

Determination of Magnolol and Honokiol Content in Health Products by Gas Chromatography Mass Spectrometry

Jun Yuan, Hongfeng Zhao

Gratech Company, Ltd., Shanghai
Email: yj323885@sohu.com, zhf@gratech.com.cn

Received: Jun. 2nd, 2014; revised: Jul. 1st, 2014; accepted: Jul. 11th, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

By ultrasound treatment, magnolol and honokiol in extraction of health products, ultimately determine the helium as the mobile phase. The column was DB-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); flow rate was 1.0 ml/min; programmed temperature was 70°C for 2 min; the temperature went up to 230°C for 20 min with the rate of heating at 5°C/min. Split injection was applied for sampling, where the split ratio is 50:1. This method had good separation effect, good repeatability, high recovery rate, which was consistent with the requirements of qualitative and quantitative analysis. The highest extraction rate of magnolol and honokiol in health products was obtained when the ethanol ultrasonic time is 30 min.

Keywords

Magnolol, Honokiol, Health Products

气相色谱 - 质谱法测定保健品中厚朴酚与和厚朴酚含量

袁 君, 赵红峰

普研标准技术服务有限公司, 上海
Email: yj323885@sohu.com, zhf@gratech.com.cn

收稿日期：2014年6月2日；修回日期：2014年7月1日；录用日期：2014年7月11日

摘要

利用超声处理，提取保健品中厚朴酚与和厚朴酚，最终确定氮气为流动相，色谱柱为DB-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)，流速1.0 ml/min，程序升温条件为70℃保持2 min，以5℃/min的速率升温至230℃，保持20 min，进样方式为分流进样，分流比为50:1，分离效果良好，重复性好，回收率高，符合定性定量分析的要求。乙醇超声时间为30 min的条件下，保健品中厚朴酚与和厚朴酚提取率较高。

关键词

厚朴酚，和厚朴酚，保健品

1. 引言

厚朴为木兰科植物厚朴(*Magnolia officinalis Rehd*)或凹叶厚朴(*Magnolia officinalis Rehd. Wils*)的干燥干皮、根皮及枝皮，主产于四川、湖北、浙江、贵州、湖南等地[1]。厚朴有很好的抑菌、抗炎作用及潜在的抗溃疡作用厚朴中抗菌作用的物质主要有酚类挥发油、生物碱等其对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌芽孢杆菌、假丝酵母毛霉枯青霉有很好的抑制作用[2]。

厚朴中酚类物质以厚朴酚与和厚朴酚为主其他物质，分子结构如图1所示，还有四氢厚朴酚、异厚朴酚、冰基厚朴酚、辣薄荷基厚朴酚、辣薄荷基和厚朴酚、厚朴三醇异厚朴酚等[2]。用紫外分光光度法对厚朴酚及和厚朴酚的抗氧化性的初步研究表明，厚朴酚有抗氧化活性[3]。厚朴酚可抑制皮肤光老化，在化妆品中使用可以达到保护皮肤的作用[4]。对于厚朴酚及和厚朴酚的含量测定方法很多，有薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法等。但未见用气-质联用测定保健品中和厚朴酚与厚朴酚含量，本文不仅建立了保健品中厚朴酚及和厚朴酚的含量测定方法，而且确定了定性定量的相关参数，从而为保健品中厚朴酚及和厚朴酚含量测定提供参考依据，以满足研究及质控的需求。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

本研究中样品选自市售某品牌厚朴保健口服液。

2.2. 试剂及耗材

1) 无水乙醇：色谱纯。

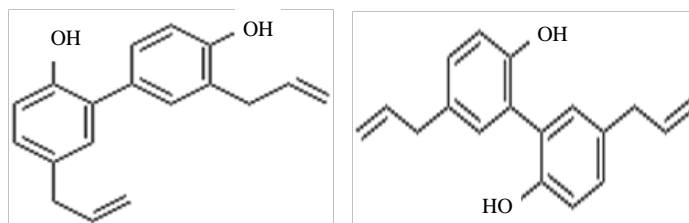


Figure 1. Honokiol and magnolol molecular structure

图1. 和厚朴酚与厚朴酚分子结构图

2) 标准物质(见表 1)

3) 厚朴酚标准溶液: 准确称取 10 mg 厚朴酚标准品于 10 mL 容量瓶中, 用乙醇定容至刻度线。配制成浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

4) 和厚朴酚标准溶液: 准确称取 10 mg 和厚朴酚标准品于 10 mL 容量瓶中, 用乙醇定容至刻度线。配制成浓度为 1000 $\mu\text{g/mL}$ 的标准储备液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

5) 氦气: 纯度大于等于 99.999%。

2.3. 试验仪器

DB-5 色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm), 气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪(美国安捷伦公司), KQ-500VDE 超声波清洗器(昆山市超声仪器公司)。

2.4. 测定方法

用离心管称取样品 1.0000 g, 加入 20 mL 乙醇后超声提取 30 min, 取出用乙醇定容至 100 mL, 再用乙醇稀释 10 倍, 再超声 10 min, 用 0.22 μm 滤膜过滤备用。

2.4.1. 测定条件

流速: 1 mL/min; 程序升温: 70 $^{\circ}\text{C}$ 保持 2 min, 以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 230 $^{\circ}\text{C}$, 保持 20 min; 传输线温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 进样口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 进样方式: 分流进样, 分流比: 50:1; 进样量: 1 μL ; 电离方式: 电子轰击电离(EI); 电离能量: 70 V; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; 四级杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; 扫描模式: 选择离子扫描 m/z 266, 237, 197。

2.4.2. 定量定性方法

定量方法采用外标法, 定性离子如图 2 所示。

2.4.3. 校准曲线的制备

混合标准溶液: 取 10 mL 容量瓶 3 只, 分别加入和厚朴酚及厚朴酚标准溶液各 2、1、0.5、0.2、0.1 mL, 然后分别加入无水乙醇至刻度, 此配制成的混合标准溶液为 10、20、50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 。依次取标准溶液 1 μL 注入气相色谱仪, 记下各次色谱峰面积, 并绘制峰面积——厚朴酚或和厚朴酚浓度曲线。

Table 1. Compound information
表 1. 化合物信息表

名称	英文名称	CAS号	厂商
厚朴酚	Magnolol	528-43-8	德国Dr.E
和厚朴酚	Honokiol	35354-74-6	德国Dr.E

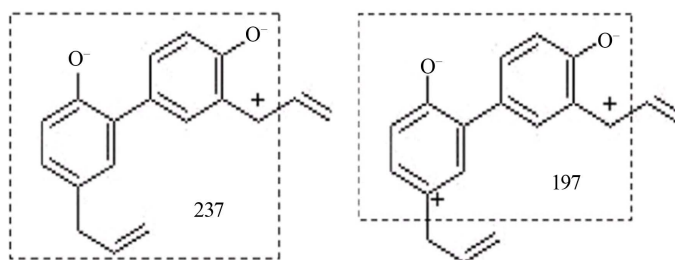


Figure 2. Honokiol and magnolol fragment ion structure diagram
图 2. 和厚朴酚与厚朴酚碎片离子结构图

2.4.4. 测定

根据峰面积——厚朴酚或和厚朴酚浓度曲线，求得样品溶液中厚朴酚或和厚朴酚含量。

3. 结果与分析

3.1. 精密度试验

同一试样取两个平行样测定以其算术均值作为测定结果，计算结果保留两位有效数字。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差不得超过算术平均值的10%。厚朴酚浓度的RSD为0.60%(n=6)，和厚朴酚浓度的RSD为0.40%(n=6)，均符合定量分析要求(见表2)。

3.2. 标准曲线及线性关系

由表3、4可知，厚朴酚回归方程分别为 $y_1 = 2.75x_1^2 + 8.423x_1 - 6.092$, $r_1 = 0.9995$; $y_2 = 2.795x_2^2 + 8.464x_2 - 5.888$, $r_2 = 0.9998$; $y_3 = 2.729x_3^2 + 8.974x_3 - 6.761$, $r_3 = 0.9996$ ，在线性范围内与峰面积均呈良好的线性关系；和厚朴酚回归方程为 $y_1 = 5.717x_1^2 + 2.334x_1 + 6.853$, $r_1 = 0.9999$; $y_2 = 7.598x_2^2 + 2.117x_2 + 1.001$, $r_2 = 0.9998$; $y_3 = 7.066x_3^2 + 2.201x_3 + 7.781$, $r_3 = 0.9999$ ，在线性范围内与峰面积均呈良好的线性关系。厚朴酚与和厚朴酚校正曲线回读值均在80%~120%之间，均符合定量分析要求。

3.3. 检出限

根据仪器信噪比，厚朴酚和与厚朴酚的仪器检出限为1 μg/mL，在该浓度下仪器信噪比为10，定量限为10 μg/mL；由图3可知，在仪器检出限条件下，厚朴酚和与厚朴酚均有良好的分离度，均符合定性分析要求。

Table 2. Precision data table
表 2. 精密度数据表

样品	项目	实测浓度(ug/mL)						平均值	标准误差	RSD(%)
		1	2	3	4	5	6			
口服液	厚朴酚	10.23	10.34	10.26	10.19	10.20	10.31	10.26	0.06	0.6
	和厚朴酚	10.67	10.56	10.58	10.55	10.60	10.62	10.60	0.04	0.4

Table 3. Magnolol correction curves
表 3. 厚朴酚校正曲线表

校正曲线浓度 (ug/mL)	回读浓度(ug/mL)和回读百分比(%)		
	校正曲线 1	校正曲线 2	校正曲线 3
10	11.78 (117.8)	11.74 (117.4)	11.73 (117.3)
20	19.37 (96.85)	19.37 (96.85)	19.28 (96.4)
50	46.88 (93.76)	47.85 (95.7)	47.02 (94.04)
100	101.74 (101.74)	101.21 (101.21)	101.69 (101.69)
200	199.80 (99.9)	199.86 (99.93)	199.80 (99.9)
回归方程	$2.75x_1^2 + 8.423x_1 - 6.092$	$2.795x_2^2 + 8.464x_2 - 5.888$	$2.729x_3^2 + 8.974x_3 - 6.761$
回归系数(r)	0.9995	0.9998	0.9996

3.4. 回收率试验

由表 5、表 6 可知, 厚朴酚、和厚朴酚的平均回收率分别为 98.52%、98.35%, 其 RSD 分别为 2.89%、1.96%。表明该方法回收率符合定量分析要求。

3.5. 稳定性测试

如表 7 所示, 按(2.4)方法制备的样品溶液, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 20, 24 h 进样, 厚朴酚峰响

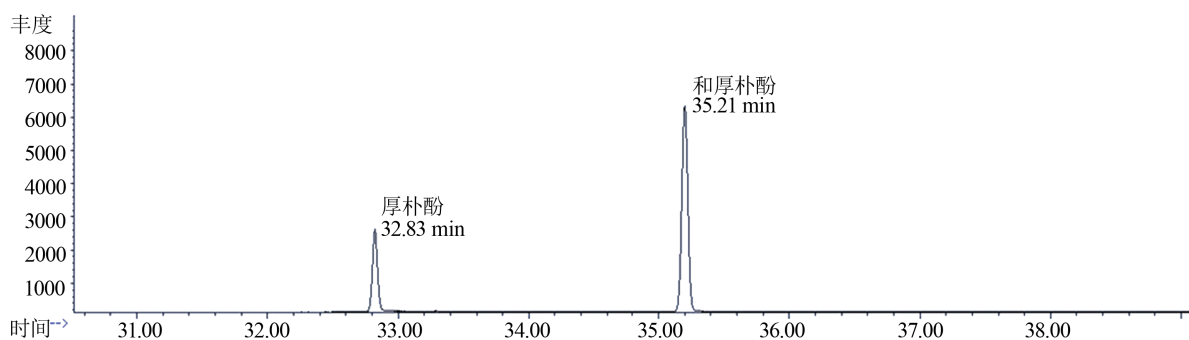


Figure 3. Total ion of magnolol and honokiol flow diagram

图 3. 和厚朴酚与厚朴酚总离子流图

Table 4. Honokiol correction curves

表 4. 和厚朴酚校正曲线表

校正曲线浓度 (ug/mL)	回读浓度(ug/mL)和回读百分比(%)		
	校正曲线 1	校正曲线 2	校正曲线 3
10	9.23 (92.3)	8.41 (84.1)	9.02 (90.2)
20	20.37 (101.85)	20.58 (102.9)	20.6 (103)
50	50.85 (101.7)	51.9 (103.8)	50.81 (101.62)
100	99.47 (99.47)	98.92 (98.92)	99.48 (99.48)
200	200.06 (100.03)	200.12 (100.06)	200.06 (100.03)
回归方程	$5.717x_1^2 + 2.334x_1 + 6.853$	$7.598x_2^2 + 2.117x_2 + 1.001$	$7.066x_3^2 + 2.201x_3 + 7.781$
回归系数(r)	0.9999	0.9998	0.9999

Table 5. Magnolol recovery data table

表 5. 厚朴酚回收率数据表

样品量/g	样品含量/ug	添加量/ug	测得量/ug	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.0023	10.45	10.00	20.97	101.10	98.52	2.89
1.0561	10.01	10.00	20.13	101.20		
1.0352	9.65	10.00	19.88	99.00		
1.0069	10.38	10.00	20.35	99.70		
1.0628	9.96	10.00	19.36	94.00		
1.0822	10.06	10.00	19.67	96.10		

Table 6. Honokiol recovery data table

表 6. 和厚朴酚回收率数据表

样品量/g	样品含量/ μg	添加量/ μg	测得量/ μg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
1.0122	10.06	10	19.56	95.00		
1.0061	10.01	10	19.89	98.80		
1.0253	9.88	10	19.88	100.00	98.35	1.96
1.0169	9.78	10	19.55	97.70		
1.0426	9.96	10	20.01	100.50		
1.0525	9.86	10	19.67	98.10		

Table 7. Magnolol and honokiol stability data table

表 7. 厚朴酚与和厚朴酚稳定性数据表

序号	进样时间(h)	仪器响应值	
		厚朴酚	和厚朴酚
1	0	413	2549
2	2	451	2588
3	4	461	2599
4	6	410	2585
5	8	467	2506
6	10	431	2579
7	14	463	2576
8	16	450	2548
9	20	481	2546
10	24	426	2497
	平均值	445	2557
	RSD%	5.41	1.36

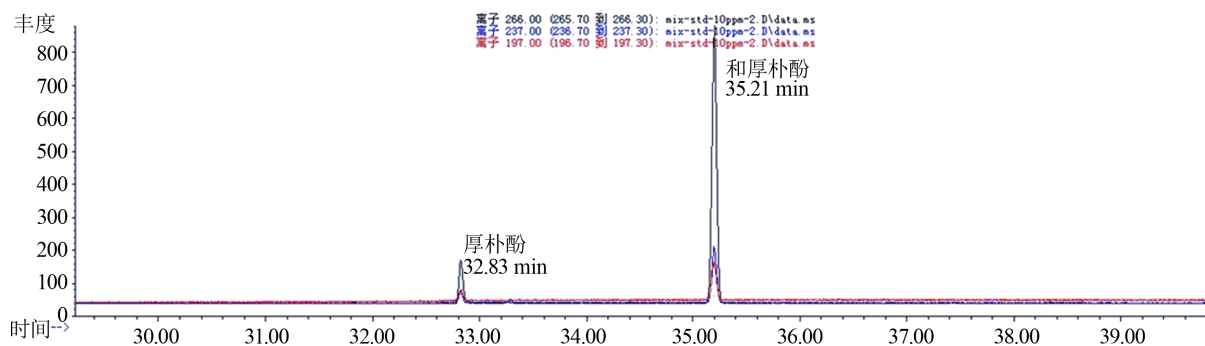


Figure 4. Ions of magnolol and honokiol extraction

图 4. 厚朴酚与和厚朴酚提取离子图

应值的 RSD 为 5.41%，和厚朴酚响应值的 RSD 为 1.36%，结果表明该方法测试样品在 24 h 内稳定，符合定量分析要求。如图 4 所示。

4. 结论

本试验研究多种气相色谱条件,最终确定氦气为流动相,色谱柱为 DB-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),流速 1.0 ml/min,程序升温条件为 70℃ 保持 2 min,以 5℃/min 的速率升温至 230℃,保持 20 min,进样方式为分流进样,分流比为 50:1。分离效果良好,厚朴酚、和厚朴酚分别在 32.83, 35.21 min 左右出峰,重复性好,回收率高,符合定性定量分析的要求。不仅建立了保健品中厚朴酚及和厚朴酚的含量测定方法,而且确定了定性定量的相关参数,从而为保健品中厚朴酚及和厚朴酚含量测定提供参考依据,以满足研究及质控的需求。

参考文献 (References)

- [1] 王大力,孙艳涛,杜长青 (2008) HPLC-MS 厚朴有效成分研究. *延边大学学报(自然科学版)*, **4**, 276-278.
- [2] 任坚忍,余凡,张诗蓓,等 (2011) 厚朴活性成分研究进展. *现代农业科技*, **21**, 127-128.
- [3] 保志娟,杨雪琼,丁中涛,等 (2004) 紫外分光光度法同时测定厚朴酚与和厚朴酚的含量及活性研究. *天然产物研究与开发*, **5**, 435-438.
- [4] 杨红,兵石磊,詹亚华,等 (2007) 湖北恩施州产厚朴的挥发油分析. *中国中药杂志*, **1**, 42-44.