

# HPLC 测定蒙古扁桃种仁中 $\alpha$ -维生素 E 的含量

苏琨, 石松利\*, 郑东华, 李巨欣

(内蒙古科技大学包头医学院药学院, 内蒙古包头 014060)

**[摘要]** 目的: 利用高效液相法, 测定出蒙古扁桃中维生素 E 的含量。方法: 采用色谱为 Wondasil C<sub>18</sub> (4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为甲醇-水(98:2), 流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>, 柱温 25  $^{\circ}$ C, 检测波长 300 nm, 检测器温度为室温(25  $^{\circ}$ C)。结果:  $\alpha$ -维生素 E 在 1~100  $\mu$ g 呈良好的线性关系, 方程为  $Y = 5\,176.7X - 7\,645.8$  ( $r = 0.999\,6$ ), 平均回收率为 99.4% ( $n = 3$ , RSD 1.740%), 蒙古扁桃桃仁中维生素 E 的含量在 7.12~15.36  $\mu$ g·g<sup>-1</sup>, 以雅布格戈壁最高, 固阳爬榆树最低。结论: 该法可用于测定蒙古扁桃桃仁中的维生素 E 的含量, 结果准确可靠, 快速灵敏。

**[关键词]** 蒙古扁桃,  $\alpha$ -维生素 E, 高效液相

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0070-03

**[doi]** 10.11653/syfy2013120070

## Determination of Alpha Tocopherol Content in *Amygdalus mongolica* by HPLC

SU Kun, SHI Song-li\*, ZHENG Dong-hua, LI Ju-xin

**[收稿日期]** 20120817(018)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81102760); 内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJ10185)

**[第一作者]** 苏琨, 讲师, 硕士, 从事蒙药资源开发利用研究, Tel: 15044937220, E-mail: nmsk528@126.com

**[通讯作者]** \* 石松利, 副教授, 博士, 从事中蒙药成分及资源开发利用研究, Tel: 0472-7167855, E-mail: shisongli122@126.com

的峰面积, 结果表明流动相提取率较高、杂质较少。另对提取方法筛选, 直接溶解或超声处理 10, 20, 30 min, 结果表明超声处理 20 min 溶出充分。故供试品溶液的制备采用加流动相超声处理 20 min 进行提取。

由于样品中含量的较大差别, 梓醇采用流动相(I)乙腈-水(2:98), 地黄苷 D 和益母草苷采用流动相(II)乙腈-水(4:98), 均达到良好分离效果。

对 12 批不同产地怀地黄提取物进行含量分析发现, 各指标成分含量存在较大差异, 品种、等级和环境因素均影响药材成分含量, 制备鲜地黄提取物药材的选择应当考虑品种、等级和产地。

### [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: 115.
- [2] 李更生, 于震, 王慧森. 地黄化学成分与药理研究进展[J]. 国外医学: 中医中药分册, 2004, 26(2): 74.
- [3] 吴金环, 顾红岩, 喇孝瑾, 等. 地黄与熟地黄对糖尿病小鼠血糖血脂的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(8): 161.

- [4] 王宏洁, 金亚红, 李鹏跃, 等. 鲜、生、熟地黄中 3 种活性成分含量的比较[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(15): 1923.
- [5] 郭东艳, 王梅, 唐志书, 等. 生地黄煎煮过程中梓醇含量的动态变化规律及止血作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12): 144.
- [6] 吕杨, 王慧森, 李更生, 等. 正交试验优选鲜地黄提取工艺[J]. 中医研究, 2009, 22(2): 18.
- [7] 刘倩, 喇万英. 基于体内代谢-药效学相关性分析的中药复方药效物质基础研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 272.
- [8] 陈晓萌, 陈畅, 李德凤, 等. 中药有效成分辨识的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 249.
- [9] 王喜军. 中药及血清药物化学的研究动态及发展趋势[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(10): 789, 835.
- [10] 王莉梅, 金向群. 中药血清化学在中药及中药复方研究中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 77.
- [11] 张雅阁, 李更生, 王慧森, 等. 地黄化学成分血清药物化学的初步研究[J]. 中医研究, 2010, 23(5): 32.

[责任编辑 顾雪竹]

(School of Pharmacy, Baotou Medical College, Inner Mongolia University  
of Science & Technology, Baotou 014060, China)

**[ Abstract ] Objective:** To determine and compare vitamin E content in five different regions of *Amygdalus mongolica*. **Method:** HPLC method was established for determining the content of vitamin E. Methanol-water (98:2) was used as the mobile phase at the flow rate of  $1.00 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ . The chromatographic column was WondaSil-C<sub>18</sub> (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ); the detection wavelength was set at 300 nm; the column temperature was kept at 25  $^{\circ}\text{C}$ , and the ethanol was used as solvents. **Result:** The calibration curves of vitamin E was in good linearity over the range of 1-100  $\mu\text{g}$  ( $r=0.9996$ ). The average recovery of vitamin E was 100.1% ( $n=3$ , RSD 1.740). Among five samples from different areas, the highest content of vitamin E is determined in the sample of Yabuge Gebi and the lowest is the one from Guyang Payushu. **Conclusion:** The method was proved to be rapid, accurate and credible.

**[ Key words ]** *Amygdalus mongolica*;  $\alpha$ -vitamin E; HPLC

蒙古扁桃蒙古名为乌兰-衣不勒斯,又名山樱桃、土豆子,隶属蔷薇科扁桃属旱生落叶灌木,生于海拔 1 000 ~ 2 400 m 的荒漠草原、荒漠地区,被列为国家三级保护植物。其果仁中含有大量不饱和脂肪酸、氨基酸、微量元素等营养物质以及相当量的维生素,具有较高的药用、生态和经济价值<sup>[1-2]</sup>。蒙古扁桃果为传统中药材,在内蒙古可作郁李仁使用<sup>[3]</sup>,以种仁入药,主治止咳化痰、润肠通便、水肿、脚气等<sup>[4]</sup>。

维生素 E 中共有 4 种生育酚,其生物效应以  $\alpha$ -维生素 E 较为重要<sup>[5]</sup>。目前未见有关蒙古扁桃桃仁维生素 E 含量测定的报道。本文旨在确立可靠的高效液相方法并测定蒙古扁桃中  $\alpha$ -VE 的含量,为其药理作用和深入开发利用提供实验依据。

## 1 材料

DGU-20A3 型高效液相色谱仪(日本岛津公司)包括:CTO-10AS VP 系统控制器,SPD-M20A 紫外-可见检测器,LC-20AT 泵和 CBM-20A 色谱工作站,JP-310S 型超声波清洗仪(功率 180 W,频率 40 kHz),离心机。

甲醇(色谱纯),无水乙醇,纯净水(娃哈哈); $\alpha$ -VE 对照品(上海源叶生物科技有限公司,YY1187-20 mg);蒙古扁桃为 2012 年 3 月购(采)于不同产地,包括雅布格戈壁(1号),贺兰山沟(2号),固阳爬榆树(3号),忽鸡沟(4号),九峰山(5号),所有样品经内蒙古大学生命科学院王迎春教授鉴定。

## 2 方法

**2.1 色谱条件** WondaSil C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ),流动相甲醇-水(98:2)<sup>[6]</sup>,流速  $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,柱温 25  $^{\circ}\text{C}$ ,检测波长,300 nm,检测器温

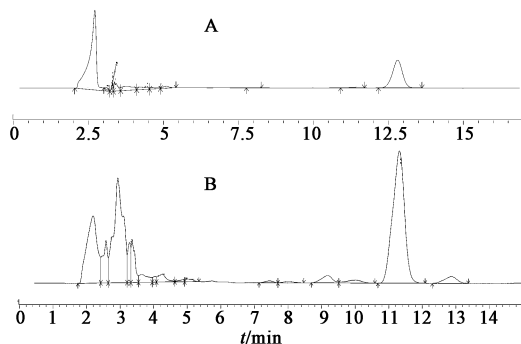
度室温(25  $^{\circ}\text{C}$ )。

**2.2 对照品溶液制备** 精密称取 10 mg  $\alpha$ -VE 标准品于 10 mL 棕色量瓶中,加 50 mg VC(抗氧化剂),用甲醇超声溶解并定容,得  $\alpha$ -VE 标准储备液  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,置冰箱中避光保存,临用时用无水乙醇稀释至不同的浓度作为对照品溶液。

**2.3 供试品溶液制备** 取一定量干燥蒙古扁桃仁,粉碎(由于桃仁油性太大,不易过筛),精确称取扁桃粉末 5.00 g 于 50 mL 具塞棕色瓶中,精确加入 10 mL 无水乙醇作为提取剂,密塞,称定质量。超声提取 30 min,冷却静置 15 min,加入无水乙醇补足减失质量,摇匀,取上层清液经 0.45  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤后用作高效液相色谱分析。

## 3 结果

**3.1 对照试验** 将所配置的样品溶液和对照品溶液按照前述色谱条件平行进样,二者在 12.8 min 左右都出现  $\alpha$ -VE 峰,该峰与其他峰分离度良好,其他峰对测定并没有干扰。色谱图见图 1。



A. 对照品;B. 样品;1.  $\alpha$ -VE

图 1 蒙古扁桃桃仁的 HPLC

**3.2 线性关系考察** 分别精密吸取 1, 0.75, 0.50,

0.25, 0.01 mL 的标准溶液 ( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 置于 10 mL 棕色量瓶中, 用乙醇稀释至刻度, 摇匀, 配置成 100, 75, 50, 25, 1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的对照品溶液。分别精密吸取上述溶液各 20  $\mu\text{L}$  进样, 以  $\alpha\text{-VE}$  对照品质量浓度为横坐标 ( $X$ )、峰面积值为纵坐标 ( $Y$ ) 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y = 5\ 176.7X - 7\ 645.8$  ( $r = 0.999\ 6$ )。

**3.3 精密度试验** 在 2.1 确定的色谱条件下, 精密吸取 5 号样品溶液 20  $\mu\text{L}$ , 连续进样 6 次, RSD 1.16%。

**3.4 重复性试验** 取同一批 2 号样品适量, 配制 6 份样品溶液, 进行 6 次平行测定。结果 6 批样品平均含量的 RSD 1.93%, 该方法的重复性良好。

**3.5 稳定性试验** 取 5 号样品适量, 依样品处理方法制成样品溶液, 放置 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 8 h 后分别进行测定  $\alpha\text{-VE}$  的峰面积, 平均 RSD 2.70%。

**3.6 加样回收试验** 精密称取 5 号样品粉末 0.500 0 g 共 9 份, 分别加入质量浓度为  $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\alpha\text{-VE}$  对照品溶液适量, 按 2.3 方法制备成供试液。在 2.1 确定的色谱条件下分别进行测定含量, 计算回收率, 结果如表 1。

表 1  $\alpha\text{-VE}$  在 5 号样品中添加的回收率测定

取样量 /g	样品中 VE 量 / $\mu\text{g}$	添加量 / $\mu\text{g}$	测得值 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均 RSD /%	平均 回收率 /%
0.501 5	6.238 7	5.00	11.14	98.03		
0.502 2	6.247 4	5.00	11.01	95.25		
0.503 9	6.268 5	5.00	11.28	100.23		
0.504 9	6.281 0	6.25	12.54	100.14	1.76	98.84
0.500 8	6.230 0	6.25	12.39	98.56		
0.501 2	6.234 9	6.25	12.42	98.96		
0.504 9	6.268 5	7.50	13.71	99.22		
0.501 9	6.282 4	7.50	13.88	101.30		
0.500 6	6.227 5	7.50	13.57	97.9		

**3.7 蒙古扁桃桃仁中的维生素 E 的含量测定** 根据 2.3 方法和 2.1 确定的色谱条件下, 分别测定 5 种不同产地的蒙古扁桃桃仁中的  $\alpha\text{-VE}$  的含量, 结果如表 2。

#### 4 讨论

利用高效液相法测得  $\alpha\text{-VE}$  在 1 ~ 100  $\mu\text{g}$  呈良好的线性关系, 精密度良好, 平均加标回收率为 99.1%。所测得的扁桃桃仁中维生素 E 的含量在 7.0 ~ 15.3  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。测定结果表明, 5 种不同产地的

表 2 不同地区的蒙古扁桃维生素 E 的测定

No.	产地	$\alpha\text{-VE}/\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$
1	雅布格戈壁	15.31
2	贺兰山沟	14.82
3	固阳爬榆树	7.027
4	忽鸡沟	8.396
5	九峰山	12.44

蒙古扁桃种仁中的  $\alpha\text{-VE}$  含量均低于扁桃种仁 ( $208.5 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[8]</sup>, 而高于长柄扁桃种仁 ( $2.82 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )<sup>[9]</sup>、核桃油 ( $6.6 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )。

维生素 E 的提取溶剂常用正己烷、无水甲醇<sup>[10]</sup>或者无水乙醇<sup>[11]</sup>, 近年来更多采用的提取溶剂是后两种。本文采用无水乙醇作为溶剂, 利用超声提取法对样品进行处理, 能够很好的分离  $\alpha\text{-VE}$ , 通过高效液相法可获得良好的峰形及合适的保留时间。此法样品处理不需要皂化、萃取等烦琐步骤, 减少了热源和空气对  $\alpha\text{-VE}$  产生的影响, 提取率高, 且 HPLC 简单快速, 适于大批样品的分析。

#### [参考文献]

- [1] 斯琴巴特尔. 蒙古扁桃[J]. 生物学通报, 2003, 38(8):23.
- [2] 赵一立. 内蒙古珍稀濒危植物图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992:36.
- [3] 元艺兰. 郁李仁的药理作用与临床应用[J]. 现代医药卫生, 2007, 23(13):1987.
- [4] 石松利, 白迎春, 程向晖, 等. 蒙古扁桃药材中总黄酮提取及含量测定[J]. 包头医学院学报, 2012, 28(1):12.
- [5] 李军生, 邹义英. 维生素 E 作用机制研究新进展[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(6):556.
- [6] 张春红, 许传梅, 董琦, 等. HPLC 测定青稞中的维生素 E[J]. 分析实验室, 2008, 27(增刊):89.
- [7] 刘悍, 汤建国, 李正风, 等. 高效液相法测定烟草制品中的维生素 E[J]. 化学分析计量, 2009, 18(6):28.
- [8] 张萍, 申烨华, 郭春会, 等. 扁桃种仁中维生素 E 的高效液相色谱法测定[J]. 食品科学, 2004, 25(1):142.
- [9] 雷根虎, 刘丽婷, 韩超, 等. 沙地濒危植物长柄扁桃仁中维生素 E 含量分析[J]. 西北大学学报:自然科学版, 2009, 39(5):777.
- [10] 田守生, 郭尚伟, 段小波, 等. HPLC 法测定阿胶养颜软胶囊中维生素 E 的含量[J]. 齐鲁药事, 2011, 30(7):397.
- [11] 王兆华, 张大军, 赵玉兰, 等. HPLC 法测定沙棘油软胶囊中维生素 E 的含量[J]. 中草药, 2004, 3(1):48.

[责任编辑 顾雪竹]