HPLC 同时测定火麻仁中 α-亚麻酸、亚油酸和油酸含量

秦建平[1,2], 陆艳芹[1,2], 罗雪磊[1,2], 吴建雄[1,2], 李家春[1,2], 萧伟[1,2*]
(1. 江苏康缘药业股份有限公司,江苏 连云港 222001;
2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

[摘要] **目的**:建立同时测定火麻仁中的 α-亚麻酸、亚油酸和油酸含量的 HPLC 方法。**方法**:色谱柱为 Kromasil 100-5 C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm),以乙腈-0.1% 磷酸(80∶20)为流动相,流速 1 mL·min^{-1},柱温 30 ℃,检测波长 203 nm。**结果**:α-亚麻酸在 34.625 ~ 554 mg·L^{-1}(r = 0.999 9),亚油酸在 56.375 ~ 902 mg·L^{-1}(r = 1),油酸在 17.125 ~ 274 mg·L^{-1}(r = 0.999 9)呈良好的线性关系;平均回收率 α-亚麻酸为 96.38%,RSD 0.93%(n = 6);亚油酸为 97.79%,RSD 0.92%(n = 6);油酸为 97.06%,RSD 1.51%(n = 6)。**结论**:本法简便准确,专属性强,重复性好,可作为火麻仁的质量控制的参考。

[关键词] 火麻仁; α-亚麻酸; 亚油酸; 油酸; 高校液相色谱法
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)07-0071-04

Determination of α-Linoleic Acid, Linoleic Acid and Oleic Acid in Hemp Seed by HPLC

QIN Jian-ping[1,2], *LU Yan-qin*[1,2], *LUO Xue-lei*[1,2], *WU Jian-xiong*[1,2], *LI Jia-chun*[1,2], *XIAO Wei*[1,2*]
(1. *Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd*, *Lianyungang* 222001, *China*;
2. *State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process*, *Lianyungang* 222001, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: To establish a HPLC method for the determination of α-linoleic acid, linoleic acid and oleic acid in Hemp Seed. **Method**: The Kromasil 100-5 C_{18} (4.6 mm×250 mm, 5 μm) column was used with a mobile phase of acetonitrile-0.1% phosphoric acid (80∶20), the flow rate was 1 mL·min^{-1}, the column temperature was at 30 ℃, the detection wavelength was at 203 nm. **Result**:: The linear ranges of α-linoleic acid, linoleic acid and oleic acid were 34.625-554 mg·L^{-1} (r = 0.999 9), 56.375-902 mg·L^{-1} (r = 1) and 17.125-274 mg·L^{-1} (r = 0.999 9) respectively. The average recoveries were 96.38% with RSD 0.93% for α-linoleic acid, 97.79% with RSD 0.92% for linoleic acid, 97.06% with RSD 1.51% for oleic acid. **Conclusion**: The method can be used to control the quality of α-linoleic acid, linoleic acid and oleic acid in Hemp Seed, which is simple, accurate, convenient, specific and repeatable.

[**Key words**] hemp seed; α-linoleic acid; linoleic acid; oleic acid; HPLC

火麻仁为临床常用中药,又名大麻仁、大麻子、麻仁、火麻子、麻子仁,为桑科植物大麻的干燥成熟种子,具有润肠通便之功效[1]。火麻仁还可用于食品,是保健食品的良好原料。火麻仁含脂肪油约 30% 脂肪油为其主要药效成分之一。脂肪油中主要含饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸及其酯类等。以火麻仁油为主要食用油的广西巴马地区是世界著名的长寿之乡,其抗氧化作用已引起国内外学者注意,具有良好的保健品开发前景。因此,建立火麻仁中油脂成分的分析方法对火麻仁的系统研究具有重要意义。文献中关于火麻仁油脂或其他中药材中脂肪酸的化学成分研究多采用 GC[2-3] 和 GC-MS 法[4-5],但在分析过程中由于柱温很高,易使 α-亚麻酸、亚

[收稿日期] 20111008(001)
[基金项目] 国家科技部 973 计划项目(2010CB735604)
[第一作者] 秦建平,本科,工程师,从事中药质量标准研究,Tel:13861436436, E-mail:jianpingqin@gmail.com
[通讯作者] *萧伟,研究员级高级工程师,博士,从事中药新剂型的研究与开发,E-mail:wzhzh-nj@tom.com

油酸和油酸的双键断裂或产生双键的异构化现象。HPLC 亦有报道，但前处理繁琐需柱前衍生或采用梯度洗脱法[6-7]。本文建立 HPLC 测定火麻仁中 α-亚麻酸、亚油酸和油酸含量，供试品制备溶液的制备不需甲酯化，方法简便可靠，为火麻仁的质量控制提供参考。

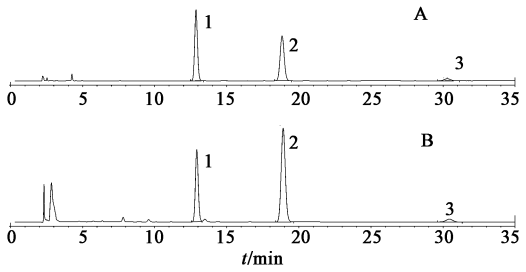
1 仪器和试药

Agilent 1200 高效液相色谱仪，α-亚麻酸对照品（批号 011M0417V，Sigma 公司），亚油酸（批号 111622-200602，中国药品生物制品检定所），油酸（批号 111621-201004，中国药品生物制品检定所），乙腈（色谱纯，上海星可生化有限公司），水（超纯水），其余试剂均为分析纯。

火麻仁购自广西、安徽和河北等地，经鉴定为桑科植物大麻 *Cannabis sativa* L. 的干燥成熟果实。

2 方法与结果

2.1 色谱条件 色谱柱 Kromasil 100-5 C_{18}（4.6 mm×250 mm，5 μm），流动相乙腈-0.1% 磷酸溶液（80∶20），流速 1 mL·min^{-1}，柱温 30 ℃，测定波长 203 nm，进样量 10 μL。见图 1。



A. 混合对照品；B. 样品；1. α-亚麻酸；2. 亚油酸；3. 油酸

图 1 对照品及样品液相色谱

2.2 对照品溶液的制备 取 α-亚麻酸、亚油酸和油酸对照品适量，精密称定，加 0.1% 磷酸乙腈制成每 1 mL 含 60，200，50 μg 的混合对照品溶液，即得。

2.3 火麻仁油脂的提取 取火麻仁粉末 2 g，精密称定，置锥形瓶中，先后加入石油醚（60～90 ℃）75 mL，超声提取（功率 250 W，频率 40 kHz）2 次，每次 30 min，滤过，合并滤液，减压回收石油醚（60～90 ℃），得火麻仁油脂，计算油脂得率，结果见表 1。

表 1 5 批火麻仁样品油脂得率

产地	取样量/g	油脂量/g	油脂得率/%
广西	2.000 7	0.627 1	31.34
广西	1.999 6	0.625 2	31.27
广西	2.107 2	0.621 8	29.51
安徽	2.085 2	0.553 9	26.56
河北	2.054 3	0.560 7	27.29

2.4 供试品溶液的制备 取火麻仁油脂约200 mg，精密称定，置圆底烧瓶内，加 0.5 mol·L^{-1} 的氢氧化钾乙醇溶液 10 mL，回流提取 30 min，放冷，加入酚酞试液 5 滴，加 0.5 mol·L^{-1} 的盐酸溶液至红色刚好褪去，溶液转移至 50 mL 量瓶中，用乙醇洗涤圆底烧瓶，洗涤液并入量瓶中，加乙醇至刻度，摇匀。精密量取 1 mL 置 10 mL 量瓶中，加乙醇至刻度，摇匀，即得。

2.5 定量限 按上述色谱条件用对照品溶液稀释进行试验，结果 α-亚麻酸、亚油酸和油酸的定量限分别为 2.464，5.640，32.87 ng。

2.6 线性关系的考察 精密称取对照品 α-亚麻酸 5.54 mg、亚油酸 9.02 mg 和油酸 2.74 mg，置 10 mL 量瓶中，加 0.1% 磷酸乙腈溶解并定容至刻度，摇匀，得 α-亚麻酸、亚油酸和油酸质量浓度分别为 554，902，274 mg·L^{-1} 的对照品溶液，再用 0.1% 磷酸乙腈对倍稀释，摇匀，即得。分别进样 10 μL，以峰面积为纵坐标（Y），进样量为横坐标（X），绘制标准曲线。结果见表 2。

表 2 线性范围、回归方程和相关系数

成分	线性范围/mg·L^{-1}	回归方程	r
α-亚麻酸	34.625～554	$Y=33.39X+4.988$	0.999 9
亚油酸	56.375～902	$Y=19.18X-2.193$	1
油酸	17.125～274	$Y=4.789X-2.739$	0.999 9

2.7 精密度试验 以产地广西的火麻仁样品为测定对象，精密称取样品一份，按 **2.3** 和 **2.4** 项下方法制备供试品溶液，重复进样 6 次，测得峰面积，计算 RSD，结果 α-亚麻酸、亚油酸和油酸峰面积的 RSD 分别为 0.01%，0.35%，0.20%。表明仪器和方法精密度良好。

2.8 稳定性试验 以产地广西的火麻仁样品为测定对象，精密称取样品一份，按 **2.3** 和 **2.4** 项下方法制备供试品溶液，分别于配制后 0，3，6，9，12，15，20，24 h 进样测定，测得峰面积，计算 RSD，结果 α-亚麻酸、亚油酸和油酸峰面积的 RSD 分别为 0.17%，0.15%，1.07%。结果表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.9 重复性试验 以产地广西的火麻仁样品为测定对象，按 **2.3** 和 **2.4** 项下方法制备供试品溶液，平行制备 6 份，按上述色谱条件进行测定，计算含量，结果 α-亚麻酸平均质量分数为 3.99%，RSD

1.78%;亚油酸平均质量分数为 15.11%,RSD 1.79%;油酸平均质量分数为 2.69%,RSD 1.87% 结果表明此方法重复性良好。

2.10 回收率试验 取广西的火麻仁样品(其中含 α-亚麻酸为 3.99%、亚油酸为 15.11%、油酸为 2.69%)约 1 g,精密称定,加入 α-亚麻酸 39.9 mg、亚油酸 151.1 mg 和油酸 26.9 mg,按 **2.3** 和 **2.4** 项下方法制备供试品溶液,平行制备 6 份,按上述色谱条件进行测定,计算含量,并计算回收率。结果平均回收率 α-亚麻酸为 96.38%,RSD 0.93%;亚油酸为 97.79%,RSD 0.92%;油酸为 97.06%,RSD 1.51%。结果见表 3 ~ 5。

表 3 α-亚麻酸加样回收率试验(n = 6)

No.	样品取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.003	40.02	39.92	78.32	95.94	96.38	0.93
2	1.092	43.57	40.20	82.56	96.99		
3	1.056	42.13	40.35	80.69	95.55		
4	1.048	41.82	39.86	80.25	96.42		
5	1.055	42.09	41.59	81.84	95.57		
6	1.027	40.98	40.83	80.92	97.83		

表 4 亚油酸加样回收率试验(n = 6)

No.	样品取样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.003	151.55	151.89	301.56	98.76	97.79	0.92
2	1.092	165.00	158.34	318.15	96.72		
3	1.056	159.56	156.92	314.28	98.60		
4	1.048	158.35	155.08	310.95	98.40		
5	1.055	159.41	156.85	312.06	97.32		
6	1.027	155.18	155.36	305.82	96.96		

表 5 油酸加样回收率试验(n = 6)

No.	称样量 /g	样品含量 /mg	加入量 /mg	测得总量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
1	1.003	26.98	27.32	53.20	95.97	97.06	1.51
2	1.092	29.37	28.06	56.88	98.02		
3	1.056	28.41	27.85	55.13	95.96		
4	1.048	28.19	28.61	55.57	95.70		
5	1.055	28.38	26.74	54.96	99.40		
6	1.027	27.63	26.89	53.80	97.34		

2.11 样品含量的测定 取 5 份不同来源的火麻仁,按 **2.3** 和 **2.4** 项下方法制备供试品溶液,每批平行制备 2 份,按上述色谱条件进行测定,计算,结果见表 6。

3 讨论

考察了油脂的提取溶剂、提取方法和提取时间,结果表明用石油醚(60 ~ 90 ℃)超声提取 30 min 提取效果较好;对供试品溶液的制备考察了提取时间和溶剂用量等,结果表明用氢氧化钾乙醇溶液 10 mL 回流提取 30 min 效果较佳。

由于 α-亚麻酸、亚油酸和油酸分子结构中仅含有非共轭双键,只有末端吸收,因此选择 203 nm 为检测波长。对于流动相的选择而言,在保证良好分离度的前提下,为避免基线的波动干扰,采用了乙腈-0.1% 磷酸系统作为流动相。

黄连的化学成分研究

王琦[1,2],李志峰[1,2*],陈刚[3],冯育林[1,2],范玫玫[1,2],裴月湖[3]
(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心,南昌 330006;
2. 江西中医学院,南昌 330006; 3. 沈阳药科大学中药学院,沈阳 110016)

[摘要] **目的**:研究毛茛科植物黄连 *Coptis chinensis* 的化学成分。**方法**:利用柱色谱、凝胶柱色谱、高效液相色谱等各种色谱技术对黄连的 95% 进行分离,根据其所得化合物的理化性质与 UV,IR,MS,NMR 等光谱数据鉴定其结构。**结果**:从黄连的 95% 乙醇提取物的氯仿萃取部分分离得到 7 个已知成分,分别鉴定为香草酸(**1**),落叶松树脂醇(**2**),原儿茶酸乙酯(**3**),小檗碱(**4**),丹参素甲酯(**5**),反式阿魏酰基酪胺(**6**),氧化小檗碱(**7**)。**结论**:其中,化合物(**3**),(**5**),(**6**)为首次从该属植物中分离得到。

[关键词] 结构鉴定; 柱色谱法; 黄连; 氯仿提取物
[中图分类号] R284.1 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)07-0074-03

Chemical Constituents from Coptis Chinensis Franch

WANG Qi[1,2], *LI Zhi-feng*[1,2*], *CHEN Gang*[3], *FENG Yu-lin*[1,2], *FAN Mei-mei*[1,2], *PEI Yue-hu*[3]
(1. *National Pharmaceutical Eengineering Center For Solid Preparation in Chinese Herbal Medicine*, *Nanchang* 330006, *China*; 2. *Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine*, *Nanchang* 330006, *China*; 3. *School of Traditional Chinese Materia Medica*, *Shenyang Pharmaceutical University*, *Shenyang* 110016, *China*)

[**Abstract**] **Objective**: Aim To study the chemical constituents of *Co. chinensis* Franch. **Method**: The compounds were separated and purified by column chromatography and their structures were established by spectroscopic methods. **Result**: Seven compounds were isolated from the chloroform extract of *C. chinensis* Franch,

[收稿日期] 20110506(008)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(30873368)
[第一作者] 王琦,副主任药师,从事医院制剂、药物研究相关信息及药事管理研究,Tel:0791-7119623,E-mail:wangqilizhifeng@126.com
[通讯作者] *李志峰,副教授,从事天然药物新药研发以及中药活性物质基础研究,Tel:0791-7119650,E-mail:wangqilizhifeng@126.com

表 6 样品中 3 种脂肪酸含量测定 %

产地	α-亚麻酸	亚油酸	油酸
广西	3.99	15.11	2.69
广西	3.54	14.52	2.48
广西	3.65	14.28	2.63
安徽	2.78	13.09	2.27
河北	3.02	12.85	2.13

[参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:74.
[2] 韩娜,赵建邦,宋平顺. 气相色谱法测定火麻仁中亚油酸及 α-亚麻酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011:17(3):83.
[3] 张志锋,刘圆,吴春蕾. GC 法测定中药红曲中油酸和亚油酸的含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2010:16(2):23.
[4] 周永红. 火麻仁油中脂肪酸的 GC-MS 分析[J]. 中国油脂,2004:29(1):72.
[5] 张媛,王之. 火麻仁脂溶性成分的 GC-MS 分析[J]. 西北植物学报,2006:26(9):195.
[6] 丁怡,唐星. 柱前衍生 HPLC 法测定薏苡仁油中的脂肪酸含量[J]. 药物分析杂志, 2004:24 (3): 249.
[7] 项琪,周莉玲,姚崇舜. HPLC 法测定鸦胆子油中的脂肪酸[J]. 中草药, 2006:37 (3):383.

[责任编辑 蔡仲德]