

GC-MS 结合自动质谱退卷积鉴定系统和保留指数用于毒芹子挥发油的定性分析

田静, 张璐, 尹萌, 房克慧(扬州市食品药品检验检测中心, 江苏 扬州 225009)

摘要: 目的 分析食药同源药物毒芹子的挥发油化学成分。方法 采用 GC-MS 结合化学计量学方法对毒芹子挥发油进行定性分析, 色谱图中重叠峰采用自动质谱退卷积鉴定系统(AMDIS)进行识别, 同时计算各组分的保留指数, 以质谱库对解析后的纯组分进行定性。结果 定性分析出 31 个成分, 主要为烃类、醛类和醇类化合物, 其中含量最高的是 γ -松油烯(66.29%)。结论 本法能更真实、全面地反映毒芹子中的挥发油成分, 为毒芹子开发利用和质量控制提供依据。

关键词: 毒芹子; 挥发油; 气相色谱-质谱联用; 自动质谱退卷积定性系统; 保留指数

中图分类号: R917.101

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2019)24-3068-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.24.013

引用本文: 田静, 张璐, 尹萌, 等. GC-MS 结合自动质谱退卷积鉴定系统和保留指数用于毒芹子挥发油的定性分析[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(24): 3068-3071.

Qualitative Analysis of Volatile Oil from *Cicuta Fructus* by GC-MS Combined with Automatic Mass Spectral Deconvolution and Identification System and Retention Index

TIAN Jing, ZHANG Lu, YIN Meng, FANG Kehui(Yangzhou Center for Food and Drug Control, Yangzhou 225009, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To analyze and research the volatile chemical components in the edible drug *Cicuta Fructus*. **METHODS** GC-MS combined with chemometric technology were used for qualitative analysis of the volatile oil from *Cicuta Fructus*. The automatic mass spectral deconvolution and identification system(AMDIS) was used to resolve overlapping peaks in chromatograms; meanwhile, the temperature-programmed retention index for assistant identification was employed; finally the pure components were qualitatively analyzed by mass spectrum library. **RESULTS** Thirty-one compounds of the whole extracts of *Cicuta Fructus* were identified, which were mainly alkenes, aldehyde and alcohols. The highest level compound was γ -terpinene(66.29%). **CONCLUSION** The method can be more really and comprehensively reflect the essential oil components in *Cicuta Fructus*. The study will provide foundation for a further development and quality control of *Cicuta Fructus*.

KEYWORDS: *Cicuta Fructus*; volatile oil; GC-MS; automated mass spectral deconvolution and identification system(AMDIS); retention index

毒芹子为伞形科植物宽叶毒芹 *Cicuta virosa* L. 的干燥成熟果实, 又名兴化茛苢、马芹子、野茴香, 具理气、健胃、消食之功, 民间验方记载其可用于治疗痞满气胀、呕逆、腹部冷痛^[1]。毒芹子同时长期作为食品调料、香料使用, 为药食两用品种。《兴化县志》(清咸丰二年)谓之“色微黑, 味辛, 腌菹中所必需之物^[1]。”国家地理标志产品著名小吃高邮茶干的制作秘诀就是使用了毒芹子。《中药大辞典》记载毒芹根, 谓之药性大毒^[2], 有文献记载其全草均有毒^[3]。国内外学者对毒芹的研究主要集中在毒性方面, 对毒性的物质基础和作用机制作了详细报道, 对其变种宽叶毒芹报道极少。挥发油是宽叶毒芹果实的主要有效物质基础, 目前未见对其挥发油成分的相关研究。

挥发油成分复杂, 实际得到的色谱数据大多是由包含多组分体系的信息构成, 仅仅以谱库直接检索会降低分析结果的可信度。自动退卷积质谱系统(automated mass spectral deconvolution and identification system, AMDIS)处理图谱后, 可将重叠的质谱图“分开”成为“清晰”的单个组分的谱图, 对重叠峰、包埋峰进行分离, 更加准确地对化合物进行定性分析, 该法已逐渐应用于中药中挥发油成分的分析^[4-6]。本实验采用 GC-MS 结合 AMDIS 和保留指数定性分析, 为全面了解毒芹子所含挥发油成分, 以及活性成分的筛选和质量控制提供理论依据。

1 材料

Shimadzu GCMS-TQ8040 三重四级杆气质联

作者简介: 田静, 女, 硕士, 副主任中药师 Tel: (0514)80789792

E-mail: tiantian1517@126.com

用仪,匹配化学工作站 GCMSsolution Ver.4.2(日本岛津公司);XS 205Du 电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

3 批毒芹子药材均采集于江苏省泰州市兴化县,采集年份分别为 2012 年、2014 年、2016 年,经扬州市食品药品检验检测中心房克慧主任中药师鉴定为伞形科植物宽叶毒芹 *Cicuta virosa* L.的干燥成熟果实;C₈~C₄₀ 正构烷烃混合对照品(曼哈格公司);正己烷为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2 方法

2.1 挥发油提取及供试品溶液制备

取毒芹子粉末(过 2 号筛)各约 40 g,分别置于 500 mL 圆底烧瓶中,加蒸馏水 300 mL,浸泡 1 h,照中国药典 2015 年版四部通则挥发油测定法甲法蒸馏得到挥发油,加入适量无水硫酸钠脱水后以 5 000 r·min⁻¹离心 3 min,即得。

取各批次挥发油各 100 μL 置 5 mL 量瓶中,以正己烷定容,以 0.45 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液装入进样瓶。

2.2 分析条件

色谱条件:Rtx-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),载气为氦气(纯度 99.999%),载气流速 1.0 mL·min⁻¹,进样量 1 μL,分流比 50:1,前进样口温度 250 °C,柱温的初始温度 50 °C,再以 4 °C·min⁻¹升至 280 °C。

质谱条件:电子轰击离子源(EI),离子源温度 230 °C,接口温度 260 °C,采集模式为全扫描,扫描质量范围为 45~450 mAu,溶剂延迟 4 min。

2.3 AMDIS 解析重叠峰

毒芹子挥发油放大的总离子流图见图 1。尽管通过调整优化色谱分离条件可使大部分的色谱峰得到较好的分离,重叠峰依然是色谱中常见的解析难点。有些色谱峰看似 1 个组分,实际却是≥2 个组分重叠峰。有的色谱峰虽然能看出重叠现象,但积分时软件误判为单峰会导致漏检,手动检索因重叠位置不易确定也难以得到满意结果。如图 2 保留时间在 8.570~8.780 min 的色谱峰 A,自动积分后通过 NIST14.L 质谱数据库解析为单一化合物 3-异丙基-6-亚甲基-1-环己烯(β -phellandrene)且相似度很高。经过 AMDIS 系统解卷积后,发现其为含有 3 个成分的重叠峰,见图 2,经正构烷烃计算保留指数,最终确定保留时间 8.655 min 的化合物 B 为 S-(-)-柠檬烯[(S)-(-)-limonene],相似度

和逆相似度分别为 691 和 710;保留时间 8.692 min 的化合物 C 为 3-异丙基-6-亚甲基-1-环己烯(β -phellandrene),相似度和逆相似度分别为 906 和 920;保留时间 8.734 min 的化合物 D 为桉叶油醇(eucalyptol),相似度和逆相似度分别为 866 和 866。进一步检索其保留指数分别为 103 1,103 1,103 2,与被鉴定组分的实际保留指数 102 1,102 2,102 3 一致。化合物 B、C、D 对应提纯质谱图与各匹配物标准质谱图见图 3。

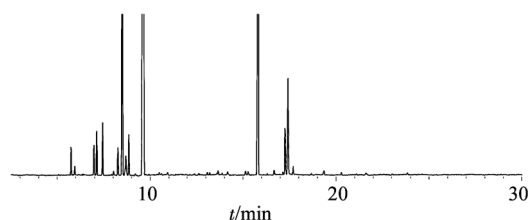


图 1 毒芹子挥发油放大的总离子流图

Fig. 1 Magnified TIC of volatile oil from Cicuta Fructus

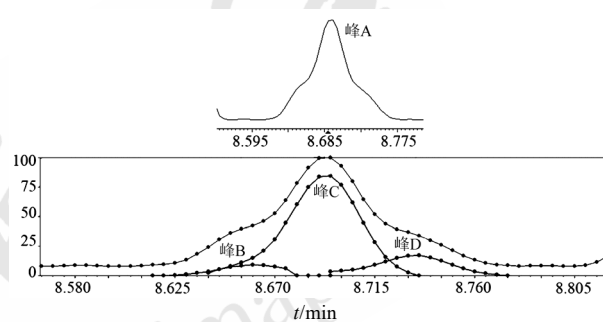


图 2 保留时间在 8.570~8.780 min(峰 A)、重叠解析峰 B、C 和 D 的总离子流图

Fig. 2 TIC of peak A(retention time between 8.570~8.780 min) and embedded peaks B, C and D

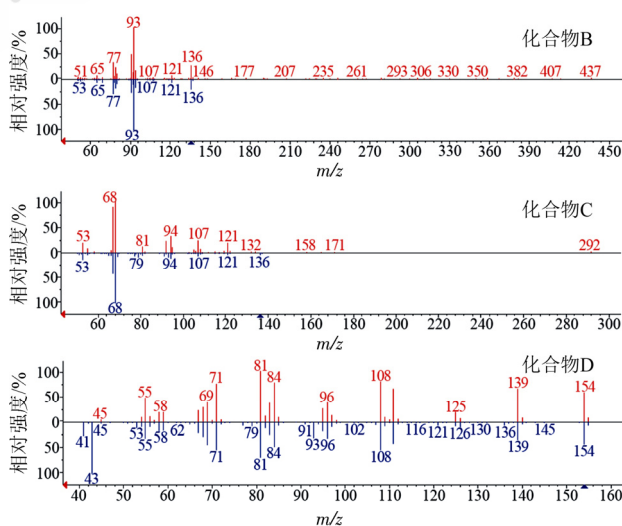


图 3 化合物 B、C、D 对应提纯质谱图与各匹配物标准质谱图

Fig. 3 Corresponding extracted mass spectra of compounds B, C and D, and their counterparts standard mass spectra

2.4 保留指数的计算与数据处理

保留指数的计算公式为 $I_x=100n+100[(T_{RX}-T_{Rn})/(T_{R(n+1)}-T_{Rn})]$ ，式中： I_x 为程序升温线性保留指数； n 为正构烷烃的碳原子数； $T_{R(n+1)}$ 和 T_{Rn} 分别代表碳数为 n 、 $n+1$ 的正构烷烃的保留时间； T_{RX} 为被测组分保留时间，且 $T_{R(n+1)} > T_{RX} > T_{Rn}$ 。按“2.2”项下分析条件分别测定 $C_8\sim C_{40}$ 正构烷烃和毒芹子挥发油，计算出待鉴定化合物的保留指数，并与 NIST14.L 标准质谱库中匹配度较高的几种化合物的保留指数文献值进行比对，以保留指数接近度最高的化合物为最佳鉴定结果。保留指数的应用示例见表 1。

3 结果

研究采用水蒸气蒸馏法提取毒芹子挥发油，经 GC-MS 分析得到 $C_8\sim C_{40}$ 正构烷烃混合对照、毒芹子挥发油的总离子流图，应用 AMDIS 对色谱峰纯化，通过谱库检索结合保留指数辅助定性，

表 2 毒芹子挥发油化学成分

Tab. 2 Volatile compounds from Cicutae Fructus

序号	保留时间/ min	化合物	分子式	保留指数	保留指数 文献值	质量分数/ %
1	5.078	庚醛(heptaldehyde)	C ₇ H ₁₄ O	899	901	0.02
2	5.745	alpha-thujene	C ₁₀ H ₁₆	922	929	0.47
3	5.943	(+)- α -蒎烯[(+)-2-pinene]	C ₁₀ H ₁₆	928	929	0.15
4	6.983	桉烯[(+)-sabinene]	C ₁₀ H ₁₆	964	974	0.56
5	7.129	(-)- β -蒎烯[(-)- β -pinene]	C ₁₀ H ₁₆	969	943	0.84
6	7.448	β -蒎烯(β -pinene)	C ₁₀ H ₁₆	980	979	0.99
7	8.037	3-蒎烯(carene)	C ₁₀ H ₁₆	1 000	1 011	0.08
8	8.270	4-carene	C ₁₀ H ₁₆	1 007	1 009	0.54
9	8.509	P-伞花烃(m-cymene)	C ₁₀ H ₁₄	1 016	1 023	13.65
10	8.655	S-(-)-柠檬烯[(S)-(-)-limonene]	C ₁₀ H ₁₆	1 021	1 031	0.30
11	8.692	3-异丙基-6-亚甲基-1-环己烯(β -phellandrene)	C ₁₀ H ₁₆	1 022	1 031	0.16
12	8.734	桉叶油醇(eucalyptol)	C ₁₀ H ₁₈ O	1 023	1 032	0.14
13	8.858	(3E)-3,7-dimethyl-1,3,6-octatriene	C ₁₀ H ₁₆	1 028	1 049	0.82
14	9.663	γ -松油烯(γ -terpinene)	C ₁₀ H ₁₆	1 055	1 060	66.29
15	10.484	蒎品油烯(terpinolene)	C ₁₀ H ₁₆	1 083	1 088	0.04
16	13.074	1,3,4-三甲基-3-环己烯-1-羧醛(1,3,4-trimethylcy-clohex-3-enecarbaldehyde)	C ₁₀ H ₁₆ O	1 161	1 154	0.05
17	13.200	(+)-4 α -hydroxy-2-carene	C ₁₀ H ₁₆ O	1 165	1 178	0.05
18	13.655	(-)-4-蒎品醇[(-)-terpinen-4-ol]	C ₁₀ H ₁₆ O	1 178	1 182	0.10
19	14.172	3-p-menthen-7-al	C ₁₀ H ₁₆ O	1 193	1 175	0.07
20	15.128	aceticacid,(1R,5S,7R)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-en-7-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	1 221	1 239	0.09
21	15.265	香茅醇(citronellol)	C ₁₀ H ₂₀ O	1 225	1 228	0.09
22	15.825	枯茗醛(4-isopropylbenzaldehyde)	C ₁₀ H ₁₂ O	1 242	1 228	10.32
23	16.674	茨烯(camphene)	C ₁₀ H ₁₆	1 267	1 261	0.10
24	17.141	百里酚(thymol)	C ₁₀ H ₁₄ O	1 281	1 291	0.06
25	17.263	4-propan-2-ylcyclohexa-1,3-diene-1-carbaldehyde	C ₁₀ H ₁₄ O	1 284	1 283	1.17
26	17.416	4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene-1-carbaldehyde	C ₁₀ H ₁₄ O	1 289	1 288	2.03
27	17.431	3-叔丁基苯酚(3-tert-butylphenol)	C ₁₀ H ₁₄ O	1 289	1 291	0.42
28	17.692	香芹酚(carvacrol)	C ₁₀ H ₁₄ O	1 297	1 299	0.19
29	19.359	乙酸香茅酯(dl-citronellol acetate)	C ₁₃ H ₂₄ O ₂	1 348	1 354	0.12
30	20.290	反-3,7-二甲基-2,6-辛二烯乙酸酯(geranyl acetate)	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1 376	1 352	0.06
31	23.842	(3Z,6E)-3,7,11-trimethyldodeca-1,3,6,10-tetraene	C ₁₅ H ₂₄	1 490	1 491	0.03

面积归一化法对化合物定量，共鉴定出 31 个色谱峰，其中相对含量较高的主要为 γ -松油烯(66.29%)、P-伞花烃(13.65%)、枯茗醛(10.32%)等。结果见表 2。

表 1 保留指数应用示例

Tab. 1 Application of retention index

保留时 间/min	保留 指数	保留指数 文献值	匹配化合物	匹配度
5.943	928	937	2-蒎烯	93
		890	cyclofenchene	91
		929	(+)- α -蒎烯*	93
8.270	1 007	1 088	蒎品油烯	92
		1 301	4-terpinenyl acetate	92
		1 017	松油烯	91
		1 009	4-carene*	91
		1 088	蒎品油烯*	93
10.484	1 083	1 009	4-carene	92
		1 017	松油烯	91

注：*为最终定性的化合物。

Note: * was the final identified compound.

4 讨论

本研究首次采用 GC-MS 联用技术结合自动退卷质谱系统对毒芹子挥发油色谱数据进行解析,解决了共流出重叠峰、大峰中小成分及基质掩盖的痕量组分的检出等问题,得到了各组分的纯色谱,同时采用保留指数法对处理后的纯色谱峰分析,结果共定性分析出 31 个成分,其中烃类 13 种、醛类 7 种、醇类 5 种、酚类 3 种、酯类 2 种等。查阅相关文献资料发现, γ -松油烯含有环己二烯结构,具有较强的抗氧化活性^[7]。P-伞花烃具祛痰、止咳及抑菌作用^[8]。枯茗醛是配制各种香料的主要成分,也是合成高档香料及其他有机化工产品重要的原料和中间体,具有抑菌、抑制 α -葡萄糖苷酶的活性^[9]。另含量较高的 β -蒎烯也被广泛应用于香料、医药、食品、农业、高分子材料等行业中,其衍生物具有抑菌及抗肿瘤活性等作用^[10]。可见,毒芹子挥发油具有十分重要的生物学活性。其中含量最高的成分 γ -松油烯的含量达 66.29%,可作为定量指标建立毒芹子的气相色谱含量测定方法。研究结果为揭示毒芹子特殊的香气成分组成提供了理论依据,下一步应进行毒芹子毒理和药理方面的研究,为毒芹子及其为香料食品的安全使用和开发利用打下物质基础。

REFERENCES

[1] 江苏省食品药品监督管理局. 江苏省中药材标准[M]. 江苏:

凤凰科学技术出版社, 2016.

- [2] 南京中医药大学. 中药大辞典(下册)[M]. 上海: 科学技术出版社, 2006.
- [3] GAO S, XU K K. The chemistry research of *Cicuta virosa* L. var. *latisepta* Celak [J]. China Pract Med(中国实用医药), 2010, 5(6): 248-251.
- [4] FAN D Q, CHEN H P, LIU R. Analysis on essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* and *Z. armatum* by GC-MS-AMDIS combining with Kovats Retention Index [J]. Chin J Exp Tradit Med Form(中国实验方剂学杂志), 2014, 20(8): 63-68.
- [5] WANG J, CHEN H P, LIU Y P. Deconvolution of overlapped peaks in total ion chromatogram of essential oil from *Citri Reticulatae Pericarpium Viride* by automated mass spectral deconvolution & identification system [J]. China J Chin Mater Med(中国中药杂志), 2013, 38(10): 1564-1569.
- [6] 赵旭, 马晓鹏. GC-MS-AMDIS 结合保留指数技术用于缬草挥发性成分指纹图谱的研究[J]. 中医药信息, 2015, 32(3): 29-31.
- [7] CHEN Q Q, GAN Z L, DAI Y Q. Antioxidant activity and kinetics analysis of cumin oleoresin and its main components *in vitro* [J]. Sci Technol Food Indust(食品工业科技), 2011, 32(11): 111-116.
- [8] CHANG Y B, HUANG L, ZHU Y. GC determination of p-cymene in volatile oil from Fruits of *Alpinia oxyphylla* Miq [J]. Chin J Pharm Anal(药物分析杂志), 2009, 29(8): 1333-1335.
- [9] CHEN Q Q, LI S Y, GAN Z L. Research progress of chemical components and functional properties of essential oil from *Cuminum cyminum* L [J]. Food Sci(食品科学), 2011, 32(3): 301-304.
- [10] 高艳清. β -蒎烯衍生物的合成及抑菌、抗肿瘤活性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013.

收稿日期: 2018-11-22

(本文责编: 蔡珊珊)