

# 非水反相色谱法测定火麻仁中甘油三酯含量

朱江, 蔡明宸, 王鑫, 夏林波, 邓仕任\*

(辽宁中医药大学药学院, 辽宁大连 116600)

**[摘要]** 目的:建立非水反相色谱法测定火麻仁药材中亚油酸甘油三酯的含量。方法:伊利特 Hypersil ODS2 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm);流动相乙腈-异丙醇 (75:25),流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,检测波长 205 nm,柱温 25 °C。结果:亚油酸甘油三酯在 0.016~0.33 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9998$ ) 线性关系良好,平均加样回收率 97.6%,RSD 1.4%。结论:该法采用非水反相色谱,结合常规紫外检测器,建立了一种准确可靠,通用性较强的甘油三酯的含量测定方法。

**[关键词]** 火麻仁;非水反相色谱;紫外检测器;甘油三酯;含量测定

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)13-0053-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015130053

**Quantitation of Triacylglycerols in Cannabis Semen Using Non-aqueous Reversed-phase High Performance Liquid Chromatography** ZHU Jiang, CAI Ming-chen, WANG Xin, XIA Lin-bo, DENG Shi-ren\* (College of Pharmacy, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Dalian 116600, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a quantitation of triacylglycerols in Cannabis Semen by non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography. **Method:** The chromatography was carried out on Hypersil ODS2 column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) with acetonitrile-isopropanol (75:25) as the mobile phase at a flow rate of 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, the detection wavelength was set at 205 nm. **Result:** The linear rang of linolein was 0.016-0.33 g·L<sup>-1</sup> ( $r=0.9998$ ). The average recovery was 97.6%, RSD 1.4%. **Conclusion:** A non-aqueous reversed-phase high-performance liquid chromatography (NARP-HPLC) was established for determination triacylglycerols in Cannabis Semen.

**[Key words]** Cannabis Semen; NARP-HPLC; Ultraviolet detector; triacylglycerol; quantitation

火麻仁油脂是火麻仁<sup>[1]</sup>的药效成分,其主要成分为甘油三酯类(triacylglycerol, TAGs)化合物,其分子结构由一系列脂肪酸与甘油通过酯键结合而成。现代研究表明火麻仁油脂具有润滑肠壁、软化大便、轻度兴奋肠管、增加蠕动、减少大肠吸收水分的作用<sup>[2]</sup>。除临床用药,由于其所富含的脂肪油和麻仁球蛋白具有较高的营养价值,近年来在保健食品领域的应用也日益广泛<sup>[3]</sup>。

油脂的成分分析和质量控制,一般是先将油脂皂化水解成相应的脂肪酸后,再进行 GC 检测,或是将脂肪酸衍生化后进行 HPLC 检测<sup>[4-5]</sup>。这种检测方法存在前处理操作复杂,衍生化不完全等弊端。目前已有少数中药材油脂提取物(如薏苡仁油脂)

采用 HPLC 对 TAGs 进行直接测定,该方法无需水解等操作具有操作简单、结果准确等特点。2010 年版《中国药典》收录的薏苡仁油脂的 TAGs 检测方法中,采用了 HPLC 搭配 ELSD 检测器对其进行含量检测<sup>[1]</sup>。考虑到 ELSD 检测器运行成本较高,普及率较低等不足,我们采用反相 HPLC 和 Uv 检测器建立了 TAGs 的含量测定方法。可为火麻仁的质量控制提供科学依据。

## 1 仪器与试剂

LC-10AT 型高效液相色谱仪(日本岛津),伊利特 Hypersil ODS2 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),FA1004B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),DFT-100 型手提式高速万能粉碎机(温岭

**[收稿日期]** 20140925(010)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81202857);《中国药典》2015 年版一部科研任务(火麻仁及饮片)

**[第一作者]** 朱江,硕士,从事中药药效物质基础研究,Tel:0411-87586007,E-mail:zhujiang5050@163.com

**[通讯作者]** \* 邓仕任,博士,副教授,从事中药药效物质基础研究,Tel:0411-87586007,E-mail:dsrchem@hotmail.com

市林大机械有限公司), UV-3010型紫外-可见分光光度计, RE52CS型旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂), KQ2200型超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

甘油三亚油酸酯对照品(批号111693-2010020)购自美国NU-CHEK公司, 乙腈、异丙醇(色谱纯, 美国Tedia公司), 乙酸(分析纯), 甲醇(分析纯), 水为超纯水(Millipore超纯水系统)。收集了10批不同产地的火麻仁药材, 经辽宁中医药大学鉴定教研室翟延君教授鉴定为桑科植物大麻 *Cannabis sativa* 的干燥成熟果实。

## 2 方法与结果

**2.1 脂肪油总量测定** 取火麻仁30g, 研成粗粉(过二号筛, 过筛率>95%), 精密称定, 置索氏提取器中, 加正己烷250mL, 置水浴上加热回流3h, 放冷, 滤过, 滤液置水浴上减压回收至干, 所得残留物即为油脂, 精密称定, 计算, 结果见表1。

表1 火麻仁脂肪油、甘油三亚油酸酯测定

Table 1 Triacylglycerol and fatty oil of Cannabis Semen %

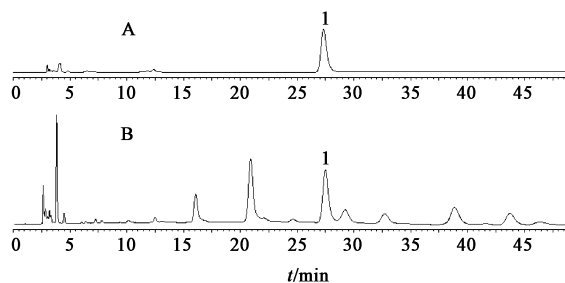
药材产地	脂肪油	甘油三亚油酸酯
湖南	28.4	2.49
山东	28.8	2.51
山西	31.4	2.41
四川	35.4	3.09
广西	29.5	2.27
安徽	32.1	2.86
甘肃	34.8	2.70
河南	34.1	2.84
河北	30.2	2.60
云南	29.6	2.61

## 2.2 甘油三亚油酸酯含量测定

**2.2.1 供试品溶液的制备** 取火麻仁油(按2.1项下方法制得)约0.1g, 精密称定, 用乙腈-异丙醇-正己烷(2:2:1)定容于100mL, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得。

**2.2.2 对照品溶液的制备** 取甘油三亚油酸酯对照品适量, 精密称定, 加乙腈-异丙醇-正己烷(2:2:1)制成每1mL含0.10mg的对照品溶液, 即得。

**2.2.3 色谱条件** 采用伊利特Hypersil ODS2色谱柱(4.6mm×250mm, 5μm), 以乙腈-异丙醇(75:25)为流动相, 流速1.0mL·min<sup>-1</sup>, 检测波长205nm, 柱温25℃。理论塔板数按甘油三亚油酸酯计算不低于14000。见图1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 甘油三亚油酸酯

图1 火麻仁 HPLC

Fig. 1 HPLC chromatography of Cannabis Semen

**2.2.4 线性关系考察** 精密吸取甘油三亚油酸酯对照品溶液, 按2.2.3项下色谱条件进行分析。以峰面积Y对浓度X(g·L<sup>-1</sup>)绘制标准曲线, 回归方程为Y=2.0×10<sup>7</sup>X+1.02×10<sup>5</sup>(r=0.9998), 表明甘油三亚油酸酯在0.016~0.33g·L<sup>-1</sup>具有良好的线性关系。

**2.2.5 精密度试验** 取同一供试品溶液(河北), 在上述色谱条件下连续进样6次, 记录各自峰面积, 结果甘油三亚油酸酯峰面积的RSD 0.5%, 表明仪器精密度良好。

**2.2.6 重复性试验** 取同一产地火麻仁(河北)样品6份, 按2.2.1项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进行分析, 结果甘油三亚油酸酯含量的RSD 2.6%, 表明本法重复性度良好。

**2.2.7 稳定性试验** 取火麻仁(河北)供试品溶液, 室温放置, 分别在0, 2, 4, 8, 12, 24h进样分析, 记录各自峰面积, 甘油三亚油酸酯峰面积的RSD 0.4%, 表明供试品溶液在24h内稳定。

**2.2.8 加样回收率试验** 取已知含量的火麻仁(河北, 25.1mg·g<sup>-1</sup>)6份, 每份约0.1g, 精密称定, 置具塞锥形瓶中, 每组精密加入甘油三亚油酸酯对照品贮备液, 按2.2.1项下方法制备供试品溶液, 在上述色谱条件下进行分析, 结果见表2。

表2 甘油三亚油酸酯的加样回收率

Table 2 Recovery test of triacylglycerol of Cannabis Semen

样品中量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
2.629	5.172	96.07	97.6	1.4
2.628	5.265	99.62		
2.630	5.229	98.18		
2.630	5.183	96.45		
2.629	5.248	98.54		
2.630	5.198	97.01		

注: 加入量均为2.647mg。

**2.2.9 样品含量测定** 分别称取不同来源的火麻仁粉末,按 2.2.1 项下方法制备供试品溶液,在上述色谱条件进行分析。采用外标法结合各产地药材含油量,计算甘油三亚油酸酯的含量,见表 1。

### 3 讨论

2010 年版《中国药典》中火麻仁仅有性状鉴别和薄层鉴别项,指标性成分的含量测定项缺失,不利于药材的质量控制<sup>[6]</sup>。火麻仁油脂为火麻仁的药用部位,有必要对其进行成分分析和含量测定。油脂的常规检测方法是测定油脂中脂肪酸组成,然而该过程涉及到油脂皂化和衍生化等多步操作,流程复杂,样品易损失,回收率较低。为此,我们拟对火麻仁油脂中的特征甘油三酯成分亚油酸甘油三酯直接进行含量测定,此法无需衍生化,操作简便,结果可靠。

由于油脂类成分具有较长的脂肪链,在常规反相色谱中保留太强,因此类似成分必须采用非水相溶剂(如乙腈、异丙醇、丙酮、二氯甲烷等)作为流动相进行洗脱<sup>[7-8]</sup>。其中具有代表性的工作,是 2010 年版《中国药典》所收录的以“乙腈-二氯甲烷”作为流动相,采用非水反相色谱的方法对薏苡仁药材中的甘油三油酸酯进行含量测定。由于二氯甲烷在甘油三酯的最大吸收波长处(205 nm)有强吸收,因此该方法无法使用常规的紫外(UV)检测器,而是使用了蒸发光散射检测器(ELSD)进行检测。由于 ELSD 检测器使用成本较高,而 UV 检测器目前已经得到了广泛应用,我们考虑建立一种甘油三酯类化合物的 HPLC-UV 检测方法。异丙醇、正丁醇等醇类化合物具有较低的紫外吸收截止波长,而且具有较好的洗脱能力,已经被用作了一些甘油三酯类化合物的 HPLC 检测<sup>[9]</sup>。基于上述分析,我们采用了

基于“乙腈-异丙醇”的非水反相体系对火麻仁中的甘油三亚油酸酯进行了 HPLC 含量测定。

该法被证明是一种操作方便,适用性强,结果准确的甘油三酯类化合物的分析方法,应可适用于其他含油脂类中药材的质量控制。通过对 10 个不同产地火麻仁的含量测定,拟定火麻仁中甘油三亚油酸酯含量不得低于 2.2%。

### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:74,353.
- [2] 南京药学院《中草药学》编写组. 中草药学. 中册[M]. 南京:江苏人民出版社, 1976:110.
- [3] 任汉阳, 张瑜, 刘红雨, 等. 火麻仁研究进展[J]. 河南中医, 2003, 23(11):78-80.
- [4] 夏林波, 邓仕任, 郭莹. HPLC 法测定火麻仁中  $\alpha$ -亚麻酸的含量[J]. 化学工程师, 2011, 17(3):17-18.
- [5] 刘书成, 章超桦, 洪鹏志. 液质联用技术在油脂分析中应用[J]. 粮食与油脂, 2006(9):10-13.
- [6] 蔡明宸, 张北灿, 鲁雅文, 等. HPLC 法测定不同产地火麻仁药材中葫芦巴碱的含量[J]. 化学工程师, 2014(7):29-31.
- [7] 卓海通. 非水反相高效液相色谱法测定血清中维生素 E, A 醋酸酯及 A 醇含量[J]. 色谱, 1987, 5(5):313-316.
- [8] 崔凯, 霄霖, 肖刚, 等. 非水反相高效液相色谱-气相色谱法分析苏子油甘油三酯的组成[J]. 色谱, 1997, 15(6):470-473.
- [9] Lerma-García M J, Lusardi R, Chiavaro E, et al. Use of triacylglycerol profiles established by high performance liquid chromatography with ultraviolet-visible detection to predict the botanical origin of vegetable oils [J]. J Chromatogr A, 2011, 1218(42):7521-7527.

[责任编辑 顾雪竹]