

# 巨尾桉挥发油的气相色谱指纹图谱研究\*

## GC Chromatographic Fingerprint of Essential Oil of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*

杨 辉<sup>1</sup>, 林 霄<sup>2,3</sup>, 刘布鸣<sup>2,3\*\*</sup>, 柴 玲<sup>2,3</sup>, 莫建光<sup>1</sup>, 韦 刚<sup>1</sup>

YANG Hui<sup>1</sup>, LIN Xiao<sup>2,3</sup>, LIU Bu-ming<sup>2,3</sup>, CHAI Ling<sup>2,3</sup>, MO Jian-guang<sup>1</sup>, WEI Gang<sup>1</sup>

(1. 广西分析测试研究中心, 广西南宁 530022; 2. 广西中医药研究院, 广西南宁 530022; 3. 广西中药质量标准研究重点实验室, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Research Center of Analysis and Testing, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Institute of Traditional Medical and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Quality Standards, Nanning, Guangxi, 530022, China)

**摘要:**采用气相色谱及指纹图谱相似度评价法对巨尾桉(*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*)挥发油气相指纹图谱进行研究,用以评价与控制巨尾桉挥发油内在质量。结果建立了巨尾桉指纹图谱,确定12个色谱峰为共有峰。该方法的精密度、稳定性、重现性良好,其指纹图谱相似性高,特征性和专属性强,相似度分析显示无差异,利用特征指纹图谱可以对巨尾桉挥发油进行质量控制。

**关键词:**挥发油 巨尾桉 气相色谱 指纹图谱

中图分类号:O657.7<sup>+</sup>1 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2012)03-0241-03

**Abstract:** A chromatographic fingerprint method was used to analyze the quality evaluation and control of *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*. GC method was adopted and 12 peaks were picked out as characteristic peaks. This method is reliable, accurate with good reproducibility. The fingerprints revealed high characteristic and specificity, and the similarity analysis showed no difference, which provides a scientific base for controlling the quality of *E. grandis* × *E. urophylla*.

**Key words:** essential oil, *E. grandis* × *E. urophylla*, GC chromatography, fingerprint

巨尾桉(*Eucalyptus grandis* × *E. urophylla*)又称速生桉,是广西桉树人工林的主要品种,主要为巨叶桉和尾叶桉的杂交种,其生长周期快,在广西境内大量种植,其树干砍伐后可以用于造纸、生产合成板等,其枝叶常被舍弃或作柴火利用。巨尾桉枝叶繁茂,鲜叶产量大,叶中的挥发油资源未被开发利用,还有很大的开发利用价值。本文采用水蒸气蒸馏提

取巨尾桉挥发油,建立巨尾桉挥发油气相色谱及指纹图谱,为巨尾桉挥发油的质量标准研究及其质量控制提供理论依据。

### 1 实验仪器和试剂

Agilent 7890A 型气相色谱仪,1.8-桉叶素对照品(中国食品药品检定研究院出品,110788),13批巨尾桉样品采至广西各地,经广西中医药研究院中药研究所何开家主任药师鉴定为巨尾桉 *E. grandis* × *E. urophylla*; 其它试剂均为分析纯。

### 2 实验方法与结果

#### 2.1 对照品溶液制备

精密吸取 0.01ml 1.8-桉叶素对照品,置于 25ml

收稿日期:2012-05-20

修回日期:2012-06-08

作者简介:杨 辉(1955-),男,高级工程师,主要从事分析测试与大型仪器管理工作。

\* 广西科技基础条件平台建设项目(09-090-10D),广西自然科学基金应用基础研究专项项目(桂科基 0832024)资助。

\*\* 通讯作者,刘布鸣(1956-),研究员,主要从事中药、天然药化学成分与质量控制研究。

容量瓶中,加乙酸乙酯定容,再用乙酸乙酯稀释 10 倍,即得  $1\mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$  1,8-桉叶素的对照品溶液。

## 2.2 供试品溶液制备

将不同产地的新鲜巨尾桉叶切碎,分别置于 5000ml 圆底烧瓶中,加水适量,按《中华人民共和国药典》2010 年版一部附录 X D 中挥发油测定法甲法水蒸气蒸馏法提取挥发油<sup>[1]</sup>,用无水硫酸钠脱水,即得供试品溶液。

## 2.3 色谱条件与测定

色谱柱为 HP-INNOWax 石英毛细管柱( $30\text{m}\times 0.32\text{mm}\times 0.5\mu\text{m}$ )。色谱柱初始温度  $103^\circ\text{C}$ ,保持 20 min,以  $30^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  升至  $168^\circ\text{C}$ ,保持 15min,以  $30^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  升至  $200^\circ\text{C}$ ,保持 5min。载气为高纯氮气,流量  $0.4\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,分流比 100:1,检测器温度  $250^\circ\text{C}$ ,气化室温度  $250^\circ\text{C}$ 。进样体积为  $0.2\mu\text{l}$ 。取对照品溶液和供试品溶液按色谱条件记录色谱图如图 1 所示。

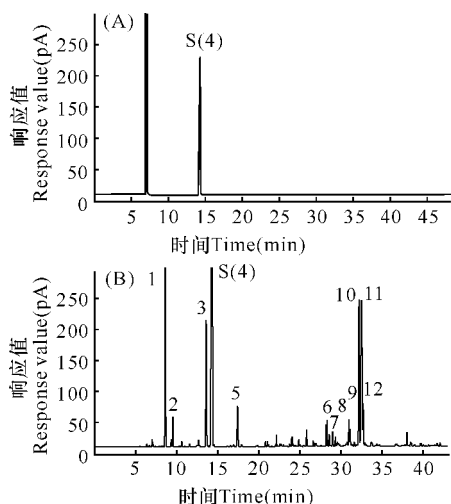


图 1 1,8-桉叶素对照品溶液(A)和供试品溶液(B)的气相色谱

Fig. 1 Gas Chromatogram of 1,8-cineol(A) and sample (B)

1~12:供试品特征峰;S(4):对照品 1,8-桉叶素。

1~12:Characteristic peaks of sample;S(4):Reference of 1,8 cineol.

## 2.4 指纹图谱特征峰的确定

按上述色谱条件记录 13 批样品的色谱图,从中选取 12 个峰作为可以构成指纹图谱的共有特征峰(见图 1B),共有指纹峰的峰面积占总峰面积的 90% 以上。采用对照品确认其中的 4 号峰为 1,8-桉叶素,该色谱峰分离较好,峰位居中,峰面积所占的比例比较大而且相对稳定,故选择 1,8-桉叶素峰(4 号峰)为内参照峰,标记为 S,1,8-桉叶素的色谱图见图 1。经色谱比对确定色谱图中 1 号峰为  $\alpha$ -蒎烯、3 号峰为柠檬烯、4 号峰为 1,8-桉叶素、8 号峰为 4-松油醇、9 号峰为龙脑、10 号峰  $\alpha$ -松油醇,其他共有峰未确定。测

定巨尾桉挥发油 2h 气相色谱图,45min 后基本无峰出现,故确定色谱记录时间为 45min。

## 2.5 精密性、稳定性和重复性试验

取产自邕宁南晓的巨尾桉供试品溶液,连续进样 6 次,记录各共有峰的保留时间和峰面积。以 1,8-桉叶素色谱峰(S 峰)的保留时间和峰面积为 1,计算各共有峰的相对保留时间和峰面积相对比值。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%,符合指纹图谱技术要求。

取产自邕宁南晓的巨尾桉供试品溶液,分别于 0h、2h、4h、6h、8h、24h 进样,记录各共有峰的保留时间和峰面积。以 1,8-桉叶素色谱峰(S 峰)的保留时间和峰面积为 1,计算各共有峰的相对保留时间和峰面积相对比值。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 3%,样品稳定性良好,符合指纹图谱技术要求。

取产自邕宁南晓的巨尾桉样品 6 份,分别提取挥发油样品,获取气相色谱图谱。以 1,8-桉叶素色谱峰(S 峰)的保留时间和峰面积为 1,计算各共有峰的相对保留时间和峰面积相对比值。结果显示,各共有峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 5%,样品重现性良好,符合指纹图谱技术要求。

## 2.6 相似度评价

按“2.2”项方法分别制备 13 批供试品溶液,精密吸取对照品溶液和供试品溶液各  $0.2\mu\text{l}$ ,分别进样,记录 45 min 的色谱图。将图谱导入“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004 A)”软件,选取“时间窗”宽度为 0.2 min,经校准后生成对照指纹图谱,参与共有模式建立的样品色谱图和生成的对照谱图分别见图 2 和图 3。根据“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2004A)”软件计算得到各批次样品与对照谱图的相似度。结果(表 1)显示,13 批巨尾桉挥发油的相似度均在 90% 以上,符合中药指纹图谱相似度的要求。

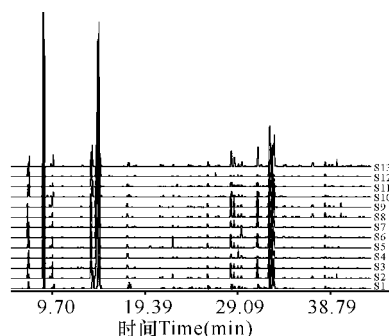


图 2 13 批巨尾桉挥发油气相色谱指纹图谱

Fig. 2 Fingerprints of 13 batches of essential oil of *E. grandis* × *E. wrophylla*

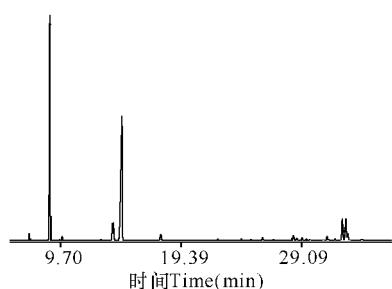


图3 巨尾桉挥发油气相色谱对照指纹图谱

Fig. 3 Fingerprints of reference to essential oil of

*E. grandis* × *E. urophylla*

表1 13批巨尾桉挥发油相似度

Table 1 Similarity results of 13 batches of essential oil of *E. grandis* × *E. urophylla*

编号 No.	产地 Sources	相似度 Similarity
1	邕宁南晓 1 Yongning 1	0.981
2	扶绥 Fushui	0.997
3	横县新福 Hengxian Xinfu	0.993
4	林科院 Linkeyuan	0.993
5	马山 Mashan	0.995
6	邕宁南晓 2 Yongning 2	0.946
7	钦州 1 Qinzhou 1	0.996
8	钦州 2 Qinzhou 2	0.925
9	钦州 3 Qinzhou 3	0.964
10	武鸣府城 Wuming Fucheng	0.997
11	武鸣伊岭岩 Wuming Yilingyan	0.971
12	邕宁 Yongning	0.974
13	大塘 Datang	0.980

### 3 结论

巨尾桉挥发油中主要含有  $\alpha$ -蒎烯、 $\beta$ -蒎烯、1,8-桉叶油、 $\gamma$ -松油烯、松油醇-4、龙脑、 $\alpha$ -松油醇、异龙脑等<sup>[2,3]</sup>。其中,1,8-桉叶油含量较高而且比较稳定,故选其作为参照峰。13批样品测定结果显示广西多个地方种植的巨尾桉的指纹图谱特征成分基本相同,尽管一些共有组分在含量上有所差异,但是其相似度值均大于0.9,表明利用特征指纹图谱可以对巨尾桉挥发油进行质量控制。本研究所建立的气相色谱分析色谱条件可以使巨尾桉挥发油中各组分达到较好地分离效果,精密度、重复性、稳定性良好,为巨尾桉挥发油质量评价以及质量标准研究提供了科学依据。

#### 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:化学工业出版社,2010:附录 XD, VI B.
- [2] 田玉红,刘雄民,陶明有. 巨尾桉叶挥发性成分的提取及成分分析[J]. 广西科学院学报,2006,22(增刊):466-468.
- [3] 林霄,刘布鸣,梁威,等. 速生桉叶精油的质量标准研究[J]. 广西科学院学报,2010,26(3):223-224,227.

(责任编辑:邓大玉)

(上接第 240 页 Continue from page 240)

#### 参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2000:220.
- [2] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:118-121.
- [3] 陈翼胜. 中国有毒植物[M]. 北京:科学出版社,1990:371,376.
- [4] 易金娥,袁慧. 钩吻毒素的研究进展[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报,2002,8(4):26-30.
- [5] 黄伟雄,李沛生,范山湖,等. 应用 TLC 法鉴定断肠草中钩吻碱[J]. 华南预防医学,2008,34(1):60-62.
- [6] 陈卫琳,杨樱,吴水生. 闽产钩吻根茎叶中钩吻碱甲和钩吻素子及胡蔓藤碱甲的含量测定[J]. 福建中医药大学学报,2011,21(5):48-50,72.
- [7] 黄伟雄,李沛生,梁春穗,等. GC/MS 测定断肠草中钩吻碱方法研究[J]. 中国食品卫生杂志,2008,20(2):136-138.
- [8] 桑向玲,赵楚云,施文兵,等. 超声波萃取气相色谱-质谱法测定胃内容物中的钩吻碱[J]. 广东公安科技,2006(3):26-28.
- [9] 邵昌松,肖惠贞. 用气相色谱-质谱联用技术分析钩吻碱中毒[J]. 中国卫生检验杂志,1999,9(1):40-41.

(责任编辑:邓大玉)