

不同提取方法 GC-MS 分析结合保留指数定性木香挥发性成分

张莹, 刘朋, 容蓉*, 吕青涛, 巩丽丽, 宫本佼(山东中医药大学药学院, 济南 250355)

摘要: 目的 分析比较不同采集方法制备的木香挥发性成分。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)结合保留指数双重定性。结果 可鉴定出顶空进样的木香中 42 个挥发性化学成分; 可鉴定出水蒸气蒸馏法提取的 32 个挥发性化学成分; 两种采样方法进行的 GC-MS 分析, 有 14 种相同化合物, 但相对含量有一定差异。结论 两种采样方法, 分别提供了木香中不同沸点的挥发性成分的化学信息; 运用这两种方法可以建立更全面的木香挥发性成分 GC-MS 表征体系。

关键词: 木香; 挥发性成分; 水蒸气蒸馏; 顶空进样; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: R284.1; R284.2

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)10-0931-04

GC-MS Analysis Combined with Kovats Retention Index for Volatile Compounds in Aucklandiae Radix Obtained by Different Acquisition Methods

ZHANG Ying, LIU Peng, RONG Rong*, LÜ Qingtao, GONG Lili, GONG Benjiao(School of Pharmacy, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To compare the difference of volatile compounds in Radix Aucklandiae treated with different sample acquisition methods. **METHODS** Using steam distillation and head-space injection respectively, volatile components in Radix Aucklandiae were analyzed by GC-MS combined with Kovats retention index. **RESULTS** By GC-MS, 42 volatile compounds in Radix Aucklandiae treated with head-space injection were identified, whereas 32 volatile compounds in volatile oil which obtained by steam distillation were identified. Among the detected compounds in the samples treated with different methods, there were 14 mutual compounds with different relative contents. **CONCLUSION** The above two sample acquisition methods are focusing on volatile compounds with different boiling points; analyzing the herb treated with the above two methods respectively is feasible to establish GC-MS representation system for Radix Aucklandiae.

KEY WORDS: Radix Aucklandiae; volatile compounds; steam distillation; head-space injection; GC-MS

木香始载于《神农本草经》, 为菊科植物木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根。本品主产于云南, 区别于土木香、川木香, 可行气止痛、健脾消食, 临床上用于胸脘胀痛、泻痢后重、食积不消、不思饮食^[1]。木香属温热性中药, 现代药理研究表明其挥发性成分对呼吸及心血管系统疾病有一定的对抗功效^[2]。采用 GC-MS 对木香挥发性成分的分析多限于针对挥发油测定^[3-5], 或者采用微波萃取对其分析^[6]。本实验分别采用水蒸气蒸馏法和顶空直接进样技术对木香挥发性成分进行采集和 GC-MS 分析, 并结合保留指数(Kovats retention indices, KI)对其主要成分双重定性, 对两种采集方法的分析结果进行了比较。

1 仪器和试剂

GC6890N 气相色谱仪, MS5975 质谱仪, 7683B 自动进样器, 7694E 顶空进样器, MSD Chemstation D.03.00.611 色谱数据处理系统(美国 Agilent 公司); 所用试剂为分析纯。正构烷烯混合对照品 C₈~C₄₀ (美国 AccuStandard 公司, 编号: DRH-008S-R2, 氯仿中浓度 500 µg·mL⁻¹)。木香产地为四川, 由山东中医药大学李峰教授鉴定为木香 *Aucklandia lappa* Decne. 的干燥根。

2 方法

2.1 挥发性成分的提取

2.1.1 水蒸气蒸馏法(steam distillation) 精密称取木香粉末(过 40 目筛)50 g, 加蒸馏水 500 mL 与玻

基金项目: 国家“973”计划项目(2007CB512601)

作者简介: 张莹, 女, 硕士生 Tel: 13793153383
Tel: (0531)89628192 E-mail: rosierong@yahoo.com.cn

E-mail: zhangying_227@163.com

*通信作者: 容蓉, 女, 博士, 教授

璃珠数粒，振摇混合后，按中国药典 2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法(甲法)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 mL 的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，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(headspace injection) 取新鲜粉碎的木香粉末(过 40 目筛)0.5 g 准确称定，放入 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 120 ℃；样品环温度 140 ℃；传输线温度 160 ℃；样品瓶加热时间 30 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×0.25 mm, 0.25 μm)；进样口温度 250 ℃；载气为 He，柱流量 1.0 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，最后以 10 ℃·min⁻¹ 升到 280 ℃。

质谱条件：标准质谱调谐；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 1 min。

2.3 KI 值测定

挥发油外标：取 0.2 μL 正构烷烃混合对照品按“2.2”项下条件挥发油测定的升温条件分析。

顶空外标：精密移取正构烷烃混合对照品 50 μL 加入 10 mL 顶空瓶中，并加入 50 μL 氯仿稀释密封，按“2.2”项下条件顶空直接进样测定的

升温程序分析。

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(min)。

3 结果与讨论

3.1 结果

按“2.2”项下分析条件，对木香挥发油以及挥发性成分顶空直接进样 GC-MS 分析，其 GC-MS 总离子流图见图 1。

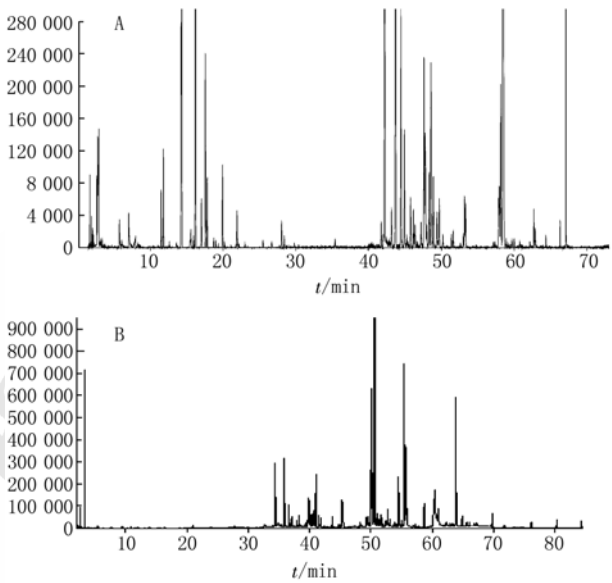


图 1 木香挥发性成分 GC-MS 总离子流图

A-水蒸气蒸馏；B-顶空进样

Fig 1 Total ion current chromatogram for GC-MS analysis of volatile compounds from Aucklandiae Radix

A-steam distillation; B-head space injection

各组分相对含量的确定采用峰面积归一化法。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 木香挥发性化学成分 GC-MS 分析结果

Tab 1 GC-MS analytical results of volatile compounds from Aucklandiae Radix

编号	化合物	分子式	SD			HS		
			相对含量/%	KI ⁽¹⁾	KI ⁽²⁾	相对含量/%	KI ⁽¹⁾	KI ⁽²⁾
1	双环[3.1.0]己烷, 4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-	C ₁₀ H ₁₆	0.07	971	972	2.13	970	968
2	α-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	0.05	1 004	1 003	5.07	1 000	1 000
3	3-环己烯-1-醇, 4-甲基-1-(1-甲基乙基)-	C ₁₀ H ₁₈ O	0.09	1 177	1 176	0.35	1 174	1 173
4	环己烷,1-乙炔基-1-甲基-2,4-bis(1-甲基乙炔基)-, [1S-(1α,2β,4β)]-	C ₁₅ H ₂₄	2.59	1 390	1 391	11.24	1 391	1 388
5	石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	2.88	1 415	1 418	8.69	1 412	1 412
6	α-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	0.27	1 449	1 447	0.64	1 447	1 446

续表

编号	化合物	分子式	SD			HS		
			相对含量/%	KI ¹⁾	KI ²⁾	相对含量/%	KI ¹⁾	KI ²⁾
7	5,9-十一烷二烯-2-酮, 6,10-二甲基-	C ₁₃ H ₂₂ O	0.46	1 455	1 453	0.47	1 454	1 452
8	螺[4.5]癸-7-烯, 1,8-二甲基-4-(1-甲基乙烯基)-, [1 <i>S</i> -(1 <i>α</i> ,4 <i>β</i> ,5 <i>α</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄	1.14	1 479	1 483	2.53	1 483	1 476
9	萘, 10-氢-4 <i>a</i> -甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-, [4 <i>aR</i> -(4 <i>aα</i> ,7 <i>a</i> ,8 <i>aβ</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄	0.60	1 491	1 490	0.97	1 486	1 488
10	萘, 1,2,3,5,6,7,8,8 <i>a</i> -八氢-1,4-二甲基-7-(1-甲基乙烯基)-, [1 <i>S</i> -(1 <i>α</i> ,7 <i>a</i> ,8 <i>aβ</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄	2.23	1 501	1 500	0.92	1 506	1 498
11	螺[2.5]辛烷, 5,5-二甲基-4-(3-氧代丁基)-	C ₁₄ H ₂₄ O	0.49	1 509	1 504	0.45	1 504	1 506
12	环己基甲醇, 4-乙烯基- <i>α</i> , <i>α</i> ,4-三甲基-3-(1-甲基乙烯基)-, [1 <i>R</i> -(1 <i>α</i> ,3 <i>α</i> ,4 <i>β</i>)]-	C ₁₅ H ₂₆ O	0.43	1 548	1 546	0.21	1 549	1 545
13	氧化石竹烯	C ₁₅ H ₂₄ O	1.11	1 578	1 583	0.60	1 576	1 575
14	8-柏木烯-13-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	6.56	1 661	1 668	0.92	1 688	1 657
15	乙基苯	C ₈ H ₁₀	0.05	858	851			
16	苯, 1,3-二甲基-	C ₈ H ₁₀	0.03	867	888			
17	1,4-亚甲基长叶烯, 10-氢-4,8,8-三甲基-9-亚甲基-, [1 <i>S</i> -(1 <i>α</i> ,3 <i>aβ</i> ,4 <i>a</i> ,8 <i>aβ</i>)]	C ₁₅ H ₂₄	0.38	1 399	1 403			
18	3-丁烯-2-酮, 4-(2,6,6-三甲基-2-环己烯-1-yl)-, (<i>E</i>)-	C ₁₃ H ₂₀ O	0.92	1 427	1 426			
19	双环[3.1.1]庚烷, 6-甲基-2-亚甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-, [1 <i>R</i> -(1 <i>α</i> ,5 <i>a</i> ,6 <i>β</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄	0.39	1 435	1 440			
20	萘, 1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -八氢-4 <i>a</i> ,8-二甲基-2-(1-甲基乙烯基)-,	C ₁₅ H ₂₄	1.47	1 482	1 482			
21	3-丁烯-2-酮, 4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-yl)-, (<i>E</i>)-	C ₁₃ H ₂₀ O	0.53	1 485	1 489			
22	1 <i>H</i> -苯并环庚三烯, 2,4 <i>a</i> ,5,6,7,8-六氢-3,5,5,9-四甲基-, (<i>R</i>)-	C ₁₅ H ₂₄	0.41	1 514	1 527			
23	2-萘基甲醇, 10-氢- <i>α</i> , <i>α</i> ,4 <i>a</i> -三甲基-8-亚甲基-, [2 <i>R</i> -(2 <i>α</i> ,4 <i>aα</i> ,8 <i>aβ</i>)]-	C ₁₅ H ₂₆ O	0.41	1 646	1 647			
24	8-柏木烯-13-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	6.56	1 661	1 668			
25	4-十六烯-6-炔, (<i>Z</i>)-	C ₁₆ H ₂₈	28.30	1 670	1 667			
26	6-异丙烯基-4,8 <i>a</i> -二甲基-4 <i>a</i> ,5,6,7,8,8 <i>a</i> -六氢-1 <i>H</i> -萘-2-酮	C ₁₅ H ₂₂ O	0.73	1 678	1 645			
27	顺式白檀醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.84	1 710	1 734			
28	2-(4 <i>a</i> ,8-二甲基-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,7-八氢-萘-2-基)-2-丙烯-1-醇	C ₁₅ H ₂₄ O	15.21	1 754	1 745			
29	大槐牛儿-1(10),4,11(13)-三烯-12-羧酸, 6 <i>α</i> -羟基-, <i>ε</i> -内酯, (<i>E</i> , <i>E</i>)-	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	5.17	1 862	1 897			
30	山胡椒酸	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	1.21	1 873	1 846			
31	2(3 <i>H</i>)-苯并呋喃酮, 6-乙烯基六氢-6-甲基-3-亚甲基-7-(1-甲基乙烯基)-, [3 <i>aS</i> -(3 <i>aα</i> ,6 <i>a</i> ,7 <i>β</i> ,7 <i>aβ</i>)]-	C ₁₅ H ₂₀ O ₂	0.65	2 060	1 725			
32	正二十一烷	C ₂₁ H ₄₄	0.24	2 204	2 200			
33	己醛	C ₆ H ₁₂ O				0.25	800	800
34	糠醛	C ₅ H ₄ O ₂				0.46	827	829
35	丁酸, 3-甲基-	C ₅ H ₁₀ O ₂				0.23	845	851
36	双环[3.1.0]hex-2-ene, 2-甲基-5-(1-异丙基)-	C ₁₀ H ₁₆				0.54	925	923
37	<i>α</i> -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆				0.94	931	928
38	<i>β</i> -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆				3.43	972	969
39	呋喃, 2-戊基-	C ₉ H ₁₄ O				0.29	992	990
40	1,3-环己二烯, 1-甲基-4-(1-异丙基)-	C ₁₀ H ₁₆				0.52	1 014	1 013
41	苯, 1-甲基-2-(1-异丙基)-	C ₁₀ H ₁₄				2.13	1 022	1 021
42	<i>D</i> -柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆				0.84	1 026	1 024
43	1,3,6-十八烷三烯, 3,7-二甲基-, (<i>E</i>)-	C ₁₀ H ₁₆				0.10	1 045	1 038
44	1,4-环己二烯, 1-甲基-4-(1-异丙基)-	C ₁₀ H ₁₆				0.91	1 058	1 055
45	环己烯, 1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)-	C ₁₀ H ₁₆				0.45	1 084	1 084
46	2 <i>H</i> -1-苯并吡喃, 3,4,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -六氢-2,5,5,8 <i>a</i> -四甲基-(2 <i>α</i> ,4 <i>aα</i> ,8 <i>aα</i>)-	C ₁₃ H ₂₂ O				0.12	1 289	1 282
47	1 <i>H</i> -环丙[e]萘, 10-氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-, [1 <i>aR</i> -(1 <i>aα</i> ,4 <i>aβ</i> ,7 <i>a</i> ,7 <i>aβ</i> ,7 <i>ba</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄				0.52	1 401	1 403
48	1 <i>H</i> -环丙[a]萘, 1 <i>a</i> ,2,3,5,6,7,7 <i>a</i> ,7 <i>b</i> -八氢-1,1,7,7 <i>a</i> -四甲基-, [1 <i>aR</i> -(1 <i>aα</i> ,7 <i>a</i> ,7 <i>aα</i> ,7 <i>ba</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄				2.58	1 432	1 424
49	双环[3.1.1]庚-2-烯, 2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)-	C ₁₅ H ₂₄				1.60	1 428	1 432
50	香橙烯	C ₁₅ H ₂₄				0.08	1 439	1 438
51	1 <i>H</i> 环丙[e] 萘, 10-氢-1,1,7-三甲基-4-亚甲基-, [1 <i>aR</i> -(1 <i>aα</i> ,4 <i>aβ</i> ,7 <i>a</i> ,7 <i>aβ</i> ,7 <i>ba</i>)]-	C ₁₅ H ₂₄				0.38	1 461	1 456
52	2-异丙烯基-4 <i>a</i> ,8-二甲基-1,2,3,4,4 <i>a</i> ,5,6,8 <i>a</i> -八氢-萘	C ₁₅ H ₂₄				0.37	1 474	1 470
53	3-丁烯-2-酮, 4-(2,6,6-三甲基-1-环己烯-1-yl)-	C ₁₃ H ₂₀ O				0.29	1 489	1 483
54	1-十五烯	C ₁₅ H ₃₀				2.43	1 494	1 492
55	<i>α</i> -金合欢烯	C ₁₅ H ₂₄				0.64	1 509	1 512
56	环己烯, 3-(1,5-二甲基-4-烯基)-6-亚甲基-, [<i>S</i> -(<i>R</i> *, <i>S</i> *)]-	C ₁₅ H ₂₄				0.16	1 535	1 521
57	4-十六烯醇-6-炔, (<i>Z</i>)-	C ₁₆ H ₂₈				0.58	1 637	1 655
58	9,12-十八碳二烯-1-醇, (<i>Z</i> , <i>E</i>)-	C ₁₄ H ₂₆ O				2.52	1 672	1 660
59	4-十六烯-6-炔, (<i>E</i>)-	C ₁₆ H ₂₈				30.85	1 637	1 635

注: ¹⁾为 NIST 谱库的 KI 检索值(非极性 HP-5 MS 柱); ²⁾为 KI 测定值Note: ¹⁾ For NIST spectrum library KI retrieval values (Nonpolar HP-5 MS column); ²⁾ For KI determination values

3.2 讨论

对木香的挥发性成分进行 GC-MS 结合 KI 双重定性结果表明: 采用水蒸气蒸馏提取的挥发油鉴定出 31 种化合物, 其峰面积之和占总色谱峰面积的 75.91%, 含量较高的组分为 Z-4-十六烯-6-炔(编号 25, 28.30%)、2-(4a,8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢-萘-2-基)-2-丙烯-1-醇(编号 28, 15.21%); 采用药材顶空直接进样, 鉴定出 42 种化合物, 其相对含量总和占总检出物的 89.40%。由表 1 可知, 含量较高的组分为 E-4-十六烯-6-炔(编号 59, 30.85%)、[1S-(1 α ,2 β ,4 β)]-1-乙烯基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙烯基)-环己烷(编号 4, 11.24%)、石竹烯(编号 5, 8.69%)、 β -水芹烯(编号 2, 5.07%)。2 种方法分析结果中有 14 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 18.97%, 在顶空直接进样分析的挥发性成分中占 35.19%。

样品前处理方法的的不同很大程度上影响检测到的木香挥发性成分, 故不同文献中对于木香挥发性成分的研究报道亦有一定差异。邱琴^[3]和梁晟^[4]等对木香水蒸气蒸馏提取的挥发油进行分析, 含量较高的均为土木香内酯; 易海燕等^[5]采用超临界 CO₂ 和水蒸气蒸馏提取、GC-MS 分析发现, (Z,Z,Z)-9,12,15-十八三烯-1-醇、14,15-二去氢-1,4,5,8,9,10,11,12,13,16,17,18,19,20-十四氢-环十环十四烯相对含量较高; 回瑞华等^[6]采用微波萃取技术分析木香挥发性成分, 发现主要为烯烃类成分。本实验所得结果与文献有一定的出入, 分析原因是由于木香不同年生、不同时期采收, 挥发油含量变化很大, 成分也会有较大差异。

本实验首次采用顶空直接进样分析木香药

材, 在药材用量、样品制备、分析时间等方面, 更加简单、快速, 且无溶剂残留; 可以更真实地反映决定中药气味的成分的结构信息, 尤其适用于分析在水蒸气蒸馏中易损失或变性的成分。

笔者认为, 顶空直接进样和水蒸气蒸馏提取挥发油两种挥发性成分采集方法, 分别侧重于中药中易挥发的及稳定性较高的挥发性成分的制备, 同时本实验还结合 KI 对其双重定性, 使所得结果更为可信, 故采用 GC-MS 对中药挥发性成分进行表征分析时, 宜采用两种采样技术分别制备供试品, 用其 GC-MS 分析结果对中药挥发性成分进行联合表征, 可以得到更加全面的成分信息。

REFERENCES

- [1] Ch.P(2010)Vol I (中国药典 2010 年版.一部) [S]. 2010: Appendix 63.
- [2] LIN M X. Press on pharmacology and clinical study of *Aucklandia lappa* Decne [J]. Inf Tradit Chin Med(中医药信息), 2005, 22(3): 18-19.
- [3] QIU Q, CUI Z J, LIU T L, et al. Determination of chemical constituents of the essential oil from *Aucklandia lappa* Decne by GC-MS [J]. PTCA-PART B: Chemical Analysis(理化检验-化学分册), 2001, 37(8): 346-348.
- [4] LIANG S, LIANG Y Z, LI Y W, et al. Analysis of volatile components in *Aucklandia lappa* decne by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Guangzhou Chem(广州化学), 2007, 32(4): 12-17.
- [5] YI H Y, HE G X, GUO J S, et al. Comparison of supercritical CO₂ extraction and steam distillation for extraction of costusroot essential oil [J]. J Hunan Univ Tradit Chin Med(湖南中医药大学学报), 2010, 30(1): 34-36.
- [6] HUI R H, HOU D Y, LI T C. Analysis of volatile constituents in *Aucklandia lappa* Decne by gas chromatography-mass spectrometry with microwave radiation-extraction [J]. J Chin Mass Spectrometry Society(质谱学报), 2003, 24(4): 471-476.

收稿日期: 2011-01-04