

· 基础研究 ·

固体直接进样-气相色谱-质谱分析
黑叶小驳骨的挥发性成分[△]

冀晓雯, 付金娥*, 钟晟哲, 廖苏奇

广西壮族自治区药用植物园/西南濒危药材资源开发国家工程实验室, 广西 南宁 530023

[摘要] 目的: 分析黑叶小驳骨的挥发性成分。方法: 本实验以固体直接进样结合气相色谱质谱联用技术, 通过色谱峰的质谱匹配度和保留指数相似度对色谱峰进行定性, 用总离子流色谱峰的峰面积进行归一化定量。结果: 共分离出 29 种组分, 鉴定了其中 22 种, 其相对含量占总检出物的 94.46%。其中含量较高的组分有棕榈酸 (39.20%)、角鲨烯 (10.25%)、硬脂酸 (10.05%)、油酸 (7.86%)、植醇 (5.21%) 等。结论: 黑叶小驳骨的挥发性成分主要由大量的饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸组成。采用固体直接进样技术, 能够简化实验步骤, 在中药成分分析中具有潜在的开发价值。

[关键词] 固体直接进样; 气质联用; 黑叶小驳骨; 挥发性成分

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)08-1025-04

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20181217011

Analysis of Volatile Compounds in *Justicia ventricosa* GC-MS with Chromato Probe

JI Xiao-wen, FU Jin-e*, ZHONG Sheng-zhe, LIAO Su-qi

Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Southwest Danger Medical Material Exploitation

State Engineering Laboratory, Nanning 530023, China

[Abstract] **Objective:** To assay the volatile compounds of *Justicia ventricosa*. **Methods:** The volatile compounds in *J. ventricosa* were analyzed by GC-MS with Chromato Probe, and were identified by combining mass NIST spectrometry database with Kovats retention indices. Then the peak area normalization method was used to calculate the relative percentage of each ingredient. **Results:** The results showed that 29 volatile compounds were separated, and 22 compounds were identified, accounting for 94.46% of the total volatile compounds. The compounds with high contents were as follows: n-hexadecanoic acid (39.20%), Squalene (10.25%), octadecanoic acid (10.05%), oleic acid (7.86%), phytol (5.21%), and so on. **Conclusion:** The major type of the volatile compounds in *J. ventricosa* were saturated fatty acid and unsaturated fatty acid. The experimental procedure is simplified by using Chromato Probe. The results indicate that the method has potential exploitation value in the analysis of traditional Chinese medicine.

[Keywords] Chromato Probe; GC-MS; *Justicia ventricosa*; volatile compounds

黑叶小驳骨 *Justicia ventricosa*, 异名 *Gendarussa ventricosa* 和 *Adhatoda ventricosa*^[1], 又名大驳骨、黑叶接骨草、大还魂、偏肿鸭嘴花等, 产于我国南部和西南部, 是广西传统瑶药。其味苦、微涩, 性平。具有活血散瘀、续筋接骨、消肿镇痛之功效^[2]。据《中国现代瑶药》记载, 黑叶小驳骨可用于治疗闭合性骨折、跌打扭伤、腰椎间盘突出、腰肌劳损、

坐骨神经痛等疾病^[3]。现代药理研究证明, 黑叶小驳骨可减轻骨性关节炎模型大鼠膝关节软骨的退变^[4], 并具有抗炎镇痛的功效^[5]。市售某些中成药配方中也含有该味药, 如驳骨水。目前黑叶小驳骨的基础性研究薄弱, 笔者未见国内外对其挥发性成分进行报道。

气相色谱-质谱法 (GC-MS) 是一种高选择性、高

[△] **[基金项目]** 国家自然科学基金地区基金项目 (81560623); 广西壮族自治区中医药管理局中医药民族医药自筹经费科研课题 (gzze1115)

* **[通信作者]** 付金娥, 副研究员, 研究方向: 药用育种、化学检测及药用植物标准化体系研究; E-mail: duanwei3014@163.com

灵敏度、高效能的分析方法,尤其适合于挥发性化合物的分析^[6]。固体直接进样技术是一种新颖的样品前处理方法,通过进样杆(Chromato Probe)将样品直接送入进样器。与常规的水蒸气蒸馏法、溶剂浸提法相比较,该方法具有样品量小、操作简便、无需溶剂、操作时间短和灵敏度高等优点。目前应用类似技术分析中药材挥发性成分的研究较少^[7-8]。本实验采用固体直接进样技术,通过气相色谱质谱法结合保留指数(科瓦茨指数, Kovats retention indices, KI)分析黑叶小驳骨的挥发性成分,为该植物在医药、保健领域的应用提供理论参考,为中药材挥发性成分的研究提供一种方便、快捷的分析手段。

1 材料

1.1 药材

供试品采自广西壮族自治区药用植物园引种繁育圃,经广西壮族自治区药用植物园吕慧珍主任技师鉴定为爵床科驳骨草属植物黑叶小驳骨 *Justicia ventricosa* 的地上部分。

1.2 仪器

3800/300 型 GC-MS 联用仪,带固体进样杆组件(美国 Varian 公司);电子天平(美国 Sartorius 公司)。

2 方法

2.1 材料处理

取一定量的黑叶小驳骨,阴干,粉碎,过 40 目筛,取 1 mg 供试品粉末于专用微型样品瓶中,将样品瓶小心放入固体进样杆。

2.2 仪器工作条件

色谱条件:进样口采用程序升温,初始温度 40 ℃,保持 3 min,然后以 200 ℃·min⁻¹ 升至 220 ℃,保持 3 min 后,以 10 ℃·min⁻¹ 降至 40 ℃。分流比为 20。色谱柱为 VF-5 ms 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm)。初始柱温为 40 ℃,保持 7 min,然后以 10 ℃·min⁻¹ 升至 150 ℃,再以 5 ℃·min⁻¹ 升到 250 ℃,保持 5 min,后以 20 ℃·min⁻¹ 升到 280 ℃,保持 5 min。载气为高纯氮气,流速为 1.0 mL·min⁻¹。

质谱条件:电离方式 EI, 70 eV。GC-MS 传输线温度为 280 ℃,离子源温度为 200 ℃,四极杆温度为 40 ℃。质量范围为 m/z 45 ~ 500。

2.3 KI 值的测定

取正构烷烃混合对照品(美国 AccuStandar 公司),

稀释后按照 2.2 条件分析,进样量 1 μL。记录各正烷烃保留时间,采用线性升温公式(1)计算药材各组分的 KI 值^[9]。

$$KI = 100n + \frac{100(t_x - t_n)}{t_{n+1} - t_n} \quad (1)$$

式中: t_x 、 t_n 和 t_{n+1} 分别为被分析组分和碳原子数处于 n 和 $n+1$ 之间的正烷烃($t_n < t_x < t_{n+1}$)流出峰的保留时间(min)。

3 结果与讨论

3.1 总离子流图与成分分析

按 2.2 条件对黑叶小驳骨进行测试,得到总离子流图,见图 1。通过 NIST 标准谱库检索各峰质谱图,选取质谱匹配度高的前 6 个可能物质,计算 KI 值并与 NIST 库 KI 值检索结果相比较,以质谱和 KI 值匹配度最高的化合物为鉴定结果,采用面积归一化法计算各组分的相对含量,见表 1。

本实验共从黑叶小驳骨挥发性化学成分中检出 29 种成分,运用质谱结合 KI 的定性方法鉴定了其中 22 种,其相对含量占总检出物的 94.46%。其中含量较高的分别为棕榈酸(39.20%)、角鲨烯(10.25%)、硬脂酸(10.05%)、油酸(7.86%)、植醇(5.21%)、十八炔(3.52%)、肉豆蔻酸(2.77%)等。由此可见,黑叶小驳骨的挥发性成分主要由大量的饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸组成。据文献报道,棕榈酸和油酸具有降血脂、抗动脉粥样硬化、抗血小板聚集及血栓形成的作用^[10]。角鲨烯属于三萜类化合物,具有广泛的生物活性,如携氧、调控胆固醇的代谢、抗氧化、抗肿瘤、解毒、抗辐射和抑制微生物生长等功效^[11]。

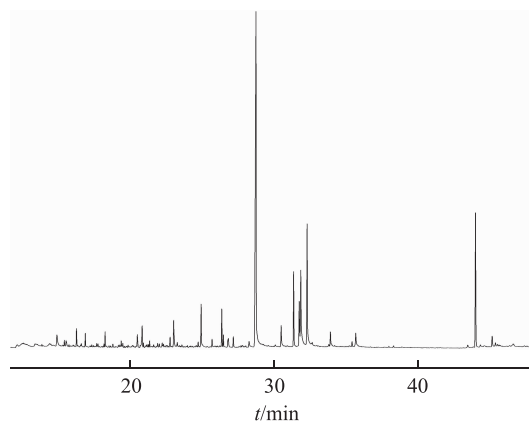


图1 黑叶小驳骨挥发性成分分析总离子流图

表 1 黑叶小驳骨挥发性成分分析结果

序号	<i>t_R</i> /min	化合物名称	相似度/%	KI *	KI **	相对质量分数/%
1	15.42	Octanoic Acid 正辛酸	0.72	1172	1170	0.31
2	16.26	2, 3-Dihydro-1-benzofuran 2, 3-二氢苯并呋喃	0.84	1225	1224	1.18
3	16.87	Nonanoic acid 正壬酸	0.83	1266	1275	0.78
4	18.24	n-Decanoic acid 癸酸	0.84	1360	1373	0.77
5	20.47	1-Hydroxy-1, 7-dimethyl-4-isopropyl-2, 7-cyclodeca- diene 1-羟基-3, 7-二甲基-4-异丙基-2, 7-环癸二烯	0.79	1506	1511	0.93
6	20.81	δ-Cadinene δ-杜松烯	0.83	1526	1527	1.73
7	21.33	Dodecanoic acid 正十二酸	0.76	1556	1567	0.35
8	22.75	(-)-Cedreanol (-)-柏木烯醇	0.76	1638	1645	0.77
9	22.99	τ-Cadinol τ-杜松醇	0.89	1651	1652	2.25
10	24.94	Tetradecanoic acid 肉豆蔻酸	0.91	1758	1760	2.77
11	26.48	Phytol ketone 植酮	0.84	1841	1843	0.77
12	26.80	Pentadecanoic acid 正十五烷酸	0.78	1858	1869	1.17
13	28.26	9-Hexadecenoic acid 9-十六碳烯酸	0.80	1937	1938	0.55
14	28.74	n-Hexadecanoic acid 棕榈酸	0.89	1964	1975	39.20
15	30.49	Heptadecanoic acid 正十七烷酸	0.81	2060	2065	1.72
16	31.36	Phytol 植醇	0.90	2109	2112	5.21
17	31.75	1-Octadecyne 十八炔	0.85	—	2130	3.52
18	31.86	Oleic Acid 油酸	0.84	2137	2152	7.86
19	32.29	Octadecanoic acid 硬脂酸	0.90	2163	2168	10.05
20	35.67	Eicosanoic acid 花生酸	0.80	2364	2230	1.34
21	43.97	Squalene 角鲨烯	0.93	2650	2674	10.25
22	45.11	Heptacosane 正二十七烷	0.79	2700	2700	1.01

注：* 表示测定值；** 表示 NIST 谱库检索值(非极性 DB-5 柱)；—表示未检出。

章小丽等^[12]使用硅胶柱色谱法对黑叶小驳骨的乙酸乙酯提取物进行分离纯化, 利用 GC/MS 对柱色谱 50:1 (石油醚/乙酸乙酯) 洗脱部分进行了分析, 结果显示该部分的主要成分为棕榈酸、硬脂酸和油酸。本实验得到的主成分与文献相近, 但比例与文献有一定差异, 这可能与样品的前处理方法、产地等因素有关。

3.2 直接进样技术

直接进样技术是美国瓦里安公司的专利技术, 是气相色谱进样器的改进。它通过进样杆直接将样品送入进样器。进样杆的主体为一根直径 6 mm、长 25 cm 的不锈钢管, 其末端可以盛放专用的石英微型样品瓶。进样杆的主体进行了钝化处理, 能够承受高温, 不会对样品的检测产生干扰。将进样杆安置于气相色谱仪上配套的进样口后, 调节进样口温度, 样品中的挥发性成分进入色谱柱, 而不挥发的成分会滞留在样品瓶

中。因此, 应用该技术可以直接分析固体、液体或胶状的样品, 免去了提取、净化、浓缩的步骤, 简化了预处理程序。同时由于加热过程在氦气保护下进行, 可以避免受热过程中样品的氧化, 减少样品损失。

3.3 KI 在定性分析中的作用

中药挥发性成分复杂且含有大量的同分异构体, 质谱图极其相似, 通常一个色谱峰会出现几个匹配度都很高的化合物与之对应, 仅采用常规谱库检索不易准确定性。KI 是一种气相色谱定性参数, 用来描述化合物在色谱柱上的保留行为。当固定相一定时, 这种行为仅与化合物的拓扑、几何和电性特征相关。不同化合物在色谱柱上通常表现出不同的特征保留行为, 故色谱保留指数可以作为一种辅助定性的良好手段^[13]。因此, 分析中药挥发性成分时, 同时考虑色谱峰的质谱匹配度和 KI 相似度, 可提高结果鉴定的准确性。

4 结论

本实验以固体直接进样结合 GC-MS 联用技术分析黑叶小驳骨的挥发性成分,通过色谱峰的质谱匹配度和 KI 相似度对色谱峰进行定性,用总离子流色谱峰的峰面积进行归一化定量。实验表明,黑叶小驳骨的挥发性成分主要由大量的饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸组成,同时还含有三萜类物质角鲨烯。这些成分也许与黑叶小驳骨活血散瘀的作用有关,其作用机理有待进一步研究。而采用固体直接进样技术,不需要溶剂,能够简化实验步骤,缩短分析时间,更真实地反映样品情况。该技术具有较大的开发前景,其在中药材挥发性成分分析上的应用还有待进一步开发与完善。

参考文献

- [1] Flora of China Editorial Committee. Flora of China: Vol. 19 [M]. Saint Louis: Missouri Botanical Garden Press, 2013:457.
- [2] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 70 卷[M]. 北京:科学出版社,2002:299.
- [3] 戴斌. 中国现代瑶药[M]. 南宁:广西科学技术出版社, 2009:131-133.
- [4] 刘文奇,刘洪波,刘娇莹,等. 海南大驳骨对骨性关节炎模型大鼠膝关节软骨形态学的影响[J]. 海峡药学, 2014,26(11):41-42.
- [5] 谢珍连,甘广玉,罗爱月,等. 大驳骨和落地生根及其配伍抗炎镇痛的实验研究[J]. 中国医院药学杂志,2018, 38(17):1792-1795.
- [6] 张玲玲,汤依娜,唐思丽,等. 向日葵花盘挥发油的 GC-MS 定性分析[J]. 中国现代中药,2017,19(2):188-191.
- [7] 梁洁,冀晓雯,谷筱玉,等. 直接固体进样-气质联用法分析郁金的挥发性成分[J]. 亚太传统医药,2014,10(12): 35-37.
- [8] 袁敏,张铭光,袁鹏,等. 热解吸/气相色谱/质谱联用法测定互叶白千层幼苗的挥发组分[J]. 华南师范大学学报(自然科学版),2010(3):62-65.
- [9] 金玲,杜鸿灵,蒋泽林,等. GC-MS 技术分析尤力克柠檬花挥发油的化学成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2018, 24(3):56-61.
- [10] 吴健,项峥,许颖,等. GC-MS 分析中药白及中脂肪酸成分[J]. 食品与药品,2014,16(6):428-430.
- [11] 刘纯友,马美湖,靳国锋,等. 角鲨烯及其生物活性研究进展[J]. 中国食品学报,2015,15(5):147-156.
- [12] 章小丽,余正文,郭芳琴,等. 大驳骨化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发,2004,16(2):131-132.
- [13] 蔡倩,陈琨,王桃梅,等. 保留指数辅助 GC-MS 对宁夏芫菁挥发性成分分析[J]. 食品研究与开发,2016,37(19): 145-149.

(收稿日期: 2018-12-17 编辑: 王丽英)