

毛细管气相色谱法测定臭冷杉挥发油中柠檬烯含量

王 威¹, 赵志兰², 牛志多¹, 苗艳波¹, 闫喜英¹, 师海波¹, 张宪平^{1*}

(1. 吉林省中医中药研究院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林省药品检验所, 吉林 长春 130062)

摘要: 目的 建立臭冷杉挥发油中有效成分柠檬烯的毛细管气相色谱测定方法。方法 色谱条件为 SE-54 毛细管色谱柱, 程序升温, 分流比为 40:1, FID 检测器, 内标为萘。结果 柠檬烯浓度在 0.601 32~1.403 08 mg/mL 呈线性关系 ($r=0.999 6$), 平均加样回收率为 99.62% ($RSD=2.41\%$)。结论 该法简便, 灵敏, 易操作, 可用于臭冷杉生药的质量评价。

关键词: 臭冷杉; 挥发油; 柠檬烯; 毛细管气相色谱

中图分类号: R286.02 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2003)07-0605-02

Determination of limonene in volatile oil of *Abies nephrolepis* leaves by CGC

WANG Wei¹, ZHAO Zhi-lan², NIU Zhi-duo¹, MIAO Yan-bo¹,
YAN Xi-ying¹, SHI Hai-bo¹, ZHANG Xian-ping¹

(1. Academy of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica of Jilin Province, Changchun 130021, China;
2. Jilin Institute for Drug Control, Changchun 130062, China)

Abstract Object To develop a reliable method for determination of limonene in volatile oil of *Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim. leaves by capillary gas chromatography (CGC). **Methods** SE-54 quartz capillary column was used and the temperature of column was programmed. The splitting ratio was 40:1. The FID was used as detector, and the naphthalene as internal standard. **Results** The standard curve was linear in the concentration range of 0.601 32—1.403 08 mg/mL ($r=0.999 6$). The average recovery was 99.62% with $RSD=2.41\%$. **Conclusion** The method can be used for quality assessment of *A. nephrolepis* leaves and it is rapid, sensitive, precise and has good reproducibility.

Key words *Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim. leaves; volatile oil; limonene; capillary gas chromatography (CGC)

松科植物臭冷杉 *Abies nephrolepis* (Trautv.) Maxim. 属常绿乔木, 喜生于阴湿缓山坡及排水良好的平湿地, 常与其他针、阔叶树混生或有时成纯林, 称“臭松排子”。广泛分布于我国东北、华北及日本、朝鲜和俄罗斯西伯利亚^[1]。现代药理学研究表明, 臭冷杉枝叶挥发油具有明显的抗炎作用, 显著的镇咳、祛痰、平喘作用^[2]。臭冷杉枝叶挥发油的主要成分为柠檬烯 (limonene)、醋酸龙脑酯 (bornyl acetate)、莜烯 (camphene)、 α -蒎烯 (α -pinene)^[3-4]。关于气相色谱内标法测定其有效成分柠檬烯的含量未见文献报道。因此本实验建立了以萘为内标, 采用毛细管气相色谱法测定臭冷杉挥发油中柠檬烯的含量, 并对采集于长白山不同地区的样品进行了测定, 希望为臭冷杉生药质量评价提供依据。

1 仪器与试剂

日本岛津 GC-14C 气相色谱仪, SPL14C 分流/不分流系统, C-R6A 数据处理机。SE-54 毛细管柱

(中国科学院大连化学物理研究所)。药材分别采集于长白山区白山、漫江和十九道沟 3 个不同地区, 经吉林省中医中药研究院巴雪青博士鉴定为松科植物臭冷杉 *A. nephrolepis* (Trautv.) Maxim. 的新鲜枝叶。柠檬烯 (Sigma 公司, 气相色谱峰面积归一化法测得纯度为 100%), 萘 (色谱纯, 天津市化学试剂二厂), 所用试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 色谱条件: SE-54 毛细管柱 (0.25 mm \times 25 m), 程序升温: 60 $^{\circ}$ C (2 min) $\xrightarrow{4^{\circ}$ C/min} 80 $^{\circ}$ C $\xrightarrow{6^{\circ}$ C/min} 140 $^{\circ}$ C $\xrightarrow{10^{\circ}$ C/min} 220 $^{\circ}$ C (5 min), 分流比: 40:1, 氢火焰离子化检测器 (FID), 检测器温度 260 $^{\circ}$ C, 进样口温度 260 $^{\circ}$ C, 氮气压力 130 kPa, 氢气压力 60 kPa, 空气压力 50 kPa。色谱图见图 1。

2.2 样品的提取: 取臭冷杉药材 40 g, 精密称定, 置挥发油提取器中, 加水 400 mL, 提取 6 h, 得挥发油。

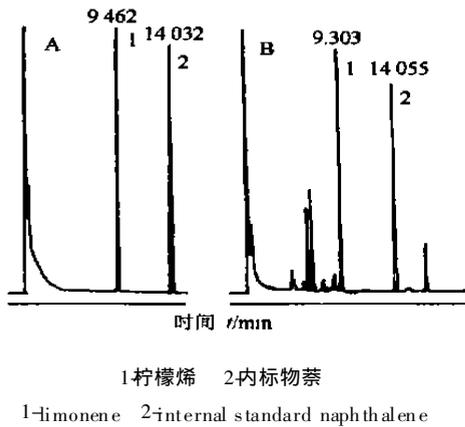


图 1 柠檬烯对照品 (A) 和供试品 (B) 的 GC 图谱

Fig. 1 GC chromatograms of limonene reference substance (A) and sample (B)

- 2.3 对照品溶液的配制: 取柠檬烯对照品适量, 精密称定, 加无水乙醇制成约 2 mg/mL 的溶液, 作为对照品溶液
- 2.4 内标溶液的配制: 取萘适量, 精密称定, 加无水乙醇制成约 2 mg/mL 的溶液, 作为内标溶液
- 2.5 供试品溶液的配制: 取挥发油 60 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。精密量取该溶液 1 mL 和内标溶液 1 mL, 摇匀, 作为供试品溶液
- 2.6 定量校正因子测定: 精密量取对照品溶液 (4.008 8 mg/mL) 4.0, 5.0, 6.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取 1 mL, 精密加入内标溶液 1.0 mL, 摇匀。分别进样测定 3 次, 每次 1 μ L, 测得定量校正因子为 1.035 7
- 2.7 标准曲线绘制: 精密量取对照品溶液 (4.008 8 mg/mL) 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 mL 分别置于 10 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密量取 1 mL, 精密加入内标溶液 1.0 mL, 摇匀。分别进样测定, 每次 1 μ L。以柠檬烯浓度为横坐标, 柠檬烯与内标峰面积之比为纵坐标进行线性回归。结果表明柠檬烯在 0.601 32~ 1.403 08 mg/mL 呈良好的线性关系, 其线性回归方程为 $Y = 0.955 6X - 0.020 3$, $r = 0.999 6$
- 2.8 精密度试验: 对同一供试品溶液连续测定 6

次, 结果柠檬烯含量为 0.375 2 g/g, $RSD = 0.94\%$ 。

2.9 重现性试验: 对同一来源样品, 独立测定 6 次, 结果柠檬烯的平均含量为 0.383 3 g/g, $RSD = 1.29\%$ 。

2.10 加样回收率试验: 取已知含量的样品约 300 mg, 精密称定, 置 50 mL 量瓶中, 加无水乙醇稀释至刻度, 摇匀。分别精密吸取 5 mL 5 份, 精密加入对照品溶液 5 mL, 摇匀。依法测定, 测得平均加样回收率为 99.62%, $RSD = 2.41\%$ 。

2.11 样品测定: 依法测定 3 个不同地区的臭冷杉样品, 挥发油出油率和柠檬烯含量见表 1

表 1 不同地区臭冷杉挥发油出油率
与挥发油中柠檬烯含量

地 区	出油率 / (mL g^{-1})	柠檬烯 / (g g^{-1})
白 山	0.038 2	0.388 0
漫 江	0.035 9	0.297 7
十九道沟	0.037 6	0.189 7

3 讨论

- 3.1 分别选用萘、正十五烷和正十九烷为内标进行优选, 结果萘峰位于柠檬烯峰附近, 且与相邻组份峰完全分离。
- 3.2 臭冷杉挥发油成分复杂, 传统填充柱不能使各成分完全分离, 采用毛细管色谱柱进行测定, 各成分峰形及分离效果好。
- 3.3 测定结果表明产于长白山不同地区的臭冷杉样品中柠檬烯含量存在着差异, 是否与植被分布的生态环境因素有关, 有待进一步探讨。

References

- [1] Yan Z K, Li W L, Liu G R, et al. China Changbai Mountain Medicinal Plant Colour Atlas (中国长白山药用植物彩色图志) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1997.
- [2] Liu W, Zhou Z C, Shi H B, et al. Actions of relieving cough, removing phlegm and antiasthma of essential oil in *Abies nephrolepis* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1990, 21 (6): 268-269.
- [3] Yang Z Y, Jiang Z T, Gu J X, et al. Studies on the chemical constituents of the volatile oil of *Abies nephrolepis* leaves [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 1990, 32(2): 133-136.
- [4] Xu Y H, Shen R H, Wu D H, et al. Studies on the chemical constituents of the volatile oil of *Abies nephrolepis* in Yanbian area [J]. J Yanbian Univ (延边大学学报), 1994, 20(4): 39-42.

保 护 环 境 造 福 子 孙