

基于 HS-GC-MS 法构建酒制多花黄精 指纹图谱及成分分析

肖梦炎^{1,2,3}, 陈光宇^{1,2,3*}, 谢梦洲^{1,2,3*}, 刘嘉钰^{1,2,3}, 李思梦^{1,2,3}

(1. 湖南中医药大学 药食同源功能性食品工程技术研究中心, 湖南 长沙 410208; 2. 湖南中医药大学 中医心肺病证辨证与药膳食疗重点研究室, 湖南 长沙 410208; 3. 湖南中医药大学 中医诊断学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208)

摘要:目的:建立酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱,并对酒制多花黄精挥发性成分进行分析。方法:以 11 批酒制多花黄精为原料,采用顶空进样—气质联用法(HS-GC-MS)建立指纹图谱,根据 NIST2017 标准谱库检索,分析 1 批混合产地酒制多花黄精成分。结果:从酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱中指认 7 个共有峰,11 批供试品相似度均大于 0.9,从混合产地酒制多花黄精中鉴定出 26 种成分。结论:建立酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱精密性、重复性与稳定性良好,可为酒制多花黄精原料质量控制提供实验依据。

关键词:多花黄精;顶空进样—气质联用法;指纹图谱;成分分析

DOI:10.11954/ytctyy.202408014

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

中图分类号:R284

文献标识码:A

文章编号:1673-2197(2024)08-0069-04



Fingerprint Chromatography and Component Analysis of *Polygonatum cyrtonema* Hua Based on HS-GC-MS

Xiao Mengyan^{1,2,3}, Chen Guangyu^{1,2,3*}, Xie Mengzhou^{1,2,3*}, Liu Jiayu^{1,2,3}, Li Simeng^{1,2,3}

(1. Engineering Technology Research Center for Medicinal and Functional Food, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Key Laboratory of TCM Heart and Lung Syndrome Differentiation & Medicated Diet and Dietotherapy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. Provincial Key Laboratory of TCM Diagnostics, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Abstract: Objective: To establish the HS-GC-MS fingerprint chromatography and analyze the chemical compositions of *Polygonatum cyrtonema* Hua. **Methods:** 11 batches of *Polygonatum cyrtonema* Hua were used as raw materials, The fingerprint chromatography was established by Headspace Sampling-Gas Chromatography-Mass Spectrometer (HS-GC-MS). The components of 1 mixed producing areas *Polygonatum cyrtonema* Hua were identified according to NIST2017 standard spectrum library. **Results:** 7 common peaks were identified from the fingerprint chromatography of *Polygonatum cyrtonema* Hua, The similarity of 11 batches of test samples was greater than 0.90, 26 components were identified. **Conclusion:** The established fingerprint chromatography has good precision, repeatability and stability, which can provide experimental basis for the quality control of *Polygonatum cyrtonema* Hua and the development of compound preparation.

Keywords: *Polygonatum Cyrtonema* Hua; HS-GC-MS; Fingerprint Chromatography; Component Analysis

多花黄精作为补气养阴、健脾、润肺、益肾的药材原料^[1],越来越受民众欢迎并应用于食疗养生

收稿日期:2023-11-03

基金项目:湖南省中医药科研课题(B2023134);湖南省重点研发计划(2021—2022年)项目(第二批)(2022SK-2018)

作者简介:肖梦炎(1998—),女,湖南中医药大学硕士研究生,研究方向为中医药膳学。

通讯作者:陈光宇(1988—),男,硕士,湖南中医药大学实验师,研究方向为药食同源功能食品及新药开发。E-mail: chengguangyu58@126.com

谢梦洲(1964—),女,湖南中医药大学教授,博士生导师,研究方向为中医药膳学。E-mail:1173511369@qq.com

中^[2]。然而目前国内外文献报道及《中华人民共和国药典》2020版一部对多花黄精的质量分析主要采用硫酸-苯酚法测定多糖类成分^[3],未见有关于采用顶空进样-气质联用法(HS-GC-MS)根据不同产地酒制多花黄精建立指纹图谱的研究报道^[4]。

前期研究发现,酒制多花黄精在粉碎过程中特别容易黏壁,导致含量测定的供试品制备困难,不同部位取样差异较大,对于酒制多花黄精的质量控制具有一定难度。静态顶空分析(HS)属于顶空进样方式中的一种,操作简便且无需有机溶剂的参与,通过与色谱仪联用可实现对挥发性成分的定性和定量分析^[5]。气质联用法(GC-MS)能够高效灵敏识别和分析复杂的化学成分。顶空分析与气相质谱(HS-GC-MS)联用技术已经在食品、环境和生物样品检测等领域得到广泛应用^[6]。中药指纹图谱技术是在整体上对中药材进行综合和量化的客观分析,从而评价中药材的真伪优劣及稳定性。采用HS-GC-MS法建立酒制多花黄精指纹图谱,供试品制备方法简单,可为酒制多花黄精分析及质量标准提供简单、快速的新方法^[7]。

本文采用HS-GC-MS联用技术对11个产地的酒制多花黄精构建挥发性成分的指纹图谱,根据NIST2017标准谱库结合文献检索,确定其共有峰成分,为酒制多花黄精分析方法改进、质量标准提升提供实验依据。

1 主要仪器设备与材料试药

德国赛默飞世尔科技 TriPlus 500 型顶空进样器—Trace 1300 型气相色谱仪—ISQ7000 四极杆质谱仪。

本研究所用酒制多花黄精均由湖南省音爽生物科技有限公司提供,经由湖南中医药大学王智副教授鉴定为百合科植物酒制多花黄精 *Polygonatum cyrtoneuma* Hua 的干燥根茎。不同产地酒制多花黄精信息详见表1。

表1 酒制多花黄精不同产地信息

简称	缩写	产地	炮制情况	采购批号
新野	DHJHJ-XY	湖南娄底新化(野生)	酒黄精	20220315
南平	DHJHJ-NP	福建南平	酒黄精	20220315
郴州	DHJHJ-CZ	湖南郴州	酒黄精	20220315
邵阳	DHJHJ-SY	湖南邵阳	酒黄精	20220315
湘西	DHJHJ-XX	湖南湘西	酒黄精	20220315
凯里	DHJHJ-KL	贵州凯里	酒黄精	20220315
新林	DHJHJ-XL	湖南娄底新化(人工)	酒黄精	20220315
岳阳	DHJHJ-YY	湖南岳阳	酒黄精	20220315
眉山	DHJHJ-MS	四川眉山	酒黄精	20220315
玉溪	DHJHJ-YX	云南玉溪	酒黄精	20220315
铜仁	DHJHJ-TR	贵州铜仁	酒黄精	20220315

酒制多花黄精的制备如下所示:称取多花黄精

约400g,称定,平摊于4.0L砂锅中,加入黄酒80g,焖润12h以上,将焖润好的黄精置于蒸锅(26cm,三层)中,蒸制4h以上,后把多花黄精置于白方铁盘上,置于鼓风干燥箱中,60℃鼓风干燥12h以上,蒸锅的水不倒而作焖润溶剂。重复“蒸制—干燥”过程至总次数为9次(九蒸九制),至多花黄精变黑。得酒制多花黄精。将酒制多花黄精粉碎,过3号筛网,得酒制多花黄精细粉。

2 方法与结果

2.1 色谱条件

以(5%苯基)甲基聚硅氧烷为固定液的弹性石英毛细管柱(Thermo scientific TG-5SILMS GC Column,30m×0.25mm×0.25μm),载气为高纯氦气(He),载气流速为1mL/min。程序升温:第1阶段起始温度为50℃,持续2min,第2阶段以5℃/min的速度升温至130℃,第3阶段以10℃/min的速度升温至280℃,保持2min。采用气密针模式(气密针温度为120℃)的顶空进样,顶空瓶的平衡温度为110℃,平衡时间均为30min,顶空进样口温度为150℃,分流比为50:1。

2.2 质谱条件

以四极杆质谱仪检测;电子轰击源(EI),Full-Scan模式总离子扫描,质谱传输接口温度280℃,离子源温度300℃,采集时间范围为3~35min,扫描质荷比范围为45~350m/z,扫描间隙为0.2sec。

2.3 分析法

分别精密吸取经平衡后的各编号供试品顶空瓶气体1μL,注入气质联用仪。

2.4 精密度结果

取岳阳产地酒制多花黄精粗粉,按“2.1”项下方法平行制备6份供试品,进样分析,以α-当归内酯(4号共有峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰面积的RSD均<1.213%,各供试品相似度RSD为0.235%,说明仪器精密度良好。

2.5 重复性结果

取岳阳产地酒制多花黄精,按“2.1”项下方法平行制备6份酒制多花黄精粗粉,再制备成供试品,进样分析,以α-当归内酯(4号共有峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰面积的RSD均<1.682%,各供试品相似度RSD为0.721%,说明该分析方法重复性良好。

2.6 稳定性结果

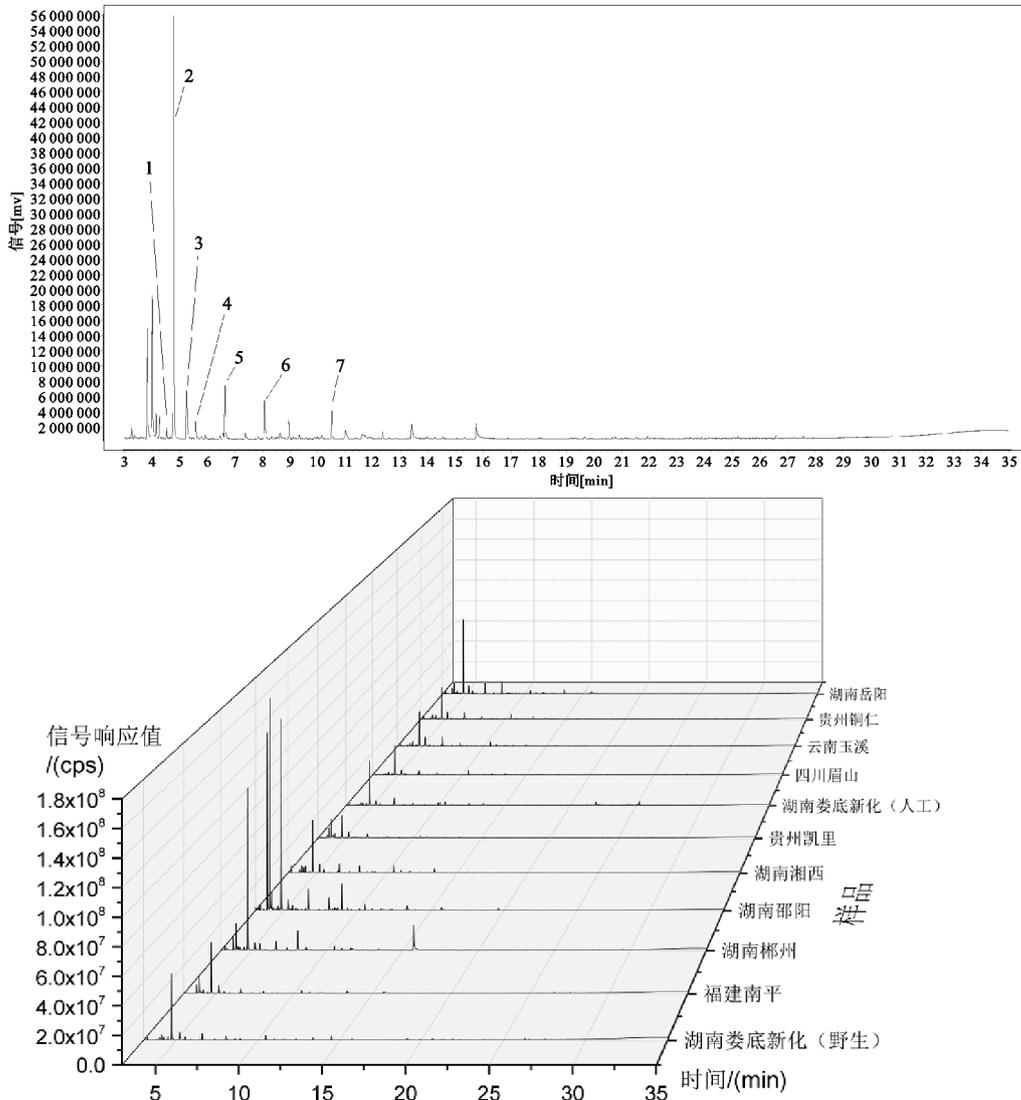
取岳阳产地酒制多花黄精粗粉,按“2.1”项下方法平行制备6份供试品,分别于制备后0.0、2.0、4.0、8.0、12.0、24.0h进样分析,以α-当归内酯(4号共有峰)为参照峰,计算各共有峰的相对保留时间、相对峰

面积的 RSD 均 $<1.927\%$, 各供试品相似度 RSD 为 1.185% , 说明该供试品溶液在 24h 内稳定性良好。

2.7 HS-GC-MS 指纹图谱建立

以岳阳产地供试品色谱为参照图谱, 采用平均

数法, 进行全谱峰匹配, 找到 10 个共有色谱峰, 根据 NIST2017 标准谱库检索出共有色谱峰的成分, 对照指纹图谱、各产地酒制多花黄精粗粉图谱见图 1, 相似度及收率%结果见表 2。



注: ①-4-甲基-2(5H)-咪唑酮; ②-糖醛(呋喃甲醛); ③-糖醇(呋喃甲醇); ④- α -当归内酯; ⑤-乙酰咪唑; ⑥-5-甲基咪唑; ⑦-苯乙醛。

图 1 对照指纹图谱(A)、酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱(B)

表 2 不同产地酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱相似度

样品	相似度	样品	相似度	样品	相似度
湖南娄底新化(野生)	0.994	湖南湘西	0.981	云南玉溪	0.958
福建南平	0.993	贵州凯里	0.956	贵州铜仁	0.961
湖南郴州	0.965	湖南娄底新化(人工)	0.983	湖南岳阳	0.958
湖南邵阳	0.986	四川眉山	0.985		

由表 2 结果可知, 11 批不同产地酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱相似度均在 0.90 以上, 建立的酒制多花黄精 HS-GC-MS 指纹图谱精密度、重复性

与稳定性良好, 可为酒制多花黄精原料质量控制提供实验依据。

2.8 酒制多花黄精粗粉成分分析及指纹图谱共有峰归属

将混合产地酒制多花黄精粗粉供试品进样结果经 NIST2017 标准谱库检索, 选取匹配度 $\geq 90\%$ 的匹配数据, 若同一物质存在多个匹配度较高成分选项, 则选取最高匹配度成分, 结合查阅相关文献资料确定化合物名称, 运用面积归一化法分析供试品各成分相对含量, 结果见表 3。

表3 混合产地酒制多花黄精粗粉 HS-GC-MS 成分分析结果

编号	保留时间(min)	相对分子质量	挥发性成分	分子式	相对含量(%)
1	3.249	94	二甲基二硫	C ₂ H ₆ S ₂	2.05
2	3.365	116	2,4,5-三甲基-1,3-二氧戊环	C ₆ H ₁₂ O ₂	0.51
3	3.814	90	1,4-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂	4.29
4	3.977	90	1,5-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂	6.47
5	4.120	100	正己醛	C ₆ H ₁₂ O	2.24
6	4.242	100	面包酮	C ₅ H ₈ O ₂	2.05
7	4.518	98	4-甲基-2(5H)-呋喃酮	C ₅ H ₆ O ₂	0.72
8	4.746	96	糖醛(呋喃甲醛)	C ₅ H ₄ O ₂	43.71
9	5.229	98	糖醇(呋喃甲醇)	C ₅ H ₆ O ₂	6.14
10	5.555	98	α-当归内酯	C ₅ H ₆ O ₂	0.82
11	5.902	96	4-环戊烯-1,3-二酮	C ₅ H ₄ O ₂	0.44
12	6.548	104	菠萝醛	C ₄ H ₈ OS	0.52
13	6.609	110	乙酰呋喃	C ₆ H ₆ O ₂	7.47
14	7.354	98	5-甲基-2(5H)-呋喃酮	C ₅ H ₆ O ₂	0.58
15	7.796	112	5-甲基-2-呋喃甲醇	C ₆ H ₈ O ₂	0.40
16	8.045	110	5-甲基呋喃	C ₆ H ₆ O ₂	6.28
17	8.623	144	Acetylformoin	C ₆ H ₈ O ₄	0.60
18	8.939	138	2-正戊基呋喃	C ₉ H ₁₄ O	1.72
19	9.313	312	2-Pentadecyl-1,3-dioxepane	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	0.37
20	10.497	120	苯乙醛	C ₈ H ₈ O	2.06
21	10.993	109	2-吡咯乙酮	C ₆ H ₇ NO	0.96
22	11.582	126	3-糠酸甲酯	C ₆ H ₆ O ₃	1.04
23	11.691	128	菠萝酮	C ₆ H ₈ O ₃	0.55
24	12.337	142	壬醛	C ₉ H ₁₈ O	0.63
25	13.395	144	2,3-二氢-3,5-二羟基-6-甲基-4(H)-吡喃-4-酮	C ₆ H ₈ O ₄	3.00
26	15.724	126	5-羟甲基糠醛	C ₆ H ₆ O ₃	4.37

经 HS-GC-MS 总离子流图与共有模式指纹图谱对比,可对共有峰推测:1号峰为 4-甲基-2(5H)-呋喃酮,2号峰为糖醛(呋喃甲醛),3号峰为糖醇(呋喃甲醇),4号峰为 α-当归内酯,5号峰为乙酰呋喃,6号峰为 5-甲基呋喃,7号峰为苯乙醛。

3 讨论

本研究以酒制多花黄精粗粉为原料,采用 HS-GC-MS 法构建指纹图谱。与紫外光谱、液相色谱法相比,该方法无需细粉,处理过程相对简单。与溶剂进样的气相色谱法方式相比,该方法的顶空进样无须使用有机试剂(石油醚等)、干燥剂(无水硫酸钠等),可降低供试品制备过程中的杂质干扰,处理过程简单,且该方法重复性、稳定性皆良好。

本研究对 HS-GC-MS 条件中顶空进样平衡温度(100、110、120℃)、平衡时间(15、30、45 min)、进样分流比(10:1、30:1、50:1)、程序升温等条件进行了考察,发现平衡温度超过 100℃、平衡时间在 30min 时,总离子流信号响应值最佳,最终选定平衡温度、时间、进样分流比、色谱峰分离度最好的条件。

本研究发现不同产地酒制多花黄精皆含有相对百分含量较高的呋喃型化合物,如糖醛(呋喃甲醛)、糖醇(呋喃甲醇)、乙酰呋喃、5-甲基呋喃等,这 4 种成分在酒制多花黄精中占相对百分含量的 63.60%。糠醛是 Maillard 反应产物,具有甜香味^[8]。该反应可产生许多对食品香味具有贡献的醛类产物^[9],这

些醛类因具有较低的感官风味阈值,对药物挥发性风味影响较大^[10]。

参考文献:

- [1] 项昭保,陈鹏飞,刘岩.多花黄精活性成分研究进展[J].重庆工商大学学报(自然科学版),2024,41(1):1-11.
- [2] 孙思宇,王华磊,陈松树,等.不同品系多花黄精药理和食用成分比较研究[J].食品安全质量检测学报,2022,13(22):7272-7278.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[M].北京:中国医药科技出版社,2020.
- [4] 周扬华,李晖,李东宾,等.基于指纹图谱和多成分定量分析的多花黄精质量评价研究[J].中国中药杂志,2021,46(21):5614-5619.
- [5] 吴晓莹,张安然,杨丹阳,等.基于 HS-GC-MS 考察樟帮特色米泔水漂法对白术与麸炒白术挥发性成分的影响[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(9):210-217.
- [6] 郑威,臧彬如,于颖琦,等.基于 HS-GC-MS 技术研究炮制对枳术丸中挥发性成分的影响[J].药物分析杂志,2022,42(5):884-895.
- [7] 王珊珊,周蕊,李晋,等.金沸草 HS-GC-MS 指纹图谱研究[J].天津中医药大学学报,2021,40(6):790-795.
- [8] 范梦蝶,王天泽,杜文斌,等.山西老陈醋晾晒前、后挥发性香味物质比较分析[J].中国食品学报,2019,19(12):229-242.
- [9] 刘敏敏,刘颖,张涛,等.酒制对多花黄精气味形成影响的 GC-MS 分析[J].中国实验方剂学杂志,2023,29(17):166-173.
- [10] 游刚,牛改改,张自然,等. Maillard 反应前后方格星虫酶解物挥发性风味成分和感官特性的变化[J].食品工业科技,2020,41(2):39-45,58.

(编辑:张 晗)