

# 八角茴香挥发性成分 HS-SPME-GC-MS 方法建立及应用

赵钰玲, 戚欢阳, 师彦平\*

(1 中国科学院兰州化学物理研究所 甘肃省天然药物重点实验室, 兰州 730002. 中国科学院研究生院, 北京)

**摘 要:** 建立了顶空固相微萃取与气相色谱-质谱联用技术快速分析八角茴香风味物质的方法。该方法与传统水蒸汽蒸馏相比, 快速简便, 重现性好; 分析结果与水蒸汽蒸馏结果相似。应用建立的方法对市售八角茴香质量进行了评价。

**关键词:** 顶空固相微萃取法, 气相色谱-质谱联用, 八角茴香, 挥发性成分

八角茴香(*Illicium verum* Hook .F.)是卫生部2002年3月1日公布的“既是食品又是药品”的物品之一。八角茴香具有较高的经济价值, 既可做调味品又可药用和作为香精香料。然而八角的质量受产地<sup>[1]</sup>、采收时期的影响, 且伪品众多——莽草、红茴香<sup>[2]</sup>、野八角<sup>[3]</sup>等的果实误作八角茴香使用会造成中毒, 单靠传统经验鉴别已不能适应当前中药现代化的要求。此外, 近几年高致病性禽流感疫情的蔓延, 一些舆论对八角茴香在治疗、预防禽流感作用方面的宣传, 给八角茴香市场造成了一定影响。因此, 迫切需要建立一种简便、快速、高效的分析八角茴香挥发性成分的方法。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

HP5973I-6890 气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪(美国安捷伦公司); 挥发油提取器; DK-98-I 电子恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司); 自制固相微萃取手柄, 自制聚丙烯酸树脂萃取头<sup>[4]</sup>; 高纯氮(纯度 $\geq 99.999\%$ )。

### 1.2 样品收集

从兰州众友药店购买样品作为标准样品(条件优化实验采用该样品)。从兰州、烟台、济南、海南、广西、云南等地市场上购买八角茴香样品作为样本。另外, 从兰州当地市场上购买的八角茴香样品中, 挑选出部分可疑样本(经戚欢阳博士鉴定不是八角茴香, 而是其伪品)共计3个, 作为未知样本。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 顶空固相微萃取(HS-SPME)

将0.10g八角粉末置于15mL萃取瓶中, 在60℃水浴中用经过老化处理的聚丙烯酸树脂SPME萃取头顶空萃取40min, 迅速置于气化室中解吸2min, 进行分析。

#### 1.3.2 水蒸气蒸馏

称取20g干燥的八角, 加200g蒸馏水于挥发油提取器中, 按照《中华人民共和国药典》挥发油测定法中甲法<sup>[5]</sup>, 常压蒸馏6h。收集油层, 将所得挥发油置4℃冰箱中, 备用。

### 1.4 实验条件

色谱条件: SE-54 弹性石英毛细管柱(50m $\times$ 0.25mm id $\times$ 0.50 $\mu$ m, 中科院兰州化物所色谱技术研发中心); 采用恒流模式高纯氮流量1.2mL/min; 升温程序为:

40℃(8min)  $\xrightarrow{10^\circ\text{C}/\text{min}}$  130℃  $\xrightarrow{4^\circ\text{C}/\text{min}}$  260℃(2min); 气化室温度 250℃。进样方式: 1) HS-SPME 分流比 2:1, 解吸时间为 2min; 2) 水蒸气蒸馏样品则采用 30:1 的分流比进样, 进样量 0.4μL。

质谱条件: 采用电子轰击源 (EI), 电子能量 70 eV; 离子源温度 230℃; 四极杆温度 150℃; 传输杆温度 280℃; 扫描范围 20~400amu。

## 2 结果与讨论

### 2.1 HS-SPME 条件优化

#### 2.1.1 萃取涂层的选取

萃取头极性的选择取决于样品组分的性质。该样品中含有小极性的萜类及极性更大的芳香类化合物。李祖光等采用聚二甲基硅氧烷 (PDMS) 涂层分析八角中风味物质<sup>[6]</sup>, 其中极性较大的芳香族类化合物未得到检测; 我们选用的 PA 萃取头则有效解决了这个问题, 并且所得结果与水蒸气蒸馏结果一致。

#### 2.1.2 萃取方式及样品量的选取

萃取方式和涂层种类的选取是 SPME 法的关键一步。萃取方式取决于待分析物蒸汽压的大小。由于八角含有高挥发性组分, 故采用 HS-SPME 可以达到分析要求, 通过优化 0.10g 样品可以满足实验要求。

#### 2.1.3 萃取时间的优化

HS-SPME 的原理是基于分析物在气相和萃取涂层之间的分配来进行分析的, 优化的萃取时间应该是分析物在两相之间达到平衡的时间, 此时分析的灵敏度和准确度最佳。经过实验优化知, 40min 后达到萃取平衡。

#### 2.1.4 萃取温度的优化

萃取温度对 SPME 萃取效率的影响具有双面性。我们在实验中发现, 在 60℃ 时萃取, 该条件下高低沸点组分含量比例较合适, 便于分析。

#### 2.1.5 解吸参数的优化

解吸参数的选择取决于分析物性质。进样口温度为 250℃ 时分析结果较好。当萃取头插入气化室深度为 2cm 时, 考察了解吸时间的影响, 可知进样后 2min 达到解吸平衡。

### 2.2 方法重现性

考察了 HS-SPME 和 SD 两种方法的重现性。分别在相同条件下, 平行测定 5 次, 两种方法主要风味成分峰面积的相对标准偏差分别列入表 1。

表 1 两种方法中主要风味成分峰面积的相对标准偏差 (RSD)

化合物	RSD (n=5) %	
	SPME	SD
D-萜烯	5.07	5.54
芳樟醇	3.19	4.97
萹脑	1.86	2.46
茴香醛	1.42	4.01
反式-茴香脑	3.55	2.21
1-(4-甲氧基苯)-2-丙酮	4.64	2.45
石竹烯	3.55	3.21
对丙稀基苯基异戊烯醚	5.87	5.60

### 2.3 八角茴香风味物质测定结果与分析

HS-SPME 和水蒸气蒸馏两种方法所得八角茴香中挥发性成分,经气-质联用分析,得到总离子流图见图1,通过 NIST.02 谱库检索定性,分析结果见《分析实验室》(待出版)。

为了考察 HS-SPME 方法的可靠性,将分析结果与水蒸气蒸馏结果比较。两种方法所得总离子流图在形貌上非常相似。采用 PA 萃取头顶空固相微萃取与传统水蒸气蒸馏所得定性结果非常相近:通过水蒸气蒸馏得到的成分几乎完全可以被 PA 萃取头吸附,两种方法均鉴定了 53 种组分,且为两种方法共有。两种方法所得结果相对含量较高的成分基本一致。结果表明本方法可用于快速分析八角中风味物质,对于八角真伪品的鉴定、八角风味成分指纹图谱的建立都有一定的指导意义。其他赋香植物挥发性成分的分析也可以借鉴该方法。

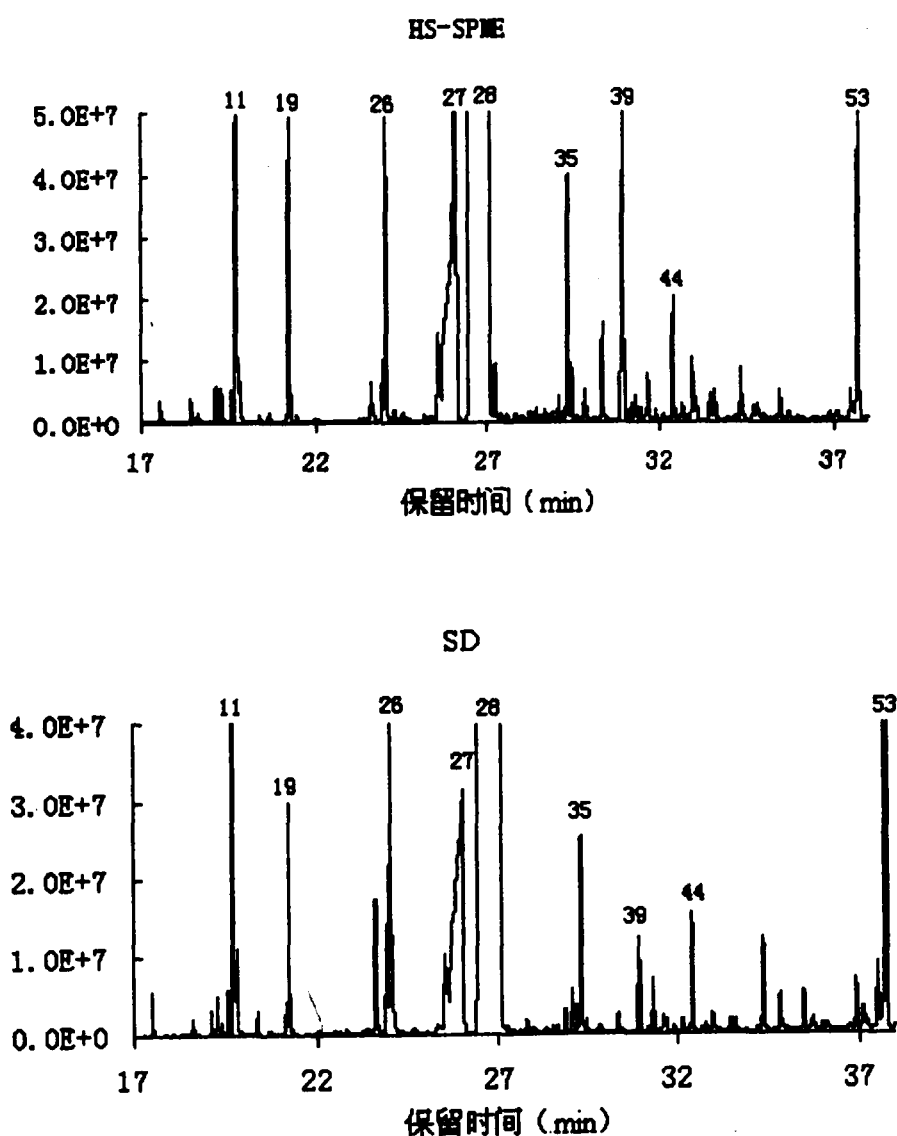


图1 两种方法所得八角风味物质总离子流图

### 2.4 市售八角茴香风味成分多元统计学分析

我们应用建立的方法对市售八角茴香质量进行了评价。结合保留时间和质谱检索结果确定了样品 TIC 中 34 个共有峰,作为考察对象。对共有峰的峰面积进行多元统计学分析。

### 2.4.1 聚类分析

对收集到的10个八角茴香样本和3个未知样本进行聚类分析。

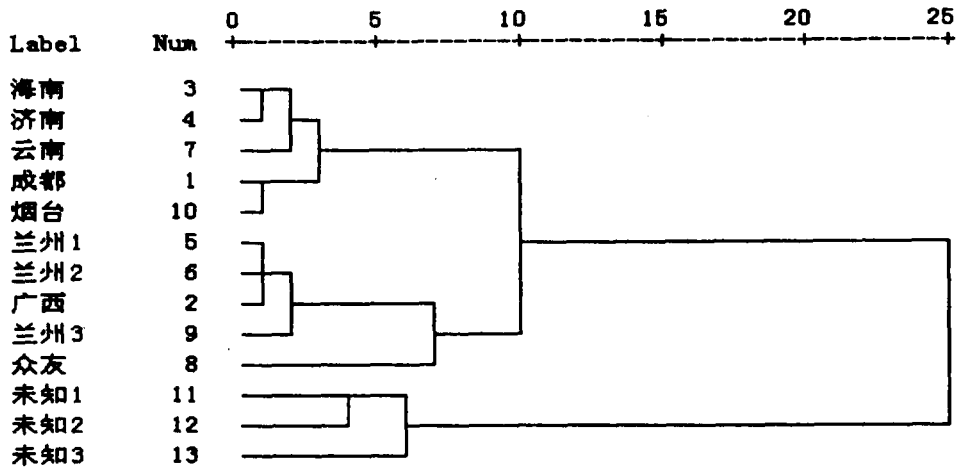


图2 市售八角茴香的聚类分析树状图

从聚类分析树形图(图 1)中可以看到购自各地市场的 10 个样本被归为了一类; 3 个未知样本与 10 个样本之间有明显差异而得到了区分。

### 2.4.2 主成分分析

对收集到的 10 个八角茴香样本和 3 个未知样本进行主成分分析。从主成分分析图上主成分 1 (能解释变量的 98.697) 和主成分 2 (能解释变量的 0.785), 对 10 个市售八角样本和 3 个未知样本有一定区分。

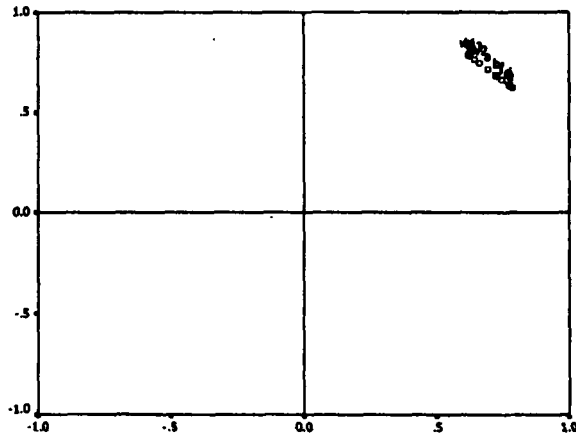


图2 市售八角茴香主成分分析图

### 2.4.3 相似度计算

以市售八角茴香挥发性成分的 34 个共有峰的峰面积为考察对象, 对其进行相似度评价。以 10 个市售八角茴香样品 34 个共有峰面积的平均值为标准, 其余样本与之比较, 计算结果见表。

表2 10个八角茴香样品和3个未知样品34个共有峰相似

样品	成都	广西	海南	济南-2	兰州-1	兰州-2	云南
相似度	0.9978	0.9975	0.9980	0.9972	0.9978	0.9998	0.9954
样品	众友	兰州-5	烟台	可疑-1	可疑-2	可疑-3	
相似度	0.9873	0.9942	0.9984	0.9850	0.9877	0.9911	

从表 2 可知, 市售八角茴香样品与样本平均值比较, 除众友样品外, 其余样品相似度数值均在

0.994 以上; 而 3 个未知样品相似度较低。这说明市售八角茴香在质量上没有明显差异, 但与药店样本相比有一定差异。这个结果与上述两种分析方法的结果基本一致。

## 2.5 结论

建立了顶空固相微萃取-气相色谱-质谱联用快速分析八角茴香挥发性成分的方法。应用建立的方法, 采用聚类分析、主成分分析和相似度计算, 对市售八角茴香挥发性成分进行了研究, 结果表明建立的方法对八角茴香真伪鉴定、质量评价有一定参考价值。

## 参考文献

- 1 黄建梅, 王嘉琳, 杨春澍等. 中国中药杂志, 1996, 21(3): 168-170
- 2 新风云, 武孔云, 张连富等. 中草药, 2002, 33(5): 403
- 3 阮海星, 王子坚, 钱能. 植物资源与环境, 1996, 5(2): 55-56
- 4 魏黎明. 硕士学位论文, 兰州: 中科院兰州化物所, 2004
- 5 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典, 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 附录57
- 6 李祖光, 许丹倩, 徐振元. 中国调味品, 2003, 10(10): 13-16