

DOI:10.14188/j.ajsh.2019.03.011

## 红花籽亚油酸与油酸成分的同时 HPLC-UV 快速检测法

张丹丹,吴士筠,刘虹,李刚,陈雁,覃瑞\*

(中南民族大学 武陵山区特色资源植物种质保护与利用湖北重点实验室,湖北 武汉 430074)

**摘要:** 建立一种利用高效液相色谱法-紫外法快速、简单并同时检测红花籽中油酸与亚油酸成分含量的方法,用以直接鉴定红花籽亚油酸和油酸含量高低,为红花资源鉴定提供理论依据。采用 Outstand C18 HPLC Column 色谱柱,流动相为乙腈-0.1% 磷酸水溶液(85:15),检测波长为 203 nm,流速为 1 mL/min,柱温为 30 °C。红花种子中亚油酸的理论塔板数为 24 620,油酸的理论塔板数为 25 842。结果亚油酸和油酸分别在 0.110~2.205、0.872~17.444 g/L,与峰面积呈良好的线性关系,亚油酸加样回收率在 99%,油酸加样回收率达到 100%,亚油酸 RSD 与油酸 RSD 均为 0% ( $n=3$ );亚油酸与油酸的质量分数分别是 12.32%,14.07%,13.92%和 0.82%,0.93%,0.95%,RSD 分别为 1.22%,0.94% ( $n=3$ )。该方法具有分离效率高,操作简单,检测快速的优点。

**关键词:** 高效液相色谱;红花籽;亚油酸;油酸

中图分类号: Q94

文献标识码: A

文章编号: 2096-3491(2019)03-0262-07

## HPLC-UV rapid detection of linoleic acid and oleic acid in safflower seeds

ZHANG Dandan, WU Shijun, LIU Hong, LI Gang, CHEN Yan, QIN Rui\*

(Key Laboratory for Protection and Application of Special Plant Germplasm in Wuling Area of Hubei Province, South-Central University for Nationalities, Wuhan, 430074, China)

**Abstract:** To establish a rapid, simple and simultaneous method for the content determination of oleic acid and linoleic acid in safflower seeds by high-performance liquid chromatography-ultraviolet method, and to provide a theoretical basis for the identification of safflower resources, a chromatographic process was set up by using Outstand C18 HPLC Column, and a mobile phase of 85% acetonitrile-15% phosphoric acid solution (0.1%) was used with a flow rate at 1.0 mL/min, column temperature at 30 °C, and determination wavelength at 203 nm. The results showed that the theoretical plate number of linoleic acid in safflower seeds is 24 620, and the theoretical plate number of oleic acid is 25 842. The calibration curve of oleic acid was linear between 0.8722~17.444 g·L<sup>-1</sup>, and linoleic acid was linear between 0.110~2.205 g/L, with the average recovery 99%-100% and RSD of 0% ( $n=3$ ). The contents of oleic acid and linoleic acid in safflower seeds were 12.32%, 14.07%, 13.92% and 0.82%, 0.93%, 0.95%, and the RSD was 1.22%, 0.94% ( $n=3$ ), respectively. The advantages of the method are high separation efficiency, simple operation, and rapid detection.

**Key words:** HPLC; safflower seed; linoleic acid; oleic acid

收稿日期: 2019-03-07 修回日期: 2019-05-08 接受日期: 2019-05-24

作者简介: 张丹丹(1992-),女,硕士生,从事植物分子遗传发育研究,E-mail:dandanzhang92@163.com.

\*通讯联系人: 覃瑞(1972-),男,教授,博士,从事植物分子遗传发育研究,E-mail:qr1469971784@163.com.

基金项目: 国家科学技术部科技基础性工作专项重点项目资助(2014FY110100),湖北省科技条件平台建设专项(2017BEC014)

引用格式: Zhang D D, Wu S J, Liu H, *et al.* HPLC-UV rapid detection of linoleic acid and oleic acid in safflower seeds [J]. Biotic Resources, 2019, 41(3): 262-268.

张丹丹,吴士筠,刘虹,等. 红花籽亚油酸与油酸成分的同时 HPLC-UV 快速检测法[J]. 生物资源, 2019, 41(3): 262-268.

## 0 引言

红花 (*Carthamus tinctorius* L.) 为菊科 (Compositae) 红花属 (*Carthamus*) 植物, 原产中亚地区, 在我国栽培历史悠久, 栽培地域广阔, 以新疆为主, 其次是四川、河南、云南等地<sup>[1]</sup>。红花是一种多用途的综合资源植物, 其花因含有黄酮类物质可入药; 其籽榨油, 是一种很好的油料作物。亚油酸是人体必需却又无法合成的物质, 据文献报道, 红花油中含有 75%~85% 的亚油酸<sup>[2]</sup>, 是公认的“亚油酸王”。由于具有亚油酸溶解胆固醇的生理特性, 使红花籽油成为具有显著效果的医疗保健品<sup>[3]</sup>。国内外均有研究表明, 亚油酸能显著降低高脂血、胆固醇和防止原发性脂肪酸缺乏症<sup>[4-6]</sup>, 油酸对胚胎神经干细胞的神经元分化具有促进作用<sup>[7]</sup>。1973年开始联合国粮农组织就将红花籽作为油类作物正式列入《联合国粮农组织 (FAO) 生产年鉴红花籽生产统计表》的统计项目之内。在我国红花栽培规模一直不大, 红花产量低, 多为药用, 油用红花少<sup>[8]</sup>, 因此对红花种质资源进行开发, 培育高亚油酸或高油酸含量的品种对下游产品开发具有重要意义。同时, 由于红花品种众多, 脂肪酸组成成分与比例都存在一定差异, 需要一种快速检测种子脂肪酸成分的检测方法对不同品种的红花进行鉴定与区分, 此外还可以用于选育优良品种。

目前, 对红花籽油中亚油酸和油酸含量的测定, 主要是采用气相色谱法<sup>[9,10]</sup>, 但气相色谱法检测时, 样品需先碱水解再甲酯化检测, 操作较为复杂, 检测费时较长, 影响因素多, 容易反应不完全<sup>[11]</sup>, 只能用于检测油脂中的脂肪酸甲酯以及游离脂肪酸的总和, 不能用于检测单个游离脂肪酸<sup>[12]</sup>。也有研究人员采用高效液相色谱-紫外法测定红花油中亚油酸含量<sup>[13]</sup>, 但采用高效液相色谱-紫外法同时分析红花籽中油酸与亚油酸含量鲜见报道。因此需要建立一种快速测定红花籽中亚油酸和油酸含量的方法, 无需甲酯化, 操作简单, 检测快速, 为红花资源鉴定、质量控制和育种提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试红花种子为中国农业科学院油料作物研究所提供, 经实验室内刘虹副教授鉴定为新疆红花种子;

实验器材: 岛津 UV-2600 紫外分光光度计; 安捷伦 1260 液相色谱仪; Outstand C18 HPLC Col-

umn (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱; 10 mL 烧杯; 100 mL 圆底烧杯; 50 mL 容量瓶; 5 mL 容量瓶; 样品瓶; 注射器; 研磨棒; 超声清洗仪; 移液枪; 恒温水浴锅; 漩涡震荡仪; 离心机; ME204E 分析天平 (瑞士梅特勒-托利多公司); 纯水仪; 高压灭菌锅等。

实验试剂: 0.5 mol/L 氢氧化钾 (乙醇) 溶液; 1 mol/L 水-HCl; 酚酞; 无水乙醇; 亚油酸对照品 (CAS#60-33-3, LOT: 23O8B46354), 油酸对照品 (CAS#112-80-1, LOT: S09A8B33442), 购自上海源叶生物科技有限公司, GC ≥ 98%; 乙腈为色谱纯, Sigma 公司; 超纯水等。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 标准溶液的制备

称取油酸、亚油酸对照品适量, 精密称定, 置 20 mL 容量瓶中, 用乙醇定容至 20 mL, 制成含有油酸、亚油酸分别为 0.872、0.441 g/L 的混合对照品溶液, 备用。

#### 1.2.2 样品准备与提取

取大小均一的 3 粒种子为一份, 称重, 置于研钵中液氮研磨, 转移至 1.5 mL EP 管中, 加入 400 μL 超纯水溶解, 加入 2% 果胶酶与纤维素酶各 1 μL, 30 °C 酶解 3 h, 100 °C 灭活 5 min, 12 000 r/min 离心 10 min, 移取上层清油和少许乳化层, 将清油再次 12 000 r/min 离心 10 min, 移取上层清油。精密吸取提取液 100 μL, 至 5 mL 容量瓶中, 加甲醇溶解定容, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 取续滤液进行测定。

取大小均一的 3 粒成熟种子为一份, 称重, 置于 10 mL 烧杯中, 用研磨棒磨碎, 转移到 100 mL 圆底烧瓶内, 加入 28.055 g/L 氢氧化钾乙醇溶液清洗 10 mL 烧杯, 清洗液一并转移到 100 mL 圆底烧瓶中, 定容到 10 mL, 称重, 超声 5 min, 用 28.055 g/L 氢氧化钾乙醇溶液补重, 水浴锅中 90 °C 加热回流提取 30 min, 冷却至室温时称重并用 28.055 g/L 氢氧化钾乙醇溶液补重, 再加入 50 μL 酚酞试液, 用 1 mol/L 的盐酸溶液滴定至溶液刚变黄, 将溶液转移至 50 mL 量瓶中, 用乙醇洗涤圆底烧瓶, 洗涤液并入量瓶中, 加乙醇定容至 50 mL, 精密量取 1 mL 到 5 mL 量瓶中, 加乙醇定容至刻度, 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 按照色谱条件进行检测。

#### 1.2.3 色谱条件及系统适应性实验

采用 Outstand C18 HPLC Column (4.6 mm × 150 mm, 5 μm) 色谱柱, 流动相为乙腈 (C)-0.1% 磷酸水溶液 (D) (V: V/85: 15), 流速 1 mL/min, 柱温 30 °C, 检测波长 203 nm, 进样量 20 μL。此条件下对照品及样品色谱图见图 1。以亚油酸与油酸的保

留时间和半高峰宽计算色谱柱的理论塔板数,计算公式为 $N=5.54(\text{保留时间}/\text{半高峰宽})^2$ ,测得红花籽中亚油酸与油酸的理论塔板数分别为24 620, 25 842。塔板数大于5 000,目标成分分离度良好<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 处理与检测条件优化

#### 2.1.1 提取条件优化

水酶法用于多种油料作物提取<sup>[15,16]</sup>,提取条件温和,可同时获得优质油与蛋白质;水蒸气回流法提取设备简单、操作简便,造价低、体积小,适合实验室使用。对水酶法提取与回流法提取进行比较,水酶法酶解时间比回流法时间多6倍以上,选择回流法能缩短提取时间,且回流法采用直接碱化回流、酸化后获得游离脂肪酸,过滤续液即可用于检测,操作上相比水酶法更为简单,因此综合考虑选择水蒸气回流法进行提取。

#### 2.1.2 检测条件优化

检测波长是影响色谱峰出峰与峰型的重要因素,合适的检测波长才能测定出样品对应的峰。称取亚油酸、油酸对照品适量,加入2 mL乙醇制成对照品溶液,采用岛津UV-2600紫外分光光度计从200~400 nm范围检测波长,结果如图2。通过比较203 nm<sup>[17]</sup>,207 nm,210 nm<sup>[18]</sup>3种不同的紫外检测波长,根据检测到的峰形以及出峰时间比较得到,在203 nm时峰面积最大,其次是207 nm,同时仅203 nm能检测出油酸,其余两种不能检测出油酸,因此选择203 nm为检测波长,用以同时测定亚油酸与油酸。

### 2.2 方法学验证

#### 2.2.1 标准曲线绘制

吸取混合对照品储备液0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、5.0 mL置量瓶中,各加入乙醇定容至5 mL,制成亚油酸质量分别为0.110 3、0.220 5、0.441 0、0.661 5、0.882 0、1.102 5、2.205 0 g/L,油

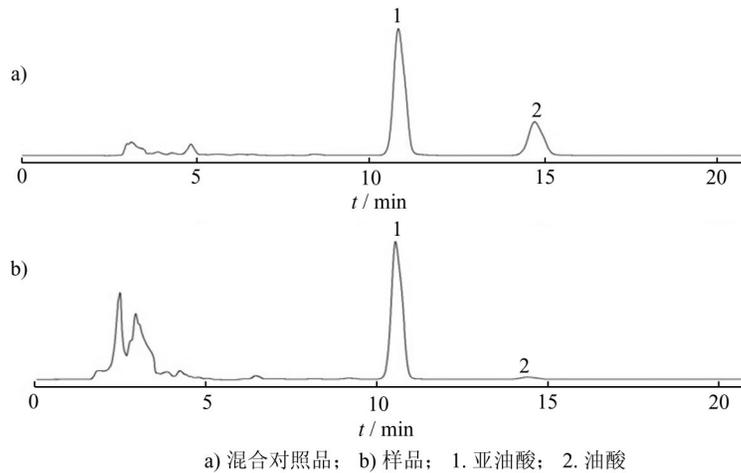


图1 红花籽油酸与亚油酸HPLC

Fig. 1 HPLC chromatogram of oleic acid and linoleic acid in safflower seeds

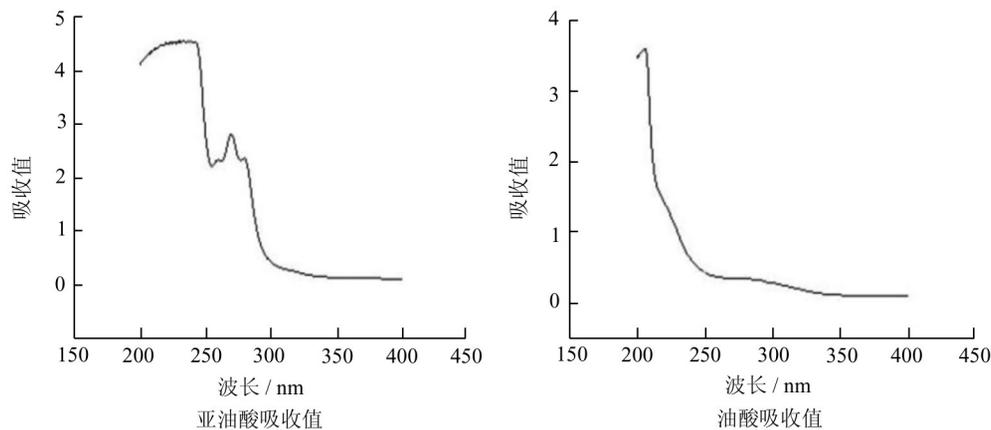


图2 亚油酸与油酸紫外吸收值

Fig. 2 UV absorbance of linoleic acid and oleic acid

酸质量分别为 0.218 0、0.436 1、0.872 2、1.308 3、1.744 4、2.180 5、4.361 0 g/L 的混合对照品溶液, 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤, 取续滤液按 1.2.3 的方法于高效液相色谱仪上进行检测, 测定其峰面积, 以峰面积为纵坐标(Y), 亚油酸和油酸质量为横坐标(X), 绘制标准曲线, 得回归方程  $Y_{\text{亚油酸}} = 8\,914x + 115.84$ ,  $Y_{\text{油酸}} = 1\,597.4x + 35.375$ , 线性关系系数分别为  $R^2 = 0.999\,8$ ,  $R^2 = 0.999\,9$  (图 3), 结果表明, 亚油酸和油酸分别在 0.110 25~2.205 00、0.218 05~4.361 00 g/L (与色谱峰) 呈良好的线性关系。

### 2.2.2 精密度试验

取同一混合对照品溶液, 按照 1.2.3 项色谱条件连续进样 6 次, 测定亚油酸与油酸峰面积, 统计峰面积并计算相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 值。测定亚油酸与油酸峰面积, 统计峰面积并计算 RSD 值分别为 0.34 %, 0.42 %, 表明仪器精密度良好

### 2.2.3 重复性试验

选取大小均一的红花籽 3 粒为一份, 共取 5 份, 每份约 70 mg, 按照 1.2.2 项下方法制备供试品溶液, 在前述色谱条件下进样检测, 根据峰面积与线性关系计算样本中亚油酸和油酸含量以及含量的 RSD 分别为 1.02 %, 0.85 %, 表明制备方法重复性良好。

### 2.2.4 稳定性试验

取同一供试品溶液且在同一室温下, 按照 1.2.3 项色谱条件, 分别于 0, 3, 6, 9, 12, 24, 48 h 进样, 检测亚油酸与油酸在不同时间下的峰面积, 统计结果并计算得到亚油酸与油酸的峰面积 RSD 分别

为 0.62 %, 0.98 %, 结果表明供试品溶液在 48 h 内稳定性良好。

### 2.2.5 加样回收率试验

取已知含量 (含亚油酸和油酸分别为 13.17 %, 0.93 %; 14.10 %, 1.11 %; 14.15 %, 0.97 %) 的供试品溶液, 每个对照品溶液分为 3 份, 分别准确加入亚油酸和油酸, 亚油酸加入质量分别为 8.820、13.230、17.640 mg, 油酸加入质量分别为 0.872、1.308、1.744 mg, 测定低中高 3 个浓度的加样回收率。按照 1.2.3 色谱条件下进行洗脱, 依据检测到的亚油酸与油酸峰面积以及线性关系计算目标物的含量, 计算回收率和 RSD, 结果见表 1 及表 2。

### 2.3 样品含量测定

选取 3 份红花种子样品, 按照 1.2.2 方法进行提取, 制备供试品溶液, 在 1.2.3 色谱条件下进样检测, 依据标准曲线计算样本中亚油酸与油酸含量。结果显示, 亚油酸和油酸在种子中含量分别为 12.32 %, 14.07 %, 13.92 % 和 0.82 %, 0.93 %, 0.95 %, RSD 分别为 1.22 %, 0.94 % (n=3)。

## 3 讨论

本文所测为红花籽的亚油酸含量, 亚油酸的质量分数分别为 12.32 %, 14.07 %, 13.92 %, 油酸的质量分数分别为根据预实验使用气相色谱测得种子的含油率为 20.696 %, 结合种子的重量计算得到亚油酸的含量与文献报道的 75%~85%<sup>[2]</sup> 符合, 即可以准确检测出红花籽中的亚油酸含量。

在采用 HPLC-UV 检测亚油酸与油酸的相关文献中, 样品制备方法都是选取已提取好的油, 再通过碱化、高温回流、酸化等过程, 为了建立一种快速、一

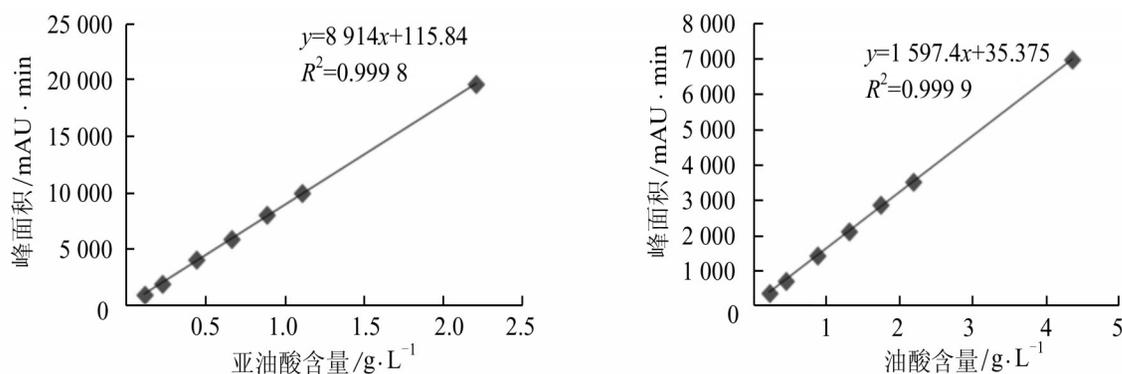


图 3 亚油酸与油酸标准曲线

Fig. 3 Calibration curve of linoleic acid and oleic acid

表1 红花籽油样品中亚油酸的加样回收率试验

Table 1 Recovery of linoleic acid in samples

称样量/mg	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
76.9	10.124	8.82	8.687	98		
76.9	10.124	13.23	13.087	99	99	0
76.9	10.124	17.64	17.514	99		
68.2	9.615	8.82	8.719	99		
68.2	9.615	13.23	13.099	99	99	0
68.2	9.615	17.64	17.519	99		
67.3	9.521	8.82	8.749	99		
67.3	9.521	13.23	13.136	99	99	0
67.3	9.521	17.64	17.553	100		

表2 红花籽油样品中油酸的加样回收率试验

Table 2 Recovery of oleic acid in samples

称样量/mg	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均回收率/%	相对标准偏差/%
76.9	0.714	0.872	0.872	100		
76.9	0.714	1.308	1.308	100	100	0
76.9	0.714	1.744	1.744	100		
68.2	0.754	0.872	0.872	100		
68.2	0.754	1.308	1.308	100	100	0
68.2	0.754	1.744	1.744	100		
67.3	0.651	0.872	0.872	100		
67.3	0.651	1.308	1.308	100	100	0
67.3	0.651	1.744	1.744	100		

表3 样本中亚油酸与油酸含量测定

Table 3 Content determination of oleic acid and linoleic acid in samples

序号	亚油酸含量/mg	亚油酸含量/%	平均值/mg	相对标准偏差值/%	油酸含量/mg	油酸含量/%	平均值/mg	相对标准偏差值/%
1	9.477	12.32			0.629	0.82%		
2	9.597	14.07	9.480	1.22	0.633	0.93%	0.634	0.94
3	9.366	13.92			0.641	0.95%		

步的测定方法,本研究对选取材料研磨后,为了保证样品细胞充分破碎,加入超声步骤,再进行碱化、高温回流、酸化等过程,并比较了水酶法与回流法的提取效果。利用水酶法提取操作繁琐,耗时长,在酶解破乳后检测无目的峰,推测是需要进一步皂化。采用回流法操作简单快速,目的峰单一且峰形对称,分离时间较短,符合快速简便的要求,因此选择回流法进行提取。

通过预实验与查阅文献确定流动相,在此条件下检测亚油酸和油酸的保留时间分别约10 min和15 min,分离时间较短,峰形对称无干扰峰。根据紫

外分光光度计对亚油酸与油酸对照品检测紫外吸收的情况,选取203 nm,207 nm,210 nm 3种检测波长,并在高效液相上检测亚油酸与油酸的对照品,确定亚油酸与油酸的出峰时间,以及对3种波长条件下亚油酸与油酸的吸收值,结果表明3种波长条件下亚油酸与油酸均有吸收峰,但203 nm时吸收峰面积更大,更容易检测到低含量样品,而本文选取的红花材料,其中油酸含量较低,在207 nm、210 nm波长条件下,检测不到对应的峰,因此选用203 nm作为检测波长。

种质资源的遗传多样性是品种选育的基础,对

优良基因的有效挖掘与利用,不仅可以改良红花品种还可以促进红花的遗传研究<sup>[19]</sup>。影响红花品种推广的重要因素是红花种子中含油率的高低,油酸和亚油酸作为红花籽中两个主要成分,备受关注。高油酸的品种,抗氧化能力好,侧重于食用,可以用于煎炸。高亚油酸的红花品种侧重于药用价值,由于亚油酸含有两个不饱和键,在高温条件下容易发生氧化反应,一般药用较多,主要用于心血管疾病治疗。在品种选育时,高油酸与高亚油酸都具有广泛的市场,需要的是在适于广泛种植的同时提高其中的含油率。深入了解一个物种的种质资源,离不开对其进行品质分析,因此建立一种快速简单的检测方法,有利于对红花种质资源进行评估,为后续的开发利用提供技术基础。

### 参考文献

- [1] Wang Z M, Chen Y H, Chen Y Q. Safflower [M]. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2001: 王兆木, 陈跃华, 陈友强. 红花[M]. 北京:中国中医药出版社, 2001
- [2] Wang Z M, Chen Y H. Safflower and its development and utilization [J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 1995 (5):203-205.  
王兆木, 陈跃华. 红花及其开发利用[J]. 新疆农业科学, 1995(5):203-205.
- [3] Winter G. Safflower oil [J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 1950, 27(3):82-84.
- [4] Toma W, Guimar Es, Brito Arms, *et al.* Safflower oil: an integrated assessment of phytochemistry, antiulcerogenic activity, and rodent and environmental toxicity [J]. Revista Brasileira de Farmacognosia, 2014, 24(5): 538-544.
- [5] Khalid N, Khan R S, Hussain M I, *et al.* A comprehensive characterization of safflower oil for its potential applications as a bioactive food ingredient—a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2017, 66(8): 176-186.
- [6] Yi S Y, Guan L L, Yang J, *et al.* Research advances in pharmacological function and development and application of *Carthamus tinctorius* L [J]. Northern Horticulture, 2015(5): 191-195.  
易善勇, 官丽莉, 杨晶等. 红花药理作用及其开发与应用研究进展[J]. 北方园艺, 2015(5): 191-195.
- [7] Majid G, Kazem Z, Hassan A, *et al.* Safflower seed oil, containing oleic acid and palmitic acid, enhances the stemness of cultured embryonic neural stem cells through notch1 and induces neuronal differentiation [J]. Frontiers in Neuroscience, 2017, 11:446-.
- [8] Lv S, Zhang F Q, Meng G L, *et al.* Safflower oil and its application in food [J]. Food Research and Development, 2004, 25(4): 74-76.  
吕顺, 张凡庆, 孟广龙等. 红花油及在食品中的应用[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(4): 74-76.
- [9] Wang Y, Feng L. Discussion on the determination method of linoleic acid by gas chromatography [J]. Journal of Preventive Medicine Information, 2007, 23(4): 503-504.  
汪瑜, 封雷. 亚油酸气相色谱测定方法探讨[J]. 预防医学情报杂志, 2007, 23(4): 503-504.
- [10] Zhai X R, Li Y D, Zhang H B, *et al.* Determination of linoleic acid in Honghua soft capsule by gas chromatography [J]. Clinician Medical Practice, 2017(6): 460-464.  
翟晓茹, 李永东, 张红兵等. 气相色谱法测定红花软胶囊中亚油酸的含量[J]. 临床医药实践, 2017(6): 460-464.
- [11] Zhang Y, Zhang X T, Zhang T, *et al.* Determination of oleic acid and linoleic acid in Chinese medicine *Brucea javanica* oil by HPLC [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2015, 21(7): 51-53.  
张悦, 张溪桐, 张彤等. HPLC测定中药鸦胆子油中油酸和亚油酸[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(7): 51-53.
- [12] Toma M, Vinatoru M, Paniwnyk L, *et al.* Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2001, 8(2): 137-142.
- [13] Han H M, Gao J, Hao F, *et al.* Determination of linoleic acid in refined safflower oil by high-performance liquid chromatography [J]. China Pharmaceuticals, 2014, 23(3): 37-38.  
韩红梅, 高钧, 郝福等. 高效液相色谱法测定精制红花油中亚油酸含量[J]. 中国药业, 2014, 23(3): 37-38.
- [14] Xin H L, Hou Y H, Li M, *et al.* Determination of  $\alpha$ -linolenic acid and linoleic acid in extracts of *Portulaca oleracea* L. by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Integrative Medicine, 2008, 6(11): 1174-1177.  
辛海量, 侯银环, 李敏等. 高效液相色谱法测定马齿苋提取物中 $\alpha$ -亚麻酸和亚油酸的含量[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(11):1174-1177.
- [15] Xiao L I, Chunyang L I, Xiaoxiong Z, *et al.* Optimization of aqueous enzymatic extraction of safflower oil by response surface methodology [J]. Food Science, 2017.
- [16] Sajid Latif, Farooq Anwar. Aqueous enzymatic sesame oil and protein extraction [J]. Food Chemistry, 2011,

- 125(2): 679-684.
- [17] Luo G P, Liang Y Z, Yan M R, *et al.* Determination of contents of free and conjugated  $\alpha$ -linolenic acid, linoleic acid, and oleic acid in *Paeonia suffruticosa* Andr. seed oil by HPLC [J]. *China Oils and Fats*, 2017, 42(8): 140-144.
- 罗国平, 梁宇柱, 闫梦茹等. HPLC法测定牡丹籽油中游离型和结合型 $\alpha$ -亚麻酸、亚油酸及油酸的含量[J]. *中国油脂*, 2017, 42(8): 140-144.
- [18] Tang J P, Zeng B, Huang M Q, *et al.* Determination of free and bound linoleic acid in croton oil by reversed-phase high-performance liquid chromatography [J]. *Central South Pharmacy*, 2012, 10(11): 811-813.
- 唐君苹, 曾宝, 黄孟秋等. 反相高效液相色谱法测定巴豆油中游离型和结合型亚油酸的含量[J]. *中南药学*, 2012, 10(11): 811-813.
- [19] Guo L F, Xu N S, Zhang Y, *et al.* Genetic diversity analysis of main agronomic traits of Yunnan red flower germplasm resources [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13(2):000219-225.
- 郭丽芬, 徐宁生, 张跃等. 云南红花种质资源主要农艺性状的遗传多样性分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2012, 13(2): 219-225.

□