

◇ 药物分析 ◇

顶空固相微萃取-气质联用对滁菊配方颗粒的挥发性成分的分析

蒋敏^{1a}, 李会^{1a}, 史劲松^{1a}, 史亚东², 许正宏^{1a,1b}

(1. 江南大学 a. 药学院制药工程实验室, b. 粮食发酵工艺与技术国家工程实验室, 江苏 无锡 214000;

2. 安徽菊泰滁菊草本科技有限公司, 安徽 滁州 239000)

摘要:目的 分析比较了滁菊以及滁菊配方颗粒的挥发性成分。方法 制备滁菊配方颗粒, 并采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术对滁菊干花以及滁菊配方颗粒的挥发性成分进行鉴定比对, 并用面积归一法测定成分相对含量。结果 滁菊干花中共鉴定出 40 种挥发性化合物, 滁菊颗粒中共鉴定出 59 种挥发性化合物, 鉴定了 30 个共有峰。结论 该方法简单、准确, 为滁菊品种配方颗粒提供了一定的鉴别依据。

关键词:滁菊; 滁菊配方颗粒; 顶空固相萃取; 气质联用

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.04.008

Analysis of volatile compounds in Chuju and Chuju formula granule by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry

JIANG Min^{1a}, LI Hui^{1a}, SHI Jinsong^{1a}, SHI Yadong², XU Zhenghong^{1a,1b}

(1a. School of Pharmaceutical Sciences, 1b. National Engineering Laboratory for Cereal Fermentation Technology, Wuxi, Jiangsu 214000, China; 2. Juthai Herbaltea Technology Co. Ltd, Chuzhou, Anhui 239000, China)

Abstract: Objective To analyse the fragrant compounds in the Chuju and Chuju formula granule. **Methods** The Chuju formula granule was prepared and its composition of volatile compounds quantitatively was determined with normalization method, and identified by headspace solid phase micro-extraction coupled with gas chromatography mass spectrometry (GC-MS). **Results** 40 and 59 volatile components were identified in Chuju and Chuju formula granule, respectively. 30 shared peaks were shared between Chuju and Chuju formula granule. **Conclusions** The method is simple and accurate, which may be used as quality control method for Chuju formula granule.

Keywords: Chuju; Chuju formula granule; headspace solid phase micro-extraction; GC-MS

滁菊又名“甘菊”“白菊”, 产于安徽滁州, 是我国药用菊花之一。据古籍记载, 其性微寒、味辛、甘、苦, 归肝肺经, 具有清热解毒, 舒筋活血、平肝明目之效。对口干、火旺、目涩, 或抽风、寒、湿引起的肢体疼痛麻木、感冒风热、眩晕、耳鸣等均有防治作用^[1]。为了突破传统中药饮片需要煎煮的服用模式, 通常将菊花饮片经提取、浓缩、干燥、制粒等工艺制成免煎易服、携带方便的菊花颗粒。绿原酸是菊花颗粒研究较多的成分之一^[2-4], 而关于菊花颗粒中挥发性成分鲜有报道。现代研究表明, 不同品种菊花挥发性成分有显著差异^[5], 其不仅代表其特

征性香气, 还具有抗炎、抗氧化等多种生理活性^[6-7], 如刘保华等^[7]分别采用二甲苯致小鼠耳廓肿胀、蛋清致大鼠足跖肿胀、大鼠纸片肉芽肿模型, 观察滁菊挥发性成分对急、慢性炎症的影响。结果表明, 滁菊挥发性成分对三种模型的急、慢性炎症均有明显的抑制作用。

目前菊花挥发成分的检测手段主要为通过提取后再进行检测, 如水汽蒸馏法^[8-9], 亚临界萃取法^[10]、分子蒸馏技术法^[10]等。这些方法都存在不同程度的缺点, 如水蒸气方法虽然简单易行, 但是要求样品量较大, 处理过程繁琐; 亚临界萃取和分子蒸馏技术虽然可以明显提高萃取率, 但是对设备要求较高, 且过程涉及对人体有害的有机溶剂。固

通信作者: 史劲松, 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 制药工程, E-mail: shijs@163.com

相微萃取是一种无溶剂样品前处理技术,其操作简单,价格低廉,可集采样、萃取、浓缩、进样于一体,并且可以与气相-质谱、液相、毛细管电泳仪等联用,大大提高了分析测试的效率^[10]。因此本文采用顶空固相微萃取法,结合气质联用技术,分别分析了滁菊干花以及自制的滁菊配方颗粒的挥发性成分组成,为滁菊的进一步开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 滁菊样品,由安徽菊泰滁菊草本科技有限公司提供,经产地蒸晒加工,密封保存,作供试样品。固相微萃取装置:SPME 手柄,萃取头(50/30 μm DVB/CAR on PDMS,美国色谱科公司),顶空进样瓶(15 mL,中国安谱公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 滁菊配方颗粒的制备工艺流程 称取一定量干燥滁菊,加入重量体积比(1:10)的水,沸水回流浸提2 h,冷却后过滤,收集滤液,真空浓缩至原体积的1/10。收集浓缩液,加入白砂糖、葡萄糖以及麦芽糊精,制粒,干燥,即可。

1.2.2 滁菊配方颗粒的制备工艺要点 称取适量滁菊按照料液比1:40的比例,70 $^{\circ}\text{C}$ 提取0.5 h,提取2次,滤过,合并滤液,加热真空浓缩至比重约为1.2 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的流浸膏,按照1:6的比例加入无水葡萄糖、白砂糖、麦芽糊精混匀后在摇摆式制粒机18目筛制得湿颗粒,60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至水分5%以下,所得滁菊配方颗粒与生药折算量约为15。

1.2.3 色谱质谱条件 色谱条件:气质联用色谱仪(SCIONSQ-456-GC,美国布鲁克公司);DB-WAX弹性石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm),载气为氦气,流速1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$;程序升温:起始温度40 $^{\circ}\text{C}$,保持3 min,以5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升温速率升至90 $^{\circ}\text{C}$,最后以10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至230 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$,保持7 min,气化室温度250 $^{\circ}\text{C}$,恒流模式,流速0.8 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

质谱条件:电子轰击电离(EI)离子源,电子能70 eV,发射电流80 μA ,电子倍增器电压1 000 V,离子源温度200 $^{\circ}\text{C}$,接口温度250 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.2.4 固相微萃取取样方法 采用优化后的萃取条件对滁菊以及滁菊配方颗粒进行固相微萃取,即称取滁菊样品或滁菊配方颗粒0.2 g于15 mL样品瓶中,聚四氟乙烯隔垫密封,水浴50 $^{\circ}\text{C}$ 平衡30 min。将带有50/30 μm DVB/CAR on PDMS萃取头(按照萃取头使用说明将萃取头在气相色谱的进样口250 $^{\circ}\text{C}$ 老化0.5 h)的手动进样柄插入密封顶空瓶中,退出固相微萃取头,顶空萃取30 min,取出萃取头,立即插入气相色谱-质谱连用仪的进样口,250 $^{\circ}\text{C}$ 解析8 min,进行气相分析。

1.3 数据处理 实验数据处理由Xcalibur软件完成,化合物经计算机检索的同时与NIST谱库(107 000个化合物)和Willey谱库(320 000个化合物)中检索,当匹配度均大于800(最大值为1 000)的化合物的鉴定结果予以确认并经面积归一法测定各组分的质量分数。

2 结果与分析

按照GC-MS条件对滁菊干花以及滁菊配方颗粒挥发性成分进行测试,得到总离子流图(图1)。经面积归一法测定各组分的质量分数结果见表1。由表1可知,滁菊干花以及制粒后香气成分种类和相对含量发生了不同程度的改变。其中滁菊干花中共鉴定出40个成分,占峰总面积的86.97%,滁菊配方颗粒共鉴定出59个成分,占峰总面积的77.38%,两者共有的香气成分有30种。此外,发现干花中有10种成分在滁菊配方颗粒中未检测到,滁菊配方颗粒中有29种成分在干花中未检测到,可见在滁菊配方颗粒的制备过程中,滁菊部分特有的挥发类物质有一定损失,同时也产生了新的挥发性物质,这有可能是高温工艺改变了部分物质的最初的化学组成从而转变成新的化合物。此外,滁菊

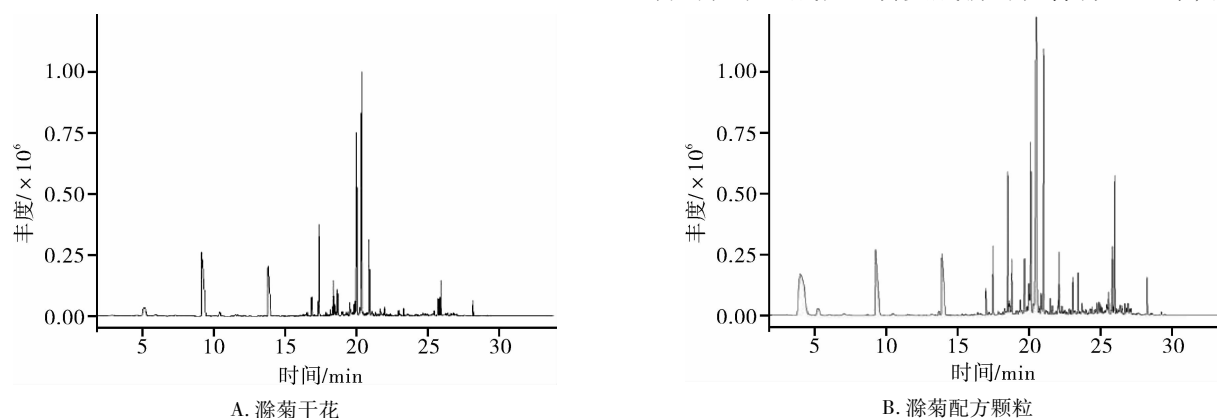


图1 滁菊干花与滁菊配方颗粒挥发性成分典型离子流图

表1 滁菊干花与滁菊配方颗粒中挥发性成分对比结果

序号	保留时间/min	分子式	化学名	干花质量分数/%	滁菊配方颗粒质量分数/%
1	3.872	C ₅ H ₁₀ O ₃	乳酸乙酯	—	11.59
2	5.127	C ₈ H ₂₄ O ₄ Si ₄	八甲基环四硅氧烷	2.74	0.85
3	6.960	C ₁₀ H ₂₂	癸烷	—	0.11
4	9.177	C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅	十甲基环五硅氧烷	17.3	7.49
5	10.396	C ₁₀ H ₁₈ O	桉叶油醇	0.76	0.17
6	11.600	C ₁₀ H ₁₆	松油烯	0.26	—
7	11.780	C ₅ H ₁₂ O	1-戊醇	0.20	—
8	12.240	C ₁₀ H ₁₄	P-伞花烃	0.14	—
9	13.643	C ₇ H ₁₂ O	(E)-2-庚烯醛	—	0.2
10	13.854	C ₁₂ H ₃₆ O ₆ Si ₆	十二甲基环六硅氧烷	9.85	6.06
11	15.296	C ₉ H ₁₈ O	壬醛	—	0.05
12	15.545	C ₁₆ H ₃₄	正十六烷	—	0.08
13	15.950	C ₈ H ₁₄ O	2-辛烯醛	—	0.04
14	16.383	C ₈ H ₁₆ O	1-辛烯-3-醇	—	0.06
15	16.650	C ₁₀ H ₁₈ O	侧柏醇	2.17	—
16	17.176	C ₁₅ H ₂₄	蒎烯	—	0.08
17	17.468	C ₁₀ H ₁₆ O	樟脑	6.24	1.98
18	17.851	C ₁₅ H ₂₄	1,3-环己二烯	—	0.10
19	17.990	C ₁₀ H ₁₈ O	顺-水合桉烯	0.19	—
20	18.164	C ₁₅ H ₂₄	姜烯	—	0.12
21	18.287	C ₁₀ H ₁₄ O	松香芹酮	0.47	0.22
22	18.359	C ₁₅ H ₂₄	香柑油烯	—	0.08
23	18.412	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	甲酸异茨酯	—	0.07
24	18.507	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	乙酸冰片酯	2.09	4.13
25	18.598	C ₁₅ H ₂₄	反式-α-香柠檬	—	0.32
26	18.651	C ₁₅ H ₂₄	B-榄香烯	0.19	0.21
27	18.715	C ₁₅ H ₂₄	古巴烯	—	0.04
28	18.787	C ₁₅ H ₂₄	反式石竹烯	—	1.81
29	19.110	C ₁₀ H ₁₆ O	反式-1-甲基-4-(1-甲基乙烯基)环己-2-烯-1-醇	0.26	0.09
30	19.289	C ₂ H ₈ O ₂ Si	二甲基硅烷二醇	—	0.11
31	19.387	C ₁₅ H ₂₆ O	柏木醇	—	0.52
32	19.512	C ₁₀ H ₁₆ O	(-)-反式-1-松香芹醇	0.21	0.12
33	19.686	C ₁₅ H ₂₄	(E)-β-金合欢烯	0.83	1.94
34	19.988	C ₁₅ H ₂₄	顺式-β-金合欢烯	0.64	1.29
35	20.052	C ₁₀ H ₁₈ O	α-松油醇	0.88	0.55
36	20.131	C ₁₀ H ₁₈ O	龙脑	12.25	5.31
37	20.316	C ₁₅ H ₂₄	右旋大根香叶烯	—	0.06
38	20.330	C ₁₅ H ₂₄	朱桉倍半萜	0.18	—
39	20.380	C ₁₅ H ₂₄	反式-α-香柑油烯	0.48	—
40	20.517	C ₁₀ H ₁₆	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘	20.63	18.54
41	20.762	C ₁₅ H ₂₂	β-朱桉	—	0.18
42	20.830	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	戊酸龙脑酯	0.22	—
43	20.849	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	异戊酸龙脑酯	—	0.6
44	20.923	C ₁₅ H ₂₄	桃金娘烯醇	0.19	—
45	21.010	C ₁₅ H ₂₂	A-姜黄烯	7.69	9.45
46	21.170	C ₁₅ H ₂₄	芹子烷-3,7(11)-二烯	0.1	0.07
47	21.908	C ₁₃ H ₂₂ O	橙化基丙酮	—	0.1
48	21.790	C ₆ H ₁₂ O ₂	己酸	—	0.06

注:“—”表示未检测到该成分。

续表 1 滁菊干花与滁菊配方颗粒中挥发性成分对比结果

序号	保留时间/min	分子式	化学名	干花质量分数/%	滁菊配方颗粒质量分数/%
49	22.120	C ₁₀ H ₂₀	(1R,4S)-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷	0.53	1.63
50	22.205	C ₁₆ H ₁₈	1-苯基-2-对甲苯基-丙烷	0.55	0.06
51	22.273	C ₁₀ H ₁₆ O	顺式-p-甲基-1(7,8)-二烯-2-醇	0.15	0.01
52	22.470	C ₁₅ H ₂₄ O	蛇麻烯环氧化物	0.05	0.10
53	22.841	C ₁₀ H ₁₆ O	蒿酮	—	0.27
54	23.474	C ₁₅ H ₂₄ O	石竹素	0.46	0.09
55	23.720	C ₁₅ H ₂₄ O	鼠尾草-4-(14)-烯-1-酮	0.12	0.42
56	23.827	C ₁₅ H ₂₆ O	反式-橙花叔醇	—	0.1
57	24.358	C ₁₅ H ₂₆ O	顺式-倍半香桉烯	—	0.09
58	24.437	C ₁₅ H ₂₄ O	喇叭茶醇	—	0.19
59	24.788	C ₁₅ H ₂₄ O	匙叶桉油烯醇	0.17	0.35
60	24.944	C ₁₅ H ₂₄ O	香橙烯氧化物	0.13	0.37
61	25.320	C ₁₅ H ₂₄ O	环氧化异香桉烯	0.12	—
62	25.359	C ₁₅ H ₂₆ O	蓝桉醇	—	0.11
63	25.480	C ₁₅ H ₂₄ O	二表雪松烯-1-氧化物	0.12	0.35
64	25.792	C ₁₅ H ₂₄ O	丁香烯环氧化物	0.13	0.12
65	25.884	C ₁₅ H ₂₆ O	刺柏脑	1.02	1.82
66	26.054	C ₁₅ H ₂₆ O	绿花白千层醇	2.15	3.57
67	26.997	C ₁₅ H ₂₄ O	长叶松香芹酮	—	0.47
68	28.329	C ₁₅ H ₂₄ O	环氧化异香桉烯	1.04	1.08
69	29.342	C ₁₅ H ₂₄ O	柏木烯醇	—	0.1

注:“—”表示未检测到该成分。

干花中百分质量在 1% 以上成分包括八甲基环四硅氧烷、十甲基环五硅氧烷、十二甲基环六硅氧烷、侧柏醇、樟脑、乙酸冰片酯、龙脑、1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘、环氧异香橙烯,占峰总面积的 75.3%,滁菊配方颗粒中百分质量在 1% 以上成分包括乳酸乙酯、十甲基环五硅氧烷、十二甲基环六硅氧烷、樟脑、乙酸冰片酯、反式石竹烯、(E)-β-金合欢烯、龙脑、1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘、(1R,4S)-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷、绿花白千层醇、环氧异香橙烯,占总峰面积的 61.2%,

3 讨论

固相微萃取头是在一段纤维表面涂渍高表面积多空聚合物材料的装置,其吸附强度主要取决于涂层材料的性质和厚度,且不同极性涂层的萃取头对不同极性的香气物质吸附差异很大^[12-13]。目前用于菊花香气分析的固相微萃取头类型诸多,如适用于小分子非极性挥发性物质的 PDMS,适用于极性挥发性物质的 PDMS/DVB^[14],而 DVB/CAR/PDMS 兼具极性和非极性涂层,吸附范围较宽且吸附能力比其他萃取头强^[15-16],这与滁菊香气复杂,组分差异较大的特点相符合,因此本研究中采用 DVB/CAR/PDMS 萃取头分析滁菊香气组成。

总的来说,滁菊配方颗粒保留了滁菊大部分特殊风味组分,如樟脑、乙酸冰片酯、龙脑、金合欢烯

等,这些成分不仅构成了滁菊的特征香气,可为滁菊配方颗粒的鉴定与质量控制提供一定理论依据,还是发挥清热解毒、增强人体免疫力的物质基础,如其中龙脑、樟脑具有抗菌消炎功效,金合欢烯具有消炎、止咳、平喘、祛痰等功效^[17]。

综上所述,通过固相微萃取-气质联用技术进行分析比较表明采用本工艺制得的滁菊配方颗粒保留了滁菊饮片的特征挥发性成分,为滁菊颗粒的鉴定与质量控制提供进一步理论依据。

参考文献

- [1] 李世光,龚建国,张涛,等. 滁菊降血压改善临床症状的研究[J]. 中医临床研究,2013,5(7):22-23.
- [2] 罗杰,林蔚兰,王德勤,等. 野菊花颗粒的质量标准研究[J]. 中成药,2003,25(5):363-365.
- [3] 朱雪松,郑芳. 菊花颗粒的制备与含量测定[J]. 医药导报,2005,24(12):1150-1151.
- [4] 彭贵龙,周光明,秦红英. HPLC 同时测定药用白菊花中绿原酸、木犀草素、芹菜素和金合欢素[J]. 天然产物研究与开发,2014,26(7):1067-1071.
- [5] 孙曙光,韩永成,刘伟,等. 不同产地野菊花挥发油化学成分 GC-MS 比较分析[J]. 河南农业科学,2014,43(7):116-120.
- [6] 熊磊,姚应水,陈祥攀. 滁菊化学成分及药理作用研究进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报,2013,34(14):2109-2111.
- [7] 刘保华,汪冬庚,周国梁. 滁菊挥发油的抗炎实验研究[J]. 化学与生物工程,2015(2):57-59.