

# HS-SPME-GC-MS 法快速检测积雪草挥发性成分<sup>Δ</sup>

张 伟\*,张娟娟,尹震花,康文艺\*(黄河科技学院医学院,郑州 450063)

中图分类号 R284.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)33-4710-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.33.34

**摘要** 目的:建立快速检测积雪草挥发性成分的方法。方法:采用顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用法(HS-SPME-GC-MS)。色谱条件:色谱柱为HP-5 MS石英弹性毛细管柱,载气为高纯氦气(99.999%),流速为1.0 ml/min,进样口温度为250℃,程序升温,分流进样,分流比为10:1。质谱条件:电离方式为电子轰击离子源,电离能量为80 eV,离子源温度为230℃,四极杆温度为150℃,传输线温度为280℃,电子倍增器电压为1 494 V,扫描范围为 $m/z$  30~400。以面积归一化法测定各挥发性成分的相对含量。结果:从积雪草中鉴定出16个挥发性成分,占总峰面积的79.22%,其主要挥发性成分为(*E*)- $\beta$ -金合欢烯(36.97%)、石竹烯(13.61%)、大根香叶烯D(10.95%)、 $\alpha$ -萹蒲二烯(2.76%)和香树烯(2.33%)。结论:该研究基本明确了积雪草的主要挥发性成分,为进一步认识积雪草提供了一定科学依据。

**关键词** 积雪草;挥发性成分;快速检测;顶空固相微萃取;气相色谱-质谱联用法

## Rapid Detection of Volatile Constituents in *Centella asiatica* by HS-SPME-GC-MS

ZHANG Wei, ZHANG Juanjuan, YIN Zhenhua, KANG Wenyi (The College of Medical, Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To establish a method for the rapid detection of the volatile constituents in *Centella asiatica*. METHODS: HS-SPME-GC/MS was adopted, the chromatographic conditions: column was HP-5 MS fused silica capillary column, carrier gas was high-purity helium (99.999%) at a flow rate of 1.0 ml/min, inlet temperature was 250 °C (temperature programmed), split injection, split ratio was 10:1. MS conditions: ionization was electrospray ionization source, ionization energy was 80 eV, ion source temperature was 230 °C, quadrupole temperature was 150 °C, the transmission line temperature was 280 °C, electron multiplier voltage was 1 494 V, and scan range was  $m/z$  30-400. Retention index method was combined with peak area normalization method to determine the relative percentage contents of each volatile constituent. RESULTS: Totally 16 volatile constituents were identified from *C. asiatica*, accounting for 79.22% to the total peak area, the main volatile constituents were (*E*)- $\beta$ - farnesene (36.97%), caryophyllene (13.61%), germacrene D(10.95%),  $\alpha$ -acoradiene (2.76%) and (-)-alloaromadendrene (2.33%). CONCLUSIONS: The study basically clears the main volatile constituents of *C. asiatica*, and provides certain scientific basis.

**KEYWORDS** *Centella asiatica*; Volatile constituent; Rapid detection; HS-SPME; GC-MS

积雪草,又称半边钱、落得打,为伞形科植物积雪草 *Centella asiatica* L. Urban 的干燥全草,味苦、辛,性寒,具有清热利湿、解毒消肿功效,主要用于湿热黄疸、水肿、肠炎、痢疮、疔疮、跌打损伤等症的治疗<sup>[1]</sup>。南非、印度、东南亚等国家和地区也将其作为传统药物加以利用。积雪草主要含有三萜皂苷、三萜酸、多烯烯类、生物碱和挥发油等成分<sup>[2]</sup>,这些成分具有降血糖、抗氧化、抗抑郁、保肝、抑制肿瘤细胞增生等作用<sup>[3-4]</sup>。其中,积雪草苷和羟基积雪草苷为其发挥药理作用的主要活性成分<sup>[5]</sup>。

固相微萃取技术(Solid-phase microextraction, SPME)是一项以固相萃取为基础,无溶剂化样品前处理新技术<sup>[6-8]</sup>。顶空(HS)-SPME即是顶空提取样品,此方法更有利于少量样品中微量成分的测定,集采样、萃取、浓缩、进样为一体,对样品富集作用强,分析灵敏度高,装置便于携带,操作简单,成本低廉,且可实现野外采样<sup>[9-12]</sup>。

<sup>Δ</sup> 基金项目:河南省科学技术厅科学技术发展计划(No.142102310147,152102310171);郑州市科学技术局科技发展计划(No.20140790)

\* 副教授。研究方向:中药活性成分。电话:0371-69083296。E-mail: zzzwwwqq@126.com

# 通信作者:教授。研究方向:中药活性成分及西药开发。电话:0371-87540851。E-mail: kangweny@hotmail.com

国内尚未见积雪草挥发性成分的快速检测方法的报道。为此,笔者采用HS-SPME对积雪草挥发性成分进行快速萃取,并采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)进行检测,以建立积雪草挥发性成分快速检测方法。

### 1 材料

#### 1.1 仪器

6890/5975 GC-MS 仪(美国 Agilent 公司);手动 SPME 装置、100  $\mu$ m PDMS-DVB 萃取纤维头(美国 Supelco 公司)。

#### 1.2 试剂

C<sub>6</sub>-C<sub>26</sub> 正构烷烃(美国 Alfa Aesar 公司)。

#### 1.3 药材

积雪草地上部分由笔者在2015年2月采集于海南省万宁市,经河南大学中药研究所李昌勤教授鉴定为真品,标本存于黄河科技学院天然药物研究所。

### 2 方法与结果

#### 2.1 样品的微萃取

使用前先将 SPME 的萃取纤维头在 GC 仪的进样口老化 10 min,老化温度:250℃,载气流速:1.0 ml/min。取积雪草地上部分 0.7 g,置于 5 ml 进样瓶中,插入 100  $\mu$ m PDMS-DVB 萃取纤维头,于 50℃ 下顶空取样 30 min 后,取出立即插入色谱仪

进样口(温度250℃)脱附1 min,得积雪草挥发性成分。

## 2.2 试验条件

2.2.1 色谱条件 色谱柱:HP-5 MS 石英弹性毛细管柱(30.0 m×250 μm×0.10 μm);载气:高纯氦气(99.999%);流速:1.0 ml/min;进样口温度:250℃;升温程序:初始温度为50℃(保持2.0 min),以4℃/min升温至120℃(保持2 min),最后以6℃/min升温至230℃(保持10 min);分流进样,分流比:10:1。

2.2.2 质谱条件 电离方式:电子轰击离子源;电离能量:80 eV;离子源温度:230℃;四极杆温度:150℃;传输线温度:280℃;电子倍增器电压:1 494 V;扫描范围:*m/z* 30~400。

## 2.3 定性分析

2.3.1 分析方法 通过标准品、NIST08.L 谱库检索,并结合保留指数、参考文献及相关网站(www.vcf-online.nl)等共同进行定性。按照文献<sup>[7-9]</sup>计算 Kovats 保留指数(Kovats index, KI),公式如下:

$$KI=100n+100\times t_{R}-t_{Rn}/t_{Rn+1}-t_{Rn}$$

式中:*n*和*n*+1分别为未知物流出前、后正构烷烃碳原子数;*t<sub>Rn</sub>*和*t<sub>Rn+1</sub>*分别为未知物流出前、后正构烷烃的保留时间(min);*t<sub>R</sub>*为挥发性成分在GC中的保留时间(min)(*t<sub>Rn</sub>*<*t<sub>R</sub>*<*t<sub>Rn+1</sub>*)。

2.3.2 分析结果 按“2.2”项下试验条件进样测定,再按“2.3.1”项下方法分析,以面积归一化法确定各成分的相对含量。根据所得的质谱信息并结合有关文献从基峰、相对丰度和KI等方面进行直观比较,从而确定其中的部分化学成分。结果表明,积雪草中快速分离鉴定出16个挥发性成分,占总峰面积的79.22%,主要挥发性成分为(*E*)-β-金合欢烯(36.97%)、石竹烯(13.61%)、大根香叶烯D(10.95%)、α-菖蒲二烯(2.76%)和香树烯(2.33%),详见表1(未标注参考文献的KI由www.vcf-online.nl检索而得;“-”为未检索到)。

表1 积雪草挥发性成分及相对含量

Tab 1 Volatile constituents and relative content of *C. asiatica*

序号	出峰时间, min	化合物	相对含量, %	KI计算值/参考值	定性方法
1	6.67	(1S)-α-蒎烯	2.01	929/928 <sup>[9]</sup>	MS, KI
2	7.02	蒎烯	0.23	946/946	MS, KI
3	7.60	β-蒎烯	0.86	974/975	MS, KI
4	8.53	<i>p</i> -伞花烃	0.75	1 019/1 020 <sup>[9]</sup>	MS, KI
5	9.22	γ-蒎品烯	0.58	1 053/1 053 <sup>[9]</sup>	MS, KI
6	17.09	α-葑道烯	1.72	1 368/1 377 <sup>[9]</sup>	MS, KI
7	18.29	<i>b</i> -柏木烯	1.28	1 409/1 419	MS, KI
8	18.40	石竹烯	13.61	1 412/1 406 <sup>[9]</sup>	MS, KI
9	18.86	罗汉柏烯	2.32	1 428/1 431	MS, KI
10	19.27	( <i>E</i> )-β-金合欢烯	36.97	1 442/1 447 <sup>[9]</sup>	MS, KI
11	19.57	香树烯	2.33	1 452/1 443	MS, KI
12	20.00	α-菖蒲二烯	2.76	1 467/1 465	MS, KI
13	20.19	大根香叶烯D	10.95	1 473/1 469 <sup>[9]</sup>	MS, KI
14	20.60	γ-榄香烯	0.62	1 487/1 485 <sup>[9]</sup>	MS, KI
15	20.93	α-花柏烯	1.16	1 498/1 503	MS, KI
16	21.05	3-乙基-5-甲基苯酚	1.07	1 502/-	MS
总计			79.22		

## 3 讨论

本研究中,积雪草的主要挥发性成分是(*E*)-β-金合欢烯、石竹烯、大根香叶烯D、α-菖蒲二烯和香树烯。秦路平等<sup>[13]</sup>采

用水蒸气蒸馏法提取积雪草全草挥发油,GC-MS联用分析,结果显示从中分离鉴定出45个成分,其主要成分为石竹烯(19.36%)、法呢醇(17.66%)、榄香烯(4.42%)和长叶烯(4.21%)等,积雪草挥发性成分的种类和含量均有一定的差别,其差异可能与挥发性成分的提取方法、药材的采收时间等有关。而笔者采用HS-SPME提取积雪草的挥发性成分,相对于水蒸气蒸馏法,无需有机试剂,且样品用量少,方便快捷,可以快速的进行挥发性成分的检测。

综上所述,本研究基本明确了积雪草的主要挥发性成分,为进一步认识积雪草提供了一定科学依据。

## 参考文献

- [1] 南京中医药大学. 中药大辞典[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 2 632.
- [2] 陈军, 华维一, 孙宏斌. 积雪草酸及其衍生物的生物活性研究概况[J]. 中草药, 2006, 37(3): 458.
- [3] 陈瑶, 韩婷, 秦路平, 等. 积雪草总苷对小鼠抑郁行为和脑内氨基酸含量的影响[J]. 中药材, 2003, 26(12): 870.
- [4] 朱晓玲, 王永钧, 张迎华, 等. 积雪草苷大黄素对肿瘤坏死因子α诱导的肾系膜细胞C3表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2006, 11(4): 414.
- [5] Bian GX, Li GG, Yang Y, *et al.* Madecassoside Reduces Ischemia-Reperfusion Injury on Regional Ischemia Induced Heart Infarction in Rat[J]. *Biol Pharm Bull*, 2008, 31(3): 458.
- [6] Arthur CL, Pawliszyn J. Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers[J]. *Anal Chem*, 1990, 62(19): 2 145.
- [7] 李锬, 卢引, 顾雪竹, 等. 细叶石仙桃地上部分挥发性成分的HS-SPME-GC-MS分析[J]. 中国药房, 2012, 23(35): 3 319.
- [8] Zhang JJ, Kang WY. Volatiles from flowers of *Lagerstroemia caudata* by HS-SPME-GC-MS[J]. *Chem Nat Compd*, 2014, 50(5): 806.
- [9] 李锦辉. 贵州产地八角莲叶挥发性成分分析[J]. 食品科学, 2015, 36(12): 138.
- [10] 李昌勤, 卢引, 李新铮, 等. HS-SPME-GC-MS分析甜面大南瓜花挥发性成分[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 151.
- [11] 李光勇, 张勇, 张娟娟, 等. 两种不同产地黄荆花挥发性成分研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(22): 130.
- [12] 姜平川, 周军, 曹斌, 等. 九里香挥发油成分研究[J]. 中药材, 2009, 32(8): 1 224.
- [13] 秦路平, 丁如贤, 张卫东, 等. 积雪草挥发油成分分析及其抗抑郁作用研究[J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(2): 186.

(收稿日期: 2015-12-05 修回日期: 2016-03-12)

(编辑: 张 静)