

羊藿甙的含量。结果表明,不同产地药材制备的有效部位中活性成分淫羊藿甙含量差别较大,最高为 29.49%,最低为 10.73%,平均为 20.58%。提示我们制备淫羊藿降压有效部位时应注意原料药材产地,并为其质量标准的制定提供了参考。

参 考 文 献

- 1 江苏新医学院. 中药大辞典(下册). 上海:上海人民出版社,1971,2250
- 2 王小沙,等. 中国中西医结合杂志,1994,14(2):123
- 3 孔令义,等. 波谱学杂志,1996,13(6):595

(1997-01-09 收稿)

Content Analysis of Icariin in Hypotensive Portion of Longspur Epimedium (*Epimedium grandiflorum*) by Rp-HPLC

Kong Lingyi and Li Yi

A new method for content analysis of icariin in hypotensive portion of *Epimedium grandiflorum* by Rp-HPLC was established. The content of icariin in the hypotensive portions of crude drug prepared from different localities of China were determined. Results showed that the method may lay a good foundation for the quality control of preparation made from the hypotensive portion of *E. grandiflorum*.

毛细管气相色谱内标法测定月见草 种子油中 γ -亚麻酸的含量

生化教研室(100071) 路萍* 赖炳森 王映强 谭亚芳
中国人民解放军北京医学高等专科学校 色谱学实验室 颜小林 郑成贵

摘 要 讨论了用毛细管气相色谱法测定月见草种子油中的 γ -亚麻酸含量,种子油中脂肪酸用 0.5 mol/L 氢氧化钾-甲醇液皂化,三氟化硼-甲醇液酯化成脂肪酸甲酯。采用 Rtx-5 毛细管柱,十七烷酸($C_{17,0}$)甲酯作为内标物,对 γ -亚麻酸进行了定量分析。结果表明,月见草种子油中 γ -亚麻酸的含量占 11.23%。

关键词 气相色谱法 γ -亚麻酸 月见草 内标法

月见草油中的有效成分是 γ -亚麻酸,在医学上具有较大的应用价值,特别是在降血脂、抑制血小板聚集、抗动脉粥样硬化和抗脂质过氧化等方面具有广阔的应用前景^[1]。月见草油中脂肪酸的分析,多采用填充柱气相色谱法,我们采用空心石英毛细管柱气相色谱法分析月见草油中的脂肪酸,并用内标法对 γ -亚麻酸的含量进行了测定。

1 材料与仪器

1.1 样品:月见草种子购于吉林通化。将粉碎的月见草种子 80 g,置滤纸筒内于索式提取器中,用乙醚回流提取 6 h^[2],回收溶剂得到月见草种子油,收率为 17.5%。

1.2 脂肪酸标准品:十七烷酸($C_{17,0}$)甲酯, γ -亚麻酸($C_{18,3}$)甲酯、亚油酸($C_{18,2}$)。纯度 >99%,Sigma 公司产品。

* Address: Lu Ping, Department of Chemistry, Beijing Medical College of PAL, Beijing

路萍女,讲师,1983年毕业于中国人民解放军第三军医大学军医专业,学士学位。毕业后一直在中国人民解放军北京医学高等专科学校从事生物化学教学和科研工作。在全国各级刊物发表医学论文 20 余篇,其中《超临界 CO_2 技术萃取蛋黄磷脂的研究》属国内先进水平,获中国人民解放军科技进步二等奖。《猪脾转移因子制剂对红细胞功能影响的研究》获中国人民解放军科技进步三等奖。目前正在从事多烯脂肪酸实验方面的研究工作。

1.3 仪器:美国 PE 公司 Autosystem XL 气相色谱仪。

1.4 试剂:乙醚、石油醚、乙酸、正己烷、甲醇、三氟化硼、氢氧化钾、氯化钠等均为分析纯。

2 实验方法

2.1 样品的甲酯化^[3,4]:精确称取油液 0.4 g,加入 0.5 mol/L KOH-MeOH 2 mL,60 °C 水浴 15~20 min(至油珠完全消失),冷却后加 14%BF₃-MeOH 2 mL,60 °C 水浴 5 min,冷却,加正己烷 2 mL,饱和氯化钠溶液 2 mL,离心分层,上清液备用。

精确称取标准品(C_{18:2})1 mg,按上述方法进行甲酯化。用正己烷配成 1 mg/mL 的溶液。

2.2 未酯化样品的制备^[5]:精确称取油样 0.4 g,加 0.5 mol/L KOH-MeOH 2 mL,60 °C 水浴 15 min,冷却后,加蒸馏水 2 mL,溶解脂肪酸盐,用石油醚洗涤 3 次,除去非皂化物,再加 2 mol/L HCl 1 mL,放置 30 min,进行酸化,用石油醚洗涤 3 次,用水洗至中性,加无水硫酸钠干燥,蒸去石油醚得混合脂肪酸。

精确称取脂肪酸标准品 C_{18:2} 1 mg,用正己烷配成 1 mg/mL 的溶液。

2.3 薄层层析法鉴定甲酯化程度:各取甲酯化和未酯化样品(1 mg/mL)10 μL 点于硅胶 G(60 型)薄层板上(20 cm×5cm)110 °C 活化,用石油醚-乙醚-乙酸(70:30:2)展开,用碘蒸气显色。结果见图 1。

2.4 气相色谱分析条件:Rtx-5 空心石英毛细管柱(WCOT),30 m×0.25 mm;固定液为 5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷;不分流、分流进样,分流比 30:1;载气为 N₂,柱前压 112kPa;检测器为 FID,空气 39kPa,氢气 30 mL/min;进样口和检测器温度 270 °C;采用程序升温法:起始温度 170 °C,以 2 °C/min 速率升温到 225 °C 后,以 30 °C/min 速率升温至 285 °C,并维持该温度 5 min。进样量 1 μL。

3 结果

3.1 标准曲线:精密称取标准品 γ-亚麻酸甲酯和内标物 C_{17:0}甲酯各 2 mg,分别置于 2 mL 容量瓶中,用正己烷溶解至刻度,配成 2 mg/mL 的标准溶液。

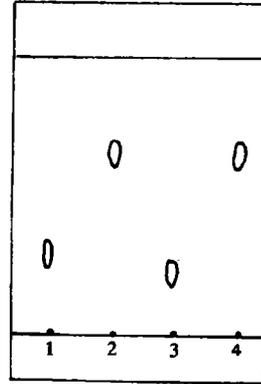


图 1 薄层色谱图

1-未酯化 C_{18:2} R_f=0.223 2-酯化 C_{18:2} R_f=0.657 3-未酯化月见草种子油 R_f=0.153
4-酯化月见草种子油 R_f=0.667

将不同浓度的 γ-亚麻酸甲酯和内标物 C_{17:0}甲酯(2 μg/μL)等比例混合,取混合液 1 μL,按色谱条件分别进样测定,峰面积比值见表 1。

表 1 γ-亚麻酸甲酯和 C_{17:0}甲酯峰面积比值

编号	γ-亚麻酸含量(μg/μL)	A _r /A _{17:0}
1	0.125	0.125
2	0.250	0.212
3	0.500	0.387
4	0.750	0.561
5	1.000	0.736

A_r:γ-亚麻酸甲酯标准品峰面积,A_{17:0}:内标物 C_{17:0}甲酯峰面积。

绘制峰面积比值-浓度曲线图,Y=0.038023+0.697893X,r=0.992848。

3.2 样品测定:以正己烷为溶剂,将甲酯化的月见草种子油样品配成浓度为 10 mg/mL 的溶液,与内标物 C_{17:0}甲酯 2 mg/mL 等比例混合,取 1 μL 进样,对月见草种子油中 γ-亚麻酸甲酯的含量进行测定,样品测定三次求均值,月见草种子油中 γ-亚麻酸酸的含量占 11.23%,RSD=3.49%。因为样品是经过甲酯化后再进行色谱分析,在计算 γ-亚麻酸的实际含量时,要将 γ-亚麻酸甲酯乘以系数

0.952,该系数是 γ -亚麻酸分子量与 γ -亚麻酸甲酯分子量之比。

气相色谱图见图2和图3。

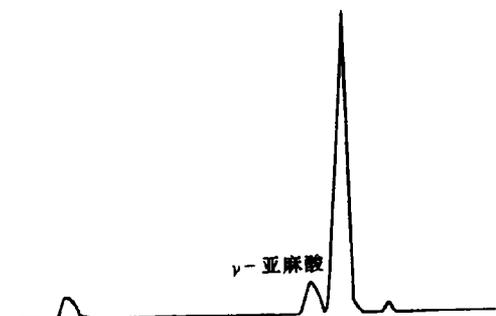


图2 月见草种子油中 γ -亚麻酸气相图

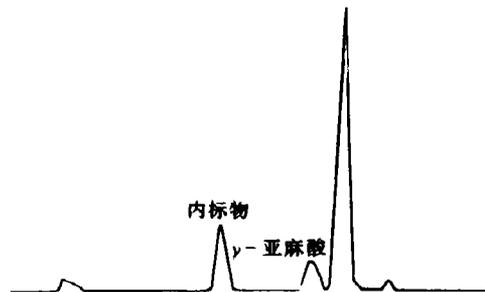


图3 月见草种子油中 γ -亚麻酸和内标物气相图

4 讨论

4.1 以往气相色谱法分析月见草油中脂肪酸的含量,存在一定的困难^[6],主要是不易使 γ -亚麻酸的色谱峰与其相邻峰亚油酸(含量约占73.5%)达到基线分离。为了提高柱效,改善分离度,能准确测定 γ -亚麻酸的含量,我们用空心石英毛细管柱,固定相为5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷,并采用程序升温的方法对月见草油中的脂肪酸进行分离,分离效果良好。测定结果表明,月见草种子油

中 γ -亚麻酸的含量为11.23%(RSD=3.49%)

4.2 气相色谱法测定月草油中 γ -亚麻酸含量,大多采用外标法,常因进样误差影响结果的准确性。本文采用内标法较好排除和避免了分析过程中的干扰因素和影响,大大地减少了误差,标准曲线的相关系数 $r=0.992848$ 。所用内标物正十七烷酸甲酯能与组分峰完全分开,且与待测组分相邻,保证了 γ -亚麻酸含量测定的准确性和精密度。

4.3 分析结果可以说明,酯化 $C_{18,2}$ 和酯化月见草种子油的Rf值分别是0.657和0.667,与未酯化 $C_{18,2}$ 和未酯化月见草种子油脂肪酸的Rf值(0.223和0.153)差异较大,说明酯化与未酯化样品能完全分开,酯化反应较完全。

4.4 实验结果还表明,月见草种子油直接甲酯化与从油样中提取脂肪酸后再行甲酯化后的样品用内标法测定两者的 γ -亚麻酸含量比较,前者的 γ -亚麻酸含量大与后者,说明用油样直接甲酯化避免了样品中的脂肪酸的丢失或被氧化,提高了含量测定的准确性。

参考文献

- 1 林峰,等.中国药学杂志,1994,29(15):263
- 2 张广强,等.中药材,1991,14(1):38
- 3 芮适之,等.现代应用药学,1987,4(5):18
- 4 李庆民,等.药物分析杂志,1994,14(3):35
- 5 张崇禧,等.中成药研究,1987,(6):26
- 6 韦业成,等.药物分析杂志,1990,10(1):15

(1996-12-16 收稿)

Determination of γ -Linolenic Acid in Oil of Fragrant Eveningprimrose (*Oenothera odorata*) by Capillary GC Internal Methods

Lu Ping, Yan Xiaolin, et al

A method of capillary GC for the determination of fatty acids in oil of *Oenothera odorata* was reported. The oil was extracted by chemical method. Fatty acids in the oil was saponified by KOH-MeOH and transformed to methyl esters by means of BF_3 -MeOH, under TLC surveillance. The methyl esters obtained were separated and determined by a Rtx-5 quartz capillary column, (30 m \times 0.25 mm, WCOT, fixative fluid 5% diphenyl-95% dimethyl polysiloxane). γ -Linolenic acid in the oil was determined with methyl heptadecanoate as internal standard. The contents of γ -linolenic acid in the oil sample was found to be 11.23%.