

# 高效液相色谱法测定大豆异黄酮粉中大豆苷和染料木苷的含量

李淑云,赵福芹,李月雄(黑龙江省医院,哈尔滨 150000)

**摘要:**目的 探讨高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)测定大豆苷和染料木苷的含量。方法 十八烷基键合硅胶柱,流动相为甲醇-水-乙酸(40:60:1.2),检测波长 254 nm。结果 大豆苷在 0.008~0.4 μg 内,染料木苷在 0.0068~0.34 μg 内,峰面积与浓度线性关系良好(大豆苷  $r=0.9986$ ;染料木苷  $r=0.9999$ )。结论 该方法简便快捷,重复性好,可作为质量控制指标之一。

**关键词:**大豆苷;染料木苷;高效液相色谱法;含量

中图分类号:R931.6 文献标识码:B 文章编号:1007-7693(2007)08-0716-02

## Determination of Daidzein and Genistin in Soybean Isoflavone Flour by HPLC

LI Shu-yun, ZHAO Fu-qin, LI Yue-xiong(The Heilongjiang Provincial Hospital, Harbin 150036, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To establish HPLC method for the determination of Daidzein and Genistin in soybean. **METHODS** C18 column, The mobile phase was composed of methanol-water-acetic acid(40:60:1.2) with detection wavelength at 254 nm. **RESULTS** It is a good linear relation of the linear range and the concentration of Daidzein within 0.008~0.4 μg and the concentration of Genistin within 0.0068~0.34 μg. **CONCLUSION** This method was convenient, rapid and reproducible, and suitable for the quality control of the determination of Daidzein and Genistin in soybean.

**KEY WORDS:** Daidzein; Genistin; HPLC; Content

异黄酮类化合物是一类具有植物雌激素活性,增强机体抗氧化能力,提高免疫机能以及抗癌等多种功效的生物活性物质。异黄酮类化合物主要存在于豆科植物(如大豆、红三叶草、野葛)中<sup>[1-2]</sup>。为此笔者选择对大豆异黄酮粉中大豆苷和染料木苷含量的测定作为其质量控制的指标之一,并采用高效液相色谱法测定大豆苷和染料木苷的含量。

### 1 仪器与试剂

#### 1.1 仪器和用具

高效液相色谱仪 LC-6A(日本岛津);色谱柱 C<sub>18</sub>-QDS(150 mm×4.6 mm),μm(日本岛津);电子天平;量瓶。

#### 1.2 材料

大豆苷对照品(美国 sigma 公司,纯度 97%);染料木苷对照品(美国 sigma 公司,纯度 97.1%);大豆异黄酮粉(美国 sigma 公司生产,化工大学生产,华北制药生产);甲醇为色谱纯;其他试剂均为分析纯。

#### 1.3 色谱条件

流动相:甲醇-水-乙酸(40:60:1.2);柱温:40℃;检测波长 254 nm;流速 1.5 mL·min<sup>-1</sup>;理论塔板数。

### 2 实验方法与结果

#### 2.1 对照品溶液的制备

精密称取大豆苷和染料木苷对照品分别为 2.0 mg 和 1.7 mg 于 50 mL 量瓶中,以体积分数为 50% 的乙醇溶解定容,摇匀,待用。

#### 2.2 供试品溶液的制备

精密称取大豆异黄酮粉 5 mg 左右于 50 mL 量瓶中,以

体积分数为 50% 的乙醇溶解定容,摇匀,过滤,脱氧,待用。

#### 2.3 线性关系考察

精密吸取大豆苷上述对照品溶液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mL 于 10 mL 量瓶中,再精密吸取染料木苷上述对照品溶液 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 mL 于 10 mL 量瓶中,以 50% 乙醇溶解定容,按上述色谱条件进样,进样量 10 mL,以峰面积积分为(Y),浓度为(X),绘制标准曲线并计算,并建立峰面积与对应浓度的回归方程分别为:

大豆苷:  $y = -1.2914 \times 10^{-4} + 8.8450 \times 10^{-8} X$   $r = 0.9986$

染料木苷:  $y = -3.9133 \times 10^{-3} + 1.1317 \times 10^{-7} X$   $r = 0.9999$

实验表明:大豆苷在 0.008~0.4 μg 范围内,染料木苷在 0.0068~0.34 μg 范围内,浓度与峰面积有良好的线性关系。

#### 2.4 精密度试验

取美国 sigma 公司样品配制的供试品溶液,重复进样 6 次,大豆苷和染料木苷的峰面积的 RSD 值均 < 4%。说明在此色谱条件下分析大豆苷和染料木苷,数据重复性好,方法可靠。

#### 2.5 样品的含量测定

按“2.2”定下的条件进行操作,在上述色谱条件下,测定美国 sigma 公司 2 个批号,华药 2 个批号,化工大学 1 个批号的样品,根据样品峰面积和标准曲线求出其含量。

#### 2.6 回收率试验

精密称取大豆苷标准品 0.04, 0.08, 0.12 mg 于 10 mL 量

瓶中,再精取染料木苷标准品 0.034, 0.068, 0.102 mg于 10 mL量瓶中(用已知含量的样品溶液定容)。在上述色谱条件下,以 10 mL进样,测定回收率。

## 2.7 稳定性试验

将已测定含量的待测溶液密封常温保存,每隔 1, 3, 7, 10 d,以 10 mL进样,大豆苷和染料木苷的峰面积的 RSD分别小于 3%和 2.8%,说明样品在短时间内,有稳定的性质,重复性良好。

## 3 流动相检测波长的选择

### 3.1 流动相的选择

同时选取了甲醇-乙醇-水(25:5:70),甲醇-乙酸-水(30:3.5:65),甲醇-水-乙酸(40:60:1.2)等几个不同体系的流动相进行测定,结果表明在甲醇-水-乙酸体系中,大豆苷和染料木苷分离较好,峰形美观,保留时间短,分析效率高,故采用此流动相进行试验。

### 3.2 检测波长的确定

参考紫外光谱,同时设定了 254, 260 nm 等几个不同波长的峰。结果表明:254 nm 波长时灵敏度高,对于测定大豆苷和染料木苷比较适应,因此选用 254 nm 作为检测波长。

## 4 讨论

目前,国内有近百家企业研究所对其进行研究,并有少数企业已投入生产,但由于国内对大豆异黄酮粉的研究起步较晚,故其含量测定至今仍未建立一个统一的质量控制指标。为了确定这一指标,我们进行大量实验,利用高效液相色谱法对美国 sigma公司及华北制药,化工大学所产的大豆异黄酮粉中主要含量物质大豆苷和染料木苷进行了含量测定,结果准确,故为其作为质量控制指标的一种提供有效依据。本实验确立了大豆异黄酮粉的高效液相色谱法的测定方法,对三个厂家的产品的含量测定均比较准确,整套方法简捷、快速、重复性好,可作为质量控制指标之一。

## 参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版, 1975.
- [2] 姚新生. 天然药物化学(第二版)[M]. 北京:人民卫生出版社, 1997.

收稿日期:2007-06-26