

· 资源与质量评价 ·

针捕集法、静态顶空法和水蒸气蒸馏法结合 GC-MS 对紫花地丁挥发性成分的比较

秦艳^{1,2}, 翁静艳², 庞英明³, 程志红^{1*}

(1. 复旦大学药学院, 上海 201203; 2. 复旦大学附属中山医院, 上海 200032;
3. 弗科斯科技有限公司, 上海 200233)

[摘要] 目的:系统研究紫花地丁的挥发性成分,并比较针捕集法、静态顶空法和水蒸气蒸馏法在紫花地丁挥发性成分分析上的异同。方法:采用针捕集法、静态顶空法和水蒸气蒸馏法并结合 GC-MS 分别对紫花地丁的挥发性成分进行了分离和鉴定研究,首次使用填充了 Tenax, Carboxen 1000 和 Carboxen 1000 共 3 种吸附剂的捕集针,采用峰面积归一化法确定各成分的相对质量分数。结果:采用针捕集法从紫花地丁中共鉴定出挥发性成分 112 个,主要为中等挥发性的成分,以脂肪醛、酮、醇、单萜、倍半萜和芳香族类化合物为主。采用静态顶空法共从中鉴定出挥发性成分 37 个,主要为高挥发性成分;采用水蒸气蒸馏法共从中鉴定出挥发性成分 78 个,主要为低挥发性成分。采用这 3 种方法检出的共有挥发性成分只有 13 种。结论:该研究将为全面分析中药挥发性成分提供了新的研究方法,相对于静态顶空法和传统的水蒸气蒸馏法,针捕集法具有分析速度快、操作简单、富集效果好和灵敏度高等特点。这 3 种方法在分析挥发性成分类型上是互补的,不能相互替代。

[关键词] 紫花地丁; 针捕集法; 静态顶空法; 水蒸气蒸馏法; 气相色谱-质谱联用技术

[中图分类号] R284.1; R931.6; R289; R22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)21-0153-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181210

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180827.1429.002.html>

[网络出版时间] 2018-08-27 15:26

Comparative Analysis of Volatile Organic Compounds in *Viola yedoensis* by Needle Trap, Static Headspace and Hydrodistillation Methods Coupled with GC-MS

QIN Yan^{1,2}, WENG Jing-yan², PANG Ying-ming³, CHENG Zhi-hong^{1*}

(1. School of Pharmacy, Fudan University, Shanghai 201203, China;
2. Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China;
3. Focus Science & Technology Co. Ltd., Shanghai 200233, China)

[Abstract] **Objective:** To systemically investigate the volatile organic compounds (VOCs) of *Viola yedoensis*, and to compare the VOCs differences of *V. yedoensis* obtained by the needle trap, static headspace and hydrodistillation methods. **Method:** The needle trap, static headspace and hydrodistillation methods coupled with gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) were developed for isolation and identification of the VOCs in *V. yedoensis*. The relative content of each component was obtained by peak area normalization with a triple-bed needle packed with Tenax, Carboxen 1000 and Carboxen 1000 sorbents. **Result:** The 112 compounds were trapped by using needle trap, mainly moderate volatile components, including aldehydes, ketones, alcohols, monoterpenes, sesquiterpenoids and aromatic compounds. The static headspace and hydrodistillation methods were allowed to obtain 37 (mainly the high-volatile components) and 78 compounds (mainly low-volatile components),

[收稿日期] 20180323(019)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81073025,81473421)

[第一作者] 秦艳, 硕士, 从事中药质量控制方法研究, E-mail: celeryan@163.com

[通信作者] *程志红, 博士, 副研究员, 从事中药药效物质基础与质量控制研究, Tel: 021-51980157, E-mail: chengzhh@fudan.edu.cn

respectively. Only 13 common volatile components were detected in all these three methods. **Conclusion:** The results clearly demonstrated that the needle trap method is an alternative method for sampling VOCs of herbs, characterized by fast analysis, simple operation, good enrichment effect and high sensitivity. These three methods for VOCs analysis are complementary for each other.

[**Key words**] *Viola yedoensis*; needle trap; static headspace; hydrodistillation; GC-MS

紫花地丁为堇菜科植物紫花地丁的干燥带根全草,其性寒,味苦、辛;具有清热解毒和凉血消肿的功效,用于治疗疔疮肿毒、痈疽发背、丹毒和毒蛇咬伤等^[1]。文献报道该植物主要含倍半萜类^[2]、香豆素类^[3-4]、黄酮类^[3,5]、酰胺生物碱类^[6]和挥发油类^[7-8]等多种化学成分。体外活性研究表明,挥发油成分是紫花地丁抗菌作用的活性物质之一^[7-8]。前人仅采用水蒸气蒸馏法对其挥发性成分进行了表征^[7,9],为全面了解其挥发性成分,有必要采用多种方法,特别是新型样品前处理方法对其进行深入的研究。

中药挥发性成分是一类具有抗菌、抗病毒、抗癌、抗氧化、抗炎和免疫调节等多种生物活性的小分子植物次生代谢产物^[10-14]。水蒸气蒸馏法(hydrodistillation)是提取中药挥发性成分最为广泛的传统方法之一,但其具有提取时间长、所需样品量大、提取蒸馏过程中易导致大量易挥发性成分丢失和高能耗等显著缺点^[15]。静态顶空法(static headspace)是另一种挥发性成分的样品前处理方法,相对于水蒸气蒸馏法,其优点在于样品前处理简单、无需溶剂、分析速度快、所需样品量少、自动化进样和防止非挥发性成分进入色谱柱等,其缺点在于灵敏度不够高^[16-17]。因此,有必要采用新型的、灵敏度高的方法对挥发性成分进行探索研究。

针捕集法(needle trap)是一种新型的集成了主动吸附捕集采样与固相微萃取于一体的样品前处理技术^[18]。该法利用一根在内壁涂布特定单层或多层吸附剂的中空捕集针,通过采样泵(或注射器)主动持续不断的采集气体样品并富集,采样后,将捕集针插入 GC-MS 进样口完成热解吸。2015 年我国学者采用针捕集法,实现了薄荷挥发性成分^[19]和人参中含硫化合物的检测分析^[20]。2016 年作者课题组采用针捕集法系统地研究了中药天山堇菜的挥发性成分^[21],发现针捕集法在挥发性成分的种类及灵敏度等方面较传统的水蒸气蒸馏法和静态顶空法有一定的优势。因此,为全面了解中药紫花地丁的挥发性成分,同时也为进一步探索针捕集这一新型样品前处理方法在中药挥发性成分中的应用,本文采用针

捕集法结合 GC-MS 研究紫花地丁的挥发性成分,并与传统的水蒸气蒸馏法和静态顶空法进行了比较研究。

1 材料

GCMS-QP2010 Ultra 型气质联用仪(日本岛津,配有 AOC-5000 Plus 型顶空进样器);NT-Case-XL 型针捕集装置(德国 Pas-Tech),包括捕集针(针内壁涂布 Tenax, Carboxen 1000 共 3 种吸附剂,60~100 目,长 1 cm);20 mL 带隔垫的顶空螺纹口样品瓶(日本岛津);磨口的挥发油提取器;分析纯无水硫酸钠、环己烷和乙醚均购自上海国药集团化学试剂有限公司。

紫花地丁药材购自上海华宇药业有限公司,产地为浙江,经作者程志红副研究员鉴定为堇菜科植物紫花地丁 *Viola yedoensis* 的干燥带根全草;标本(DH2008082905)保存于复旦大学药学院生药学教研室。取干燥紫花地丁药材 100 g,粉碎,过 100 目筛后待用。

2 方法

2.1 针捕集法 取紫花地丁药材粉末 2 g 放入 20 mL 顶空样品瓶中,按文献^[21]方法,置于针捕集装置中进行挥发性成分的提取^[16],加热温度 70 ℃,提取时间 40 min,抽拉体积 22 mL,加入纯净水 20 μL;样品经捕集针采样后,连接注射器插入 GC-MS 进样口进样,解吸温度 250 ℃,恒温;解吸时间 10 s。实验装置示意图见图 1。

2.2 静态顶空法 取紫花地丁药材粉末 2 g 放入 20 mL 带隔垫的顶空螺纹口样品瓶中,按文献^[21]方法,置于气质联用仪顶空进样装置中,用聚四氟乙烯涂层的橡胶塞和铝制压接帽密封顶空瓶,加热温度 70 ℃,加热时间 40 min,自动进样 1 mL。

2.3 水蒸气蒸馏法 取紫花地丁药材粉末 20 g 置于挥发油提取器中,加纯净水 300 mL 浸泡过夜;将挥发油提取器和冷凝管严密连接好,自冷凝管上端加纯净水使其充满挥发油提取器的刻度部分,在提取器的刻度部分上端加入乙醚 1~2 mL,在电热套中保持微沸 12 h,馏出的挥发油溶于乙醚。开启提取器下端的活塞,将水放至油层上端到达刻度“0”

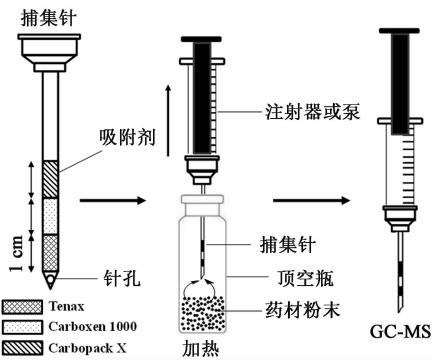


图 1 针捕集法-GC-MS 对中药挥发性成分的采样分析示意
Fig. 1 Scheme of needle trap-GC-MS method for sampling VOCs of traditional Chinese medicines

线上面 5 mm 为止,放置 1 h,再收集乙醚层,挥去乙醚后,以无水硫酸钠干燥过夜,得到淡黄色挥发油粗品 3 mg,得率为 0.015%。干燥品用 10 倍量的环己烷溶解后进样,进样体积 0.5 μL 。

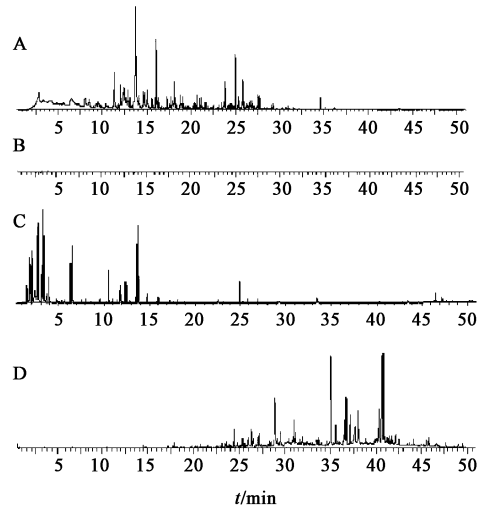
2.4 气质联用条件 针捕集法、静态顶空法以及水蒸气蒸馏法均采用不分流进样。HP-5 色谱柱 (0.25 mm \times 30 m, 0.25 μm , 美国 Agilent), 进样口温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 程序升温 (初始温度 30 $^{\circ}\text{C}$, 保持 2 min, 以 5 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min); 流速 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 载气氮气, 辅助气体氮气 (吹扫进样隔垫)。电子轰击 (EI) 离子源, 电子碰撞能量 70 eV, 离子源温度 250 $^{\circ}\text{C}$, 接口温度 260 $^{\circ}\text{C}$; 四级杆质量分析器, 全扫描模式, 质量扫描范围 m/z 50 ~ 550。

3 结果与讨论

3.1 针捕集法对紫花地丁挥发性成分的 GC-MS 分析 笔者前期采用针捕集法对维药天山堇菜 *Viola tianschanica* (紫花地丁的维药代用品) 的挥发性成分进行了分析^[21], 通过系统地对捕集针中吸附剂的种类、采样体积、样品加热温度、样品加热时间以及微量水的辅助解吸作用进行了考察和优化, 发现内壁涂布三种吸附剂 (Tenax, Carboxen X 和 Carboxen 1000) 的针较内壁涂布两种吸附剂 (Tenax 和 Carboxen 1000) 的针在高挥发性成分的富集上有明显优势, 因此本研究也选用内含 3 种吸附剂的捕集针。采样体积在 22 mL 时, 样品挥发性成分的信号强度和种类较 10 mL 和 15 mL 有明显提高, 因此本研究中采样体积选择 22 mL。本研究还优化出样品的加热温度为 70 $^{\circ}\text{C}$ 和加热时间为 40 min。研究还发现在样品中加入微量水有利于使成分从样品基质中解吸和挥发出来^[22]; 同时针对于针捕集法, 微量

的水蒸气蒸发膨胀, 可促使解吸下来的化合物吹入毛细柱, 确保挥发性成分解吸充分^[23], 因此本研究也以 10 $\mu\text{L} \cdot \text{g}^{-1}$ 样品加入微量的纯净水。

在上述优化的针捕集条件下, 对紫花地丁挥发性成分进行了 GC-MS 分析, 所得到的挥发性成分见图 2。从图中可以看出主要得到一些中等挥发性的成分 ($t_{\text{R}} = 10 \sim 25 \text{ min}$)。



A. 针捕集法; B. 静态顶空法; C. 静态顶空法放大图谱; D 水蒸气蒸馏法

图 2 紫花地丁在不同前处理方法下所得到的 GC-MS

Fig. 2 GC-MS of VOCs of *Viola yedoensis*

以挥发性成分的质谱数据与 NIST 质谱数据库比对, 使用该方法从紫花地丁中共鉴定出挥发性化合物 112 个, 见表 1。含量占总挥发油的 70.38%, 主要为单萜 22.02%, 醛 13.74%, 倍半萜 12.37%, 酮 6.44%, 芳香族 5.67%, 醇 5.46%, 呋喃类 2.19% 和烷烃 1.20%; 含量较高 (>3%) 的化合物有桉油精 (10.24%) 和壬醛 (3.70%) 等。

3.2 静态顶空法对紫花地丁挥发性成分的 GC-MS 分析 为了便于比较针捕集法和静态顶空法, 本研究在静态顶空法中采用了与针捕集法中相同的样品、样品质量、样品加热温度和加热时间进行分析, 所得 GC-MS 图谱见图 2。图中未见明显的色谱峰, 可见在相同的条件下, 静态顶空法的灵敏度较针捕集法低; 在调整纵坐标的标尺后 (即图 2B 的放大图), 所得 GC-MS 图谱如 2C 所示, 表明静态顶空法主要得到一些高挥发性成分 ($t_{\text{R}} = 0 \sim 10 \text{ min}$) 和少量的中等挥发性成分 ($t_{\text{R}} = 10 \sim 12 \text{ min}$)。

同样, 挥发性成分的质谱数据与 NIST 质谱数据库比对, 使用该方法从紫花地丁中共鉴定出挥发性化合物 37 个, 见表 1。含量占总挥发油的 43.87%,

表 1 针捕集法、静态顶空法和气态蒸馏法分别结合 GC-MS 从紫花地丁中鉴定出的挥发性成分分析

Table 1 GC-MS data of volatile components of *Viola yedoensis* extracted by needle trap (NT), static headspace (SH) and hydrostallation (HD) methods

类别	t_R /min	挥发性成分	分子式	相对质量分数/%			
				NT	SH	HD	
醛类	2.027	butanal	C ₄ H ₈ O	-	3.74	-	
	3.039	3-methyl-butanal	C ₅ H ₁₀ O	-	2.02	-	
	3.187	pentanal	C ₅ H ₁₀ O	-	11.98	-	
	6.306	hexanal	C ₆ H ₁₂ O	0.84	0.13	0.01	
	9.544	heptanal	C ₇ H ₁₄ O	0.90	0.35	-	
	11.315	(E)-2-heptenal	C ₇ H ₁₂ O	0.70	-	-	
	12.811	octanal	C ₈ H ₁₆ O	1.64	0.14	-	
	13.057	(E,E)-2,4-heptadienal	C ₇ H ₁₀ O	0.67	-	-	
	14.418	2-isopropenyl-5-methylhex-4-enal	C ₁₀ H ₁₆ O	0.10	-	-	
	14.567	(E)-2-octenal	C ₈ H ₁₄ O	1.07	0.05	-	
	14.990	(E)-2-nonenal	C ₉ H ₁₆ O	1.36	-	-	
	16.007	nonanal	C ₉ H ₁₈ O	3.70	0.50	0.05	
	18.957	8-oxo-2-nonenal	C ₉ H ₁₄ O ₂	0.12	-	-	
	19.050	decanal	C ₁₀ H ₂₀ O	0.59	-	0.06	
	20.653	(E)-2-decenal	C ₁₀ H ₁₈ O	0.67	-	-	
	21.104	undecanal	C ₁₁ H ₂₂ O	0.71	-	0.08	
	22.224	(E,E)-2,4-undecadienal	C ₁₁ H ₁₈ O	0.18	-	-	
	23.442	2-undecenal	C ₁₁ H ₂₀ O	0.36	-	0.09	
	28.416	2-methyl-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-2-butenal	C ₁₄ H ₂₂ O	-	-	0.38	
	32.634	(Z)-7-hexadecenal	C ₁₆ H ₃₀ O	-	-	0.29	
	43.485	4,9,13,17-tetramethyl-4,8,12,16-octadecatetraenal	C ₂₂ H ₃₆ O	0.13	-	-	
	酮类	12.233	2-methyl-3-octanone	C ₉ H ₁₈ O	0.25	0.05	-
		12.321	6-methyl-5-hepten-2-one	C ₈ H ₁₄ O	1.02	-	-
14.690		3,3,6-trimethyl-1,5-heptadien-4-one	C ₁₀ H ₁₆ O	1.24	0.63	-	
16.127		4-hydroxy-4-methyl-cyclohexanone	C ₇ H ₁₂ O ₂	0.45	-	-	
17.241		(1S)-1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]heptan-2-one	C ₁₀ H ₁₆ O	0.89	0.21	-	
17.521		5-methyl-2-(1-methylethyl)-cyclohexanone	C ₁₀ H ₁₈ O	0.34	-	-	
20.181		(S)-2-methyl-5-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-one	C ₁₀ H ₁₄ O	0.15	-	-	
21.555		2-undecanone	C ₁₁ H ₂₂ O	0.48	-	0.36	
22.912		cyclodecanone	C ₁₀ H ₁₈ O	0.12	-	-	
25.615		4-(2,2,6-trimethyl-7-oxabicyclo[4.1.0]hept-1-yl)-3-buten-2-one	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	-	-	0.15	
25.748		6,10-dimethyl-5,9-undecadien-2-one	C ₁₃ H ₂₂ O	0.37	-	0.49	
26.626		(E)-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one	C ₁₃ H ₂₀ O	0.42	-	1.19	
27.438		dicyclohexyl-methanone	C ₁₃ H ₂₂ O	-	-	0.91	
34.632		6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	C ₁₈ H ₃₆ O	0.60	0.04	10.61	
35.540		2,2-dimethoxy-1,2-diphenyl-ethanone	C ₁₆ H ₁₆ O ₃	-	0.09	0.32	
36.176	(E,E)-6,10,14-trimethyl-5,9,13-pentadecatrien-2-one	C ₁₈ H ₃₀ O	0.11	-	1.67		

续表 1

类别	t_R /min	挥发性成分	分子式	相对质量分数/%			
				NT	SH	HD	
醇类	8.548	2,3-dimethyl-1-pentanol	C ₇ H ₁₆ O	0.67	-	-	
	9.805	<i>cis</i> -hept-4-enol	C ₇ H ₁₄ O	0.16	-	-	
	11.022	4,4-dimethyl-cyclohex-2-en-1-ol	C ₈ H ₁₄ O	0.10	0.28	-	
	11.890	2-ethyl-1-hexanol	C ₈ H ₁₈ O	0.27	-	-	
	12.070	1-octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	1.68	0.24	0.03	
	14.235	4,4-dimethyl-cyclohex-2-en-1-ol	C ₈ H ₁₄ O	0.18	-	-	
	14.464	3,3,6-trimethyl-1,5-heptadien-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.18	-	-	
	14.900	(<i>E</i>)-2-octen-1-ol	C ₈ H ₁₆ O	0.29	-	-	
	17.887	isoborneol	C ₁₀ H ₁₈ O	0.66	-	0.08	
	19.697	4,8-dimethyl-1-nonanol	C ₁₁ H ₂₄ O	0.18	-	-	
	20.938	1-decanol	C ₁₀ H ₂₂ O	0.65	-	0.14	
	23.685	1-undecanol	C ₁₁ H ₂₄ O	-	-	0.14	
	26.251	1-dodecanol	C ₁₂ H ₂₆ O	0.30	-	0.86	
	28.467	(<i>E</i>)-3,7,11-trimethyl-1,6,10-dodecatrien-3-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	0.20	
	28.565	3,7,11-trimethyl-1-dodecanol	C ₁₅ H ₃₂ O	0.12	-	0.25	
	33.251	<i>n</i> -pentadecanol	C ₁₅ H ₃₂ O	-	-	0.32	
	38.303	(<i>E,E</i>)-3,7,11,15-tetramethyl-1,6,10,14-hexadecatetraen-3-ol	C ₂₀ H ₃₄ O	-	-	0.42	
	39.819	phytol	C ₂₀ H ₄₀ O	0.02	-	9.76	
	酸及酯类	21.374	acetic acid-1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.14	-	-
		29.267	2,2,4-trimethyl-3-carboxyisopropyl-pentanoic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	0.28	0.24	0.68
35.146		1,2-benzenedicarboxylic acid-bis(2-methylpropyl) ester	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0.12	-	0.37	
36.258		hexadecanoic acid methyl ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.08	-	3.33	
36.904		<i>n</i> -hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.04	-	2.90	
37.602		hexadecanoic acid ethyl ester	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	-	-	2.33	
39.484		8,11-octadecadienoic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	1.40	
39.614		(<i>Z,Z,Z</i>)-9,12,15-octadecatrienoic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	-	-	2.79	
40.067		methyl 16-hydroxy-hexadecanoate	C ₁₇ H ₃₄ O ₃	-	-	0.51	
40.364		2-dodecen-1-yl(-) succinic anhydride	C ₁₆ H ₂₆ O ₃	-	-	0.45	
40.535		<i>Z,Z</i> -4,15-octadecadien-1-ol acetate	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	-	-	0.57	
40.699		linoleic acid ethyl ester	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	-	-	0.28	
41.245		acetic acid <i>n</i> -octadecyl ester	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	-	-	0.60	
43.440	(all <i>E</i>)-2,6,10,14-hexadecatetraenoic acid-3,7,11,15-tetramethyl-ethyl ester	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	0.11	-	-		
芳香族	11.366	benzaldehyde	C ₇ H ₆ O	2.72	0.34	-	
	13.451	1-methyl-4-(1-methylethyl)-benzene	C ₁₀ H ₁₄	0.31	0.40	-	
	13.508	1-methyl-3-(1-methylethyl)-benzene	C ₁₀ H ₁₄	0.33	-	-	
	14.071	benzeneacetaldehyde	C ₈ H ₈ O	1.32	-	0.01	
	16.279	phenylethyl alcohol	C ₈ H ₁₀ O	0.81	-	-	
	18.353	naphthalene	C ₁₀ H ₈	0.18	-	-	
	23.185	1,2-dihydro-1,1,6-trimethyl-naphthalene	C ₁₃ H ₁₆	-	-	0.11	
27.745	5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-benzofuranone	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	0.91	0.05	0.25		

续表 1

类别	t_R /min	挥发性成分	分子式	相对质量分数/%			
				NT	SH	HD	
烷烃	18. 871	dodecane	C ₁₂ H ₂₆	0. 37	-	-	
	21. 699	tridecane	C ₁₃ H ₂₈	0. 31	0. 06	-	
	24. 365	tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	0. 28	-	0. 09	
	31. 525	heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	0. 09	-	0. 70	
	31. 651	2,6,10-trimethyl-hexadecane	C ₁₉ H ₄₀	0. 06	-	0. 40	
	31. 863	tetradecyl-oxirane	C ₁₆ H ₃₂ O	0. 05	-	0. 79	
	33. 880	2,3-dimethyl-heptadecane	C ₁₉ H ₄₀	0. 04	-	0. 27	
	35. 013	hexadecyl-oxirane	C ₁₈ H ₃₆ O	-	-	0. 30	
	43. 051	tetracosane	C ₂₄ H ₅₀	-	-	0. 33	
	46. 296	pentacosane	C ₂₅ H ₅₂	-	-	0. 23	
烯烃	7. 603	5-(1,1-dimethylethyl)-1,3-cyclopentadiene	C ₉ H ₁₄	-	0. 26	-	
	8. 770	<i>E,Z</i> -4-ethylidene-cyclohexene	C ₈ H ₁₂	-	0. 14	-	
	10. 388	7,7-dimethyl-2-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane	C ₁₀ H ₁₆	0. 52	0. 14	-	
	10. 474	α -pinene	C ₁₀ H ₁₆	-	2. 14	-	
	11. 799	3-isopropenyl-5,5-dimethyl-cyclopentene	C ₁₀ H ₁₆	-	1. 20	-	
	11. 873	(1 <i>S</i>)-6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptane	C ₁₀ H ₁₆	-	0. 93	-	
	34. 506	<i>E</i> -11-methyl-12-tetradecen-1-ol acetate	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	-	-	0. 24	
	35. 347	1-nonadecene	C ₁₉ H ₃₈	-	-	1. 95	
呋喃	41. 705	<i>E,E,Z</i> -1,3,12-nonadecatriene-5,14-diol	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	-	-	0. 84	
	44. 618	(<i>Z</i>)-9-tricosene	C ₂₃ H ₄₆	-	-	0. 45	
	3. 845	2-ethyl-furan	C ₆ H ₈ O	-	3. 05	-	
	12. 426	2-pentyl-furan	C ₉ H ₁₄ O	1. 17	1. 76	-	
	15. 530	5-ethenyltetrahydro- $\alpha,\alpha,5$ -trimethyl- <i>cis</i> -2-furanmethanol	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0. 71	-	-	
	20. 320	2-hexanoylfuran	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	0. 31	-	-	
	单萜	10. 645	(1 <i>R</i>)-2,2-dimethyl-3-methylene-bicyclo[2.2.1]heptane	C ₁₀ H ₁₆	0. 14	-	-
		12. 466	3-(2-methylpropyl)-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₈	2. 46	-	-
12. 624		3-(1-methylpropyl)-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₈	0. 74	-	-	
12. 739		(<i>R</i>)-1-methylene-3-(1-methylethenyl)-cyclohexane	C ₁₀ H ₁₆	0. 36	0. 15	-	
13. 196		1,5,5-trimethyl-6-methylene-cyclohexene	C ₁₀ H ₁₆	0. 13	-	-	
13. 273		ocimene	C ₁₀ H ₁₆	0. 24	-	-	
13. 606		<i>D</i> -limonene	C ₁₀ H ₁₆	2. 62	4. 15	0. 02	
13. 683		eucalyptol	C ₁₀ H ₁₈ O	10. 24	5. 58	-	
15. 697		4-methyl-1-(1-methylethyl)-bicyclo[3.1.0]hexan-3-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 15	-	-	
15. 874		3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 53	0. 09	0. 15	
18. 089		(1 α ,2 β ,5 α)-(+ / -)-5-methyl-2-(1-methylethyl)-cyclohexanol	C ₁₀ H ₂₀ O	2. 00	0. 30	0. 15	
18. 227		<i>cis</i> - β -terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 29	-	-	
18. 634	2-methyl-5-(1-methylethenyl)-cyclohexanol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 22	-	0. 14		
18. 742	neodihydrocarveol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 82	-	0. 37		
18. 814	(<i>Z</i>)-3,7-dimethyl-3,6-octadien-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 19	-	-		
19. 296	4- <i>sec</i> -butyl-cyclohexanol	C ₁₀ H ₂₀ O	0. 22	-	-		

续表 1

类别	t_R /min	挥发性成分	分子式	相对质量分数/%		
				NT	SH	HD
	19. 510	(<i>E</i>)-(3,3-dimethylcyclohexylidene)-acetaldehyde	C ₁₀ H ₁₆ O	0. 16	-	-
	20. 493	6-methyl-3-(1-methylethyl)-7-oxabicyclo[4. 1. 0]heptan-2-one	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	0. 32	-	0. 11
	21. 171	(<i>Z</i>)-2-(3,3-dimethylcyclohexylidene)-ethanol	C ₁₀ H ₁₈ O	0. 19	-	0. 06
倍半萜	23. 582	palustrol	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 12	-	-
	23. 714	δ -neoclovene	C ₁₅ H ₂₄	0. 59	-	-
	23. 834	α -cubebene	C ₁₅ H ₂₄	1. 76	0. 57	0. 23
	24. 082	decahydro-3a-methyl-6-methylene-1-(1-methylethyl)-[1 <i>S</i> -(1 α ,3 $\alpha\alpha$,3 $\beta\beta$,6 $\alpha\beta$,6 $\beta\alpha$)]-cyclobuta[1,2:3,4]dicyclopentene	C ₁₅ H ₂₄	0. 19	-	0. 25
	24. 245	[1 <i>S</i> -(1 α ,2 β ,4 β)]-1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-cyclohexane	C ₁₅ H ₂₄	0. 27	-	0. 10
	24. 653	caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0. 41	-	-
	24. 816	humulen	C ₁₅ H ₂₄	0. 29	-	0. 41
	24. 988	4,11,11-trimethyl-8-methylene-bicyclo[7. 2. 0]undec-4-ene	C ₁₅ H ₂₄	2. 82	1. 45	0. 99
	25. 210	[1 <i>S</i> -(1 <i>R</i> *,9 <i>S</i> *)]-10,10-dimethyl-2,6-bis(methylene)-bicyclo[7. 2. 0]undecane	C ₁₅ H ₂₄	0. 13	-	-
	25. 357	2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)bicyclo[3. 1. 1]hept-2-ene	C ₁₅ H ₂₄	0. 64	0. 13	0. 26
	25. 486	2-methylene-5-(1-methylvinyl)-8-methyl-bicyclo[5. 3. 0]decane	C ₁₅ H ₂₄	0. 14	-	-
	25. 851	(<i>Z</i>)-7,11-dimethyl-3-methylene-1,6,10-dodecatriene	C ₁₅ H ₂₄	1. 56	0. 29	0. 48
	25. 948	4-methyl-tetradecane	C ₁₅ H ₃₂	0. 36	-	0. 22
	26. 040	[1 <i>R</i> -(1 α ,3 $\alpha\beta$,4 α ,7 β)]-1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-azulene	C ₁₅ H ₂₄	0. 14	-	0. 06
	26. 344	isolekene	C ₁₅ H ₂₄	0. 14	-	-
	26. 411	10 <i>S</i> ,11 <i>S</i> -himachala-3(12),4-diene	C ₁₅ H ₂₄	0. 23	-	-
	26. 534	1-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-4-methyl-benzene	C ₁₅ H ₂₂	0. 27	-	0. 42
	26. 685	[4 <i>aR</i> -(4 $\alpha\alpha$,7 α ,8 $\alpha\beta$)]-decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethenyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	0. 33	-	-
	26. 767	caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0. 29	-	-
	27. 002	1,2,4a,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	0. 14	-	0. 07
	27. 159	<i>trans-Z</i> - α -bisabolene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0. 07	-	0. 18
	27. 347	[<i>s</i> -(<i>E</i> , <i>E</i>)]-1-methyl-5-methylene-8-(1-methylethyl)-1,6-cyclodecadiene	C ₁₅ H ₂₄	0. 13	-	-
	27. 560	(1 <i>S-cis</i>)-1,2,3,5,6,8a-hexahydro-4,7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	0. 85	-	1. 16
	28. 290	caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	0. 10	-	0. 19
	28. 892	8-isopropenyl-1,3,3,7-tetramethylbicyclo[5. 1. 0]oct-5-en-2-one	C ₁₅ H ₂₂ O	-	-	0. 55
	29. 036	[1 <i>S</i> -(1 α ,3 $\alpha\beta$,4 α ,7 β ,8 $\alpha\beta$)]-decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-1,4-methanoazulen-7-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	0. 34	-	5. 72
	29. 479	octahydro-3,8,8-trimethyl-6-methylene-1H-3a-7-methanoazulen-5-ol	C ₁₅ H ₂₄ O	-	-	0. 27
	29. 646	[1 <i>R</i> -(1 <i>R</i> *,3 <i>E</i> ,7 <i>E</i> ,11 <i>R</i> *)]-1,5,5,8-tetramethyl-12-oxabicyclo[9. 1. 0]dodeca-3,7-diene	C ₁₅ H ₂₄ O	0. 06	-	1. 30
	30. 834	5 β ,7 β H,10 α -eudesm-11-en-1 α -ol	C ₁₅ H ₂₆ O	-	-	4. 62

注：-，未检测到；NT. 针捕集法；SH. 静态顶空法；HD. 水蒸气蒸馏法。

主要为醛 18.91%,单萜 10.35%,呋喃 4.81%,烯烃 4.81%,倍半萜 2.44%和酮 1.02%等;含量较高的(>3%)化合物有戊醛(11.98%),桉油精(5.58%),柠檬烯(4.15%),正丁醛(3.74%)和2-乙基呋喃(3.05%)等。

3.3 水蒸气蒸馏法对紫花地丁挥发性成分的 GC-MS 分析 采用传统的水蒸气蒸馏法即用挥发油提取器的方法对紫花地丁挥发油进行了提取,以环己烷溶解后进样分析,所得的 GC-MS 图如 2D 所示。从图中可以看出,使用水蒸气蒸馏法所得挥发油主要为低挥发性成分($t_R = 25 \sim 42$ min)。

使用该法从紫花地丁中共鉴定出挥发性化合物 78 个,见表 1。含量占总挥发油的 70.71%,主要为倍半萜 17.48%,酸及酯 16.21%,酮 15.70%,醇 12.20%,烯烃 3.48%,烷烃 3.11%和单萜 1.00%等;其中含量较高(>3%)的化合物主要有 6,10,14-三甲基-十五烷-2-酮(10.61%),叶绿醇(9.76%),[1S-(1 α ,3 α β ,4 α ,7 β ,8 α β)]decahydro-1,5,5,8S-tetramethyl-1,4-methanoazulen-7-ol(5.72%),5 β ,7 β H,10 α -eudesm-11-en-1 α -ol(4.62%),棕榈酸甲酯(3.33%)和棕榈酸(2.90%)等。

3.4 3 种挥发性成分前处理方法的比较 从图 2 和表 1 紫花地丁挥发性成分的 GC-MS 数据可知,针捕集法与静态顶空法和水蒸气蒸馏法相比,具有以下 3 个方面的特点,①挥发性成分的数量,针捕集法能获得较多的挥发性成分数量(112 个),而静态顶空法和水蒸气蒸馏法所得的成分数量分别为 37 个和 78 个。②挥发性成分的种类,从 GC-MS 图的保留时间(t_R)可以看出,针捕集法主要获得中等挥发性的化合物(如脂肪醛和单萜类)和少量低挥发性化合物(如倍半萜)($t_R = 10 \sim 27$ min),而静态顶空法主要获得高挥发性化合物(脂肪醛和单萜类)和少量中等挥发性化合物($t_R = 2.0 \sim 13.0$ min),水蒸气蒸馏法主要获得一些低挥发性化合物(倍半萜、酸酯、脂肪酮和醇类)($t_R = 25 \sim 42$ min)。该结果与 3 种方法的原理基本一致,在静态顶空法中,一些高挥发性的化合物在实验温度下首先转移至样品瓶顶空气中,而不易挥发的化合物则需要更高的受热温度才能进入顶空气;水蒸气蒸馏的操作通常在高温下(>100 °C)下进行,一些高挥发性的化合物在蒸馏过程以及挥发油样品转移过程中可能造成大量流失,而一些低挥发性化合物在高温下得以提取。而针捕集法能在较低的加热温度下对样品进行富集,

保证挥发性成分没有被破坏,且由于不同吸附剂对样品的广泛吸附,使得该方法能够较为全面地反映出紫花地丁中挥发性成分的种类。③方法的灵敏度,在相同的样品质量下,从挥发性成分的信号强度和数量来看,针捕集法较静态顶空法的灵敏度高^[16]。综合 3 种前处理方法的数据可知,只有 13 种成分是 3 种方法共同检出的,因此,对于全面了解紫花地丁的挥发性化学成分,这 3 种方法不能互相取代,而是互补。

4 结论

本研究采用针捕集法对中药紫花地丁的挥发性成分进行了研究,并传统的水蒸气蒸馏法和静态顶空法进行了比较分析,发现静态顶空法所得的挥发性成分多为高挥发性成分,水蒸气蒸馏法所得到的挥发性成分多为低挥发性成分,而针捕集法主要获得中等挥发性的成分,有效地弥补了水蒸气蒸馏法和静态顶空法缺失的挥发性成分;且较静态顶空法有较高的灵敏度。因此结合针捕集法,可以更加全面了解中药材挥发性成分,通过针捕集法-GC-MS 法,发现紫花地丁的主要挥发性成分为单萜、脂肪醛、倍半萜、酮、芳香族和醇类等。

[参考文献]

- [1] 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,2015:337-338.
- [2] DU D, CHENG Z, CHEN D. Anti-complement sesquiterpenes form *Viola yedoensis* [J]. *Fitoterapia*, 2015,101:73-79.
- [3] 曹捷,秦艳,尹成乐,等. 紫花地丁化学成分及抗氧化活性研究[J]. *中国实验方剂学杂志*,2013,19(21):77-81.
- [4] 孙艺方,杜利利,周乐,等. 紫花地丁抗菌活性成分研究[J]. *中国中药杂志*,2011,36(19):2666-2671.
- [5] 吴欢,占远,陈海芳,等. UHPLC-ESI-Q-TOF-MS/MS 对紫花地丁中化学成分的快速表征[J]. *中国实验方剂学杂志*,2016,22(24):70-75.
- [6] 杜冬生,程志红,陈道峰. 紫花地丁中的抗补体生物碱类成分研究[J]. *中国中药杂志*,2017,42(24):4794-4800.
- [7] 祁伟,董岩. 紫花地丁挥发油化学成分分析及其抑菌作用研究[J]. *德州学院学报*,2011,27(2):41-45.
- [8] CHEN X, Kokubun T, Houghton P J, et al. Antibacterial activity of the Chinese traditional medicine, *Zi Hua Di Ding* [J]. *Phytother Res*,2010,18(6):497-500.
- [9] 刘嘉,徐润生,程存归. 两产地紫花地丁挥发油的化学成分研究[J]. *中成药*,2009,31(10):1575-1577.

- [10] 何春兰,张刚平,王如意,等. HS-SPME-GC-MS 和主成分分析红车轴草不同部位挥发油成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(5):71-81.
- [11] Raut J S, Karuppaiyl S M. A status review on the medicinal properties of essential oils[J]. Ind Crop Prod, 2014,62;250-264.
- [12] 魏长玲,郭宝林. 紫苏叶挥发油的不同化学型及研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(15):2937-2944.
- [13] 邓爱平,李颖,吴志涛,等. 苍术化学成分和药理的研究进展[J]. 中国中药杂志,2016,41(21):3904-3913.
- [14] 杜旌畅,谢晓芳,熊亮,等. 川芎挥发油的化学成分与药理活性研究进展[J]. 中国中药杂志,2016,41(23):4328-4333.
- [15] Ormeno E, Goldstein A, Niinemets U. Extracting and trapping biogenic volatile organic compounds stored in plant species[J]. Trends Anal Chem,2011,30(7):978-989.
- [16] LI C, XU F, CHEN C, et al. Comparative analysis of two species of *Asari Radix et Rhizoma* by electronic nose, headspace GC-MS and chemometrics [J]. J Pharm Biomed Anal,2013,85(11):231-238.
- [17] Fernandez-Garcia E. Use of headspace sampling in the quantitative analysis of *Artisanal spanish* cheese aroma [J]. J Agric Food Chem,1996,44(7):1833-1839.
- [18] Kedziora K, Wasiak W. Extraction media used in needle trap devices-progress in development and application [J]. J Chromatogr A,2017,1505:1-17.
- [19] 吴恒,吴雨松,朱玲超,等. Needle trap-GC-MS 法分析云南不同产地薄荷的挥发性成分[J]. 云南大学学报:自然科学版,2015,37(2):265-271.
- [20] CAO G, LI Q, WU X, et al. Coupling needle-trap devices with comprehensive two-dimensional gas chromatography with high-resolution time-of-flight mass spectrometry to rapidly reveal the chemical transformation of volatile components from sulfur-fumigated ginseng [J]. J Sep Sci,2015,38(7):1248-1253.
- [21] QIN Y, PANG Y M, CHENG Z H. Needle trap device as a new sampling and preconcentration approach for volatile organic compounds of herbal medicines and its application to the analysis of volatile components in *Viola tianschanica* [J]. Phytochem Anal, 2016, 27 (6): 364-374.
- [22] Lord H L, ZHAN W, Pawliszyn J. Fundamentals and applications of needle trap devices, a critical review [J]. Anal Chim Acta,2010,667:3-18.
- [23] Prikryl P, Kubinec R, Jurdakova H, et al. Comparison of needle concentrator with SPME for GC determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in aqueous samples[J]. Chromatographia,2006,64(1/2):65-70.

[责任编辑 顾雪竹]