

3.1 内蒙两种源甘草种子的物理特性存在一定的差异,上海庙种源种子的千粒质量略大于巴音乌素种源。相同质量的混合样品中,两种源均以2级种子所占比例最大,巴音乌素种源1级种子的比例较上海庙种源高,但2、3级种子的比例均较上海庙种源的低。两种源种子的粒质量百分比均呈正态分布,种子组成中偏小或过重的种子所占比例较小。上海庙种源种子粒质量分布在5~22 mg,巴音乌素种源种子粒质量分布在5~20 mg。上海庙种源和巴音乌素种源种子的单粒质量分别为12.3、11.7 mg,正常种子的比例分别为90%和87%。上海庙种源各粒级种子的长、宽、厚测定值均略高于巴音乌素种源,但差异未达到显著水平。

3.2 内蒙两种源甘草种子种皮的透性存在一定的差异,巴音乌素种源未经处理的种子种皮的透水性较上海庙种源强,电导率测定值是上海庙种源的2倍,上海庙种源种子种皮的透水性较差,但种子耐贮藏性和种子活力较巴音乌素种源强,两种源均以大粒种子的透水性较强,以小粒种子的活力较强。机械碾磨处理能够有效打破种皮的不透水性,不同种源相同粒级处理过的种子电导率测定值之间的差异不显著,两种源均以3级种子的电导率最高。两个种源未处理和处理过的种子电解质渗漏的趋势基本相同,都于浸泡后4 h达到第1个高峰,于浸泡后8 h达到第2个高峰。

3.3 内蒙两种源甘草未处理种子的发芽率均在14%~24%,巴音乌素种源种子发芽率和发芽势高于上海庙种源,而种子处理后,上海庙种源种子的发芽率和发芽势均高于巴音乌素种源。两种源种子萌发

后,胚根的长度和粗度均与种子的大小呈正相关。未处理和处理过的种子两种源均以3级种子的发芽率和发芽势最高,这是否与种皮研磨受损程度有关还有待于进一步研究。在实践生产当中,如果采用机械碾磨的方法处理甘草种子,最好先进行种子分级,将不同粒级的种子分别处理,以保证出苗率,减少损失。

3.4 内蒙两个种源之间和相同种源不同粒级的幼苗生长指标之间的差异多数达到了显著和极显著水平。上海庙种源1年生播种苗的多数生长指标略高于巴音乌素种源,但两种源之间的差异未达到显著水平。种源和种子大小对甘草1年生播种苗的株高、地茎、根长、芦头粗度以及生物量均未产生显著影响。产生这种现象的原因是因为种子的物理特性是在苗木生长前期起作用,还是在播种苗生长过程中环境因素的影响掩盖了种源和种子大小的影响,还有待进一步深入系统的研究。

References:

- [1] Si J P, Liu R, Cai T A, et al. Preliminary studies on heteromorphosis of *Magnolia officinalis* from different provenances [J]. *J Zhejiang Forest Sci Technol* (浙江林业科技), 1998, 18(3): 13-17.
- [2] Tong Z K, Si J P, Liu R, et al. Study on variation and inheritance of phenolic compound concentrations in *Magnolia officinalis* of different seed sources [J]. *Forest Res* (林业科学研究), 2000, 13(3): 257-261.
- [3] Liu G F, Yang C P, Liu G J, et al. The configuration characters and germination percentages of various provenance of *Betula platyphylla* [J]. *J North Forest Univ* (东北林业大学学报), 1999, 27(4): 1-4.
- [4] Xue P, Li B H, Xiao X H, et al. Chemical component variation in *Ginkgo* of different provenance leaf [J]. *Economic Forest Res* (经济林研究), 2000, 18(3): 31-33.
- [5] Kuo W H J. Delayed-permeability of soybean seeds: characteristics and screening methodology [J]. *Seed Sci Technol*, 1989, 17: 131-142.

太子参 GC-MS 指纹图谱的初步研究

刘训红¹, 王 媚¹, 蔡宝昌¹, 王玉玺², 林新艳^{1*}

(1. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029; 2. 南京军区南京总医院, 江苏 南京 210002)

摘要:目的 建立太子参挥发性成分 GC-MS 指纹图谱分析方法, 为太子参质量评价提供依据。方法 用 GC-MS 联用技术对不同产地太子参的挥发性成分进行分析, 建立其指纹图谱, 确定共有指纹峰, 并选用模糊聚类法分析比较。结果 太子参挥发性成分中含有 12 个特征性指标成分, 初步建立了以此 12 个共有峰为特征指纹信息的 GC-MS 指纹图谱。结论 方法准确可靠, 重现性好, 可作为太子参内在质量评价的依据。

关键词:太子参; 挥发性成分; GC-MS; 指纹图谱

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)01-0113-04

收稿日期: 2006-03-17

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK2004154)

* 林新艳 南京中医药大学中药资源与鉴定专业 2001 级实习生

GC-MS Fingerprint of root tuber of *Pseudostellaria heterophylla*LIU Xun-hong¹, WANG Mei¹, CAI Bao-chang¹, WANG Yu-xi², LIN Xin-yan¹

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Nanjing

General Hospital of Nanjing Military Region, Nanjing 210002, China)

Abstract: Objective To establish the analytical method for the fingerprint of the volatile components in the root tuber of *Pseudostellaria heterophylla* by GC-MS and provide the basis for quality assessment of the crude drug. **Methods** The volatile components in the root tuber of *P. heterophylla* from different habitats were analyzed and the chromatographic fingerprints were established by GC-MS. The common peaks were determined and the fuzzy cluster was selected to compare the results. **Results** There were 12 main characteristic components in the volatile components in the root tuber of *P. heterophylla*. GC-MS Fingerprint of 12 common peaks was established preliminarily. **Conclusion** The method is reliable and accurate, and can be used for quality control of the root tuber of *P. heterophylla*. with favourable reproducibility.

Key words: the root tuber of *Pseudostellariae heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.; volatile components; GC-MS; fingerprint

太子参为孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根,《中国药典》记载的常用补益中药,具有益气健脾、生津润肺之功效,临床常用于治疗脾虚体倦、食欲不振、病后虚弱、气阴不足、自汗口渴、肺燥干咳等,尤其是治疗小儿脾虚而食欲不佳的要药,民间常作为强壮滋补品。现代研究表明,太子参含有环肽类、三萜皂苷类、多糖类以及挥发性成分等^[1,2],具有抗疲劳、抗缺氧、抗应激、抗衰老等药理作用。一般认为太子参属江苏道地药材,近 10 多年来,野生资源日渐减少,原药材市场需求量逐年加大,安徽、福建和贵州等地也开始大面积栽培太子参。随着太子参栽培地区扩大,流通品系增多,药材的内在质量控制以及发展道地药材的生产已成为当务之急。本实验在用 GC-MS 法对不同产地太子参中挥发性成分分析鉴定^[3]的基础上,初步建立太子参挥发性成分 GC-MS 指纹图谱,为太子参药材的质量评价和 GAP 实施提供科学依据。

1 仪器与试药

HP6890GC/5973MSD 气质联用仪(美国惠普公司);挥发油测定装置。

乙醚为分析纯;太子参药材除 7 号样品 2004 年 10 月从贵州施秉产区购得外,其他样品均为 2004 年 7 月至 10 月由产区实地采集,为栽培品,经笔者鉴定均为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的块根(表 1)。

2 方法与结果

2.1 供试品溶液的制备:分别取 10 批太子参样品

200 g,粉碎成粗粉,过筛(筛孔内径为 0.64 mm),称量 200 g,加入 1 000 mL 水,浸泡 10 h,按《中国药典》2005 年版附录挥发油测定法提取,采用乙醚做吸收溶剂,乙醚用量为 5 mL,回流提取 8 h,得挥发性成分乙醚提取液,供 GC-MS 测试用。

表 1 太子参样品产地

Table 1 Habitats of root tuber of *P. heterophylla*

样品号	产地
1	江苏句容袁巷镇
2	江苏句容马梗
3	江苏句容天王镇朱巷村白龙地
4	江苏句容天王镇白杨村
5	福建柘荣
6	江苏句容陈武乡贺庄村
7	贵州施秉
8	江苏溧阳
9	江苏江宁
10	安徽宣州

2.2 分析条件:气相色谱条件:色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(Crosslinked 5% Phenyl Methyl Siloxane, 30.0 m × 0.25 mm, 0.25 μm Film Thickness);进样口温度 250 °C;升温程序:柱温 60 °C,以 5 °C/min 升温至 250 °C;载气为氮气,体积流量 1.0 mL/min;分流进样,分流比为 40:1,进样量 1 μL。质谱条件:电离方式 EI;离子源温度 230 °C;四级杆温度 150 °C;倍增器电压为 1 480 V;电子能量 70 eV;接口温度 280 °C;溶剂延迟 2 min;扫描质量为 50~550 amu。

2.3 方法学考察

2.3.1 2 h 记录图:取太子参挥发性成分进样分析,结果表明,50~120 min 没有出峰,提示 50 min 内挥发性成分出峰完全。

2.3.2 精密度试验:取太子参(样品 2)挥发性成分进行分析,连续进样 5 次。结果表明:36 个指标成分群保留时间的 RSD 均小于 0.2%,相对质量分数 RSD 均小于 5%,提示仪器精密度良好。

2.3.3 稳定性试验:取太子参(样品 2)挥发性成分进行分析,分别在 1、3、6、24、48、120 h 进样 6 次,得 36 个主要特征峰保留时间、相对质量分数。结果表明:36 个指标成分群保留时间 RSD 均小于 0.3%,相对质量分数的 RSD 均小于 5%,提示 120 h 内样品溶液稳定性较好。

2.3.4 重现性试验:取同一批次太子参(样品 2)5 份分别提取挥发性成分后,进样分析,得 36 个主要特征峰的保留时间和相对质量分数。结果表明,36 个指标成分群保留时间的 RSD 均小于 0.3%,相对质量分数的 RSD 均小于 5%,说明重现性较好。

2.4 指纹图谱建立:按选定的 GC-MS 条件对太子参挥发性成分进行分析,测得所有供试品的 GC-MS 总离子流图;再对总离子流图中的各峰经质谱扫描后得质谱图,所有组分质谱数据经计算机处理和 NIST-98 标准质谱图库检索鉴定,并与有关标准谱图核对,初步确定出太子参挥发性成分中 78 种化合物。根据太子参挥发性成分 GC-MS 总离子流图所给出的峰数、峰保留时间和峰面积值等相关参数以及成分鉴定结果,进行分析、比较,制定 GC-MS 指纹图谱(图 1)。

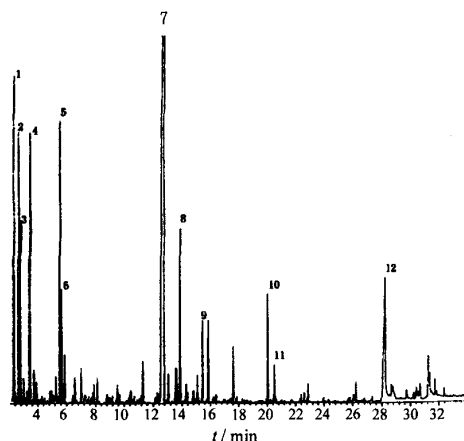


图 1 太子参的 GC-MS 指纹图谱

Fig. 1 GC-MS Fingerprint of *Radix Pseudostellariae*

2.5 指纹图谱分析

2.5.1 共有指纹峰的标定:经对挥发性成分 GC-MS 总离子流图的分析、比较,标定 12 个共有峰作为太子参指纹图谱的特征峰,1~12 号峰化学成分依次为:吡咯、己醛、糠醛、糠醇、2-戊基呋喃、3-呋喃甲基乙酸酯、4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮、4-丁基-3-甲氧基-2-环己烯-1-酮、未鉴定 A、2-环己烯-1-醇-苯甲酸酯、未鉴定 B、正-十六烷酸。以 4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮(7 号峰)为参照峰,分别求出各共有峰与之相比的 α 值(调整保留时间之比)和各共有峰的相对峰面积(峰面积之比),见表 2。

表 2 太子参挥发性成分中共有峰的相对保留时间 α 值和相对峰面积

Table 2 Relative retention time α and relative peak area of common peaks of volatile components in root tuber of *P. heterophylla*

峰号	α	各批样品相对峰面积									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0.18	0.29	0.21	0.16	0.21	0.06	0.21	0.15	0.07	0.15	0.19
2	0.20	0.10	0.11	0.08	0.06	0.08	0.11	0.16	0.06	0.09	0.08
3	0.22	0.15	0.05	0.08	0.13	0.17	0.14	0.14	0.06	0.04	0.12
4	0.27	0.45	0.25	0.18	0.20	0.29	0.15	0.19	0.12	0.20	0.08
5	0.43	0.12	0.11	0.09	0.06	0.04	0.20	0.06	0.08	0.10	0.09
6	0.44	0.05	0.04	0.04	0.03	0.08	0.03	0.03	0.04	0.04	0.03
7	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
8	1.09	0.09	0.10	0.09	0.10	0.26	0.18	0.14	0.12	0.09	0.12
9	1.22	0.09	0.03	0.05	0.07	0.19	0.13	0.16	0.05	0.04	0.05
10	1.58	0.08	0.06	0.05	0.05	0.12	0.10	0.22	0.08	0.05	0.10
11	1.61	0.06	0.05	0.02	0.02	0.04	0.08	0.07	0.04	0.02	0.04
12	2.22	0.28	0.27	0.08	0.05	0.88	0.36	0.67	0.11	0.17	0.16

2.5.2 指纹图谱的聚类分析:选择太子参挥发性成分中 12 个比较明显的共有峰,根据表 2 中的数据,用 SPSS 软件中的 hierarchical cluster analysis 对 10 个太子参样品进行聚类分析,所用聚类方法为 average linkage (between groups),距离公式为 square euclidean distance,得不同样品太子参的聚

类分析图(图略)。结果显示,当距离标尺在 1 时,样品 2、9,样品 3、4、8、10 各归为一类;在 2 时,样品 2、9 与样品 3、4、8、10 归为一类;在 6 时,样品 6 与样品 2、3、4、8、9、10 归为一类;在 7 时,样品 1 与样品 2、3、4、6、8、9、10 归为一类;样品 5、7 当距离标尺在 5 时,归为另一类;当距离标尺在 25 时,样品 5、7 才

与样品1、2、3、4、6、8、9、10全部聚为一类。可见,江苏产太子参指纹图谱相似性较好,与5、7号外省样品有一定的区别。

2.5.3 色谱峰的重叠率:以太子参9号样品图谱为基准,按以下公式[待测样品与标准样品共有的峰数 $\times 2 /$ (待测样品与标准样品峰数和) $\times 100\%$]计算,分别求得另外9种样品色谱峰的重叠率依次为96.7%、95.1%、96.8%、95.2%、95.1%、94.9%、96.1%、95.3%、97.2%。结果表明:10张图谱内的重叠率较高,均大于94.0%。

2.5.4 共有峰的百分比:计算各样品中共有峰面积之和占峰总面积的百分比依次为:74.2%、82.0%、89.1%、93.3%、76.0%、73.3%、88.2%、75.0%、85.4%、83.2%。

3 讨论

3.1 本实验在样品制备、测试条件方面都经过大量的实验探索,通过对色谱图全貌(出峰数、分离度等)的反复考察,认为目前所选用的测试条件较为理想。方法学考察结果表明:仪器精密度良好,样品稳定性、重现性亦较好,谱图中各组分色谱峰的重叠率极高,从而说明该方法建立的指纹图谱准确可靠,特征指纹信息丰富,专属实用,这对从挥发性成分角度判断太子参药材的质量有一定的参考价值。

3.2 不同产地太子参中均含有吡咯、己醛、糠醛、糠醇、2-戊基呋喃、3-呋喃甲基乙酸酯、4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮、4-丁基-3-甲氧基-2-环己烯-1-酮、未鉴定A、2-环己烯-1-醇-苯甲酸酯、未鉴定

B、正-十六烷酸等12种主要成分,占挥发性总成分的80%左右,具有突出的代表性,故以此12个特征性指标成分作为共有特征峰构建GC-MS指纹图谱。4-丁基-3-甲氧基-2,4-环己二烯-1-酮的质量分数高达40%以上,为最突出的指标,故以此作为参照峰分析指纹图谱。当然以上12种主要成分是否能完全揭示太子参挥发性成分的特征还有待进一步深入研究,需考虑栽培条件、采收加工、贮藏等多种因素的影响。

3.3 应用模糊聚类法作分析比较,能揭示挥发性成分中特征性成分质量分数的配比关系,更能全面、综合、准确地反映不同产地药材GC-MS指纹图谱的关系,结果显示江苏地产太子参指纹图谱相似性较好,与5、7号外省样品有一定的区别,从而提示江苏地产太子参挥发性成分中特征性指标成分呈现一种特定的配比关系——挥发性成分的道地性特征。

3.4 本实验初步建立太子参挥发性成分GC-MS指纹图谱分析方法,为太子参药材的质量评价和GAP实施提供科学依据。

References:

- [1] Liu X H, Kan Y M. A survey of research of *Radix Pseudostellariae* [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11(12): 1131-1132.
- [2] Liang X T. *Basic Studies on Chinese Materia Medica* (常用中药基础研究) [M]. Vol 1. Beijing: Science Press, 2003.
- [3] Liu X H, Wang M, Cai B C, et al. Analysis of essential components of *Radix Pseudostellariae* from different habitats by GC-MS [J]. *Shizhen J Tradit Chin Med Res* (时珍国医国药), 2007, 18(1): 5-7.

广藿香挥发油的合成场所及储存部位研究

冯承浩¹, 隋春花², 吴 鸿^{3*}

(1. 韶关学院英东生物工程学院 农业工程系, 广东 韶关 512005; 2. 韶关学院 旅游系, 广东 韶关 512005;

3. 华南农业大学 生命科学院药用植物研究中心, 广东 广州 510642)

摘要:目的 揭示广藿香茎和叶中挥发油的合成场所、转运方式和储存部位。方法 超薄切片法、组织化学法。结果 在广藿香茎内的薄壁细胞中, 质体和线粒体内观察到电子致密度高的嗜锇物质, 另外, 在细胞质中观察到有一些灰色小泡, 在小泡的外膜上附着一些小的、电子致密高的嗜锇滴; 在液泡膜外侧, 聚集着大量的附着嗜锇滴的灰泡。在叶中, 情况有所不同。由于栅栏组织细胞排列紧密, 体积较小, 且细胞内密集大量的叶绿体, 因此栅栏组织细胞内无大液泡, 质体、线粒体和小液泡相邻分布, 而前两者内分布有电子致密度高的嗜锇物质。结论 在广藿香茎内, 质体是挥发油的主要合成场所, 合成的挥发油主要通过灰色小泡转运到液泡内储存。在叶中, 叶绿体不仅行使

收稿日期: 2006-03-07

基金项目: 广东省中医药管理局基金项目(F01032); 广东省科技攻关项目(2002C20147)

作者简介: 冯承浩(1973—), 男(汉族), 山东省泰安市人, 讲师, 硕士, 广东韶关学院英东生物工程学院工作, 主要从事药用植物学方面的研究。 Tel: (0751) 8121376 E-mail: fchenghao@163.com

* 通讯作者 吴 鸿 Tel: (020) 85288393 E-mail: wh@scau.edu.cn