

# GC 法测定中药红曲中油酸和亚油酸的含量

张志锋\*, 刘 圆, 吴春蕾

(西南民族大学少数民族药物研究所, 四川 成都 610041)

**[摘要]** 目的:建立气相色谱法(GC)测定中药红曲中油酸和亚油酸的含量。方法:采用石英毛细管柱 EC-1000(30 m × 320 μm, 0.25 μm);FID 检测器;色谱条件:柱温 228 ℃;进样口 280 ℃;检测器 FID 300 ℃。载气高纯 N<sub>2</sub>(纯度大于 99.999 9%),柱前压力 16.0 psi;分流比 10:1,空气 450 mL · min<sup>-1</sup>, H<sub>2</sub> 45 mL · min<sup>-1</sup>。结果:油酸和亚油酸的加样回收率分别为 100.1% 和 99.2%,重复性良好。结论:本法测定结果准确、可靠、快速、简便,可对中药红曲药材中油酸和亚油酸的含量进行控制。

**[关键词]** 红曲;油酸;亚油酸;气相色谱法

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)02-0023-03

红曲(Red yeast rice),亦名红曲米,是一味传统中药,为红曲霉属真菌紫红曲霉接种于大豆、大米等经过发酵而得到<sup>[1]</sup>,以其为原料制成的制剂血脂康胶囊临床用于治疗高脂血症<sup>[2]</sup>。已有文献采用脂肪酸甲酯为标准品,测定其粗脂肪酸的含量<sup>[3]</sup>,目前尚未见到有关定性定量测定红曲中的脂肪酸含量(油酸和亚油酸)的方法。因此本研究的目的是建立简便的溶剂超声提取法结合气相色谱法(GC)同时测定中药红曲及其制剂中的油酸和亚油酸的含量,为红曲药材的含量控制提供科学依据。

## 1 仪器与试剂

PE AutosystemXL 气相色谱仪,氢火焰离子化检测器;油酸对照品(纯度为 99.3%,Sigma,批号为 052k1323)、亚油酸对照品(纯度为 99.4%,Sigma,批号为 115K1141);其他试剂为分析纯,红曲药材来源见表 3。

## 2 方法与结果

### 2.1 溶液的制备

**2.1.1 对照品溶液的制备** 取油酸对照品、亚油酸对照品适量,分别精密称定,混合后加乙酸乙酯制成含油酸 0.6 mg · mL<sup>-1</sup>、亚油酸 0.9 mg · mL<sup>-1</sup>的溶

液,即得。

**2.1.2 供试品溶液的制备** 本品细粉 1.5 g (No. 1),精密称定,置具塞三角瓶中,精密加入乙酸乙酯 10 mL,密塞,称定重量,超声处理(加冰)30 min(功率 350 W,频率 35 kHz),放冷,再称定重量,用乙酸乙酯补足减失的重量。摇匀,离心,取上清液即得。

**2.2 色谱分析条件及系统适应性试验** 色谱柱为以键合交联聚乙二醇为固定相的石英毛细管色谱柱 EC-1000(30 m × 320 μm,0.25 μm),柱温 228 ℃;进样口 280 ℃;检测器 FID 300 ℃。载气高纯 N<sub>2</sub>(纯度大于 99.999 9%),柱前压力 16.0 psi;分流比 10:1,空气 450 mL · min<sup>-1</sup>,H<sub>2</sub> 45 mL · min<sup>-1</sup>;进样量 1 μL,按油酸峰计算,理论塔板数应大于 40 000,色谱图见图 1。

**2.3 线性关系考察** 取油酸对照品适量,加入乙酸乙酯溶解,分别配制成浓度为 40.7,162.8,407,814,2 035 μg · mL<sup>-1</sup>的溶液;取亚油酸对照品适量,加入乙酸乙酯溶解,分别配制成浓度为 97.3,486.4,972.8,1 945.6,3 891.2 μg · mL<sup>-1</sup>。精密量取上述溶液各 1 μL,分别注入气相色谱仪。以峰面积为纵坐标(Y),进样浓度为横坐标(X),绘制标准曲线,并计算得油酸回归方程  $Y = 2\,410X - 93\,028$  ( $r = 0.999\,4$ ),表明油酸在 40.7 ~ 2 035 μg · L<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好;亚油酸的回归方程  $Y = 227\,8X - 229\,639$  ( $r = 0.999\,5$ ),表明亚油酸在 97.3 ~ 3 891.2 μg · mL<sup>-1</sup> 范围内线性关系良好。

**2.4 最低检测限** 精密量取对照品贮备液 1.0

**[收稿日期]** 2009-05-12

**[基金项目]** 西南民族大学青年重点项目资金(2009),四川省青年基金项目(07ZQ026-011),国家中医药管理局(06-07ZP43)

**[通讯作者]** \* 张志锋, Tel: (028) 85522315; E-mail: zhangzh99@gmail.com

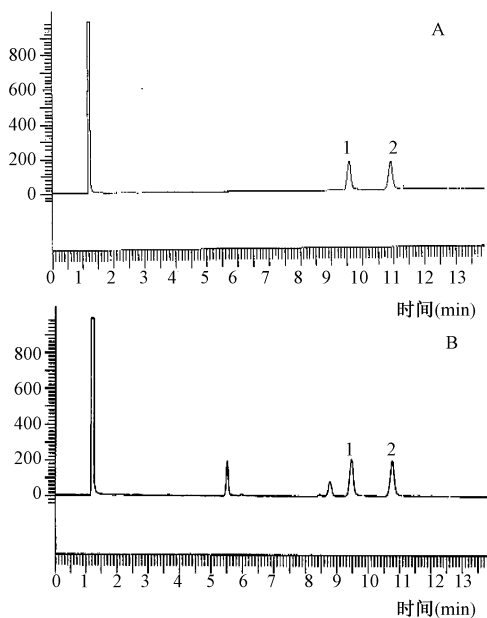


图 1 混合对照品(A)及红曲样品(B)GC图  
1. 油酸, 2. 亚油酸

mL, 置 50 mL 量瓶中, 加水稀释至刻度, 吸取此溶液 1 mL, 加水稀释并制成一系列浓度的溶液, 分别精密取 1  $\mu$ L 进样, 以峰高噪音的 3 倍 ( $S/N = 3$ ) 为最小检测限, 测得油酸和亚油酸的检测限分别为 2.0 ng 和 3.9 ng。

**2.5 精密度试验** 取对照品溶液, 分别精密量取 1  $\mu$ L, 连续进样 6 次, 测定色谱峰面积, 计算峰面积比值的 RSD 值, 结果油酸为 1.17%, 亚油酸为 1.07%。

**2.6 稳定性试验** 取供试品溶液, 分别精密量取 1  $\mu$ L, 在 0, 2, 4, 6, 8 h 时间间隔, 测定色谱峰面积, 计算峰面积比值的 RSD 值, 结果油酸为 0.82%, 亚油酸为 1.46%。

**2.7 重复性试验** 取样品, 精密称取 6 份, 分别制备供试品溶液按样品测定项下方法操作, 测得样品每克含油酸为 4.46 mg, RSD 为 1.32%; 亚油酸为 5.95 mg, RSD 为 0.63%。

**2.8 回收率试验** 精密称取已知含量的样品, 加入适量油酸、亚油酸标准品溶液, 照前法处理, 测定其含量, 并计算回收率, 结果表明回收率高(见表 1 ~ 2)。

**2.9 样品测定** 按上述样品制备方法和测定法测定不同来源的红曲药材样品, 重复 3 次, 计算其油酸和亚油酸的平均含量, 结果见表 3。

上述结果表明红曲中油酸的含量在 0.45% ~ 0.62% 之间, 亚油酸的含量在 0.54% ~ 0.77%。

表 1 油酸回收率试验 ( $n = 3$ )

编号	取样量 (g)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.750 1	2.50	2.45	98.0		
2	0.751 5	2.50	2.52	100.6	99.6	
3	0.751 6	2.50	2.50	100.1		
4	0.751 2	3.10	3.16	102.0		
5	0.752 6	3.10	3.15	101.7	101.7	1.4
6	0.752 0	3.10	3.14	101.4		
7	0.753 3	3.73	3.70	99.5		
8	0.749 8	3.73	3.67	98.5	99.1	
9	0.7505	3.73	3.70	99.4		

表 2 亚油酸回收率试验 ( $n = 3$ )

编号	取样量 (g)	加入量 (mg)	实测值 (mg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	0.755 3	3.22	3.08	95.5		
2	0.751 1	3.22	3.29	102.0	99.8	
3	0.754 9	3.22	3.29	102.0		
4	0.746 7	4.02	3.98	98.8		
5	0.747 9	4.02	4.05	100.6	99.2	0.6
6	0.751 4	4.02	3.95	98.2		
7	0.745 5	4.83	4.83	99.9	98.7	
8	0.7502	4.83	4.69	97.0		
9	0.741 5	4.83	4.77	98.8		

表 3 红曲中油酸和亚油酸的含量测定 ( $n = 3, %$ )

编号	来源产地	油酸	亚油酸
1	四川广汉	0.45	0.59
2	浙江杭州	0.62	0.77
3	浙江杭州	0.58	0.73
4	江苏江阴	0.40	0.54

### 3 讨论

不饱和脂肪酸可刺激肝脏低密度脂蛋白 (LDL) 受体, 增加 LDL 受体的数量, 增加其与 LDL 的亲合力以及增加受体的机动性, 使血清胆固醇水平下降, 从而防止动脉粥样硬化的形成<sup>[4]</sup>。红曲中富含豆蔻油酸、棕榈酸、棕榈油酸、十六碳二烯酸、十七碳酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、二十碳烯酸、烯酸等多种不饱和脂肪酸, 其中油酸和亚油酸是最主要的两种, 因此, 我们在本次实验过程中选择了油酸和亚油酸同时进行定量分析, 结果表明红曲中油酸的含量在 0.45% ~ 0.62% 之间, 亚油酸的含量在 0.54% ~ 0.77%, 但由于样品的来源批次有限, 尚不能准确确定红曲药材中油酸和亚油酸的含量限度。

在已有的文献研究中,不饱和脂肪酸的测定通常先进行甲酯化反应,其甲酯化的条件需要筛选,甲酯化程度难以控制,因此容易造成系统误差,本研究去除了甲酯化这一繁琐的步骤,采用溶剂提取,然后直接进样进行测定。我们对提取溶剂包括石油醚、乙酸乙酯、甲醇等进行了筛选,结果乙酸乙酯的提取率最高,同时我们也对提取时间进行了筛选,结果超声处理(加冰)30 min(功率 350 W,频率 35 kHz)提取,得到了最佳提取条件,色谱峰能够实现完全分离,并且其精密度好、回收率高,所建立的方法可以用于红曲质量的控制。该方法的建立也可以为其它药材中脂肪酸的含量测定提供参考。

## [参考文献]

- [1] 邢旺兴,宓鹤鸣,贺祥,等. 红曲考证[J]. 中药材, 2000, 23(3):175.
- [2] 宓鹤鸣,宋洪涛,陈磊,等. 红曲中降血脂活性成分的研究[J]. 中草药, 1999, (3):172.
- [3] 林杰,黄宏南,林国斌,等. 功能性红曲功效成分的含量测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(6): 972,1003.
- [4] 张文斌,王枫. 045 共轭亚油酸对脂肪代谢的影响及其作用机制[J]. 国外医学(卫生学分册), 2004, 31(3):175.