chun (邹寿椿), *et al.* Effect of angiogenesis inhibitor Rg<sub>3</sub> on the growth and metastasis of gastric cancer in SCID mice (血管生成抑制剂 Rg<sub>3</sub>对胃癌生长和转移抑制作用的实验研究). *Chin J Surg* (中华外科杂志), 2002, 40(8):606
- 20 Rhim Hye - whon, Kim Hyeno, Lee Dong - yoon, *et al.* Ginseng and ginsenoside Rg<sub>3</sub>, a newly identified active ingredient of ginseng, modulate Ca<sup>2+</sup> channel currents in rat sensory neurons. *Eur J Pharmacol*, 2002, 436(3):151
- 21 Joo Seong - soo, Won Tae - joon, Kim Min - soo, *et al.* Hematopoietic effect of ginsenoside Rg<sub>3</sub> in ICR mouse primary cultures and its application to a biological response modifier. *Fitoterapia*, 2004, 75 (3 - 4):337
- 22 Patrick YK - yue, Daisy YL - wong, Wu PY, *et al.* The angiosuppressive effects of 20(R) - ginsenoside Rg<sub>3</sub>. *Biochem Pharmacol*, 2006, 72(4):437

(本文于2012年3月28日收到)

(上接第381页)

- 18 YI Zhi - biao (易智彪), ZENG Bao (曾宝), LAI Xiao - ping (赖小平). Determination of scopoletin in *Lycium barbarum* L. by HPLC (HPLC法测定枸杞中的东莨菪内酯含量). *Asia - Pac Tradit Med* (亚太传统医药), 2010, 6(4):13
- 19 ZHAO Jie (赵洁), HE Qiang (何强), KONG Xiang - hong (孔祥虹), *et al.* Determination of carbendazim in Fructus Lycii by solid phase extraction coupled with ion exchange chromatography (固相萃取 - 离子交换色谱法检测枸杞子中多菌灵残留量). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2008, 28(1):128
- 20 WU Mei - han (吴玫涵), MA Jian - wen (马剑文), LIU Yu - bo (刘玉波), *et al.* Analysis of fat - soluble components of Gouqizi by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) (枸杞子药材脂溶性成分的气相色谱/质谱分析). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(6):384
- 21 WANG Xiao - yu (王晓宇), CHEN Hong - ping (陈鸿平), YIN Ling (银玲), *et al.* Determination of total phenolic acid in the fruits of *Lycium barbarum* L. by Folin - Ciocalteu colorimetric method (Folin - Ciocalteu比色法测定枸杞子中总酚酸的含量). *Asia - Pac Tradit Med* (亚太传统医药), 2012, 8(1):45
- 22 CHEN Chen (陈晨), WEN Huai - xiu (文怀秀), ZHAO Xiao - hui (赵晓辉), *et al.* Fast determination of phenolic acids in *Lycium ruthenicum* Murr. juice by solid phase extraction and HPLC (固相萃取快速测定黑果枸杞果汁中酚酸类化合物). *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2011, 36(7):896
- 23 LIU Zhi - hui (刘志辉), CHEN Wu (陈武), JIA Yuan (贾媛). Qualitative and quantitative study of Wubie granules (乌鳖颗粒定性定量方法研究). *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2011, 31(9):1646

(本文于2012年6月27日收到)