

HPLC 测定长柄扁桃仁及饼粕中苦杏仁苷与野黑樱苷

郭咪咪, 朱琳, 段章群, 张东, 李秀娟, 李晓宁

(国家粮食和物资储备局科学研究院, 北京 100037)

摘要: 为确保长柄扁桃仁在加工与其副产物利用过程中, 更快更有效地明确降解产物中有害物质含量, 本文建立了一种同时测定样品中苦杏仁苷与其降解产物野黑樱苷的高效液相色谱方法。在采用甲醇提取长柄扁桃仁、饼粕中苦杏仁苷和野黑樱苷, 色谱柱 Agilent ZORBAX SB-C18 (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm), 流动相为 20% 甲醇和 80% 水, 流速 1.00 mL/min, 检测波长 210 nm, 柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 苦杏仁苷和野黑樱苷色谱峰分离良好; 苦杏仁苷浓度在 0.50~300 $\mu\text{g/mL}$ 间线性关系良好, $R^2=0.9999$, 野黑樱苷浓度在 0.30~100 $\mu\text{g/mL}$ 间线性关系良好, $R^2=0.9999$; 长柄扁桃仁提取苦杏仁苷和野黑樱苷平均加标回收率分别为 87.10%~96.19% (RSD 为 4.64%~7.83%) 和 88.65%~103.10% (RSD 为 3.03%~7.55%); 而在长柄扁桃饼粕中分别为 98.32%~107.99% (RSD 为 1.44%~3.36%) 和 107.58%~117.60% (RSD 为 1.45%~2.26%)。本方法准确、可靠, 适用于长柄扁桃仁、长柄扁桃饼粕中苦杏仁苷与野黑樱苷的测定。

关键词: 长柄扁桃; 苦杏仁苷; 野黑樱苷; 高效液相色谱; 含量

文章编号: 1673-9078(2018)12-246-251

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.12.036

Study on Amygdalin and Prunasin of *Amygdalus pedunculata* Pall Kernel and Meal by HPLC

GUO Mi-mi, ZHU Lin, DUAN Zhang-qun, ZHANG Dong, LI Xiu-juan, LI Xiao-ning

(Oil and Fat Chemistry Research Group, Academy of National Food and Strategic Reserves Administration, Beijing 100037, China)

Abstract: To clear hazardous substances from degradation products more quickly and effectively in *Amygdalus pedunculata* Pall meal and its by-products, high performance liquid chromatography (HPLC) was established, the amygdalin and prunasin could be determined simultaneously. When methanol was used to extract amygdalin and prunasin in *Amygdalus pedunculata* Pall kernel and *Amygdalus pedunculata* Pall meal, the suitable determination conditions were as follows: Agilent ZORBAX SB-C18 column (5 μm , 4.6 mm \times 250 mm), mobile phase was 20% methanol and 80% water, the flow rate was 1.00 mL/min, the detection wavelength was 210 nm, column temperature 30 $^{\circ}\text{C}$. The peaks of amygdalin and prunasin were isolated well; the linear range for amygdalin was 0.50~300 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=0.9999$), while the prunasin was 0.30~100 $\mu\text{g/mL}$ ($R^2=0.9999$); the average recovery of amygdalin of *Amygdalus pedunculata* Pall kernel and meal were 87.10%~96.19% (RSD=4.64%~7.83%), 98.32%~107.99% (RSD=1.44%~3.36%), respectively; while the average recovery of prunasin were 88.65%~103.10% (RSD=3.03%~7.55%), 107.58%~117.60% (RSD=1.45%~2.26%), respectively. The method is accurate and reliable, and can be used in the determination of amygdalin and prunasin in *Amygdalus pedunculata* Pall kernel and meal.

Key words: *Amygdalus pedunculata* Pall; amygdalin; prunasin; high performance liquid chromatography; content

苦杏仁苷 (amygdalin) 是一种糖苷化合物, 主要存在于杏、桃、苹果、李子、山楂等植物的种仁中, 被苦杏仁酶、樱叶酶等 β -葡萄糖苷酶水解, 依次生成野黑樱苷 (prunasin) 和杏仁腈 (mandelonitrile), 杏

收稿日期: 2018-08-14

基金项目: 国家粮食与物资储备局粮食行业标准 (Z17220); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项基金 (ZX1713)

作者简介: 郭咪咪 (1987-), 女, 助理研究员, 硕士研究生, 研究方向: 油脂加工与品质分析

通讯作者: 段章群 (1981-), 男, 副研究员, 博士研究生, 研究方向: 脂质化学与加工

仁腈再分解生成苯甲醛和氢氰酸 (HCN) [1]。少量的氢氰酸能够起到镇咳平喘功效, 但在人体内积累一定量后会抑制酶活性, 进而抑制组织细胞呼吸, 导致死亡 [2]。氢氰酸对人的急性致死量为 0.5~3.5 mg/kg 体重, 在食用木薯淀粉卫生指标和饲料卫生标准中均有其限量要求, 而目前氢氰酸的含量主要是通过测得的苦杏仁苷质量换算而得到。因此, 长柄扁桃仁或饼粕作为食品、药品或饲料时, 必须严格控制苦杏仁苷含量, 进而减少有害降解产物氢氰酸的安全风险。目前苦杏仁苷含量测定方法国内外已有文献 [3-6] 报道, 但在苦杏仁苷与降解物、液相法同时测定苦杏仁苷和中间产物

野黑樱苷含量等方面的报道研究较少, 本文旨在建立一种高效准确的苦杏仁苷与野黑樱苷的高效液相色谱测定方法。

本文基于2010年版中国药典一部及相关文献^[7,8], 优化高效液相色谱测定长柄扁桃仁与饼粕中苦杏仁苷及其降解产物-野黑樱苷的方法, 同时对长柄扁桃仁与饼粕中苦杏仁苷和野黑樱苷提取工艺进行优化, 确定长柄扁桃仁、饼粕中苦杏仁苷与野黑樱苷的含量, 进而达到明确有害降解产物氢氰酸含量的目的。与相关研究相比, 本方法的含量测定范围中包含了饲料卫生标准中HCN的限量值, 而且能够同时准确检测苦杏仁苷与中间降解产物野黑樱苷含量, 为高效液相色谱测定长柄扁桃仁及其系列产品中苦杏仁苷与野黑樱苷提供依据, 为长柄扁桃仁系列产品的开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

长柄扁桃仁样品采自我国陕西省神木。

甲醇、乙腈、纯水为色谱级, 石油醚为分析纯, 苦杏仁苷标准品(≥96%), Sigma公司, 野黑樱苷标准品(≥95%), Sigma公司等。

中草药粉碎机jx-600, 天津市泰斯特仪器有限公司; 分析天平(0.0001 g)、数控超声波清洗器KQ5200DE, 昆山市超声仪器有限公司; 紫外可见分光光度计TU-1810, 北京普析通用仪器有限公司; 高效液相色谱仪(配置紫外检测器)1100, Agilent公司; 低速大容量多管离心机、漩涡振荡器、慢速定量滤纸等。

1.2 试验方法

1.2.1 苦杏仁苷、野黑樱苷标准品溶液的制备

分别准确称取12.5 mg苦杏仁苷与5.0 mg野黑樱苷标准品, 甲醇溶解, 分别定溶于25 mL、10 mL容量瓶中, 即分别得到质量浓度均为500 μg/mL的苦杏仁苷与野黑樱苷甲醇标准储备液, 4℃储存备用。分别吸取2 mL各标准储备液至不同10 mL容量瓶中, 甲醇稀释至刻度, 即得100 μg/mL苦杏仁苷标准溶液和100 μg/mL野黑樱苷标准溶液, 4℃储存备用。

1.2.2 色谱条件

色谱柱为Agilent ZORBAX SB-C18(5 μm, 4.6 mm×250 mm); 流动相为20%甲醇和80%水, 流速为1 mL/min; 进样量为10 μL; 检测波长为210 nm; 柱温为30℃。

1.2.3 样品前处理

长柄扁桃仁系列产品包括长柄扁桃仁、长柄扁桃油和长柄扁桃饼、粕。液压制备长柄扁桃油得到的长柄扁桃饼, 当含油量≥8%时采取1.2.3.1样品处理方法, 而含油量<8%时采取1.2.3.2样品处理方法。长柄扁桃油在所研究样品中未检测到苦杏仁苷和野黑樱苷, 所以本研究以长柄扁桃仁和饼、粕为主。

1.2.3.1 长柄扁桃仁样品前处理

准确称取0.20 g经粉碎机粉碎的长柄扁桃仁或长柄扁桃饼(含油量≥8%), 置于50 mL已称重的具塞离心管中, 加入10 mL石油醚(30~60℃沸程), 超声10 min, 4000 r/min离心10 min, 弃去石油醚层, 残渣重复提取两次。待残渣中溶剂过夜静置挥干, 称重后按料液比1:200准确加入甲醇, 称重, 在功率为100%的超声波作用下提取30 min, 冷却至室温, 称重, 甲醇补足损失的重量, 摇匀, 过滤, 弃去前1 mL过滤液, 收集续滤液。续滤液用20%甲醇稀释5倍, 摇匀, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 进样。

1.2.3.2 长柄扁桃粕样品前处理

准确称取0.10 g长柄扁桃粕或经粉碎机粉碎的长柄扁桃饼(含油量<8%), 置于50 mL已称重的具塞离心管中, 准确加入20 mL甲醇, 称重, 超声(功率100%)提取30 min, 冷却至室温, 称重, 甲醇补足损失的重量, 摇匀, 过滤, 弃去前1 mL过滤液, 收集续滤液, 续滤液用20%甲醇稀释5倍, 摇匀, 0.22 μm微孔滤膜过滤, 进样。

1.2.4 数据统计分析

文中苦杏仁苷与野黑樱苷的提取得率按公式(1)计算:

$$\text{提取得率} = \frac{c \times N \times V}{m \times 10^6} \times 100\% \quad (1)$$

其中: c-从标准曲线中计算得到的待测液浓度, 单位μg/mL; N-稀释倍数; V-样品提取液的体积, 单位mL; m-称样质量, 单位g。

文中数据采用Excel软件进行分析与作图, 数据结果用平均值±标准偏差表示。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

2.1.1 检测波长

将苦杏仁苷标准溶液与20%甲醇溶液混合, 在190~400 nm波段下扫描。该溶液在210 nm波长附近有最大吸收, 确定210 nm为苦杏仁苷的检测波长。

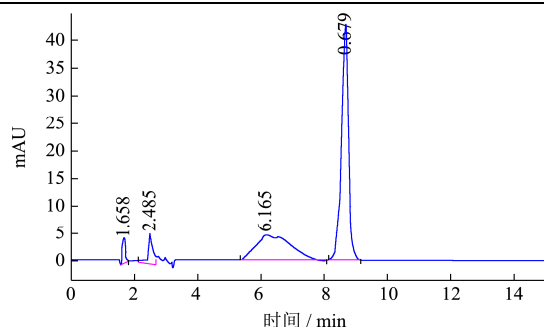


图1 乙腈水流动相下苦杏仁苷色谱图

Fig.1 The amygdalin chromatograms under acetonitrile and water as flow phase

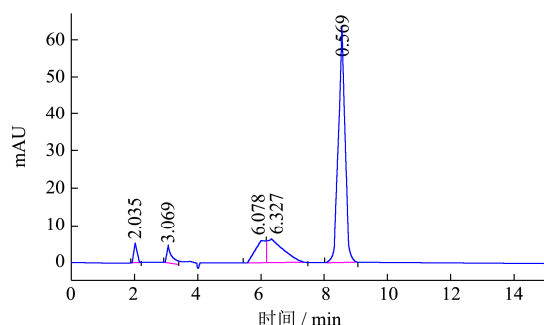


图2 乙腈水甲醇流动相下苦杏仁苷色谱图

Fig.2 The amygdalin chromatograms under acetonitrile, methanol and water as flow phase

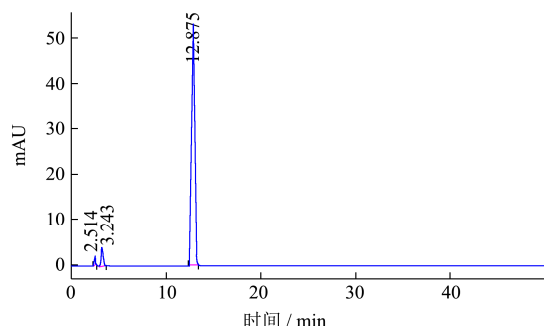


图3 甲醇水流动相下苦杏仁苷色谱图

Fig.3 The amygdalin chromatograms under methanol and water as flow phase

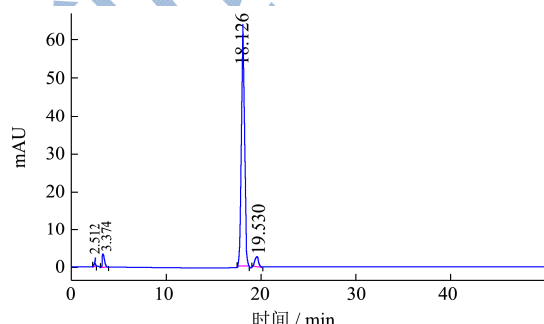


图4 甲醇水流动相下野黑樱苷色谱图

Fig.4 The prunasin chromatograms under methanol and water as flow phase

比较了乙腈-水^[9]、乙腈-水-甲醇^[10-12]、甲醇-水^[13,14]作为流动相对苦杏仁苷标准品溶液色谱峰分离效果。结果表明,在流动相为18%乙腈和82%水时,苦杏仁苷标准品可得到两个相邻色谱峰(图1的5~10 min之间),且第一个色谱峰峰型较差;当流动相为2%乙腈、85%水和13%甲醇时,苦杏仁苷标准品色谱峰(图2)与18%乙腈和82%水作为流动相时的相似;而当流动相为20%甲醇和80%水时,苦杏仁苷色谱峰(图3约11 min处)为一个色谱峰,且分离较好,继续此色谱条件检测野黑樱苷标准品溶液,均可得到不同于苦杏仁苷色谱峰位置的一个野黑樱苷色谱峰(图4约19 min处),同时,此色谱条件能够达到两标准品色谱峰均有较好的峰型(符合峰型对称性要求)和分离效果的目的。

2.2 苦杏仁苷提取条件优化

2.2.1 提取溶剂

苦杏仁苷的三水合物为斜方柱状结晶(水),可溶于水、乙醇,几乎不溶于乙醚。药典^[15]中选用甲醇、甲醇/水或乙醇/水溶液作为苦杏仁苷提取溶剂,寇凯等^[10]研究得出甲醇提取苦杏仁苷,提取得率约为乙醇的5倍。本实验中研究了不同比例甲醇/水溶液(20%甲醇、40%甲醇、60%甲醇、70%甲醇、80%甲醇、90%甲醇、100%甲醇)对长柄扁桃粕中苦杏仁苷及其降解物的提取特性。结果表明,20%、40%甲醇提取液中未检测到苦杏仁苷和野黑樱苷(以20%甲醇提取液为例,如图5)。其它不同浓度甲醇/水提取液测定结果如图6所示。

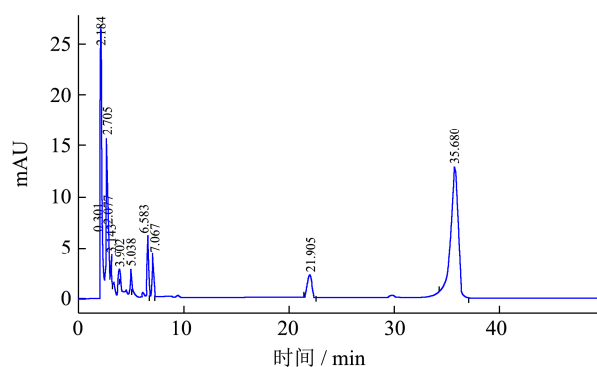


图5 20%甲醇提取液色谱图

Fig.5 The chromatograms of 20% methanol extract

图6可以看出,甲醇含量越高,苦杏仁苷提取得率越大,野黑樱苷提取得率越小。当甲醇含量 $\geq 90\%$ 时,提取溶液中几乎检测不到野黑樱苷。说明水的存在可能对苦杏仁苷有分解作用,产生分解产物野黑樱苷,所以研究选取甲醇作为提取溶剂,尽量避免降解原料中苦杏仁苷成分。同时对图5中相对保留时间在21.9

2.1.2 流动相

min 和 35.6 min 的物质成分进行了分析并确定为其降解产物成分。

甲醇提取液在色谱条件下有前延峰现象, 选择色谱流动相 (20%甲醇) 稀释, 色谱峰峰型较好, 与钱平^[16]等研究结果一致。

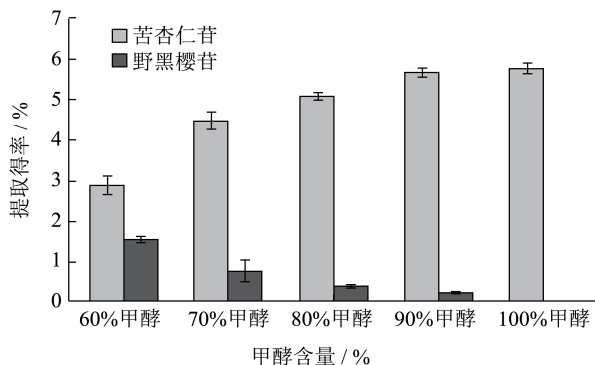


图6 甲醇含量对苦杏仁苷、野黑樱苷提取得率影响

Fig.6 Effects on extraction rates of the amygdalin and prunasin from the methanol content

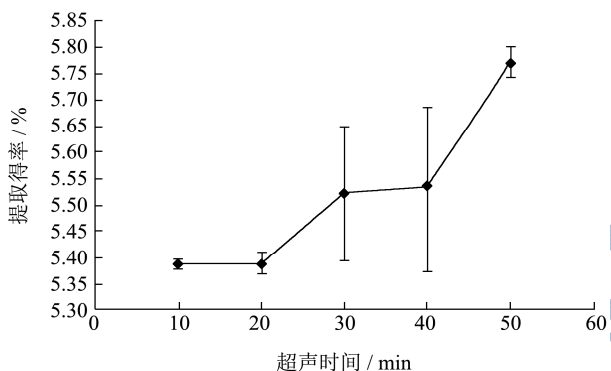


图7 超声时间对苦杏仁苷提取得率的影响

Fig.7 Effects on extraction rates of the amygdalin from ultrasonic time

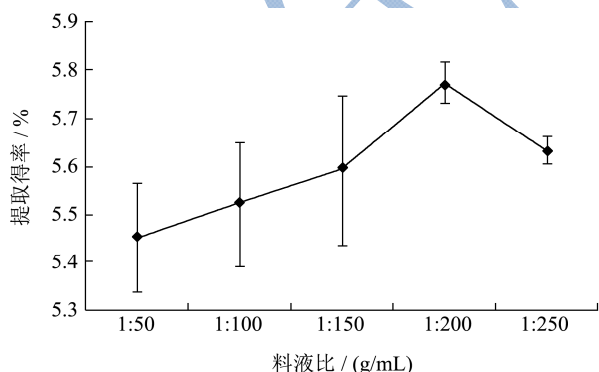


图8 料液比对苦杏仁苷提取得率的影响

Fig.8 Effects on extraction rates of the amygdalin from solid-liquid ratio

2.2.2 提取时间对长柄扁桃粕中苦杏仁苷与野黑樱苷的影响

采用甲醇提取长柄扁桃粕中苦杏仁苷与野黑樱苷, 实验表明, 纯甲醇溶剂浸提长柄扁桃粕, 提取液

中不含有苦杏仁苷的降解产物-野黑樱苷。当提取温度为 20 °C、料液比 1:100、超声功率 200 W 时, 分别考察提取时间 10、20、30、40、50 min 对苦杏仁苷提取得率的影响。图 7 可知, 苦杏仁苷的提取得率随提取时间的延长而增加, 当提取时间达到 30 min、40 min 时, 苦杏仁苷提取得率变化不明显; 而提取时间为 50 min 时, 提取得率有增加。考虑当提取时间由 30 min 延长到 50 min 时, 提取得率增加 0.2%, 而提取时间过短又容易导致提取不充分。综合考虑能耗和提取得率因素, 试验最终确定最佳提取时间为 30 min。

2.2.3 料液比对长柄扁桃粕中苦杏仁苷与野黑樱苷的影响

长柄扁桃仁和长柄扁桃饼 (含油量≥8%) 经石油醚超声去油、干燥后, 甲醇超声浸提。试验研究不同料液比 (长柄扁桃粕 g/甲醇 mL) 对长柄扁桃粕中苦杏仁苷及其降解产物提取特性影响。按 1.2.3.2 样品前处理, 称样 5 份, 分别以料液比 1:50、1:100、1:150、1:200 和 1:250 超声提取后测定提取得率。结果如图 8 所示: 长柄扁桃粕中苦杏仁苷的提取得率随料液比增加呈先增大后减小趋势, 当料液比达 1:200 时, 提取得率最高 5.77% (质量百分含量)。这可能是因为在料液比较低时, 溶液中渗透压较低, 溶质不容易浸出, 导致提取得率较低; 当增大料液比, 渗透压变大, 提取得率随之增大; 但当增加到一定值时, 溶液中渗透压对提取得率的影响不显著, 所以导致提取得率不再继续增大。因此, 确定最佳料液比为 1:200。

2.3 方法学评价

2.3.1 线性关系和检出限

以 20%甲醇为溶剂, 将 500 μg/mL 的苦杏仁苷标准储备液分别稀释成 0.5、1、5、10、20、50、100、200、300 μg/mL 标准溶液, 进样量 10 μL, 以质量浓度 (x) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标作图, 得回归方程 $y=9.9868x-1.6653$, $R^2=0.9999$ (n=3)。说明在 0.50~300 μg/mL 范围内有良好的线性关系。

样品 (编号 RCS11) 长柄扁桃粕由于其特殊制油工艺, 粕中同时含有苦杏仁苷 (平均质量含量约 3%) 和野黑樱苷 (平均含量约 0.29 mg/g) 两种成分。在上述分析条件下, 根据其色谱信息, 以信噪比 S/N=3 计, 得苦杏仁苷检测限为 0.2 μg/mL; 以信噪比 S/N=10 计, 得苦杏仁苷定量限为 0.4 μg/mL。在饲料卫生标准^[17]中, HCN 在饲料原料最低限量为 50 mg/kg, 相当于苦杏仁苷限量为 845 mg/kg (苦杏仁苷与氢氰酸换算系数 16.9), 在本方法的定量限内。

以 20%甲醇为溶剂, 将 500 μg/mL 的野黑樱苷标

准储备液进一步稀释成 0.3、0.5、1、5、10、20、50、100 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液, 进样量 10 μL , 以质量浓度 (x) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标作图, 得回归方程 $y=15.796x-1.177$, $R^2=0.9999$ ($n=3$)。说明在 0.30~100 $\mu\text{g/mL}$ 范围内有良好的线性关系。

在上述分析条件下, 根据 RCS11 样品色谱信息, 以信噪比 $S/N=3$ 计, 得野黑樱苷检测限为 0.1 $\mu\text{g/mL}$; 以信噪比 $S/N=10$ 计, 得野黑樱苷定量限为 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.3.2 精密度

吸取 100 $\mu\text{g/mL}$ 的苦杏仁苷标准溶液 10 μL 注入色谱仪, 同一色谱条件下连续进样 6 次, 测得峰面积分别为: 1031.2、1026.0、1027.7、1036.8、1060.9、1043.9, 相对偏差 (RSD) 1.26%, 说明色谱分析苦杏仁苷的方法具有良好的精密度。

吸取 10 $\mu\text{g/mL}$ 的野黑樱苷标准溶液 10 μL 注入色谱仪, 同一色谱条件下连续进样 6 次, 测得峰面积分别为: 158.0、155.1、150.0、150.4、151.7、149.4, 相对偏差 (RSD) 2.23%, 说明色谱分析野黑樱苷的方

法具有良好的精密度。

2.3.3 重复性

2.3.3.1 长柄扁桃粕

称取编号为 CS35 的长柄扁桃粕样品 6 份, 按照 1.2.3.2 和 1.2.2 的方法操作。试验表明, 样品 CS35 中只含有苦杏仁苷成分, 不含野黑樱苷。记录苦杏仁苷峰面积分别为 608.1、588.7、605.5、590.4、603.6、589.8。苦杏仁苷平均含量 5.58%, RSD 为 1.39% ($n=6$), 表明该方法重复性良好。

2.3.3.2 长柄扁桃仁

称取编号为 RCS25 的长柄扁桃仁样品 6 份, 按照 1.2.3.1 和 1.2.2 的方法操作。试验测定表明, 样品 RCS25 中只含有苦杏仁苷成分, 不含野黑樱苷。记录苦杏仁苷峰面积分别为 484.0、499.2、460.8、483.5、462.0、497.0。苦杏仁苷平均含量 2.45%, RSD 为 3.13% ($n=6$), 表明方法重复性良好。

2.3.4 平均加标回收率

2.3.4.1 长柄扁桃粕中平均加标回收率

表 1 长柄扁桃粕中平均加标回收率及 RSD

Table 1 The amygdalin and prunasin recoverys from *Amygdalus pedunculata* Pall meal and its RSD ($n=3$)

标准品加入量/mg		实测含量/%		平均加标回收率/%		RSD/%	
苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷
2.5	0.1	8.14	0.10				
2.5	0.1	8.37	0.10	98.32	111.64	3.36	2.26
2.5	0.1	8.33	0.10				
5.5	0.2	10.82	0.21				
5.5	0.2	11.40	0.22	107.99	107.58	1.52	1.45
5.5	0.2	10.72	0.22				
10.0	0.5	16.23	0.59				
10.0	0.5	15.79	0.57	105.20	117.60	1.44	1.88
10.0	0.5	15.88	0.57				

表 2 长柄扁桃仁中平均加标回收率及 RSD

Table 2 The amygdalin and prunasin recoverys from *Amygdalus pedunculata* Pall kernel and its RSD ($n=3$)

标准品加入量/mg		实测含量/%		平均加标回收率/%		RSD/%	
苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷	苦杏仁苷	野黑樱苷
4.0	0.1	3.84	0.04				
4.0	0.1	3.74	0.04	96.19	88.65	7.83	3.03
4.0	0.1	4.32	0.05				
5.5	0.2	5.03	0.10				
5.5	0.2	4.59	0.09	93.29	96.03	4.46	7.29
5.5	0.2	4.88	0.09				
10.0	0.5	6.45	0.25				
10.0	0.5	5.78	0.22	87.10	103.10	5.62	7.55
10.0	0.5	6.28	0.23				

称取长柄扁桃粕(苦杏仁苷质量含量 5.67%, 野黑樱苷未检出) 10 份, 每 3 份作为一组, 三组分别加入 2.5、5.5、10.0 mg 的苦杏仁苷标准品, 再分别加入 0.1、0.2、0.5 mg 的野黑樱苷标准品, 1 份留做空白, 按照 1.2.3.2 方法处理, 液相测定。计算长柄扁桃粕中平均加标回收率, 结果见表 1。

表 1 可知, 甲醇(100%甲醇)溶液做提取剂, 苦杏仁苷平均加标回收率 98.32%~107.99%, 野黑樱苷平均加标回收率 107.58%~117.60%, 说明纯甲醇溶液能同时提取出样品中的苦杏仁苷和野黑樱苷两种物质。同时证实了 2.2.1 中低甲醇含量的提取液中由于水的存在, 使部分苦杏仁苷降解为野黑樱苷, 如图 6, 低含量甲醇溶液中野黑樱苷含量最高, 苦杏仁苷含量最低, 而纯甲醇提取液中只有苦杏仁苷, 说明此样品中只含有苦杏仁苷成分。

2.3.4.2 长柄扁桃仁平均加标回收率

称取长柄扁桃仁(苦杏仁苷含量 2.19%, 野黑樱苷未检出) 10 份, 每 3 份作为一组, 三组分别加入 4.0、5.5、10.0 mg 的苦杏仁苷标准品, 再分别加入 0.1、0.2、0.5 mg 的野黑樱苷标准品, 1 份留做空白, 按照 1.2.3.1 方法处理, 液相测定。计算长柄扁桃仁中平均加标回收率, 结果见表 2, 苦杏仁苷平均加标回收率 87.10%~96.19%, RSD 为 4.46%~7.83% (n=3); 野黑樱苷平均加标回收率 88.65%~103.10%, RSD 为 3.03%~7.55% (n=3)。

3 结论

本研究采用甲醇提取长柄扁桃仁及长柄扁桃饼、粕中的苦杏仁苷及其降解产物, 确定了各原料的提取方法, 并建立了高效液相色谱测定其中苦杏仁苷及野黑樱苷含量的方法。长柄扁桃仁中苦杏仁苷平均加标回收率 87.10%~96.19% (RSD 为 4.64%~7.83%), 野黑樱苷为 88.65%~103.10% (RSD 为 3.03%~7.55%); 长柄扁桃粕中苦杏仁苷平均加标回收率 98.32%~107.99% (RSD 为 1.44%~3.36%), 野黑樱苷为 107.58%~117.60% (RSD 为 1.45%~2.26%), 精密度 1.26%, 具有较好的重现性、较高的回收率和准确性等。方法的建立对长柄扁桃及其副产物的开发具有很好的指导意义, 对木本油料产业的发展具有更强的推进作用。

参考文献

[1] 夏其乐, 王涛, 陆胜民, 等. 苦杏仁苷的分析, 提取纯化及药理作用研究进展[J]. 食品科学, 2013, 34(21): 403-407
XIA Qi-le, WANG Tao, LU Sheng-min, et al. Research

progress in analysis, extraction, purification and pharmacological effects of amygdalin [J]. Food Science, 2013, 34(21): 403-407

[2] 穆静. 苦杏仁苷的研究进展[J]. 中医药信息, 2002, 19(3): 19-21

MU Jing. Research progress of amygdalin [J]. Information on Traditional Chinese Medicine, 2002, 19(3): 19-21

[3] 邹小娟, 谢和兵, 钱芳, 等. HPLC 法测定苦杏仁中苦杏仁苷含量的方法研究[J]. 中国药事, 2009, 23(1): 33-36

ZOU Xiao-juan, XIE He-bing, QIAN Fang, et al. Study of the determination method of amygdalin in bitter almond by HPLC [J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2009, 23(1): 33-36

[4] 吴昭晖, 游文玮. HPLC-ELSD 法测定苦杏仁中苦杏仁苷含量的研究[J]. 第一军医大学学报, 2005, 25(12): 1549-1551

WU Zhao-hui, YOU Wen-wei, HE Feng. Determination of amygdalin content in semen armeniaca amarum by high-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection [J]. Journal of First Military Medical University, 2005, 25(12): 1549-1551

[5] Islamiyat F. Bolarinwa, Caroline Orfila, Michael R.A. Morgan. Determination of amygdalin in apple seeds, fresh apples and processed apple juices [J]. Food Chemistry, 2015, 170: 437-442

[6] Islamiyat F Bolarinwa, Caroline Orfila, Michael R A Morgan. Amygdalin content of seeds, kernels and food products commercially-available in the UK [J]. Food Chemistry, 2014, 152: 133-139

[7] 陈恺, 许建, 魏利清, 等. 微波辅助提取苦杏仁苷的工艺研究[J]. 中国食物与营养, 2010, 7: 51-54

CHEN Kai, XU Jian, WEI Li-qing, et al. Study on the microwave-assisted extraction of amygdalin [J]. Food and Nutrition in China, 2010, 7: 51-54

[8] 钱平, 刘志辉, 钱芳, 等. 桃仁定性鉴别与含量测定研究[J]. 中国药事, 2010, 24(4): 351-353

QIN Ping, LIU Zhi-hui, QIAN Fang, et al. Study on the qualitative identification and determination of amygdalin in semen persicae [J]. Chinese Pharmaceutical Affairs, 2010, 24(4): 351-353

[9] 王丹, 刘玉兰, 张东东, 等. 不同产地杏仁及其冷榨杏仁油的品质分析[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(8): 39-43

WANG Dan, LIU Yu-lan, ZHANG Dong-dong, et al. Quality analysis of apricot and cold pressed apricot kernel oil from different areas [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oil Association, 2016, 31(8): 39-43

- [10] 寇凯,许宁侠,申烨华.反相高效液相色谱法测定长柄扁桃仁产品中苦杏仁苷含量[J].分析科学学报,2013,3:367-370
KOU Kai, XU Ning-xia, SHEN Ye-hua. Determination of amygdalin in *Amygdalus pedunculatus* Pall products by reversed-phase high performance liquid chromatography [J]. Journal of Analytical Science, 2013, 3: 367-370
- [11] 张萍,申烨华,王晓玲,等.高效液相色谱法测定长柄扁桃仁中的苦杏仁甙[J].分析实验室,2007,10:80-83
ZHANG Ping, SHEN Ye-hua, WANG Xiao-ling, et al. Determination of amygdalin in *Amygdalus pedunculatus* Pall by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2007, 10: 80-83
- [12] 甄攀,王德宝,贾天军,等.郁李仁中苦杏仁甙的 HPLC 分析[J].张家口医学院学报,2002,19(5):16-17
ZHEN Pan, WANG De-bao, JIA Tian-jun, et al. Analysis on amygdalin of *Prunus tomentosa* Thunb. by HPLC [J]. Journal of Zhangjiakou Medical college, 2002, 19(5): 16-17
- [13] 许宁侠,陈邦,申烨华.响应面法优化长柄扁桃中苦杏仁苷的提取工艺[J].食品工业科技,2014,35(4):270-273
XU Ning-xia, CHEN Bang, SHEN Ye-hua. Optimization extracting process of amygdalin from *Amygdalus pedunculatus* Pall by response surface analysis [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(4): 270-273
- [14] 吕伟峰,丁明玉.高效液相色谱法测定山楂中的苦杏仁甙[J].色谱,2005,23(5):496-498
LYU Wei-feng, DING Ming-yu. Determination of amygdalin in hawthorn by high performance liquid chromatography [J]. Chinese Journal of Chromatography, 2005, 23(5): 496-498
- [15] 中华人民共和国药典-2010年版一部[M]
Chinese pharmacopoeia-2010 [M]
- [16] 钱平,贾云,刘志辉,等.高效液相色谱法测定郁李仁中苦杏仁苷的含量[J].中国中医药信息杂志,2009,16(12):50-51
QIAN Ping, JIA Yun, LIU Zhi-hui, et al. Determination of amygdalin in semen pruni by HPLC [J]. Chinese Journal of Information on TCM, 2009, 16(12): 50-51
- [17] GB13078-2017,饲料卫生标准[S]
GB 13078-2017, Hygienical standard for feeds [S]