

trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ acid linoleic và acid oleic trong dung dịch chuẩn. Hàm lượng acid linoleic ($C_{18}H_{32}O_2$) không được dưới 10 %, acid oleic ($C_{18}H_{34}O_2$) không được dưới 30 %.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

DẦU MÙ U

Calophylli inophylli oleum

Dầu ép từ hạt của cây Mù u (*Calophyllum inophyllum* L.), họ Bứa (Clusiaceae) đã được tinh chế loại bỏ phần “nhựa”.

Mô tả

Dầu lỏng sánh, màu vàng tới vàng đậm, mùi thơm hắc đặc trưng.

Tỉ trọng tương đối

0,9135 đến 0,9275 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng picnomet).

Chỉ số acid

1 đến 45 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số xà phòng

171 đến 228 (Phụ lục 7.7).

Định tính

A. Lấy 0,5 ml chế phẩm, thêm 2 ml *ether ethylic* (TT), lắc đều cho tan. Thêm 2 ml *ethanol* 96 % (TT) lắc đều cho tan. Chia đều dung dịch vào 2 ống nghiệm.

Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong *ethanol* (TT), lắc đều, dung dịch có màu xanh dương đậm.

Ống 2: Thêm 0,5 ml dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong *ethanol* (TT), lắc đều, thêm vài giọt thuốc thử diazo (TT). Dung dịch có màu đỏ cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: *Silica gel* F₂₅₄.

Dung môi khai triển: *Toluen* - *ethyl acetat* (8 : 2)

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *ether ethylic* (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g dầu Mù u (mẫu chuẩn) trong 5 ml *ether ethylic* (TT). Nếu không có dầu Mù u mẫu chuẩn thì hòa tan calophyllolid chuẩn trong *ether ethylic* (TT) để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng.

Nếu dùng dung dịch calophyllolid làm dung dịch đối chiếu thì quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết tương đương về vị trí và cùng màu với vết của calophyllolid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Nếu dùng dung dịch dầu mù u làm dung dịch đối chiếu: Phun lên bản mỏng dung dịch *vanilin* - *acid sulfuric* (TT). Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết tương đương về vị trí và cùng màu với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: *Acetonitril*.

Pha động B: Dung dịch *acid acetic* 2,5 %.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,24 g chế phẩm cho vào bình định mức 20 ml, làm ấm ở 60 °C trong 10 min rồi thêm 12 ml hỗn hợp *methanol* - *nước* (9 : 1), siêu âm trong 15 min. Bổ sung hỗn hợp *methanol* - *nước* (9 : 1) đến vừa đủ 20,0 ml. Lọc dung dịch thu được qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch calophyllolid chuẩn trong *methanol* (TT) có nồng độ chính xác khoảng 175 µg/ml, 87,5 µg/ml, 35 µg/ml. Lọc các dung dịch thu được qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Zorbax SB-C18 là phù hợp).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	20	80
30	80	20
35	20	80
40	20	80

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch calophyllolid chuẩn 87,5 (µg/ml). Hệ số đối xứng thu được từ pic calophyllolid phải nằm trong khoảng 0,8 - 1,5, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic calophyllolid trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %, số đĩa lý thuyết tính theo pic calophyllolid phải không được dưới 20.000.

Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi các sắc ký đồ và diện tích pic.

Vẽ đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa diện tích pic calophyllolid và nồng độ của calophyllolid trong các dung dịch chuẩn và xác lập phương trình hồi quy tuyến tính, dựa vào đó tính nồng độ calophyllolid trong dung dịch thử (µg/ml).

Tính hàm lượng phần trăm (kl/kl) calophyllolid, $C_{26}H_{44}O_5$, trong chế phẩm theo công thức:

$$X \% (g/100 g) = 2C_1/m_1$$

Trong đó:

C_1 là nồng độ calophyllolid trong dung dịch thử ($\mu g/ml$).

m_1 là khối lượng dầu (mg).

Chế phẩm phải chứa không dưới 0,36 % (kl/kl) calophyllolid ($C_{26}H_{24}O_5$).

Bảo quản

Giữ trong chai đầy, đậy nắp kín. Bảo quản nơi mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU BẠC HÀ

Menthae arvensis aetheroleum

Tinh dầu thu được từ phần trên mặt đất của cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng phương pháp cất kéo hơi nước, đã được làm khan nước và được tách một phần menthol bằng phương pháp kết tinh.

Tính chất

Chất lỏng, trong, không màu hoặc vàng nhạt, mùi thơm đặc biệt, vị cay mát.

Rất dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, tan trong 2 đến 3 thể tích ethanol 70 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,890 đến 0,922 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,455 đến 1,465 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -40° đến -20° (Phụ lục 6.4).

Định tính

A. Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên lỗ khay sứ, thêm 3 giọt đến 5 giọt acid sulfuric (TT) và vài tinh thể vanilin (TT), sẽ xuất hiện màu đỏ cam, thêm 1 giọt nước sẽ chuyển sang màu tím.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF₂₅₄.

Dung môi khai triển: Toluene - ethyl acetat (19 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 ml chế phẩm trong 5 ml ethanol (TT).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 ml tinh dầu Bạc hà (mẫu chuẩn) trong 5 ml trong ethanol (TT).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 μl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang tương ứng về vị trí và có cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun dung dịch anisaldehyd (TT), sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết tương đương về vị trí và có cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch

đối chiếu. Tiếp tục quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang tương đương về vị trí và có cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kiểm tra các chất pha trộn trong tinh dầu

A. Ethanol: Lấy 5 ml tinh dầu cho vào ống nghiệm. Thêm từ từ từng giọt nước cất (không lắc). Phần tinh dầu ở trên phải trong suốt, không được đục.

B. Nhựa và dầu béo: Nhỏ vài giọt tinh dầu lên giấy lọc, hơ nóng giấy lọc trên bếp điện, giấy phải không có vết dầu loang.

C. Dầu hòa, dầu mazut: Trong một ống đong đựng khoảng 80 ml ethanol 80 % (TT), nhỏ từng giọt (không lắc) cho đến hết 10 ml tinh dầu, dung dịch phải trong, không có phần không tan nổi ở trên.

Độ trong và màu sắc

Lấy một 1 ml tinh dầu, thêm 3,5 ml ethanol 70 % (TT), lắc đều, dung dịch thu được phải trong. Tiếp tục thêm 10 ml ethanol 96 % (TT), dung dịch thu được vẫn trong, nếu đục thì không được đục hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,7 ml dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT), thêm 6 ml dung dịch acid nitric loãng (TT), thêm nước vừa đủ 50,0 ml, thêm 1 ml dung dịch bạc nitrat (TT) 1,75 %, để yên trong 5 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan menthol chuẩn trong ethanol 96 % (TT) để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 mg/ml.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan menthon chuẩn trong ethanol 96 % (TT) để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g chế phẩm vào bình định mức 10 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng ethanol 96 % (TT), lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản silica nung chảy, dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm, phủ lớp pha tĩnh có chứa 5 % phenylmethyl polysiloxan dày 0,25 μm .

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký khí, tỷ lệ chia dòng 1 : 25.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Chương trình nhiệt độ cột: nhiệt độ ban đầu đặt 50 °C trong 1 min, sau đó tăng đến 220 °C với tốc độ 10 °C/min, giữ ở 220 °C trong 13 min.

Nhiệt độ detector 280 °C, nhiệt độ buồng tiêm 250 °C.

Thể tích tiêm: 1,0 μl .

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic menthol và menthon trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Thử tự rửa giải: menthon, menthol. Số đĩa lý thuyết tính theo pic menthol trong sắc ký đồ dung dịch chuẩn không được ít hơn 20.000.