

HS-GC-MS 法分析江西产薄荷不同部位的挥发性成分^Δ

吴司琪*, 伍振峰#, 张小飞(江西中医药大学现代中药制剂教育部重点实验室, 南昌 330004)

中图分类号 R917 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)21-2959-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.21.25

摘要 目的:建立分析薄荷不同部位(根、茎、叶)挥发性成分的方法。方法:采用顶空气相色谱-质谱联用法(HS-GC-MS)。GC条件:HP-5MS 石英毛细管柱,载气为He(恒流模式),柱流速为1.0 ml/min,进样量为1.0 μl,进样口模式为分流模式,分流比为10:1,进样口温度为250 ℃,程序升温。MS条件:电离源为电子轰击离子源,电离能为70 eV,电子倍增管电压为1 905 V,离子源温度为230 ℃,四极杆温度为150 ℃,质量扫描范围为 m/z 30~550。结果:从江西产薄荷根、茎、叶分别鉴定出10、14和48种挥发性成分,分别占各部位挥发油总量的90.03%、92.79%和95.93%。三者共鉴定出51个挥发性成分,其中有7个共有化学成分,且均以氧化胡椒酮为主要成分。结论:该方法操作简便、稳定、重复性好,可用于江西产薄荷不同部位的挥发性成分分析。江西产薄荷不同部位所含挥发性成分差异较大,其中以薄荷叶中的挥发性成分最多。

关键词 顶空进样;气相色谱-质谱联用法;薄荷;挥发性成分;不同部位

Study on the Chemical Constituents of Different Parts of *Mentha haplocalyx* in Jiangxi by GC-MS

WU Siqu, WU Zhenfeng, ZHANG Xiaofei (Key Laboratory of Modern Preparation of TCM, Ministry of Education, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a method for analyzing the volatile constituents of different parts (root, stem and leaf) of *Mentha haplocalyx*. METHODS: HS-GC-MS was performed. GC conditions: the column was HP-5MS capillary quartz column, carrier gas was He (constant current mode), flow rate was 1.0 ml/min, volume injection was 1.0 μl, inlet was split mode with split ratio of 10:1, temperature was 250 ℃ (temperature programmed). MS conditions: ionization source was electron bombardment, energy was 1 905 V, temperature was 230 ℃, quadrupole temperature was 150 ℃, and the scanning range was m/z 30-550. RESULTS: Totally 10, 14 and 48 volatile components were identified from the root, stem and leaf, which accounted for 90.03%, 92.79% and 95.93% of the capacity of the total essential oil from each part of it. And totally 51 volatile compounds was identified, including 7 kinds that shared the same chemical components that regard the piperitone oxide as the main ingredient. CONCLUSIONS: The method is simple, stable and reproducible, and can be used for the analysis of volatile components of different parts of *M. haplocalyx*. The volatile components in different parts are quite different, and most is in the leaf.

KEYWORDS Headspace sampling; Gas chromatography mass spectrometry; *Mentha haplocalyx*; Volatile composition; Different parts

薄荷 *Mentha haplocalyx* 是唇形科植物,具有散风热、透疹、清头利目之功效^[1],主治风热感冒、头痛、目赤、胸胁胀闷等证^[2-3]。现代药理研究表明,薄荷具有解热镇痛、抗氧化、抗肿瘤、降血压等功效^[4-6]。由于薄荷属植物分布广、生态适应幅度大、自然杂交现象普遍以及有性和无性繁殖并存,使其内在形态和化学组成都产生了很多变异,导致薄荷挥发性成分也有差异^[7]。目前,薄荷挥发性成分研究主要围绕薄荷醇、薄荷脑等成分进行^[8],而对江西、安徽产薄荷的主要成分氧化胡椒酮的提取研究较少。对江西产薄荷不同部位的挥发性成分进行研究,有利于当地薄荷资源的开发。当前,薄荷不同部位挥发性成分的分析已有报道^[9],但对其不同部位挥发性成分的差异研究较少,尤其是针对以氧化胡椒酮为主要成分的江西产薄荷不同部位挥发性成分差异研究较为匮乏。

气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术是目前分析挥发性成

分的主要检测技术之一,广泛应用于药品的质量控制,如有机溶剂残留量测定等^[10]。顶空进样(HS)是GC法中一种方便快捷的样品前处理方法,其原理是将待测样品置于一密闭的容器中,通过加热升温使挥发性成分从样品基体中挥发出来,在气液(或气固)两相中达到平衡,直接抽取顶部气体进行色谱分析,从而检验样品中挥发性成分的类型和含量,目前已经广泛应用于食品、药品的分析检测^[11-12]。传统挥发性待测物成分的分析方法主要是先提取出待测物中的挥发油再对其成分进行分析,但缺点为某些低分子质量成分以及某些酯类成分易损失,而HS-GC法对挥发性成分检测较传统方法在取样量上具有优势,基本保持了待测物原有成分的相对组成^[7,13-14],且目前尚未见采用该法测定薄荷不同部位挥发性成分的报道。因此,本研究利用HS-GC-MS法考察江西产薄荷不同部位挥发性成分差异,为江西产薄荷在医药产业的应用及其资源的开发利用提供理论依据。

1 材料

1.1 仪器

7890A/5975C型GC-MS仪(美国Agilent公司)、BSA224S-CW型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];6202型中药粉碎机(北京寰亚天元机械技术有限公司);挥发

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81560657);江西省卫计委中医药科研课题(No.2014A011)

* 硕士研究生。研究方向:中药制药工艺与新剂型新技术。E-mail:13257005068@163.com

通信作者:讲师,博士。研究方向:中药新剂型与新技术、中药新药研发。E-mail:zfwu527@163.com

油提取器、冷凝管(姜堰市康达实验器材厂);KDM型控温电热套(山东鄄城华鲁电热仪器有限公司);药典筛(浙江省上虞市道墟张兴纱筛厂)。

1.2 试剂

水为双蒸水。

1.3 药材

薄荷(采摘时间:2015-07-23,产地:江西泰和)经江西中医药大学杨明教授鉴定为真品。

2 方法与结果

2.1 HS方法

将薄荷的根、茎、叶三部位分别洗净,晾干,将其根、茎、叶碎成80目粉,分别置于10 ml顶空瓶中,压紧密封。平衡时间:30 min;平衡温度:80 ℃;进样量:1 ml;进样时间:1 min。

2.2 GC-MS条件

2.2.1 GC条件:HP-5MS石英毛细管柱;载气:He(恒流模式);柱流速:1.0 ml/min;进样量:1.0 μ l;进样口模式:分流模式(分流比10:1);进样口温度:250 ℃;升温程序:初始温度60 ℃,以3 ℃/min升至150 ℃,再以10 ℃/min升至250 ℃,保持5 min,共计45 min。

2.2.2 MS条件 电离源:电子轰击离子源(EI);电离能:70 eV;电子倍增管电压:1 905 V;离子源温度:230 ℃;四极杆温度:150 ℃;质量扫描范围: m/z 30~550。

2.3 精密度试验

精密称取“2.1”项下薄荷叶粉末适量,按“2.2”项下GC-MS条件连续进样测定6次,记录离子信号相对强度。结果,氧化胡椒酮离子信号相对强度的RSD=0.60% ($n=6$),表明仪器精密度良好。

2.4 稳定性试验

精密称取“2.1”项下的薄荷根、茎、叶粉末各3份,置于顶空瓶中,加盖密封,温度(40 ± 2) ℃、相对湿度(75 ± 5)%条件下放置,分别于放置0、1、2、3个月时按“2.2”项下GC-MS条件进样测定,记录离子信号相对强度。结果,样品根、茎、叶中氧化胡椒酮离子信号相对强度的RSD分别为2.67%、2.05%、2.38% ($n=4$),表明供试品在该条件下放置3个月内基本稳定。

2.5 重复性试验

精密称取同一批薄荷根、茎、叶粉末各适量,各6份,按“2.1”项下方法处理样品,再按“2.2”项下GC-MS条件进样测定,记录离子信号相对强度。结果,薄荷根、茎、叶中氧化胡椒酮离子信号相对强度的RSD分别为1.02%、1.37%、1.35% ($n=6$),表明本方法重复性良好。

2.6 挥发性成分分析

将提取的3种挥发油稀释后,经HS-GC-MS分析得到其挥发性成分的总离子流图(见图1)。并将不同部位的挥发油按“2.2”项下GC-MS条件进样测定,将所得数据进行自动检索和人工检索对照和解析,鉴定薄荷各部位的挥发性成分,用面积归一化法确定各成分的质量分数。结果,从薄荷根中共分离出14个色谱峰,共鉴定10个成分,占总量的90.03%;从薄荷茎中共分离出18个色谱峰,共鉴定14个成分,占总量的92.79%;从薄荷叶的中共分离出50个色谱峰,共鉴定48个成分,占总量的95.93%,详见表1。其中有7个主要挥发性是共有的,且均以氧化胡椒酮为主要成分。薄荷不同部位主要成分的差异见表2。

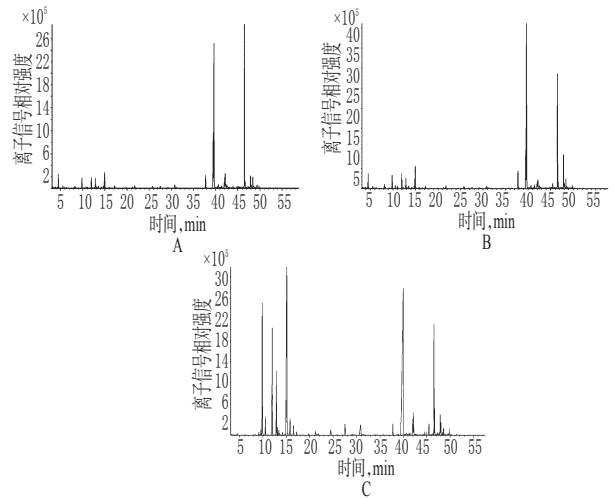


图1 总离子流图

A.根;B.茎;C.叶

Fig 1 Total ion flow pattern

A.root; B.stem; C.leaf

表1 薄荷不同部位的挥发性成分检测结果

Tab 1 Results of volatile component detection in different parts of *M. haplocalyx*

峰号	时间	化学成分	化学式	质量分数/%		
				根	茎	叶
1	4.504	己醛	C ₆ H ₁₂ O	2.58	2.74	0.12
2	8.131	2,5-二乙基四氢咪喃	C ₈ H ₁₄ O	-	0.85	-
3	9.094	环己甲醇-4-亚甲基	C ₈ H ₁₆ O	-	-	0.15
4	9.549	侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.33
5	9.866	蒾烯	C ₁₀ H ₁₆	1.92	2.43	8.54
6	10.532	莜烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	1.01
7	11.875	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	2.15
8	11.991	β -蒾烯	C ₁₀ H ₁₆	2.21	2.87	6.7
9	12.668	3-辛酮	C ₈ H ₁₆ O	-	-	0.04
10	12.879	2-正戊基咪喃	C ₈ H ₁₄ O	2.08	1.91	-
11	12.901	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	3.54
12	13.144	3-辛醇	C ₈ H ₁₈ O	-	-	0.44
13	13.419	正己酸乙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	-	-	0.3
14	13.567	2-甲基丁酸-2-二甲基丙酯	C ₈ H ₁₆ O ₂	-	-	0.1
15	14.202	α -蒾品烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.19
16	14.72	p-伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	-	-	0.12
17	15.101	D-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	3.60	4.83	20.26
18	15.809	Z-罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	1.05
19	16.528	罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.67
20	17.194	蒾品烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.26
21	19.754	蒾品油烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.18
22	21.213	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	0.53
23	21.795	2-甲基丁酸-2-甲基丁酯	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	0.18
24	24.470	乙酸-3-辛醇酯	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	0.65
25	27.527	L-薄荷酮	C ₁₀ H ₁₈ O	-	-	1.56
26	29.060	吡嗪	C ₄ H ₄ N ₂	-	-	0.11
27	30.858	薄荷醇	C ₁₀ H ₂₀ O	-	-	1.74
28	35.765	辛酸乙酯	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	0.06
29	38.974	戊酸-3-己烯-1-基酯	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	-	-	0.10
30	39.466	胡椒酮	C ₁₀ H ₁₆ O	14.24	10.22	-
31	39.995	氧化胡椒酮	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	34.88	39.27	33.53
32	40.471	2-羟基-6-甲基-3-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	2.25	-	0.05
33	41.423	乙酸冰片酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	-	-	0.13
34	41.972	萘烷	C ₁₀ H ₁₈	-	-	0.84
35	42.057	麝香草酚	C ₁₀ H ₁₄ O	-	1.47	0.61

续表 1
Continued tab 1

峰号	时间	化学成分	化学式	质量分数, %		
				根	茎	叶
36	44.870	2-乙基-3-甲氧基吡嗪-2-甲氧基-3-乙基吡嗪	C ₁₁ H ₁₄ N ₂ O	-	-	0.15
37	45.166	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.02
38	45.473	β -波旁烯	C ₁₀ H ₁₆	-	0.86	0.50
39	46.351	α -古芸烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.12
40	46.562 1	薄荷酮	C ₁₀ H ₁₆ O	24.71	17.19	5.89
41	46.657	1-石竹烯	C ₁₀ H ₁₆	1.56	1.26	1.32
42	46.996	D-大根香叶烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.06
43	47.482	1-异亚丙基-4-亚甲基-7-甲基-2,3,4,4a,5,6,8a-八氢萘	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.04
44	47.556	D-葑烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.07
45	47.757	α -石竹烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.14
46	47.958	金合欢烯	C ₁₀ H ₁₆	-	5.10	0.65
47	48.603	D-大牛儿烯	C ₁₀ H ₁₆	-	1.79	0.27
48	49.555	α -衣兰油烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.06
49	49.788	去氢白菖烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.26
50	50.200	葑烯	C ₁₀ H ₁₆	-	-	0.05
51	51.395	氧化石竹烯	C ₁₀ H ₁₄ O	-	-	0.04

注：“-”为未检测出

Note:“-” means no detected

表 2 薄荷不同部位主要挥发性成分的差异

Tab 2 Differences of main components of different parts of *M. haplocalphx*

部位	质量分数, %							
	氧化胡椒酮	D-柠檬烯	蒎烯	β -蒎烯	薄荷酮	胡椒酮	己醛	月桂烯
根	34.88	3.6	1.92	2.21	24.71	14.24	2.58	3.54
茎	39.27	4.83	2.43	2.87	17.19	10.22	2.74	-
叶	33.53	20.26	8.54	6.70	5.89	-	0.12	-

注：“-”为未检测出

Note:“-” means nodeTECTED

3 讨论

本研究由于采用的是HS-GC-MS法,在HS瓶中加入供试药材,经过仪器自身的加热设备,精密抽取顶空瓶上层气体进样,测定挥发性成分,因此无需配制供试品溶液和对照品溶液。并且,本研究主要分析比较薄荷不同部位挥发性成分差异,且采用归一化法进行定量分析,即分析比较成分的百分含量,故不需要制作标准曲线定量;另外,只需进行供试品自身的成分含量比较,故没有加入对照品。

研究表明,江西产薄荷各部位的挥发性成分及其含量的差异较大。薄荷叶中含量超过1%的挥发性成分有12种,依次为氧化胡椒酮(相对含量34.88%)、D-柠檬烯(相对含量20.26%)、蒎烯(相对含量8.54%)、 β -蒎烯(相对含量6.7%)、薄荷酮(相对含量5.89%)、月桂烯(相对含量3.54%)、桉烯(相对含量2.15%)、薄荷醇(相对含量1.74%)、L-薄荷酮(相对含量1.56%)、1-石竹烯(相对含量1.32%)、Z-罗勒烯(相对含量1.05%)、茨烯(相对含量1.01%)。薄荷茎中含量超过1%的挥发性成分有12种,依次为氧化胡椒酮(相对含量39.27%)、薄荷酮(相对含量17.19%)、胡椒酮(相对含量10.22%)、金合欢烯(相对含量5.1%)、D-柠檬烯(相对含量4.83%)、 β -蒎烯(相对含量2.87%)、己醛(相对含量2.74%)、蒎烯(相对含量2.43%)、2-正戊基呋喃(相对含量1.91%)、D-大牛儿烯(相对含量1.79%)、麝香草酚(相对含量1.47%)、1-石竹烯(相对含量1.26%)。薄荷根中含量超1%的挥发性成分有10种,依次

为氧化胡椒酮(34.88%)、薄荷酮(27.11%)、胡椒酮(14.24%)、D-柠檬烯(3.6%)、己醛(2.58%)、2-羟基-6-甲基-3-(1-甲基)-2-环己烯-1-酮(2.25%)、 β -蒎烯(2.21%)、2-正戊基呋喃(2.08%)、蒎烯(1.92%)、1-石竹烯(1.56%)。

从分析结果看,薄荷叶含有的挥发性成分最多(达到50个),远高于根、茎部位。各个部位挥发油主要成分均为氧化胡椒酮,但其他组分及含量相差较大,其中薄荷叶共有11个化学成分与茎相同,而根仅有8个成分与其叶相同。另外,本研究中采用HS-GC-MS法测定的江西产薄荷的根、茎、叶的主要挥发性成分与文献^[15]报道的采用HS-GC法测定的广西产薄荷主要挥发性成分差别较大。前者化学成分以氧化胡椒酮为主,并由萜类及其含氧化合物组成,而后者含量最高的组分为桉油素、薄荷醇、柠檬烯、蒎烯等。这可能是由于中药基源产地以及气候等各种因素所造成。

参考文献

- [1] 房海灵,李维林,任冰如,等.薄荷属植物的化学成分及药理学研究进展[J].中国药业,2010,19(10):13.
- [2] 徐凌玉,李振麟,蔡芷辰,等.薄荷化学成分的研究[J].中草药,2013,44(20):2798.
- [3] 沈梅芳,李小萌,单琪媛.薄荷化学成分与药理作用研究新进展[J].中华中医药学刊,2012,30(7):1484.
- [4] Sousa PJC, Linard CF, Azevedo-Batista D, et al. Antinociceptive effects of the essential oil of *Mentha x villosa* leaf and its major constituent piperitenone oxide in mice [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2009, 42(7):655.
- [5] 陈智坤,梁呈元,李维林,等.薄荷不同溶剂提取物抗氧化活性的研究[J].食品工业科技,2013,34(3):100.
- [6] Hussain AI, Anwar F, Shahid M, et al. Chemical composition, and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan [J]. *J Essential Oil Res*, 2010, 22(1):78.
- [7] 刘红杰,金若敏.薄荷油研究进展[J].山东中医药大学学报,2006,30(6):502.
- [8] 李鹏跃,陆洋,杜守颖,等.薄荷脑对葛根素体外黏膜的促渗作用研究[J].中国药房,2012,23(47):4425.
- [9] 平晟,朱才会,晏婷,等.薄荷不同部位挥发油成分比较研究[J].武汉轻工大学学报,2015,34(2):31.
- [10] 毛叶萌,刘振,段更利.气相色谱法测定威替米星原料中的有机残留溶剂含量[J].中国新药与临床杂志,2005,24(5):357.
- [11] 苗成林,孙宝腾,罗丽萍,等.动态顶空进样-气质联用分析国产沉香化学成分[J].食品科学,2009,30(8):215.
- [12] 刘朋,徐琳琳,吕青涛,等.顶空进样GC-MS结合保留指数分析补骨脂挥发性成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(10):74.
- [13] 高梅,潘久香,贾茹.挥发油提取方法的研究进展[J].生命科学仪器,2012,10(5):3.
- [14] 郭晓恒,宋登敏,雨田,等.顶空气相法分析广西产7个薄荷品种化学成分[J].世界科学技术:中医药现代化,2014,16(2):373.

(收稿日期:2015-12-13 修回日期:2016-04-07)

(编辑:张静)