GC-MS 分析王不留行、决明子、酸枣仁炒制前后脂肪油成分的变化

蔡瑾瑾[1]，陈璐[2*]

（1. 成都中医药大学 临床医学院和附属医院，成都 610075；
2. 成都中医药大学 中药材标准化教育部重点实验室，四川省中药资源系统研究与开发利用重点实验室——省部共建国家重点实验室培育基地，成都 611137）

［摘要］ **目的**：分析和鉴定王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材炒制前后脂肪油类成分的变化，为探索种子类药材“逢子必炒”的炮制机制奠定基础。**方法**：以石油醚为溶剂，采取索氏提取器提取脂肪油，甲酯化后用气相色谱-质谱联用技术（GC-MS）分离、鉴定其组成和相对质量分数。HP-5 毛细管柱（0.25 mm×30 m，0.25 μm），载气 99.999% 高纯氮，流速 1 mL·min^{-1}，采用程序升温方式（初始温度 50 ℃，以 5 ℃·min^{-1}升至 170 ℃，停留 4 min，5 ℃·min^{-1}升至 190 ℃，0.5 ℃·min^{-1}升至 200 ℃，10 ℃·min^{-1}升至 240 ℃，保持 4 min），进样量 1 μL，电子轰击离子源（EI），离子源温度 220 ℃，电子能量 70 eV。**结果**：王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材生品脂肪油提取率分别为 3.34%，6.16%，20.66%，炒制品脂肪油提取率分别为 4.67%，7.40%，26.35%。王不留行生品鉴定出 7 个化合物，炒制品鉴定出 10 个化合物；决明子生品鉴定出 8 个化合物，炒制品鉴定出 9 个化合物；酸枣仁生品鉴定出 10 个化合物，炒制品鉴定出 14 个化合物。**结论**：炒制能提高脂肪油的提取效率，炒制后 3 种药材脂肪油的组成出现了一些共性变化。

［关键词］ 王不留行；决明子；酸枣仁；脂肪油；气相色谱-质谱联用技术；油酸；硬脂酸
［中图分类号］ R283.1；R943.1；R284.1；O657.63 ［文献标识码］ A ［文章编号］ 1005-9903(2017)15-0031-04
［doi］ 10.13422/j.cnki.syfjx.2017150031
［网络出版地址］ http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170511.0902.012.html
［网络出版时间］ 2017-05-11 9:02

Analysis on Variation of Fatty Oil Components in Vaccariae Semen, Cassiae Semen and Ziziphi Spinosae Semen Before and After Stir-frying by GC-MS

CAI Jin-jin[1], CHEN Lu[2*]

(1. *School of Clinical Medical, Teaching Hospital, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu* 610075, *China*; 2. *Chengdu University of TCM, Key Laboratory of Standardization of Chinese Herbal Medicine, Ministry of Education, Key Laboratory of Systematic Research, Development and Utilization of Chinese Medicine Resources in Sichuan Province, Key Laboratory Breeding Base of Co-founded by Sichuan Province and Ministry of Science and Technology, Chengdu* 611137, *China*)

［**Abstract**］ **Objective**: To explore the mechanism of the theory of “every semen must be fried” by analyzing and identifying the variation of fatty oil components in Vaccariae Semen, Cassiae Semen and Ziziphi Spinosae Semen before and after stir-frying. **Method**: The fatty oil was extracted through petroleum ether by Soxhlet extractor, the composition and relative content was analyzed and identified by GC-MS after methyl esterification, the analysis was performed on a HP-5 capillary column, the carrier gas was nitrogen, the column

［收稿日期］ 20170129(001)
［第一作者］ 蔡瑾瑾，硕士，主管药师，从事药物分析、医院药学研究，Tel：028-87783475，E-mail：67111624@qq.com
［通讯作者］ * 陈璐，博士，副教授，从事中药品种、品质与资源研究，Tel：028-61800231，E-mail：chenlu_cdutcm@qq.com

temperature was set at 50 ℃ and elevated to 170 ℃ at 5 ℃·min^{-1}, keeping 4 min, then up to 190 ℃ at the rate of 5 ℃·min^{-1}, up to 200 ℃ at the rate of 0.5 ℃·min^{-1}, up to 240 ℃ at the rate of 10 ℃·min^{-1}, keeping 4 min. Inject volume was 1 μL. The ionization mode was electron ionization, the ion source temperature was 220 ℃, the electron energy was 70 eV. **Result**: The extraction rates of fatty oil in Vaccariae Semen, Cassiae Semen and Ziziphi Spinosae Semen were 3.34%, 6.16% and 20.66%, the extraction rates of fatty oil in their stir-frying products were 4.67%, 7.40% and 26.35%, respectively. Seven compounds in crude products of Vaccariae Semen were identified, and ten compounds in its stir-frying products of Vaccaroae Semen were identified; eight compounds in crude products of Cassiae Semen were identified, nine compounds in its stir-frying products of Cassiae Semen were identified; ten compounds in crude products of Zizyphi Spinosae Semen were identified, fourteen compounds in its stir-frying products of Zizyphi Spinosae Semen were identified. **Conclusion**: The extraction rate of fatty oil in these three Chinese herbal medicines are increased after stir-frying, the composition of fatty oil in them has some common change after stir-frying.

[**Key words**] Vaccariae Semen; Cassiae Semen; Ziziphi Spinosae Semen; fatty oil; GC-MS; oleic acid; stearic acid

古有“逢子必炒”之说,即诸子类药材皆要炒后才能入煎,考证历代本草,其理论依据始见于明·罗周彦《医宗粹言》诸药制法项下“决明子,萝卜子,芥子,苏子,韭子,青葙子:凡药中用子者,具要炒过研碎入煎,方得味出,若不碎,如米之在(谷),虽煮之终日,米岂能出哉。”关于“逢子必炒”的炮制机制,传统认为,果实种子类药物经炒制处理后,种皮或果皮爆裂,质地酥脆易碎,易于有效成分煎出,增加药效;同时,炒制后药材香气四溢,也能起到矫臭矫味的作用。关于药材在炒制过程中化学成分出现了哪些变化,这些变化是否与临床药效存在相关性,目前进行的相关研究还比较少。

脂肪油在种子类药材中普遍存在且含量较高,其中含有的不饱和脂肪酸,有些是人体需要的脂肪酸,对人体生命活动具有重要意义,如油酸、亚油酸等。油酸具有降低低密度脂蛋白胆固醇的效果,可以预防动脉硬化;亚油酸具有降低血清总胆固醇的功效,预防高血压和动脉粥状硬化具有明显效果。本实验选择 3 种常用的种子类药材(王不留行、决明子、酸枣仁)为研究对象,从种子类药材中普遍存在且含量较高的脂肪油成分入手,利用 GC-MS 分析炒制前后脂肪油成分的变化,为探索“逢子必炒”的炮制机制奠定基础[1-2]。对这 3 种常用中药材的脂肪油成分,前人已有少量研究报道,但未涉及其共性变化的探讨[3-7]。

1 材料

7890A-5975C 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司),BP211D AG 型电子天平(德国 Sartorius 公司),索氏提取装置(四川蜀牛玻璃仪器有限公司)。王不留行、决明子、酸枣仁药材均购自成都荷花池药材市场,经成都中医药大学药学院中药鉴定教研室龙飞副教授鉴定与确认,分别为石竹科植物麦蓝菜 *Vaccaria segetalis* 的干燥种子,豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* 的干燥成熟种子,鼠李科植物酸枣 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* 的干燥成熟种子;石油醚(60~90 ℃,国药集团化学试剂有限公司),水为超纯水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 药材的炮制与粉碎 分别取王不留行、决明子、酸枣仁药材,参照 2015 年版《中国药典》[8] 对这 3 种药材的炮制方法进行炒制,粉碎成粗粉,过 40 目筛,备用。

2.2 脂肪油的提取与处理 脂肪油提取和甲酯化条件的选择参考文献[3,9-11]。

2.2.1 脂肪油的提取 取粉碎后的药材粗粉 30 g,以石油醚(60~90 ℃)为溶剂,利用索氏提取器连续提取 6 h 至提取液呈无色,提取液减压回收石油醚,得粗油,称定质量。

2.2.2 脂肪油的甲酯化 称取脂肪油 100 mg,加入含 1% 硫酸的甲醇 4 mL,于 70 ℃ 水浴加热 30 min,加入正己烷 4 mL,取上清液,用 2 mL 正己烷洗 1 次,合并上清液,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤,备用。

2.3 检测条件[3-6] HP-5 毛细管柱(0.25 mm × 30 m,0.25 μm),载气 99.999% 高纯氮,流速设定 1 mL·min^{-1},程序升温(初始温度设定 50 ℃,以 5 ℃·min^{-1}升至 170 ℃,停留 4 min,5 ℃·min^{-1}升至 190 ℃,0.5 ℃·min^{-1}升至 200 ℃,10 ℃·min^{-1}升至

240 ℃,保持 4 min),进样量 1 μL。电子轰击离子源(EI),离子源温度 220 ℃,电子能量 70 eV,全扫描方式。

2.4 数据处理及质谱检索 样品经气相色谱-质谱分析,所得的质谱图运用 NIST 图谱库检索确定化合物结构[相似度(SI) >90%],采用色谱峰面积归一化法确定各个成分相对含量。

2.5 脂肪油提取率 取王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材生品和炒制品各 3 份,按 **2.2.1** 项下方法提取脂肪油,称重,计算脂肪油提取率,结果王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材生品脂肪油提取率分别为 3.34%,6.16%,20.66%,炒制品脂肪油提取率分别为 4.67%,7.40%,26.35%。

2.6 GC-MS 分析 王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材炒制前后脂肪油总离子流图分别见图 1 ~ 3;

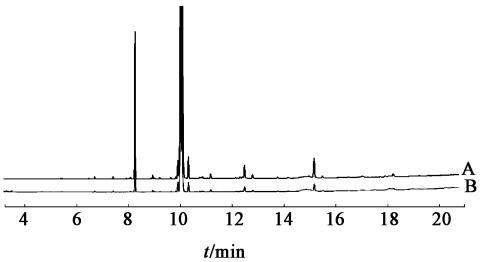

图 1 王不留行炒制品(A)和生品(B)中脂肪油成分的总离子流

Fig. 1 TIC of fatty oil components in stir-frying products(A) and crude products(B) of Vaccariae Semen

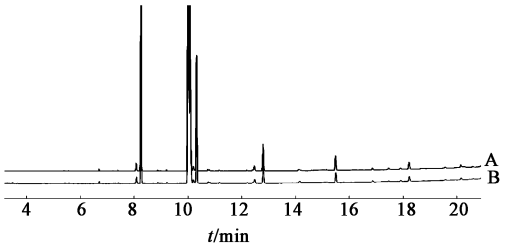

图 2 决明子炒制品(A)和生品(B)中脂肪油成分的总离子流

Fig. 2 TIC of fatty oil components in stir-frying products(A) and crude products(B) of Cassiae Semen

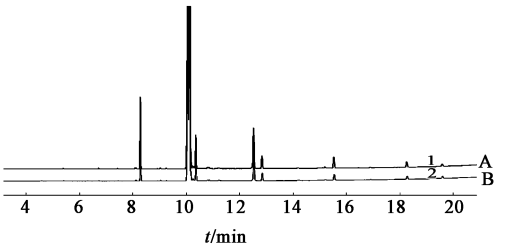

图 3 酸枣仁炒制品(A)和生品(B)中脂肪油成分的总离子流

Fig. 3 TIC of fatty oil components in stir-frying products(A) and crude products(B) of Ziziphi Spinosae Semen

王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材炒制前后脂肪油组成及其相对质量分数分别见表 1 ~ 3。

3 讨论

本文选择 3 种常用的种子类药材王不留行、决明子和酸枣仁为研究对象,从种子类药材普遍含有的化学成分脂肪油入手,分析炒制前后脂肪油类成分的变化,结果发行炒制能提高脂肪油的提取效率,3 种药材炒制后大部分脂肪油的提取率有所上升。3 种药材炒制前后脂肪油成分组成变化不大,所含脂肪酸均以不饱和脂肪酸为主,质量分数最高的不饱和脂肪酸均为油酸和亚油酸,质量分数最高的饱和脂肪酸均为棕榈酸。

炒制后 3 种药材脂肪油的组成出现一些共性变化:①王不留行、决明子、酸枣仁 3 种药材生品的饱和脂肪酸相对质量分数分别为 15.95%,37.09%,13.57%,不饱和脂肪酸的相对质量分数分别为 84.04%,62.31%,86.42%;而这 3 种药材炒制品的饱和脂肪酸相对质量分数分别为 19.14%,38.07%,15.34%,不饱和脂肪酸的相对质量分数分别为 80.86%,61.32%,84.66%。炒制后不饱和

表 1 王不留行炒制前后脂肪油成分的组成及相对质量分数

Table 1 Composition and relative content of fatty oil components in Vaccariae Semen before and after stir-frying

No.	t_R/min		化合物	分子式	相似度/%		相对质量分数/%	
	生品	炒制品			生品	炒制品	生品	炒制品
1	8.239	8.240	棕榈酸甲酯	$C_{17}H_{34}O_2$	98	98	11.71	13.11
2	–	8.922	14-甲基棕榈酸甲酯	$C_{18}H_{36}O_2$	–	93	–	0.31
3	9.892	9.898	16-甲基十七烷酸甲酯	$C_{19}H_{38}O_2$	98	98	2.21	2.34
4	9.992	10.010	亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	99	99	40.01	38.28
5	10.051	10.075	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	99	99	40.71	38.17
6	10.304	10.304	硬脂酸甲酯	$C_{19}H_{38}O_2$	99	99	2.03	2.39
7	–	11.163	十九烷酸甲酯	$C_{20}H_{40}O_2$	–	95	–	0.52
8	12.469	12.469	二十碳烯酸甲酯	$C_{21}H_{40}O_2$	99	99	1.47	1.64
9	–	12.780	二十烷酸甲酯	$C_{21}H_{42}O_2$	–	99	–	0.47
10	15.157	15.151	二十二碳烯酸甲酯	$C_{23}H_{44}O_2$	91	99	1.85	2.77

表 2　决明子炒制前后脂肪油成分的组成及相对质量分数

Table 2　Composition and relative content of fatty oil components in Cassiae Semen before and after stir-frying

No.	t_R/min		化合物	分子式	相似度/%		相对质量分数/%	
	生品	炒制品			生品	炒制品	生品	炒制品
1	8.081	8.075	9-十六碳烯酸甲酯	$C_{17}H_{32}O_2$	99	99	0.60	0.60
2	8.251	8.251	棕榈酸甲酯	$C_{17}H_{34}O_2$	98	98	21.27	20.80
3	10.016	10.022	亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	99	99	38.26	37.51
4	10.069	10.075	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	99	99	24.05	23.27
5	10.316	10.316	硬脂酸甲酯	$C_{19}H_{38}O_2$	99	99	10.81	11.58
6	–	12.469	二十碳烯酸甲酯	$C_{21}H_{40}O_2$	–	99	–	0.54
7	12.792	12.786	二十烷酸甲酯	$C_{21}H_{42}O_2$	98	98	2.67	3.05
8	15.492	15.486	二十二烷酸甲酯	$C_{23}H_{46}O_2$	99	99	1.55	1.75
9	18.227	18.221	二十四烷酸甲酯	$C_{25}H_{50}O_2$	99	99	0.79	0.89

表 3　酸枣仁炒制前后脂肪油成分的组成及相对质量分数

Table 3　Composition and relative content of fatty oil components in Ziziphi Spinosae Semen before and after stir-frying

No.	t_R/min		化合物	分子式	相似度/%		相对质量分数/%	
	生品	炒制品			生品	炒制品	生品	炒制品
1	8.281	8.275	棕榈酸甲酯	$C_{17}H_{34}O_2$	98	98	6.08	6.61
2	10.057	10.057	亚油酸甲酯	$C_{19}H_{34}O_2$	99	99	40.05	39.20
3	10.122	10.128	油酸甲酯	$C_{19}H_{36}O_2$	99	99	40.86	38.75
4	10.245	10.245	叶绿醇	$C_{20}H_{40}O$	95	98	0.43	0.40
5	10.357	10.351	硬脂酸甲酯	$C_{19}H_{38}O_2$	99	99	3.42	3.85
6	–	10.786	亚油酸乙酯	$C_{20}H_{36}O_2$	–	99	–	0.15
7	–	10.845	油酸乙酯	$C_{20}H_{38}O_2$	–	96	–	0.17
8	12.528	12.516	二十碳烯酸甲酯	$C_{21}H_{40}O_2$	99	99	4.98	5.66
9	12.839	12.827	二十烷酸甲酯	$C_{21}H_{42}O_2$	99	98	1.46	1.73
10	–	15.192	二十二碳烯酸甲酯	$C_{23}H_{44}O_2$	–	95	–	0.22
11	15.533	15.527	二十二烷酸甲酯	$C_{23}H_{46}O_2$	99	99	1.38	1.67
12	18.268	18.251	二十四烷酸甲酯	$C_{25}H_{50}O_2$	99	99	0.80	0.94
13	19.592	19.580	角鲨烯	$C_{30}H_{50}$	99	99	0.53	0.51
14	–	20.921	二十六烷酸甲酯	$C_{27}H_{54}O_2$	–	93	–	0.14

脂肪酸总相对质量分数均略有下降，饱和脂肪酸总相对质量分数均略有上升；②炒制后油酸、亚油酸相对质量分数均降低，硬脂酸、二十碳烯酸和二十烷酸的相对质量分数均增加；③炒制后鉴定检测的化合物数目均增多，分析图 1～3 后发现，生品中未检出的几个成分，在总离子流图中均可见相应微弱色谱峰，可见并非是产生了新成分，而是生品中含量较低未达到检测限，炒制能促进这些成分溶出或是促使其他成分向这些成分转化，这有待于进一步研究证实。本文仅选择了 3 种常见种子类药材为研究对象，从脂肪油类成分角度进行了初步研究，后期应增大样品量和种类，扩展化学成分研究对象（如挥发油、蛋白质等活性成分），并结合相关药理实验进行研究，为深入挖掘“逢子必炒”的内涵和探索其炮制机制提供实验依据。

［参考文献］

［1］ 郭建民. “逢子必炒”之探索［J］. 贵阳中医学院学报，1994，16（3）：59-60.

［2］ 黄凤洪，黄庆德，刘昌盛. 脂肪酸的营养与平衡［J］. 食品科学，2004，25（增刊）：262-265.

［3］ 李翠芹，任钧. 王不留行生品与炮制品脂溶性成分的 GC-MS 分析［J］. 中成药，2009，31（1）：79-81.

［4］ 项略，胡启迪，顾青青，等. GC-MS 法测定决明子脂肪油组成及稳定性探讨［J］. 上海中医药杂志，2012，46（7）：78-81.

［5］ 刁全平，侯冬岩，郭华，等. 决明子中脂肪酸的气相色谱-质谱分析［J］. 鞍山师范学院学报，2014，16（4）：28-30.

［6］ 李兰芳，赵淑兰，吴树勋，等. 酸枣仁脂肪油化学成分的研究［J］. 中药材，1993，16（3）：29-30.

［7］ 周国洪，唐力英，寇真真，等. 炮制对王不留行中刺桐碱及黄酮苷类成分含量及溶出率的影响［J］. 中国实验方剂学杂志，2016，22（22）：18-21.

［8］ 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部［M］. 北京：中国医药科技出版社，2015：53，145，367.

［9］ 黄峥，盛灵慧，马康，等. 5 种脂肪酸甲酯化方法的酯化效率研究［J］. 中国油脂，2013，38（9）：86-88.

［10］ 伍新龄，王凤玲，关文强. 植物油脂肪酸甲酯化方法比较与含量测定［J］. 食品研究与开发，2015，36（7）：84-87.

［11］ 白鹤龙，王晶. 不同提取方法对酸枣仁中脂肪油提取效果的影响［J］. 北京农业，2014（21）：7.

［责任编辑　刘德文］