

丁香罗勒油气相色谱与气质联用分析

李玲玲 赖东美 叶飞云(厦门 361012 厦门市药品检验所)

摘要 目的:建立丁香罗勒油中丁香酚的含量测定方法和鉴定挥发性化学成分。方法:气相色谱法,4 mm×2 m 不锈钢柱,10 %SE-30 为固定液,Chromosorb WAW 60-80 目担体,FID 检测器,柱温 110℃,水杨酸甲酯为内标物;气质联用,以 HP-5 毛细管柱,柱温起始 120℃保持 5 min 后以 5℃·min⁻¹升温至 150℃保持 7 min,检测质荷比范围 10~425。结果:丁香酚在 2~10 mg·mL⁻¹ 范围内具良好线性关系,平均加样回收率为 100.08%,RSD 为 0.95%;气质联用鉴定了 39 个化合物。结论:方法简便,快速,准确,可排除其它成分的干扰。

关键词 丁香罗勒油;丁香酚;气相色谱法;内标法;气质联用

Analysis of Ocimum Oil by GC and GC/MS

Li Lingling, Lai Dongmei, Ye Feiyun(Xiamen Institute for Drug Control, Xiamen 361012)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** A method was established for the determination of eugenol in the Ocimum oil by GC and GC/MS method was used to identify the volatile compositions in this article. **METHODS:** The GC method employed chromosorb WAW with 10 % SE-30 as the stationary phase, and the column temperature was 110℃. Hydrogen flame ionization detector was used. GC/MS condition: using programmed temperature gas chromatography (initial temperature was 120℃ maintaining 5 min, and then raising the temperature (5℃·min⁻¹) to 150℃ for 7 min), mass-to-electric charge ratio was 10 to 425. **RESULTS:** The calibration curve was linear within the range of 2~10 mg·mL⁻¹ of eugenol. The results showed that the recoveries and RSD were 100.08% and 0.95%, respectively. The eugenol in Ocimum oil can be determined accurately. **CONCLUSION:** The method is simple, accurate, sensitive and anti-interference and GC/MS identified 39 different compositions in ocimum oil.

KEY WORDS ocimum oil, eugenol, GC, GC/MS

丁香罗勒油是唇形科植物丁香罗勒 *Ocimum gratissimum* L. 的全草经水蒸气蒸馏得到的挥发油,主要成分为丁香酚 eugenol^[1]。现行质量标准中国药典(2000 版)^[2]采用加入氢氧化钾溶液使其成丁香酚钾盐溶于水层与油层分离,读取油层体积计算含量,方法简单,但周期长,误差大,且当样品中混有干扰含量测定的杂质时,使用该法测得的结果偏高。文献报道丁香酚含量测定方法有双波长紫外分光光度法^[3]、气相色谱法^[4,5]和高效液相色谱法^[6]。本文采用气相色谱法测定其含量,方法简单,快速,可排除其它杂质的干扰,本文还应用气质联用对丁香罗勒油中挥发性成分进行鉴定。

1 仪器与试剂

日本 Shimadzu GC-17A 气相色谱仪;C-R6A 数据处理机;美国 HP 5890 气相色谱仪;HP-MS 检测器;NBS75 K. 质谱数据库。无水乙醇(AR);丁香酚(9404 面积归一化 97.32 %中国药品生物制品检定所提供);丁香罗勒油(市售)。

2 色谱分离条件

2.1 填充柱气相色谱条件:4 mm×2 m 不锈钢柱,10 %SE-30 固定液,Chromosorb WAW 60-80 目担体,FID 检测器,柱温 110℃,检测器温度 200℃,载气:氮气 50 mL·min⁻¹,氢气,空气压力:50 KPa。

2.2 气质联用系统条件:HP-5(5 %苯甲基硅酮)毛细管柱(0.25 mm×30 m),载气:氮气,分流比 40:1,流量 1.0 mL·

min⁻¹,柱温:起始 120℃保持 5 min 后以 5℃·min⁻¹升温至 150℃保持 7 min,检测质荷比范围 10~425,离子源温度 300℃,倍增电压 1500 eV。

3 校正因子测定

取水杨酸甲酯适量,精密称定,加无水乙醇溶解并稀释成每 1 mL 含 20 mg 的溶液,作为内标溶液。另取丁香酚对照品约 40,50,60 mg(相当于 80 %,100 %,120 %),精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 2 mL,用无水乙醇稀释至刻度,摇匀,取 2 μL 注入气相色谱仪,连续进样 3~5 次,按平均峰面积计算校正因子,结果 3 种不同浓度的溶液所测校正因子的平均值为 0.8271, RSD 为 0.72 %。

4 线性实验与精密度实验

精密称取丁香酚标准品 0.5 g 置 25 mL 容量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度作标准储备液,分别精密量取 1,2,3,4,5 mL 于 10 mL 容量瓶,各精密加入内标溶液 2 mL,用无水乙醇稀释至刻度,分别进样,以样品浓度为横座标,丁香酚对照品峰面积与内标物峰面积比值为纵座标,作回归曲线,结果 $Y = 0.3141X - 0.1042$ $r = 0.99999$,丁香酚在 2~10 mg·mL⁻¹ 范围内具有良好的线性关系。

同一批样品连续进样 8 次,测定丁香酚与内标物峰面积的比值,平均值 1.4659, RSD 为 0.30 %。

5 稳定性和重现性实验

精密吸取样品在 0,1,2,4,6,10h 时进样,结果丁香酚与内标物峰面积比值平均值为 1.4672,RSD 为 0.22%。精密称取丁香罗勒油同一批样品 6 份,按样品测定法依法测定,结果平均值 81.6%,RSD 为 0.61%。

6 样品回收率实验

分别精密称取已测定含量的同一批号丁香罗勒油样品 6 份,各约 0.03g,精密加入丁香酚对照品各约 0.03g,精密加入内标溶液 2 mL 于 10 mL 量瓶中,加无水乙醇稀释至刻度,摇匀,分别吸取 2 μ L 注入气相色谱仪中,记录色谱,每份测定 3 次,结果平均加样回收率为 100.08%,RSD 为 0.95%。

表 1 回收率测定结果

样品中 丁香酚 的量(mg)	添加 丁香酚 的量(mg)	测出 丁香酚 的量(mg)	回收率 % (n = 3)	平均回 收率(%)	RSD (%)
26.52	30.01	56.664	100.45		
26.93	26.03	53.028	100.26		
35.09	25.24	60.254	99.70		
28.23	25.50	54.165	101.70	100.08	0.95
26.76	24.21	50.802	99.31		
30.68	25.04	55.488	99.07		

7 结果与讨论

7.1 样品测定结果

取水杨酸甲酯适量,精密称定,加无水乙醇溶解并稀释成每 1 mL 含 20 mg 的溶液,作为内标溶液。另取丁香酚对照品约 50 mg,精密称定,置 10 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 2 mL,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为对照品溶液;取样品约 50 mg,精密称定,置于 10 mL 容量瓶中,精密加入内标溶液 2 mL,用无水乙醇溶解并稀释至刻度,摇匀,作为供试品溶液。吸取 2 μ L 注入气相色谱仪中,记录色谱结果,计算;另取同批样品 10 mL,按中国药典 2000 版方法测定,计算。结果见表 2,色谱图见图 1。

表 3 丁香罗勒油的化学成分

编号	保留时间 (min)	成 分	constituents	MS 匹配度	归一化含量 (%)
1	1.84	3- 蒎烯	3- Thujene	91	0.17
2*	2.06	β - 蒎烯	β Pinene	89	0.07
3	2.16	β - 月桂烯	β Myrcene	94	0.21
4*	2.29	(E)- β - 罗勒烯	(E)- β Ocimene	87	2.06
5	2.31	ρ - 聚伞花烃	ρ Cymene	94	0.52
6	2.38	α - 罗勒烯	α Ocimene	80	0.83
7	2.52	γ - 蒎品烯	γ - Terpinene	87	0.13
8	2.61	(-)- β - 蒎烯	(-)- β Pinene	85	0.22
9*	2.77	β - 芳樟醇	β Linalool	86	0.43
10	3.01	苯乙醇	Phenylethyl Alcohol	97	0.80
11	3.08	新别罗勒烯	Neoolocimene	95	4.28
12	3.24	别罗勒烯	Alloocimene	95	0.22

表 2 样品测定结果(n = 3)

批号	气相色谱法		药典法	
	(%) (g / g)	RSD(%)	(%) (mL / mL)	RSD(%)
940420	92.5	0.08	100.0	0.00
940421	70.2	1.20	90.5	2.16
950213	84.3	0.03	89.0	3.24
950615	66.1	0.09	92.0	1.99
960106	83.2	0.52	85.8	1.47
970301	86.1	0.66	85.5	2.90
970305	86.4	0.64	86.0	3.21
980610	81.6	0.61	84.9	2.24
980730	85.6	0.30	90.5	1.80
980915	89.2	1.36	95.3	0.93

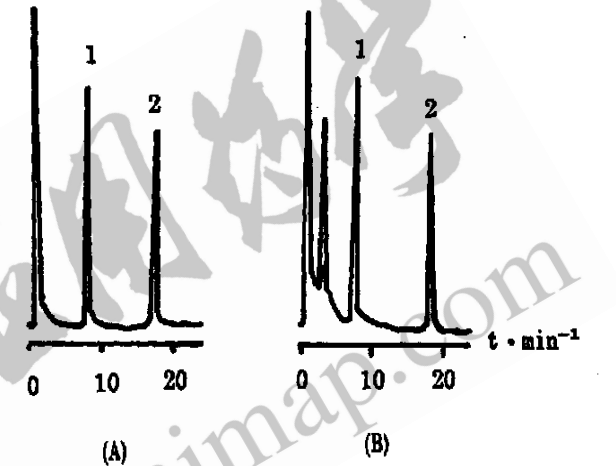


图 1 丁香酚对照品(A)与丁香罗勒油(B)气相色谱图
1.水杨酸甲酯 2.丁香酚

7.2 气质联用分析

取精油 0.2 μ L,按气质联用条件直接进样,结果见表 2。
在上述条件下,从丁香罗勒油中分得 42 个成分,鉴定了 38 个成分,占全精油的 97.6%。

编号	保留时间 (min)	成 分	constituents	MS 匹配度	归一化含量 (%)
13	3.44	异长叶薄荷醇	Isopulegol	96	0.40
14	3.51	异薄荷酮	Isomenthone	95	0.31
15	3.54	乙酸苯甲酯	Acetic acid ,phenyl methyl ester	95	1.00
16	3.83	萜品烯醇-4	Terpinene-4-ol	95	0.61
17	4.00	丙酸芳樟酯	Linalyl propanoate	87	0.23
18 *	4.05	α -萜品醇	α -Terpinol	95	0.21
19	4.47	香茅醇	Citronellol	76	0.10
20	7.38	α -草澄茄烯	α -Cubebene	83	0.15
21 *	8.05	丁香酚	Eugenol	97	63.55
22	9.08	香草醛	Vanillin	95	0.19
23	9.50	石竹烯	Caryophyllene	98	4.74
24	9.65	β -草澄茄烯	β -Cubebene	90	0.68
25	10.22	α -丁香烯	α -Caryophyllene	90	0.76
26	10.72	γ -依兰烯	γ -Murolene	96	0.68
27	11.00	大根香叶酮 D	germacrene D	91	10.60
28	11.09	白菖烯	Calarene	86	0.15
29	11.15	咕巴烯	Copaene	90	0.24
30	11.39	α -金合欢烯	α -Farnesene	91	0.13
31	11.45	(-)- β -杜松烯	(-)- β -Cadinene	89	0.15
32	11.74	γ -杜松烯	γ -Cadinene	92	0.29
33	11.97	δ -杜松烯	δ -Cadinene	95	0.82
34 *	12.00	异丁香酚	Isoeugenol	98	0.15
35	12.22	(+)- α -依兰烯	(+)- α -Murolene	89	0.17
36	14.19	邻苯二甲酸乙酯	Diethyl Phthalate	91	1.04
37	15.90	金刚烷	Adamantane	86	0.11
38	16.08	茉莉醛	Jas minaldehyde	96	0.20

注：* 表示丁香罗勒油化学成分已报道过

7.3 讨论

7.3.1 本实验测定样品 10 批,按中国药典法测定丁香酚含量,依据反应机制为加入氢氧化钾使丁香酚形成丁香酚钾盐溶于水而与油层分离,读取油层体积计算含量;含有酚羟基的化合物均能和氢氧化钾形成钾盐而溶于水。

7.3.2 从含量测定结果看,部分样品药典法结果远高于气相色谱法,如 940421,950615 两批样品两方法测定结果相差 20~30%,气质联用面积归一化结果这两批样品含大根香叶酮 D(Germacrene D)达 10~20%,样品中何种其它成份与氢氧化钾形成溶于水的化合物,计算使丁香酚含量偏高,具体反应机理有待进一步探讨;用气相色谱法测定排除杂质干扰,故气相色谱法比原方法准确。

7.3.3 实验中曾采用 9%OV-17 和 10%PEG-20M 色谱柱进行实验比较,比较了苯酚、十六烷、萘等内标物,结果优选 10%SE-30 色谱柱和水杨酸甲酯作内标物。

7.3.4 丁香酚对照品较不稳定,含量测定最好用新开封的

标准品。

参考文献

- 1 芮和恺,王正坤编.中国精油植物及其利用.昆明:云南科技出版社,1987.404.
- 2 国家药典委员会编.中华人民共和国药典(2000 版)一部.化学工业出版社,2000.4.
- 3 朱国健,潘 阳.双波长紫外分光光度法测定康齿宁乳膏中丁香酚的含量.医药工业,1988,5:224.
- 4 陈 万,陈小鹏.牙痛水中樟脑、丁香酚的含量测定.中成药研究,1986,6:9.
- 5 常丽萍,倪坤仪,王新堂.六应丸中冰片、丁香酚的毛细管气相色谱分析.中国药科大学学报,1989,5:297.
- 6 余锦雄,朱炳辉.风油精中丁香酚含量的高效液相色谱法测定.中药材,1995,1:34.

收稿日期:2001-03-14