

罗汉果种仁油中角鲨烯的高效液相色谱分析*

The HPLC Analysis of the Squalene in *Siraitia grosvenorii* Seed Oil

陈全斌¹,程忠泉²,杨建香²,义祥辉²

CHEN Quan-bin¹,CHENG Zhong-quan²,YANG Jian-xiang²,YI Xiang-hui²

(1. 广西师范大学环境与资源学院,广西桂林 541004; 2. 桂林师范专科学校,广西桂林 541001)

(1. Department of Resources and Environment, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, 541004, China; 2. Guilin Normal College, Guilin, Guangxi, 541001, China)

摘要:采用高效液相色谱法分析测试罗汉果 (*Siraitia grosvenorii*) 种仁油中的角鲨烯,确立色谱条件为:色谱柱:Shodex Asahipak C₁₈,流动相为甲醇/乙腈=60/40、检测波长为 203nm、流速为 2ml/min、柱温为 40℃。在此条件下各峰得到良好的分离,标准曲线具有良好的线形关系, $r = 0.9973$;精密度 $RSD = 3.45\%$ ($n = 5$);回收率达 98.48%。

关键词:罗汉果 种仁油 角鲨烯 高效液相色谱

中图分类号:O658 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2006)02-0118-03

Abstract: The analysis and preparation condition of squalene in *Siraitia grosvenorii* seed oil by HPLC are established in this thesis, the following HPLC conditions are the best: column: Shodex Asahipak C₁₈ column; mobile phase, V(acetonitrile) : V(methanol) = 60 : 40; detection wavelength, 203nm; flow rate, 2ml/min; temperature, 40℃. Every components are separated on this condition, and the standard curve has good linear relation, $r = 0.9973$; exactitude degree, $RSD = 3.45\%$ ($n = 5$); recycle rate is 98.48%.

Key words: *Siraitia grosvenorii*, seed oil, squalene, HPLC

罗汉果为广西桂北地区的传统特产,是葫芦科罗汉果属植物 [*Siraitia grosvenorii* (Swingle) C. Jeffery] 的成熟果实,广泛用于医药、饮料和调味品中。前人的研究大多为罗汉果的种植、甜甙的提取和应用,近年来对罗汉果的果实中甜甙 V 单体的制备^[1]、罗汉果多糖^[2]、果实黄酮^[3,4]、罗汉果叶黄酮^[5~7]及其药理作用^[8]、块根中淀粉^[9]及其药用成份^[10]等进行了较多的研究,陈全斌等^[11]对罗汉果的种仁油进行了提取,对其进行初步的研究发现罗汉果种仁油含有角鲨烯。角鲨烯最初是从鲨鱼的肝油中发现的,1914 年被命名为 Squalene,其化学名称为 2,6,10,

15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯,属开链三萜,又称鱼肝油萜,具有增强体质和抗疲劳作用,可用于肝病治疗,并具有一定的抗癌、防癌及保湿养颜作用^[12]。目前,角鲨烯的测试多采用气相色谱法^[13],需要甲基化进行衍生预处理,本文对罗汉果种仁油中的角鲨烯进行了高效液相色谱测试方法的研究。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

材料:罗汉果于 2005 年秋采于广西临桂永福县。
试剂:氯仿(A.R),石油醚(30~60℃),甲醇(色谱纯),乙腈(色谱纯),角鲨烯标准品(美国 Adrich chemical company Inc.)。

仪器:LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津生产),RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚生化仪器厂生产),色谱柱:Shodex Asahipak C₁₈。

收稿日期:2006-01-12

修回日期:2006-03-08

作者简介:陈全斌(1957-),男,广西人,高级工程师,主要从事天然产品开发与研究工作。

* 广西教育厅科研项目(桂教科研[2004]20号)和广西师范大学重点项目(师政 2005,第 1号)联合资助。

1.2 标准溶液配制

精密称取角鲨烯标样 49.35mg,用氯仿定容至 25ml,摇匀,制成角鲨烯标准溶液的浓度为:1.974 mg/ml。

1.3 样品的制备

采用索氏提取法对罗汉果种仁油脂进行提取:称取 30g 罗汉果种仁置于研钵中研碎,再用滤纸包裹装入索氏提取器内,同时控制水浴温度恒定为 65℃,加入 200ml 石油醚回流加热 2h。取石油醚提取液用旋转蒸发器旋转蒸发,先使温度为 30~40℃,再缓慢加热,随之将温度控制在 85℃左右,至无石油醚为止,最后辅以真空泵抽真空,压强为 0.09MPa,至溶剂全部除去,得淡黄色罗汉果种仁油。精密称取罗汉果种仁油 51.38mg,用氯仿定容至 25ml。

1.4 波长的确立

以乙醚为参比,将用乙醚稀释后的罗汉果种仁油用 TU-1901 双光束紫外可见分光光度计从 190~300nm 波长范围内进行扫描。紫外光谱显示罗汉果种仁油在 203nm、273nm 和 284nm 处有 3 个吸收峰。角鲨烯结构是孤立双键,因此检测波长定为 203nm。

1.5 流动相的选择

角鲨烯是不饱和烃类化合物,可选用反相色谱对其进行分离,我们分别考察了甲醇/水、甲醇/乙腈体系对分离的影响,最后选择甲醇/乙腈为流动相,调整甲醇/乙腈以不同的比例测试,在流动相为甲醇/乙腈=60/40、检测波长为 203nm、流速为 2ml/min、柱温为 40℃时,罗汉果种仁油样品中各组分均有较好的分离,色谱图如图 1 所示。

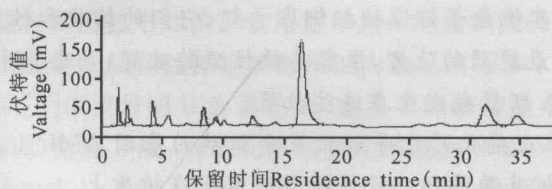


图 1 样品色谱图

Fig. 1 Chromatogram of the sample

取标准溶液 10μl 进样,色谱图见图 2。

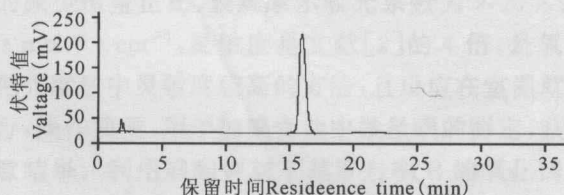


图 2 标准溶液色谱图

Fig. 2 Chromatogram of standard sample

在上述色谱条件下标准溶液和样品待测液中角鲨烯得到充分分离,角鲨烯保留时间为 16.5min。样品与标准液中角鲨烯保留时间一致。

1.6 标准曲线的绘制

准确吸取标准溶液,依次进样 5μl、10μl、15μl、20μl、25μl,记录色谱图,测定其峰面积的结果见表 1。线性回归方程为 $Y = 725.749 + 3372.40 X$,线性相关系数 $r = 0.9973$ 。

表 1 标准曲线的测定结果

Table 1 The determined result of standard curve

标准溶液进样量 The injected quantity of the standard solution(μl)	进样质量 The injected quantity ($\times 10^{-3}$ mg) X	峰面积 Apex acreage (mV · min) Y
5	9.875	34002.93
10	19.74	68487.38
15	29.61	102072.54
20	39.48	127417.23
25	49.35	170948.96

1.7 精密度的测定

精密吸取角鲨烯标样 10μl,连续进样 5 次,测定其精密度,结果见表 2,相对标准偏差: $RSD = 3.45\%$ ($n = 5$)。

表 2 精密度结果

Table 2 the result of exactitude degree text

进样次数	角鲨烯峰面积 Apex acreage of squalene (mV · min)
1	66487.64
2	71434.53
3	67532.83
4	6538.49
5	65389.96

1.8 样品测试

精密吸取样品溶液 10μl 进样,以外标法计算其含量,结果罗汉果种仁油含角鲨烯 12.5%。

1.9 回收率的测定

采用加样回收法,称取 500.00mg 样品溶液用氯仿定容至 25ml,分别量取 1ml 置入 6 个 25ml 容量瓶,再分别加入标准溶液 1ml,用氯仿定容,进样 10μl 进行定量分析,并计算回收率,结果分别为:98.3%、98.1%、100.3%、99.1%、97.5%、97.6%,平均回收率:98.48%。

2 结论

在色谱条件为:色谱柱:Shodex Asahipak C₁₈,流动相为甲醇/乙腈=60/40、检测波长为 203nm、流速为 2ml/min、柱温为 40℃时,罗汉果种仁油中角鲨烯峰与其它杂质峰得到很好分离,且对角鲨烯有重复性好、快速、准确的优点。此法适用于罗汉果种仁油中角鲨烯的测定。

参考文献:

- [1] 余丽娟,陈全斌,义祥辉,等. 高效液相色谱法制备罗汉果甜甙V标准品[J]. 色谱,2003,21(4):397-399.
- [2] 陈全斌,陈海燕,李俊,等. HPLC法测定罗汉果多糖的相对分子质量[J]. 中草药,2003,12(34):1075-1076.
- [3] 陈全斌,杨瑞云,义祥辉,等. RP-HPLC法测定罗汉果鲜果及甜甙中总黄酮含量[J]. 食品科学,2003,24(5):133-135.
- [4] 陈全斌,义祥辉,余丽娟,等. 不同生长周期的罗汉果鲜果中甜甙V和总黄酮含量变化规律研究[J]. 广西植物,2005,25(3):274-277.
- [5] 陈全斌,杨建香,程忠泉,等. RP-HPLC法测定罗汉果叶中总黄酮含量[J]. 广西科学,2005,12(1):43-45.
- [6] 陈全斌,义祥辉,何星存. 罗汉果叶饮料的可行性研究[J]. 饮料工业,2005,8(4):27-30.
- [7] 陈全斌,杨建香,程忠泉,等. 罗汉果叶黄酮甙的分离与结构鉴定[J]. 广西科学,2006,13(1):35-36,42.
- [8] 陈全斌,沈钟苏,韦正波. 罗汉果黄酮活血化淤药理作用研究[J]. 广西科学,2005,12(4):316-319.
- [9] 陈全斌,汤桂梅,义祥辉. 罗汉果块根的淀粉提取及其性质研究[J]. 食品科学,2002,23(4):37-41.
- [10] 陈全斌,汤桂梅,义祥辉,等. 罗汉果块根中药用成份提取及其药理作用初探[J]. 化学世界,2003,44(1):21-23.
- [11] 陈全斌,程忠泉,许子竟. 罗汉果种仁油脂的提取及其性质研究[J]. 粮油食品科技,2004,12(2):25-27.
- [12] 周金煦,李晓玉,汤宝娣,等. 角鲨烯的抗肿瘤和免疫调节作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志,1990,4(2):151-152.
- [13] 李庆民. 角鲨烯胶丸的气相色谱测定[J]. 中国医药工业杂志,1996,26(9):408-409.

(责任编辑:韦廷宗)

俄罗斯科学家证实基因变异的原因

日前,俄罗斯科学院基因研究所科研人员找到了DNA分子中最脆弱的位置,这些位置在细胞核中与核质相连,正是由于这些位置的存在才导致基因变异和染色体位错这样的后果。有关专家指出,该基础研究成果对人体基因的研究有重要意义。

研究人员进一步发现,导致肌肉组织变形和由于药物引起的二次白血病正好发生在DNA与核质相连的位置。由于这些位置的存在,那些相距远的核苷酸序列片段和其他分子好像被捆绑在一起,它们的结构和性质促进了基因的结合和DNA链之间的交换。这些位置是分子中最脆弱的地方,很容易被核酸酶破坏,病毒DNA也最容易选择在这些位置连接,细胞凋亡中染色体位错和DNA断裂也发生在这些位置。

俄研究人员对从核质上获得的切片上进行的实验证实,在血癌化疗中导致出现白血病的基因AML-1与ETO的合并正好发生在核质上,同时还发现,切片上不稳定的核苷酸序列片段很明显地吸附在核质上。

(摘自《科学网》)