

## GC 法测定炮制辅料羊脂油中油酸的含量

黄兰岚<sup>1</sup>, 杨立新<sup>1</sup>, 石金敏<sup>1,2</sup>, 李烧烧<sup>1\*</sup>, 顾雪竹<sup>1</sup>, 麻印莲<sup>1</sup>, 方婧<sup>1</sup>, 田甜<sup>1,3</sup>

(1. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001;  
3. 首都医科大学中医药学院, 北京 100069)

**[摘要]** 目的: 建立炮制辅料羊脂油中油酸的含量测定方法。方法: 采用 GC 法测定, 色谱柱为 HP-5 弹性石英毛细管柱 (0.25  $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ), 进样口温度 230  $^{\circ}\text{C}$ , FID 检测器, 检测器温度 230  $^{\circ}\text{C}$ , 柱温初始温度 100  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 5 min, 以 8  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 180  $^{\circ}\text{C}$ , 然后以 2  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 230  $^{\circ}\text{C}$ ; 载气为高纯氮气 (99.99%), 流速 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ , 分流比 20:1。供试品溶液制备方法为取羊脂油 0.4 g, 加入 0.5  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 KOH-甲醇溶液 15 mL, 于 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴 30 min, 冷却后, 加入 14%  $\text{BF}_3$ -乙醚溶液 10 mL, 于 60  $^{\circ}\text{C}$  水浴 5 min, 放置, 待其冷却至室温, 加入正己烷 10 mL 和饱和 NaCl 水溶液 10 mL, 静置, 待其分离, 取上清液, 以 16-烷为内标物, 进行测定比较。结果: 油酸甲酯在 2.02 ~ 10.12  $\mu\text{g}$  线性关系良好 ( $r=0.9998$ ); 本品按干燥品计算, 暂定含油酸不得少于 6.0%。结论: 该方法操作简便, 可重复性强, 可用于该辅料的质量标准控制。

**[关键词]** 炮制辅料; 羊脂油; 甲酯化; 气相色谱; 油酸

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0070-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013170070

## Content Determination of Oleic Acid in *Capra hircus* or *Ovis aries* by Gas Chromatography

HUANG Lan-lan<sup>1</sup>, YANG Li-xin<sup>1</sup>, SHI Jin-min<sup>1,2</sup>, LI Rao-rao<sup>1\*</sup>,  
GU Xue-zhu<sup>1</sup>, MA Yin-lian<sup>1</sup>, FANG Jing<sup>1</sup>, TIAN Tian<sup>1,3</sup>

(1. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 2. Zhengzhou University School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou 450001, China;  
3. Capital Medical University School of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100069, China)

**[Abstract]** **Objective:** To develop a method for the determination of oleic acid in the *Capra hircus* or *Ovis aries*, an adjuvant of processing. **Method:** The GC separation was performed on a HP-5 quartz capillary column (0.25  $\mu\text{m} \times 0.25 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ) and the initial temperature was programmed from 100  $^{\circ}\text{C}$  to 180  $^{\circ}\text{C}$  at 8  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  and kept for 3 min, then raised to 230  $^{\circ}\text{C}$  at 2  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ , inject temperature was set at 230  $^{\circ}\text{C}$ , carrier gas was  $\text{N}_2$  (99.99%). The flow rate was 1.0  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$  and split injection was conducted with split ratio of 20:1. Preparation of the test solution: 0.4 g suet oil was taken, then 0.5  $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  of KOH-methanol solution 15 mL was added at 60  $^{\circ}\text{C}$  for 30 min. After cooled, 14%  $\text{BF}_3$ -ether solution of 10 mL was added at 60  $^{\circ}\text{C}$  maintaining 5 min, placed, it was cooled to room temperature, 10 mL n-hexane and 10 mL saturated aqueous NaCl solution were added, standed, and the supernatant was separated. Cetane was used as internal standard and measured to compare. **Result:** The standard curves of oleic acid was linear within the range of 2.02-10.12  $\mu\text{g}$ . The coefficient were 0.9998. It contains not less than 6.0 per cent of oleic acid, tentatively, calculated with reference to the dried

**[收稿日期]** 20130315(019)

**[基金项目]** 国家科技部科研院所社会公益研究专项(2005D1B1J169-01); 北京自然科学基金项目(7112097); 中国中医科学院自选课题(ZZ2006096)

**[第一作者]** 黄兰岚, 硕士, 从事中药学研究, E-mail: gblue0210@126.com

**[通讯作者]** \* 李烧烧, 副研究员, 从事中药炮制学研究, Tel: 010-64014411-2975, E-mail: leeraorao@163.com

drug. **Conclusion:** This method is accurate, reliable and repeatable. It can be used to control the quality of oleic acid in the suet oil.

[**Key words**] processing adjuvant; *Capra hircus* or *Ovis aries*; methyl esterification; GC; oleic acid

羊脂油是一种常用炮制辅料,来源于牛科动物山羊 *Capra hircus* Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油,甘、温,具有补虚、润燥、祛风、解毒的功效,治疗虚劳羸瘦、久痢、口干便秘、肌肤皴裂等症<sup>[1]</sup>。用其炮制淫羊藿可以增强淫羊藿的温肾助阳作用<sup>[2]</sup>,达到“增效”的目的。

羊脂油是在炮制过程中加入,其质量直接影响饮片质量。而羊脂油目前尚无相关药用质量标准。我们采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术已经对其脂肪酸类成分进行了分析,结果显示油酸为其主要的不饱和脂肪酸类成分<sup>[3]</sup>。本文采用GC法对羊脂油中油酸含量进行了测定,以期为其质量标准研究提供实验数据。

**1 材料**

Trace 气相色谱仪,毛细管 HP-5 色谱柱,GC-2000 气相色谱工作站。16-烷内标物购自天津科密欧公司,纯度 > 96%。油酸甲酯对照品购自 Nucheckprep 公司,经检测纯度 > 98%,置减压干燥器中,以五氧化二磷干燥 36 h。所有试剂均为分析纯。生羊脂油分别购自宁夏、天津等地,经李尧尧副研究员鉴定分别为山羊 *Capra hircus* Linnaeus 或绵羊 *Ovis aries* Linnaeus 的脂肪油。

羊脂油的炼制工艺:取各地生羊脂油,切成小块,分别于 120 °C 炼制,滤过,取滤液,待室温冷却至固体,得到各地的炼制样品。本实验均采用炼制样品进样,样品目录见表 1。

表 1 各地羊脂油样品目录

No.	来源、部位与产地	No.	来源、部位与产地
yp1	绵羊,肚子油,宁夏	yp11	绵羊,尾巴油,河南郑州
yp2	山羊,肚子油,宁夏	yp12	绵羊,肚子油,宁夏
yp3	绵羊,尾巴油,宁夏	yp13	绵羊,肚子油,内蒙古
yp4	绵羊,尾巴油,天津	yp14	山羊,肚子油,内蒙古
yp5	山羊,肚子油,上海	yp15	绵羊,尾巴油,内蒙古
yp6	绵羊,尾巴油,宁夏	yp16	绵羊,尾巴油,福州
yp7	绵羊,尾巴油,宁夏	yp17	山羊,肚子油,江西
yp8	绵羊,肚子油,宁夏	yp18	山羊,肚子油,广西
yp9	绵羊,尾巴油,河北安国	yp19	绵羊,肚子油,福州
yp10	绵羊,尾巴油,山东淄博	yp20	绵羊,肚子油,黑龙江

**2 方法与结果**

**2.1 色谱条件** 色谱柱为 HP-5 弹性石英毛细管柱(0.25 μm × 0.25 mm × 30 m),进样口温度 230 °C, FID 检测器,检测器温度 230 °C,柱温初始温度 100 °C,保持 5 min,以 8 °C · min<sup>-1</sup> 升至 180 °C,然后以 2 °C · min<sup>-1</sup> 升至 230 °C;载气为高纯氮气(99.99%),流速 1.0 mL · min<sup>-1</sup>,分流比 20:1。

**2.2 对照品溶液的制备** 精密称取油酸甲酯对照品适量,置 25 mL 量瓶中,加正己烷定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 10.12 g · L<sup>-1</sup> 的对照品溶液。

**2.3 内标溶液的制备** 取 16-烷对照品适量,精密称取,置 25 mL 量瓶中,加正己烷定容至刻度,摇匀,配制成质量浓度为 2.38 g · L<sup>-1</sup> 的内标溶液。

**2.4 供试品溶液的制备** 取羊脂油 400 mg,加入 0.5 mol · L<sup>-1</sup> 的 KOH-甲醇溶液 15 mL,于 60 °C 水浴 30 min,冷却后,加入 14% BF<sub>3</sub>-乙醚溶液 10 mL,于 60 °C 水浴 5 min,放置,待其冷却至室温,加入正己烷 10 mL 和饱和 NaCl 水溶液 10 mL,静置,待其分离,取上清液。精密量取 1.0 mL 甲酯化供试品并精密加入 1 mL 的 16-烷内标溶液,混匀后,即可。

**2.5 线性关系考察** 取油酸甲酯对照品溶液(10.12 g · L<sup>-1</sup>),分别精密吸取 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mL,分别置 5 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 1.0 mL,加正己烷定容至刻度,摇匀,分别吸取 1.0 μL,注入气相色谱仪,测定峰面积。以对照品溶液浓度(g · L<sup>-1</sup>)为横坐标(X),以对照品与内标峰面积的比值为纵坐标(Y),绘制标准曲线,计算回归方程为 Y = 1.06 × 10<sup>6</sup> X + 3.51 × 10<sup>5</sup> (r = 0.999 8),结果表明油酸甲酯在 2.02 ~ 10.12 μg 与峰面积比呈良好线性关系。

**2.6 方法学考察**

**2.6.1 精密度试验** 精密称取 yp1# 的样品,按照 2.4 项下的方法制备供试品溶液,进样 1 μL,连续进样 6 次,以对照品与内标峰面积的比值计算 RSD 1.82%,表明仪器稳定性良好。

**2.6.2 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,室温放置,于 0, 2, 4, 8, 12 h 时间点分别进样 1.0 μL,以油酸甲酯与内标峰面积的比值计算 RSD 2.50%。结果表明,供试品溶液在 12 h 内稳定性良好。

**2.6.3 重复性试验** 取 yp1# 样品 6 份,按照 2.4 项

下的方法制备供试品溶液,分别进样 1.0  $\mu\text{L}$ ,以油酸甲酯与内标峰面积的比值,计算油酸甲酯的平均含量为 7.83%,RSD 2.35%,表明样品的制备方法稳定,符合含量测定要求。

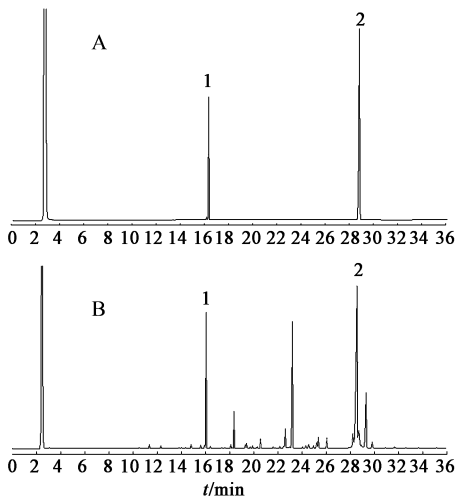
**2.6.4 回收率试验** 称取 yp1#(已知含油酸甲酯含量为 7.83%)6 份,每份约 200 mg,精密称定,分别加入油酸甲酯对照品,按照 2.4 项下的方法制备供试品溶液,分别进样 1.0  $\mu\text{L}$ ,以油酸甲酯与内标峰面积的比值,计算平均回收率,结果见表 2。

表 2 羊脂油中油酸甲酯加样回收率试验

样品中含量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
15.661	30.657	96.13	97.53	2.23
15.662	30.831	97.24		
15.661	31.066	98.75		
15.662	30.495	95.08		
15.664	30.758	96.76		
15.662	31.450	101.21		

注:加入量均为 15.6 mg。

**2.7 样品测定** 分别精密吸取对照品溶液和供试品溶液各 1  $\mu\text{L}$ ,注入气相色谱仪,进样测定,以油酸甲酯与内标峰面积的比值计算油酸甲酯的含量,见图 1,表 3。



1. 十六烷内标物;2. 油酸甲酯

图 1 对照品与内标混合物(A)及羊脂油样品(B)的气相色谱

### 3 讨论与小结<sup>[4-10]</sup>

**3.1 甲酯化方法考察** 由于羊脂油气化温度高于 300  $^{\circ}\text{C}$ ,无法直接进行气相色谱分析,故须进行甲酯化后才能进行样品分析。以 TLC、外观、色泽、GC 色谱等为检测指标,比较皂化剂、甲酯化试剂、加热方

法、加热时间和取样量,最后确定为 2.4 项下的甲酯化方法。

表 3 各地样品油酸成分含量

No.	油酸甲酯	No.	油酸甲酯
yp1	7.83	yp11	7.44
yp2	9.56	yp12	7.20
yp3	6.51	yp13	10.60
yp4	7.23	yp14	9.58
yp5	8.67	yp15	7.25
yp6	18.74	yp16	9.35
yp7	10.88	yp17	10.48
yp8	6.31	yp18	10.16
yp9	23.60	yp19	8.85
yp10	8.59	yp20	15.93

**3.2 程序升温条件考察** 以甲酯化样品进样。比较了几种升温程序后发现色谱峰主要集中在 25 ~ 40 min 内,故将 0 ~ 25,40 ~ 60 min 的升温速度加快,25 ~ 40 min 的升温速度放慢。将起始温度设为 100  $^{\circ}\text{C}$ ,峰形较好,主要样品峰集中在 15 ~ 36 min,在 180 ~ 230  $^{\circ}\text{C}$  程序升温 1  $^{\circ}\text{C}$  和 2  $^{\circ}\text{C}$  差别不明显,故选择柱温初始温度 100  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 5 min,以 8  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 180  $^{\circ}\text{C}$ ,然后以 2  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 230  $^{\circ}\text{C}$  作为程序升温条件。

**3.3 进样量考察** 分别进样 0.2,0.5,1  $\mu\text{L}$ ,结果显示进样量为 0.2  $\mu\text{L}$  时出峰不完全,1  $\mu\text{L}$  时峰形、分离度及稳定性均最好,因此选择进样量为 1  $\mu\text{L}$ 。

**3.4 内标选择的考察** 由于气相色谱法稳定性较差,故选用内标法定量更为准确,结合文献,选择 n-16-烷作为内标,出峰时间在 16 min 左右,与样品峰分离度好,适宜用来作为羊脂油的内标。

实验结果显示,油酸含量高,适用于羊脂油的质量控制。根据 20 个样品的测定结果,暂规定本品按干燥品计算,含油酸甲酯不得少于 6.0%。为该辅料的行业标准与国家标准提供了实验数据。

### [参考文献]

[1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草. 第 9 册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:8940.  
[2] 原思通. 医用中药饮片学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:424.  
[3] 黄兰岚,李姚姚,钟利群,等. 气相色谱-质谱联用法分析羊脂油的脂肪酸成分[J]. 时珍国医国药,2009,20(10):2488.

# HPLC 指纹图谱法评价市售胖大海的质量一致性

王如峰<sup>1\*</sup>, 安燕南<sup>1</sup>, 袁铭<sup>1</sup>, 吴秀稳<sup>1</sup>, 丁怡<sup>2</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 清华大学生命科学学院, 北京 100084)

**[摘要]** 目的: 建立胖大海高效液相色谱指纹图谱分析方法, 比较不同地区市售胖大海质量的一致性, 为其质量评价提供参考。方法: 通过对提取条件和色谱条件进行考察, 构建高效液相色谱指纹图谱法并用其测定购自国内不同地区的市售胖大海样品的指纹图谱, 采用相似度分析软件对指纹图谱进行分析比较。结果: 确定了胖大海指纹图谱的提取条件和高效液相色谱条件, 发现了胖大海的 20 个共有特征峰, 8 份市售胖大海样品的相似度为 0.942~0.984。结论: 建立了胖大海的高效液相色谱指纹图谱分析方法, 通过该方法证明中国不同地区的市售胖大海的质量比较一致。

**[关键词]** 胖大海; 高效液相色谱指纹图谱; 质量

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0073-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013170073

## Quality Coherence Evaluation of the Seeds of *Sterculia lychnophora* Commercially Available in China Based on HPLC Fingerprint

WANG Ru-feng<sup>1\*</sup>, AN Yan-nan<sup>1</sup>, YUAN Ming<sup>1</sup>, WU Xiu-wen<sup>1</sup>, DING Yi<sup>2</sup>

(1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. School of Life Sciences, Tsinghua University, Beijing 100084, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish high performance liquid chromatographic fingerprint of the seeds of *Sterculia lychnophora* and compare the quality coherence of this drug commercially available in China in order to provide a reference for its quality evaluation. **Method:** The fingerprint analysis procedure of these seeds was developed by investigating the extraction and chromatographic conditions, the fingerprints of 8 batches of the seeds purchased from various places of China were determined with this procedure, and the data were analyzed with Chromatographic Fingerprint Similarity Evaluation System 2004A Version provided by Chinese Pharmacopoeia

**[收稿日期]** 20121029(005)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81073018, 81274044)

**[通讯作者]** \*王如峰, 博士, 副教授, 从事中药化学成分及生物转化研究, Tel:010-84738646, E-mail: wangrufeng@tsinghua.org.cn

[4] 蔡伟, 林宏英, 张宏桂, 等. 气相色谱法测定不同采收月份和年限金钗石斛中石斛碱[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11):62.

[5] 范斌, 柏冬, 刘泓, 等. 气相色谱法测定艾奇康胶囊中龙脑的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(6):15.

[6] 刘伟, 孙曙光, 王东, 等. 气相色谱法测定耳炎灵滴剂中薄荷醇的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(2):66.

[7] 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.

[8] 刘吉金, 黄服喜, 熊英. 毛细管气相色谱法同时测定活络油中 7 种成分的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(10):16.

[9] 施俊辉, 史亚军, 唐梅, 等. 气相色谱内标法测定黄芩提取物亚微乳中的乙醇残留[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(15):66.

[10] 党小平, 陆兔林, 王云锋, 等. GC 测定鸦胆子油软胶囊中油酸的含量[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(1):56.

[责任编辑 顾雪竹]