

不同种源薏苡仁中甘油三油酸酯含量比较[△]

任江剑^{1*}, 俞旭平¹, 张斌², 王志安¹

(1. 浙江省中药研究所, 浙江 杭州 310023;
2. 正大青春宝药业有限公司, 浙江 杭州 310023)

[摘要] 目的: 比较 21 个不同种源薏苡仁中甘油三油酸酯含量。方法: 采用 HPLC-ELSD 法, 色谱柱为 Discovery C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-二氯甲烷(66:34), 流速为 0.7 mL·min⁻¹, 柱温为 30 ℃; 采用蒸发光散射检测器, 漂移管温度为 45 ℃; 氮气流速为 1.5 L·min⁻¹。结果: 21 个不同种源的薏苡仁中甘油三油酸酯含量都符合《中国药典》标准, 含量最高是种子来自福建三明宁化的粳性薏苡仁, 为 0.793 %; 含量最低是种子来自浙江缙云的薏苡仁, 为 0.561 %。结论: 21 个不同种源的薏苡仁中甘油三油酸酯含量有一些差异, 种子来自同一地区的薏苡仁中甘油三油酸酯含量也有一些差异。

[关键词] 薏苡仁; 甘油三油酸酯; 种源; HPLC-ELSD 法

薏苡仁为禾本科植物薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf 的干燥成熟种仁, 具有利水渗湿, 健脾止泻, 除痹, 排脓, 解毒散结。常用于水肿, 脚气, 小便不利, 脾虚泄泻, 湿痹拘挛, 肺痈, 肠痈, 赘疣, 癌肿^[1]。现代药理研究表明, 薏苡仁油具有抗肿瘤和提高机体免疫力的作用, 据研究表明, 薏苡仁的中性油脂显示抗肿瘤活性, 薏苡仁中性油脂以三酰甘油为主要成分^[2]。《中国药典》(一部) 2010 年版中薏苡仁含量测定采用高效液相法, 以蒸发光散射仪为检测器, 甘油三油酸酯作为指标来控制薏苡仁质量。我国的薏苡资源极为丰富多样, 栽培历史悠久, 广泛分布于南北各省, 很多地区也有种植。本文共收集了 21 个不同地方的薏苡种子, 其中浙江省 9 个, 福建省 7 个, 贵州省 2 个, 湖北省 1 个, 广西省 1 个, 四川省 1 个, 在浙江种植, 采用相同的种植方法, 薏苡采收后脱壳, 采用高效液相法测定了收获的不同种源的薏苡仁中甘油三油酸酯含量。

1 材料与仪器

1.1 材料

甘油三油酸酯对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111692-200501), 21 个不同地方薏苡种子, 其中浙江省 9 个, 福建省 7 个, 贵州省 2 个, 湖北省 1 个, 广西省 1 个, 四川省 1 个, 具体见表 1, 经浙江省中药研究所俞旭平教授级高级工程师鉴

定为薏苡 *Coix lacryma-jobi* L. var. *ma-yuen* (Roman.) Stapf 的干燥成熟种仁, 21 个不同地方薏苡种子于 2008 年 5 月统一种植在浙江省泰顺县仕阳镇, 采用相同的种植方法, 2008 年底待薏苡成熟时收获, 晒干后脱壳, 得薏苡仁, 备用。

表 1 21 份薏苡种子来源

编号	种子来源
1	浙江泰顺大龙口村
2	浙江泰顺荣西村
3	浙江泰顺刘宅村
4	浙江泰顺横川吻村
5	浙江泰顺横坑村
6	浙江缙云
7	浙江武义
8	浙江永嘉
9	浙江仙居
10	福建浦城申明村立夏种
11	福建浦城官路高门当地种
12	福建浦城官路高门太空种“浦农 1 号”
13	福建浦城官路王村
14	福建三明宁化粳性薏苡
15	福建三明宁化糯性薏苡
16	福建龙岩新罗区
17	贵州晴隆碧痕镇
18	贵州兴仁四联乡
19	湖北恩施建始县
20	广西西林农场
21	四川

[△][基金项目] 国家科技攻关计划(2004BA721A21), 国家科技重大专项(2009ZX09308-002), 国家科技支撑计划(201107011)

[通讯作者] *任江剑, E-mail: jjren@163.com

1.2 仪器

Agilent 1100 系列高效液相色谱仪及 Agilent 化学工作站, 美国 Alltech 3300 蒸发光散射检测仪, KQ-100DB 型数控超声波仪(昆山市超声仪器有限公司生产)。

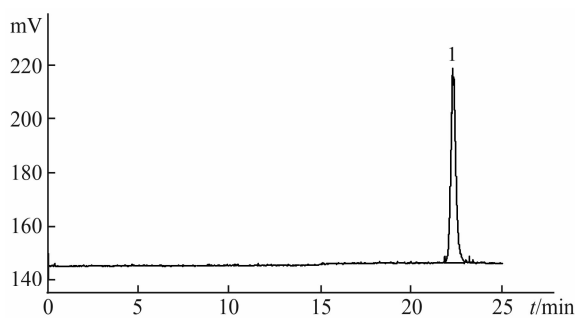
1.3 试剂

高效液相检测用乙腈、二氯甲烷为色谱纯, 提取用乙腈和二氯甲烷为分析纯。

2 方法与结果

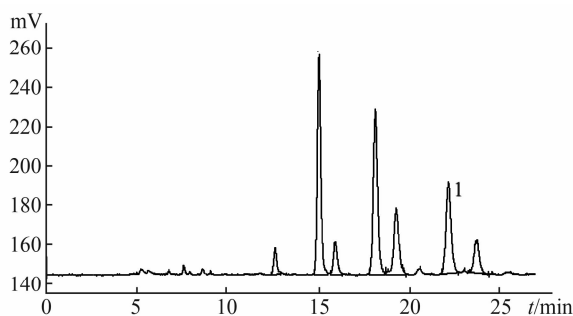
2.1 色谱条件

色谱柱: 美国 Supelco Discovery C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈 - 二氯甲烷 (66:34); 流速: 0.7 mL·min⁻¹; 检测器: Alltech 3300 蒸发光散射检测仪器; 柱温: 30 ℃; ELSD 参数: 漂移管温度 45 ℃, 氮气流速 1.5 L·min⁻¹。进样量: 10 μL。甘油三油酸酯对照品和薏苡仁色谱图见图 1、2。



1. 甘油三油酸酯峰

图 1 甘油三油酸酯对照品 HPLC 图



1. 甘油三油酸酯峰

图 2 薏苡仁 HPLC 图

2.2 对照品溶液制备

精密称取甘油三油酸酯对照品适量, 加流动相制成 0.142 2 mg·mL⁻¹ 的对照品溶液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.3 供试品溶液制备

取样品粉末约 0.6 g (过三号筛), 精密称定, 精密加入流动相 50 mL, 称定重量, 浸泡 2 h, 超声处理 30 min, 取出, 放冷, 称定重量, 加流动相补足

减失的重量, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 即得。

2.4 线性关系考察

精密吸取上述对照品溶液 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25 μL, 分别注入液相色谱仪。以峰面积为纵坐标, 以对照品进样量 (μg) 为横坐标, 绘制标准曲线, 计算得回归方程 $Y = 1\,263.17X - 561.56$, $r = 0.993\,5$ 。结果表明甘油三油酸酯在 0.426 6 ~ 3.55 μg 呈良好的线性关系。

2.5 精密度试验

精密吸取上述对照品溶液 10 μL, 重复进样 6 次, 结果平均峰面积为 1 106.12, RSD = 0.78 % ($n = 6$)。

2.6 稳定性试验

精密吸取同一供试品溶液, 依上述色谱条件, 分别于 0, 3, 5, 7, 28 h 各进样 10 μL 注入液相色谱仪, 测定峰面积, 结果峰面积 RSD = 1.86 % ($n = 5$), 表明供试品溶液在室温下 28 h 内稳定。

2.7 重复性试验

分别取同一批薏苡仁样品 (浙江泰顺刘宅村) 6 份, 每份约 0.6 g, 精密称定, 按供试品溶液制备方法制备, 照上述色谱条件各进样 10 μL 测定, 结果薏苡仁中甘油三油酸酯平均含量为 0.595 %, RSD = 1.24 % ($n = 6$)。

2.8 加样回收率试验

取 6 份已知含量的供试品约 300 mg, 精密称定, 分别添加甘油三油酸酯对照品 2.301 mg, 按供试品溶液制备方法制备, 依上述色谱条件进行, 结果见表 2。

表 2 薏苡仁中甘油三油酸酯回收率试验

样品中含量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
2.091	4.278	95.05	96.63	1.98
1.800	4.037	97.22		
1.807	4.005	95.52		
1.847	4.150	100.09		
1.792	3.981	95.13		
1.803	4.030	96.78		

注: 甘油三油酸酯对照品加入量均为 2.301 mg

2.9 样品含量测定

将 21 个不同种源的薏苡仁样品, 按上述方法进行测定, 结果见表 3。结果表明, 21 个样品中甘油三油酸酯含量都符合《中国药典》2010 年版(一部)规定标准, 不同薏苡仁中甘油三油酸酯含量有一些差异, 含量最高是种子来自福建三明宁化的粳性薏苡仁, 达到 0.793 %, 含量最低是种子来自浙江缙云的薏苡仁, 为 0.561 %。

表 2 不同薏苡仁中甘油三油酸酯含量

			/%		
编号	甘油三油酸酯含量	RSD	编号	甘油三油酸酯含量	RSD
1	0.648	2.78	12	0.635	0.94
2	0.691	1.45	13	0.674	1.48
3	0.619	0.81	14	0.793	0.38
4	0.704	0.14	15	0.588	0.51
5	0.688	0.29	16	0.683	1.61
6	0.561	1.96	17	0.701	1.00
7	0.602	2.82	18	0.601	1.00
8	0.778	0.51	19	0.691	2.32
9	0.703	0.71	20	0.610	1.31
10	0.624	0.64	21	0.639	1.88
11	0.726	1.93			

注: $n=2$

3 讨论

3.1 流动相的选择

参照陈勇等研究结果^[3], 主要考察了乙腈-二氯甲烷流动相的不同比例和流速, 当乙腈-二氯甲烷比例为(65:35), 流速为 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 流速快导致基线噪音比较大; 流动相比比例调整为(59:41), 流速为 $0.5\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时, 基线噪音变小, 但出峰比较迟。综合考虑基线噪音、出峰时间和分离效果等因素, 调整流动相比比例为乙腈-二氯甲烷(66:34)、流速为 $0.7\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 时取得了较好的分离效果, 见图1。

3.2 不同薏苡仁中甘油三油酸酯含量比较

21 个不同种源的薏苡仁中甘油三油酸酯含量有一些差异, 种子来自同一省份和同一地区的薏苡仁

样品中含量也有一定的差异, 种子来自泰顺的 5 个薏苡仁样品中, 以来自横川旻村的含量最高, 为 0.704 %; 来自刘宅村的含量最低, 为 0.619 %。种子来自浙江其他地方的另外 4 个薏苡仁样品中, 以来自浙江永嘉和浙江仙居的样品中含量较高, 超过 0.7 %, 来自浙江缙云和浙江武义的样品中含量较低。种子来自福建的 7 个薏苡仁样品中, 含量也有一些差异, 来自福建三明宁化的粳性薏苡仁中含量最高, 为 0.793 %; 来自福建三明宁化的糯性薏苡仁中含量最低, 为 0.588 %。种子来自其他省份的 5 个薏苡仁样品中, 来自贵州晴隆碧痕镇和湖北恩施建始县的薏苡仁样品中含量较高, 为 0.7 % 左右, 另外 3 个样品中含量较低。大多数薏苡种植户都是自己留种, 每个地方的薏苡经过多年的人工种植, 由于各地种植方法和气候条件的影响, 形成了一些各自不同的特征, 包括薏苡仁中化学成分的差异, 形成了薏苡种质资源的生物多样性。**TCM**

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 353-354.
- [2] 李大鹏, 黄洁敏, 苏维埃, 等. 薏苡仁油脂的化学成分分析[J]. 中药新药与临床药理, 1999, 10(2): 99-101.
- [3] 陈勇, 陈碧莲, 何云珍, 等. 高效液相色谱法测定薏苡仁中甘油三油酸酯的含量[J]. 中国现代应用药学杂志, 2005, 22(3): 246-247.

(收稿日期 2010-09-14)

Comparing of Glycerol Trioleate in Semen Coicis of Different Provenances

REN Jiang-jian¹, YU Xu-ping¹, ZHANG Bin², WANG Zhi-an¹

(1. Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023, China;

2. Chiatai Qingchunbao Pharmaceutical Co., LTD, Hangzhou 310023, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the content of glycerol trioleate in 21 Semen Coicis of different provenances. **Methods:** The Discovery C₁₈ column (250 mm × 4.6 mm, 5 μm) was used with mobile phase of acetonitrile-dichloromethanol(66:34). The mobile phase flow rate was $0.7\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. The column temperature was controlled at 30 °C. The ELSD was used. The tube temperature was 45 °C, and the flow rate of nitrogen was $1.5\text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. **Results:** The content of glycerol trioleate in 21 semen coicis of different provenances were in line with Chinese pharmacopeia, and the highest content was japonica Semen Coicis which seeds from Ninghua, Sanming and Fujian, which was 0.793 %; the lowest content was the sample which seeds from Jinyun and Zhejiang, which was 0.561 %. **Conclusion:** The content of glycerol trioleate in 21 Semen Coicis of different provenances is different, and the content of glycerol trioleate in Semen Coicis which seeds from the same area is also different.

[Key words] Semen Coicis; Glycerol trioleate; Germplasm; Provenances; HPLC-ELSD