

高效液相色谱法测定中国劲酒中桂皮醛的含量

梁国华*

(广西北海食品药品检验所, 北海 536000)

摘要: **目的** 建立采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定中国劲酒中桂皮醛含量的方法。**方法** 样品以 10%甲醇为提取剂, 超声提取 30 min, 以乙腈-水(35:65, V:V)为流动相, 流速为 1.0 mL/min, 采用 Shimadzu VP-ODS 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)分离, 在 290 nm 检测波长下经 HPLC 检测, 同时对流动相比率和提取剂等条件进行优化。**结果** 桂皮醛浓度在 0.0216~0.216 μg/mL 范围内呈良好的线性关系, 相关系数为 0.99998, 平均回收率为 98.1%, 相对标准偏差为 1.63%, 方法检出限为 0.1 μg/mL。**结论** 本方法操作简便、结果准确且重现性好, 可用于中国劲酒中桂皮醛含量的测定。

关键词: 中国劲酒; 桂皮醛; 高效液相色谱法

Determination of cinnamaldehyde in Chinese Jing Wine by high performance liquid chromatography

LIANG Guo-Hua*

(Guangxi Beihai Institute for food and Drug Control, Beihai 536000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of cinnamaldehyde in Chinese Jing Wine by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Samples were extracted with 10% methanol by ultrasonic for 30 min, and separated by a Shimadzu VP-ODS column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) with acetonitrile-water (35:65, V:V) as mobile phase at the flow rate of 1.0 mL/min. Then the samples were detected by HPLC at the detection wavelength of 290 nm. Meanwhile, the mobile phase ratio and extractant were optimized. **Results** The cinnamaldehyde had a good linearity relationship at the range of 0.0216~0.216 μg/mL, and the correlation coefficient was 0.99998. The average recovery was 98.1%, the relative standard deviation was 1.63%, and the detection limit was 0.1 μg/mL. **Conclusion** The method is rapid, accurate and reproducible, which can be used for the determination of cinnamaldehyde in Chinese Jing Wine.

KEY WORDS: Chinese Jing Wine; cinnamaldehyde; high performance liquid chromatography

1 引言

中国劲酒由优质白酒、水及肉桂等酿造而成, 具有抗疲劳和免疫调节的保健作用。肉桂是《中国药典》中樟科植物肉桂的干燥树皮^[1]。肉桂的主要活性成分为桂皮醛。桂皮醛是一种醛类有机化合物, 为黄色黏稠状液体, 大量

存在于肉桂等植物体内, 具有解热镇痛、降血压、抗炎及抗肿瘤等作用^[2]。桂皮醛的测定方法主要为高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC), 但目前中国劲酒中桂皮醛的测定尚无国家标准和规范。本研究采用高效液相色谱法测定中国劲酒中桂皮醛的含量, 并对桂皮醛的提取条件及色谱条件进行优化, 以期为中国劲酒中

*通讯作者: 梁国华, 副主任药师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: lgh1280@sina.com

*Corresponding author: LIANG Guo-Hua, Associate Chief Pharmacist, Guangxi Beihai Institute for Food and Drug Control, Beihai 536000, China. E-mail: lgh1280@sina.com

桂皮醛含量的测定提供参考。

2 材料与方法

2.1 仪器

LC-2010AHT 高效液相色谱仪(配备在线脱气机、四元泵、自动进样器、柱温箱和 VWD 检测器, 日本岛津公司); XA205DU 电子天平(上海梅特勒-托利多仪器有限公司)。

2.2 试剂

桂皮醛对照品, 批号为 111710-200513, 购于中国食品药品检定研究院。中国劲酒(劲牌有限公司)为市售品, 甲醇和乙腈(色谱纯, 赛默飞世尔科技中国有限公司), 水为去离子水。

2.3 实验方法

2.3.1 色谱条件

色谱柱: Shimadzu VP-ODS(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂; 流动相: 乙腈-水(35:65, V:V); 检测波长: 290 nm。柱温: 35 °C; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL; 理论塔板数按桂皮醛峰计算应不低于 3000。

2.3.2 对照品溶液的制备

精密称取桂皮醛对照品 10.80 mg, 置于 50 mL 容量瓶中, 用甲醇溶解、定容、摇匀; 再精密量取上述溶液 1 mL 置于 100 mL 容量瓶中, 用 35% 甲醇溶解、定容、摇匀, 作为对照品(其浓度为 2.16 μg/mL)。

2.3.3 供试品溶液的制备

精密称取供试品 1 g 置于 10 mL 容量瓶中, 用 10% 甲醇溶解、定容, 涡旋混匀 30 s, 经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,

取续滤液待测。

2.3.4 空白对照溶液的制备

按中国劲酒的配料表比例, 自制不含肉桂的空白处方, 按其工艺制成空白制剂, 按“2.3.3”中所述, 制成空白对照溶液。

3 结果与分析

3.1 高效液相色谱流动相的选择

本实验参考不同文献^[3-22], 分别采用不同比例的乙腈-水溶液、乙腈-0.085%磷酸溶液和甲醇-水溶液作为流动相进行实验。结果发现, 桂皮醛在乙腈-水溶液(35:65, V:V)和乙腈-0.085%磷酸溶液(25:75, V:V)中均能达到理想分离效果。然而, 在用乙腈-水溶液作为流动相时, 样品图谱的基线较平稳、分离效果较好, 且样品测定时间为 20 min 左右, 相对较短。因此, 本实验选择乙腈-水溶液(35:65, V:V)作为流动相。

3.2 样品提取溶剂浓度的选择

本实验选用 35%、25%、20%、15% 和 10% 的 5 种浓度的甲醇作为提取溶剂进行考察, 结果表明, 选用 10% 甲醇溶液提取的样品杂质较少、目标成分转移率高, 适用于实验样品的提取。

3.3 方法学考察

3.3.1 专属性实验

取对照品溶液、供试品溶液及阴性供试品溶液进样。结果表明, 阴性供试品溶液在桂皮醛峰位置处无相应峰出现, 见图 1~图 3。

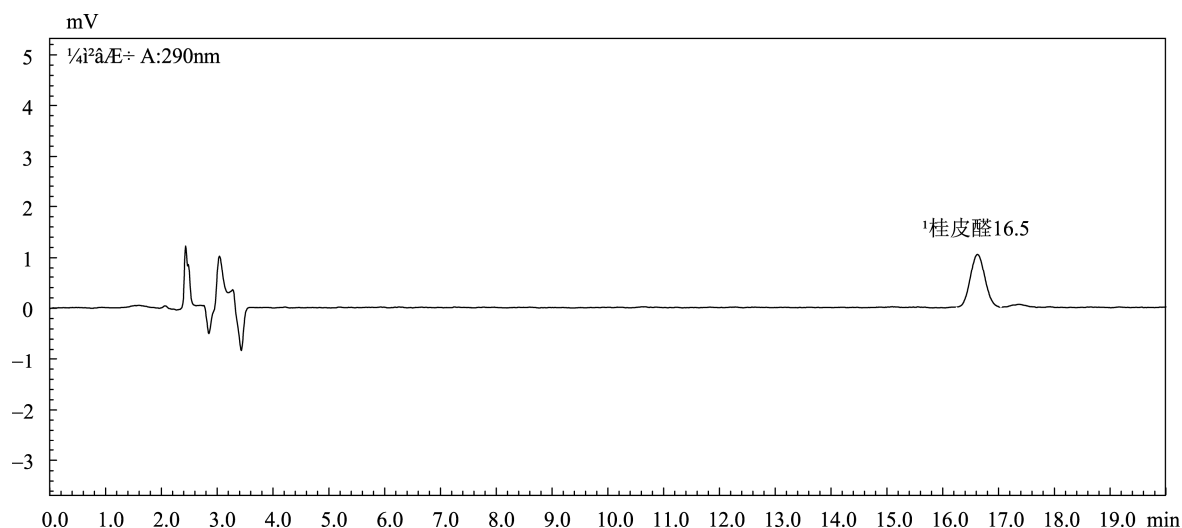


图 1 对照品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of reference substance

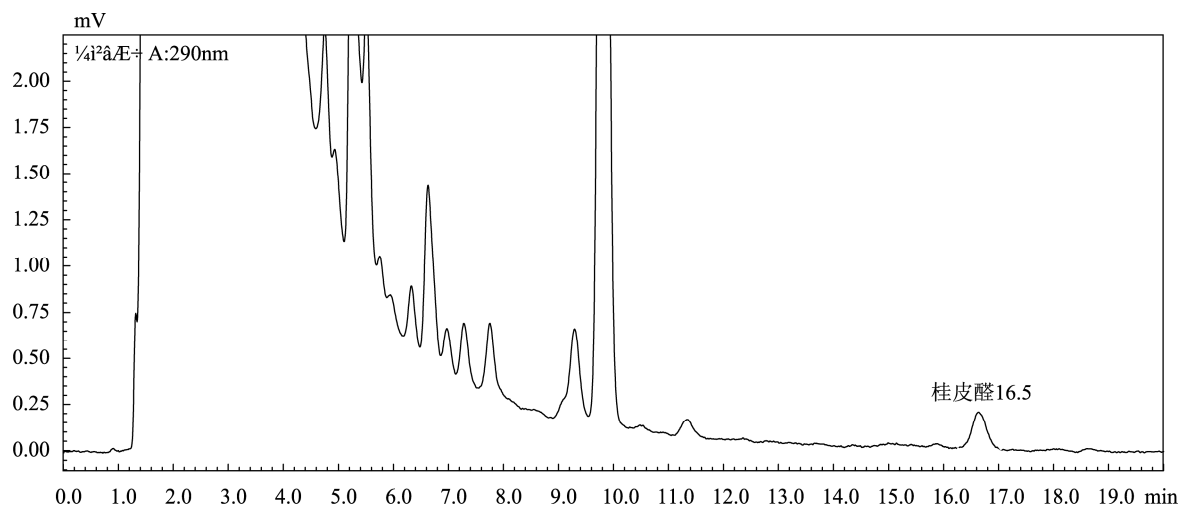


图 2 供试品色谱图

Fig. 2 Chromatogram of sample

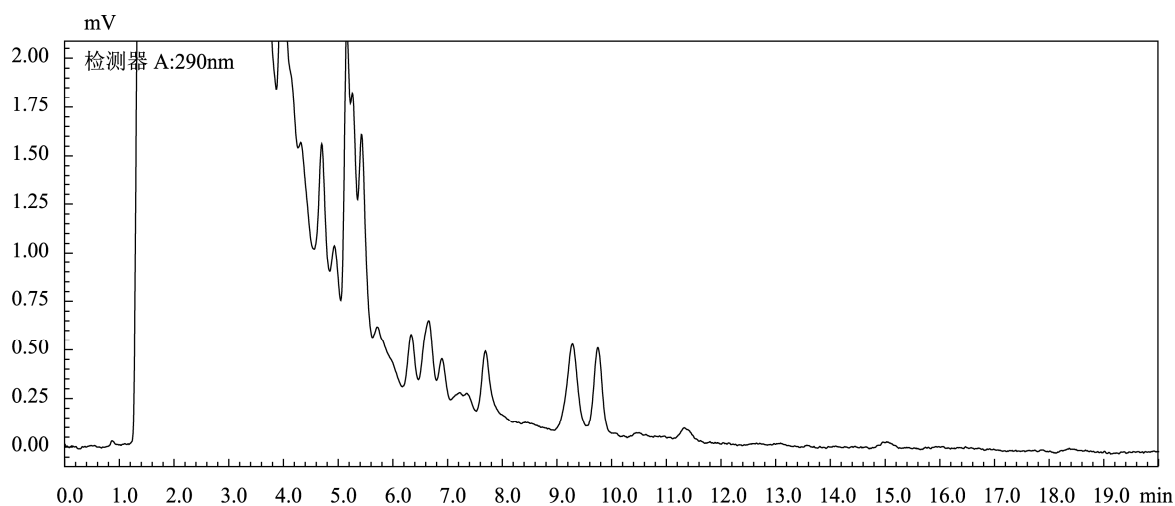


图 3 阴性供试品色谱图

Fig. 3 Chromatogram of negative sample

3.3.2 线性范围、方法检出限

精密吸取桂皮醛对照品溶液(2.16 $\mu\text{g}/\text{mL}$)0.1、0.3、0.5、0.7 和 1.0 mL 分别置于 10 mL 容量瓶中,用 10%甲醇溶解并定容,涡旋混匀 30 s,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,取滤液按“2.3.1”中所述的色谱条件进行测定,并记录峰面积。以对照品进样浓度 $X(\mu\text{g}/\text{mL})$ 为横坐标,峰面积平均值 $Y(A)$ 为纵坐标得回归方程。结果表明,桂皮醛在 0.0216~0.216 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内线性关系良好,线性方程为: $Y=84111.16803X+59.73361(r=0.99998)$ 。在空白样品中加入适量桂皮醛对照液,并按“2.3.3”所述方法进行前处理,按“2.3.1”所述仪器条件进行检测,以 3 倍信噪比计算,得检出限为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3.3.3 精密度实验

精密吸取桂皮醛对照品溶液 10 μL ,重复进样 6 次,分别测其峰面积,结果表明,桂皮醛含量的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.528%。

3.3.4 稳定性实验

取同一批供试品溶液,按“2.3.1”中所述的色谱条件分别在供试品溶液制备后的 0、4、8、12、16、20 和 24 h 分别进样 10 μL ,测定桂皮醛峰面积,不同制备时间的供试品溶液桂皮醛峰面积的 RSD 为 0.701%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

3.3.5 重复性实验

取同一样品溶液,平行取样 6 份($n=6$),按“2.3.3”所述

表1 回收率结果($n=9$)
Table 1 Results of recoveries ($n=9$)

供试品取样量(mL)	供试品含量(μg)	加标量(μg)	测得量(μg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
0.5	0.254	0.648	0.8786	96.4		
0.5	0.254	0.648	0.8985	99.5		
0.5	0.254	0.648	0.8971	99.2	98.1	1.63
0.5	0.254	1.080	1.2925	96.2		
0.5	0.254	1.080	1.3031	97.1		
0.5	0.254	1.080	1.3285	99.5		
0.5	0.254	2.160	2.3306	96.1	98.1	
0.5	0.254	2.160	2.4005	99.4		
0.5	0.254	2.160	2.4050	99.6		

表2 桂皮醛测定结果($n=3$)
Table 2 Results of cinnamaldehyde ($n=3$)

批号	测得量($\mu\text{g/mL}$)	平均含量($\mu\text{g/mL}$)	RSD(%)
A	0.4155		
B	0.4118	0.4314	1.33
C	0.4670		

方法制备供试品溶液,按“2.3.1”中所述的色谱条件进样分析,计算得样品中桂皮醛含量的平均值为 $0.4607 \mu\text{g/mL}$, RSD 为 0.584%,表明方法重现性良好。

3.3.6 加样回收率试验

分别精密量取已知含量的样品 9 份(①~⑨),每份 0.5 mL,分别精密加入桂皮醛对照品溶液:①~③加 0.3 mL、④~⑥加 0.5 mL、⑦~⑨加 1.0 mL,按“2.3.3”所述方法进行测定,按“2.3.1”中所述的色谱条件测定,计算平均加样回收率和 RSD,结果见表 1。回收率平均值为 98.1%,RSD 平均值为 1.63%。表明该方法可靠,具有较好的准确性。

3.4 样品测定

取 3 批样品,按“2.3.3”中所述方法制备供试品溶液,按“2.3.1”中所述的色谱条件进行样品测定。将所测得的桂皮醛峰面积代入标准曲线计算样品中桂皮醛的含量,结果见表 2。

4 结论

本研究建立了高效液相色谱法测定中国劲酒中桂皮醛含量的方法。该方法具有操作简便、回收率高、精密度好和灵敏度高等特点,可用于中国劲酒的质量控制。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准

(中药成方制剂)第十一册[S].

Pharmacopoeia commission of the ministry of public health of the people's Republic of China. Drug standards of the ministry of health of the people's Republic of China(Chinese medicinal preparation)Eleventh volumes [S].

[2] 骆和生. 中药方剂的药理与临床研究进展[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 1991.

Luo HS. Advances in pharmacology and clinical research of traditional Chinese medicine [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 1991.

[3] 蔡素华, 温预关, 莫玉泉. HPLC 法测定加味苓桂术甘汤中桂皮醛的含量[J]. 海峡药学, 2012, 24(4): 54-56.

Cai SH, Wen YG, Mo YQ. Determination of cinnamaldehyde in Jiawei Lingguishugan decoction by HPLC [J]. Strait Pharm J, 2012, 24(4): 54-56.

[4] 安瑜, 张新新, 梁晋如, 等. HPLC 法测定瑞克卫瑞消毒液中桂皮醛的含量[J]. 陕西中医, 2013, 34(2): 230-232.

An Y, Zhang XX, Liang JR, et al. Content determination of cinnamaldehyde in Disinfectant of Ruikeweirui by HPLC [J]. Shaanxi J Tradit Chin Med, 2013, 34(2): 230-232.

[5] 侯雪英, 吴淳, 周玉婷, 等. 肉桂不同部位中 4 种有效成分的含量及其分布研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, 15(2): 254-259.

Hou XY, Wu C, Zhou YT, et al. Study on the content and distribution of 4 active components in different parts of cinnamon [J]. World Sci Technol Mod Tradit Chin Med, 2013, 15(2): 254-259.

[6] 雷灼雨, 巴国际. 高效液相色谱法测定生桂口服液中桂皮醛的含量[J]. 中国药业, 2007, 16(4): 35-37.

Lei ZY, Ba GJ. Determination of content of cinnamaldehyde in Shenggui

- oral liquid by HPLC [J]. *China Pharm*, 2007, 16(4): 35–37.
- [7] 李晓妮, 葛新, 李青山. 高效液相色谱法测定祖师麻风湿膏中桂皮醛的含量[J]. *药物分析杂志*, 2008, 28(9): 1559–1561.
Li XN, Ge X, Li QS. High performance liquid chromatography determination of cinnamaldehyde in Zushima Fengshi plaster [J]. *J Pharm Anal*, 2008, 28(9): 1559–1561.
- [8] 李益康, 张钰泉. 高效液相色谱法测定益脑方口服液桂皮醛的含量[J]. *安徽医药*, 2006, 10(2): 39–40.
Li YK, Zhang YQ. Determination of cinnamaldehyde in yinaofang oral liquid by HPLC [J]. *Anhui Med Pharm J*, 2006, 10(2): 39–40.
- [9] 刘青, 邓毅, 南建理. HPLC 法测定复方麻桂枝喷雾剂中桂皮醛的含量[J]. *甘肃中医学院学报*, 2007, 24(6): 39–41.
Liu Q, Deng Y, Nan JL. Determination of content of cinnamaldehyde in Guizhi spray by HPLC [J]. *J Gansu Coll Tradit Chin Med*, 2007, 24(6): 39–41.
- [10] 王连芝, 蒋维谦. HPLC 法测定桂枝中桂皮醛和肉桂酸的含量[J]. *中医药信息*, 2009, 26(4): 19–20.
Wang LZ, Jiang WQ. Determination of cinnamaldehyde and cinnamic acid in cassia twig by HPLC [J]. *Tradit Chin Med Inf*, 2009, 26(4): 19–20.
- [11] 罗晋萍, 张中芬, 田晨. 高效液相色谱法测定生桂口服液桂皮醛的含量[J]. *中国中药杂志*, 2000, 9(25): 544–545.
Luo JP, Zhang ZS, Tian C. Determination of content of cinnamaldehyde in Shenggui oral liquid by HPLC [J]. *Chin J Tradit Chin Med*, 2000, 9(25): 544–545.
- [12] 曹家铭, 国程悦, 刘丹萍, 等. 高压液相色谱法测定桂枝中桂皮醛含量[J]. *食品安全质量检测学报*, 2013, 4(2): 463–466.
Cao JM, Guo CY, Liu DP, *et al.* Determination of content of cinnamaldehyde in cassia twig by HPLC [J]. *J Food Saf Qual*, 2013, 4(2): 463–466.
- [13] 马蓉蓉, 唐意红, 孙兆林, 等. RP-HPLC 测定不同产地肉桂中桂皮醛和肉桂酸的含量[J]. *中国现代中药*, 2008, 10(4): 9–11.
Ma RR, Tang YH, Sun ZL, *et al.* Determination of cinnamaldehyde and cinnamic acid in cortex cinnamomi from different habits by RP-HPLC [J]. *Chin Mod Tradit Chin Med*, 2008, 10(4): 9–11.
- [14] 林佳, 徐丽珍, 刘江云, 等. 桂枝中桂皮醛、肉桂酸的含量与分布研究[J]. *中国药理学杂志*, 2005, 40(23): 93–95.
Lin J, Xu LZ, Liu JY, *et al.* Study on contents of cinnamaldehyde and cinnamic acid and distribution of cassia twig [J]. *Chin J Pharm Sci*, 2005, 40(23): 93–95.
- [15] 钟镜金, 杨仙芳. HPLC 法测定桂附地黄丸中桂皮醛的含量[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(2): 50–53.
Zhong JJ, Yang XF. Determination of cinnamaldehyde in Guifudihuang pills by HPLC [J]. *Chin Archives Tradit Chin Med*, 2008, 26(2): 50–53.
- [16] 谢耀轩, 李明, 王淑红. 高效液相色谱法测定参桂胶囊中桂皮醛的含量[J]. *今日药学*, 2012, (9): 45–50.
Xie YX, Li M, Wang SH. Determination of cinnamaldehyde in Shengui capsules by HPLC [J]. *Pharm Today*, 2012, (9): 45–50.
- [17] 许竹梅, 韩永涛, 赵学燕. 散寒活血膏中桂皮醛的 HPLC 含量测定[J]. *分析杂志*, 2008, 28(1): 124–125.
Xu ZM, Han YT, Zhao XY. HPLC determination of cinnamaldehyde in Sanhan Huoxue plaster [J]. *J Anal*, 2008, 28(1): 124–125.
- [18] 刘月, 谢敏, 吴春敏. 不同产地肉桂 HPLC 指纹图谱研究及桂皮醛含量分析[J]. *海峡药学*, 2012, 24(4): 59–61.
Liu Y, Xie M, Wu CM. HPLC fingerprint analysis of cinnamon from different origins and study on the contents of cinnamaldehyde [J]. *Strait Pharm*, 2012, 24(4): 59–61.
- [19] 陈行敏, 吴春敏, 谢敏. HPLC 同时测定肉桂中香豆素、桂皮醇、桂皮酸、桂皮醛的含量[J]. *中国药理学杂志*, 2010, 45(21): 1664–1666.
Chen HM, Wu CM, Xie M. Simultaneous determination of coumarin, cinnamyl alcohol, cinnamic acid and cinnamaldehyde in cortex cinnamomi by HPLC [J]. *Chin J Pharm Sci*, 2010, 45(21): 1664–1666.
- [20] 谢敏, 张秋萍. HPLC 法测定养脾散中桂皮醛的含量[J]. *中药材*, 2008, 31(7): 1086–1087.
Xie M, Zhang QP. Determination of cinnamaldehyde in gastric powder by HPLC [J]. *Tradit Chin Med Mater*, 2008, 31(7): 1086–1087.
- [21] 宋利辉, 张蓉, 万红菊, 等. HPLC 法测定桂枝茯苓片中桂皮醛的含量[J]. *湖北中医学院学报*, 2010, 12(2): 39–41.
Song LH, Zhang R, Wan HJ, *et al.* Determination of cinnamaldehyde in guizhifuling tablets by HPLC [J]. *J Hubei Coll Tradit Chin Med*, 2010, 12(2): 39–41.
- [22] 刘加宝. HPLC 法测定右归丸中桂皮醛的含量[J]. *黑龙江科学*, 2014, 5(8): 15–16.
Liu JB. Determination of cinnamaldehyde in Yougui pill by HPLC [J]. *Heilongjiang Sci*, 2014, 5(8): 15–16.

(责任编辑: 刘丹)

作者简介



梁国华, 副主任药师, 主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: lgh1280@sina.com