

毛细管GC法同时测定阿胶中5种脂肪酸的含量

刘雅娟*,任丽莉,陈国广#,仓惠,王丽平(南京工业大学药学院,南京 210000)

中图分类号 R284.1;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0642-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.24

摘要 目的:建立同时测定阿胶中5种脂肪酸含量的方法。方法:采用毛细管气相色谱法。色谱柱为HP-INOWax毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),气化室温度为230 ℃,检测器温度为280 ℃,流速为1 ml/min,分流比为20:1,载气为N₂,采用程序升温,氢火焰离子化检测器(FID)。结果:棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯的质量浓度分别在17.60~105.60 μg/ml($r=0.999\ 6$)、5.52~33.12 μg/ml($r=0.999\ 5$)、48.56~291.36 μg/ml($r=0.999\ 6$)、157.88~947.28 μg/ml($r=0.999\ 6$)、19.00~114.00 μg/ml($r=0.999\ 8$)范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系;平均加样回收率分别为101.94%、103.53%、102.76%、98.43%、101.87%,RSD分别为2.14%、1.93%、1.68%、2.34%、1.77%(n 均为9)。结论:本方法准确、灵敏,可用于阿胶中脂肪酸的含量测定。

关键词 毛细管气相色谱法;脂肪酸;阿胶;含量测定;植物油

Simultaneous Determination of 5 Fatty Acids in *Equus asinus* by Capillary GC Method

LIU Ya-juan, REN Li-li, CHEN Guo-guang, CANG Hui, WANG Li-ping (School of Pharmaceutical Sciences, Nanjing University of Technology, Nanjing 210000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of 5 fatty acids in *Equus asinus*. METHODS: Capillary GC method was adopted. The determination was performed on HP-INOWax capillary column (30 m×0.32 mm×0.25 μm) at the flow rate of 1 ml/min using nitrogen gas as carrier gas and FID as the detector. The temperature-programmed method was used. The temperature of vaporizer was 230 ℃ and that of detector was 280 ℃. The split ratio was 20:1. RESULTS: The linear ranges of methyl palmitate, methyl stearate, methyl oleate, methyl linoleate and methyl linolenate were 17.60-105.60 μg/ml ($r=0.999\ 6$), 5.52-33.12 μg/ml ($r=0.999\ 5$), 48.56-291.36 μg/ml ($r=0.999\ 6$), 157.88-947.28 μg/ml ($r=0.999\ 6$) and 19.00-114.00 μg/ml ($r=0.999\ 8$); average recoveries were 101.94%, 103.53%, 102.76%, 98.43% and 101.87%, and RSDs were 2.14%, 1.93%, 1.68%, 2.34% and 1.77% ($n=9$). CONCLUSION: This method is accurate, sensitive and suitable for the content determination of fatty acids in *E. asinus*.

KEY WORDS Capillary GC; Fatty acids; *Equus asinus*; Content determination; Vegetable oils

阿胶是马科动物驴 *Equus asinus* L. 的干燥皮或鲜皮经煎煮、浓缩制成的固体胶,为我国的传统中药,具有滋阴补血、润燥、止血之效。它与人参、鹿茸并称为“中药三宝”,是补血的“圣药”^[1-2]。

不饱和脂肪酸(如亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸等)是构成体内脂肪的一种人体必需的脂肪酸,有较高的营养价值,在人体内起着很重要的作用:能调节基因的表达;可以转化成前列腺素、凝血黄素、白三烯素,调节人体内某些重要的生理功能;亚油酸的衍生物可防治高血脂和高胆固醇血症; α -亚麻酸在体内衍生成维持视紫红质正常功能所必需的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)^[3]。传统的阿胶制备过程中,使用的是豆油,本试验拟使用核桃油代替豆油制备阿胶;再采用毛细管气相色谱(GC)法同时测定阿胶中3种不饱和脂肪酸(油酸、亚油酸、亚麻酸)和2种饱和脂肪(棕榈酸、硬脂酸)的百分含量^[4-5],为其质量控制提供依据。

1 材料

* 硕士研究生。研究方向:药物制剂。E-mail: liuyajuan64@163.com

通信作者:教授,硕士研究生导师,博士。研究方向:药物制剂。电话:025-58139416。E-mail: guoguangchen@163.com

1.1 仪器

2014型GC仪、GC-Solution工作站(日本岛津公司);数显恒温水浴锅(常州国华电器有限公司);80-2型医用低速离心机(江苏省金坛市正基仪器有限公司)。

1.2 试剂

棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯、十一酸甲酯(内标物)、三氟化硼甲醇络合物均购自阿拉丁试剂(上海)有限公司;正己烷(分析纯,上海试剂四赫维化工有限公司)。

1.3 植物油

阿胶(豆油)为使用豆油制成的阿胶(山东东阿修元阿胶生物集团有限公司);阿胶(核桃油)为笔者自制的使用核桃油制成的阿胶;阿胶(豆油+核桃油)为市购的阿胶加入适量核桃油所得。

2 方法与结果

2.1 植物油的甲酯化

参照《中国药典》方法^[6],取植物油20 mg,置10 ml具塞试管中,加入0.5 mol/L的氢氧化钾甲醇溶液2 ml,于65 ℃水浴中皂化约15 min,待油珠溶解后放冷,加入15%三氟化硼甲醇溶液2 ml,再于65 ℃水浴中甲酯化2 min后放冷,加入正己烷2 ml,摇匀,静置,待分层后取上层液进样测定。

2.2 色谱条件

色谱柱:HP-INOWax毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm);载气:N₂;程序升温:柱温为180℃,保持4 min,以20℃/min升温至230℃,保持10 min;气化室温度:230℃;检测器:氢火焰离子化检测器(FID);检测器温度:280℃;流速:1 ml/min;分流比:20:1(V/V)。

2.3 溶液的准备

2.3.1 内标贮备液 精密称定十一酸甲酯48.94 mg,置50 ml量瓶中,加正己烷溶解并稀释至刻度,即得。

2.3.2 对照品贮备液 分别精密称定棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯依次为8.80、2.76、24.28、78.94、9.40 mg,置于50 ml量瓶中,加正己烷溶解并稀释至刻度,作为各对照品贮备液。

2.3.3 供试品溶液 取10 g阿胶置于烧杯中,加适量蒸馏水溶解,待全部溶解后加正己烷萃取,离心,上层液以氮气吹干后,照“2.1”项下方法甲酯化,即得。

2.4 线性关系考察

分别精密吸取各对照品贮备液0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 ml,置5 ml量瓶中,并在各量瓶中分别精密加入内标贮备液1 ml,加正己烷稀释至刻度,摇匀。按上述色谱条件分别进样1 μl,绘制色谱图(见图1),可见各脂肪酸甲酯分离良好;再记录峰面积,计算各对照品与内标物的峰面积比。以质量浓度(x, μg/ml)为横坐标,峰面积比(y)为纵坐标,进行线性关系考察,结果见表1。

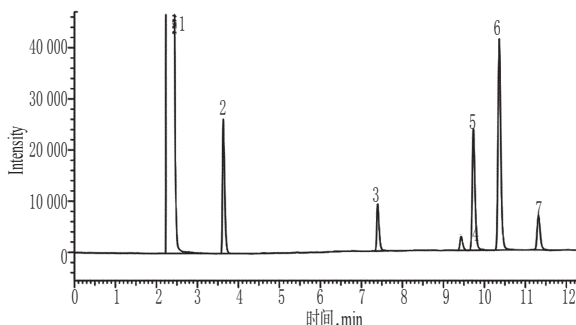


图1 内标物与各对照品的GC图

1.正己烷;2.十一酸甲酯;3.棕榈酸甲酯;4.硬脂酸甲酯;5.油酸甲酯;6.亚油酸甲酯;7.亚麻酸甲酯

Fig 1 GC chromatograms of internal standard and control

1. n-Hexane; 2. methyl undecanoate; 3. methyl palmitate; 4. methyl stearate; 5. methyl oleate; 6. methyl linoleate; 7. methyl liolenate

表1 线性关系考察结果(n=6)

Tab 1 Results of linear ranges(n=6)

对照品	线性范围, μg/ml	回归方程	r
棕榈酸甲酯	17.60~105.60	y=0.005 7x-0.013 2	0.999 6
硬脂酸甲酯	5.52~33.12	y=0.006 0x-0.000 7	0.999 5
油酸甲酯	48.56~291.36	y=0.006 3x-0.050 9	0.999 6
亚油酸甲酯	157.88~947.28	y=0.003 3x-0.094 0	0.999 6
亚麻酸甲酯	19.00~114.00	y=0.004 7x-0.001 9	0.999 8

2.5 精密度试验

分别取“2.4”项下各对照品的第4点溶液,照上述色谱条件连续进样6次,记录峰面积,计算各脂肪酸甲酯与内标物的峰面积比。结果,棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯对应的RSD分别为2.14%、2.52%、2.09%、

1.53%、1.91%(n均为6),表明仪器精密度良好。

2.6 重复性试验

取阿胶(豆油)适量,共6份,精密称定,分别按“2.3.3”项下方法处理后,照上述色谱条件进样分析。结果,棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯对应的RSD分别为2.04%、2.18%、1.52%、1.69%、2.13%(n均为6),表明本方法重复性良好。

2.7 稳定性试验

取同一阿胶(豆油)的供试品溶液适量,室温放置,分别于0、2、4、8、12、24 h按上述色谱条件进样分析。结果,棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯对应的RSD分别为1.82%、2.31%、1.89%、1.34%、2.03%(n均为6),表明供试品溶液在室温下24 h内稳定。

2.8 加样回收率试验

精密称取已测得脂肪酸含量的样品适量,共9份,分别置5 ml量瓶中,精密加入内标贮备液1 ml,再精密加入各对照品贮备液1、2、3 ml各3份,加正己烷稀释至刻度,制备成高、中、低质量浓度梯度的供试品溶液,按脂肪酸甲酯测定法测定,计算加样回收率。结果,棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯对应的加样回收率分别为101.94%、103.53%、102.76%、98.43%、101.87%,RSD分别为2.14%、1.93%、1.68%、2.34%、1.77%(n均为9)。

2.9 植物油的样品分析

分别取适量豆油和核桃油,经甲酯化处理后上GC仪,使用内标法测定植物油中各脂肪酸的百分含量,结果见表2。

表2 植物油中各脂肪酸的百分含量(%)

Tab 2 The percentage of fatty acids in vegetable oils(%)

植物油	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
豆油	11.45	4.86	21.87	55.55	6.27
核桃油	6.16	2.39	18.92	66.43	6.11

结果表明,豆油中不饱和脂肪酸的百分含量为83.69%,而核桃油高达91.46%,表明核桃油的营养价值高于豆油。

2.10 阿胶的样品分析

分别取适量处理好的阿胶(豆油)、阿胶(核桃油)、阿胶(豆油+核桃油)样品上GC仪(色谱见图2),使用内标法测定样品中各脂肪酸的百分含量,结果见表3。

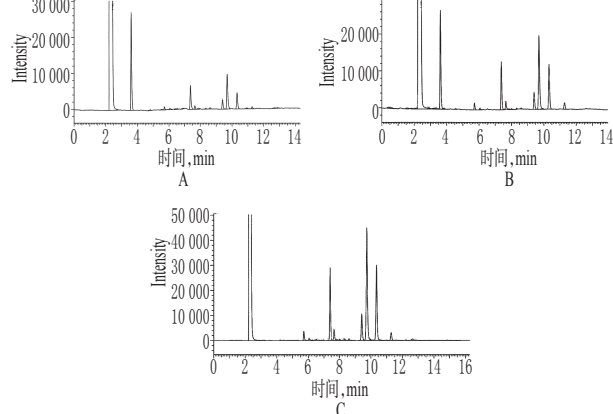


图2 供试品的GC图

A.阿胶(豆油);B.阿胶(核桃油);C.阿胶(豆油+核桃油)

Fig 2 GC chromatograms of test samples

A. *E. asinus*(bean oil); B. *E. asinus*(walnut oil); C. *E. asinus*(bean oil+walnut oil)

HPLC法测定复方苍苍鼻喷雾剂中黄芩苷的含量

韩宪忠*, 金蜀蓉#, 柯昌毅, 谢剑锋(重庆市第三人民医院, 重庆 400014)

中图分类号 R283.61;R927.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)07-0644-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.07.25

摘要 目的:建立测定复方苍苍鼻喷雾剂中黄芩苷含量的方法。方法:采用高效液相色谱法。色谱柱为 Waters Symmetry C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-水-磷酸(47:53:0.2, V/V/V), 流速为 1.0 ml/min, 检测波长为 280 nm, 柱温为 20 ℃。结果:黄芩苷的质量浓度在 6.2~310.0 μg/ml 范围内与峰面积积分值呈良好线性关系($r=0.9993$);平均加样回收率为 98.72%, RSD=0.89% ($n=9$)。结论:本方法简便、快速、准确、重复性好,可用于复方苍苍鼻喷雾剂中黄芩苷的含量测定。

关键词 复方苍苍鼻喷雾剂;高效液相色谱法;黄芩苷;含量测定

Content Determination of Baicalin in Compound Qincang Nasal Sprays by HPLC

HAN Xian-zhong, JIN Shu-rong, KE Chang-yi, XIE Jian-feng (Chongqing Third People's Hospital, Chongqing 400014, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for the content determination of baicalin in Compound qincang nasal sprays. METHODS: HPLC method was adopted. The determination was performed on Waters Symmetry C₁₈ (150 mm×4.6 mm, 5 μm) column with mobile phase consisted of methanol-water-phosphoric acid (47:53:0.2, V/V/V) at the flow rate of 1.0 ml/min. The detection wavelength was set at 280 nm and column temperature was 20 ℃. RESULTS: The linear range of baicalin was 6.2-310.0 μg/ml ($r=0.9993$) with an average recovery of 98.72% (RSD=0.89%, $n=9$). CONCLUSION: The method is simple, rapid, accurate and reproducible, and it is suitable for the content determination of baicalin in Compound qincang biyan sprays.

KEY WORDS Compound qincang nasal sprays; HPLC; Baicalin; Content determination

鼻炎是发生在鼻腔黏膜的炎性疾病,为耳鼻喉科常见病、多发病。其临床症状主要表现为鼻内发痒、打喷嚏、流清鼻

涕、鼻塞等,严重影响患者的生活质量^[1]。古方“苍耳散”具有散风祛湿、通九窍、抗菌等作用,治疗鼻炎效果显著^[2]。笔者

表3 阿胶中各脂肪酸的百分含量(%)

Tab 3 The percentage of fatty acids in *E. asinus* (%)

样品	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
阿胶(豆油)	23.21	11.88	42.82	19.66	2.43
阿胶(核桃油)	21.17	8.98	41.70	24.41	3.74
阿胶(豆油+核桃油)	20.08	8.69	41.79	25.78	3.65

表3表明,阿胶(豆油)中不饱和脂肪酸的百分含量为64.91%,阿胶(核桃油)中不饱和脂肪酸的百分含量为69.85%,阿胶(豆油+核桃油)中不饱和脂肪酸的百分含量为71.22%,尤其是亚油酸和亚麻酸的百分含量有了提高。

3 讨论

阿胶中成分复杂,样品上GC仪后出峰很多,但棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和亚麻酸仍是最主要的峰。试验结果表明,使用传统法制得的阿胶,不饱和脂肪酸的百分含量约为65%,而加入核桃油后,不饱和脂肪酸的百分含量提高至约70%,尤其是亚油酸和亚麻酸的百分含量有了提高。

阿胶作为传统补血圣药,广为人们接受。本试验结果表明,在阿胶的制备过程中使用核桃油代替豆油,可提高阿胶中

不饱和脂肪酸的百分含量,尤其可提高亚油酸和亚麻酸的百分含量,起到更好的防治高血脂和高胆固醇血症、提供人体所必需的EPA和DHA等的作用。

综上,本方法准确、灵敏,可用于阿胶中脂肪酸的含量测定。

参考文献

- [1] 鄢丹,韩玉梅,董小萍. 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测法同时测定阿胶中的17种未衍生氨基酸[J]. 色谱, 2006, 24(4): 359.
- [2] 刘文义,王莉丽. 阿胶补益成分分析方法的研究进展[J]. 齐鲁药事, 2009, 28(11): 682.
- [3] 杨明义. 核桃油中脂肪酸含量的测定[J]. 大连民族学院学报, 2006, 8(1): 95.
- [4] 刘丹,韩飞,礼嵩,等. 毛细管GC法同时测定鸦胆子油注射液4种脂肪酸的含量[J]. 中国药房, 2012, 23(4): 364.
- [5] 陈雅,孟德胜,吴畏,等. 气相色谱法测定松籽油中 γ -亚麻酸的含量[J]. 中国药房, 2006, 17(5): 377.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:二部[S]. 2010年版. 北京:中国医药科技出版社, 2010: 1 183.

(收稿日期:2012-03-02 修回日期:2012-05-28)

* 药师, 硕士。研究方向: 中药制剂及临床药学。电话: 023-63501082。E-mail: Hxz5981@163.com

通信作者: 主任药师。研究方向: 医院药学和临床药学。电话: 023-63501082。E-mail: jsr6578@163.com