

## SD-HS-SPME-GC-MS 分析华中 碎米荠挥发性成分

卢金清, 李婷\*, 郭彧, 杨珊, 唐瑶兴, 阮小云, 江汉美  
(湖北中医药大学/湖北省药用植物研发中心, 武汉 430065)

**[摘要]** 目的:对华中碎米荠挥发性成分进行研究。方法:分别采用水蒸气蒸馏法(SD)和顶空固相微萃取法(HS-SPME)提取华中碎米荠挥发性成分;通过气质联用(GC-MS)分析其化学成分组成,并应用色谱峰面积归一化法计算各成分的相对百分含量。结果:采用SD-GC-MS共分离出67个色谱峰,鉴别出其中34个化合物,占挥发油总量的94.34%;采用HS-SPME-GC-MS共分离出62个色谱峰,鉴别出其中48个化合物,占总挥发性成分的98.29%。通过这两种技术共同鉴定出的挥发性成分共有5种,其中含量最高的成分为4-异硫代氰酰基-1-丁烯。结论:SD与HS-SPME分别适用于不同类型的挥发性成分的提取,两者联用分析华中碎米荠挥发性成分能够得到更加全面的信息。

**[关键词]** 水蒸气蒸馏; 顶空固相微萃取; 气相色谱-质谱; 华中碎米荠; 挥发性成分

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)01-0148-05

### Analysis of Volatile Constituents in *Cardamine urbaniana* by SD-HS-SPME-GC-MS

LU Jin-qing, LI Ting\*, GUO Yu, YANG Shan, TANG Yao-xing, RUAN Xiao-yun, JIANG Han-mei  
(Hubei University of Traditional Chinese Medicine/Research and Development Center  
of Medicinal Plants in Hubei Province, Wuhan 430065, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze the volatile constituents in *Cardamine urbaniana*. **Method:** The volatile oil from *C. urbaniana* was extracted by steam distillation (SD) and solid phase micro extraction (SPME). The constituents were separated and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry with the area normalization method to determine the relative percentage content of each component. **Result:** Sixty-seven compounds were isolated and 34 compounds were identified by SD that composed about 94.34% of the total volatile oil; and 62 compounds were isolated and 48 compounds were identified by SPME that composed about 98.29% of the volatile oil. Five kinds of the volatile components are identified by the two methods together and the content of 4-isothiocyanato-1-butene is highest. **Conclusion:** SPME and SD were applied to the extraction of different types of volatile components, combined with the two methods together to analyze the volatile components in *C. urbaniana* can get more comprehensive information.

**[Key words]** SD; HS-SPME; GC-MS; *Cardamine urbaniana*; volatile constituents

华中碎米荠为十字花科碎米荠属多年生草本植

物,分布于浙江、湖北、湖南、江西、陕西南部、甘肃南部、四川中南部等地<sup>[1]</sup>。华中碎米荠为民间常用药物,性平,味苦、辛,其根茎有止咳、化痰、活血、止泻等功效,主要用于治疗百日咳、慢性支气管炎、小儿腹泻、跌打损伤等症<sup>[2-3]</sup>;其幼嫩茎可供食用,全草亦作妇女补虚药,并可治红、白带下<sup>[4]</sup>。水蒸气蒸馏法(SD)是最常见的挥发油提取方法,但易导致挥发性化合物的损失,提取效率低,提取时间长,且高

**[收稿日期]** 20120629(013)

**[第一作者]** 教授,硕士生导师,从事中药及其制剂物质基础研究, Tel:13871312439, E-mail:ljq59169@sohu.com

**[通讯作者]** \*李婷, 硕士, Tel:13517277416, E-mail:625892983@qq.com

温和水也可能使挥发性组分降解和产生化学变化。固相微萃取(SPME)作为一种新型的样品前处理技术,具有对被测药材挥发性成分选择性高、更易解析、分析样品使用量少、无污染、操作简便等特点<sup>[5]</sup>。

目前国内外均无对华中碎米荠挥发性成分的研究报道,本文将SD与SPME两种样品前处理方法共同用于华中碎米荠挥发性成分的分析<sup>[6-8]</sup>,并将两种分析结果进行比较,以期得到更全面、更完整的信息。

## 1 材料

Agilent 6890/5973 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),NIST 2002 型质谱数据库,电子天平(Sartorius, ALC-210.2),挥发油提取器,加热套(10 000 mL, 800 W, 220 V, 天津泰斯特-I-B),圆底烧瓶(HOLO GC-17),手动固相微萃取(SPME)进样器装置(美国 Supelco 公司),65  $\mu\text{m}$  聚二甲基硅氧烷/二乙烯基苯(PDMS/DVB)萃取头(美国 Supelco 公司),15 mL 样品瓶。华中碎米荠采自湖北神农架地区,由中国科学院武汉植物园赵子恩教授鉴定为十字花科碎米荠属华中碎米荠 *Cardamine urbaniana* O. E. Schlz 的根茎。

## 2 方法

### 2.1 样品处理

**2.1.1 水蒸气蒸馏法** 华中碎米荠药材 100 g,粉碎,过 3 号筛,加 12 倍量水,浸泡 6 h,提取 10 h,即得华中碎米荠挥发油。

**2.1.2 顶空固相微萃取** 取华中碎米荠药材 2 g,剪碎,置于固相微萃取仪 15 mL 顶空瓶中,用带有 65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB 萃取纤维头的手动进样器插入瓶内,110  $^{\circ}\text{C}$  平衡 30 min,再顶空萃取 30 min,取出,立即插入气相色谱仪进样口(温度 250  $^{\circ}\text{C}$ );解吸 3 min。

### 2.2 GC-MS 色谱条件

**2.2.1 水蒸气蒸馏法** 色谱条件:DB-35MS 色谱柱(0.25  $\mu\text{m}$   $\times$  0.25 mm  $\times$  30 m)石英毛细管柱,载气氦气,流速 1 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,进样方式分流进样,分流比 10:1,溶剂延时 3 min,程序升温(50  $^{\circ}\text{C}$  保留 5 min,以 3  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 110  $^{\circ}\text{C}$ ,再以 5  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 185  $^{\circ}\text{C}$  保留 2 min,最后以 2  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 250  $^{\circ}\text{C}$ )。质谱条件:离子源 EI 源,电子能量 70 eV,离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ,四极杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ,倍增管电压 1.2 kV,扫描质量范围  $m/z$  35 ~ 550。

**2.2.2 顶空固相微萃取** 色谱条件:HP-5MS 石英毛细管柱(0.33  $\mu\text{m}$   $\times$  0.2 mm  $\times$  50 m),载气氦气,流速 1 mL $\cdot$ min<sup>-1</sup>,进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ,不分流进样,程序升温(30  $^{\circ}\text{C}$ ,以 8  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 100  $^{\circ}\text{C}$ ,再以 5  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 130  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2 min,再以 0.5  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 135  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2 min,再以 1  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 145  $^{\circ}\text{C}$ ,最后以 10  $^{\circ}\text{C}\cdot$ min<sup>-1</sup> 升温至 230 min,保持 3 min),质谱条件:离子源 EI 源,电子能量 70 eV,离子源温度 230  $^{\circ}\text{C}$ ,四极杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ,倍增管电压 1.2 kV,扫描质量范围  $m/z$  35 ~ 550。

**2.3 定性与半定量分析** NIST2002 质谱数据库检索进行定性分析,单个化合物的相对含量用其峰面积相对总峰面积的百分比来表示。

## 3 结果与讨论

照上述条件进行实验,采用 HS-SPME-GC-MS 共分离鉴定出 48 个组分,占总挥发性成分的 98.29%;采用 SD-GC-MS 共分离鉴定出 34 个组分,占挥发油总量的 94.34%。两种方法共鉴定出 82 个组分,结合 MSD 化学工作站给出总离子流图(图 1,2),对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得质谱图,经质谱数据库检索,并结合有关文献从基峰、相对丰度等几个方面进行直观比较,确定了华中碎米荠中挥发性成分的化学组成,按面积归一化法确定出各挥发性组分的相对百分含量,其结果见表 1。

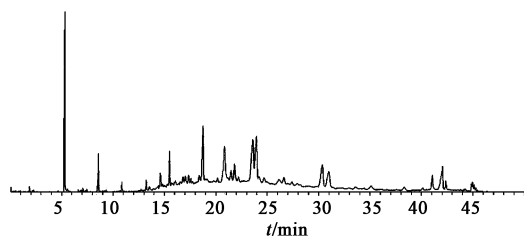


图 1 SPME 萃取华中碎米荠挥发性化学成分的总离子流

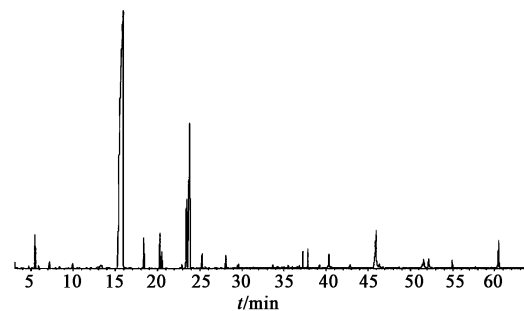


图 2 SD 提取华中碎米荠挥发性化学成分的总离子流

两种方法共鉴定出华中碎米荠挥发性成分 82 种,使用 SD-GC-MS 联用技术从华中碎米荠挥发油

表 1 固相微萃取与水蒸气蒸馏提取华中碎米荠挥发性化学成分分析

No.	$t_R$ /min	化合物中文名	化合物英文名	化学式	相对含量/%	
					SPME	SD
1	1.89	甲代烯丙基氰	methallyl cyanide	$C_5H_7N$	0.19	
2	2.29	己醛	hexanal	$C_6H_{12}O$	0.12	
3	5.11	己醛	hexanal	$C_6H_{12}O$		0.04
4	5.29	4-异硫代氰酰基-1-丁烯	4-isothiocyanato-1-butene	$C_5H_7NS$	14.02	
5	5.47	2-甲基烯丙基氰	methallyl cyanide	$C_5H_7N$		1.35
6	5.9	2,4-戊二烯腈	2,4-pentadienenitrile	$C_5H_5N$		0.11
7	6.88	<i>R</i> -(-)-4-甲基己酸	( <i>R</i> )-(-)-4-methylhexanoic acid	$C_7H_{14}O_2$	0.11	
8	7.47	壬醛	nonanal	$C_9H_{18}O$		0.11
9	8.38	糠醛	furfural	$C_5H_4O_2$		0.1
10	8.58	<i>N</i> -正丁基乙酰胺	<i>N</i> -butyl-acetamide	$C_6H_{13}NO$	1.43	
11	9.94	异硫代氰酸烯丙酯	allyl isothiocyanate	$C_4H_5NS$		0.23
12	10.85	1-甲氧基-4-(1-丙烯基)苯	1-methoxy-4-(1-propenyl)-benzene	$C_{10}H_{12}O$	0.49	
13	12.12	2-戊基呋喃	2-pentyl-furan	$C_9H_{14}O$		0.06
14	12.73	2,6,10-三甲基-十二烷	2,6,10-trimethyl-dodecane	$C_{15}H_{32}$	0.16	
15	12.99	5-甲基-己腈	5-methyl-hexanenitrile	$C_7H_{13}N$		0.2
16	13.24	十四烷	tetradecane	$C_{14}H_{30}$	0.49	
17	13.54	1,3-二甲基萘	1,3-dimethyl-naphthalene	$C_{12}H_{12}$	0.44	
18	13.97	2,6-二甲基萘	2,6-dimethyl-naphthalene	$C_{11}H_{18}O_2$	0.25	
19	14.3	1-甲基-2-(1-甲基乙基)-苯	1-methyl-2-(1-methylethyl)-benzene	$C_{10}H_{14}$		0.05
20	14.61	2,6,10-三甲基十二烷	2,6,10-trimethyl-dodecane	$C_{15}H_{32}$	2.03	
21	15.01	4-甲基-1,1'-联苯	4-methyl-1,1'-biphenyl	$C_{13}H_{12}$	0.66	
22	15.28	1-戊基-2-丙基环戊烷	1-pentyl-2-propyl-cyclopentane	$C_{13}H_{26}$	0.49	
23	15.5	十五烷	pentadecane	$C_{15}H_{32}$	2.4	
24	15.71	1,5-二甲基-氧杂二环[4.1.0]庚烷	1,5-dimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]heptane	$C_8H_{14}O$	1.06	
25	15.93	4-异硫代氰酰基-1-丁烯	4-isothiocyanato-1-butene	$C_5H_7NS$		65.71
26	16.08	2,3,6-三甲基-萘	2,3,6-trimethyl-naphthalene	$C_{13}H_{14}$	1.31	
27	16.38	3-甲基-2-(2-氧丙基)-呋喃	3-methyl-2-(2-oxopropyl) furan	$C_8H_{10}O_2$	0.79	
28	16.52	1,6,7-三甲基萘	1,6,7-trimethyl-naphthalene	$C_{13}H_{14}$	0.84	
29	16.8	环十五烷	cyclopentadecane	$C_{15}H_{30}$	1.55	
30	17.03	十二烷	dodecane	$C_{12}H_{26}$	1.83	
31	17.36	四十四烷	tetradetracontane	$C_{44}H_{90}$	1.51	
32	17.57	四十三烷	tritetracontane	$C_{43}H_{88}$	0.96	
33	17.74	1,4,6-三甲基萘	1,4,6-trimethyl-naphthalene	$C_{13}H_{14}$	0.68	
34	18.38	17-三十五烯	17-pentatriacontene	$C_{35}H_{70}$	3.21	
35	18.39	1-异硫代氰酰基-3-甲基-丁烷	1-isothiocyanato-3-methyl-butane	$C_6H_{11}NS$		1.13
36	18.76	十六烷	hexadecane	$C_{16}H_{34}$	6.45	
37	19.07	壬醛	nonanal	$C_9H_{18}O$		0.02
38	19.15	十三烷	tridecane	$C_{13}H_{28}$	3.51	
39	19.77	草酸烯丙基十八酯	oxalic acid, allyl octadecyl ester	$C_{23}H_{42}O_4$	1.3	

续表 1

No.	$t_R$ /min	化合物中文名	化合物英文名	化学式	相对含量/%	
					SPME	SD
40	20.17	1,13-十三二烯醛	tridecanedial	$C_{13}H_{24}O_2$	1.38	
41	20.53	<i>n</i> -异硫代氰酸戊酯	<i>n</i> -pentyl isothiocyanate	$C_6H_{11}NS$		0.59
42	20.85	2,6,10-三甲基十五烷	2,6,10-trimethyl-pentadecane	$C_{18}H_{38}$	7.85	
43	21.48	1-十八烯	1-octadecene	$C_{18}H_{36}$	2.27	
44	21.83	2,2',5,5'-四甲基-1,1'-联苯	2,2',5,5'-tetramethyl-1,1'-biphenyl	$C_{16}H_{18}$	3.31	
45	22.2	4-乙酰苯基苯甲烷	(4-acetylphenyl) phenylmethane	$C_{15}H_{14}O$	1.2	
46	22.92	( <i>R</i> )-4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇	3-cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, ( <i>R</i> )-	$C_{10}H_{18}O$		0.17
47	23.47	4-异硫代氰酸甲基戊酯	4-methylpentyl isothiocyanate	$C_7H_{13}NS$		5.01
48	23.61	十七烷	heptadecane	$C_{17}H_{36}$	9.54	
49	23.82	4-甲酰基-1,3(2H)-二氢咪唑-2-硫酮	4-formyl-1,3(2H)-dihydroimidazole-2-thione	$C_4H_4N_2OS$	11.05	
50	23.94	5-丙基十三烷	5-propyl-tridecane	$C_{16}H_{34}$	7.27	
51	24.7	4-甲基-3-烯-1-十二醇	4-methyl-dodec-3-en-1-ol	$C_{13}H_{26}O$	1.43	
52	25.29	1-异硫代氰酰基己烷	1-isothiocyanato-hexane	$C_7H_{13}NS$		0.49
53	26.16	四十四烷	tetradetracontane	$C_{44}H_{90}$	1.06	
54	26.63	环十四烷	cyclotetradecane	$C_{14}H_{28}$	1.09	
55	27.41	十五烷	pentadecane	$C_{15}H_{32}$	0.48	
56	29.5	5-(2-丙烯基)-1,3-苯并间二氧杂环戊烯	5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole	$C_{10}H_{10}O_2$		0.08
57	30.99	2,6,10,14-四甲基十六烷	2,6,10,14-tetramethyl-hexadecane	$C_{20}H_{42}$	3.78	
58	31.14	( <i>Z</i> )-7,11-二甲基-3-亚甲基-1,6,10-十二碳三烯	( <i>Z</i> )-7,11-dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene	$C_{15}H_{24}$		0.07
59	33.69	1,2-二甲氧基-4-(2-丙烯基)-苯	1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-benzene	$C_{11}H_{14}O_2$		0.1
60	34.29	十六烷	hexadecane	$C_{16}H_{34}$		0.15
61	34.79	二丁基羟基甲苯	butylated hydroxytoluene	$C_{15}H_{24}O$		0.03
62	35.01	( <i>E</i> )-2-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯酚	2-methoxy-4-(1-propenyl)-, ( <i>E</i> )-phenol	$C_{10}H_{12}O_2$		0.07
63	35.08	邻苯二甲酸十六烷基丙烯酯	phthalic acid, hexadecyl propyl ester	$C_{30}H_{50}O_4$	0.84	
64	36.6	1,2-二甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯	1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-benzene	$C_{11}H_{14}O_2$		0.03
65	37.24	4-甲氧基-6-(2-丙烯基)-1,3-苯并间二氧杂环戊烯	4-methoxy-6-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole	$C_{11}H_{12}O_3$		0.45
66	37.84	1,2,3-三甲氧基-5-(2-丙烯基)-苯	1,2,3-trimethoxy-5-(2-propenyl)-benzene	$C_{12}H_{16}O_3$		0.51
67	39.1	十八烷	octadecane	$C_{18}H_{38}$		0.05
68	39.23	邻苯二甲酸二乙酯	diethyl phthalate	$C_{12}H_{14}O_4$		0.13
69	40.12	十六酸甲酯	hexadecanoic acid, methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	0.55	
70	40.32	肉豆蔻酸	tetradecanoic acid	$C_{14}H_{28}O_2$		0.8
71	40.61	肉豆蔻酸乙酯	tetradecanoic acid, ethyl ester	$C_{16}H_{32}O_2$		0.06
72	41.06	斜方硫	cyclic octaatomic sulfur	$S_8$	1.89	
73	42.05	棕榈酸	<i>n</i> -hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	3.6	
74	42.37	棕榈酸乙酯	hexadecanoic acid, ethyl ester	$C_{18}H_{36}O_2$	0.65	

续表 1

No.	$t_R$ /min	化合物中文名	化合物英文名	化学式	相对含量/%	
					SPME	SD
75	42.85	十五烷酸	pentadecanoic acid	$C_{15}H_{30}O_2$		0.27
76	44.25	1-氯十八烷	1-chloro-octadecane	$C_{18}H_{37}Cl$	0.2	
77	44.95	9,12,15-十八碳三烯酸	9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	$C_{18}H_{30}O_2$	0.99	
78	45.11	亚油酸乙酯	linoleic acid ethyl ester	$C_{20}H_{36}O_2$	0.52	
79	45.93	棕榈酸	n-hexadecanoic acid	$C_{16}H_{32}O_2$		3.98
80	51.42	油酸	oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$		0.19
81	51.58	(Z,Z)-9,12-十八烷二烯酸	9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-	$C_{18}H_{32}O_2$		0.59
82	52.17	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八烷二烯酸	9,12,15-octadecatrienoic acid, (Z,Z,Z)-	$C_{18}H_{30}O_2$		0.47

中鉴定出了 34 种化合物,占挥发油总量的 94.34%,其中 4-异硫代氰酰基-1-丁烯的含量最大,约为 65.71%,其次含量较高的成分有 4-甲酰基-1,3(2H)-二氢咪唑-2-硫酮(11.05%)、4-异硫代氰酸甲基戊酯(5.01%)、棕榈酸(3.98%)等;使用 HS-SPME-GC-MS 联用技术则鉴定出了 48 种挥发性成分,占总挥发性成分的 98.29%,其中含量较高的成分有 4-异硫代氰酰基-1-丁烯(14.02%)、十七烷(9.54%)、2,6,10-三甲基十五烷(7.85%)、5-丙基十三烷(7.27%)、十六烷(6.45%)、棕榈酸(3.6%)等。通过这两种技术共同鉴定出的挥发性成分则有 5 种,其中含量最高的成分为 4-异硫代氰酰基-1-丁烯,其次为十六烷、棕榈酸、己醛和壬醛。

比较水蒸气蒸馏法和顶空固相微萃取法这两种前处理方式可知,由于两者的作用原理不同,对不同性质组分的提取有较大的差异。SD-SPME-GC-MS 这两种方法都适用于中药材中挥发性成分的分析,SPME 法更适用于分析低沸点的萜类、醛酮类和小极性的烃类化合物,SD 法对一些高沸点的脂肪酸、萜类、醛酮类及大极性的醇类物质具有较好的选择性。因此,将两种方法结合起来共同分析华中碎米茅中挥发性成分能够得到更加全面的信息。

目前碎米茅属仅有郜瑞对大叶碎米茅的挥发性成分进行报道<sup>[9-10]</sup>,本研究的结果与大叶碎米茅挥发性成分进行比较,两者未见有相同成分。本研究为华中碎米茅化学成分的进一步研究及其资源的开

发利用提供了科学的依据。

[参考文献]

[1] 周太炎,陆莲立,郭荣麟.中国十字花科植物志资料[M].哈尔滨:东北林学院植物研究室汇刊,1980:19.  
 [2] 傅书遐.湖北植物志.第2卷[M].武汉:湖北科学技术出版社,2007:42.  
 [3] 湖北省卫生局.湖北中草药志(一)[M].武汉:湖北人民出版社,1978:852.  
 [4] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1987:193.  
 [5] 戚军超,周海梅.固相微萃取-气质联用技术在天然产物挥发性成分分析中的应用[J].信阳师范学院学报:自然科学版,2005,18(4):471.  
 [6] 陈青,张前军,朱少晖,等.SPME-GC-MS 分析鱼眼草花、茎叶挥发油成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(8):92.  
 [7] 姚亮,黄健军.冰糖草挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(5):101.  
 [8] 邢煜君,常星,张倩,等.固相微萃取-气相色谱-质谱联用分析贵州产杏叶茵苻挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(4):93.  
 [9] 郜瑞.大叶碎米茅和百里香的化学成分及活性研究[D].西安:陕西师范大学,2009.  
 [10] 向极轩,李亚杰,杨永康,等.碎米茅的研究现状[J].湖北民族学院学报:自然科学版,2011,29(4):440.

[责任编辑 邹晓翠]