

GC 测定香榧假种皮挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯含量

薛海萍¹, 侯剑伟¹, 杨骏^{1,2}, 孙雯沁¹, 丁越¹, 张彤^{1*}

(1. 上海中医药大学, 上海 201102; 2. 上海市黄浦区香山中医院, 上海 200020)

[摘要] 目的: 建立气相色谱法测定香榧假种皮挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯含量的方法。方法: 采用 HP-1 石英毛细管柱(0.25 $\mu\text{m} \times 320.00 \mu\text{m} \times 29.9 \text{m}$), 进样口温度 230 $^{\circ}\text{C}$, FID 检测器, 检测器温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 柱温程序升温(起始温度 50 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温至 130 $^{\circ}\text{C}$, 保持 3 min), 载气 N_2 , 流速 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样方式为分流进样, 分流比 30:1, 进样量 1 μL , 萘为内标物。结果: α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯线性范围分别为 0.070 ~ 2.230 ($r = 1.0000$), 0.075 ~ 2.393 ($r = 1.0000$), 0.070 ~ 2.240 ($r = 0.9999$) $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 平均回收率分别为 103.0% (RSD 1.4%), 99.1% (RSD 1.2%), 97.7% (RSD 1.6%)。结论: 建立的测定方法简便快速、准确, 可为香榧假种皮挥发油质量控制提供参考。

[关键词] 香榧假种皮; 挥发油; α -蒎烯; β -蒎烯; 柠檬烯; 气相色谱

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0057-03

[doi] 10.11653/syfy2013170057

Simultaneous Determination of α -Pinene, β -Pinene and Limonene in Volatile oil from Aril of *Torreya grandis* by GC

XUE Hai-ping¹, HOU Jian-wei¹, YANG Jun^{1,2}, SUN Wen-qin¹, DING Yue¹, ZHANG Tong^{1*}

(1. Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201102, China;

2. Shanghai Xiangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200020, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a method for simultaneous determination of α -pinene, β -pinene and limonene in volatile oil from aril of *Torreya grandis* by GC. **Method:** HP-1 quartz capillary column (0.25 $\mu\text{m} \times 320.00 \mu\text{m} \times 29.9 \text{m}$) was adopted, inlet temperature 230 $^{\circ}\text{C}$, flame ionization detector (FID) with temperature of 250 $^{\circ}\text{C}$, column temperature program (initial temperature 50 $^{\circ}\text{C}$, keeping 2 min, heated to 130 $^{\circ}\text{C}$ at 8 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, keeping 3 min), N_2 as carrier gas, flow rate 1.2 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, injection mode was split injection with split ratio of 30:1, injection volume 1 μL , naphthalene as an internal standard. **Result:** The linear ranges of α -pinene, β -pinene and limonene were 0.070-2.23 ($r = 1.0000$), 0.075-2.393 ($r = 1.0000$), 0.070-2.24 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ($r = 0.9999$), respectively; Average recoveries of them were 103.03% (RSD 1.42%), 99.17% (RSD 1.23%), 97.73% (RSD 1.63%), respectively. **Conclusion:** This developed method was simple, quick and accurate, it could be used for quality control of volatile oil from aril of *T. grandis*.

[Key words] aril of *Torreya grandis*; volatile oil; α -pinene; β -pinene; limonene; GC

[收稿日期] 20130117(010)

[基金项目] 教育部新世纪人才计划项目(NCET-10-0944); 上海市创新团队及重点学科项目(J50302)

[第一作者] 薛海萍, 实验师, 在读硕士, 从事中药质量分析研究, Tel: 021-50323018, E-mail: xuehaiping198410@163.com

[通讯作者] * 张彤, 博士, 教授, 从事中药制药与中药分析技术研究, Tel: 021-51322318, E-mail: zhangtdmj@yahoo.com.cn

香榧又称香榧子, 性味甘平, 入药具有杀虫、消积、润燥的功效^[1-2]。其化学成分包括香榧含有二萜类化合物、黄酮类化合物、木脂素类化合物和挥发油等^[3-9], 具有抗动脉粥样硬化^[10]、降血脂^[11]、驱虫^[12]等药理作用。香榧假种皮挥发油中烯烴类化合物含量最高, 包括 α -蒎烯(19.72%)、柠檬烯(30.12%)、 β -蒎烯(1.885%)和香叶烯甲(2.57%)等^[13]。现代药理研究表明柠檬烯具有镇咳、祛痰、

抗菌作用^[14], α -蒎烯具有抑菌作用^[15];其中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯是香榧假种皮挥发油产生驱虫作用的主要物质^[16]。香榧的主要利用部位为香榧果,假种皮为加工副产物,一般作为加工废物丢弃,具有强烈气味。目前香榧假种皮挥发油质量标准控制的研究很少^[16]。本实验拟采用 GC 对香榧假种皮挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯 3 种有效成分的含量进行测定,为香榧假种皮挥发油的质量控制及合理利用提供依据。

1 材料

Agilent 6890 型毛细管气相色谱仪(美国 Agilent 公司)。 α -蒎烯、柠檬烯对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110897-200502, 100470-200801), β -蒎烯对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号 20120611),香榧假种皮挥发油(诸暨市丰日食品有限公司),试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 溶液配制

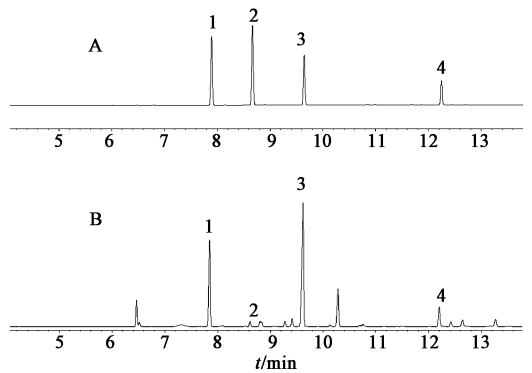
2.1.1 对照品溶液 分别取对照品 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯适量,精密称定,分别置于 10 mL 量瓶中,加正己烷制成质量浓度依次为 13.936, 14.954, 13.998 g·L⁻¹的对照品溶液;分别精密吸取 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯对照品溶液 2.0 mL 置于 10 mL 量瓶中,得混合对照品溶液。

2.1.2 内标溶液 精密称定萘适量,置 50 mL 量瓶中,加正己烷定容至刻度,制成 0.207 g·L⁻¹的溶液。

2.1.3 供试品溶液 取香榧假种皮水提油 0.2 mL,置于 25 mL 量瓶中,加入内标溶液 2.5 mL,加正己烷定容至刻度,摇匀,即得。

2.2 色谱条件 HP-1 石英毛细管柱(0.25 μ m \times 320.00 μ m \times 29.9 m),氢火焰离子检测器(FID),进样口温度 230 $^{\circ}$ C,检测器温度 250 $^{\circ}$ C,柱温程序升温(起始温度 50 $^{\circ}$ C,保持 2 min;以 8 $^{\circ}$ C·min⁻¹升温至 130 $^{\circ}$ C,保持 3 min),载气 N₂,流速 1.2 mL·min⁻¹,进样方式为分流进样,分流比 30:1,进样量 1 μ L。理论塔板数按柠檬烯计算应不低于 10 000,各峰与其相邻色谱峰的分离度均 >1.5,各峰拖尾因子均在 0.95 ~ 1.05,见图 1。

2.3 线性范围考察 分别精密吸取混合对照品溶液 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mL 置于 5 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 0.5 mL,用正己烷定容至刻度,摇匀,进样,测定,以对照品质量浓度为横坐标,对照品与内标的峰面积比值为纵坐标,得回归方程 $Y_{\alpha\text{-蒎烯}} = 4.336 2X + 0.021 1 (r = 1.000 0)$,



A. 对照品;B. 供试品;1. α -蒎烯;2. β -蒎烯;3. 柠檬烯;4. 萘
图 1 香榧假种皮挥发油 GC

$Y_{\beta\text{-蒎烯}} = 4.483 7X - 0.030 9 (r = 1.000 0)$, $Y_{\text{柠檬烯}} = 4.434 8X - 0.001 3 (r = 0.999 9)$,线性范围依次为 0.069 68 ~ 2.229 8, 0.074 77 ~ 2.392 64, 0.069 99 ~ 2.239 68 g·L⁻¹。

2.4 精密度试验 取低、中、高 3 种质量浓度的对照品溶液,按上述色谱条件在同一天内连续进样 6 针,测定,以 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯与内标的峰面积比值计算,结果 α -蒎烯的日内精密度 RSD 分别为 1.8%, 1.4%, 1.5%, β -蒎烯分别为 1.8%, 1.4%, 1.4%,柠檬烯依次为 1.5%, 1.2%, 1.2%。另配上述 3 种质量浓度的对照品溶液各 3 份,在连续 6 d 内重复测定 2 次,计算 α -蒎烯的日间精密度 RSD 分别为 1.0%, 1.0%, 1.5%, β -蒎烯分别为 0.7%, 1.1%, 1.5%,柠檬烯依次为 2.0%, 0.8%, 1.3%。

2.5 重复性试验 取同一批样品 5 份,依 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,吸取 1 μ L 注入气相色谱仪,记录峰面积,计算 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯的平均质量浓度分别为 112.2, 7.70, 200.6 g·L⁻¹,RSD 分别为 2.1%, 2.6%, 2.6%。

2.6 稳定性试验 取同一供试品溶液,室温放置,于 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 分别进样,以 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯与内标的峰面积比值计算 RSD 分别为 2.8%, 2.6%, 2.3%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

2.7 加样回收率试验 取已知 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯含量的香榧假种皮挥发油 0.1 mL,分别精密加入适量 α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯对照品,计算加样回收率,结果见表 1,表明本法回收率良好。

2.8 样品测定 精密移取香榧假种皮水提挥发油 3 份,每份 0.2 mL,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按上述色谱条件进行测定,用内标对比法计算香榧假种皮水提挥发油中 α -蒎烯质量浓度分别为 111.99, 113.25, 110.59 g·L⁻¹, β -蒎烯分别为 7.66,

表1 香榧假种皮挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯的含量测定加样回收率试验

成分	加入量 /mg	测得量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	RSD /%
α -蒎烯	8.70	20.19	103.8	101.5	2.8
	8.79	19.91	99.7		
	8.93	20.43	103.9		
	11.51	23.00	103.0		
	11.64	23.32	104.5		
	11.81	23.43	104.0		
	13.38	24.19	97.5		
	13.30	24.43	99.8		
	13.45	24.28	97.6		
	β -蒎烯	0.65	1.49	99.3	99.5
0.64		1.47	97		
0.64		1.47	97.28		
0.86		1.71	100.9		
0.84		1.70	99.6		
0.85		1.71	101.8		
1.05		1.88	98.4		
1.01		1.87	101.3		
1.07		1.91	99.7		
柠檬烯		16.45	36.23	99.1	97.5
	16.25	35.95	98.6		
	16.48	36.04	97.8		
	20.21	39.61	97.9		
	20.26	39.27	95.5		
	20.69	40.46	99.2		
	23.62	42.90	97.3		
	23.36	43.08	96.0		
	24.05	43.13	96.4		

注: α -蒎烯、 β -蒎烯、柠檬烯在样品中质量依次为11.15,0.85,19.93 mg。

7.77,7.57 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,柠檬烯分别为198.32,199.49,196.87 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,表明建立的测定方法稳定可行。

3 讨论

曾分别采用萘、正十五烷和环己酮作为内标进行含量测定,结果萘峰位于柠檬烯峰附近,且与相邻组份峰完全分离,故选择萘为含量测定内标。建立的方法简便、快速、准确,为香榧假种皮挥发油成分的质量控制提供参考。各批次样品测定结果表明,香榧假种皮水提挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯和柠檬烯

的含量差异不大,其中柠檬烯含量最高,各成分含量可能与香榧假种皮的产地及采收时间有关,为香榧资源的开发和利用提供依据。

[参考文献]

- [1] 王向阳,修丽丽. 香榧的营养和功能成分综述[J]. 食品研究与开发,2005,26(2):20.
- [2] 周大铮,易阳,华士龙,等. 香榧假种皮的二萜类成分[J]. 中草药,2002,33(10):877.
- [3] 吕阳成,宋进,骆广生. 香榧假种皮中紫杉醇的检定[J]. 中药材,2005,28(5):370.
- [4] 冯涛,吴琰君. 香榧壳香精的提取及其成分鉴定[J]. 食品工业,2009,31(3):65.
- [5] 曾国洲,王延. 体制抗癌新药“托亚埃(Torrea)”方法. 中国:1990. CN. 1046904[P],1990-11-14.
- [6] 周大铮,易杨华,毛士龙,等. 香榧假种皮中的木脂素成分[J]. 药学学报,2004,39(4):269.
- [7] LI J Y, Sidhu R S, Ford E J, et al. The induction of taxol production in the endophytic fungus *Periconia sp* from *Torreya grandifolia* [J]. J Ind Microbiol Biotechnol, 1998,20(5):259.
- [8] 李冬梅,古研,赵振冬,等. 香榧假种皮中主要化学组成的研究[J]. 生物质化学工程,2012,46(4):22.
- [9] 张虹,陈振德,柳正良. TLC-HPLC法分析榧属植物叶中的紫杉醇[J]. 第二军医大学学报,2003,24(1):106.
- [10] 陈振德,郑汉臣,陈志良,等. 香榧子油对实验性动脉粥样硬化形成的影响[J]. 中药材,2000,23(9):551.
- [11] 牛娜,李岩,吴崇明,等. 香榧提取物对高血脂大鼠模型的预防降血脂作用[J]. 四川中医,2006,24(4):21.
- [12] 马祥洲,苏畅. 使君子、香榧子和川楝子对人蛔虫感染小鼠的驱治效果观察[J]. 中国病原生物学杂志,2010,5(6):417.
- [13] 童晓青,许琳,刘本同,等. 香榧假种皮精油提取工艺及GC-MS分析[J]. 浙江林业科技,2011,31(3):11.
- [14] 黄燕,吴怀恩,韦志英,等. 大头陈挥发油的化学成分分析及其抗菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(12):79.
- [15] 甘秀海,王瑞,梁志远,等. 千里光花挥发油成分分析及抑菌活性[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(20):122.
- [16] 鲍建峰. 香榧假种皮提取物成分分析及功能研究[D]. 杭州:浙江大学,2010.

[责任编辑 仝燕]