

HS-SPME-GC-MS 分析河南产牛至挥发性成分

尹震花¹, 王海燕², 彭涛^{1*}

(1. 黄河科技学院, 郑州 450063; 2. 河南大学药学院, 河南 开封 475004)

[摘要] 目的: 分析牛至的挥发性成分。方法: 采用顶空固相微萃取和气质联用技术(HS-SPME-GC-MS), 结合保留指数法并用峰面积归一化法测定相对百分含量。结果: 从牛至中鉴定出了30种挥发性成分, 占总峰面积的99.59%, 其中麝香草酚(43.28%)、麝香草甲醚(11.79%)、石竹烯(11.17%)、2-异丙基甲苯(8.10%)和 γ -松油烯(6.37%)等的含量较高。结论: 牛至的主要挥发性成分为单萜和倍半萜类。

[关键词] 牛至; 挥发性成分; 固相微萃取; 气质联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)06-0077-04

[doi] 10.11653/syjf2014060077

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.13422/j.cnki.syfjx.000004.html>

[网络出版时间] 2014-01-06 11:27

Analysis of the Volatile Constituents in *Origanum vulgaer* Cultivated in Henan by HS-SPME-GC-MS

YIN Zhen-hua¹, WANG Hai-yan², PENG Tao^{1*}

[收稿日期] 20130724(019)

[基金项目] 河南省科技厅重点攻关项目(132102310261)

[第一作者] 尹震花, 助教, 从事中药活性成分研究, Tel:15890342801, E-mail:yinzhenhua1000@126.com

[通讯作者] * 彭涛, 助教, 从事中药活性成分及新药研究, Tel:13674992033, E-mail:edifcztong@126.com

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 290.
- [2] 沈丽, 黄云英, 王雪妮, 等. 菟丝子外用对实验性豚鼠白癜风的药效[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(16): 199.
- [3] 张帆, 武琳, 哈木拉提, 等. 民族药铁棒锤不同炮制品中各元素的光谱分析[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(04): 728.
- [4] 夏卉芳, 李啸红. 菟丝子的药理研究进展[J]. 现代医药卫生, 2012, 28(3): 402.
- [5] 谢新年, 刘艳芳, 吕鹏, 等. 酒制对菟丝子中槲皮素含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(17): 55.
- [6] 吴兆熹, 胡克菲, 马威. 中药炮制前后功效变化与微量元素关系浅析[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(1): 35.
- [7] 张晓鹤. 菟丝子的研究进展[J]. 天津药学, 2004, 2: 43.
- [8] 乔智胜, 苏中武, 李承祜. 三种菟丝子中微量元素和氨基酸的含量测定[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(1): 12.
- [9] 姬晓灵, 赵秀荣, 王淑静. 五种中草药微量元素含量分析[J]. 宁夏医学院学报, 2001, 23(6): 422.
- [10] 马晓青, 蔡皓, 刘晓, 等. 硫磺熏蒸前后中药菊花中金属元素及微量元素的 ICP-AES [J]. 药物分析杂志, 2011, 31(6): 1031.
- [11] 廖建华, 金奇, 李银保, 等. 不同方法提取菟丝子微量元素 Fe, Mn 和 Mg 的比较研究[J]. 广东微量元素科学, 2012, 19(4): 54.
- [12] 李玉珍, 林燕奎, 颜治, 等. 9 厂家牛黄解毒片中 5 种微量元素检测[J]. 中国药房, 2007, 18(10): 768.
- [13] 霍仕霞, 闫明, 刘晓东, 等. 白花丹中微量元素的测定[J]. 中国药房, 2010, 21(11): 1008.
- [14] 谭晓梅, 王新雨, 张明明, 等. 5 种贝壳类动物药及其煎出物中微量元素含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(1): 61.

[责任编辑 顾雪竹]

(1. *Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China;*
2. *Pharmaceutical College, Henan University, Kaifeng 475004, China*)

[Abstract] Objective: To assay the volatile constituents of *Origanum vulgaer*. **Method:** The volatiles were analyzed by head-space solid micro-extraction, coupled with GC-MS and Kovats index. **Result:** There were 30 different kinds of volatile constituents in *O. vulgaer*, 99.59% of the total essential constituents. The contents of thymol (43.28%), methyl thymol ether (11.79%), caryophyllene (11.17%), 2-isopropyltoluene (8.10%) and γ -terpinene (6.37%) were higher. **Conclusion:** The major volatile constituents of *O. vulgaer* were monoterpenes and sesquiterpenoids.

[Key words] *Origanum vulgaer* L.; volatile constituents; SPME; GC-MS

牛至为唇形科牛至属多年生草本植物,主要分布于地中海至中亚地区、北非、北美及我国大部分地区,味辛、性凉、无毒,全草可入药,具有清热解表、理气化湿、利尿消肿之功效。临床用于预防流感,治疗黄疸、中暑、发热、呕吐、急性胃肠炎和腹痛等症^[1-2]。

现代研究表明,牛至中含有挥发油、酚酸、黄酮、三萜、甾体以及其他类型的化合物^[3-4],具有抗菌、镇痛、消炎、调节免疫、影响心血管系统和呼吸系统等方面的作用,其主要抗菌有效部位为挥发油^[5]。目前关于牛至挥发油的化学成分已有较多报道,主要是对不同产地的牛至采用超临界 CO₂ 技术和索氏提取水蒸气蒸馏法等提取挥发油,GC-MS 分析其化学成分^[6-10],唯有管俊峰等^[11]采用固相微萃取技术 (SPME) 提取挥发性成分,GC-MS 分析不同产地牛至的挥发性成分。从中可以看出,不同产地的牛至挥发油中化合物的类型及含量各不同。为了研究河南开封产牛至与其他地区的区别,本文首次采用顶空固相微萃取牛至的挥发性成分,利用 GC-MS 分析其成分,为其进一步开发利用提供理论依据。

1 材料

美国安捷伦公司 GC 6890 N GC/5975 MS 型气相色谱-质谱联用仪,美国 Supelco 公司手动固相微萃取 (SPME) 装置,萃取头为 65 μm 聚二甲基硅氧烷 (PDMS-DVB), C₆ ~ C₂₆ 正构烷烃 (Alfa Aesar)。

牛至于 2010 年 7 月采于河南省南召县板平镇,由河南大学中药研究所李昌勤副教授鉴定为唇形科牛至属植物牛至 *Origanum vulgaer* L.。

2 方法

2.1 挥发性成分萃取 使用前先将 SPME 的萃取纤维头在气相色谱的进样口老化 10 min,老化温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,载气体积流量为 1.0 mL \cdot min⁻¹。取牛至 0.7 g,置于 5 mL 样品瓶中,盖上盖子,插入 65 μm PDMS-DVB 萃取纤维头,于 50 $^{\circ}\text{C}$ 下顶空取样 30 min

后,取出后立即插入色谱仪进样口 (温度 250 $^{\circ}\text{C}$) 脱附 1 min。

2.2 气相色谱条件 DB-5 MS 石英弹性毛细管柱 (0.10 μm \times 30.0 m \times 250 μm),载气为高纯氦气 (99.999%),流速 1.0 mL \cdot min⁻¹,进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$,色谱柱初始温度 50 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2.0 min),以 4 $^{\circ}\text{C}\cdot$ min⁻¹ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min),最后以 6 $^{\circ}\text{C}\cdot$ min⁻¹ 升温至 230 $^{\circ}\text{C}$ (保持 10 min)。分流进样,分离比为 10:1。

2.3 质谱条件 电离方式 EI 源,电离能量 70 eV,离子源温度为 250 $^{\circ}\text{C}$,四极杆温度 200 $^{\circ}\text{C}$,传输线温度 280 $^{\circ}\text{C}$,电子倍增器电压 1 553 V。质量扫描范围 m/z 30 ~ 400,谱图检索采用 RTLPEST3.L 和 NIST05.L 进行检索。

2.4 保留指数测定^[12],将色谱正构烷烃样品 (C₆ ~ C₂₆) 各取等量混合后,按上述 GC-MS 条件进行色谱分析,测定各正构烷烃的保留时间,再在完全相同的条件下,对样品进行分析,测定各组分的保留时间计算出各组分的 Kovats 保留指数。

3 结果

用 HS-SPME-GC-MS 技术,从牛至中得到了 30 个挥发性成分,占总峰面积的 99.41%,结果见表 1。

4 讨论

从表 1 可以看出,牛至的主要挥发性成分是单萜和倍半萜类。其中麝香草酚 (43.28%)、麝香草甲醚 (11.79%)、石竹烯 (11.17%)、2-异丙基甲苯 (8.10%) 和 γ -松油烯 (6.37%) 等的含量较高。

浦海等^[6]采用超临界 CO₂ 技术萃取产于四川牛至的挥发油,GC-MS 分析从中分离鉴定 46 种成分,占总含量的 90.347%,其中包括酸、酯、烯、酚、炔、醇等多种化合物,含量最多有麝香草酚 (14.109%) 和 1-甲基-2-异丙基-苯 (14.61%);邓雪华等^[7]采用索氏提取水蒸气蒸馏法提取产于湖

表 1 牛至的挥发性成分及相对含量

No.	化学成分	相对含量/%	KI
1	α -thujene α -侧柏烯	1.56	921.3
2	(1R)- α -pinene 1R- α -蒎烯	0.74	927.3
3	camphene 樟脑烯	0.33	942.3
4	(1S)-(1)- β -pinene (1S)-(1)- β -蒎烯	0.18	970.6
5	β -myrcene β -月桂烯	3.67	988.8
6	3-octanol 3-辛醇	0.15	1 000.3
7	α -phellandrene α -水芹烯	0.49	1 003.3
8	2-carene 2-萜烯	2.26	1 013.9
9	2-isopropyltoluene 2-异丙基甲苯	8.10	1 023.4
10	ocimene 罗勒烯	0.15	1 044.2
11	γ -terpinene γ -松油烯	6.37	1 056.4
12	cis- β -terpineol 顺式- β -松油醇	0.85	1 067.8
13	terpinolene 异松油烯	0.17	1 078.8
14	linalool 芳樟醇	0.90	1 101.5
15	borneol 莜醇	0.51	1 167.2
16	methyl thymol ether 麝香草甲醚	11.79	1 229.7
17	thymoquinone 百里醌	0.20	1 262.1
18	thymol 麝香草酚	43.28	1 309.4
19	thymyl acetate 麝香草酚醋酸酯	0.63	1 346.9
20	caryophyllene 石竹烯	11.17	1 411.5
21	(+)-aromadendrene (+)-香橙烯	0.21	1 423.7
22	α -caryophyllene α -石竹烯	0.50	1 440.6
23	α -muurolene α -衣兰油烯	0.26	1 464.5
24	germacrene D 大根香叶烯 D	0.98	1 469.1
25	viridiflorene 绿花烯	0.17	1 478.4
26	bicyclogermacrene 牛儿烯	0.49	1 483.1
27	α -farnesene α -金合欢烯	2.73	1 503.9
28	d-cadinene d-葎澄茄烯	0.37	1 509.6
29	espatulenol 匙叶桉油烯醇	0.12	1 566.1
30	caryophyllene oxide 石竹烯氧化物	0.26	1 568.7
总计		99.41	

南牛至的挥发油,GC-MS 分析从中鉴定了其中 69 个成分,占挥发油总量的 98.28%,其中麝香草酚、香荆芥酚、对聚伞花素、石竹烯、松油醇等 6 种主要成分占总含量的 74.29%;田辉等^[8]采用索氏提取水蒸气蒸馏法提取产于云南牛至的挥发油,GC-MS 分析鉴定了其中 29 个化合物成分,占挥发油总量的 97.0%,主要含酚性化合物和倍半萜烯类。其中对聚伞花素(9.58%)、 γ -松油烯(10.02%)、百里香酚(15.39%)、香荆芥酚(38.22%)和石竹烯(6.09%)含量相对较高。张潇月等^[9]采用挥发油

萃取器按常规水蒸气蒸馏法提取购自西南草药行牛至的挥发油,GC-MS 分析从其精油中鉴定出 21 个化合物,占总量的 94%,其中麝香草酚(3.42%)及其甲醚(16.00%)、香荆芥酚(45.10%)、对-聚伞花素(5.36%)和 β -石竹烯(7.77%)及其氧化物(4.55%)含量最高;张治远^[10]等利用索氏提取法和水蒸气蒸馏法提取产于秦巴山区牛至的挥发油,采用 GC-MS 分析从中鉴定了 36 种成分,其中含量最高的是麝香草酚,其次较高的成分有 2-甲氧基-4-甲基-1-异丙基苯(2.49%)、1-甲氧基-4-甲基-2-异丙

基苯(3.18%)、2-甲基-5-异丙基苯酚(5.49%)、十六(碳)烷(2.77%)、十五烷(6.44%)、1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)环己烯(2.70%)、(正)十八(碳)烷(5.53%)等。可见,采用不同的方法萃取产地不同的牛至中挥发油,其挥发性成分的含量及其种类不同;咎俊峰等^[11]采用固相微萃取技术(SPME)提取挥发性成分,GC-MS分析产于湖北团风、湖北大冶、湖北罗田、湖北麻城、安徽岳西、浙江丽水、江西九江、河南洛阳、云南昆明、云南楚雄和四川等地的牛至中挥发性成分,结果显示,不同产地的牛至挥发性成分种类和相对含量有一定量的差异,但均含有3-辛酮、月桂烯、*P*-聚伞花素、 γ -松油烯、百里香酚、香荆芥酚、石竹烯和石竹烯氧化物等成分。对比分析可以看出,种类和含量的差异可能与其产地、提取的方法不同有关,这对探讨牛至药材的品质与生态环境之间的规律具有重要意义,可望为牛至药材实施GAP种植提供科学依据。另外其主要成分均含有麝香草酚,麝香草酚是主要的有效抗菌成分,这为不同产地的牛至挥香成分具有抗菌活性提供了理论依据。

此外,牛至精油还是是一种重要的绿色、环保、安全的天然抗菌素和抗氧化剂,在医药、畜牧业、食品等方面具有广阔的应用前景,但是目前还有待于研究和开发高效的分离手段提取牛至精油,以便为牛至精油的资源开发及其实际应用提供科学理论依据。

[参考文献]

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物

志.第60卷[M].北京:科学出版社,1997:247.

- [2] 中国药科大学. 中药辞海.第2卷[M].北京:中国医药科技出版社,1996:126.
- [3] 伍睿,叶其,陈能煜,等. 牛至化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2000,12(6):13.
- [4] 刘刚,孟茜,陈宁. 牛至化学成分研究[J]. 中药材,2002,25(9):640.
- [5] Jansen A M, Scheffer J J, Baarheim-Svendsen. Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review; aspects of Test Methods [J]. Planta Medica,1987,53(5):395.
- [6] 蒲海,王远强,张婧诗,等. 运用气相色谱-质谱(GC-MS)联用法对牛至挥发油化学成分的分析[J]. 重庆工学院学报,2007,21(5):115.
- [7] 邓雪华,王光忠,孙丽娟,等. 牛至挥发油化学成分GC-MS分析[J]. 中药材,2007,30(5):555.
- [8] 田辉,李萍,赖东美. 牛至挥发油的GC-MS分析[J]. 中药材,2006,29(9):920.
- [9] 张潇月,肖丹,白冰如,等. 牛至和石香薷精油成分的GC-MS分析[J]. 中草药,2009,40(2):208.
- [10] 张治远,赵燕,杨兴斌,等. 气相色谱-质谱法分析牛至中挥发油与脂肪酸成分[J]. 医药导报,2009,28(5):549.
- [11] 咎俊峰,陈艳霞,陈平,等. 不同产地牛至挥发性成分的SPME/GC-MS法分析[J]. 时珍国医国药,2013,24(1):37.
- [12] 康文艺,王金梅,姬志强,等. 迎春挥发性成分HS-SPME-GC-MS分析[J]. 天然产物研究与开发,2009,21(1):84.

[责任编辑 顾雪竹]

《中国中药杂志》2014年征订启事

《中国中药杂志》系中国科协主管,中国药学会主办,中国中医科学院中药研究所承办的综合性中药学术期刊。创刊于1955年7月,是创刊最早、发行量最大的中药学术刊物。《中国中药杂志》全面反映我国中医药科研最高学术水平,主要报道该领域新成果、新技术、新方法与新思路,内容包括栽培、资源与鉴定、炮制、药剂、化学、药理、不良反应、临床等。设有专论、综述、研究论文、研究报告、临床、学术探讨、药事管理、经验交流、信息等栏目。主要读者对象为医药领域各级管理部门、研究院所、大专院校、企业以及医院等从事医药科研、管理、生产、医院制剂及临床研究等方面的专业人员。

《中国中药杂志》现为半月刊,128页,2014年定价每期30元,全年24期定价为720元。国内刊号11-2272/R,国际刊号1101-5302。

本刊现已全面实现网络编辑办公,如欲投稿或联系本刊、获取本刊各种信息动态请登录中国中药杂志网站 www.cjmm.com.cn 或 www.中国中药杂志.com。

联系电话:稿件查询010-64045830转602;主任电话010-64058556;资源与栽培栏编辑:010-64048925;制剂栏编辑:010-64040392;化学栏编辑:010-64040113;药理栏编辑:010-84022522;临床栏编辑:010-64059766;电子杂志制作发行及网上维护:010-64030625。