

温馨提示：全文对单栏还是双栏排版均无特别要求，所有来稿均要通过专

业排版软件重新排版。

《中国饲料》论文模板说明

1 论文内容

刊登畜牧饲料学科研究论文和文献综述。文稿务求论点明确、材料翔实、数据可靠、评价客观、文字精练，内容不涉及国家机密。

2 题目

一般不超过 20 字。不用非共知的缩写或符号，饲料添加剂及药名一般不用代号，不用商品名。

3 作者、单位和脚注

作者姓名居题目下方，单位写在姓名下方，注明单位、城市和邮政编码（单位与所在城市之间用“，”相隔，单位与单位之间用“；”相隔），作者之间用“，”相隔，如作者不在一个单位，可在其右上角加“1, 2…”角标。脚注放在第一页底部，注明第一作者及通信作者的姓名和 E-mail（括号中备注作者年龄、学历及研究方向信息），基金项目应注明名称和项目编号。

高效液相色谱法同步测定甜叶菊 提取物中 7 种绿原酸

贾 铮¹，徐思远¹，杨建中²，池 磊³，李亚静³，
李 兰¹，崔 婕¹，肖志明¹，李 阳¹，樊 霞^{1*}

(1.中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,北京 100081;2.新疆维吾尔自治区兽药饲料监察所,
新疆乌鲁木齐 830063;3.诸城市浩天药业有限公司,山东诸城 262218)

4 摘要、关键词

摘要应包括研究目的、方法、结果和结论（重点是方法与结果），不分段，要求 500 字以上。不应出现图、表、冗长公式、参考文献和序号。要用第三人称的写法，应采用“对……进行了研究”、“报道了……现状”、“进行了…调查”等记述方式，省去“本文……”、“作者……”等主语。每篇文章依内容多少选取反映文章主题内容的关键词 3~6 个，关键词之间用“；”分隔。

5 英文题目、作者、作者单位、摘要及关键词

论文应给出英文题目、作者、单位、摘要及关键词，要求与中文一致。英文题目中除了首字母和专有名字必须大写之外，其余用小写字母；作者姓大写，名字首字母大写，如 LI Haotian；作者单位实词首字母大写；英文摘要不要直译，注意语法、时态等，要求翻译准确，与中文摘要保持一致。

6 引言

引言应涵盖研究的重要意义、前人研究进展、研究的切入点及研究拟解决的关键问题。要求语言简明扼要，语言和內容避免和摘要重复。

7 正文层次标题

各层次标题一般用阿拉伯数字连续编号，如：1, 1.1, 1.1.1；2, 2.1, 2.1.1……，标题划分一般不超过 3 级，均左顶格编排。一级标题用小四号黑体，单独一行（不接排）；二级标题

用五号楷体,单独一行(不接排);三级标题用五号宋体,接排,与正文之间空四格。正文用五号宋体,单倍行距。

8 表格及图

表格一律用三线表,表头栏目若为多层次时可加辅助线。表格应有表序和表题。表格中各栏目单位相同时,将单位写于表题右侧;单位不同时分别注于各栏目中。图应有图序、图题。线条图线条要流畅,粗细均匀,图中的文字、数字及其位置要标注清楚。图和表中的题名、注释或说明语等无需对应英文。照片图要清晰的原始照片,分辨率不低于 300dpi

9 参考文献编排规范

参考文献采用著者-出版年制,不采用数字上角标形式。文内引用文献,文后必须全部列出,顺序为先中文后英文。

10 单位符号和数字

文中的计量单位一律采用国家法定单位和代号书写,名词、术语应以国家规定和常用的为准。所有的外文、阿拉伯数字及单位必须核对无误,注意大小写与上下角标。应注意在不引起歧义的情况下尽量使用阿拉伯数字,单位与数字之间均空一格,但%与数字之间无空格。

论文模板见附件

高效液相色谱法同步测定甜叶菊提取物中7种绿原酸

不是同一单位的作者，
务必使用数字上角标形式
在名字后标示。

各单位地址写：省+市+邮编
即可，无需到县。

贾铮¹，徐思远¹，杨建中²，池磊³，李亚静³，
李兰¹，崔婕¹，肖志明¹，李阳¹，樊霞^{1*}

(1.中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,北京 100081;2.新疆维吾尔自治区兽药饲料监察所,
新疆乌鲁木齐 830063;3.诸城市浩天药业有限公司,山东诸城 262218)

通讯作者用“*”标注；
如有共同第一作者，则
用“#”标示，并在首页
地脚处说明。

[摘要] 为建立高效液相色谱法测定甜叶菊提取物中绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 7 种绿原酸及其类似物的分析方法,本实验以超声提取法对样品进行前处理,以甲酸溶液-乙腈作为流动相,采用梯度淋洗和 C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm,5 μm)进行各化合物分离。结果显示:7 种绿原酸及其类似物的检出限为 0.47~1.18 mg/kg,相关系数 r 均大于 0.9990,加标回收率为 95.10%~102.63%,相对标准偏差($n=3$)为 1.7%~4.1%。将本方法应用于甜叶菊提取物中的绿原酸及其类似物的含量分析,实验结果满意。

[关键词] 绿原酸;高效液相色谱法;甜叶菊提取物

[中图分类号] S816.17

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-3314(2022)03-0089-06

文内文献采用“著者，出
版年”制，多个文献按照
出版年由近及远顺序排列

随着2020年全面禁止在饲料中添加抗生素，药食同源的植物提取物作为新型饲料添加剂将成为替抗领域关注的焦点(曾建国,2020;王平,2018)。甜叶菊中绿原酸类物质含量丰富,主要含有绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 等,含量可达 1.7%~7.2%(徐美利等,2021)。因具有促生长、抗氧化、改善肠道菌群等功效,绿原酸已被农业农村部批准为新饲料添加剂(王智勇等,2021)。目前甜叶菊主要为生产甜菊糖苷的原料,在生产过程中会产生大量废渣,若其中的活性成分没有得到高效、合理的利用,反而会对环境产生污染(孔智伟等,2017),因此针对甜叶菊中绿原酸等活性成分开发和利用的研究尤为重要。张民达等(2020)建立了以绿原酸为内标,采用高效液相色谱法同时测定甜叶菊原料中绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异

绿原酸 C 6 种多酚类成分含量的方法,该法相对校正因子的耐用性良好,15 批甜叶菊原料一测多评价与外标法所得结果无显著差异。李华丽等(2017)建立了测定甜叶菊叶中新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、异绿原酸 B、异绿原酸 A 和异绿原酸 C 6 种多酚类成分的高效液相色谱法。9 批样品中 6 个酚酸之和为 1.18%~6.67%,回收率、精密度、重复性、稳定性均符合有关规定。Zhao 等(2019)对甜叶菊提取物中的酚类化合物进行了鉴定,研究显示,其含有丰富的绿原酸类、咖啡酸类、槲皮苷、槲皮素等 8 种活性成分,且具有良好的自由基清除能力和抗炎作用。Yu 等(2017)对甜叶菊茎提取物中香草酸、原儿茶酸、咖啡酸、绿原酸和隐绿原酸 5 种酚类化合物进行了鉴定,并研究了其对鱼油的抗氧化能力。本文旨在建立甜叶菊提取物中 7 种绿原酸类成分的高效液相色谱分析方法,为甜叶菊提取物的质量控制和有效利用提供技术支持。

1 材料与方

1.1 主要仪器与试剂 UFLC-20A 液相色谱仪(日本 Shimadzu 公司),配有 2 个单独的超高压输液泵(LC-20ADXR)、自动进样器(SIL-20AXR)、柱温箱

如有基金项目，必须
注明项目编号

基金项目：“十三五”国家重点研发计划课题(2019YFC1604805)

作者简介:贾铮,助理研究员,主要研究方向为饲料质量安全,E-mail:jiazheng@caas.cn

*通讯作者:樊霞,博士,研究员,研究方向为饲料质量安全及检测技术,E-mail:fanxia@caas.cn

(CTO-20A)、二极管阵列检测器 (SPD-M20A); SK3300LHC 超声器 (上海科导超声仪器有限公司); BP310/310g 型分析天平 (德国赛多利斯公司)。

绿原酸及其类似物标准品: 绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C (上海源叶生物科技有限公司); 乙腈 (色谱纯, 德国 Fisher 公司); 其余试剂均为分析纯; 实验用水为经 Mili-Q 纯化的超纯水 (>18.2 M Ω)。实验样品由诸城市浩天药业有限公司提供。

1.2 标准溶液配制 准确称取 7 种绿原酸及其类似物标准品各 10.0 mg, 加入甲醇溶解并定容于 50 mL 棕色容量瓶中, 配制成质量浓度为 200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。分别移取一定体积上述标准储备液用水稀释, 配制成标准系列溶液。

1.3 色谱条件 色谱柱: ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm \times 4.6 mm, 5 μm); 流动相: 0.1% 甲酸溶液 (流动相 A)–乙腈 (流动相 B); 流速: 1.0 mL/min, 梯度淋洗 (梯度淋洗程序见表 1); 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 检测器: 二极管阵列检测器; 进样量: 10 μL ; $\lambda=327\text{ nm}$; 外标法定量。

表 1 梯度淋洗表

时间/min	流动相 A	流动相 B
0	95	5
15.00	90	10
15.01	80	20
25.00	75	25
25.01	95	5
35.00	95	5

1.4 样品制备 称取 0.05 g 甜叶菊提取物样品, 置于 100 mL 容量瓶中, 加入 50% 甲醇溶液 70 mL, 超声提取 30 min, 用 50% 甲醇溶液定容至刻度, 样品溶液上机检测前过 0.45 μm 滤膜。

2 结果与分析

2.1 方法条件优化

2.1.1 检测波长的选择 采用二极管阵列检测器在 200 ~ 400 nm 波长扫描得到新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 7 种化合物的光谱图, 如图 1 所示。结果表明, 7 种化合物在波长 327 nm 左右均有较大吸收峰, 因此确定检测波长为 327 nm。

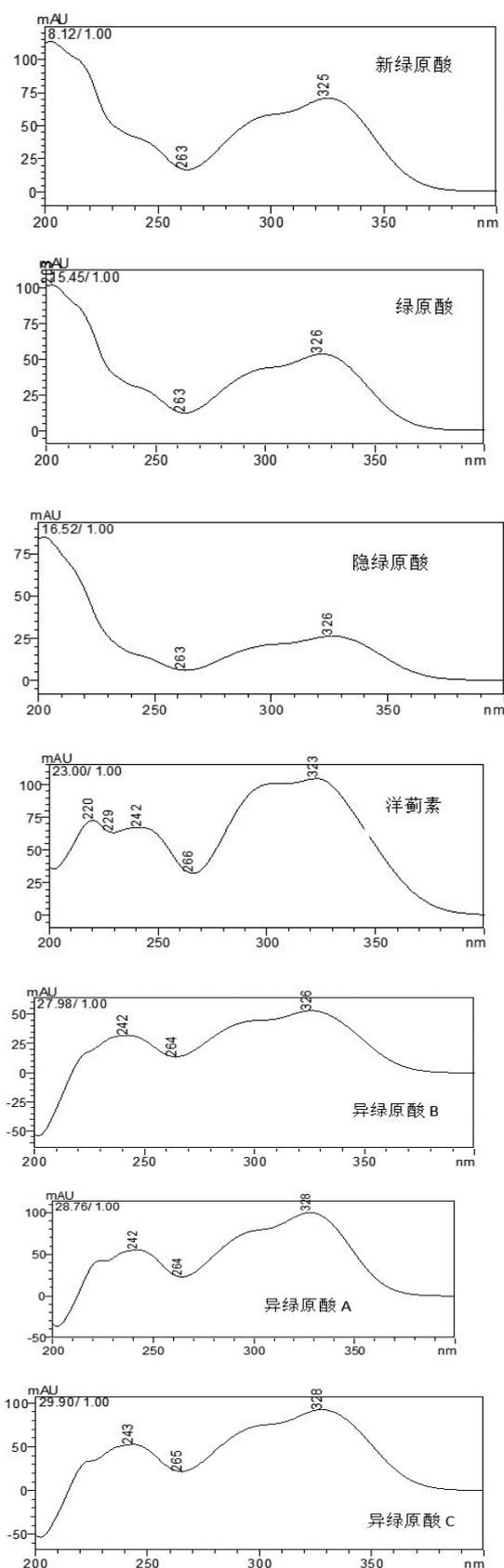
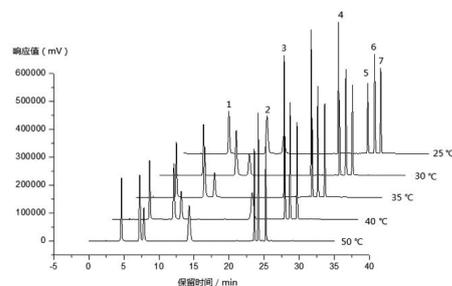


图 1 7 种绿原酸及其类似物光谱图

2.1.2 流动相的选择 通过检索文献,绿原酸及其类似物的色谱分离主要采用甲酸、磷酸溶液,与有机流动相(甲醇、乙腈)按照一定比例进行梯度淋洗,从而使得各化合物有效分离并检测。本研究对甲酸溶液-乙腈、甲酸溶液-甲醇、磷酸溶液-乙腈、磷酸溶液-甲醇4种流动相体系,通过优化对应的色谱条件并比较,最终选择稳定性、重复性较好的甲酸溶液-乙腈体系作为流动相,流速为1.0 mL/min,并采用梯度淋洗进行各化合物分离,分离后的7种绿原酸及其类似物混合标准溶液色谱图见图2。



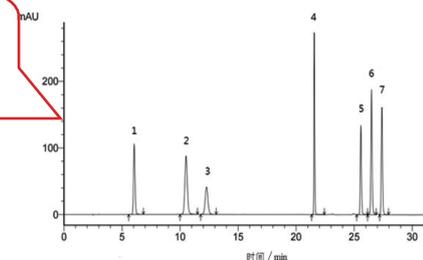
注:1.新绿原酸;2.绿原酸;3.隐绿原酸;4.洋蓟素;5.异绿原酸B;6.异绿原酸A;7.异绿原酸C。

图3 7种绿原酸及其类似物在不同柱温下的混合标准溶液色谱图

2.1.4 色谱柱的选择 从绿原酸及其类似物的结构及物理化学性质分析判断,采用反相液相色谱法进行分离测定。在色谱柱选择方面,比较了6种不同品牌和型号的C₁₈色谱柱对绿原酸混合标准溶液的色谱分离情况,各色谱柱型号规格及系统适应性测试结果见表2。通过各化合物的保留时间、出峰峰型、分离度等综合比较分析,选择ZORBAX Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)作为分析柱。

2.1.5 提取溶剂的选择 本研究中的7种绿原酸及其类似物均溶于水、甲醇及丙酮,极微溶于乙酸乙酯,且甜叶菊提取物基质较简单,蛋白质、脂肪等干扰组含量较小。为此,比较了不同溶液作为提取剂的提取效果,结果见表3。结果表明,对于大部分化合物,水作为提取剂回收率较好,但对异绿原酸C的提取效率较低;10%甲醇溶液、50%乙腈溶液、10%乙腈溶液提取均出现个别化合物提取效率低的情况。综合比较,50%甲醇溶液作为提取剂的提取效果最高,最终选用50%甲醇溶液作为提取溶剂。

图表随文



注:1.新绿原酸;2.绿原酸;3.隐绿原酸;4.洋蓟素;5.异绿原酸B;6.异绿原酸A;7.异绿原酸C。

图2 7种绿原酸及其类似物混合标准溶液色谱图

2.1.3 色谱柱温的选择 分别考察了25、30、35、40、50℃时7种绿原酸及其类似物的分离情况,结果见图3。结果表明,随着色谱柱温度的升高,各化合物的保留时间逐渐减少,基线漂移逐渐明显,色谱柱温度达到35℃时,洋蓟素峰型呈现显著变化,峰形展宽,峰高下降;而色谱柱温度为40℃时,绿原酸与隐绿原酸、异绿原酸B与异绿原酸A分离度下降,无法达到基线分离。综合考虑各组分有效分离的情况,色谱柱温度确定为30℃。

表2 不同品牌规格色谱柱色谱系统适应性测试结果

色谱柱规格 (柱长×内径,粒径)	保留时间/min							峰型
	新绿原酸	绿原酸	隐绿原酸	洋蓟素	异绿原酸B	异绿原酸A	异绿原酸C	
Phenomenex Luna C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm)	8.13	15.45	16.47	22.94	27.91	28.71	29.87	良好
Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm)	6.05	10.51	12.27	21.55	25.56	26.48	27.38	良好
Waters Symmetry C18(150 mm×4.6 mm, 5 μm)	4.43	7.50	9.34	19.73	24.00	24.30	25.50	良好
Waters Symmetry Shield RP18(150 mm×3.9 mm, 5 μm)	4.89	9.86	10.35	20.99	26.42	26.89	28.37	良好
BIO-RAD Hi-Pore RP-318 (250 mm×4.6 mm, 5 μm)	4.00	5.88	6.11	11.77	23.03	23.49	24.55	良好
Thermo scientific ODS Hypersil(250 mm×4.6 mm, 5 μm)	8.58	14.43	14.43	22.03	25.66	26.59	27.87	良好

表3 使用不同提取剂的测定结果($n=3$) %

化合物	水	50%甲醇溶液	10%甲醇溶液	50%乙醇溶液	10%乙醇溶液
新绿原酸	1.67±0.12	1.79±0.11	1.68±0.12	1.63±0.12	1.66±0.14
绿原酸	14.15±0.37	14.36±0.40	14.22±0.44	6.79±0.23	14.12±0.35
隐绿原酸	2.23±0.15	2.31±0.13	2.25±0.16	1.05±0.16	2.22±0.09
洋蓟素	ND	ND	ND	ND	ND
异绿原酸 B	1.72±0.10	1.81±0.06	1.75±0.07	1.74±0.06	1.73±0.11
异绿原酸 A	15.90±0.43	16.40±0.37	16.16±0.51	16.86±0.45	16.42±0.47
异绿原酸 C	8.18±0.18	8.74±0.25	8.36±0.25	8.62±0.28	8.53±0.26

表格为三线表，含表题，表头及各项内容，注意各数据单位。

2.1.6 称样量的选择 分别准确称取 0.02、0.05、0.10、0.50 g 和 1.0 g 样品，置于 100 mL 容量瓶中，加入 50%甲醇溶液 70 mL，选择超声时间为 30 min 进行提取并测定其含量，结果见表 4。结果表明，不同称样量的实验结果存在显著差异，称取 0.02、0.05 g 样品进行提取后的测定结果比较接近；当称样量大于 0.10 g 时，提取效率显著下降，各绿原酸组分的测定值与称样量 0.02、0.05 g 时相比，测定含量下降 2 至 15 倍，表明增加称样量时，提取不完全，提取效率下降。为保证检测结果准确性和重复性，确定 0.05 g 作为样品的称样量。

表4 不同称样量的检测结果比较($n=3$) %

序号	化合物	0.02 g	0.05 g	0.1 g	0.5 g	1.0 g
1	新绿原酸	1.72±0.04	1.79±0.01	0.83±0.02	0.16±0.001	0.16±0.001
2	绿原酸	14.02±0.37	14.36±0.10	7.07±0.04	1.42±0.01	1.42±0.004
3	隐绿原酸	2.23±0.03	2.31±0.01	1.10±0.01	0.22±0.003	0.23±0.001
4	洋蓟素	ND	ND	ND	ND	ND
5	异绿原酸 B	2.04±0.16	2.01±0.12	0.85±0.07	0.17±0.01	0.16±0.01
6	异绿原酸 A	16.63±0.30	16.40±0.17	8.25±0.03	1.66±0.01	1.53±0.16
7	异绿原酸 C	9.17±0.10	8.74±0.15	4.28±0.03	0.85±0.02	0.82±0.003

2.1.7 提取时间的选择 准确称取 0.05 g 样品于 100 mL 容量瓶中，加入 70 mL 50%甲醇溶液，选择超声时间为 10、20、30、40 min 进行提取，测定其含量。结果表明，超声提取 20 min 的提取效果稍优于 10 min，与 30 min 和 40 min 的结果基本一致。因此，确定 30 min 作为方法的超声提取时间。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性范围 配制新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 7 种化合物系列混合标准溶液，在优化的色谱条件下依次进样，重复 3 次，以峰面积为纵

坐标(y)，质量浓度为横坐标(x)绘制标准曲线，7 种绿原酸及其类似物的线性范围、线性方程、相关系数见表 5。7 种化合物在线性范围内呈良好线性关系。

表5 7 种绿原酸及其类似物的线性范围、线性方程及相关系数

序号	化合物	线性范围($\mu\text{g/mL}$)	线性方程	相关系数(r)
1	新绿原酸	2 ~ 800	$y = 2159.96x - 207.708$	0.9999
2	绿原酸	2 ~ 800	$y = 2941.83x + 42.9941$	0.9997
3	隐绿原酸	2 ~ 800	$y = 1622.76x - 101.699$	0.9999
4	洋蓟素	2 ~ 800	$y = 1476.22x + 211.351$	0.9998
5	异绿原酸 B	2 ~ 800	$y = 2002.78x - 776.734$	0.9999
6	异绿原酸 A	2 ~ 800	$y = 1158.31x - 420.291$	0.9998
7	异绿原酸 C	2 ~ 800	$y = 25000.3x + 3148.62$	0.9999

2.2.2 方法检出限和定量限 在优化的实验条件下进行加标回收实验，不断稀释提取溶液并上机测定，以 3 倍信噪比(S/N)作为方法的检出限，以 10 倍信噪比(S/N)作为方法的定量限，各目标化合物的检出限和定量限见表 6。

表6 7 种绿原酸及其类似物的检出限和定量限 mg/kg

序号	化合物	检出限	定量限
1	新绿原酸	1.02	3.50
2	绿原酸	0.47	1.56
3	隐绿原酸	0.86	2.87
4	洋蓟素	1.18	3.93
5	异绿原酸 B	0.82	2.73
6	异绿原酸 A	1.00	3.30
7	异绿原酸 C	0.90	3.00

2.2.3 方法回收率和精密度考察 精密称取样品 0.05 g，置于 100 mL 棕色量瓶中，添加不同含量的新绿原酸、绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 标准溶液制成含 0.2%、0.4%、1.0% 的样品，每个添加浓度进行 6 次平行测定，并重复 3 次，计算回收率、批内和批间相对标准偏差，结果见表 7。7 种绿原酸及其类似物的平均回收率为 95.10% ~ 102.63%，批内、批间相对标准偏差均小于 5%。结果表明，该方法对甜叶菊提取物中 7 种绿原酸及其类似物的含量测定均有较好的准确度和精密度。

表7 7种绿原酸及其类似物的加标回收率和精密度

添加浓度	化合物	测定批次	回收率						平均回收率	精密度		
										批内RSD	批间RSD	
0.2	新绿原酸	I	96.9	95.5	100.1	103.15	98.13	98.62	98.73	2.70	2.4	
		II	101.73	95.26	96.83	96.86	95.93	102.51	98.19	3.17		
		III	96.18	97.83	96.85	98.63	97.73	98.63	97.64	1.00		
	绿原酸	I	103.30	102.17	104.17	101.78	96.43	98.19	101.01	3.01		
		II	103.72	100.85	101.86	98.93	103.86	103.64	102.14	1.95		
		III	102.98	104.35	104.18	102.44	98.19	103.62	102.63	2.23		
	隐绿原酸	I	100.9	100.87	100.3	97.51	95.96	102.93	99.75	2.55		
		II	103.15	101.39	101.62	97.19	98.85	102.61	100.80	2.29		
		III	98.11	102.15	104.93	98.95	97.96	101.43	100.59	2.73		
	洋蓟素	I	95.67	103.01	99.53	101.56	95.3	97.91	98.83	3.16		
		II	102.59	104.13	95.69	97.83	96.23	102.55	99.84	3.68		
		III	96.94	102.33	101.83	103.59	97.61	101.72	100.67	2.70		
	异绿原酸B	I	102.4	101.30	103.63	95.15	96.22	98.25	99.49	3.48		
		II	104.95	102.59	96.15	96.17	97.35	95.98	98.87	3.95		
		III	98.11	95.13	99.67	103.67	97.39	96.47	98.41	3.05		
	异绿原酸A	I	98.97	101.8	101.33	103.98	95.23	96.72	99.67	3.32		
		II	102.13	103.79	95.95	96.33	96.34	102.15	99.45	3.62		
		III	95.34	97.23	96.37	102.18	96.77	97.89	97.63	2.45		
	异绿原酸C	I	99.63	100.17	102.53	98.91	97.58	97.66	99.41	1.86		
		II	100.43	96.45	99.11	98.45	97.83	101.23	98.92	1.76		
		III	97.12	99.15	103.41	96.39	97.52	95.95	98.26	2.81		
	0.4	新绿原酸	I	101.01	100.24	101.06	100.8	100.54	101.14	100.80	0.35	2.4
			II	96.15	97.53	99.39	98.54	98.14	100.21	98.33	1.45	
			III	98.76	98.11	97.91	98.14	98.55	99.55	98.50	0.61	
绿原酸		I	103.42	102.9	103	102.55	101.13	99.97	102.16	1.30		
		II	100.91	100.96	102.03	101.8	100.23	101.6	101.26	0.67		
		III	101.30	101.14	100.85	101.01	101.39	101.14	101.14	0.19		
隐绿原酸		I	101.92	99.83	100.61	101.79	99.42	99.58	100.53	1.10		
		II	98.95	99.56	97.96	96.98	100.96	98.95	98.89	1.38		
		III	100.19	98.98	97.96	99.16	96.16	101.21	98.94	1.78		
洋蓟素		I	97.72	96.76	100.79	97.61	96.35	98.39	97.94	1.61		
		II	101.15	99.67	98.84	100.37	99.21	98.96	99.70	0.91		
		III	97.97	103.23	100.19	101.54	98.36	100.96	100.38	1.98		
异绿原酸B		I	95.96	96.15	97.24	96.97	97.11	96.45	96.65	0.55		
		II	98.37	96.58	97.96	95.11	96.96	99.81	97.47	1.66		
		III	96.82	95.51	94.2	95.42	93.55	95.07	95.10	1.19		
异绿原酸A		I	99.72	98.48	98.48	100.96	101.14	101.79	100.10	1.42		
		II	99.86	100.04	95.95	97.69	98.48	98.00	98.34	1.54		
		III	97.48	98.57	96.63	96.29	100.9	99.61	98.25	1.82		
异绿原酸C		I	100.61	98.02	99.43	100.67	98.13	98.32	99.20	1.24		
		II	100.27	102.31	103.64	100.55	102.86	100.78	101.74	1.37		
		III	99.25	100.94	104.68	99.89	99.76	101.08	100.93	1.95		
1.0		新绿原酸	I	101.26	102.47	100.98	101.54	101.62	101.06	101.49	0.54	3.9
			II	99.65	99.53	99.79	99.61	100.31	100.51	99.90	0.41	
			III	99.93	99.30	99.74	99.39	100.03	100.38	99.80	0.41	
	绿原酸	I	100.21	100.63	99.88	100.12	99.90	99.90	100.11	0.29		
		II	99.97	99.72	99.84	99.87	99.32	100.23	99.83	0.30		
		III	100.13	99.41	99.78	99.8	100.35	100.76	100.04	0.48		
	隐绿原酸	I	99.09	100.97	100.19	99.25	99.61	100.32	99.91	0.72		
		II	100.22	100.05	99.73	98.03	100.03	100.62	99.78	0.91		
		III	100.13	100.87	101.1	100.99	100.79	101.21	100.85	0.38		
	洋蓟素	I	98.88	98.36	97.60	99.40	99.35	100.21	98.97	0.92		
		II	99.93	100.02	97.59	99.91	100.24	101.94	99.94	1.39		
		III	101.19	100.68	100.29	100.36	101.51	102.04	101.01	0.68		
	异绿原酸B	I	97.83	99.10	97.70	97.44	97.54	98.63	98.04	0.68		
		II	99.37	99.11	98.41	99.31	99.98	100.75	99.49	0.80		
		III	97.69	98.43	97.68	98.24	100.22	100.50	98.79	1.27		
	异绿原酸A	I	97.18	100.87	97.47	98.15	98.17	98.32	98.36	1.33		
		II	100.07	100.03	98.53	98.76	99.57	98.5	99.24	0.74		
		III	96.98	98.85	97.50	97.66	98.64	98.56	98.03	0.77		
	异绿原酸C	I	96.93	99.37	98.74	97.61	97.75	96.56	97.83	1.09		
		II	99.08	98.85	100.02	98.87	99.11	98.48	99.07	0.52		
		III	98.38	98.04	97.87	98.12	97.84	97.84	98.02	0.22		

3 结论

本研究建立了甜叶菊提取物中绿原酸、新绿原酸、隐绿原酸、洋蓟素、异绿原酸 B、异绿原酸 A、异绿原酸 C 7 种绿原酸及其类似物含量的分析方法。以超声提取法对样品进行前处理,以甲酸溶液-乙腈作为流动相,采用梯度淋洗进行各化合物的分离,各组分在 12 min 内实现有效分离。本研究建立的方法准确度和重复性较好,可满足甜叶菊提取物中绿原酸及其类似物定性和定量分析的需求,为甜叶菊提取物有效成分的质量控制提供了一种可靠的分析方法。

参考文献

- [1] 李华丽,袁君,郝荣华,等.HPLC 法测定甜叶菊中 6 个酚酸类成分含量[J].药物分析杂志,2017,37(2):219~223.
- [2] 孔智伟,张强,陈荣强,等.甜叶菊废渣发酵饲料对巴彘肉猪肌内营养成分的影响[J].中国猪业,2018,7:60~62.
- [3] 王平.中草药饲料添加剂的研究现状与展望[J].山东畜牧兽医,2018,39(4):76~77.
- [4] 王智勇,刘秀斌,徐美利,等.甜叶菊总异绿原酸抗氧化、抑菌及防霉功能评价[J].饲料研究,2021,3:101~105.
- [5] 徐美利,李云聪,徐亚超,等.不同产地甜叶菊绿原酸类成分含量分析及质量评价[J].中国食品添加剂,2021,4:6~11.
- [6] 曾建国.植物提取物及其饲料添加剂注册开发建议[J].饲料工业,2020,41(10):1~8.
- [7] 张民达,刘梦婷,李小莹,等.一测多评法测定甜叶菊中 6 种绿原酸类成分的含量[J].中国现代中药,2020,22(6):879~883.
- [8] Hui Yu, Gangqiang Yang, Minoru Sato, et al. Antioxidant activities of aqueous extract from *Stevia rebaudiana* stem waste to inhibit fish oil oxidation and identification of its phenolic compounds [J]. Food Chem, 2017, 232:379~386.
- [9] Zhao L, Yang H, Xu M, et al. Stevia residue extract ameliorates oxidative stress in D-galactose-induced aging mice via Akt/Nrf2/HO-1 pathway [J]. Journal of Functional Foods, 2019, 52:587~595.

先中文后英文,按拼音及字母顺序排序。

Simultaneous determination of 7 chlorogenic acids in *Stevia* extract by high performance liquid chromatography

JIA Zheng¹, XU Siyuan¹, YANG Jianzhong², CHI Lei³, LI Yajing³,
LI Lan¹, CUI Jie¹, XIAO Zhiming¹, Li Yang¹, FAN Xia^{1*}

(1. Institute of Quality Standard and Testing Technology for Agro-Products of CAAS, Beijing 100081, China;
2. Veterinary Medicine and Feed Supervision Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830063, China;
3. Zhucheng Haotian Pharm Co., Ltd., Zhucheng, Shandong Province 262218, China)

作者及地址顺序
务必与中文保持一致。

[Abstract] An analytical method for 7 chlorogenic acids of chlorogenic acid, 5-caffeoylquinic acid, 4-dicaffeoylquinic acid, 1,5-dicaffeoylquinic acid, isochlorogenic acid A, isochlorogenic acid B and isochlorogenic acid C in *Stevia* extract was established by high performance liquid chromatography. Chlorogenic acids were released by ultrasonic pretreatment. The analyses were performed on a C18 column with the gradient elution of acetonitrile-formic acid water at a flow rate of 1.0 mL/min. The results showed that the method was suitable for the determination of 7 chlorogenic acids. The limits of detection were 0.47~1.18 mg/kg. The correlation coefficients were greater than 0.9990. The recoveries were observed in the range of 95.1%~102.6%. This method was applied to determine chlorogenic acids in *Stevia* extract products, and the results were satisfactory.

[Key words] chlorogenic acid; high performance liquid chromatography; *Stevia* extract