

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.03.018

枫香精油质量标准研究

周文杰, 饶伟文[△], 王丽丽

(广西壮族自治区桂林市食品药品检验所, 广西 桂林 541012)

摘要:目的 建立枫香精油的质量标准。方法 从性状特征、薄层色谱方面对枫香精油进行定性鉴别。按2020年版《中国药典(四部)》方法测定枫香精油的相对密度和折光率,按《香料 酸值或含酸量的测定》GB/T 14455.5—2008测定酸值。采用气相色谱-质谱(GC-MS)法分离、鉴定枫香精油的化学成分,色谱柱为DB-5MS毛细管柱(30 m×250 μm, 0.25 μm),载气为氦气,分流比为100:1,体积流量为1.0 mL/min,进样口温度为250℃,辅助加热区温度为280℃,程序升温,进样量为0.1 μL;离子源为电子轰击(EI),离子源温度为230℃,四极杆温度为150℃,电子能量为70 eV,扫描范围为20~450 amu(全扫)。采用峰面积归一化法测定主要特征成分的相对含量。结果 16批制剂均为淡黄色澄清液体,气芳香;薄层色谱图与枫香脂对照药材在相应位置显相同颜色的斑点,且斑点清晰,分离良好;相对密度(20℃)为0.910~0.924,折光率(20℃)为1.493~1.500,酸值为10.08~18.30 mg/g;含有39种化合物,β-石竹烯、α-蒎烯、β-蒎烯、莰烯为主要特征成分,相对含量分别为27.14%~36.53%,10.65%~17.32%,6.71%~12.44%,1.17%~6.27%。结论 所建立的方法可用于枫香精油的质量控制。

关键词:枫香精油;薄层色谱法;气相色谱-质谱法;β-石竹烯;α-蒎烯;β-蒎烯;莰烯;质量标准

中图分类号:R932;R284.1;R286.0 文献标志码:A 文章编号:1006-4931(2023)03-0080-04

Quality Standard of Liquidambaris Resina Essential Oil

ZHOU Wenjie, RAO Weiwēn, WANG Lili

(Guilin Food and Drug Inspection Institute, Guilin, Guangxi, China 541012)

Abstract: Objective To establish the quality standard of Liquidambaris Resina Essential Oil. **Methods** The characteristics analysis and the thin-layer chromatography (TLC) method were used for the qualitative identification of Liquidambaris Resina Essential Oil. The relative density and refractive index of Liquidambaris Resina Essential Oil were determined according to the method of the *Chinese Pharmacopoeia* (2020 Edition, Volume IV), and the acid value was determined according to the method of the *Fragrance/Flavor Substance—Determination of Acid Value or Acid Content* (GB/T 14455.5—2008). The chemical components of Liquidambaris Resina Essential Oil were separated and identified by the gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method. The chromatographic column was DB-5MS capillary column (30 m×250 μm, 0.25 μm), the carrier gas was helium, the split ratio was 100:1, the volume flow was 1.0 mL/min, the inlet temperature was 250℃, the temperature of the auxiliary heating zone was 280℃, the temperature was programmed, and the injection volume was 0.1 μL. The ion source was electron impact (EI), the ion source temperature was 230℃, the quadrupole temperature was 150℃, the electron energy was 70 eV, and the scanning range was 20–450 amu (full scan). The relative contents of main characteristic components were determined by the peak area normalization method. **Results** The 16 batches of preparations were all light-yellow and clear liquid with aroma. The TLC chromatograms showed that there were spots with the same color at the corresponding positions as the Liquidambaris Resina reference, and the spots were clear and well separated. The relative density of the preparation (at the temperature of 20℃) was in the range of 0.910–0.924, the refractive index (at the temperature of 20℃) was in the range of 1.493–1.500, and the acid value was in the range of 10.08–18.30 mg/g. There were 39 compounds in the preparation, among them, β-caryophyllene, α-pinene, β-pinene and camphene were the main characteristic components with the relative contents of 27.14%–36.53%, 10.65%–17.32%, 6.71%–12.44% and 1.17%–6.27%. **Conclusion** The established method can be used for the quality control of Liquidambaris Resina Essential Oil.

Key words: Liquidambaris Resina Essential Oil; TLC; GC-MS; β-caryophyllene; α-pinene; β-pinene; camphene; quality standard

枫香精油是从枫香树 *Liquidambar formosana* Hance 的树干采割的液态树脂,通过水蒸气蒸馏法提取得到的挥发油。含有数十种单萜、倍半萜和芳香族类等化合物,具有独特香气,主要用于香料工业^[1-4]。药理学研究表明,枫香脂挥发油具有扩张血管、抗血栓、抑制癌细

胞生长、抑菌等生物活性^[5-10]。因此,也可用于医药与食品行业。我国枫香树资源丰富,新鲜枫香树脂中挥发油含量高达15%~20%,目前已有工业化生产。为了确保用于医药、食品、化工的科研与生产枫香精油的质量,本研究中参考薰衣草精油^[11]、茶树油^[12]、肉桂油^[13]

第一作者:周文杰,男,硕士研究生,副主任药师,研究方向为食品药品质量分析与控制,(电子信箱)44508397@qq.com。

[△]通信作者:饶伟文,男,大学本科,主任中药师,研究方向为食品药品质量分析与控制,(电子信箱)2662915119@qq.com。

等植物精油国家标准通用的质量控制项目,对其质量标准进行初步研究。现报道如下。

1 仪器与试剂

1.1 仪器

Abbemat 300型全自动折光仪(安东帕中国有限公司);附温比重瓶(25 mL,上海信谊仪器厂有限公司,规格为25 mL);XS205DU型电子天平(梅特勒<中国>有限公司,精度为十万分之一);KQ-600E型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司,功率为600 W,频率为40 kHz);ATS-201158型全自动点样仪,ADC2型全自动展板仪,TLC VISUALIZER型薄层色谱照相仪,均购自瑞士Camag公司;7890A/5975C型气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司)。

1.2 试剂

枫香精油(桂林丰润莱生物科技股份有限公司,批号分别为A81121, A81119, B90226, B90225, O70727, B90426, A81120, A81124, B90416, B90807, B90810, B91218, B91226, C00602, C00918, C01020),原产地为广西百色、鹿寨、龙胜,贵州望谟等,原植物经广西壮族自治区桂林市食品药品检验所饶伟文主任药师鉴定为金缕梅科植物枫香树;枫香脂对照药材(中国食品药品检定研究院,批号为121637-201201,仅供实验室药品检验用);硅胶GF₂₅₄薄层板(青岛海洋化工有限公司,规格为200 mm×100 mm,厚度为0.20~0.25 mm);乙醇、丙酮、甲醇、石油醚(60~90℃)、正己烷、乙酸乙酯、冰乙酸均为分析纯,丙酮为色谱纯,水为纯化水。

2 方法与结果

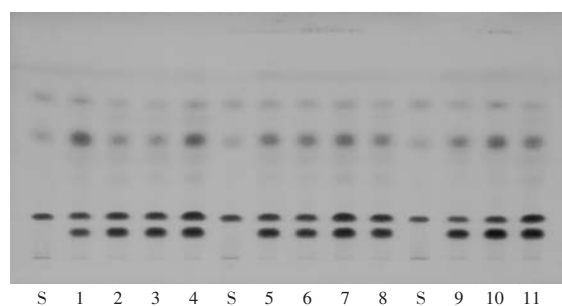
2.1 样品性状

颜色、气味:样品均为淡黄色澄清液体,气芳香。

溶解度:取6批(批号分别为A81121, A81119, B90226, B90225, O70727, B90426)样品,按2020年版《中国药典(一部)》凡例溶解度项下^[1]要求,在25℃的控温环境进行试验,结果6批样品在乙醇和丙酮中均极易溶解,在水中几乎不溶。

2.2 薄层色谱(TLC)鉴别

由于枫香精油对照品市场难以购买,故暂用枫香脂对照药材进行TLC试验。取枫香脂对照药材0.2 g,加甲醇10 mL,超声处理10 min后静置,取上清液作为对照药材溶液。取样品2 mL,加甲醇10 mL,振摇使溶解,作为供试品溶液。按2020年版《中国药典(四部)》通则0502 TLC法^[14]⁵⁷⁻⁵⁹试验,分别吸取供试品溶液2 μL、对照药材溶液5 μL,点于同一硅胶GF₂₅₄薄层板,以石油醚(60~90℃)-乙酸乙酯-冰乙酸(10:1:0.1, V/V/V)为展开剂,展开,取出,晾干,置紫外光灯(254 nm)下检视。结果11批供试品溶液在与对照药材溶液色谱相应位置上显有3个相同颜色的斑点。色谱图见图1。



S. 对照药材溶液 1-11. 供试品溶液

图1 薄层色谱图

S. Solution of reference medicinal materials 1-11. Test solution

Fig.1 TLC chromatograms

2.3 相对密度、折光率、酸值测定

相对密度:按2020年版《中国药典(四部)》通则0601相对密度测定法^[14]⁷³⁻⁷⁴项下比重瓶法测定。结果相对密度(20℃)为0.910~0.924,详见表1。

表1 16批枫香精油的物理常数测定结果

Tab.1 Results of determination for the physical constants of 16 batches of Liquidambaris Resina Essential Oil

批号	相对密度(20℃)	折光率(20℃)	酸值(mg/g)
A81121	0.910	1.493	11.69
A81119	0.918	1.497	14.91
B90226	0.921	1.498	15.04
B90225	0.910	1.493	11.93
O70727	0.924	1.499	16.93
B90426	0.914	1.495	11.03
A81120	0.913	1.493	11.02
A81124	0.911	1.493	12.11
B90416	0.912	1.493	10.30
B90807	0.910	1.494	10.08
B90810	0.921	1.500	14.58
B91218	0.914	1.495	11.34
B91226	0.921	1.497	13.98
C00602	0.917	1.496	17.30
C00918	0.916	1.497	17.70
C01020	0.916	1.497	18.30
\bar{X}	0.916	1.496	13.64

折光率:按2020年版《中国药典(四部)》通则0622折光率测定法^[14]⁷⁷测定。结果折光率(20℃)为1.493~1.500,详见表1。

酸值:按《香料 酸值或含酸量的测定》GB/T 14455.5—2008^[15]测定。结果酸值为10.08~18.30 mg/g,详见表1。

2.4 枫香精油化学成分的气相色谱-质谱(GC-MS)分析

2.4.1 色谱条件

色谱柱:DB-5MS毛细管柱(30 m×250 μm, 0.25 μm);载气:氦气;分流比:100:1;体积流量:

1.0 mL/min; 进样口温度: 250 °C; 辅助加热区温度: 280 °C; 程序升温: 初始柱温40 °C、保持5 min, 以5 °C/min 的速率升至280 °C、保持5 min; 进样量: 0.1 μL。

2.4.2 质谱条件

离子源: 电子轰击(EI); 离子源温度: 230 °C; 四极杆温度: 150 °C; 电子能量: 70 eV; 扫描范围: 20 ~ 450 amu(全扫)。

2.4.3 样品分析

取预试验用精油样品, 按色谱与质谱条件进样分析。总离子流色谱图见图2。利用软件配置的美国国家标准与技术研究院(NIST)谱库对采集到的质谱图进行自动检索与谱库解析, 比较匹配度, 并鉴定部分峰结合保留指数。采用峰面积归一化法计算各组分的相对含量, 结果见表2。共鉴定出枫香精油中39种化合物(相似度大于90%), 占总峰面积的92.55%。其中, 单萜类化合物16种, 占枫香精油总量的41.86%; 倍半萜类化合物13种, 占枫香精油总量的40.2%; 芳香族化合物10种, 占枫香精油总量的10.49%。

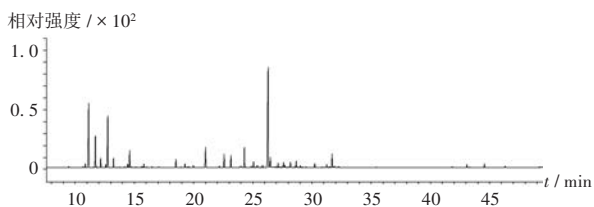


图2 总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatograms

2.4.4 测定方法

综合分析16批枫香精油样品GC-MS结果发现, β-石竹烯、α-蒎烯、β-蒎烯、蒎烯是枫香精油的4个主要特征成分, 其中β-石竹烯的含量最高(>25%)。故以这4种化合物为枫香精油的主要特征成分, 采用GC-MS法测定, 以峰面积归一化法计算相对含量。结果β-石竹烯、α-蒎烯、β-蒎烯、蒎烯的相对含量分别为27.14%~36.53%, 10.65%~17.32%, 6.71%~12.44%, 1.17%~6.27%, 详见表3。

2.4.5 峰面积归一化法与气相色谱对照品内标法结果比较

本研究中同时采用气相色谱-氢火焰离子化检测器(GC-FID)法测定, 以对照品内标法计算枫香精油中β-石竹烯、α-蒎烯、β-蒎烯、蒎烯4种主要特征成分的含量。结果内标法和峰面积归一化法测得的相对含量无显著差异(P>0.05)。

2.5 贮存条件

考虑枫香精油的稳定性及挥发性, 暂定为遮光, 密封, 置阴凉处贮存。

3 讨论

3.1 物理常数测定

枫香精油成分复杂, 组成与产地、工艺有关, 不同

表2 枫香精油化学成分分析

Tab. 2 Analysis of chemical components of Liquidambaris Resina

Essential Oil				
序号	保留时间(min)	化合物	化学式	相对含量(%)
1	9.450	肉桂烯 styrene	C ₈ H ₈	0.19
2	10.650	三环烯 tricyclene	C ₁₀ H ₁₆	0.14
3	10.851	α-侧柏烯 α-thujene	C ₁₀ H ₁₆	0.63
4	11.139	α-蒎烯 α-pinene	C ₁₀ H ₁₆	15.03
5	11.707	蒎烯 camphene	C ₁₀ H ₁₆	5.42
6	12.155	苯甲醛 benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	1.57
7	12.587	β-水芹烯 β-phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	0.57
8	12.759	β-蒎烯 β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	10.60
9	13.236	月桂烯 β-myrcene	C ₁₀ H ₁₆	1.42
10	14.157	α-松油烯 α-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	0.11
11	14.437	邻伞花烃 o-cymene	C ₁₀ H ₁₄	0.80
12	14.598	d-柠檬烯 D-limonene	C ₁₀ H ₁₆	2.86
13	15.586	γ-松油烯 γ-terpinene	C ₁₀ H ₁₆	0.18
14	15.682	苏合香醇 1-phenylethanol	C ₈ H ₁₀ O	0.11
15	15.808	苯乙酮 acetophenone	C ₈ H ₈ O	0.56
16	16.486	2-蒎烯 2-carene	C ₁₀ H ₁₆	0.12
17	18.507	樟脑 camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	1.38
18	19.276	冰片 borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.69
19	19.529	4-蒎烯醇 terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.15
20	19.977	α-松油醇 α-terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.40
21	21.013	3-苯丙醇 3-phenylpropanol	C ₉ H ₁₂ O	4.05
22	22.183	肉桂醛 cinnamaldehyde	C ₉ H ₈ O	0.24
23	22.581	左旋乙酸冰片酯 1-bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.16
24	23.156	肉桂醇 cinnamyl alcohol	C ₉ H ₁₀ O	2.26
25	24.003	氢化肉桂酸 hydrocinnamic acid	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.57
26	24.292	(-)-α-葑烯 α-cubebene	C ₁₅ H ₂₄	3.37
27	25.060	α-可巴烯 α-copaene	C ₁₅ H ₂₄	0.98
28	25.831	L-石竹烯 L-caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0.39
29	26.298	β-石竹烯 β-caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	27.73
30	27.133	α-律草烯 α-humulene	C ₁₅ H ₂₄	0.73
31	27.601	γ-衣兰油烯 γ-murolene	C ₁₅ H ₂₄	0.92
32	28.184	α-衣兰油烯 α-murolene	C ₁₅ H ₂₄	1.04
33	28.543	γ-杜松烯 (+)-γ-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	0.16
34	28.661	β-杜松烯 β-cadinene	C ₁₅ H ₂₄	1.17
35	28.740	去氢白菖烯 (-)-calamenene	C ₁₅ H ₂₂	0.19
36	29.007	naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	C ₁₅ H ₂₄	0.36
37	30.237	氧化石竹烯 caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0.75
38	31.702	香橼醇 torreyol	C ₁₅ H ₂₆ O	2.41
39	41.844	3-苯基丙基 3-苯基丙酸酯 3-phenylpropyl 3-phenylpropionate	C ₁₈ H ₂₀ O ₂	0.14

成分的相对密度和折光率不同。同时, 其含多种醇类、醛类、酯类和酸类化合物, 在光照射与空气接触的条件

表3 16批枫香精油中主要特征成分相对含量测定结果(%)
Tab.3 Results of relative content determination for the main characteristic components of 16 batches of Liquidambaris Resina Essential Oil (%)

批号	β -石竹烯	α -蒎烯	β -蒎烯	茨烯
A81121	28.04	15.21	10.72	5.46
A81119	28.44	13.92	9.81	4.95
B90226	27.37	13.24	9.22	4.89
B90225	27.14	17.20	11.67	5.39
O70727	27.46	13.06	8.65	4.16
B90426	31.84	14.50	10.57	1.17
A81120	27.50	17.08	12.44	6.27
A81124	27.32	17.32	12.23	5.56
B90416	27.86	16.84	11.75	5.72
B90807	34.35	13.10	10.33	4.35
B90810	33.03	10.65	8.12	3.63
B91218	34.21	12.52	8.63	4.18
B91226	36.53	10.65	6.71	3.40
C00602	31.44	14.46	9.73	5.65
C00918	32.64	13.75	9.16	4.76
C01020	35.43	13.96	8.87	4.51
\bar{X}	30.66	14.22	9.91	4.63

下,储存过久易氧化,致酸类成分增加,酸值变化。故测定相对密度、折光率、酸值等物理常数,可间接控制产品组分相对稳定,评价其质量。

3.2 TLC法优化

比较了不同取样量(0.1, 0.2, 1.0, 2.0 mL),点样量(1, 2, 5, 10 μ L),展开剂[石油醚-乙酸乙酯-冰乙酸(9:1:0.1, V/V/V)^[16],石油醚-乙酸乙酯-冰乙酸(10:1:0.1, V/V/V),正己烷-石油醚-乙酸乙酯-冰乙酸(6:2:3:0.2, V/V/V/V)^[11]]下的TLC图,结果取样2.0 mL,点样2 μ L,以石油醚(60~90 $^{\circ}$ C)-乙酸乙酯-冰醋酸(10:1:0.1, V/V/V)为展开剂时斑点最清晰,分离效果最佳。另外,试验过程中发现展板环境湿度对分离效果有一定影响,建议环境相对湿度应低于85%。

3.3 指标成分含量测定

GC-MS法结合了色谱的高分离能力及质谱的高鉴别能力,是分析挥发性成分最有效和常用的手段^[17]。由于枫香精油所含成分较复杂,选择 α -蒎烯、茨烯、 β -蒎烯、 β -石竹烯4种主要特征成分进行含量测定,较选择单一成分测定能更好地反映其质量。采用峰面积归

一化法计算相对含量,节省了对照品的使用量,且与GC-FID法测定结果的差异不大。

3.4 方法评价

本研究中所建立的方法重复性好、结果准确可靠,可作为枫香精油质量标准建立的有效参考,对枫香精油的进一步开发具有重要意义。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: XIII, 215, 420.
- [2] 刘虹, 沈美英, 何正洪. 枫香树脂化学成分的研究[J]. 林产化学与工业, 1995, 15(3): 61-66.
- [3] 李建明, 宋清宏, 耿洪亚, 等. 阴干对枫香脂中挥发油成分的影响[J]. 中成药, 2014, 36(4): 813-818.
- [4] 宋晓, 曾韬. 枫脂精油的化学组成[J]. 林产化学与工业, 2010, 30(5): 40-44.
- [5] 程再兴, 陈卫琳, 陈锡斌, 等. 枫香脂挥发油及乙酸乙酯部位对小鼠血管活性因子的影响[J]. 中国医药导报, 2011, 8(34): 37-39.
- [6] 朱亮, 冷红文, 谭力伟, 等. 枫香脂及其挥发油抗血栓作用[J]. 中草药, 1991, 22(9): 404-405.
- [7] 曾臣红, 陈冲, 陈久林, 等. 陈皮、枫香脂、没药、木香挥发油对人高转移卵巢癌细胞HO-8910PM体外增殖影响的研究[J]. 上海中医药杂志, 2017, 51(3): 84-87.
- [8] 徐娜婷. 枫香叶挥发油化学成分、抑菌活性及其对枇杷的保鲜作用[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [9] 刘玉民, 刘亚敏, 李鹏霞. 枫香叶精油抑菌活性及抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(11): 134-137.
- [10] 覃晓, 李炎, 王玲, 等. 枫香脂挥发油抑菌性试验[J]. 中国药业, 2020, 29(1): 7-10.
- [11] GB/T 12653-2008, 中国薰衣草(精油)[S].
- [12] GB 1886.270-2016, 食品安全国家标准 食品添加剂 茶树油(又名互叶白千层油)[S].
- [13] GB 1886.207-2016, 食品安全国家标准 食品添加剂 中国肉桂油[S].
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [15] GB/T 14455.5-2008, 香料 酸值或含酸量的测定[S].
- [16] 钟名诚, 饶伟文, 彭飞燕. 小活络丸中松香酸的检测方法研究[J]. 中国药师, 2013, 16(12): 1791-1794.
- [17] 李美发. 分析化学(第6版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 410, 439.

(收稿日期: 2022-03-09; 修回日期: 2022-09-08)

中国科技核心期刊 中国科技论文统计源期刊

《中国药业》杂志 欢迎投稿! 欢迎订阅!

邮发代号: 78-130, 各地邮局均可订阅; 补订、破月订可向本刊办理。电话兼传真: (023) 86592565
网上投稿: <http://www.zhongguoyaoye023.com> 或 中国药业在线投稿系统