维普资讯 http://www.cqvip.com

223-225

亚麻籽油中α－亚麻酸等不饱和脂肪酸的HPLC测定

化学教研室 傅渝滨 景淑华 尚京川 欧阳渝 吴崇荣*

提 要 本文建立了植物油中α－亚麻酸等不饱和脂肪酸的HPLC测定方法。样品甲酯化后直接测定。恒浓度洗脱。方法的线性范围:5－30μg/20μl。回收率83.6±0.3%(n=4)，日内，日间变异系数1.2－2.3%。对内蒙产亚麻籽油进行了测定，其中，α－亚麻酸、亚油酸、油酸含量分别为55%、22%和16%左右。该方法简单，实用。

关键词 α－亚麻酸;HPLC 亚麻籽油 高效液相色谱
中图分类号 O657.72 TS207.22 R155.5 R151.3

α－亚麻酸(18:3)、亚油酸(18:2)、油酸(18:1)均为不饱和脂肪酸。存在于亚麻油，豆油、菜籽油，紫苏子油等多种植物油中，有多种生理作用。α－亚麻酸在体内链延长酶和脱氢酶作用下，可形成二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)而发挥如降血压、降血脂、抑制血小板聚集、减少血栓形成及抗癌等一系列特殊的生理作用[1]。α－亚麻酸属n－3不饱和脂肪酸，亚油酸属n－6不饱和脂肪酸。n－3和n－6两系列不饱和脂肪酸在体内可借助共同的酶系统进行去饱和或链延长。两系列不能相互转化，却能竞争性地利用酶系统[2]。因此，保持食物中n－6和n－3脂肪酸的平衡非常重要。文献[3]报道n－6/n－3脂肪酸的比例4～5比较合适。目前国内外对n－3系列不饱和脂肪酸的研制开发都很重视，已有许多产品上市[2]。为配合亚麻油制剂的开发研究，我们建立了亚麻油中多种不饱和脂肪酸同时测定的HPLC方法。该法简便实用，可用于各种植物油中不饱和脂肪酸含量测定。

油样中脂肪酸含量测定多为气相色谱法、气－质联用法。尚有HPLC法，多为柱前衍生[4]。本着简便，实用，利于普遍应用的原则，本文参考了文献[5]的甲酯化和提取条件，摸索了以甲醇为主的恒浓度流动相洗脱的反相HPLC方法。方法线性范围5－30μg/20μl，回收率83.6±0.3%(n=4)，日内、日间变异系数1.2～2.3%。并对同一产地三批亚麻油进行了测定，α－亚麻酸、亚油酸和油酸含量分别为55%、22%和16%左右。

1 材料和方法

1.1 仪器和试剂

$C_{18:3}$甲酯、$C_{18:2}$甲酯、$C_{18:1}$甲酯、$C_{16:1}$甲酯、$C_{16:0}$甘油酯标准品(Sigma)；乙腈、甲醇、$KHCO_3$、Na_2SO_4、冰醋酸、乙醚、四氢呋喃、2.6－二叔丁基对甲酚(BHT)均为A.R;金属钠C.R;水为超纯水。亚麻籽油(产地内蒙)

岛津高效液相色谱仪LC－6A系列;ELGA-STAT超纯水器;超声脱气装置;Sartorius万分之一及十万分之一天平。

1.2 色谱条件

C_{18}色谱柱(250×4.6mm，5μm);流动相:甲醇:乙腈:水＝75:22:3(V/V/V);检测波长222nm;柱温25℃;流速1ml/min;进样量20μl。

1.3 方法

* 毒理教研室

维普资讯 http://www.cqvip.com

标准品用流动相稀释后直接进样。

样品处理:取约0.2g亚麻油,精密称定,溶于4ml含BHT的四氢呋喃,与新制0.5mol/L甲醇钠8ml混合,10℃反应10min,加0.4ml冰醋酸终止反应。反应液用20ml蒸馏水稀释后,以50ml乙醚分三次萃取,合并萃取液,用无水Na_2SO_4及$KHCO_3$干燥后,减压抽干,得油状液体并用流动相定量稀释,离心,进样20μl,测峰面积,标准曲线法定量。

2 实验结果

2.1 色谱图

2.2 标准曲线

用一系列浓度的等量标准品混合物进样,进样量20μl,各脂肪酸含量为5、10、15、20、25、30μg,测峰面积,线性回归结果如下。

α-亚麻酸(18:3) y=14522x+23347 (r=0.9992 n=3)

亚油酸(18:2) y=6946x+3232 (r=0.9995 n=3)

油 酸(18:1) y=3294x-2566 (r=0.9992 n=3)

2.3 精密度

测得α-亚麻酸、亚油酸、油酸的日内和日间变异系数分别是2.2%、2.3%、2.0%及1.3%、1.2%和1.5%

2.4 回收率

用标准加入法,测得α-亚麻酸平均回收率83.6±0.3%(n=4)。数据见表1。

表1 回收率数据

No.	加入量(mg)	测得量(mg)	回收率(%)	$\bar{x}\pm s$
1	6.51	5.45	83.7	
2	6.00	4.99	83.2	
3	5.53	4.62	83.5	83.6±0.3
4	7.39	6.20	83.9	

2.5 亚麻籽油样测定

用本法测得三批亚麻籽油中不饱和脂肪酸含量为α-亚麻酸、亚油酸及油酸:55%,22%和16%左右。

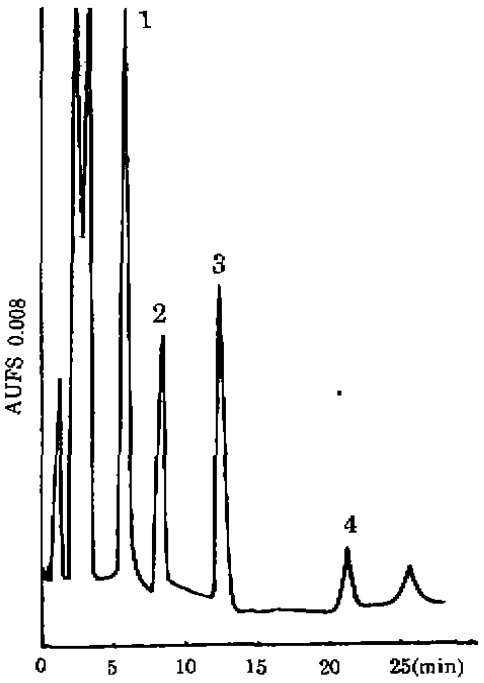


图1 标准品色谱图

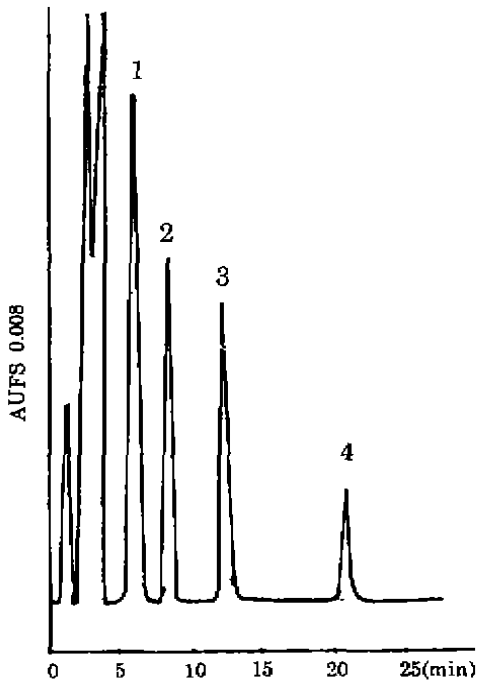


图2 样品色谱图

1.$C_{18:3}$甲酯 2.$C_{18:2}$甲酯 3.$C_{18:1}$甲酯 4.$C_{18:1}$甲酯

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 油样测定结果($n=3$)

批 号	α-亚麻酸(%)	亚油酸(%)	油酸(%)
941201	53.6±0.3	22.7±0.4	16.9±0.2
941202	54.8±0.2	23.0±0.2	16.4±0.3
950101	55.8±0.3	21.2±0.3	15.3±0.3

3 讨论

已有文献报道的脂肪酸HPLC测定法多数是柱前衍生，梯度洗脱，步骤多且冗长。本文旨在建立简便、快速、实用的分析方法，其灵敏度可满足样品测定要求。

文献[6]方法样品取用量较大，本文采用其1/5量样品，减少了溶剂消耗和样品处理时间；采用甲醇、乙腈、少量水为流动相的恒浓度洗脱，稳定性、重复性均好；文献方法用四氢呋喃溶解样品后直接进样，柱压有逐步升高趋势。本文改用流动相溶解，离心取上清液进样，柱压无明显升高。

参 考 文 献

1.刘 冬，等.中草药 1992;23(9):495
2.吴葆杰.中国生化药物杂志 1992;60(2):1
3.Lee J.H,et al.J.Nutr.1989;119:1893
4.Miwa H.J.Chromatogr.1987;416:237
5.Janet M.B et al.J.Chromatogr.1989;468:225

(收稿日期 1996－02－06)

HPLC METHOD FOR THE DETERMINATION OF a－LINOLENIC ACID AND OTHER UNSATURATED FATTY ACIDS IN LINSEED OIL

Fu Yubin, et al

Dept. of chemistry

A HPLC method was established for the determination of α－linolenic acids and other unsaturated fatty acids in vegetable oils. Samples are directly determined after methylesteration and eluted by constant mobil phase. The linear range was 5－30μg/20μl and recovery was 83.6±0.3%;the variation coefficients within one day and between days were 1.2～2.3%. The results for the determination of linseed oil from inner Mongolia were about 55%, 22% and 16% for α－linolenic acid. linoleic acid and oleic acid respectively. This method is simple and feasible.

KEY WORDS *α－linolenic acids;HPLC*

(上接第235页)Endocrinologvca; 1979,90:463
7. Paskin,et al.Clin Endocrinal (oxf),1978,9:329
8. Fialip J.et al.Diabet Metab,1985,11:283

(收稿日期 1996－01－05)

THE CHANG OF BMD IN OLD AND MIDDLE AGE PATIENTS WITH DIABETIC NEPHROPATHY AND ITS SIDNIFICANCE PROBING

Guo Changhui, et al

Dept.of Endocrinology Medicine,The Second Hospital

In order to find out the relationship of BMD between middle or old aged diabetics who complicated with and not with nephropathy,the BMD of radiums had been measured with single－photo bone mineral analyzer on 178 diabetics above a ge of 40 yrs.The patients were divided into group A,B,C,according to the amounts of protein in 24 hrs urine.The measureing and studying results showed that there were 9 cases decreasing in BMD among 72 cases in group A,38 cases decreasing among 87 cases in group B,and 15 cases decreasing among 19 cases in group C.The reduction rate of BMD were 12.5%,43.2% and 78.9% repectively.The difference in value of BMD between group A and group C was significiant($P<0.01$).It also showed that the reduction of BMD has something to do with the excretive amounts of urine protein.So the value of BMD can be regarded as one of the indexs for monitoring of bone metabolism disturbance in diabetic nephropathy.

KEY WORDS Nephropathy;Diabetes;Osteopenia