

· 基础研究 ·

## HS-GC-MS 分析不同影响因素对砂仁挥发油 主要成分的影响<sup>△</sup>

李婧琳, 王媚, 郜佳, 齐菲, 邹俊波, 张小飞, 崔春利, 张琴, 史亚军\*

(陕西中医药大学/陕西省中医药管理局中药制药工程重点学科/陕西省中药基础与  
新药研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

**[摘要]** 目的: 探讨不同环境对砂仁中主要挥发性成分的影响。方法: 采用顶空进样, 分析光照、温度、湿度对砂仁主要挥发性成分的影响。结果: 砂仁中的挥发性成分以烯萜类为主, 其中乙酸龙脑酯和樟脑是砂仁主要挥发性成分; 短暂常温(25 ℃)干燥(湿度 < 40%)保存对砂仁品质影响小; 乙酸龙脑酯受环境影响大, 高温、高湿、光照联合作用其含量降低约 79%。结论: 温度是影响砂仁挥发性成分的主要因素, 联合湿度和光照, 烯萜类成分含量降低显著, 为达到更好的使用效果, 应及时存放在低温、避光、干燥的环境中。本实验为砂仁的保存条件及相关制剂制备及储存提供了参考。

**[关键词]** 砂仁; 乙酸龙脑酯; 自动顶空气质联用; 热图分析

### Effect of Environmental Factors on Main Components of Amomi Fructus by Headspace-Gas Chromatography-Mass

LI Jing-lin, WANG Mei, TAI Jia, QI Fei, ZOU Jun-bo, ZHANG Xiao-fei, CUI Chun-li, ZHANG Qin, SHI Ya-jun\*

(Shaanxi Province Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research/Shaanxi Province

Key subject of pharmacy engineering of Shaanxi Provincial Traditional Chinese Medicine administration/

Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the factors affecting the main components of Amomi Fructus. **Methods:** The main chemical compositions were determined by headspace-gas chromatography-mass, the factors affecting the stability of the Amomi Fructus were investigated, such as illumination, temperatures and humidity. **Results:** Terpenes were the main volatile components in Amomi Fructus, in which borneol acetate and camphor were the main components. Temporary dry preservation at room temperature showed no effect on the quality of Amomi Fructus. Borneol acetate was greatly affected by high temperature, high humidity and illumination, its content decreased by 79% in this environment. **Conclusion:** Temperature is the main factor affecting volatile components of Amomi Fructus. Combined with humidity and illumination, the content of terpene components decreased significantly, so the Amomi Fructus should be stored in low temperature, dark and dry environment. The investigation provides a reference for the preservation conditions of Amomi Fructus and related preparations.

**[Keywords]** Amomi Fructus; bornyl acetate; HS-GC-MS; thermogram analysis

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180621001

中药挥发油是中药中一类重要的活性物质, 现代药理研究表明, 挥发油具有杀虫、抑菌、消炎、抗肿瘤等作用, 在中药研究中具有重要的地位<sup>[1]</sup>。但挥发油稳定性差, 在制备与储存过程中易受到外

界环境的影响而挥散、氧化、变质等, 影响制剂的安全性及有效性<sup>[2]</sup>, 现今对复方中挥发油质量控制也未见报道。为提高挥发性成分保留量, 改善制剂品质, 现有的处理方式是将挥发油经环糊精包

<sup>△</sup> [基金项目] 陕西省科技厅项目(2017SF-308), 陕西省教育厅科研专项(16JK1217)

\* [通信作者] 史亚军, 教授, 研究方向: 中药新剂型与新技术研究; Tel: (029)38183689, E-mail: 328573751@qq.com

和、微囊化等处理后加入复方中<sup>[3]</sup>, 这样虽然能提高相关挥发油含量, 但不适合工业大生产, 且包合物质量不易控制<sup>[4]</sup>、在制备过程中不可避免会剔除一些成分, 打破了原有配伍间可能存在的相互作用。

砂仁为姜科植物阳春砂 *Amomum villosum* Lour.、绿壳砂 *Amomum villosum* Lour. var. *xanthioides* T. L. Wu et Eenjen 或海南砂 *Amomum longiligulare* T. L. Wu 的干燥成熟果实<sup>[5]</sup>。其主要成分为挥发油, 阳春砂挥发性成分中乙酸龙脑酯含量最高, 樟脑次之, 而绿壳砂中樟脑含量最高, 乙酸龙脑酯次之<sup>[6]</sup>。砂仁在中医治疗胃病中有着非常明确的药用价值, 现代药理研究表明, 砂仁还具有降脂、降血糖、镇痛、消炎、止泻等作用, 其中樟脑、乙酸龙脑酯等成分与砂仁镇痛药效有较高的关联度<sup>[7]</sup>, 这可能是砂仁行气止痛、温脾止泻的物质基础。2015版《中华人民共和国药典》中, 有62味成方制剂中含有砂仁, 以细粉形式入药的占85%, 因挥发性成分含量的高低会直接影响砂仁的药效, 进一步影响到药物间相互作用关系, 故研究常见环境对砂仁挥发性成分的影响十分必要。本实验采用自动顶空进样-气质联用分析通过施加温度、光照、湿度因素<sup>[8]</sup>, 模拟常见储藏条件变化对砂仁细粉中挥发性成分的影响。

## 1 仪器与试药

### 1.1 仪器

QE-300 高速万能粉碎机(浙江屹立工贸有限公司); DHG-9140 电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司); 7890B-5975C 气相质谱联用仪, 7697A 自动顶空进样器(美国 Agilent 公司)。

### 1.2 试药

砂仁购自陕西兴盛德药业有限责任公司, 由陕西中医药大学胡本详教授鉴定为阳春砂正品。

## 2 方法与结果

### 2.1 样品处理

取适量干燥砂仁饮片至粉碎机中粉碎, 过6号筛, -20℃避光放置备用。

### 2.2 HS-GC-MS 条件

顶空进样器参数: 加热箱 90℃、定量环

100℃、传输线 110℃, 平衡时间 20 min, 样品持续时间 1 min, GC 循环时间 50 min。

GC 参数: HP-5M 色谱柱, 加热器 230℃, 分流比为 5:1, 程序升温: 初始温度 50℃, 保留 3 min; 以 6℃·min<sup>-1</sup> 升至 100℃, 保留 2 min; 以 6℃·min<sup>-1</sup> 升至 140℃, 保留 2 min; 以 4℃·min<sup>-1</sup> 升至 185℃, 保留 3 min; 以 30℃·min<sup>-1</sup> 升至 230℃, 保留 2 min。

质谱参数: 电离模式, 电子轰击离子源 70 eV, 离子源温度 280℃, 扫描范围 m/z 35~500。

### 2.3 储存条件

取砂仁细粉 2.5 g, 置于玻璃透明的扁平称量瓶中, 以加热、光照(1000 lx ± 500 lx)、湿度(90%)为影响因素, 按照表 1 条件进行 48 h 干预。

表 1 干预条件

	A	B	C	D	E	F	G	H
温度	25	25	25	25	40	40	40	40
光照	—	光照	—	光照	光照	光照	—	—
湿度	90	—	—	90	90	—	90	—

注: “—”表示不给予相应处理。

### 2.4 样品检测

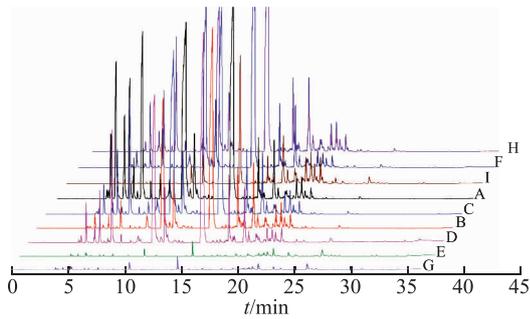
精密称取“2.3”项下的砂仁细粉 0.5 g, 置于 20 mL 顶空进样瓶中, 在“2.4”项条件下进行检测。

### 2.5 数据处理

根据 NIST14.0 库与相关文献对检出峰进行检索, 并通过面积归一化法确定各组峰相对含量, 对相对含量在 1% 以上的挥发性成分用 SPSS 软件进行主成分分析及汇总, 采用 Rstudio 软件将数据热图处理并进行聚类分析。

### 2.6 主成分分析

通过检索 NIST14.0 数据库, 结合相关文献, 共鉴定了 72 个化合物, 以烯烃类为主, 其中乙酸龙脑酯、樟脑、d-柠檬烯、β-石竹烯、埃烯、β-蒎烯、月桂烯、冰片等成分含量皆不小于 1%, 通关对相关成分进行主成分分析, 最终得到 2 个主成分, 第一主成分乙酸龙脑酯对方差贡献率为 89.075%, 第二类主成分樟脑方差贡献为 6.028%, 两者累计贡献率达到 95.102%。各干预条件下测得总离子流图如图 1 所示。



注：A~H为表1中的干预条件；I为-20℃的保存条件。

图1 各干预条件下测得总离子流图

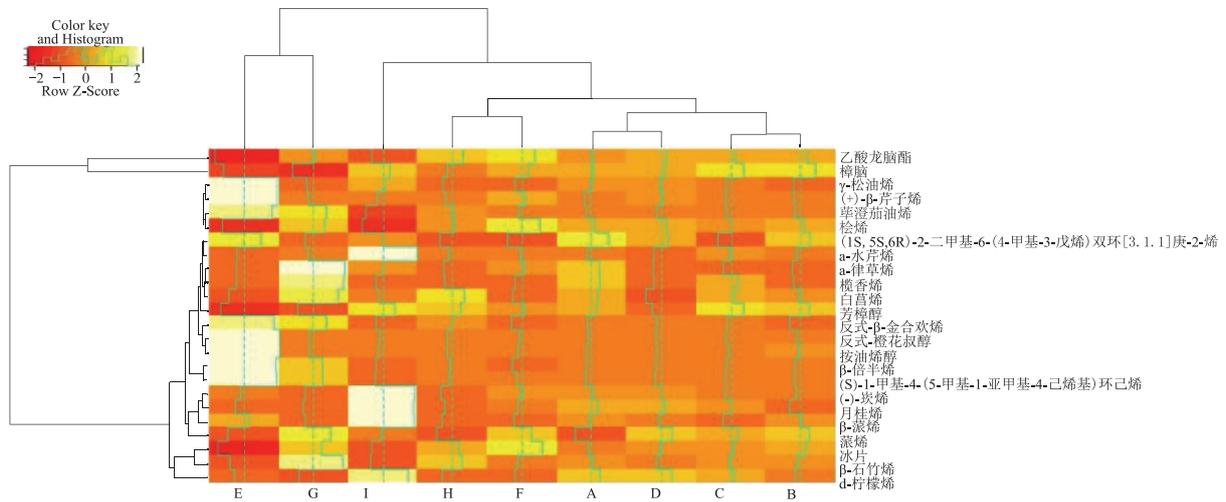
### 2.7 影响砂仁挥发性成分稳定性因素

挥发油在储存过程中会受到温度、湿度、光照等因素影响而品质改变。对相对含量较高的24种成分进行汇总，相对变化如表2、图2所示。因低温避光环境对挥发油成分影响较小，故以-20℃各成分相对含量作为参照，对其他8种干预条件进行热图分析，如图2所示。其中化合物可聚为3类，分别为乙酸龙脑酯、樟脑和其他类，说明两者为主要成分，与上述主成分分析结果一致。影响因素聚为2类，

表2 不同影响因素下挥发油成分含量变化(n=3)

成分	相对含量 (%)								
	25℃				40℃				
	W/D(A)	A/L(B)	A/D(C)	W/L(D)	W/L(E)	A/L(F)	W/D(G)	A/D(H)	(I)
(-)-苧烯	2.262 3	1.239 0	0.847 1	1.966 9	1.436 5	1.714 4	0.483 8	—	7.448 5
桉烯	0.189 4	0.194 5	0.161 3	0.207 5	—	0.292 7	0.241 9	0.184 5	—
β-蒎烯	0.837 1	1.095 7	0.211 7	0.701 7	1.436 5	0.177 7	0.131 0	—	4.003 1
月桂烯	2.680 9	—	1.794 9	2.332 6	0.431 9	1.034 6	0.161 2	0.622 1	6.402 9
d-柠檬烯	6.298 5	2.498 6	4.578 1	6.345 5	1.316 0	2.028 0	—	1.193 2	10.535 5
α-水芹烯	0.109 6	0.112 6	0.181 5	—	—	0.135 9	0.040 3	0.080 4	1.194 9
芳樟醇	1.136 1	1.249 3	1.391 5	0.573 2	—	0.972 2	0.302 4	1.221 7	1.414 0
樟脑	20.609 7	28.364 8	26.520	20.825 5	5.153 5	22.883 8	4.757 7	15.420 0	23.630 3
冰片	4.703 9	5.949 4	5.364 6	5.021 0	1.346 1	8.039 1	6.229 4	6.125 3	3.405 6
乙酸龙脑酯	33.874 4	38.051 8	35.344	37.144 0	9.031 3	23.122 5	33.183 3	41.322 9	43.070 4
蒎烯	—	3.491 8	3.206 7	3.983 2	—	3.585 7	4.757 7	—	1.981 6
白菖烯	0.677 6	0.460 8	0.574 7	—	—	0.198 6	1.270 1	0.876 2	0.338 6
β-石竹烯	5.132 5	4.505 6	4.527 7	4.062 3	2.541 6	4.077 1	9.868 3	6.555 3	2.728 4
(1S, 5S, 6R)-2, 6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯-1-基)双环[3.1.1]庚-2-烯	0.956 7	0.737 3	0.090 7	0.662 2	0.954 4	0.062 7	0.231 8	0.144 6	0.458 07
反式-β-金合欢烯	0.568 0	—	0.484 0	0.444 8	3.094 2	—	1.794 2	0.821 3	0.268 8
α-律草烯	0.747 4	—	—	—	—	0.459 9	1.764 1	—	0.368 5
(+)-β-芹子烯	—	—	—	0.266 9	1.306 0	0.292 7	—	—	—
β-倍半烯	0.946 7	0.737 3	0.766 3	0.830 3	6.941 7	0.062 7	3.205 4	1.289 5	0.438 1
反式-橙花叔醇	0.179 4	0.122 9	—	—	3.315 2	0.188 1	—	—	0.089 6
桉油烯醇	—	0.163 8	0.080 6	—	2.380 9	—	—	—	—
(S)-1-甲基-4-(5-甲基-1-亚甲基-4-己烯基)环己烯	0.787 3	0.634 9	0.675 7	0.652 3	5.585 6	0.742 2	2.560 3	1.125 7	0.378 4
萜澄茄油烯	0.199 3	0.194 6	0.191 6	0.207 6	0.693 2	0.219 5	0.453 6	0.288 4	—
榄香烯	0.458 4	—	0.393 3	—	—	—	1.048 3	—	—
γ-松油烯	0.418 5	0.194 6	0.232 0	0.375 6	1.316 0	0.188 1	0.191 5	0.130 0	0.468 0

注：W代表高湿；L代表光照；D代表避光；A代表干燥；“—”表示未检测到。



注：A~H为表1中的干预条件；I为-20℃的保存条件。

图2 不同影响因素下挥发性成分变化热图

分别为40℃、90%湿度综合影响与其他类。

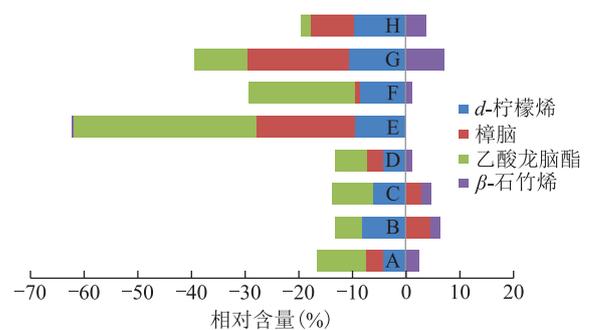
升高温度，对单萜烯烃、含氧类烯烃影响较大，如*d*-柠檬烯、 $\beta$ -石竹烯、冰片、芳樟醇、乙酸龙脑酯等化合物相对含量皆有所降低；当给予光照时，多烯类成分含量变化较为显著，如白菖烯、 $\alpha$ -律草烯、 $\alpha$ -水芹烯、榄香烯等相对含量皆有不同程度降低；增加湿度，芳樟醇、 $\alpha$ -水芹烯、樟脑含量降低，而反式-橙花叔醇、桉油烯醇、 $\beta$ -倍半水芹烯无明显变化。

同时施加3种干预条件(光照、90%湿度、40℃)，能显著降低砂仁中挥发性成分的含量，其效果强于单因素单独作用，如乙酸龙脑酯、樟脑、桉烯、冰片、*d*-柠檬烯、芳樟醇含量分别降低了79.0%、78.2%、60.5%、87.5%、100%；单独给予光照时，对多烯类成分有较大的影响，而在高温高湿联合干预下，光照对其含量变化无显著性影响；高温和光照联合干预，能加速柠檬烯含量的降低，对樟脑等含氧烯萜化合物则起到延缓降低的作用；高湿对大多数化合物含量无显著影响，但与温度或光照联合作用，能显著降低大多数化合物相对含量。

### 2.8 主要成分受环境干预影响分析

以I(-20℃)因素下各化合物相对含量为基准，对各干预条件下4种主要成分含量变化进行分析，如图3所示。图中可以明显看出，温度、湿度、光照单独或联合作用，对*d*-柠檬烯、乙酸龙脑酯含量有不同程度的降低。乙酸龙脑酯在E

(40℃、光照、90%适度)环境下含量降低最为显著，*d*-柠檬烯在G(40℃、90%湿度、避光)、E(40℃、90%湿度、光照)环境下含量变化明显，说明温度、湿度联合作用对*d*-柠檬烯含量影响大，此时，光照对其已无显著性的影响。含氧烯樟脑在B、C环境下成正向变化，说明在室温干燥环境下对含氧烯萜化合物起到延缓衰减的效果。 $\beta$ -石竹烯除在3种因素联合作用下含量降低，其余环境下皆成正向变化，说明 $\beta$ -石竹烯在一般环境下较为稳定。



注：纵向分布为表1中的干预条件；横向为各化合物较对照组含量增减程度。

图3 4种主要成分在干预条件下的含量变化

### 3 讨论

本实验模拟砂仁在大多数处方中以原药粉入药的状态，未对砂仁挥发油进行提取，而采用HS-GC-MS，在不破坏药材油细胞的前提下，依靠升温孵化，提取挥发性成分，分析砂仁细粉在温度、湿度、

光照单独或综合干预下对相关化合物含量的影响,尽可能还原砂仁挥发性成分在处方中的变化情况,为药材的储存、提取挥发油的前期研究及后期制剂设计提供依据。

实验采用面积归一化法测得各成分峰面积占总峰面积的量<sup>[9]</sup>,结果表明,砂仁中的挥发性成分以烯萜类为主,除大量共有成分外,8种干预条件测试下都能检索到少量的新的成分,但因含量过小,故未给予比较分析。这些成分是因环境改变导致成分氧化或分解产生,还是由于外界携带产生,后期会加大样品量,对新化合物的产生做进一步分析。

高温、光照因素提供了足够的反应条件及能量、高湿因素创造了充足的氧环境、3种因素联合干预下,砂仁的品质急剧恶化,应及时存放在低温(0℃下)、干燥(湿度<40%)、避光的环境下以达到更好的使用效果。实验结果表明,砂仁可短期放在室温干燥的条件下,可能是由于挥发油在细胞内,受各种膜及纤维的保护,削弱了外环境的干扰。利用这一特点,高波<sup>[10]</sup>等导入“药辅合一”的思想,将含有挥发油的药材直接粉碎,而未进行提取包合处理,相当于挥发油在细胞中受细胞壁保护,抑制了挥发,增强了稳定性。张定堃等<sup>[11]</sup>在“药辅合一”思想下,借鉴粒子设计技术,通过微观层面的设计,成功制备了“壳一核”包覆结构的改性口腔溃疡散,将易挥散的冰片包裹在内,提高了制剂品质。粒子设计技术是指在具有亚微观尺寸的粒子空间上对材料进行设计、研究、制造,以期亚微观粒子本身及由它构成的材料具有更好的性能、功能乃至智能,现广泛应用于化工、医疗、建筑等行业。中药粒子设计技术是通过调控入药粉末粒径,加入时间及加入顺序等,使得药物粉体间相互分散、包裹而形成特定的结构与功能<sup>[12]</sup>,以改善制剂品质。本实验也是考查

不同影响因素对砂仁挥发性成分影响,以期对后期课题借鉴粒子设计的手段对复方丸、散剂制备工艺进行调整,分析挥发性成分经新工艺处理后的变化,为挥发性物质在制剂中的保留率及稳定性提供依据。

### 参考文献

- [1] 王雅琪,杨园珍,伍振峰,等. 中药挥发油传统功效与现代研究进展[J]. 中草药,2018,49(2):455-461.
- [2] 赵红红. 白术挥发油的紫外氧化成分分析暨制剂工艺研究[D]. 太原:山西大学,2015.
- [3] 沈晓霞,姜艳,朱琦,等. 菊花挥发油 $\beta$ -环糊精包合物包合工艺研究及稳定性考察[J]. 中国现代中药,2012,14(9):55-57.
- [4] 郝晶晶,李海亮,龚慕辛. 挥发油环糊精包合技术的研究进展及存在问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(2):352-356.
- [5] 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.
- [6] 黄崇才. 砂仁的化学成分、药理作用及临床应用的研究进展[J]. 内蒙古中医药,2017,36(Z1):210-212.
- [7] 陆山红,赵荣华,么晨,等. 砂仁的化学及药理研究进展[J]. 中药药理与临床,2016,32(1):227-230.
- [8] 何英杰,王靖,刘东波,等. 不同环境条件对枳壳挥发油主要成分的影响[J]. 中成药,2017,39(10):2200-2203.
- [9] 张玲玲,汤依娜,唐思丽,等. 向日葵花盘挥发油 GC-MS 定性分析[J]. 中国现代中药,2017,19(2):188-191.
- [10] 高波,袁如文,金元宝,等. “药辅合一”制备工艺对挥发油稳定性的影响[J]. 时珍国医国药,2018,29(3):609-610.
- [11] 张定堃,秦春风,韩丽,等. 粒子设计对口腔溃疡散粉体学性质的影响[J]. 中国中药杂志,2013,38(3):335-340.
- [12] 杨明,韩丽,杨胜,等. 基于传统丸、散剂特点的中药粒子设计技术研究[J]. 中草药,2012,43(1):9-14.

(收稿日期 2018-06-21)