

气相色谱法测定二高 γ -亚麻酸

刘凤霞^{1*}, 高伟霞¹, 冯剑波², 薛刚¹

(1. 南阳理工学院生物与化学工程系, 南阳 473004; 2. 河南南阳普康药业有限公司, 南阳 473004)

摘要: 本文建立了一种测定二高 γ -亚麻酸气相色谱方法, 色谱条件为 L= 300 mm 长的毛细管柱, 柱温 230 °C, FID 检测器。样品的线性范围为 10~ 30 μ g, 精密度和重现性的 RSD 分别为 1.45% 和 1.15%, 回收率为 98.96%, RSD 为 1.47%。

关键词: 气相色谱; 二高 γ -亚麻酸

中图分类号: Q946.91

Determination Dihomo γ -Linolenic Acid by Gas Chromatography

LIU Feng-xia^{1*}, GAO Wei-xia¹, FENG Jian-bo², XUE Gang¹

(1. Department of Biology and Chemical Engening Nanyang Institute of Technology, Nanyang 473004, China;

2. Henan Nanyang Pukang Pharmaceutical Co. Ltd., Nanyang 473004, China)

Abstract: A method to determine the content of dihom σ linolenic acid by gas chromatography was reported. Chromatography condition: L= 300 mm quartz capillary column. column temperature 230 °C, FID detector. The samples of dihom σ linolenic acid were on the linear ranges of 10~ 30 μ g. The RSD of recurring and precision were 1.45% and 1.15%. The recovery was 98.96% and it's RSD was 1.47%.

Key words: gas chromatography; dihom σ linolenic acid

二高 γ -亚麻酸是合成前列腺 E₁ (Prostaglandin E₁) 的原料^[1], 不同纯度的二高 γ -亚麻酸对前列腺素 E₁ 合成的收率和质量影响比较大, 因此建立一种快速测定二高 γ -亚麻酸的方法可为生产提供一个可靠的质量控制。目前国内在测定二高 γ -亚麻酸时多采用红外光谱法, 通过谱图分析证明是二高 γ -亚麻酸^[2]。从国内二高 γ -亚麻酸的生产来看多是从月见草油中富集 γ -亚麻酸, 然后由 γ -亚麻酸合成二高 γ -亚麻酸。对 γ -亚麻酸含量的测定已有不少文献报导^[3, 4], 作者在查阅大量 γ -亚麻酸含量测定方法的基础上, 根据从 γ -亚麻酸合成二高 γ -亚麻酸工艺过程(即还原反应、磺化反应、增碳反应、水解反应)认为二者色谱条件上应该是一致的, 通过实验确立了测定二高 γ -亚麻酸的方法。

1 材料与方 法

1.1 仪器和试剂

GC-14B 气相色谱仪(日本岛津), 水浴锅(郑州杜甫仪器厂); 二高 γ -亚麻酸标准品(吉林药物检验所), 二高 γ -亚麻酸样品^[1](自行合成), KOH, FB₃ 乙醚, 石油醚, 甲醇均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱: PEG-20 m 极性毛细管柱, 温度: 柱箱: 230 °C, 进样口(LUX₂) 250 °C, 检测器(DET. T) 280 °C, 压力: N₂ 140 kPa, H₂ 70 kPa, Air 50 kPa。

1.3 样品和标准品处理

取样品或标准品 4 滴置于 10 mL 具塞试管中, 加入 0.5 mol/L 的 KOH 甲醇溶液 2 mL 于 63 °C 水浴上皂化 20 min, 加入 BF₃-乙醚溶液 0.2 mL, 63 °C 水浴上甲酯化 5 min, 取出冷水冷却, 加入 2 mL 石油醚, 振摇, 吸取上层 2 μ L 进样, 按面积归一法计算。

2 结果与分析

2.1 线性关系的考察

收稿日期: 2004-10-08 接受日期: 2004-11-07

* 通讯作者 E-mail: yeqing0294@sina.com

精密称取二高 γ -亚麻酸标准品 20 mg 置于 10 mL 容量瓶中, 按 1.3 方法进行处理, 相当于 10 mg/mL, 精密吸取 2 mL 石油醚萃取的上清液 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mL, 按 1.2 的色谱条件进行色谱分析, 以进样量为横坐标, 以峰面积为纵坐标进行分析见表 1。

表 1 线性相关分析表

Table 1 Liner correlation analysis of double high

进样量(μ g) Inject amount	10	15	20	25	30
峰面积积分值 Peak area value	328436	503428	649874	824079	988786
回归议程 Regression	$Y = 83.64 + 1.03 \times 10^5 X$		$R = 0.9997^{**}$		
线性范围 Linear ranges	10~ 30 μ g				

表 1 说明在 10~ 30 μ g 范围内峰面积和含量的相关性经相关性显著性测验达到了极显著水平 ($R = 0.9997^{**}$), 即可以用该方法进行含量的测定。

2.2 精密度考察

精密吸取对照品溶液(10 mg/mL) 1 mL 注入气相色谱仪连续 6 针, 记录峰面积积分值, 见表 2。

表 2 精密度实验结果($n = 6$)

Table 2 Result of precision

进样量(μ L) Amount	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
峰面积积分值 Peak area value	346241	344728	344624	339316	337347	351256
峰面积平均值 Average peak area	343918.7					
RSD (%)	1.45					

精密度实验(表 2) 分析得出 RSD (%) 为 1.45%, 精密度较高, 低于 5% 的标准。

2.3 重现性考察

取自制的二高 γ -亚麻酸样品(含量 96.21%, 见图 1), 重复五次取样, 并按 1.3 方法处理所得峰面积如下表 3。

表 3 重现性考察结果

Table 3 Result of recurring

样品号 Sample number	1	2	3	4	5
峰面积积分值 Peak area value	998767	1002431	1013526	998697	1025431
峰面积平均值 Average peak area	1007770.4				
RSD (%)	1.15				

表 3 的结果说明重现性的 RSD (%) 为 1.15%

符合要求。

2.4 回收率的测定

精密称取已知含量的样品适量, 精密加入一定量的二高 γ -亚麻酸对照品, 按样品处理操作, 进样 2.0 mL, 按相关性所得峰面积和含量的关系转换成含量。结果见表 4。

表 4 回收率测定结果

Table 4 Mensuration result of recovery

样品含量 (μ g) Sample content	样品加入量 (μ g) Add sample amount	测得量 (μ g) Measure value	回收率 (%) Rrecovery	平均回收率 (%) Average recovery	RSD
21.57	22.44	43.76	98.87	98.96	1.47
22.43	23.67	45.89	99.13		
20.66	28.43	49.43	101.21		
23.48	30.24	52.89	97.25		
25.66	27.33	52.53	98.33		

从回收率的分析可知平均回收率为 98.96%, RSD 为 1.47% 说明样品的处理是可靠的。

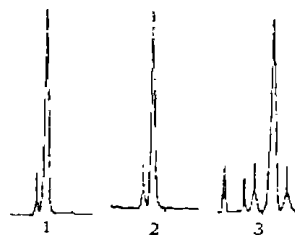


图 1 气相色谱图

Fig. 1 Gas chromatography

1. 二高 γ -亚麻酸(纯度 96%) Double high γ -linolenic acid(93%)
2. 高纯度 γ -亚麻酸(纯度 93%) Pure γ -Linolenic acid(93%)
3. 月见草油中脂肪酸的组分 Fatty acid of evening primrose oil.

3 结论

本文考察了用气相色谱法测定二高 γ -亚麻酸含量的方法, 从线性关系上呈极显著的相关性, 因此可以采用外标法对其含量进行测定。从精密度上看 RSD 为 1.45%, 重现性上 RSD 为 1.15%, 回收率 RSD 为 1.47% 认为该方法的色谱条件和样品处理是可靠的。色谱条件和样品处理二者差异不大, 但是从出峰时间上有差异, 并且月见草油中的脂肪酸(见图 1)和二高 γ -亚麻酸的所有峰都在此色谱条件下分开, 故建议可以用面积归一法进行含量的测定。

参考文献

1 Sun QL(孙启良). The improved technique of prostaglandinE₁. *JN Bethuneunimed Sci* (白求恩医科大学学报), 1995, 21:

取工艺为:采用 16 倍水煎煮,每次煎煮时间不能超过 0.5 h,煎煮 4 次后基本提取完全。

2.2 另外本文还对水提液的醇沉工艺进行了考察,研究结果表明 50% 醇沉的效果最好。

参考文献

- 1 The Committee of the Pharmacopeia of PR China(中华人民共和国药典委员会). The Pharmacopeia of PR China(中华人民共和国药典), 2000
- 2 Lin XF(林秀芬). The study on the Pharmacy of the *Salvia*

multiorrhiza Bge. *Tianjin Medical Univ* (天津医科大学学报), 2004, 10: 60-62

- 3 Li HL(李惠兰), Zhang RP(张荣平), Yan CZ(阎彩珍). The research on three *Salvia* drugs native to Yunnan, China, protecting myocardial ischemic injury and apoptosis. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2004, 16: 62-65
- 4 Zhang L(张玲), Yu ZY(于宗渊), Xu XG(徐新刚), et al. The study on the extraction of the *Salvia multiorrhiza* Bge by water and alcohol. *Chin Tradit Pat Med*(中成药), 1995, 17(5): 1-3

(上接第 753 页)

- 2 Song HR(宋宏锐), Hong Y(洪盈). The purification of pure γ -Linolenic acid and its derivatives. *J Shenyang Coll Pharm* (沈阳药学院学报), 1990, 7: 202-204
- 3 Lu HJ(鲁红军). Study of analysis method on γ -Linolenic acid. *Food Oil Sci Tech*(粮油食品科技), 1998, 5: 32-33
- 4 Rong H(荣会), Jiang L(姜莉), An XH(安晓红), et al. Determination of γ -Linolenic acid in evening primrose oil for export by Gas Chromatography. *Modern Sci Instru*(现代科学仪

器), 2002, (1): 57-58

- 5 Lu P(路萍), Lai BS(赖炳森), Wang YQ(王映强), et al. Determination of γ -Linolenic acid in oil of fragrant evening primrose (*Oenothera odorata*) by capillary GC internal methods. *Chin Tradit Herbal Drugs*(中草药), 1997, 28: 658-620
- 6 Lu DY(吕东阳), Zhang DL(张大雷), Lan ZC(蓝宗城), et al. Determination of content of γ -Linolenic acid in xiao zhi soft capsule by GC. *Heilongjiang Med J*(黑龙江医药), 2003, 16(1): 3-4