

GC-MS 结合保留指数分析侧柏叶挥发成分

巩丽丽, 容蓉*, 杨勇 (山东中医药大学, 济南 250355)

摘要: 目的 分析比较不同采集方法制备的侧柏叶中的挥发性成分。方法 分别采用水蒸气蒸馏法和顶空加热提取挥发性成分的方法, 对其进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析, 并结合 Kovats 保留指数对其主要成分进行定性分析。结果 采用顶空进样技术, 可鉴定出侧柏叶中 29 个挥发性化学成分; 采用水蒸气蒸馏法可鉴定出 34 个挥发性化学成分; 两种采样方法进行的 GC-MS 分析, 有 23 种相同化合物, 但相对含量有一定差异。结论 对于侧柏叶, 水蒸气蒸馏法提取挥发性成分较完全, 顶空直接进样对于易挥发性成分分析则更简便、高效。

关键词: 侧柏叶; 水蒸气蒸馏; 顶空进样技术; GC-MS; Kovats 保留指数

中图分类号: R917.101; R284.1

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2011)01-0048-04

GC-MS Combined with Kovats Retention Indices for Volatile Compounds in Platycladi Cacumen

GONG Lili, RONG Rong*, YANG Yong (Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the difference of volatile compounds in Platycladi Cacumen treated with different sample acquisition methods. **METHODS** Using steam distillation and head-space injection respectively, volatile components in Platycladi Cacumen were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS) combined with the Kovats retention indices(KI). **RESULTS** By GC-MS, 29 volatile compounds in Platycladi Cacumen treated with head-space injection were identified, while 34 volatile compounds identified with steam distillation; among the detected compounds, there were 23 mutual compounds with different relative contents. **CONCLUSION** Volatile compounds can be deprived more by steam distillation, while it can be simple and high effectively with head-space injection.

KEY WORDS: Platycladi Cacumen; steam distillation; head-space injection; GC-MS; Kovats retention indices

侧柏叶始载于《神农本草经》, 为柏科植物侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥枝梢及叶^[1]¹⁴⁹, 气清香、味苦涩、微辛、性寒, 归肺、肝、脾经。常用于吐血衄血、咯血、便血、崩漏下血、血热脱发、须发早白等症状。近年来的药理研究发现侧柏叶醇提物具有抗炎作用^[2], 其挥发油有抑菌、抗肿瘤的功效^[3-4]。研究挥发性成分对于开发新药、指导临床用药、阐明和深化中医药理论以及推动中医药现代化具有重要的意义。本试验分别采用水蒸气蒸馏法和顶空直接进样技术对侧柏叶挥发性成分进行了采集和 GC-MS 分析, 并结合 Kovats 保留指数(Kovats retention indices, KI)对其主要成分进行了定性分析。

1 仪器和试剂

GC 6890 气相色谱仪, MS 5975 质谱仪, 7683 B 自动进样器, 7694 E 顶空进样器, 色谱数据处理系统(MSD Chemstation D.03.00.611)(美国安捷伦公司); 质谱检索数据库: NIST MS search 2.0; 所用

试剂为分析纯。

正构烷烃混合对照品 C₈~C₄₀(美国 AccuStandard 公司, 编号: DRH-008S-R2, 对照品在氯仿中的浓度为 500 μg·mL⁻¹)。侧柏叶(产地: 山东蒙阴, 购于济南建联药店, 批号: 090801)由山东中医药大学李峰教授鉴定为侧柏 *Platycladus orientalis* (L.) Franco 的干燥叶。

2 方法与结果

2.1 挥发性成分的提取

2.1.1 水蒸气蒸馏法 取侧柏叶粉末(过 40 目筛) 50 g, 称定, 平行 5 份, 分别加蒸馏水 500 mL 与玻璃珠数粒, 振摇混合后, 按挥发油测定法(甲法)^[1]Appendix XD 项下连接装置。自冷凝管上端加水至充满挥发油测定器的刻度部分, 并再精密加入 3.0 mL 乙酸乙酯于挥发油测定器刻度上方。置电热套中加热提取 6 h, 至测定器中油量不再增加, 停止加热, 放置片刻, 取出乙酸乙酯层。用乙酸乙酯溶解转移至 10 mL 量瓶中,

基金项目: 国家重点基础研究发展计划资助项目("973"计划)(2007CB512601)

作者简介: 巩丽丽, 女, 硕士, 讲师 Tel: 13969100671 E-mail: lilygong.sd@163.com *通信作者: 容蓉, 女, 博士, 副教授
Tel: (0531)89628593 E-mail: r.rong@sduetcm.edu.cn

并定容至刻度，用 1 g 无水 Na₂SO₄ 干燥，取上层清液作为挥发油供试液，用于 GC-MS 分析，进样量 0.2 μL。

2.1.2 顶空直接进样 取刚粉碎的侧柏叶粉末(过 40 目筛)0.5 g，称定，平行 5 份，分别置于 10 mL 顶空瓶中密封，置顶空进样器中按顶空进样条件进样。顶空进样条件：样品瓶加热温度 100 ℃；样品环温度 120 ℃；传输线温度 140 ℃；样品瓶加热时间 40 min，样品环平衡时间 0.05 min，进样时间 1 min。

2.2 GC-MS 分析条件

色谱条件：色谱柱 Agilent HP-5 MS(30 m×250 μm，0.25 μm)；进样口温度 250 ℃；载气为 He 气，柱流量 1.2 mL·min⁻¹。用于挥发油的程序升温条件：初始温度 50 ℃，以 2 ℃·min⁻¹ 升至 220 ℃，再以 8 ℃·min⁻¹ 升至 280 ℃，保持 5 min；用于顶空直接进样的程序升温条件：初始温度 40 ℃，保持 3 min，以 2 ℃·min⁻¹ 升至 150 ℃，保持 2 min，以 10 ℃·min⁻¹ 升到 280 ℃。

质谱条件：标准质谱调谐；电离方式 EI，电子能量 70 eV；离子源温度：230 ℃；数据采集扫描模式：全扫描；溶剂延迟时间：挥发油分析为

2 min，顶空进样为 0.1 min。质谱扫描质量范围 *m/z* 50~550。

2.3 KI 值测定

取正构烷烃混合对照品按“2.2”项下条件进样 0.2 μL 分析，用于挥发油中各组分的 KI 值计算；精密移取正构烷烃混合对照品 20 μL 加入 10 mL 顶空瓶中，按照“2.2”项下条件直接进样的升温程序条件分析，用于顶空进样各组分的 KI 值计算；分别记录不同条件下各正烷烃保留时间，采用线性升温公式计算各组分的 KI 值， $KI=100n+100(t_x-t_n)/(t_{n+1}-t_n)$ ，其中 *t_x*，*t_n* 和 *t_{n+1}* 分别为被分析组分和碳原子数处于 *n* 和 *n+1* 之间的正烷烃(*t_n*<*t_x*<*t_{n+1}*)的流出峰的保留时间^[5]。

2.4 结果

按“2.2”项下分析条件，对侧柏叶挥发性成分进行 GC-MS 分析，以峰面积归一化法计算挥发油各组分相对含量，对相对峰面积大于 0.05% 的组分进行鉴定。各峰质谱图进行 NIST 标准谱库检索，选取质谱匹配度高的前 10 个可能物质，计算其 KI 值，并与 NIST 库 KI 值检索结果相比较，以质谱和 KI 值匹配度最高的化学结构为最佳鉴定结果，结果见表 1。

表 1 侧柏叶挥发性化学成分分析结果(*n*=5)

Tab 1 Analysis results of volatile compounds from Platycladi Cacumen(*n*=5)

化合物	分子式	百分含量/%				A		B	
		A	RSD	B	RSD	KI ₁	KI ₂	KI ₁	KI ₂
★2-甲基-5-异丙基-二环[3.1.0]己-2-烯	C ₁₀ H ₁₆	0.58	4.80	4.11	1.87	924	925	923	925
★α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	8.73	5.00	41.95	0.06	930	931	929	933
★7,7-二甲基-2-亚甲基-降莰烷	C ₁₀ H ₁₆	0.26	2.10	1.60	0.21	942	950	940	950
★4-亚甲基-1-异丙基-二环[3.1.0]己烷	C ₁₀ H ₁₆	1.02	4.20	3.34	0.08	970	970	969	970
★β-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.25	4.32	0.99	1.53	972	972	970	972
★β-月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	0.38	4.10	2.14	2.76	991	992	991	991
★α-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	0.28	5.50	1.26	3.52	1 003	1 003	1001	1 000
★3-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	3.43	4.55	13.39	1.79	1 008	1 008	1 007	1 007
★1-甲基-4-异丙基-1,3-环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	0.22	4.00	1.01	2.22	1 015	1 014	1 013	1 014
★1-甲基-3-异丙基-苯	C ₁₀ H ₁₄	0.33	2.18	1.93	2.01	1 022	1 022	1 021	1 022
★β-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	1.31	3.29	4.55	1.67	1 026	1 035	1 025	1 035
★1-甲基-4-异丙基-1,4-环己二烯	C ₁₀ H ₁₆	0.39	2.04	1.33	2.15	1 056	1 058	1 056	1 058
★1-甲基-4-(异丙基亚基)-环己烯	C ₁₀ H ₁₆	0.48	4.90	2.62	3.41	1 086	1 086	1 085	1 084
★4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.71	5.30	0.48	2.50	1 174	1 174	1 174	1 174
★异冰片基乙酸酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.17	4.80	0.13	0.93	1 283	1 282	1 283	1 282
★[3R-(3α,3aβ,7β,8α)]-2,3,4,7,8,8a-六氢-3,6,8,8-四甲基-1H-3a,7-甲撑甘菊环	C ₁₅ H ₂₄	1.90	4.90	0.91	3.16	1 404	1 409	1 404	1 407

★石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	10.25	3.60	4.74	1.97	1 412	1 412	1 412	1 412
★罗汉柏烯	C ₁₅ H ₂₄	4.36	3.77	2.04	1.52	1 423	1 450	1 423	1 431
★α-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	7.38	2.66	2.60	1.48	1 447	1 447	1 447	1 447
★(1α,4α,8α)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-异丙基-萜	C ₁₅ H ₂₄	1.01	4.10	0.31	4.90	1 472	1 470	1 472	1 470
★1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲基-苯	C ₁₅ H ₂₂	0.44	2.90	0.37	4.90	1 499	1 492	1 481	1 483
★(1S-顺式)-1,2,3,5,6,8a-六氢-4,7-二甲基-1-异丙基-萜	C ₁₅ H ₂₄	1.52	4.31	0.35	2.04	1 519	1 534	1 520	1 523
★柏木脑	C ₁₅ H ₂₆ O	22.80	2.73	1.41	4.59	1 592	1 596	1 592	1 596
α,α,4-三甲基-3-环己烯-1-甲醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.39	5.60	/	/	1 189	1 189	/	/
3-环己烯-1-甲醇, α, α, 4-三甲基-乙酸酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.41	4.23	/	/	1 347	1 353	/	/
[3aS-(3αα, 3bβ, 4β, 7α, 7aS*)]-八氢-7-甲基-3-亚甲基-4-异丙基-1H-环戊烷[1, 3]环丙并[1, 2]苯	C ₁₅ H ₂₄	2.09	2.30	/	/	1 475	1 474	/	/
[1R-(1α,7β,8αα)]-1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1,8a-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)-萜	C ₁₅ H ₂₄	2.31	4.00	/	/	1 479	1 483	/	/
(1α,4αβ,8αα)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-异丙基-萜	C ₁₅ H ₂₄	1.38	1.53	/	/	1 508	1 507	/	/
石竹烯氧化物	C ₁₅ H ₂₆ O	2.07	4.84	/	/	1 575	1 576	/	/
兰桉醇	C ₁₅ H ₂₄	1.98	2.15	/	/	1 580	1 578	/	/
[1R-(1R*,3E,7E,11R*)]-1,5,5,8-四甲基-12-氧杂二环[9.1.0]十二-3,7-二烯	C ₁₅ H ₂₄ O	1.70	3.96	/	/	1 601	1 607	/	/
萆澄茄油烯醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.75	4.10	/	/	1 622	1 642	/	/
[2R-(2α,4αα,8αβ)]-十氢-α, α, 4a-三甲基-8-亚甲基-2-萜甲醇	C ₁₅ H ₂₆ O	1.74	4.01	/	/	1 646	1 649	/	/
[3R-(3α, 3αβ, 6α, 7β, 8αα)]-八氢-3, 6, 8, 8-四甲基-乙酸酯 1H-3a, 7-甲撑甘菊环-6-醇	C ₁₃ H ₂₀	0.46	2.72	/	/	1 754	1 758	/	/
1,7,7-三甲基-三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷	C ₁₀ H ₁₆	/	/	0.32	0.22	/	/	916	923
(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯	C ₁₀ H ₁₆	/	/	0.11	0.37	/	/	1 048	1 042
1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)-苯	C ₁₀ H ₁₂	/	/	0.14	4.92	/	/	1 087	1 088
[1S-(1α, 2α, 4α)]-1-乙烯基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙烯基)-环己烷	C ₁₅ H ₂₄	/	/	0.23	4.90	/	/	1 388	1 391
[s-(E,E)]-1-甲基-5-亚甲基-8-异丙基-1,6-芳癸并二烯	C ₁₅ H ₂₄	/	/	0.70	3.71	/	/	1 475	1 474
二丁基羟基甲苯	C ₁₅ H ₂₄ O	/	/	0.16	3.15	/	/	1 511	1 518

注：“★”表示两种方法检测到的结构相同的化合物；KI₁为测定值；KI₂为NIST谱库检索值(非极性HP-5 MS柱)；A-水蒸气蒸馏；B-顶空直接进样
 Note：“★”represents the identical compound treated with different sample acquisition methods; KI₁ refers to measurement value; KI₂ refers to reference value from NIST MS database(HP-5 MS); A-steam distillation; B-head-space injection

3 讨论

本试验首次采用 MS 定性与 Kovats 保留指数相结合的方法对侧柏叶的挥发性成分进行鉴别，使定性结果更加准确可信。

实验结果表明，采用水蒸气蒸馏提取的挥发油可检测到 66 个色谱峰，鉴定出 34 种化合物，占总挥发性成分的 85.5%，含量较高的组分为柏木脑(22.80%)、石竹烯(10.25%)、α-蒎烯(8.73%)；采用顶空直接进样分析检测到 48 个色谱峰，鉴定出 29 种化合物，占其总挥发性成分的 95.2%，含量较高的组分为 α-蒎烯(41.95%)、3-蒎烯(13.39%)、石竹烯(7.89%)。两种方法分析结果中有 23 种共有

化合物，这些共有化合物在水蒸气提取的挥发油中占 68.2%，在顶空直接进样分析的成分中占 93.6%，说明水蒸气蒸馏较顶空直接进样更利于某些挥发性成分的共蒸馏出。

魏刚对侧柏叶药材及鲜品挥发油研究发现，药材挥发油中柏木脑为主要成分^[6]，这与本实验对挥发油的分析结果类似；魏刚同时发现 α-蒎烯与 3-蒎烯在鲜品中含量较高，而本实验顶空直接进样分析结果以这两种成分含量最高，说明顶空直接进样更有利于测定中药材中易挥发的成分，特别是热不稳定或易损失的成分，对于产生中药材气味的成分应该以顶空直接进样技术更为灵敏与便

捷。同时顶空直接进样的方式,有别于顶空固相微萃取技术^[7],避免了固相微萃取柱及二次热解吸条件不同对结果的影响,操作更加简单且无溶剂残留。

刘廷礼等^[8]对山东济南产的侧柏叶挥发油进行检测,鉴定出的主要成分为 α -蒎烯、 β -雪松烯,回瑞华^[9]检测后认为千山的侧柏叶挥发油主成分为 β -雪松醇及2,6-二叔丁基对甲酚,李鹏等^[10]研究了采自新疆的侧柏叶后得出其主成分为 α -侧柏烯、 α -蒎烯。与以往的研究文献相比,本次实验所得的主要成分含量有一定的差别。分析原因是由于侧柏叶不同年生、不同时期采收,挥发性成分含量变化较大,成分也会有较大差异。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2005)Vol I (中国药典 2005 年版.一部)[S]. 2005: 149; Appendix XD.
- [2] LIANG T, QIN Y M, LIANG N C. Study on the anti-inflammatory effect of *biota orientalis* [J]. J Chin Pharm Univ (中国药科大学学报), 2001, 32(3): 66-68.
- [3] DUAN J, CUI Y Q, QIN Z Q, et al. Volatile oils and antibacterial activities of gardening plant species [J]. Urban Environment & Urban Ecology(城市环境与城市生态), 2005, 18(6): 23-25.
- [4] JIANG J H, LI X C, GAO X Q, et al. Volatile constituents from *platycladus orientalis* and their antitumor activities [J]. Forest Res(林业科学研究), 2006, 19(3): 311-315.
- [5] ISIDOROV V A, KRAJEWSKA U, VINOGRADOVA V T, et al. Gas chromatographic analysis of essential oil from buds of different birch species with preliminary partition of components [J]. Biochem Syst Ecol, 2004, 32(1): 1-13.
- [6] WEI G, WANG S Y. The GC-MS analysis for volatile constituents in Leafg twigs of Chinese arborvitae [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2001, 12(1): 18-19.
- [7] YANG Z B, KANG W Y, ZHONG C N, et al. Analysis of the essential oil from *Cacumen of Platycladus orientalis*(L.) Franco in Guizhou by SPME [J]. Fine Chem(精细化工), 2008, 25(4): 342-346.
- [8] LIU T L, QIU Q, ZHAO Y. Study on chemical constituents of essential oil of *biota orientalis* by GC-MS [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2000, 23(8): 460-461.
- [9] HUI R H, HOU D U, LI T C, et al. Studies on volatile constituents of Leafg twigs in *biota orientalis* [J]. J Anshan Normal Univ(鞍山师范学院学报), 2005, 7(2): 46-48.
- [10] LI P, WANG L S, TANG H. Determination of chemical constituents of the essential oil from *Cacumen Platycladi* in Xinjiang by GC-MS [J]. Lishizhen Med Mater Med Res(时珍国医国药), 2006, 17(6): 951.

收稿日期: 2010-04-21