

高效液相色谱法测定黑白芝麻中芝麻素含量^{*}

叶子晨¹ 梁佳龙¹ 刘雪英² 王庆伟³ 李晓晔² 李穆琼²

(1. 第四军医大学药学系学员队, 西安 710033; 2. 第四军医大学药学系药物化学教研室, 西安 710033; 3. 第四军医大学唐都医院药剂科, 西安 710038)

[摘要] 目的 采用高效液相色谱法测定芝麻中芝麻素含量。方法 以甲醇: 水 (75: 25, V/V) 为流动相, 流速 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 经 Inertsil ODS-3 (4.6 mm × 250 mm 5 μm) 色谱柱分离, 于 287 nm 波长检测。结果 芝麻素在 0.60 ~ 89.82 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系, 回归方程: $Y = 30.133.83X - 3.145.52$ ($r = 0.9999$ $n = 3$); 芝麻素平均回收率 100.0% 相对标准偏差 (RSD) 为 0.81%。结论 该方法简便、快速、准确, 可为芝麻及其制品的质量控制提供依据。

[关键词] 芝麻素; 芝麻; 色谱法; 高效液相

[中图分类号] R284.2; R282.71

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-0781(2011)06-0799-02

芝麻又名胡麻,《神农本草经》记载“芝麻,补心脏,益气力,长肌肉,填髓脑,久服强身”。芝麻分黑、白两种,《本草纲目》记载“胡麻取油,以白者为胜,服食以黑者为良。”芝麻素属木脂素类化合物,系芝麻的主要活性成分之一。研究表明,芝麻素具有抗氧化^[1]、调节血压^[2]、保护肝脏^[3]和抑制肿瘤^[4]等药理作用。笔者采用高效液相色谱 (HPLC) 法对黑、白芝麻中的芝麻素进行了测定比较。

1 仪器与试药

1.1 仪器 SHIMADZU LC-2010ATH 高效液相色谱仪; 电子分析天平 (梅特勒公司); KQ-32000DB 型数控超声波仪 (昆山超声仪器有限公司)。

1.2 试药 黑芝麻 1 (购于陕西省西安市药材市场, 产地: 陕西省咸阳市); 黑芝麻 2 (购于陕西省西安市华润万家超市, 产地: 湖北省咸宁市); 白芝麻 (购于陕西省西安市药材市场, 产地: 陕西省咸阳市); 芝麻素对照品 (陕西施普利生物科技有限公司提供, 含量: 98% 批号: 20090818001); 甲醇 (色谱纯, Fisher 公司), 色谱用水为双蒸水。

2 方法与结果

2.1 溶液的制备 对照品溶液的制备: 精密称取芝麻素对照品 6.11 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 低温避光保存备用。供试品溶液的制

备: 照《中华人民共和国药典》2005 年版附录 II D 清炒法^[5]分别炒制黑、白芝麻备用。取不同来源芝麻生品或炒制品适量, 捣碎, 精密称取 1.0 g, 置具塞三角烧瓶中, 精密加甲醇 10 mL, 称质量, 低温超声 30 min, 再称质量, 补足减失的质量, 摇匀, 静置 30 min, 取上清液过孔径 0.45 μm 有机膜过滤, 滤液低温避光保存备用。

2.2 检测波长的选择 取芝麻素对照品溶液适量, 用甲醇稀释, 以甲醇为空白对照, 200 ~ 400 nm 范围扫描, 结果芝麻素在 203, 234 及 287 nm 有最大吸收峰, 为排除杂质对测定的影响, 选择 287 nm 为 HPLC 分析测定波长。

2.3 色谱条件 色谱柱: Inertsil ODS-3 (150 mm × 4.6 mm 5 μm); 流动相: 甲醇-水 (75: 25); 流速: $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 287 nm, 进样量: 20 μL , 温度: 室温。

2.4 方法专属性 取适当浓度芝麻素对照品溶液、供试品溶液, 在上述色谱条件下分别进样, 记录色谱图 (图 1)。样品溶液中其他未知成分与芝麻素分离完全, 对测定无干扰, 芝麻素的保留时间为 8.5 min。

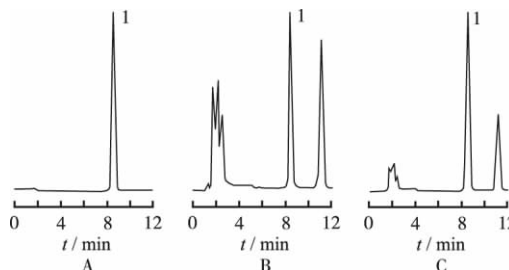


图 1 3 种溶液 HPLC 色谱图

A. 对照品; B. 黑芝麻样品; C. 白芝麻样品; 1. 芝麻素

2.5 线性范围考察 精密量取芝麻素对照品储备液适量, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇逐步稀释至刻度, 摇匀得浓度分别为 0.60, 3.00, 6.00, 14.97, 29.94, 59.88, 89.82 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照品溶液, 分别吸取上述

[收稿日期] 2010-03-04 **[修回日期]** 2010-06-09

[基金项目] * “十一五”国家科技重大专项基金课题 (基金编号: 2009ZX090301-009-RC02)

[作者简介] 叶子晨 (1991-), 男, 陕西乾县人, 学士, 研究方向: 药物中有效成分分析。电话: (0) 13991969389, E-mail: yzc627.student@sina.com。

[通讯作者] 刘雪英 (1972-), 女, 山东潍坊人, 副教授, 博士, 主要从事药物化学研究。电话: 029-84774473-810, E-mail: wqwlxy@fmmu.edu.cn。

溶液 20 μL 色谱条件下进样,记录峰面积,以峰面积(Y)对浓度进行回归,芝麻素在 0.60 ~ 89.82 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内呈良好的线性关系,回归方程为: $Y = 30\,133.83X - 3\,145.52$ ($r = 0.999\,9$ $n = 3$)。

2.6 精密度实验 取芝麻素低、中、高 3 种浓度对照品溶液,同一天连续进样 3 次,进样量 20 μL ,测定峰面积,计算芝麻素的日内相对标准偏差(RSD)。连续 3 d 进样 3 次,测定峰面积,计算芝麻素的日间 RSD。结果见表 1,表明在该色谱条件下仪器精密度良好。

表 1 精密度实验结果 %

对照品浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD	
	日内	日间
0.60	1.511	1.656
14.97	1.201	1.004
89.82	0.147	1.183

2.7 稳定性实验 取白芝麻品溶液,在配制后 0.6, 12 和 24 h 于色谱条件下进样,芝麻素峰面积的 RSD 为 0.82%。结果表明样品溶液在该实验条件下 24 h 内稳定。

2.8 加样回收率实验 精密称量同一批已知芝麻素含量的白芝麻样品溶液 1.0 mL,分成 3 组,每组 3 份,分别加入 89.82 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 芝麻素对照品溶液 0.2, 1.0 及 3.0 mL。甲醇溶解定容至 10 mL 摇匀,色谱条件下测定,计算芝麻素的加样回收率。结果其平均回收率 100.0%,RSD = 0.81%,见表 2。

表 2 芝麻素的加样回收率结果

原有量	加入量	测得量	回收率/
	μg		%
407.30	17.96	425.60	101.9
407.30	17.96	425.30	100.2
407.30	17.96	425.30	100.2
407.30	89.82	496.70	99.5
407.30	89.82	496.10	98.9
407.30	89.82	496.60	99.4
407.30	269.50	675.40	99.5
407.30	269.50	676.10	99.7
407.30	269.50	677.50	100.3

2.9 样品测定 精密吸取上述供试品溶液 1.5 mL,置 10 mL 棕色量瓶中,甲醇定容,色谱条件下测定,依据工作曲线计算样品溶液的浓度,黑、白芝麻中芝麻素的含量结果见表 3。

3 讨论

黑、白芝麻微量元素整体差异较明显^[6],其中除白芝麻钠(Na)含量大于黑芝麻 3 倍以上外,其余元素的含量白芝麻均低于黑芝麻。白芝麻中的硒(Se)含量为黑芝麻的 85%,钙(Ca)、铜(Cu)、钾(K)、镁

(Mg)、锌(Zn)、铁(Fe)的含量为黑芝麻的 60% ~ 80%,而锰(Mn)含量则仅为黑芝麻含量的 6%。

表 3 样品测定结果

样品	性状	芝麻取样 量/g	芝麻素/ mg	含量/ %
黑芝麻 1	生	1.212	2.911	0.240 2
	熟	1.314	3.533	0.268 9
黑芝麻 2	生	1.134	0.882	0.077 8
	熟	1.285	1.021	0.079 5
白芝麻	生	1.351	4.073	0.301 5
	熟	1.278	4.229	0.330 9

本研究结果表明,炒制品中的芝麻素含量稍高于生品,可能是炒制后芝麻素易于溶出;所用的白芝麻中芝麻素的含量均高于两个黑芝麻中的芝麻素;黑芝麻 2 生品和炒制品中的芝麻素含量很低,进一步考察该黑芝麻出油率也很低,是否与产地和储存时间过久有关有待于进一步考察。笔者所用的黑芝麻 1 和白芝麻中芝麻素的含量均高于文献报道^[7],可能与芝麻来源、芝麻素萃取方法及测定方法灵敏度不同有关。

《中华人民共和国药典》历版收载的均为黑芝麻,其中的活性成分芝麻素只是作为定性鉴别项目之一。随着农业科技的发展,芝麻的品种越来越多,以及相同品种有不同地域的产品,芝麻无论是作为油料资源,还是作为滋补药,其质量越来越受到人们的关注,因此有必要建立相关成分的测定标准。笔者所建立的芝麻素测定方法简便快速、灵敏度高,可为芝麻及其制品中芝麻素的含量测定提供参考。

[DOI] 10.3870/yydb.2011.06.038

[参考文献]

- [1] 吴向起,杨解人.芝麻素的抗氧化作用及其对代谢综合征大鼠肾病的影响[J].中国药理学通报,2008,24(8):1065-1069.
- [2] 孔祥,杨解人.芝麻素对肾性高血压大鼠主动脉收缩功能一氧化氮和内皮素含量的影响[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(4):47-49.
- [3] 崔云山,张善玉,朴惠顺,等.芝麻素散剂对乙醇引起小鼠急性肝损伤的影响[J].时珍国医国药,2005,16(1):6-7.
- [4] 魏艳静,卞红磊,余文静,等.芝麻素对 S₁₈₀ 荷瘤小鼠的抗肿瘤作用研究[J].时珍国医国药,2008,19(5):1075-1076.
- [5] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[M].北京:中国医药科技出版社,2010:附录 20.
- [6] 陈宇鸿.黑白芝麻无机元素含量测定分析[J].微量元素与健康研究,1999,16(1):59-60.
- [7] 徐丽华,赵渤年,何心亮.黑芝麻中芝麻素的含量测定[J].中国中药杂志,1998,9(2):124-125.