

苘麻子中脂肪酸成分的 GC-MS 分析

申长慧¹, 高锦², 王淼¹, 田春莲¹, 刘晓坤¹, 赵春杰^{1*}

(1. 沈阳药科大学, 沈阳 110016; 2. 总后勤部卫生部药品仪器检验所, 北京 100071)

[摘要] **目的:**分析苘麻子中脂肪酸的组成并测定主要脂肪酸成分的含量。**方法:**采用索氏提取法提取其脂肪酸,经甲酯化处理后,用 GC-MS 联用仪对其脂肪酸组成进行分析和鉴定。采用毛细管气相色谱法,甲酯化后以二十一酸甲酯为内标同时测定苠麻子中棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸的含量。**结果:**共分离出 10 种脂肪酸,占脂肪油总量的 99.43%。棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸的线性分别为 $33.6 \sim 336 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9990)$, $6.58 \sim 65.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9999)$, $33.4 \sim 334 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9998)$, $128.3 \sim 1283 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9995)$ 。各成分的平均回收率分别为 100.4%, 100.6%, 101.6%, 101.0%, RSD 分别为 1.3%, 1.5%, 1.6%, 2.1% ($n=9$)。**结论:**鉴定了苠麻子中的 10 种脂肪酸并首次建立了其中 4 种主要脂肪酸成分的含量测定方法,可为苠麻子的质量评价提供依据。

[关键词] 苠麻子; 气相色谱-质谱联用; 气相色谱; 脂肪酸; 含量测定

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0136-04

[doi] 10.11653/syjf2013190136

GC-MS Analysis and GC Determination of Fatty Acids in the Seeds of *Abutilon theophrasti*

SHEN Chang-hui¹, GAO Jin², WANG Miao¹, TIAN Chun-lian¹, LIU Xiao-kun¹, ZHAO Chun-jie^{1*}

(1. Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China; 2. Institute for Drug and Instrument Control for Health Department of General Logistics Department, Beijing 100071, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the components of fatty acids in the seeds of *Abutilon theophrasti* and develop a method for the simultaneous determination of the main fatty acids. **Method:** Samples were extracted by Soxhlet extraction. After methyl esterification treatment, fatty acids were identified by GC-MS and determined by GC with a FID detector and methyl heneicosanoate as internal standard. **Result:** Total 10 kinds of fatty acids were identified, accounted for 99.43% of the total fatty oil. The calibration curve was linear within the range of $33.6 \sim 336 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9990)$, $6.58 \sim 65.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9999)$, $33.4 \sim 334 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9998)$, $128.3 \sim 1283 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} (r=0.9995)$ for palmitic acid, octadecanoic acid, oleic acid and linoleic acid respectively. The average recoveries ($n=9$) were 100.4%, 100.6%, 101.6% and 101.0% for palmitic acid, octadecanoic acid, oleic acid and linoleic acid respectively. **Conclusion:** Ten kinds of fatty acids are identified and a method for the determination of palmitic acid, octadecanoic acid, oleic acid and linoleic acid in *Abutilon theophrasti* simultaneously is developed. The method is sensitive, accurate and reproducible.

[Key words] *Abutilon theophrasti* Medic.; GC-MS; GC; fatty acid; determination

[收稿日期] 20130120 (010)

[第一作者] 申长慧, 硕士, 从事中西药质量控制技术研究, Tel: 024-23986607, E-mail: sch_kx@163.com

[通讯作者] * 赵春杰, 博士, 教授, 从事中西药物质量控制技术研究, Tel: 024-23986299, E-mail: zcjlj@sina.com

苠麻子为锦葵科植物苠麻的种子,始载于《唐本草》,又称苠实,广布于全国各地,主产四川、湖北、河南、江苏等地,具有清热利湿、解毒退翳之功效,用于赤白痢疾、淋病涩痛、痈肿目翳等症^[1]。目前关于苠麻子化学成分的报道较少^[2],2010年版《中国药典》苠麻子项下收载的质量控制方法亦不

完善。历年来研究主要集中在与其混淆品的鉴别^[3]方面,关于油中脂肪酸种类^[4-6]的报道也不尽相同。油酸和亚油酸都具有重要的生理功能^[7-8],因此苘麻子具有良好的医疗开发前景。在 GC-MS 分析的基础上,本文采用气相色谱法测定苘麻子中棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸的含量,为苘麻子的质量控制提供参考。

1 材料

GC17A-QP5050A 型气质联用仪(日本岛津公司),Agilent 7890 气相色谱仪、FID 检测器(Agilent 科技有限公司),TG332A 型微量分析天平(上海分析天平厂),BS110 型电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司),HH-2 型恒温水浴锅(金坛市新航仪器厂),SGK-5LB 型氢气发生器(上海荆和分析仪器有限公司)。

对照品棕榈酸(纯度 >99%,批号 N-16M-S3-U,美国 NU-CHEK 公司)、硬脂酸(纯度 >99%,批号 N-18M-S15-t,美国 NU-CHEK 公司)、油酸(纯度 >99%,批号 u-46M-Jy28-v,美国 NU-CHEK 公司)、亚油酸(纯度 >99%,批号 u-59M-J7-v,美国 NU-CHEK 公司),对照品内标物二十一酸甲酯(纯度 >99%,批号 N-21M-F29-T,美国 NU-CHEK 公司)。苘麻子药材购自沈阳中街同仁堂药店、河北安国祈州药材堂,经沈阳药科大学贾景明教授鉴定为锦葵科苘麻属植物苘麻 *Abutilon theophrasti* Medic. 的成熟果实。

正己烷、甲醇、石油醚(60~90℃)(分析纯,天津市康科德科技有限公司),三氟化硼乙醚(国药集团化学试剂有限公司),氯化钠、氢氧化钠、无水硫酸钠等(分析纯,山东禹王实业有限公司化工分公司)。

2 方法与结果

2.1 样品处理

2.1.1 苘麻子油的提取 取不同产地的苈麻子粉末 10 g,精密称定,分置索氏提取器中,加入石油醚 300 mL,提取 8 h^[9],减压回收石油醚得总脂肪油,计算得油率。

2.1.2 苈麻子油的甲酯化^[10] 称取湖北产地苈麻子油约 10 mg,精密称定,于具塞试管中,加入 0.5 mol·L⁻¹ 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL,置 60℃ 水浴皂化 30 min 至油珠全部消失,放冷,加 15% 三氟化硼乙醚溶液 3 mL,置 60℃ 水浴酯化 15 min,放冷,精密加入正己烷 3.0 mL,振摇,加饱和氯化钠溶液 2 mL,振摇,静置。取上层溶液,加适量无水硫酸钠,除去微量水。精密量取上层溶液 1 mL,并精密

加入 0.2 mL 内标溶液,用正己烷定容至 2 mL 量瓶中,摇匀,即得。

2.2 苈麻子脂肪酸成分分析

2.2.1 色谱条件 DB-1 石英毛细管柱(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m),升温程序,初始温度 60℃,维持 4 min,以 20℃·min⁻¹ 升至 190℃,维持 5 min,再以 1℃·min⁻¹ 升至 206℃,最后以 20℃·min⁻¹ 升至 280℃,维持 5 min;进样口温度 280℃,载气体积分数为 99.999% 的氦气,进样量 1 μL,分流比 10:1,流速 1 mL·min⁻¹。

2.2.2 质谱条件 电子轰击离子源(EI),离子源温度 230℃,电子能量 70 eV,气相色谱-质谱接口温度 230℃,质量扫描范围 *m/z* 33~500。

2.2.3 GC-MS 分析结果 苈麻子油甲酯化产物,通过 GC-MS 分析共得到 14 个峰,通过检索 NIST107 谱图库,并结合标准质谱谱图,对 14 个峰进行了指认和归属,总离子流色谱图见图 1,对应成分及含量见表 1。

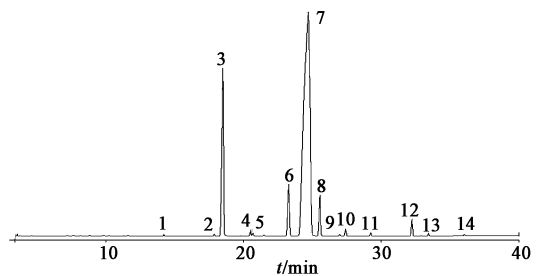


图 1 苈麻子中脂肪酸成分的总离子流色谱

由表 1 可以看出,苈麻子中有 10 种脂肪酸被分离和鉴定,占总气相色谱峰面积的 99.43%。其中,不饱和脂肪酸 7 种,占脂肪油总量的 79.64%;饱和脂肪酸 3 种,占脂肪油总量的 19.79%。含量较高的有亚油酸(70.11%),油酸(7.69%),棕榈酸(16.22%)和硬脂酸(3.26%)。

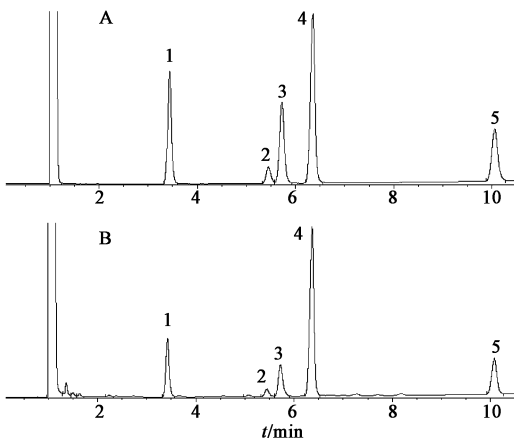
2.3 4 种脂肪酸成分的含量测定

2.3.1 色谱条件与系统适用性试验 DB-WAX 弹性石英毛细管柱(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m),升温程序,起始温度为 190℃,以 3℃·min⁻¹ 升至 220℃,进样口温度 250℃,FID 检测器温度 250℃,流速 1.0 mL·min⁻¹,分流比 10:1,载气高纯氮,进样量 1.0 μL。在上述条件下,取甲酯化后对照品溶液进样分析。理论塔板数按亚油酸甲酯计算不低于 2.5 × 10⁴,棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯和亚油酸甲酯色谱峰分离度良好,与相邻色谱峰的分度均 >1.5,结果见图 2。

2.3.2 溶液制备 内标溶液:称取二十一酸甲酯约

表 1 苘麻子中脂肪酸成分的 GC-MS 分析

No.	t_R /min	化合物	分子式	相对分子量	相似度/%	含量/%
1	14.130	8-methyl decanoic acid 8-甲基癸酸	$C_{11}H_{22}O_2$	186	86	0.09
2	17.847	9-dodecenoic acid 9-十二碳烯酸	$C_{12}H_{22}O_2$	198	73	0.11
3	18.483	<i>n</i> -hexadecanoic 棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	256	97	16.22
4	20.513	11,14-eicosadienoic acid 11,14-二十碳二烯酸	$C_{20}H_{36}O_2$	308	87	0.3
5	20.694	7-hexadecenoic acid 7-十六碳烯酸	$C_{16}H_{30}O_2$	254	81	0.19
6	23.314	9-octadecenoic acid 油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	282	87	7.69
7	24.766	9,12-octadecadienoic acid 亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	280	97	70.11
8	25.608	octadecanoic acid 硬脂酸	$C_{18}H_{36}O_2$	284	94	3.26
9	27.076	1-tetradecyne 十四炔	$C_{14}H_{26}$	196	80	0.1
10	27.499	cyclohexane, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-trans 环己烷	$C_{10}H_{18}$	138	85	0.48
11	29.344	13-docosenoic acid 13-二十二碳烯酸	$C_{22}H_{42}O_2$	338	79	0.2
12	32.365	hexadecadienoic acid 2,4-十六碳二烯酸	$C_{16}H_{28}O_2$	252	87	1.04
13	33.596	decanoic acid, 8-methyl 8-甲基癸酸	$C_{11}H_{22}O_2$	186	84	0.15
14	36.203	decanoic acid, 8-methyl 8-甲基癸酸	$C_{11}H_{22}O_2$	186	81	0.07



A. 对照品; B. 供试品; 1. 棕榈酸甲酯; 2. 硬脂酸甲酯;
3. 油酸甲酯; 4. 亚油酸甲酯; 5. 二十一酸甲酯

图 2 苘麻子样品 GC 色谱

17 mg, 精密称定, 置 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 配制成 $676 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的内标溶液。

混合对照品溶液: 分别称取棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸对照品适量, 精密称定, 置于 25 mL 量瓶中, 加正己烷稀释至刻度, 摇匀, 配制成棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸质量浓度分别为 2 016, 395, 2 004, $7 700 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

样品溶液: 同 2.1.2 项制备方法。

2.3.3 线性关系考察 精密量取混合对照品溶液 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 分置于具塞玻璃试管中, 照 2.1.2 项下方法制成系列混合溶液, 在上述色谱条件下取 1 μL 进样分析。以对照品溶液质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 为横坐标 (X), 对照品与内标峰面积的比值为纵坐标 (Y), 绘制标准曲线。

线性回归方程分别为 $Y_{\text{棕榈酸}} = 2.977 6X + 0.196 8$

($r = 0.999 0$), $Y_{\text{硬脂酸}} = 2.835 3X + 0.015 9$ ($r = 0.999 9$), $Y_{\text{油酸}} = 2.895 3X + 0.041 0$ ($r = 0.999 8$), $Y_{\text{亚油酸}} = 3.061 6X + 0.033 1$ ($r = 0.999 5$), 表明棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸分别在 33.6 ~ 336, 6.58 ~ 65.8, 33.4 ~ 334, $128.3 \sim 1 283 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积呈良好线性关系。

2.3.4 精密度试验 精密吸取混合对照品溶液 0.4 mL, 照 2.1.2 项下制备方法操作。在上述色谱条件下连续进样 6 次, 测得棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯和亚油酸甲酯的峰面积与内标峰面积比值的 RSD, 分别为 1.6%, 1.1%, 1.0%, 1.1%, 结果表明仪器精密度良好。

2.3.5 重复性试验 取湖北产地苘麻子油 6 份, 每份约 10 mg, 精密称定, 照 2.1.2 项下方法操作。在上述色谱条件下进样分析, 计算棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸含量的 RSD 分别为 0.4%, 1.8%, 1.1%, 0.8%, 表明方法重复性良好。

2.3.6 稳定性试验 取同一样品溶液, 照 2.1.2 项下方法操作, 在室温下放置, 分别于 0, 2, 4, 8, 12, 24 h 在上述色谱条件下进样分析, 计算棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯和亚油酸甲酯与内标峰面积比值的 RSD 分别为 0.8%, 1.5%, 1.6%, 1.9%, 表明样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.3.7 加样回收率试验 取湖北产地苈麻子油 9 份, 每份约 5 mg, 精密称定, 分别精密加入低、中、高 3 种浓度的对照品溶液, 照 2.1.2 项下方法操作平行制备溶液, 进样测定, 计算平均回收率, 结果见表 2。

2.3.8 样品测定 取 9 批不同产地的苈麻子油,

表 2 苘麻子油中脂肪酸回收率试验

成分	样品中 含量/mg	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回 收率/%	RSD /%
棕榈酸	0.796 3	0.604 8	1.406	100.9	100.4	1.3
	0.799 5	0.806 4	1.596	98.9		
	0.797 9	1.008	1.806	101.2		
硬脂酸	0.149 2	0.118 5	0.269 5	100.7	100.6	1.5
	0.149 8	0.158 0	0.313 6	101.4		
	0.149 5	0.197 5	0.347 6	99.6		
油酸	0.607 3	0.480 9	1.082	100.6	101.6	1.6
	0.609 7	0.601 2	1.211	102.5		
	0.608 5	0.721 4	1.334	101.5		
亚油酸	2.753	2.310	5.152	102.1	101.0	2.1
	2.764	2.695	5.507	100.2		
	2.759	3.080	5.853	100.6		

照 2.1.2 项下方法制备样品溶液,在上述色谱条件下测定,结果见表 3。

结果表明四川、湖北、江苏省份的样品含脂肪酸量较高,山东、河北、吉林等地次之,河南样品含量最低。

3 讨论

考察了 DB-1, HP-5, PEG-20M 和 DB-WAX 4 根不同型号的石英毛细管柱,结果表明 DB-WAX 石英毛细管柱能够对样品实现快速、良好的分离。考察了 60 ~ 230 °C 的程序升温方式,发现待测组分在 200 °C 左右时出峰;考察 190, 200, 210 °C 等恒温条件,发现色谱峰拖尾现象严重,最后确定 190 ~ 230 °C 程序升温方式,色谱峰可以达到基线分离,对称性

表 3 苘麻子油中脂肪酸含量测定 ($\bar{x} \pm s, n=3$)mg·g⁻¹

来源	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸
吉林	148.1 ± 0.11	24.34 ± 0.07	126.8 ± 0.06	454.3 ± 0.08
辽宁	138.5 ± 0.06	21.73 ± 0.06	117.5 ± 0.15	469.9 ± 0.14
河南	67.58 ± 0.18	13.51 ± 0.06	70.72 ± 0.14	336.4 ± 0.39
河北	137.1 ± 0.27	18.56 ± 0.01	124.6 ± 0.02	473.8 ± 0.36
安徽	162.2 ± 0.29	20.92 ± 0.16	135.7 ± 0.27	433.2 ± 0.19
四川	157.7 ± 0.09	22.30 ± 0.16	148.5 ± 0.23	518.3 ± 0.13
山东	144.3 ± 0.17	36.23 ± 0.21	123.8 ± 0.07	433.9 ± 0.08
湖北	165.4 ± 0.03	30.98 ± 0.13	132.8 ± 0.07	586.3 ± 0.13
江苏	146.9 ± 0.41	28.20 ± 0.14	126.8 ± 0.16	564.7 ± 0.10

好,出峰时间合适。

文献^[11-12]使用脂肪酸甲酯作为对照品测定脂肪酸的含量,对照品没有与样品一同参与衍生化反应,难以保证方法的准确度。这一点被很多实验人员忽视。本文采用内标法测定苘麻子油中脂肪酸的含量,选用脂肪酸为对照品,能够保证方法的准确。

[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,2010:189.
- [2] TIAN Chun-lian, WANG Miao, SHEN Chang-hui, et al. Accuracy mass screening and identification of phenolic compounds from the five parts of *Abutilon theophrasti* by reverse phase high performance liquid chromatography-electrospray ionization-quadrupoles-time of flight-mass spectrometry [J]. J Sep Sci, 2012 (35):763.
- [3] 杨永榆. 冬葵子与苘麻子之区别[J]. 实用中医药杂志,2009,25(2):119.
- [4] 刘惠,倪士峰,康金虎,等. 苘麻属植物的药学研究概况[J]. 西北药学杂志,2010,25(1):68.
- [5] 顾关云,蒋昱. 磨盘草及苘麻属植物的化学成分与药理作用[J]. 现代药物与临床,2009,24(6):338.

- [6] 白淑珍,徐玉莲. 苘麻子油中游离脂肪酸的含量测定[J]. 中国医药指南,2010,8(6):43.
- [7] 栾阳,张慧,康廷国. 掌叶半夏脂溶性成分 GC-MS 研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):52.
- [8] 卢淑君,杨燕云,许亮,等. 气相色谱法测定牛蒡子脂肪油中 3 种脂肪酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(20):56.
- [9] WANG Ya-min, YI Lun-zhao, LIANG Yi-zeng, et al. Comparative analysis of essential oil components in *Pericarpium Citri Reticulatae Viride* and *Pericarpium Citri Reticulatae* by GC-MS combined with chemometric resolution method. [J]. J Pharm Biomed Anal, 2008, 46(1):66.
- [10] 李晓菲,宋文东,纪丽丽,等. 薯蓣块茎脂肪酸和挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(4):129.
- [11] 于双慧,陈晓辉,毕开顺. GC 法测定萆薢中棕榈酸、油酸与亚油酸的含量[J]. 药物分析杂志,2008,28(9):1485.
- [12] 许佳,孙磊,金红宇. 气相色谱法分析锯叶棕胶囊中 11 种脂肪酸[J]. 中国药事,2011,25(11):1123.

[责任编辑 顾雪竹]