

GC/MS 法分析硫磺熏蒸对杭白菊挥发油成分的影响

马晓青^{1,2,3}, 蔡 皓^{1,2,3}, 刘 晓^{1,2,3},
刘静静^{1,2,3}, 李松林⁴, 宗杜强¹, 蔡宝昌^{1,2,3,4}

(1. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210046;

2. 南京中医药大学, 国家教育部中药炮制规范化及标准化工程研究中心, 江苏 南京 210029;

3. 南京中医药大学, 国家中医药管理局中药炮制标准重点研究室, 江苏 南京 210029;

4. 南京海昌中药集团有限公司, 江苏 南京 210061)

摘要:分析杭白菊通风晾干品和硫磺熏蒸品的挥发油成分, 为其质量评价提供科学依据。采用水蒸气蒸馏法提取 7 个杭白菊样品挥发油, 用 GC 毛细管色谱柱进行分离, 归一化法测定其相对百分含量, GC/MS 法分析鉴定其化学成分。初步分离鉴定出 64 种成分, 其挥发油组成皆以单萜类和倍半萜类化合物为主要成分, 但所含化合物的具体种类有很大差异。经硫磺熏蒸后, 样品中蒎烯、合成右旋龙脑、香芹酚、石竹烯氧化物等活性成分含量明显降低, 而香树烯、 γ -芹子烯等成分含量升高。实验结果表明, 应严格控制硫磺熏蒸在杭白菊加工过程中的应用。

关键词:杭白菊; 挥发油; 硫磺熏蒸; 气相色谱-质谱

中图分类号: O 657. 63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2011)06-0374-06

Analysis on the Influence of Essential Oils from Hangzhou White Chrysanthemum Before and After Sulfur-Fumigated Process by GC/MS

MA Xiao-qing^{1,2,3}, CAI Hao^{1,2,3}, LIU Xiao^{1,2,3},

LIU Jing-jing^{1,2,3}, LI Song-lin⁴, ZONG Du-qiang¹, CAI Bao-chang^{1,2,3,4}

(1. College of Pharmacy, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Engineering Center of State Ministry of Education for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China;

3. Key Laboratory of State Administration of TCM for Standardization of Chinese Medicine Processing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China ;

4. Nanjing Haichang Chinese Medicine Group Corporation, Nanjing 210061, China)

Abstract: To analyze the constituents of the essential oils extracted from Hangzhou white chrysanthemum, one of the commercial breeds coming from the flowers of Chrysanthemum

收稿日期: 2011-04-13; 修回日期: 2011-06-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(30940093); 江苏省自然科学基金项目(BK2009495) 资助

作者简介: 马晓青(1985~), 女(汉族), 硕士研究生。从事中药炮制和中药质量控制研究。E-mail: qinger725210@163.com

通信作者: 蔡 皓(1966~), 男(汉族), 副研究员, 从事中药分析和中药质量控制研究。E-mail: haocai_98@126.com

蔡宝昌(1952~), 男(汉族), 教授, 从事中药炮制机理和中药炮制标准研究。E-mail: bccai@126.com

morifolium, treated by sun-dried and sulfur-fumigated process, and to provide scientific evaluation for its quality control. The essential oils of seven Hangzhou white chrysanthemum samples were extracted by water-steam distillation and separated by GC capillary column chromatography. The contents of the components were quantitatively determined with normalization method, and their chemical constituents were identified by GC/MS. The results showed that 64 constituents were separated and identified from the components of the essential oils of seven Hangzhou white chrysanthemum samples, and they are mostly kinds of different monoterpenoids and sesquiterpenoids compounds. The concentrations of α -pinene (dextro), *L*-borneol, carvacrol and caryophyllene oxide after sulfur-fumigated process were much lower than that before sulfur-fumigated process. On the contrary the concentrations of (-)-alloaromadendrene and γ -selinene were higher than that before. Thus, sulfur-fumigated processing of Hangzhou white chrysanthemum should be strictly controlled.

Key words: Hangzhou white chrysanthemum; essential oils; sulfur-fumigated process; GC/MS

硫磺熏蒸作为一种传统的中药材养护方法,具有干燥、增白、防虫、防腐和防霉变等作用,在中药材及饮片的加工和贮藏过程中应用较为普遍。由于硫磺熏蒸使中药材及饮片残留大量的二氧化硫,且导致有效成分的化学结构和含量发生改变^[1]。因此,国家食品药品监督管理局在2004年曾发文指出硫磺熏蒸的中药材为劣质药材。

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,9~11月花盛开时分批采收。菊花药材按产地和加工方法的不同,分为杭菊、亳菊、贡菊、滁菊、祁菊、怀菊、济菊、黄菊 8 大主流品种,2010年版《中国药典》(一部)收录的菊花品种有杭菊、亳菊、贡菊、滁菊 4 种^[2]。其中杭白菊以“清热散风,平肝明目”等功效而入药,是浙江桐乡市的主要经济作物之一。药理作用显示,杭白菊花具有抗菌、抗炎、清除自由基、抗氧化和抗肿瘤等作用^[3]。本研究通过对杭白菊及其炮制品的研究,发现杭白菊与其硫磺熏制品在挥发油的组成上存在明显的差异。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和样品

美国 Agilent 6890/5975B 型气相色谱-质谱联用仪及 G1701DAD. 03. 00. 611 工作站; NIST05 标准质谱检索库。

杭白菊药材:采自浙江杭州;杭白菊饮片购自:南京各大药房;2号样品为实验室自制硫磺

熏蒸饮片。各样品编号及来源列于表 1。

表 1 杭白菊样品的编号及来源
Table 1 The numbers and resources of Hangzhou white chrysanthemum samples

编号	产地	来源
1	浙江杭州	药材
2	浙江杭州	自制硫磺饮片
3	益丰大药房	市售饮片
4	南京大众药店	市售饮片
5	先声药店	市售饮片
6	民济大药房	市售饮片
7	百信药房	市售饮片

1.2 实验条件与方法

1.2.1 挥发油的制备 分别称取 200 g 各样品,加入 2 L 水,按 2010 年版《中国药典》(一部)附录 XD 方法(不加二甲苯)提取挥发油,4 °C 冷藏,备用。

1.2.2 色谱条件 色谱柱:HP-5MS(5%苯甲基聚硅氧烷弹性石英毛细管柱,30.0 m × 250 μm × 0.25 μm);进样口温度 200 °C;程序升温:初始温度 50 °C,以 8 °C/min 升至 140 °C,保持 20 min,以 6 °C/min 升至 160 °C,保持 20 min,再以 10 °C/min 升至 230 °C;进样量 1 μL;载气为氦气(纯度 > 99.99%);流速 1.0 mL/min;分流比 20:1。

1.2.3 质谱条件 EI 离子源,离子源温度

230 °C, 四极杆温度 150 °C, 接口温度 280 °C, 电子倍增器电压 1 717.6 V, 电子能量 70 eV, 质量扫描范围 m/z 44~550。

1.2.4 分析方法 用 HP-5MS 色谱柱对色谱分离条件进行优化, 确定最佳分离条件。样品按照所选定的分析条件进行 HS-GC/MS 分析, 利用 NIST05 标准质谱检索库进行检索, 峰面积归一化法测定各组分的相对百分含量。

2 结果与讨论

2.1 GC/MS 分析结果

按上述色谱条件, 对每个杭白菊样品进行 GC/MS 分析, 总离子流图示于图 1。通过 GC/MS 分析工作站 NIST 标准图库进行检索, 并参照有关文献共分析鉴定了其中的 64 个化学成分, 按照面积归一化法计算各组分的相对百分含量, 结果列于表 2。

表 2 硫磺熏蒸前后杭白菊挥发油的主要化学成分及其相对百分含量的 GC/MS 分析结果

Table 2 Analysis of the main chemical components and their relative percentages of essential oils from Hangzhou white chrysanthemum before and after sulfur-fumigated process by GC/MS

峰号	<i>t</i> / min	化合物名称	相对 分子 质量	分子式	相对百分含量/%						
					1	2	3	4	5	6	7
1	4.865	糠醛 Furfural	96	C ₅ H ₄ O ₂	0.04	0.11	—	0.21	0.34	0.66	1.58
2	5.56	5(1-甲基亚乙基)-1,3-环戊二烯 5-(1-Methylethylidene)-1,3-cyclopentadiene	106	C ₈ H ₁₀	0.02	—	—	—	—	—	—
3	6.786	(1 <i>R</i>)-(+) - α -蒎烯 α -Pinene(dextro)	136	C ₁₀ H ₁₆	0.02	—	—	—	—	—	—
4	7.654	6-甲基-5-庚烯-2-酮 6-Methyl-5-hepten-2-one	126	C ₈ H ₁₄ O	—	0.02	—	—	—	—	—
5	7.799	1,6-二甲基-1,3,5-三烯 1,6-Dimethylhepta-1,3,5-triene	122	C ₈ H ₁₆	0.13	—	—	—	—	—	—
6	8.146	(<i>E,E</i>)-2,4-庚二烯醛 (<i>E,E</i>)-2,4-Heptadienal	110	C ₇ H ₁₀ O	0.04	—	—	—	—	—	—
7	8.684	桉叶素 Eucalyptol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	—	—	0.03	3.03	—	0.07	0.72
8	8.812	蒎紫红素 Sabina ketone	138	C ₉ H ₁₄ O	0.02	—	—	—	—	—	—
9	9.072	反式-2-辛烯醛 (<i>E</i>)-2-Octenal	126	C ₈ H ₁₄ O	—	0.07	—	—	—	—	—
10	9.951	壬醛 Nonanal	142	C ₉ H ₁₈ O	—	0.09	—	—	—	—	—
11	10.952	(1 <i>R</i>)-(+) -樟脑 (1 <i>R</i>)-(+) -Camphor	152	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.11	—	—	—	—	—
12	10.958	(-) -樟脑 (-) -Camphor	152	C ₁₀ H ₁₆ O	—	—	0.05	0.31	0.24	0.2	0.2
13	11.328	合成右旋龙脑 L-Borneol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1.16	0.25	0.47	0.75	0.33	1.08	1.03
14	11.514	4-萜烯醇 4-Terpineol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.31	—	—	1.14	0.24	0.37	0.36
15	11.745	α -松油醇 α -Terpineol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	—	—	0.05	1.8	0.57	1.13	1.13
16	11.901	桃金娘烯醇 Myrtenol	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.06	—	—	—	—	—	—
17	11.971	藏花醛 Safranal	150	C ₁₀ H ₁₄ O	—	0.07	—	—	—	—	—
18	12.295	1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萘 hydro-1,1,6-trimethyl-naphthalene	174	C ₁₃ H ₁₈	—	0.6	0.15	0.67	1.06	0.97	0.82
19	12.659	反式-乙酸菊花烯酯 <i>trans</i> -Chrysanthenyl acetate	194	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	0.09	—	0.08	3.34	0.48	—	—
20	13.921	香芹酚 Carvacrol	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.09	—	—	—	—	—	—
21	14.03	乙酸龙脑酯 Acetic acid-bornyl ester	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.35	—	0.36	—	1.13	—	—
22	14.05	<i>L</i> -乙酸冰片酯 <i>L</i> -Borneol acetate	196	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	—	0.26	—	3.82	—	—	—

续表

峰号	<i>t</i> / min	化合物名称	相对 分子 质量	分子式	相对百分含量/%						
					1	2	3	4	5	6	7
23	14.233	猛杀威 Minacide	207	C ₁₂ H ₁₇ NO ₂	0.03	—	—	—	—	—	—
24	14.748	反式-2,4-癸二烯醛 <i>trans</i> -2,4-Decadienal	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.11	0.15	—	—	—	—	—
25	16.102	癸酸 <i>n</i> -Decanoic acid	172	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.72	2.13	—	0.54	—	0.95	0.23
26	17.097	α -紫罗兰醇 α -Ionol	194	C ₁₃ H ₂₂ O	—	0.18	—	—	—	—	—
27	17.409	突厥酮 1-(2,6,6-Trimethyl-1,3-cyclohexadien-1-yl)-2-buten-1-one	190	C ₁₃ H ₁₈ O	0.04	—	—	—	—	—	—
28	19.041	α -柏木烯 α -Cedrene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.15	0.41	0.13	—	—	0.1	—
29	19.319	2,6-二甲萘 2,6-Dimethylnaphthalene	156	C ₁₂ H ₁₂	—	0.15	—	—	—	—	—
30	19.336	β -石竹烯 β -Caryophyllene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.55	—	0.92	0.54	—	0.44	0.98
31	20.447	橙化基丙酮 <i>cis</i> -Geranylacetone	194	C ₁₃ H ₂₂ O	—	0.14	—	—	—	—	—
32	20.453	香叶基丙酮 6,10-Dimethyl-(<i>E</i>)-5,9-undecadien-2-one	194	C ₁₃ H ₂₂ O	0.13	—	—	—	—	—	—
33	20.696	(<i>Z</i>)- β -金合欢烯 (<i>Z</i>)- β -Farnesene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.97	0.22	0.3	0.4	0.25
34	21.627	α -紫穗槐烯 α -Amorphene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.44	—	—	—	0.24
35	22.015	香树烯 (-)-Alloaromadendrene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.10	0.63	0.68	0.29	0.54	1.33	1.33
36	22.316	β -广藿香烯 β -Patchoulene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	0.63	—	—	1.36	—	—
37	22.333	(+)- α -长叶蒎烯 (+)- α -Longipinene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.46	—	—	—	—
38	22.565	α -姜黄烯 α -Curcumene	202	C ₁₅ H ₂₂	15.2	9.42	17.1	0.57	14.8	2.34	1.05
39	22.767	吉马酮 Germacrene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.62	—	0.65	—	—	—	—
40	22.906	γ -芹子烯 γ -Selinene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.18	0.88	0.51	2.88	0.29	1.53	0.73
41	23.08	α -佛手柑油烯 α -Bergamotene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.60	—	1.24	0.13	—	—	0.13
42	23.143	β -芹子烯 β -Selinene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.42	0.72	0.35	1.14	—
43	23.346	姜烯 Zingiberene	204	C ₁₅ H ₂₄	5.13	—	5.23	—	1.46	—	—
44	23.774	巴伦西亚橘烯 Valencen	204	C ₁₅ H ₂₄	0.06	0.08	0.43	0.09	0.57	0.13	0.15
45	23.872	硫 Sulfur	191	S ₆	—	0.71	—	—	—	—	—
46	24.289	β -甜没药烯 β -Bisabolene	204	C ₁₅ H ₂₄	1.03	1.38	1.39	0.25	0.99	0.9	0.44
47	24.978	γ -依兰烯 γ -Muurolene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.35	—	0.55	—	1.47	—	3.28
48	25.481	β -倍半水芹 β -Sesquiphellandrene	204	C ₁₅ H ₂₄	1.56	—	2.26	2.52	—	4.71	3.12
49	31.116	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	220	C ₁₅ H ₂₄ O	2.30	—	—	—	—	—	—
50	32.771	柏木脑 Cedrol	222	C ₁₅ H ₂₆ O	2.71	1.11	—	—	—	—	—
51	33.986	(+)-香橙烯 Aromandendrene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.49	0.31	—	—	—	—	0.03
52	34.582	β -榄香烯 β -Elemene	204	C ₁₅ H ₂₄	1.38	—	—	—	—	0.85	—
53	34.657	γ -古芸烯 γ -Gurjunene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.13	0.42	7.48	0.57	0.86	7.38	4.76
54	34.715	马兜铃烯 (-)-Aristolene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.97	—	—	—	—	—	—
55	35.259	表-二环倍半水芹烯 (+)- <i>Epi</i> -Bicyclosquiphellandrene	204	C ₁₅ H ₂₄	1.53	—	0.96	—	—	—	—
56	35.93	石竹烯醇 β -Caryophyllene alcohol	222	C ₁₅ H ₂₆ O	0.29	—	—	—	—	—	—
57	36.017	佛术烯 Eremophilene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	0.27	—	—	—	—	—
58	36.179	β -愈创木烯 β -Guainene	204	C ₁₅ H ₂₄	0.31	—	—	—	—	—	—

续表

峰号	<i>t</i> / min	化合物名称	相对 分子 质量	分子式	相对百分含量/%						
					1	2	3	4	5	6	7
59	36.445	α -古芸烯 α -Gurjunene	204	C ₁₅ H ₂₄	—	4.03	—	0.81	0.14	0.24	—
60	38.112	红没药醇 α -Bisabolol	222	C ₁₅ H ₂₆ O	1.11	—	—	—	—	—	0.87
61	44.725	苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	212	C ₁₄ H ₁₂ O ₂	0.18	—	—	—	0.17	—	0.03
62	54.405	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 6,10,14-Trimethyl-2-pentadecanone	268	C ₁₈ H ₃₆ O	—	0.59	—	—	—	—	—
63	56.476	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-Benzenedicarboxylic acid- bis(2-methylpropyl) ester	278	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0.13	—	—	—	—	—	—
64	60.301	棕榈酸 <i>n</i> -Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.19	11.1	0.38	—	—	—	—

注：“—”表示未检出

为了进一步分析和归属总离子流图中各峰信号的化学信息,根据各时间段色谱峰的色谱保留行为特征,将总离子流图分为 3 个区域进行分

析,分别为 I 区:保留时间 0.0~20.0 min; II 区:保留时间:20.0~40.0 min; III 区:保留时间:40~60.4 min。分析结果示于图 1。

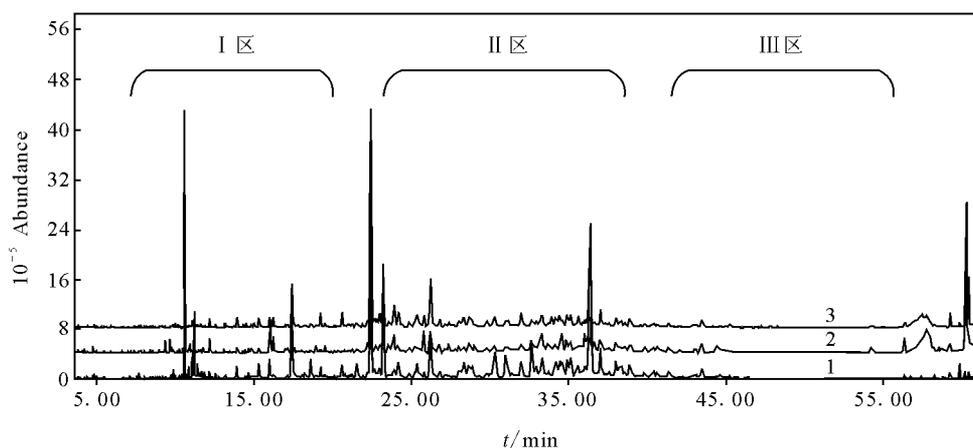


图 1 典型的硫磺熏蒸前后杭白菊挥发性成分的 GC/MS 总离子流叠加分区图谱

Fig. 1 Overlay and sectional comparisons of typical GC/MS TIC on the volatile constituents from Hangzhou white chrysanthemum before and after sulfur-fumigated process

2.1.1 I 区化学信息分析 I 区色谱峰化学信号分析结果表明,该区化学信号的主要贡献来源于低沸程的挥发性成分。它们在自然晾干品(样品 1)和硫磺熏制品(样品 2) 2 个样品中的总量相差不大,分别为 3.93%和 4.6%;在样品 1 中检出 18 个色谱峰,而在样品 2 中检出 14 个色谱峰。从化合物的种类上看,样品 1 中含有 5(1-甲基亚乙基)-1,3-环戊二烯(0.02%)、(1R)-(+) - α -蒎烯(0.02%)、1,6-二甲基-1,3,5-三烯(0.13%)、(E,E)-2,4-庚二烯醛(0.04%)、萹紫

红素(0.02%)、桃金娘烯醇(0.06%)、香芹酚(0.09%)、猛杀威(0.03%)、突厥酮(0.04%)等化合物,而在样品 2~7 中上述成分均已检测不到;合成右旋龙脑在 2~7 号样品中的含量明显低于 1 号样品中的含量;1,2,3,4-四氢-1,1,6-三甲基萘在 2 号样品(0.6%)至 7 号样品(0.82%)中存在,而在 1 号样品中未检出。

2.1.2 II 区化学信息分析 II 区色谱峰化学信号分析结果表明,该区化学信号的主要贡献来源于中沸程的挥发性成分,它们是杭白菊挥发性成

分的主要组成部分。1号样品中的香叶基丙酮(0.13%)、石竹烯氧化物(2.30%)、 β -榄香烯(1.38%)、马兜铃烯(0.97%)、 β -愈创木烯(0.31%)、红没药醇(1.11%)等成分在2~7号样品中(除6号样品中含 β -榄香烯和7号样品中含红没药醇外)均未检出;与1号样品相比,柏木脑、(+)-香橙烯、表-二环倍半水芹烯在2~7号样品中的含量有一定程度的降低;2~7号样品中香树烯、 γ -芹子烯、巴伦西亚橘烯、 γ -古芸烯的含量均明显高于1号样品。

2.1.3 III区化学信息分析 III区色谱峰化学信号分析结果表明,该区化学信号的主要贡献来源于高沸程的挥发性成分。其中邻苯二甲酸二异丁酯(0.13%)在1号样品中可以检出,而在2~7号样品中均未检出;与1号样品相比,苯甲酸苄酯在2~7号样品中的含量有不同程度的降低。

2.2 讨论

杭白菊挥发油的主要成分为单萜烯类、倍半萜烯类及其含氧衍生物,主要包括 α -蒎烯、合成右旋龙脑、4-萜烯醇、香芹酚、香叶基丙酮、香树烯、姜黄烯、 γ -芹子烯、姜烯、巴伦西亚橘烯、 β -甜没药烯、石竹烯氧化物、柏木脑、 β -榄香烯、 γ -古芸烯、表-二环倍半水芹烯、 β -愈创木烯、红没药醇、棕榈酸等。其中合成右旋龙脑、4-萜烯醇、香芹酚、石竹烯氧化物具有镇痛、抗炎和抑菌作用; β -榄香烯具有抗肿瘤作用和提高机体免疫力的作用^[4]; α -蒎烯有明显的镇咳和祛痰功能,并有抗真菌(如白念珠菌)作用^[5-6]。本实验结果表

明,硫磺熏蒸后的杭白菊中的化学成分已发生显著改变,包括某些具有生物活性成分的减少(如蒎烯、合成右旋龙脑、香芹酚、石竹烯氧化物等)和增加(如 γ -芹子烯、香树烯等),3~7号样品(购自药店)与2号样品(自熏)中大部分具有生物活性成分的含量变化趋势相一致,进一步证实上述差别与样品加工过程中使用硫磺熏蒸有关。

中药材及饮片的硫磺法加工会使中药材及饮片中原有化学成分发生转变,进而影响药理作用。本研究结果提示,限制硫磺熏蒸在中药材及饮片加工过程中的不规范使用,对于全面评价及有效控制中药材及饮片的质量具有积极而现实的意义。

参考文献

- [1] 刘静静,刘 晓,蔡 皓,等. 对市售白芍饮片芍药苷含量低于中国药典标准的深入探讨[J]. 药物分析杂志,2010,30(10):1 817-1 821.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:292.
- [3] 张清华,张 玲. 菊花化学成分及药理作用的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(02A):60-63.
- [4] 许 永,向能军,沈宏林,等. 杭白菊浸膏挥发性成分分析及在卷烟中的应用[J]. 光谱实验室,2008,25(2):167-172.
- [5] MARTIN S, PADILLA E, OCETE M A. Anti-inflammatory activity of the essential oil of *Bupleum fruticosens*[J]. *Planta Med*, 1993, 59(6):533-536.
- [6] 夏忠弟,余俊龙. α -蒎烯对白色念珠菌生物合成的影响[J]. 中国现代医学杂志,2000,10(1):44-46.