

# 指纹图谱法及紫外光谱法比较鸦胆子油与多种食用油

田金苗, 孙苓苓\*, 王怡君, 郭汉文, 孔令峰, 郝延军  
(辽宁省药品检验检测院, 沈阳 110036)

**[摘要]** 目的:建立鸦胆子油的 HPLC-ELSD 指纹图谱和紫外光谱分析方法,并与多种食用油进行比较。方法:运用 SSI 高效液相色谱仪和奥泰 2000 蒸发光检测器建立指纹图谱,采用 Waters  $C_{18}$  色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相乙腈-二氯甲烷(60:40),流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>,检测温度 85  $^{\circ}\text{C}$ ,柱温 40  $^{\circ}\text{C}$ ,进样量 15  $\mu\text{L}$ 。运用 PERSEE 紫外分光光度计 TU-1950,进行紫外全波长扫描。结果:方法的精密度、重复性与稳定性良好,相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 < 3.0%,各峰分离度良好,指纹信息完整。结论:在此方法的基础上,建立了鸦胆子油及 11 种植物油的 HPLC-ELSD 指纹图谱和紫外光谱分析方法,为鸦胆子油质量控制和市场监管提供了重要依据。

**[关键词]** 鸦胆子油; 食用油; 高效液相色谱-蒸发光散射; 指纹图谱; 紫外光谱

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)23-0078-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016230078

## Comparison Between Bruceae Fructus Oil and Other Cooking Oils by Fingerprint and UV Spectrum

TIAN Jin-miao, SUN Ling-ling\*, WANG Yi-jun, GUO Han-wen, KONG Ling-feng, HAO Yan-jun  
(Liaoning Province Institute for Drug Control, Shenyang 110036, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish HPLC-ELSD fingerprint and UV spectral analysis method for Bruceae Fructus oil, and compare with a variety of other cooking oils. **Method:** SSI HPLC and Alltech 2000 ESLD were used to establish the fingerprint on Waters  $C_{18}$  analytical column (4.6 mm × 200 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), with acetonitrile-dichloromethane (60:40) as the mobile phase at the flow rate of 1.2 mL·min<sup>-1</sup>. The detection temperature was 85  $^{\circ}\text{C}$ ; column temperature was 40  $^{\circ}\text{C}$ , and injection volume was 15  $\mu\text{L}$ . PERSEE UV-VIS spectrophotometer TU-1950 was used for UV full-wavelength scanning. **Result:** The results showed good precision, repeatability and stability for this method, and RSD of the relative retention time and relative peak area were less than 3.0%. Various peaks were well separated and the fingerprint information was complete. **Conclusion:** On the basis of this method, HPLC-ELSD fingerprints of Bruceae Fructus oil and 11 kinds of cooking oil and UV spectral analysis method were established, providing important basis for the quality control and market supervision of Bruceae Fructus oil.

**[Key words]** Bruceae Fructus oil; cooking oil; HPLC-ELSD; fingerprint; UV

鸦胆子油现行质量标准收载于 1998 年编制的《中药成方制剂第十四册》<sup>[1]</sup>。《中国药典》2015 年版收载了鸦胆子药材的质量标准<sup>[2]</sup>,鸦胆子油并未收载。鸦胆子油做为鸦胆子油乳注射液的原料

药<sup>[3]</sup>,随着注射液质量标准的不断提高,现行鸦胆子油质量标准方法落后,无法满足企业和监管部门的需要<sup>[4-5]</sup>。近些年的文献报道,采用气相色谱法<sup>[6-7]</sup>和高效液相色谱法<sup>[8-10]</sup>测定甲酯化后油酸的

**[收稿日期]** 20160705(009)

**[基金项目]** 辽宁省科学技术计划项目(2014020166)

**[第一作者]** 田金苗, 硕士, 副主任药师, 从事药品检验及标准修订起草工作, Tel:024-31266307, E-mail:tianjinmiao@sina.com

**[通讯作者]** \* 孙苓苓, 博士研究生, 主任药师, 从事药品研发, Tel:024-31266505, E-mail:sunll@vip.163.com

含量,或采用蒸发光检测器测定甘油三油酸酯、甘油三亚油酸酯的含量<sup>[11]</sup>。

本课题在研究鸦胆子油的过程中,发现多种食用油(包括豆油、花生油、葵花籽油、玉米油、稻米油、油菜籽油、橄榄油等)与鸦胆子油性状相似,难以辨别,经过本课题组实验证明,多种食用油均含有甘油三油酸酯、甘油三亚油酸酯,这 2 种也是鸦胆子油的主要成分<sup>[10]</sup>,现行的质量标准和文献报道中的方法均不能进行区分鸦胆子油和多种食用油。故本研究建立鸦胆子油及多种食用油 HPLC-ELSD 指纹图谱和紫外光谱快速分析方法,为鸦胆子油的检验提供方法,为市场监管提供依据。

中成药的整体作用特点决定了中药的质量控制方法必须能对起效的全成分进行控制,指纹图谱可以较好地体现中药多靶点作用的特性。因此,所建立的质量控制体系才能真正达到控制中成药质量,保证中成药用药安全有效的目的<sup>[4]</sup>。本实验采用 HPLC-ELSD 指纹图谱法和紫外光谱扫描法,对鸦胆子油整体情况进行全面控制,对样品进行检验,建立鸦胆子油的指纹谱图和紫外光谱的特征图谱,可作为质量控制的重要依据之一。

## 1 材料

1500 型高效液相色谱仪(美国 SSI),2000 型蒸发光检测器(奥泰),TU-1950 型紫外分光光度计(北京普析通用)。

对照品甘油三油酸酯、甘油三亚油酸酯(批号 111692-201203,111693-200501,中国食品药品检定研究院提供,纯度 100%)。1,2-亚油酸-3-油酸甘油酯,1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯,1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯,1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯,1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯,1,2-油酸-3-硬脂酸甘油酯对照品(批号分别为 D9164, D0301, P8577, D1782, D9925, D3152, 纯度分别为 98%, 95%, 98%, 99%, 97%, 99%, 西格玛公司)。甲醇、乙腈、二氯甲烷(色谱纯,天津市康科德科技有限公司),重蒸水,其他试剂为分析纯

鸦胆子油为药厂 B 提供 5 批(批号分别为 1304241, 1305291, 1305311, 1306021, 1309201),药厂 A 提供 5 批(批号分别为 130401, 130901, 131003, 131001, 131101),共 10 批。薏苡仁油(批号 111750-201102,中国食品药品检定研究院提供)。橄榄油(贝蒂斯、欧丽薇蓝、鲁花等共 15 批),葵花籽油(晟麦、福临门等共 8 批),玉米油(金龙鱼、福临门等共 6 批),菜籽油(自榨取、明禾春等共 7

批),花生油(福临门、鲁花等共 3 批),稻米油(金龙鱼、福临门等共 3 批),芝麻油(福临门等共 5 批),大豆油(非转基因金龙鱼、福临门、九三等共 4 批),亚麻油(晟麦、爱度等共 6 批),核桃油(晟麦共 1 批)。

## 2 HPLC-ELSD 指纹图谱方法与结果<sup>[11]</sup>

**2.1 色谱条件<sup>[5]</sup>** Waters C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 200 mm, 5 μm),流动相乙腈-二氯甲烷(60:40),流速 1.2 mL·min<sup>-1</sup>,检测温度 85 °C,柱温 40 °C,进样量 15 μL,分析时间 40 min,理论板数按甘油三油酸酯计算不低于 4 000。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取三油酸甘油酯,甘油三亚油酸酯,1,2-亚油酸-3-油酸甘油酯,1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯,1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯,1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯,1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯,1,2-油酸-3-硬脂酸甘油酯对照品适量,分别加流动相制成每 1 mL 含 0.2 mg 的溶液。

**2.3 供试品溶液的制备** 取鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油各 10 mg,置 10 mL 量瓶中,加流动相至刻度,摇匀,即得。

### 2.4 方法学考察

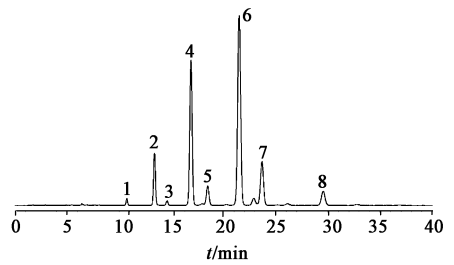
**2.4.1 精密度试验** 精密吸取同一份供试品溶液,连续进样 6 次,每次 15 μL,以甘油三油酸酯为参照峰(S),对 8 个共有峰的相对保留时间及相对峰面积进行统计, RSD 均 < 3.0%,同时用相似度评价软件计算,各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.99,结果表明仪器稳定,精密度良好。

**2.4.2 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别于配制后的 0,5,10,18,22 h,精密吸取 15 μL,注入液相色谱仪,测定。以甘油三油酸酯为参照峰,对 8 个共有峰的的相对保留时间及相对峰面积进行统计, RSD 均 < 3.0%,同时用相似度评价软件计算,各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.99,结果表明供试品溶液在配制后 22 h 内基本稳定。

**2.4.3 重复性试验** 取同一批号样品共 6 份,按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,测定并计算,结果 8 个共有峰相对保留时间及相对峰面积的 RDS 均 < 3.0%,同时用相似度评价软件计算各色谱指纹图谱的相似度均 > 0.99,表明本方法重复性较好。

**2.4.4 指纹图谱的建立** 取 10 批鸦胆子油分别按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,将从色谱工作站导出的 AIA 文件导入国家药典会推荐使用的“中药指纹图谱相似度评价系统(2012.1 版)”,见图 1。软件自动生成对照谱图,

拟合成鸦胆子油共有模式,见图 2。在 8 个特征峰中选择 6 号峰(甘油三油酸酯)为参照峰。确定 8 个共有峰为构成鸦胆子油指纹图谱的特征峰,样品中共有峰的相对保留时间和相对峰面积进行统计, RSD 均 < 3.0%。10 批鸦胆子油与对照指纹图谱相似度计算结果分别为 0.996, 0.999, 0.996, 0.999, 0.998, 0.999, 0.998, 0.999, 0.999, 0.999。



1. 甘油三亚油酸酯; 2. 1,2-亚油酸-3-油酸甘油酯; 3. 1,2-亚油酸-3-棕榈酸甘油酯; 4. 1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯; 5. 1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯; 6. 甘油三油酸酯; 7. 1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯; 8. 1,2-油酸-3-硬脂酸甘油酯(图 3 同)

图 2 鸦胆子油 HPLC 共有指纹谱

Fig. 2 Brucae Fructus oil HPLC common fingerprint

## 2.5 鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油的比较

**2.5.1 薏苡仁油及多种食用油的指纹图谱** 薏苡仁油及多种食用油分别按照 2.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1 项下色谱条件测定,将从色谱工作站导出的 AIA 文件导入国家药典会推荐使用的“中药指纹图谱相似度评价系统(2012.1 版)”,软件自动生成对照谱图,拟合成薏苡仁油及多种食用油共有模式图谱,见图 3。

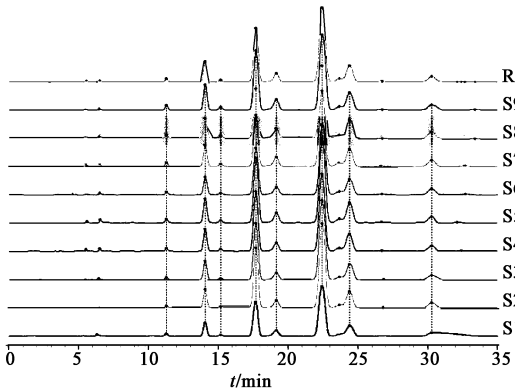
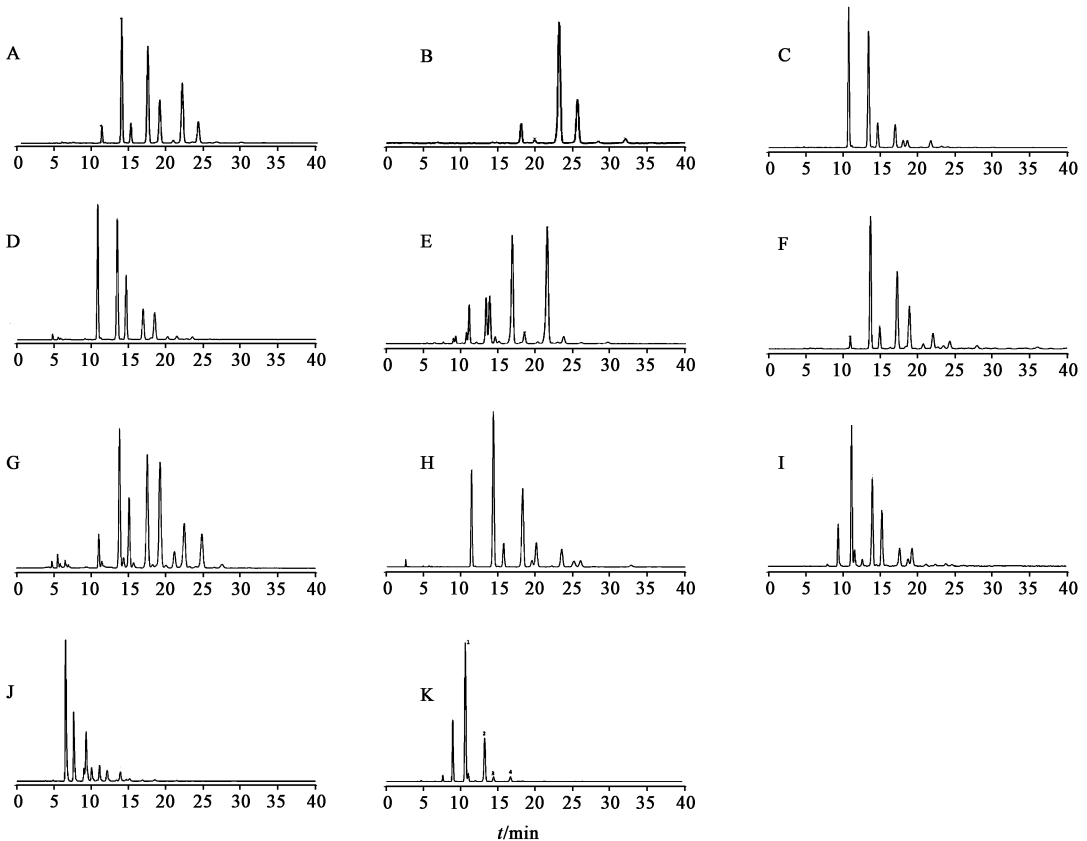


图 1 10 批鸦胆子油 HPLC 指纹(特征)谱叠加

Fig. 1 10 batch of Brucae Fructus oil HPLC fingerprint map overlay (features)



A. 薏苡仁油; B. 橄榄油; C. 葵花籽油; D. 玉米油; E. 菜籽油; F. 花生油; G. 稻米油; H. 芝麻油; I. 大豆油; J. 亚麻油; K. 核桃油

图 3 不同油类 HPLC 指纹(特征)谱

Fig. 3 HPLC fingerprint (features) of different oil

**2.5.2 鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油相似度比较** 将从色谱工作站导出的 AIA 文件导入国家药典会推荐使用的“中药指纹图谱相似度评价系统(2012.1 版)”,亚麻油、核桃油、大豆油与鸦胆子油差异较大,不含有三油酸甘油酯(即无 6 号峰),不列入指纹图谱进行相似度比较。选 4,5,6,7 号峰为 mark 峰,进行全谱图匹配。见图 4 和表 1,鸦胆子油与菜籽油、橄榄油相似度极高,相似度 > 0.9,与葵花籽油和玉米油、花生油、芝麻油相似度低。

### 3 UV 光谱方法与结果

#### 3.1 光谱谱条件的选择 狭缝 2.0 nm,扫描速度

表 1 鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油相似度匹配

Table 1 Similarity matching results of Bruceae Fructus oil, Coix seed oil and other edible oil

种类	鸦胆子油	薏苡仁油	葵花籽油	玉米油	菜籽油	花生油	稻米油	芝麻油	橄榄油
鸦胆子油	1	0.771	0.252	0.255	0.927	0.513	0.617	0.465	0.912
薏苡仁油	0.771	1	0.609	0.654	0.800	0.938	0.918	0.852	0.52
葵花籽油	0.252	0.609	1	0.962	0.308	0.686	0.511	0.638	0.08
玉米油	0.255	0.654	0.962	1	0.312	0.744	0.639	0.672	0.062
菜籽油	0.927	0.800	0.308	0.312	1	0.585	0.645	0.535	0.773
花生油	0.513	0.938	0.686	0.744	0.585	1	0.904	0.914	0.214
稻米油	0.617	0.918	0.511	0.639	0.645	0.904	1	0.815	0.377
芝麻油	0.465	0.852	0.638	0.672	0.535	0.914	0.815	1	0.195
橄榄油	0.912	0.520	0.080	0.062	0.773	0.214	0.377	0.195	1

中速,吸收池石英,光路长度 1.0 cm,空白溶剂无水甲醇,紫外光谱 200 ~ 400 nm 扫描。

**3.2 供试品溶液的制备** 取鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油 0.2 mL,加无水乙醇至 10 mL,摇匀,即得。

**3.3 鸦胆子油与薏苡仁油、多种食用油紫外光谱的区别** 将鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油分别按照 3.2 项下方法进行供试品溶液制备,按 3.1 项下色谱条件测定,进行紫外光谱 200 ~ 400 nm 扫描。扫描结果见表 2,鸦胆子油在 230,270 nm 处有最大吸收,通过整体峰型和 2 个最大吸收波长的比较,鸦胆子油可以与其他油进行初步快速的区分,见图 5。而鸦胆子油现行质量标准<sup>[1]</sup>(收载于 1998 年编制的《中药成方制剂第十四册》)中的【鉴别】项中仅“在 270 nm 处有最大吸收”,不能区分鸦胆子油和葵花籽油、花生油、玉米油。

### 4 讨论

参考蒸发光检测器检测温度的设置原则,考察了相同色谱条件下蒸发光检测器检测温度为 60, 70,85 °C 时对供试品分离结果的影响。结果显示

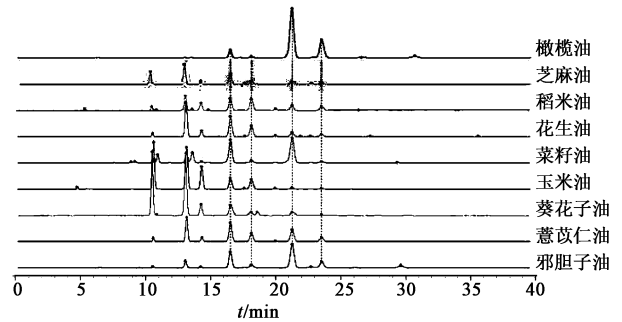


图 4 鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油指纹谱叠加

Fig. 4 Bruceae Fructus oil, Coix seed oil and other edible oil fingerprint overlap

表 2 鸦胆子油、薏苡仁油及多种食用油最大吸收波长比较

Table 2 Maximum absorption wavelength comparison of Bruceae Fructus oil, Coix seed oil and other edible oil

种类	最大吸收波长/nm
鸦胆子油	230,270
薏苡仁油	232
葵花籽油	222,270,280
玉米油	222,270,280
菜籽油	222
花生油	222,270
稻米油	230,282,318
芝麻油	232,284
橄榄油	222
大豆油	222
亚麻油	238
核桃油	222,274

60,70 °C 条件下基线噪音比较大,85 °C 效果较好。

分别考察了乙腈-二氯甲烷(60:40)<sup>[11]</sup>、乙腈-异丙醇-正己烷(66:20:14)<sup>[5]</sup>为流动相,实验结果

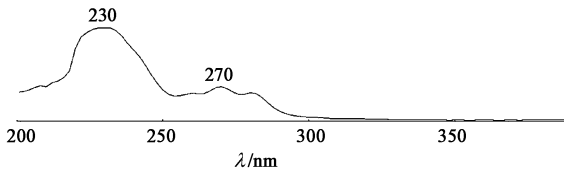


图 5 鸦胆子油紫外光谱

Fig. 5 Ultraviolet spectrum of Bruceae Fructus oil

表明,乙腈-二氯甲烷(60:40)为流动相,使各色谱峰分离效果理想。

通过指纹图谱和紫外光谱方法的结合使用,可以有效的将鸦胆子油与薏苡仁油、多种食用油(豆油、花生油、葵花籽油、玉米油、稻米油、油菜籽油、橄榄油等)进行区分,为鸦胆子油的检验方法进一步深入研究提供依据。

多年来的研究证明,油酸是鸦胆子油中抗肿瘤的主要成分<sup>[3]</sup>,通过本文的实验可以看出橄榄油中含有的三油酸甘油酯含量更高,其他成分更少,是否可以开发出高效、低毒及拥有自主知识产权的抗肿瘤药物提供新思路,同时也解决了鸦胆子药材资源短缺的问题。

多篇文献研究证明,不饱和脂肪酸是鸦胆子油中抗肿瘤的主要成分,在鸦胆子油中不饱和脂肪酸有油酸和亚油酸<sup>[3,10]</sup>,如单从不饱和度的角度,亚油酸的不饱和度更高,通过本文的实验可以看出核桃油、亚麻油、芝麻油中含有的三亚油酸甘油酯成分

更多,是否也可以开发出抗肿瘤药物。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准. 中药成方制剂. 第 14 册[S]. 1998: 103.
- [2] 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, 2015: 254.
- [3] 马玉坤, 胡安新, 邹满. 鸦胆子油临床应用进展[J]. 山东医药, 2004, 44(17): 61-62.
- [4] 王海波, 裴世柱. 指纹图谱技术在重要研究中的应用[J]. 辽宁中医学院学报, 2005, 7(4): 395-401.
- [5] 郭辉, 胡晨, 钱俊青, 等. 鸦胆子油 HPLC-ELSD 指纹图谱研究[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1311-1315.
- [6] 周春玲, 刘艳. 鸦胆子挥发油 GC 指纹图谱相似度分析[J]. 西北药学杂志, 2006, 21(6): 249-251.
- [7] 周春玲, 陈小辉, 毕开顺. GC 法测定鸦胆子中油酸和亚油酸的含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(7): 996-998.
- [8] 李宏, 邱昌林, 项其. 高效液相色谱法测定鸦胆子油乳注射剂中脂肪酸含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2006, 23(4): 329-331.
- [9] 项其, 周莉玲, 姚崇舜, 等. HPLC 法测定鸦胆子油中脂肪酸[J]. 中草药, 2006, 3(37): 383-385.
- [10] 中国医学科学院药物研究所. 中药志. 第 3 册[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1984: 527.
- [11] 田金苗, 陈大为, 胡海洋. HPLC-ELSD 法测定鸦胆子油中四种甘油三酯的含量[J]. 中国药师, 2014, 17(7): 1146-1148.

[责任编辑 顾雪竹]