

1,8-桉叶素型互叶白千层精油的质量标准研究*

Study on the Quality Standard of Essential Oil of 1,8-cineole Rich *Melaleuca alternifolia*

杨 辉¹, 刘布鸣^{2**}, 韦 刚¹, 林 霄², 柴 玲², 莫建光¹, 白懋嘉³
YANG Hui¹, LIU Bu-ming^{2**}, WEI Gang¹, LIN Xiao², CHAI Lin², MO Jian-guang¹ BAI Mao-jia³

(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. 南宁万家辉香料有限公司, 广西南宁 530022)

(1. Guangxi Research Center of Analysis and Testing, Nanning, Guangxi, 530022, China; 2. Guangxi Institute of Chinese Traditional Medical and Pharmaceutical Science, Nanning, Guangxi, 530022, China; 3. Wan Jia Hui Spices Co., LTD, Nanning, Guangxi, 530022, China)

摘要:用水蒸气蒸馏法提取 1,8-桉叶素型互叶白千层精油,通过薄层色谱法对其进行定性鉴别,并采用气相色谱测定不同产地精油中的主要成分。结合茶树油标准,提出 1,8-桉叶素型互叶白千层精油的质量标准的建议,为 1,8-桉叶素型互叶白千层精油的开发、研究提供参考依据。

关键词:精油 互叶白千层 1,8-桉叶素型 气相色谱法 化学成分 质量标准

中图分类号: O629.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9164(2011)01-0052-04

Abstract: The essential oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia* was extracted from *Melaleuca alternifolia* leaves by steam distillation. The TLC method was adopted to analyze and identify the oil and GC-FID was used to determine the relative content of main components in the oil. Comparing with the standard of tea tree oil, we gave the quality standard proposal of the oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia*, which provided references for the development and research of the oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia*.

Key words: oil, *Melaleuca alternifolia*, 1,8-cineole rich, GC, chemical constituents, quality standard

互叶白千层 (*Melaleuca alternifolia*) 是桃金娘科 (Myrtaceae) 白千层属灌木树种,原产于澳大利亚的新南威尔士州和新西兰的部分地区^[1],20 世纪 90 年代,我国广东、广西、海南、福建、云南等地成功引种,并形成一定的种植规模,广西南部各地均有种植,资源十分丰富,其新鲜枝叶经水蒸汽蒸馏后得到的精油是极具价值和发展潜力的纯天然植物精油,具有良好的广谱杀菌抑菌保健作用,是优良天然芳香剂、抗菌剂、防腐剂,主要用于日化、制药、食品等行业。白

千层根据精油化学成分含量不同分为六种类型^[2]:松油醇-4 型(通称茶树油 Tea Tree Oil)、1,8-桉叶素型、异松油烯型及三者的中间型。国内引进的主要有 3 种^[3]:松油醇-4 型、1,8-桉叶素型以及二者的中间型,前二者有较高的经济利用价值,中间型则由于成分含量相对分散,利用价值不高。目前国际上主要应用互叶白千层精油中的松油醇-4 成分,国际国内市场以松油醇-4 型茶树油为主,自 1996 年国际标准化组织颁布茶树油 (Tea Tree Oil) 标准^[4]之后,国内相继制订了互叶白千层精油,松油醇-4 型(茶树油)广东省地方标准^[5]及国家行业标准 (QB/T 4002-2010)^[6]。白千层植物品种的不同其精油产品主要成分含量相差很大,广西种植的互叶白千层,其精油中多以 1,8-桉叶素型为主。目前国内外对 1,8-桉叶素型白千层精油的标准研究报道较少,本文对 1,8-桉叶素型白千层精油进行研究,建立分析测定方法,通

收稿日期:2010-12-20

修回日期:2011-01-15

作者简介:杨 辉(1955-),男,高级工程师,主要从事分析测试研究与管理工作。

* 广西科学基金应用基础研究专项(桂科基 0832024),广西创新能力建设项目(08-05-01-D)资助。

** 通讯作者。

过对不同产地 1,8-桉叶素型互叶白千层精油进行分析研究,确定精油的相关技术指标,建立 1,8-桉叶油型白千层精油的质量标准,为互叶白千层的综合利用及提高经济价值提供科学依据。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

挥发油提取器(购自南宁市精密仪器仪表有限公司),安捷伦 7890A 气相色谱仪(美国 Agilent 公司),HP-INNOWax(30m×0.32mm×0.5μm)毛细管色谱柱(美国 Agilent 公司)。

互叶白千层枝叶 6 批,采自广西的邕宁、兴业、玉林、钦州、南晓、南宁,得油率分别为 1.6%、2.0%、1.7%、1.8%、1.9%、2.2%。甲苯,乙酸乙酯,无水硫酸钠均为分析纯。

1.2 方法与结果

1.2.1 样品制备

将不同产地的新鲜互叶白千层枝叶粉碎成碎片状,分别置于 5000 ml 的圆底烧瓶中,加水适量,按《中华人民共和国药典》2005 年版一部附录 X D 中挥发油测定法甲法水蒸气蒸馏法^[7],经水蒸气蒸馏 5 h 并用无水硫酸钠脱水得到淡黄色、有特殊芳香气味的澄清液体即为 1,8-桉叶油型白千层精油。

1.2.2 薄层色谱鉴别

取上述 1,8-桉叶素型互叶白千层精油适量置于 1 ml 容量瓶中,用乙酸乙酯稀释至刻度,混匀即得供试品溶液,按照薄层色谱法(《中国药典》2005 年版一部附录 VI B)试验^[7],用毛细管分别吸取上述溶液适量点于同一含羧甲基纤维素钠为黏合剂的硅胶 G 薄层板上,以甲苯-乙酸乙酯(9.5:0.5)为展开剂,展开,取出晾干,喷以 2% 香草醛硫酸溶液,烘干至显色。薄层色谱结果(图 1)表明,不同产地互叶白千层油中主要成分基本相同。

1.2.3 主成分定性鉴别

运用气质联用分析并参考相关文献[8],结合对照品的气相色谱图进行比对,鉴别出 1,8-桉叶素型互叶白千层油的主要成分为 α-蒎烯、β-蒎烯、月桂烯、α-松油烯、柠檬烯、1,8-桉叶素、对伞花烃、γ-松油烯、异松油烯、松油醇-4、α-松油醇,含量占总峰面积的 95% 以上,GC 色谱图见图 2。

1.2.4 气相色谱定量分析

1.2.4.1 色谱条件

HP-INNOWax 石英毛细管色谱柱(30 m×0.32 mm×0.50 μm),检测器 FID,高纯氮气(>99.99%),分流比 1/60,流速 0.5 ml/min,进样量

0.2 μl,进样口温度 250 °C,检测器温度 250 °C,柱温程序升温,升温程序:初温 90 °C,以 10 °C/min 升至 180 °C(保持 10 min),最后以 10 °C/min 升至 230 °C(保持 5 min)。特征色谱图见图 2。

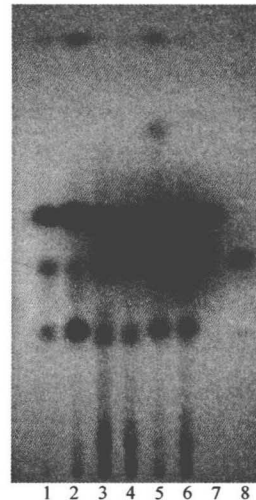


图 1 薄层层析结果

Fig. 1 TLC result

1. 邕宁,2. 兴业,3. 玉林,4. 钦州,5. 南晓,6. 南宁,7. 1,8-桉叶素对照品,8. 4-松油醇对照品。

1. Yongnin,2. Xingye,3. Yulin,4. Qinzhou,5. Nanxiao,6. Nanning,7. 1,8-cineole,8. terpinen-4-ol.

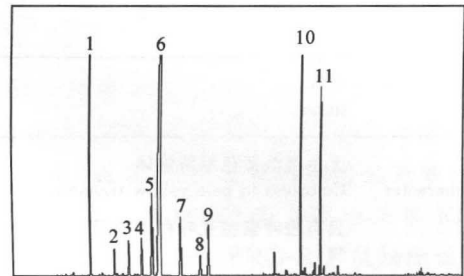


图 2 1,8-桉叶素型互叶白千层精油典型气相色谱

Fig. 2 Typical gas chromatogram of essential oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia*

1. α-蒎烯,2. β-蒎烯,3. 月桂烯,4. α-松油烯,5. 柠檬烯,6. 1,8-桉叶素,7. 对伞花烃,8. γ-松油烯,9. 异松油烯,10. 松油醇-4,11. α-松油醇。

1. α-pinene,2. β-pinene,3. myrcene,4. α-terpinene,5. limonene,6. 1,8-cineole,7. p-cymene,8. γ-terpinene,9. terpinolene,10. terpinen-4-ol,11. α-terpineol.

1.2.4.2 精密度及稳定性试验

取产自钦州的互叶白千层精油进样,获取色谱图,记录其 11 个主要成分的相对含量,计算 RSD 值均小于 2%,表明仪器的精密度及稳定性良好。

1.2.4.3 不同产地互叶白千层精油相对含量测定

按照 1.2.4.1 色谱条件分析测定不同产地互叶白千层精油,分析各图谱,以归一化法测定不同产地互叶白千层精油主要共有成分相对含量的结果见表 1。

表 1 不同产地互叶白千层精油主要共有成分相对含量测定结果

Table 1 Result of relative content of common constituents from different fields

产地 Field	共有成分相对含量 Relative content of common constituent (%)							
	α -蒎烯 α -pinene	α -松油烯 α -terpinene	柠檬烯 limonene	1,8-桉叶素 1,8-cineole	γ -松油烯 γ -terpinene	异松油烯 terpinolene	松油醇-4 terpinen-4-ol	α -松油醇 α -terpineol
邕宁 Yongnin	13.70	0.17	5.29	37.96	1.14	0.87	8.76	8.01
兴业 Xingye	3.42	0.10	7.71	57.43	1.24	0.09	2.11	13.68
玉林 Yulin	11.25	0.07	3.88	53.66	10.62	—	4.42	4.06
钦州 Qinzhou	4.07	0.09	4.73	59.59	8.96	—	7.97	4.75
南晓 Nanxiao	9.47	2.10	5.93	46.07	1.35	3.06	11.40	6.31
南宁 Nanning	3.28	0.10	6.18	57.07	7.08	—	8.58	8.08

2 互叶白千层精油技术指标

根据上述广西不同产地互叶白千层精油的研究,可以确定 1,8-桉叶素型互叶白千层精油的相关技术指标及代表性和特征性组分含量范围如见表 2 和表 3 所示。

表 2 1,8-桉叶素型互叶白千层精油技术指标

Table 2 Technical index of essential oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia*

项目 Item	指标 Index
色状 Color and character	无色至淡黄色澄清液体 Colorless to pale yellow transparent liquid
香气 Fragrance	具有桉叶素型互叶白千层(精)油的特征香气 Characteristic flavor of 1,8-cineole rich <i>Melaleuca alternifolia</i>
相对密度 Relative density (20°C/20°C)	0.878~0.913
折光指数 Refractive index(20°C)	1.4500~1.4860
旋光度 Optical rotation (20°C)	+1°~+15°
溶解(混)度 Solubility(20°C)	1 体积试样在 3 体积的 85%(V/V)乙醇中呈澄清溶液 It should be transparent when dissolved in 3 times of 85%(V/V) ethanol
1,8-桉叶素 1,8-cineole	>35.0%(毛细管柱气相色谱法 capillary pillar gas chromatography)
4-松油醇 Terpinen-4-ol	>2.0%(毛细管柱气相色谱法 capillary pillar gas chromatography)

表 3 1,8-桉叶素型互叶白千层(精)油代表性和特征性组分含量范围

Table 3 Content range of characteristic constituents in the oil of 1,8-cineole rich *Melaleuca alternifolia*

成分 Constituent	最低 Lowest	最高 Highest
α -蒎烯 α -pinene	1	15
α -松油烯 α -terpinene	—	8
柠檬烯 Limonene	0.5	10
1,8-桉叶素 1,8-cineole	35	—
γ -松油烯 γ -terpinene	1	20
异松油烯 Terpinolene	—	5
松油醇-4terpinen-4-ol	2	20
α -松油醇 α -terpineol	1.5	15

3 讨论

(1)薄层色谱鉴别结果显示,不同产地互叶白千层油的色谱带相似,斑点位置基本相同,表明不同来源的互叶白千层油的主要成分相同。经多次试验结果相同,薄层色谱的重现性好,可以作为互叶白千层油的定性鉴别方法。

(2)互叶白千层油中主要共有成分有: α -蒎烯、 β -蒎烯、月桂烯、 α -松油烯、柠檬烯、1,8 桉叶油素、 γ -松油烯、4-松油烯醇、 α -松油醇等,共有峰面积占总峰面积的 95%以上,而且色谱行为基本一致,这些指标性成分为建立互叶白千层油的质量标准提供了科学的参考依据。

(3)1,8-桉叶素广泛用于食品、医药、日用化工等领域,1,8-桉叶素具有明确的药用价值和一定的消耗量,我国 GB 2760-2005 中规定用于止咳糖、人造薄荷等,美国年耗用量约 5700 kg。1,8-桉叶素型白千层

精油,主要化学成分为 1,8-桉叶素,其含量最高可到达 70%,广西有较大面积的 1,8-桉叶素型白千层品种种植,其得油率略高于松油烯醇-4 型白千层品种,开发 1,8-桉叶素型白千层精油,可以满足国内外市场不同的需求,进行互叶白千层精油的质量标准研究,对于充分利用广西互叶白千层资源,开发 1,8-桉叶素型互叶白千层精油具有一定的现实意义。下一步还可以将不符合松油烯醇-4 型茶树油质量标准要求的产品开发成 1,8-桉叶素型白千层精油,进一步降低成本,以获取最大经济效益。互叶白千层精油是一个新兴产业,有良好的开发价值和发展潜力,加强互叶白千层精油基础研究和应用研究,提高质量标准,开发新产品,具有十分重要的意义。

参考文献:

[1] Shabir G A. Method development and validation for the GC-FID assay of p-cymene in tea tree oil formulation [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005,39:681 - 684.

[2] Homer L E, Leach D N, Lea D, et al. Natural variation in the essential oil content of *Melaleuca alternifolia* Cheel (Myrtaceae)[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2000,28:367 - 382.

[3] 梁振益,罗盛旭,冯玉红. 茶树挥发油化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2003,15(5):423 - 425,410.

[4] ISO 4730-2004: Oil of *Melaleuca*, terpinen-4-ol type (Tea Tree oil)[S].

[5] 广东省质量监督检验检疫局. DB44/T 177-2003:互叶白千层精油,松油醇 4 型(茶树油)[S].

[6] 中华人民共和国工业和信息化部. QB/T 4002-2010:互叶白千层(精油),4-松油烯醇型[茶树(油)].

[7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:化学工业出版社,2005:附录 X D, VI B.

[8] 贾芬,黄宇翔,丁舒敏,等. 互叶白千层油化学成分的研究[J]. 广西植物,1995,15(4):368-370.

(责任编辑:邓大玉)

中国科学家从玉米中提取出抗艾蛋白酶突变体

艾滋病病毒(HIV)存在潜藏机制可以长期潜伏在细胞中而逃逸宿主免疫系统的攻击,目前已上市的抗 HIV 药物均不能选择性地杀伤感染细胞而根除病毒。核糖体失活蛋白(RIP)具有 RNA N-糖苷酶活性,可以阻遏延长因子 EF-1 或 EF-2 与核糖体的结合,抑制蛋白质的生物合成,因此,RIP 具有很高的细胞毒性,常常被开发成为免疫毒素、抗病毒或抗肿瘤药物。RIP 分为 I 型、II 型和 III 型。其中,III 型 RIP 以玉米 RIP 为代表,先合成无活性的含有一段 25 氨基酸的内部失活结构域的前体蛋白(PRO-RIP),PRO-RIP 被切除该结构域后才成为有活性的核糖体失活蛋白。最近中国科学家对玉米 RIP 的内部失活结构域进行一系列的结构修饰和改造,获得了对 HIV-1 蛋白酶特异识别并激活的玉米 RIP 突变体。经细胞水平实验分析,玉米 RIP 突变体对未感染细胞毒性低,但是突变体进入 HIV-1 感染细胞后则可以被细胞内的 HIV-1 蛋白酶识别并切割去除失活结构域后转变成成为活性蛋白,从而选择性地杀伤 HIV-1 感染细胞。同时,增加突变体进入细胞的效率,活性蛋白对 HIV-1 感染细胞的杀伤力更强。突变体还可以被 HIV-1 蛋白酶耐药株的蛋白酶识别并激活,对 HIV-1 蛋白酶耐药株感染细胞也有很好的选择杀伤性。该研究成果为研发特异性靶向 HIV 感染细胞的新型抗 HIV 药物提供了新思路和新策略。

(据科学网)