

不同产地蜂胶挥发油成分的 GC-MS 比较分析*

王小平^{1,2}, 林励^{2*}, 潘建国³, 刘晓涵², 卢占列³

(1. 陕西中医学院, 咸阳 712046; 2. 广州中医药大学中药学院, 广州 510405; 3. 广州市宝生园有限公司, 广州 510400)

摘要 目的: 采用 GC-MS 法分别对不同产地蜂胶乙醚索氏提取法所得提取物的化学成分进行分析比较, 为进一步研究蜂胶提供参考。方法: 用 TRACE GC-MS 联用仪对蜂胶乙醚索氏提取法所得提取物化学成分进行鉴定。色谱柱: DB-1 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 柱温: 100 °C (5 min) $\xrightarrow{5\text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}}$ 230 °C (5 min) 分流进样, 分流比 10:1; 进样口温度: 230 °C。质谱条件: EI 电离源, 电子能量 70 eV, 接口温度: 230 °C, 离子源温度: 200 °C, 扫描范围: 35~335 amu。结果: 分别检出河南产蜂胶主要成分 61 个, 山东产蜂胶主要成分 40 个, 江西产蜂胶主要成分 19 个, 内蒙古产蜂胶主要成分 33 个; 其大黄酮的含量依次为 1.55%, 13.60%, 19.53%, 10.57%。结论: 产地可显著影响蜂胶中挥发油的种类及含量。

关键词: 气相色谱-质谱; 索氏提取法; 蜂胶; 挥发油; 产地

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)01-0086-05

GC-MS analysis of chemical compositions of essential oils in propolis from different producing area*

WANG Xiao-ping^{1,2}, LIN Li^{2*}, PAN Jian-guo³, LIU Xiao-han², LU Zhan-lie³

(1. Shaanxi University of TCM, Xianyang 712046 China; 2. College of Chinese Medicine, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510405, China;

3. Guangzhou Company of Baoshengyuan, Guangzhou 510400, China)

Abstract Objective To provide references for the further study of propolis **Methods** Propolis extractives were obtained by Soxhlet extraction method, and the chemical components were separated and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The relative content of each component was determined by area normalization method. Chromatographic conditions were: capillary column DB-1 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); column temperature 100 °C (5 min) $\xrightarrow{5\text{ °C} \cdot \text{min}^{-1}}$ 230 °C (5 min); split injection, split ratio 10:1; injector temperature 230 °C. Mass spectrometer conditions were: ionization mode EI, electron energy 70 eV; interface temperature 230 °C; ion source temperature 200 °C; mass scan range 35-335 amu. **Results** The components of extractives of propolis from Henan, Shandong, Jiangxi and Nei Monggol were 61, 40, 19, 33 respectively; The contents of chrysophanol were 1.55%, 13.60%, 19.53%, and 10.57%, respectively. **Conclusion** The types and contents of chemical components of essential oil in propolis were effect by producing area

Key words GC-MS; Soxhlet extraction method; propolis; essential oil; producing area

蜂胶 (propolis) 是蜜蜂采集植物茎、腋芽的树脂并混入自身分泌腺分泌物和蜂蜡混合而形成的一种具有芳香气味的胶状固体物。现代研究表明, 蜂胶具有抑菌消炎、活血化瘀, 促进局部组织再生和增进机体免疫功能等作用, 其主要成分有黄酮、香豆素、芳酸、挥发油等化合物^[1-4], 但尚鲜见产地对蜂胶挥发油成分影响的报道, 为更好地开发利用蜂胶资源,

作者选择同时期采集的河南、山东、江西、内蒙古四产地蜂胶样品进行了相关研究。

1 仪器、试剂

美国 Finnigan 公司 TRACE GC-MS 联用仪; 8953 Dietkon 型电子分析天平 (瑞士, 精度 0.1 mg); AS2060B 型超声仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

蜂胶 (毛胶, 由广州市宝生园有限公司提供, 经

* 广州市科技计划项目 (编号: 2005Z-E0101)

** 通讯作者 Tel: 13802914007; E-mail: lyl@gzhu.edu.cn

广州市蜂产品研究所卢占列鉴定, 为蜂胶); 乙醚、无水硫酸钠等试剂均为分析纯。

2 试验条件

2.1 色谱条件 色谱柱: DB-1 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度: 230 °C; 色谱接口管道温度: 230 °C; 柱前压: 64 kPa 进样方式: 分流进样, 分流比 10: 1; 进样量: 1 μL; 载气: He 载气流速: 1.0 mL · min⁻¹; 柱温: 程序升温, 初始温度 100 °C, 停留时间为 5 min, 然后以 5 °C · min⁻¹ 的升温速率升至 230 °C, 停留 5 min。

2.2 质谱条件 EI 离子源: 电子轰击能量 70 eV, 350 V; 离子源温度: 200 °C; 扫描质量范围: m/z 35

~ 335 amu; 检索谱库名称: NIST。用 1 μL 注射器移取供试品溶液 1 μL 注入气相色谱仪进行分析, 计算机采集数据。

3 供试品溶液的制备

将蜂胶在 -10 °C 冷冻数天后用粉碎机粉碎, 取蜂胶样品约 20 g 精密称定, 置索氏提取器中, 加乙醚 100 mL, 加热回流至提取液无色, 将提取液转移至三角烧瓶中, 加入无水硫酸钠 (1 g) 后密闭脱水, 再将溶液转移到干燥称定的烧杯中, 于通风橱挥尽乙醚, 置干燥器中干燥 24 h, 称重, 计算得率 (表 1)。残渣用乙醚溶解并转移至 1 mL 量瓶中, 加乙醚至刻度, 摇匀, 即得。

表 1 不同产地蜂胶挥发油成分得率

Tab 1 The yields of essential oil of propolis from different producing area

产地 (producing area)	药材重量 (weight of medicinal materials) / g	挥发油成分重量 (weight of essential oil) / g	挥发油成分得率 (yields of essential oil) %	色泽 (color)
河南 (Henan)	20 0021	0.7505	3.7521	黄色 (yellow)
山东 (Shandong)	20 0018	0.6001	3.0002	淡黄色 (light yellow)
江西 (Jiangxi)	20 0011	0.7455	3.7273	淡黄色 (light yellow)
内蒙古 (Neimonggol)	20 0001	0.7485	3.7425	淡黄色 (light yellow)

4 样品测定

精确吸取供试品溶液 1 μL, 注入气相色谱仪中, 测定不同产地蜂胶挥发油成分含量, 结果见表 1。

对供试品溶液进行 GC-MS 分析鉴定, 在确定

各组分质谱数据和扫描峰号后, 用 NIST 谱库进行检索, 经核对标准质谱图及有关资料。从河南、山东、江西、内蒙古蜂胶中分别分离鉴定出 61, 40, 19, 33 个化合物。结果见表 2。

表 2 不同产地蜂胶挥发油成分分析结果

Tab 2 Essential oil constituents of propolis from different producing area

t_R / min	组分名称 (compound)	M_r	分子式 (molecular formula)	相对百分含量 (relative content) %			
				河南 (Henan)	山东 (Shandong)	江西 (Jiangxi)	内蒙古 (Neimonggol)
3.21	苯甲醇 (hydroxy methyl benzene)	108	C ₇ H ₈ O	1.29	0.43	0.41	0.86
3.63	2-苯基环己酮 (2-phenyl cyclohexanone)	174	C ₁₂ H ₁₄ O	0.13	—	—	—
4.34	苯乙醇 (benzene ethanol)	122	C ₈ H ₁₀ O	6.67	1.06	—	—
5.19	苯甲酸 (benzoic acid)	122	C ₇ H ₆ O ₂	1.41	0.33	2.58	7.87
5.41	苯甲酸乙酯 (benzoic acid ethyl ester)	150	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.21	—	—	—
5.92	邻苯二酚 (1,2-benzenediol)	110	C ₆ H ₆ O ₂	0.38	—	—	—
6.51	羟甲基烯酸乙酯 (hydroxy methyl ethylene acetate)	176	C ₇ H ₁₂ O ₅	0.36	—	—	—
7.09	乙酸-2-苯乙酯 (acetic acid 2-phenylethyl ester)	164	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	1.83	0.16	0.61	0.52
8.13	3-苯-2-丙烯-1-醇 (2-propen-1-ol 3-phenyl)	134	C ₉ H ₁₀ O	1.57	0.35	—	—
8.87	苯丙酸 (benzene propanoic acid)	150	C ₉ H ₁₀ O ₂	0.38	—	—	—
9.21	苯丙酸乙酯 (benzene propanoic acid ethyl ester)	178	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.21	—	—	—
9.27	丙酸-2-苯乙酯 (propanoic acid 2-phenylethyl ester)	178	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	0.27	—	—	—
10.46	十氢-1,5,5,8a-四甲基-1,2,4-亚甲基奥 (decahydro-1,5,5,8a-tetramethyl-1,2,4-methanoazulene)	204	C ₁₅ H ₂₄	0.38	—	—	—
11.02	3-苯基-2-丙酸 (2-propenoic acid 3-phenyl-)	148	C ₉ H ₈ O ₂	4.83	0.95	—	—
11.23	刺柏烯 (junipene)	204	C ₁₅ H ₂₄	—	0.62	—	—

续表 2

t_{R}/min	组分名称 (compound)	M_{r}	分子式 (molecular formula)	相对百分含量 (relative content) %			
				河南 (Henan)	山东 (Shandong)	江西 (Jiangxi)	内蒙古 (Nei Monggol)
11.35	乙酸肉桂酯 (2- propen- 1- ol 3- phenyl-, acetate)	176	$\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{O}_2$	0.56	—	—	—
11.40	雪松烯 (cedrene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.39	—	—	—
11.52	香橙烯 (aromadendren)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.18	—	—	—
11.95	α -愈创木烯 (α - guaie ne)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.91	—	—	—
12.52	α -佛手柑内酯 (α - bergap tene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.32	—	—	—
12.80	1- (1, 5- 二甲基- 4- 乙烯基)- 4- 甲基苯 [(benzene, 1- (1, 5- di n ethyl- 4- hexenyl)- 4- methyl)]	202	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	4.27	0.46	—	—
12.84	α -雪松烯 (α - himachalene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	3.79	0.43	—	—
12.92	8S, 14-雪松烯二醇 (cedran- diol 8S, 14-)	238	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}_2$	0.26	—	—	—
13.16	4, 4-二甲基- 3- (3- 甲基 3- 丁烯)- 2- 甲基双环 [4. 1. 0] 庚烯 (4, 4- di n ethyl- 3- (3- methyl but- 3- enylidene)- 2- methylenebicyclo[4. 1. 0] heptane)	202	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	1.55	—	—	—
13.24	α - 芹子烯 (α - selinene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	2.17	0.21	—	—
13.31	α - 衣兰油烯 (α - muurolene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.51	—	—	—
13.36	白菖烯- 环氧化物 (cakarene epoxide)	220	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	—	0.27	—	—
13.45	δ -愈创木烯 (δ - guaie ne)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.98	—	—	—
13.55	α - 甜没药萜醇 (α - bisabolol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	2.05	—	—	—
13.56	金合欢花醇 (farnesol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	—	0.36	—	—
13.60	γ - 杜松烯 (γ - cal inene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.99	—	—	—
13.68	菖蒲烯 (calan enene)	202	$\text{C}_{15}\text{H}_{22}$	1.37	—	—	—
13.80	δ - 杜松烯 (δ - cal inene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	2.09	0.19	—	—
13.94	环氧化- 水菖蒲烯 (cakarene epoxide)	220	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.24	—	—	—
14.01	α - 柏木烯 (α - cedrene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.59	—	—	—
14.10	γ - 芹子烯 (γ - selinene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.35	—	—	—
14.25	cis- γ - 没药烯 (cis- γ - bisabolene)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.34	—	—	—
14.30	1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a- 八氢- 4a, 8- 二甲基- 2- (1- 亚异丙基) 萘 [naphthalene 1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a- octahydro- 4a, 8- di n ethyl- 2- (1- methylethylidene)]	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	0.41	—	—	—
15.39	愈创醇 (gua iol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	1.46	0.44	0.56	0.85
15.44	雪松烯醇 (dedrenol)	220	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	—	0.40	0.62	0.32
15.84	双环 [4. 4. 0] 5- 癸烯 1, 5- 二甲基- 3- 羟基- 8- (1 亚甲基 2- 羟乙基) [(bicyclo[4. 4. 0] dec- 5- ene, 1, 5- di n ethyl- 3- hydroxy- 8- (1- methylene- 2- hydroxyethyl)]	236	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}_2$	0.11	—	0.76	—
16.05	库贝醇 (cubenol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	—	0.44	0.41	—
16.11	10- 表- γ - 桉叶醇 (10- <i>pi</i> - γ - eudesmol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	3.04	1.72	1.51	0.94
16.28	β -愈创木烯 (β - guaie ne)	204	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	1.28	0.45	—	0.84
16.39	α -胡椒烯- 11- 醇 (α - copaene- 11- ol)	220	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.69	0.38	1.29	0.23
16.47	α -桉叶醇 (α - eudesmol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	2.05	2.65	2.69	1.78
16.72	丁香烯环氧化物 (caryophyllene oxide)	220	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{O}$	0.22	—	1.89	—
16.86	[3S- (3a, 3a, 5a)]- 1, 2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7- 八氢化- α , α - 3, 8- 四甲基- 5- 奥甲醇 (5- azulenemethanol 1, 2, 3, 3a, 4, 5, 6, 7- octahydro- α , α , 3, 8- tetra n ethyl- [3S- (3a, 3a, 5a)]-)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.95	0.35	5.69	0.35
17.22	α - 甜没药萜醇 (α - bisabolol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	0.49	—	1.98	—
18.06	2, 6, 10- 三甲基十四烷 (tetradecane 2, 6, 10- trimethyl)	240	$\text{C}_{17}\text{H}_{36}$	0.18	—	—	0.90
18.94	桉叶醇 (eudesmol)	222	$\text{C}_{15}\text{H}_{26}\text{O}$	—	0.44	2.99	1.63

续表 2

t_R /min	组分名称 (compound)	M_r	分子式 (molecular formula)	相对百分含量 (relative content) %			
				河南 (Henan)	山东 (Shandong)	江西 (Jiangxi)	内蒙古 (Neimonggol)
21.18	3,4-二甲氧基肉桂酸 (3,4-dimethoxycinnamic acid)	208	$C_{11}H_{12}O_4$	—	—	1.86	3.91
22.96	十六碳酸甘油酯 (hexadecanoic acid 2,3-dihydroxypropyl ester)	330	$C_{19}H_{38}O_4$	0.15	1.10	0.84	2.59
23.66	硬脂酸乙酯 (octadecanoic acid ethyl ester)	312	$C_{20}H_{40}O_2$	—	0.19	—	0.12
25.65	3-乙基-5-(2-乙丁基)十八烷 [octadecane 3-ethyl-5-(2-ethylbutyl)]	366	$C_{26}H_{54}$	—	0.24	—	—
25.91	孕烯醇酮 (pregnenolone)	316	$C_{21}H_{32}O_2$	0.77	—	—	—
26.16	十六-9-烯酸 (9-hexadecenoic acid)	254	$C_{16}H_{30}O_2$	—	0.91	—	0.52
26.45	海松醛 (pimaral)	286	$C_{20}H_{30}O$	0.28	0.32	0.25	0.11
26.47	异别胆甾酸乙酯 (ethyl iso-allocholeate)	436	$C_{26}H_{44}O_5$	1.45	0.56	1.12	0.89
26.80	3-(4-羟基-3-甲氧基苯基)-2-丙烯酸 [2-propenoic acid 3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)]	194	$C_{10}H_{10}O_4$	0.15	—	0.21	3.28
27.31	表木栓醇 (epifriedelanol)	428	$C_{30}H_{52}O$	—	—	—	6.64
29.17	二甲氧基丙三醇二十二酯 (dimethoxyglyceroldocosylether)	460	$C_{27}H_{56}O_5$	—	0.29	—	—
29.29	海松酸 (pimaric acid)	302	$C_{20}H_{30}O_2$	0.98	1.01	—	0.56
29.38	二十二烷 (docosane)	310	$C_{22}H_{46}$	0.13	4.32	—	2.38
29.70	1-(2,6-二羟基-4-甲氧基苯基)-3-苯基-2-丙烯-1-酮 (2-propen-1-one 1-(2,6-dihydroxy-4-methoxyphenyl)-3-phenyl)	270	$C_{16}H_{14}O_4$	—	0.22	6.76	4.42
30.43	松香酸 (abietic acid)	302	$C_{20}H_{30}O_2$	0.27	0.76	1.25	0.44
30.72	木栓酮 (friedelin)	426	$C_{30}H_{50}O$	—	0.80	—	4.99
31.29	松属素 (4H-1-benzopyran-4-one, 2,3-dihydro-5,7-dihydroxy-2-phenyl)	256	$C_{15}H_{12}O_4$	3.34	10.07	—	—
32.06	苯并蒽酮 (benzanthracenone)	302	$C_{21}H_{18}O_2$	5.31	9.59	—	0.89
32.47	12-羟基-雄甾-4-烯-3,17-二酮 (androst-4-ene-3,17-dione, 12-hydroxy)	302	$C_{19}H_{26}O_3$	—	1.78	—	—
33.84	二十七烷 (heptacosane)	380	$C_{27}H_{56}$	—	12.84	16.76	1.54
33.91	5-羟基-7-甲氧基-2-苯基-4H-1-苯并吡喃 (4H-1-benzopyran-4-one 5-hydroxy-7-methoxy-2-phenyl)	268	$C_{16}H_{12}O_4$	2.21	—	—	0.53
35.25	罗汉果酸丁 (siraitic acid D)	460	$C_{28}H_{40}O_4$	—	0.35	—	0.25
35.51	鸦胆子苷 (yataneside)	408	$C_{22}H_{32}O_7$	1.68	—	—	0.56
36.38	大黄酚 (chrysophanol)	254	$C_{15}H_{10}O_4$	1.55	13.60	19.53	10.57
37.04	9,12,15-十八碳三烯酸甲酯 (octadeca-9,12,15-trienoic acid methyl ester)	292	$C_{19}H_{32}O_2$	—	0.84	3.50	9.64
38.53	异野漆树苷 (isorhoifolin)	580	$C_{27}H_{30}O_{14}$	—	—	—	4.51
检出率 (the detectable ratio) %				75.04	72.87	68.05	76.43

5 讨论

5.1 对水蒸气蒸馏法、乙醚冷浸法、乙醚索氏提取法和乙醚超声提取法所得的提取物进行 GC-MS 分析, 结果表明: 乙醚索氏提取法和水蒸气蒸馏法所得提取物的化学成分的种类和含量比较接近, 因此, 本实验采用乙醚索氏提取法; 同时作者还对含量达 10% 以上的部分化学成分, 采用对照品 (大黄酚, 中国药品生物制品检定所提供, 批号 756-9204) 对照

进行进一步确认。

5.2 河南样品挥发油中检出的雪松烯、香木兰烯、 α -雪松烯 (异构体)、 α -芹子烯 (异构体)、 γ -杜松烯、 α -依兰油烯、菖蒲烯等在山东、江西、内蒙古蜂胶中均未检出, 说明不同产地蜂胶挥发油的种类有一定差异; 表 2 显示, 4 个产地均含有的相同成分有 13 种, 但相对百分含量也有显著差异, 如大黄酚含量, 江西产者高达 19.53%, 而河南产者仅为

1. 55%, 相差 12. 6倍。

5. 3 蜂胶是蜜蜂采集植物茎、腋芽的树脂并混入自身上颚腺分泌物和蜂蜡等混合而成, 由于不同产地植物种类存在显著差异, 如江西、山东、内蒙古蜂胶产区可能大量存在着蜜蜂所喜好的大黄属的某种或某几种植物, 因此该地蜂胶挥发油中分别含高达 19. 53%, 13. 60%, 10. 57% 的大黄酚, 而河南蜂胶产区理论上应无此条件。所以, 蜂胶的产地、生态环境等条件与蜂胶挥发油种类及含量密切相关, 也可考虑通过选择蜂场附近的生态环境如主要树木种类等, 改善蜂胶产品的质量。

参考文献

1 HE N iu - rong(贺钮嵘), PAN Wei - dong(潘卫东), LIU Yu - zhen

(卢玉振). The studies on organic acid components from propolis in Guizhou(贵州蜂胶中有机酸成分研究). *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(5): 406

2 HU Fu - liang(胡福良), XUAN Hong - zhuan(玄红专). The biological property, toxicity and allergic reaction of propolis(蜂胶的生物学活性及毒性和过敏反应). *Bull Sci Technol*(科技通报), 2003, 19(2): 166

3 HU Fu - liang(胡福良), XUAN Hong - zhuan(玄红专). Recent advances in propolis compositions(蜂胶化学成分的最新研究进展). *Apicult Sci Technol*(养蜂科技), 2003(1): 27

4 LI Yan - jie(李彦杰), YANG Yong(杨勇), CHAN Jian - quan(阚健全). The chemical ingredient and biological property of propolis(蜂胶化学成分及其生物活性). *J Cereals Oils*(粮食与油脂), 2003(12): 43

(本文于 2008 年 4 月 15 日修改回)

西班牙卫生和消费部部长一行访问中检所

2008 年 12 月 3 日上午, 中国药品生物制品检定所所长李云龙和副所长王军志会见了以贝尔南特·索利亚 (Bernat Soria Escamez) 部长为首的西班牙卫生和消费部代表团。



李云龙所长向外宾简要介绍了中检所的整体情况; 王军志副所长向外宾介绍了我所的职责和主要检验检测体系。贝尔南特·索利亚部长对我所的热情接待表示感谢, 简要介绍了西班牙卫生和消费部的职责; 双方共同表达了在药品检验领域加强合作的愿望, 进而在促进两国人民乃至世界人民健康方面做出各自应有的贡献。

代表团一行还参观了我所的实验室和中药标本馆。

(中国药品生物制品检定所药检处、外事处供稿)