

沙棘油中 α -生育酚及其异构体的HPLC法分析研究

山西省中医研究所(太原 030012) 黄亦琦*
轻工部日化研究所 肖玉燕

摘要 用氨基柱以正相分配色谱法对沙棘油中 α -生育酚及其异构体进行了分离,以紫外检测器292nm检测。本法简便,分离良好,移动相无毒。

关键词 HPLC 沙棘油 维生素E α -生育酚

沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. 是胡颓子科沙棘属的灌木或亚乔木。其果实性温、味酸涩,具止咳祛痰、消食化滞、活血化淤的功效。果实中含有极为丰富的维生素等生物活性成分,具有很高的营养和药用价值。沙棘的果皮、果肉、果汁及种子中都含有油, α -生育酚是沙棘油中主要的维生素成分。分析油中 α -生育酚的有荧光法^[1,2]、紫外法^[3]和电化学法^[4]等,均以 C_{18} 的反相色谱法分离,样品需进行各种预处理,而HPLC法分析沙棘油中 α -生育酚的报道很少^[5]。本文采用氨基柱作正相分配分离,紫外检测器检测波长292nm,操作条件容易控制,样品不需任何预处理,成功地对沙棘油(包括果核、果渣和果汁漂浮物等)中的 α -生育酚及其异物体进行分离和测定。

1 实验部分

1.1 仪器: Waters高效液相色谱仪,包括510型高压泵,680型梯度程序器, U6K进样器, 490型紫外检测器, 740型数据处理机, Radial-pak M-NH₂柱(100×8mm)和Rcsoive-C N预柱。

1.2 试剂与样品: 所用试剂均AR级。移动相均用0.5 μ m滤膜过滤器(Millipore产品)过滤,用前超声波充分脱气。标准 α -、 β -、 γ -和 δ -生育酚均为含量99%的Merck产品。沙棘油由轻工部日化所提供(沙棘品种由山西省沙棘办公室选定并采集)。

1.3 样品测定和色谱条件: 沙棘油样品用己烷溶解并经0.5 μ m滤膜的样品过滤器过滤后进色谱柱,移动相为己烷-异丙醇(98:2),流速0.99ml/min,纸速2min/cm,紫外检测波长292nm, 1AUFS。

2 结果与讨论

2.1 生育酚的结构与分离: 天然存在的维生素E有生育酚和生育三烯酚2类,每类又分别有 α -、 β -、 γ -和 δ -四种异构体,各种异构体有其各自的药用价值,其中以 α -生育酚活性最强。沙棘中的VE主要含 α -生育酚。生育酚在氨基柱上的保留值随着移动相中异丙醇含量的增加而降低,经试验以98:2的己烷-异丙醇移动相获得良好的分离,如图1。

在本试验条件下, α -生育酚较其它异构体先流出色谱柱,依次是 β -和 δ -生育酚,因 β -和 γ -生育酚结构相似,碳数相同,仅甲基在苯环上的位置不同,所以它们的保留值较接近。

2.2 最大吸收波长的选择: 用标准 α -生育酚在490紫外检测器上测得的吸收光谱与UNICA M-SP700紫外分光光度计扫描测得的吸收光谱相似,见图2,峰Ⅱ为其特征峰, $\lambda_{max}=292\sim 295$ nm,本文以292nm作为吸收波长。

*Address: Huang Yiqi, Shanxi Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan

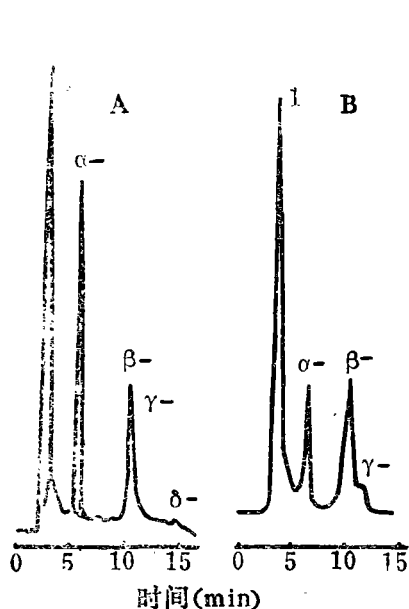


图1 α -生育酚及其异构体的HPLC图谱

A-沁源4-2种子油 B-苛岚5-2种子油

1-VE以外组分 α 、 β 、 γ 、 δ -生育酚

2.3 定性：除用标准 α -生育酚的保留值进行一般定性外，同时以 α -生育酚在不同波长下的吸收度比的差异进行比较，图3为沙棘油样品中加入标准 α -生育酚前后在不同波长下测得的峰面积之比几乎不变，说明该峰系纯的 α -生育酚峰。

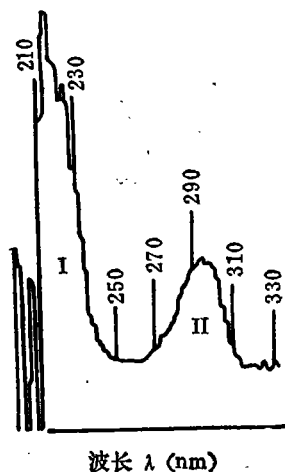


图2 标准 α -生育酚紫外光谱图

另外，将图1中的 α -生育酚峰和 β -生育酚峰及标准 α -生育酚在同样条件下扫描，三者吸收光谱完全相似，见图4，这进一步证实了分离的可靠性。

2.4 线性范围：标准 α -生育酚的浓度（0.065~0.46 μ g）与对应的峰面积或峰高作图有良好的线性关系，进样量大于0.5 μ g时偏离标线。

2.5 正确度、精确度和分析结果：在已测定了 α -生育酚含量的沙棘油样品中分别加入不同量的已知标准 α -生育酚，再进行测定，其回收率大于97%（ $n=5$ ）。测定不同含量的样品，其变异系数为3%左右。

（下转第148页）

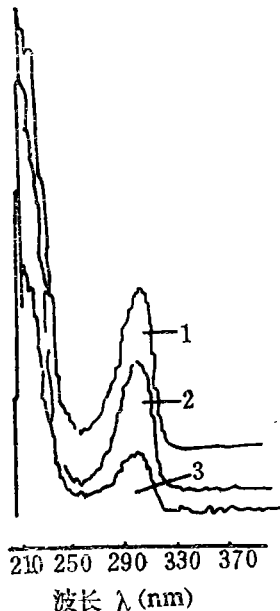
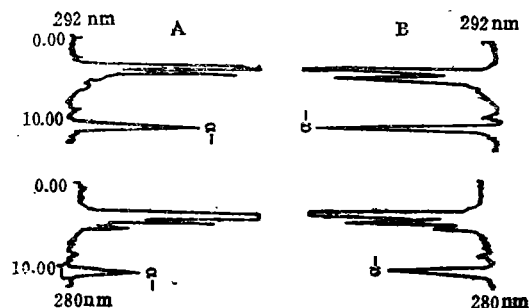


图4 生育酚紫外扫描光谱图

1- α -生育酚 2-样品中 α -生育酚 3-样品中 β -生育酚



吸收比A = 1.72 B = 1.70

图3 沙棘油 (A) α -和生育酚 (B) HPLC图谱

移动相：己烷·异丙醇（99：1）

表2 3年生大粒和普通人参重量分析

项目	大粒人参 平均重(g)	普通人参 平均重(g)	增重 (g)	增重率(%)
3年生	14	10.38	3.62	34.88

最大只能达到21g但数量很少。大粒种子的曲线比较平缓,只是在7g的重量等级处突起较明显,但和普通种子的曲线比,低了许多,另外还比5g重量等级处提高了2g。大粒参籽生长3年的变化范围为0.1~37g,说明人参生长变化幅度较大,最大的可以达到37g,根重体大的人参增多,这样可以在移栽选栽时选大去小,提高人参的单位面积产量。

2.3 统计分析:我们对前测量中的重量部分进行了整理分析,结果见表2。

从表2可以看出大粒种子的3年生人参比普通种子的3年生人参平均每株增重3.62g,增长幅度为34.88%,对此我们对表2中的大粒人参平均每株的重量和普通人参平均每株的重量用u测验公式 $\frac{\bar{x}-u}{\sigma\sqrt{n}}$ 进行了数理分析,测得 σ 为9.1,已知样本为37,结果:

$$u = \frac{14 - 10.38}{9.1\sqrt{37}} = 2.41 > 1.96$$

已知 $u_{0.05} = 1.96$,通过统计分析证明,大粒人参种子生长3年后,人参平均每株的重量都超过了普通3年生人参的重量,而且增重的幅度是显著的。

3 讨论与展望

经过试种大粒人参种子3年来的经验证明,种子的千粒重与生长量成正相关,种子大而重,人参生长速度就快,大粒人参种子播种3年后,比普通人参种子播种3年后生长速度快,人参增重也比较明显。如果我们目前都选用大粒参籽播种,可大幅度的提高参栽的单位面积产量。同时也有利于我们在移栽时选优去劣提高人参的质量和产量。

(1993-03-04收稿)

(上接第131页)

应用此方法我们对山西省沙棘办公室选取的有代表性7县沙棘的VE含量进行了分析测定,并对结果进行了比较研究^[6],结果表明,种子油中除含有 α -生育酚外,还含有较多的 $\beta(\gamma)$ -生育酚。果渣(果皮、果肉)和果汁中则主要含 α -生育酚。

3 结语

采用正相分配HPLC法, α -生育酚与存在的其它活性组及其异构体之间均能很好地进行分离。同时避免了反相色谱法中常用的有毒溶剂以及吸附色谱法中需控制硅胶柱和移动相中的水份等麻烦。样品不需任何预处理,操作方便,方法准确。

参 考 文 献

- Memurray C H, et al. J Chromatogr, 1979, 178(2): 525
- Memurray C H, et al. J Chromatogr, 1979: 176(3): 485
- Andrej DE, et al. J Chromatogr, 1979, 162: 408
- Vandewoude M, et al. J Chromatogr, Biomed, Appl, 1984, 9: 176
- 宋端博,等.色谱,1988,6(5): 317
- 黄亦琦,等.中国中药杂志,1991,11(9): 530

(1993-04-04收稿)

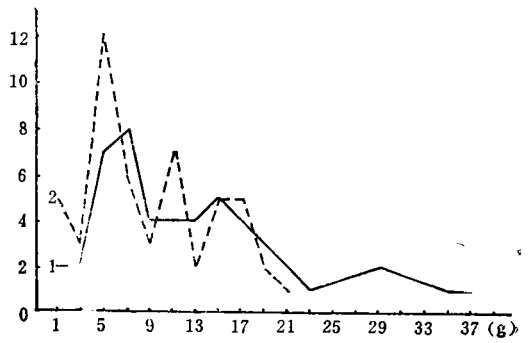


图2 播种3年后大粒和普通种子人参生长曲线

1-大粒种子 2-普通种子