

文章编号:1001-6880(2014)10-1628-06

不同商品来源降香药材中挥发油质量研究

徐 波,陈 红,牛 涛,孙 茜*,赵国辉

天津天士力集团,天津 300402

摘要:建立降香药材所含挥发油相对密度及反式苦橙油醇含量测定方法,并对不同商品来源降香药材进行质量评价。水蒸气蒸馏法提取降香挥发油,采用比重瓶法测定相对密度,气相色谱法测定反式苦橙油醇含量,采用 HP-5 色谱柱,FID 检测器,以正十四烷为内标进行测定。比重瓶法准确性 [RAD(相对平均偏差)% < 5% (n = 10)] 、重复性 (RSD 0.04% < 2%) 、中间精密度 [RAD% < 5% (n = 15)] 均良好,可替代韦氏比重秤法 (用量 100 mL) 用于降香药材相对密度检测。气相色谱法进样精密度 RSD% = 0.2% ,重复性 RSD% = 0.5% ,稳定性 RSD% = 0.6% ,线性范围为 0.203 ~ 5.080 mg/mL (r = 0.9995),回收率为 100.5% , RSD% = 1.37% (n = 6) 。采用比重称法测定降香药材相对密度,供试品用量少 (5 mL),方法简便可行,气相色谱法简单、灵敏、准确、重现性好,适用于降香油中反式苦橙油醇含量的测定,不同商品来源降香药材出油率、相对密度、反式苦橙油醇含量差别较大,分别为 1.72% ~ 3.50% 、 0.8680 ~ 0.9294/20 °C 、 40.4% ~ 85.4% 。

关键词:降香;比重瓶法;相对密度;气相色谱法;反式苦橙油醇

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

Study on Quality of Volatile Oil of *Dalbergia odorifera* from Different Origins

XU Bo, CHEN Hong, NIU Tao, SUN Qian*, ZHAO Guo-hui

Tianjin Tasy Group, Tianjin 300402, China

Abstract: The objectives of this study were to develop an analytical method for the determination of the relative density of volatile oil and concentration of d-nerolidol in *Dalbergia odorifera*, and hence to evaluate the quality of *D. odorifera* from different origins. *D. odorifera* volatile oil was extracted by steam distillation. The relative density of volatile oil was determined by pycnometer method. Gas chromatography coupled with flame ionization detector (GC-FID) was used to determine the concentration of d-nerolidol. Pycnometer method was accurate [RAD < 5% (n = 10)] with good repeatability (RSD 0.04% < 2%) and precision [RAD% < 5% (n = 15)]. Westphal balance method was successfully substituted by pycnometer method to determinate the relative density of volatile oil in *D. odorifera*. GC-FID method was accurate and precise with RSD% < 1% . The linear relationship within the range of 0.203 ~ 5.080 mg/mL (r = 0.9995) was good. The recovery was 100.5% with RSD 1.37% (n = 6). Pycnometer method was simple for the determination of the relative density of volatile oil from *D. odorifera* with using less amount of sample. The developed GC-FID method was accurate and sensitive with good reproducibility. This method was capable to be used for the determination of volatile oil in *D. odorifera*. The yield of volatile oil, relative density and concentration of d-nerolidol of volatile oil from *D. odorifera* varied with origins.

Key words: *Dalbergia odorifera*; pycnometer method; relative density; gas chromatography; d-nerolidol

降香为豆科黄檀属植物降香檀 *Dalbergia odorifera* T. Chen 树干和根的干燥心材,黄檀属全世界约 120 种,中国有 25 种,其中约 13 种药用。《本草纲目》载:“今广东、广西、云南、汉中(陕西省)、施州(今湖北恩施县)、永顺(今广东云浮县)、保靖(今湖南省)及占城(今四川茂县)、安国、渤海、琉球诸地

皆有之”。在现代,降香主产于海南,此外,福建、广东、广西亦产。降香味辛,性温,归肝、脾经,有行气活血,止痛,止血的功能。用于脘腹疼痛、肝郁肋痛、胸痹刺痛、跌扑损伤,外伤出血^[1-4]。

降香的主要成分是挥发油和黄酮体化合物,挥发油相对密度的测定,一般采用《中国药典》推荐的韦氏比重秤法和比重瓶法,其中韦氏比重秤法精度高,但拆装平衡操作繁琐,且样品用量较大,约为 100 mL,比重瓶法称量操作简便,样品用量少^[5]。

降香药材中降香油含量较少,降香檀药材挥发油含量为3.61%~3.79%,进口降香挥发油含量明显低于降香檀药材,仅为0.81%~1.49%,其余样品挥发油含量仅在0.06%~0.43%之间^[6],比重瓶法较适合挥发油含量较少的贵细药材相对密度的测定,耿东升等^[7]采用比重瓶法测定维药瘤果黑种草子挥发油相对密度,操作方便可行。本实验在参考文献的基础上,建立比重瓶法测定降香药材所含挥发油相对密度。

降香药材另一主要成分为反式苦橙油醇,占挥发油含量的45.23~69.13%,有文献报道采用HPLC法对不同产地降香挥发油中反式苦橙油醇的含量进行测定^[8],为降香药材的质量控制提供了参考标准。本实验在参考文献的基础上,采用水蒸气蒸馏法提取降香挥发油,测定不同商品来源降香药材的出油率、相对密度,并同时建立气相色谱法测定挥发油中反式苦橙油醇的含量,为进一步控制降香药材的质量提供依据。

1 仪器与材料

20 m 挥发油提取器(北京玻璃仪器厂);PZ-B-5型液体比重天平(河北省虹宇仪器设备有限公司);5 mL 比重瓶(姜堰市扬子玻璃仪器厂);恒温循环器(北京博医康实验仪器有限公司);安捷伦6890气相色谱仪,配置氢焰离子化检测器和自动进样器,色谱柱HP-5 [30 m×0.32 mm (id)×0.25 μm (film), J & W Scientific] (SN:US4784112H)。

降香油(天津天士力现代中药资源有限公司);降香药材(产地海南,购自河北省石家庄市、河北省安国市、北京市);反式苦橙油醇(trans-Nerolidol, 批号1313891 32107227, 纯度≥85%, Fluka)。以本研究建立的气相色谱方法和简单峰面积归一化法测定纯度为88.13%),正十四烷(批号1308241 51307148, 纯度≥99.5%, Fluka)。

2 实验方法

2.1 降香挥发油的提取

称取粉碎后过2号筛降香药材1000 g,连接挥发油提取器与冷凝管,加入8倍量水,回流提取约12 h,至降香挥发油量不再增加,停止加热,收集降香挥发油,至分液漏斗静置过夜,上层即为降香挥发油供试品。

$$\text{出油率 \%} = \frac{\text{挥发油体积}}{\text{药材重量}} \times 100\%$$

2.2 相对密度的测定

依据2010版中国药典一部附录VIA相对密度测定方法项下,(1)比重瓶法;(2)相关内容。

2.3 反式苦橙油醇含量的测定

2.3.1 色谱条件

升温程序为120℃(保持3 min),以8℃/min升至172℃(保持6 min),以8℃升至200℃(保持3 min)。汽化室温度为220℃,检测器温度为240℃,载气为氮气,载气流速为1.0 mL/min。进样量为1.0 μL。

2.3.2 内标溶液的制备

取正十四烷约380 mg,精密称定,置50 mL量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,摇匀后备用。

2.3.3 供试品溶液的制备

取降香油约30 mg,精密称定,置10 mL量瓶中,精密加入内标溶液2 mL,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,即得。

2.3.4 对照品溶液的制备

取反式苦橙油醇约130 mg,精密称定,置25 mL量瓶中,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,制得对照品贮备液。精密量取该贮备液3 mL,置10 mL量瓶中,精密加入内标溶液2 mL,加乙酸乙酯至刻度,摇匀,即得。

2.4 方法学考察

2.4.1 相对密度测定方法学研究

2.4.1.1 准确度试验

依照比重瓶法测定6批降香油相对密度,测定结果与韦氏比重秤法测定结果进行比较。

2.4.1.2 精密度试验

A)重复性试验:依照“2.2”项测定同一批降香油相对密度,重复测定6次;B)中间精密度试验:a)依照“2.2”项由不同实验人员测定5批降香油相对密度,b)依照“2.2”项于不同实验室测定10批降香油相对密度。

2.4.2 反式苦橙油醇含量测定方法学研究方法

2.4.2.1 进样精密度

依照对照品溶液制备方法制备对照品溶液,进样分析,以反式苦橙油醇对内标物峰面积的比值计算RSD%。

2.4.2.2 重复性和稳定性

依供试品溶液制备方法制备降香挥发油供试品溶液6份,进样分析,以“线性和范围”项下标准曲线计算反式苦橙油醇含量。该供试品溶液分别在0、6、10 h进样分析,各时间点连续进样两次,计算6个测定值的单位降香油称样量的反式苦橙油醇峰面

积对内标物峰面积的比值的 RSD%。

2.4.2.3 线性范围

取反式苦橙油醇对照品约 130 mg, 精密称定为 116.22 mg, 置 10 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯至刻度, 摆匀, 作为对照品贮备液。精密量取该贮备液 0.2、0.5、1.0、2.0、5.0 mL, 分别置 10 mL 量瓶中, 分别精密加入内标溶液 2 mL, 加乙酸乙酯至刻度, 摆匀。取上述各溶液进样分析, 记录色谱图, 以反式苦橙油醇浓度为横坐标, 以反式苦橙油醇对内标物峰面积比值为纵坐标, 绘制标准曲线。

2.4.2.4 回收率

取反式苦橙油醇对照品约 120 mg, 精密称定为 121.80 mg, 置 25 mL 量瓶中, 加乙酸乙酯至刻度, 摆匀备用。取同一批降香油 6 份, 每份约 15 mg, 精密称定, 置 10 mL 量瓶中, 分别加入内标溶液 2 mL 和以上制得的对照品溶液 3 mL, 加乙酸乙酯至刻度, 摆匀。分别取该 6 份溶液进样分析, 记录色谱图, 计算回收率。

3 实验结果

3.1 方法学考察

3.1.1 相对密度测定方法学研究结果

3.1.1.1 准确度试验

比重瓶法测定结果与韦氏比重秤法测定结果进行比较, RAD% 均小于 5%, 表明准确度良好, 结果见表 1。

表 1 准确度试验结果

Table 1 Accuracy of the method

序号 No.	比重瓶法 Pycnometer method	韦式比重秤法 Westphal balance method	相对标准偏差 RAD(%)
1	0.9226	0.9220	0.03
2	0.9227	0.9222	0.03
3	0.9222	0.9221	0.01
4	0.9200	0.9200	0.00
5	0.9196	0.9190	0.03
6	0.9201	0.9200	0.01

3.1.1.2 精密度试验

A) 重复性试验

相对密度均值为 0.9224, RSD% = 0.04% < 2%, 表明重复性良好, 结果见表 2。

B) 中间精密度试验

a) 不同实验人员测定 5 批降香油相对密度,

表 2 重复性试验结果

Table 2 Repeatability of the method

序号 No.	比重瓶法 Pycnometer method
1	0.9224
2	0.9228
3	0.9227
4	0.9225
5	0.9218
6	0.9221
均值 Average value	0.9224
RSD%	0.04%

RAD% 均小于 5%, 表明中间精密度(不同实验人员)良好, 结果见表 3。

表 3 中间精密度(不同实验人员)试验结果

Table 3 Precision (different lab assistants) of the method

序号 No.	实验人员 1 Experimenter 1	实验人员 2 Experimenter 2	相对标准偏差 RAD(%)
1	0.9240	0.9239	0.01
2	0.9231	0.9228	0.02
3	0.9226	0.9224	0.01
4	0.9282	0.9284	0.01
5	0.9227	0.9229	0.01

B) 不同实验室测定 10 批降香油相对密度, RAD% 均小于 5%, 表明中间精密度(不同实验室)良好, 结果见表 4。

表 4 中间精密度(不同实验室)试验结果

Table 4 Precision (different labs) of the method

序号 No.	实验室 1 Lab1	实验室 2 Lab2	相对标准偏差 RAD(%)
1	0.9222	0.9224	0.01
2	0.9223	0.9227	0.02
3	0.9200	0.9204	0.02
4	0.9177	0.9174	0.02
5	0.9188	0.9186	0.01
6	0.9192	0.9198	0.03
7	0.9196	0.9194	0.01
8	0.9198	0.9199	0.01
9	0.9188	0.9184	0.02
10	0.9224	0.9220	0.02

3.1.2 反式苦橙油醇含量测定方法学研究结果

3.1.2.1 进样精密度

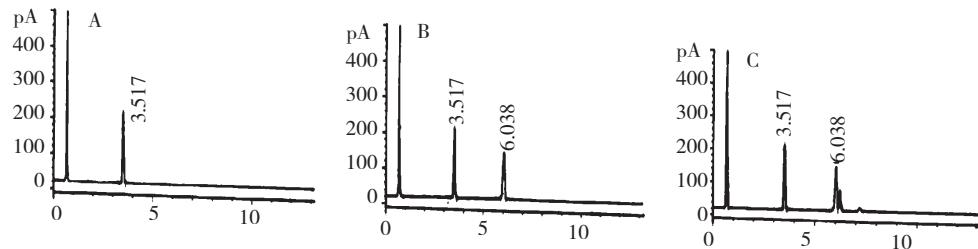


图 1 对照品(A)、对照品-内标物混合溶液(B)、供试品(C)的 GC-FID 色谱图

Fig. 1 GC-FID chromatograms of reference substance (A), reference substance with internal standard (B) and sample (C)

表 5 进样精密度试验结果

Table 5 Precision of the method

序号 No.	内标峰面积 Peak area of internal standard	反式苦橙油醇峰面积 Peak area of d-nerolidol	峰面积比值 Ratio of peak area(%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	878.8	1787.1	2.0336	
2	857.6	1742.9	2.0323	
3	851.6	1733.4	2.0355	
4	853.0	1736.5	2.0358	0.2
5	873.6	1776.0	2.0330	
6	848.8	1731.5	2.0399	

3.1.2.2 重复性和稳定性

反式苦橙油醇平均含量为 46.3%，RSD 为 0.5%。重复性实验结果见表 6，6 个测定值的单位

降香油称样量的反式苦橙油醇峰面积对内标物峰面积的比值的 RSD 为 0.6%。表明在 10 h 内供试品溶液稳定。稳定性实验结果见表 7。

表 6 重复性试验结果

Table 6 Repeatability of the method

序号 No.	内标峰面积 Peak area of internal standard	反式苦橙油醇峰面积 Peak area of d-nerolidol	峰面积比值 Ratio of peak area (%)	反式苦橙油醇含量 Content of d-nerolidol (%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	865.2	644.9	0.75	46.3	
2	873.9	677.4	0.78	46.0	
3	850.9	621.4	0.73	46.6	0.5
4	861.6	694.3	0.81	46.4	
5	849.8	683.7	0.80	46.4	
6	833.5	622.8	0.74	46.2	

表 7 稳定性试验结果

Table 7 Stability of the method

时间 Time(h)	内标峰面积 Peak area of internal standard	反式苦橙油醇峰面积 Peak area of d-nerolidol	峰面积比值 Ratio of peak area (%)	相对标准偏差 RSD (%)
0	865.2	644.9	0.74538	
0	877.2	656.8	0.74875	
5	845.5	625.4	0.73968	0.6

5	846.5	628.2	0.74211
10	854.0	640.1	0.74953
10	861.7	644.6	0.74806

3.1.2.3 线性范围

标准曲线方程为 $Y = 0.3506X - 0.015$ ($r = 0.9997, n = 5$) , 结果表明在 $0.203 \sim 5.080 \text{ mg/mL}$ 浓度范围内反式苦橙油醇对内标物峰面积比值呈现

良好线性关系。

3.1.2.4 回收率

计算回收率为 100.5% , RSD 为 1.37% 。回收率实验结果见表 8。

表 8 回收率实验结果 ($n = 6$)

Table 8 Recoveries of the assay ($n = 6$)

序号 No.	称样量 Sample weight (mg)	原始量 Original amount (mg)	加入量 Added amount (mg)	测定总量 Total amount (mg)	测得加入量 Detected amount (mg)	回收率 Recovery (%)	平均回收率 Average recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	13.54	8.89	12.77	21.73	12.84	100.57		
2	16.45	10.80	12.77	23.64	12.84	100.55		
3	17.96	11.79	12.77	24.71	12.92	101.16	100.5	1.37
4	13.91	9.13	12.77	21.78	12.64	99.01		
5	13.41	8.81	12.77	21.69	12.88	100.87		
6	16.69	10.96	12.77	23.95	12.99	101.69		

3.2 样品测定

按“2.1”项提取市售不同商品来源的降香药材的挥发油, 计算出油率; 按“2.2”项测定降香挥发油

相对密度, ; 按“2.3”项测定降香挥发油反式苦橙油醇含量, 结果见表 9。

表 9 不同商品来源的降香药材挥发油检测结果

Table 9 Analytical results of extraction rate, relative density and concentration of d-nerolidol of volatile oil of *D. odorifera* from different origins

购买地 Origins	序号 No.	性状 Character	出油率 Extraction rate (%)	相对密度 Relative density	反式苦橙油醇含量 Concentration of d-nerolidol (%)
河北省石家庄市 Hebei Shijiazhuang	1	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	3.49	0.9201	85.4
	2	黄色透明液体 Yellow transparent liquid	3.21	0.9222	71.0
	3	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	3.05	0.9205	75.5
	4	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.10	0.9188	57.2
	5	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	1.72	0.9187	77.9
河北省安国市 Hebei Anguo	1	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.36	0.9207	76.2
	2	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.27	0.9182	80.4
	3	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	3.05	0.9238	65.5
	4	深黄色透明液体 Deep yellow transparent liquid	3.50	0.9294	56.9
	5	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.75	0.9213	75.3
	6	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.80	0.9183	80.9
北京市 Beijing	1	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.41	0.9169	77.8
	2	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.45	0.9144	77.2
	3	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.75	0.9173	77.9
	4	淡黄色透明液体 Light yellow transparent liquid	2.75	0.9189	75.4

4 讨论

依据 2010 版中国药典一部附录 VII A 相对密度测定方法项下比重瓶法,运用低温处理及吸油纸擦拭外壁等改进方法,并于 20 ℃ 测定降香挥发油相对密度,避免了挥发油在高温下易挥发的问题,此法操作简便,准确度及精密度良好,方法可行。可代替韦氏比重秤法,样品用量少,大大节省了药材用量,较适合挥发油含量较少的贵细药材相对密度的测定。

为减小测定误差,建议使用同一比重瓶测定平行供试品;为保证测定时供试品及新沸过的冷水升温膨胀,测定前供试品及新沸过的冷水应置于冷处保藏;测定时使用吸油纸擦拭比重瓶外壁;更换供试品及冷水测定时,为保证比重瓶洁净,需重复使用乙醇清洗至瓶内外无降香油残留。

采用气相色谱法测定降香油中反式苦橙油醇含量时,纯品中反式反式苦橙油醇的含量计算方法为面积归一法,对照品纯度应≥85%,而样品含量计算方法为内标法。

黄逸^[9]等人对市购不同产地降香药材提取降香油相对密度进行研究,结果降香油相对密度范围为 0.8680~0.9180。李卓亚^[10]等人对不同商品来源的降香药材提取降香油反式苦橙油醇含量的研究,结果反式苦橙油醇含量范围为 40.4%~53.0%。结合本实验对来自不同购买地的降香药材提取降香油的研究结果,降香油为淡黄色至深黄色透明液体,出油率范围为 1.72%~3.50%,相对密度范围为 0.8680~0.9294/20 ℃,反式苦橙油醇含量范围为 40.4%~85.4%。通过测定降香药材出油率、挥发油相对密度及反式苦橙油醇含量,为临床及中药复方制剂选用降香药材及中间体质量控制提供数据支持。

参考文献

1 Chinese Pharmacopoeia Commission(国家药典委员会).

(上接第 1699 页)

- 7 Genet S, Kale RK, Baquer NZ. Alterations in antioxidant enzymes and oxidative damage in experimental diabetic rat tissues: effect of vanadate and fenugreek (Trigonella foenum griseum). *Mol Cell Biochem*, 2002, 236(1-2):7-12.
- 8 Zhao Y(赵燕), Liu GY(刘国艳), Shi XM(史贤明). Study

Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典). Beijing: China Medical Science Press, 2010. 213.

- 2 Jiangsu New Medical College(江苏新医学院). The Dictionary of Traditional Chinese Medicine(中药大辞典). Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1977. 1475-1478.
- 3 Yin J(阴健), Guo LG(郭力功). Modern Research and Clinical Application of Traditional Chinese Medicine(中药现代研究与临床应用). Beijing: Academy Press, 1998. 3557-3560.
- 4 Zhang GJ(张贵君). Identification of Commonly Used Traditional Chinese Medicine(常用中药鉴定大全). Haerbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1993. 552-553.
- 5 Fan BG(范步高). The determination of relative density of improvement and application method. *Shanghai Med Pharm J*(上海医药), 2011, 32(2):78-79.
- 6 Lin L(林励), Xu HH(徐鸿华), Xiao SE(肖省娥), et al. A study on the quality of various species of *dalbergia*. *J Chin Med Mater*(中药材), 1997, 20:366-370.
- 7 Geng DS(耿东升), Zhang SF(张淑峰), Lan JG(兰建国). Drug *Nigella glandulifera* freyn volatile oil, the content of fatty oil and determination of relative density. *Xinjiang J Tradit Chin Med*(新疆中医药), 2009, 27(3):33-34.
- 8 Liang HM(梁汉明), Guo XL(郭晓玲), Feng YF(冯毅凡), et al. HPLC determination of nerolidol in *Dalbergia odorifera* T. Chen from different areas. *Chin J Pharm Anal*(药物分析杂志), 2007, 27:361-363.
- 9 Huang Y(黄逸), Liu CQ(刘灿群). To study the differences of volatile oil extracted from *Dalbergia odorifera* T. Chen in different places on the market. *Chin J Prac Med*(中华实用医药杂志), 2008, 9:824-826.
- 10 Li ZY(李卓亚), Tang CP(唐春萍), Liang SW(梁生旺), et al. Detection of the volatile oil and d-nerolidol in *Lignum Dalbergiae Odoriferae* from different sources of goods. *J Guangdong Pharm Coll*(广东药学院学报), 2009, 25:459-461.

on antioxidative activity of the extract and mogroside of *Siraitia grosvenorii* in vivo. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2012, 33:174-176.

- 9 Xu ZR(许樟荣), Wang YZ(王玉珍), Jing H(敬华), et al. Lipids disorder, macrovascular diseases, and insulin resistance in Chinese diabetic patients. *Acta Acad Med Sin*(中国医学科学院学报), 2002, 24:457-461.