

基于 GC/MS 指纹图谱的八角茴香质量评价研究

王琴¹, 郑锡康², 蒋林², 刘曜儒¹, 温其标³

(1. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东广州 510225) (2. 中山大学药学院, 广东广州 510006)

(3. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640)

摘要: 八角茴香是一种药食同源的植物, 其果实精油不仅在食品和化妆品领域应用广泛, 而且还具有抗菌和抗氧化等生理活性。本文在前人研究的基础上, 首次报道了八角茴香油的 GC/MS 指纹图谱, 并选取了当中的 9 个色谱峰作为共有模式图的特征峰, 它们分别鉴定为 α -蒎烯 (峰 1)、柠檬烯 (峰 2)、芳樟醇 (峰 3)、草蒿脑 (峰 4)、茴香醛 (峰 5)、反式茴香脑 (峰 6)、 α -香柠檬烯 (峰 7)、石竹烯 (峰 8) 和对丙烯基苯酚异戊烯醚 (峰 9), 其中反式茴香脑 (峰 6) 是参照峰。利用所建立的指纹图谱对 15 个不同产地的八角茴香进行了质量考察, 推测 GC/MS 色谱图相似度与其品质存在正相关关系, 这对八角茴香质量评价方法的建立有一定的指导作用。

关键词: 八角茴香; 指纹图谱; 质量评价

文章编号: 1673-9078(2013)8-1984-1988

Quality Evaluation of Star Anise Based on GC/MS Fingerprints

WANG Qin¹, ZHENG Xi-kang², JIANG Lin², LIU Yao-ru¹, WEN Qi-biao³

(1. College of Light Industry and Food Science, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China) (2. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China) (3. College of Light Industry and Food, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: Star anise (*Illicium verum* Hook. f.) is homology of medicine and food, and its essential oil extracted from fruit is not only applied in food and cosmetic, but also exerts antibacterial and antioxidant activities. In this paper, the MS fingerprints of star anise was established. Nine GC chromatographic peaks were identified as α -pinene (peak 1), limonene (peak 2), linalool (peak 3), estragole (peak 4), anisaldehyde (peak 5), *trans*-anethole (peak 6), bergapten (peak 7), caryophyllene (peak 8) and farnesol (peak 9), which were as characteristic peaks in the mutual mode using *trans*-anethole (peak 6) as reference. By utilizing the fingerprinting, the quality of star anise harvested from 15 regions was investigated and the positive correlativity was found between the similarity of GC/MS chromatogram and the quality of star anise. This provides guidance to develop quality evaluation method of star anise.

Key words: star anise; fingerprinting; quality evaluation

八角茴香 (*Illicium verum* Hook. f.) 为木兰科八角属植物^[1], 主产于广西西部和南部。其果实是常用的调味香料, 经提取所得的精油, 即八角茴香油, 更是制造化妆品、甜香酒和啤酒的重要原料。除此之外, 该植物被收载于中国药典 (2010年版), 它的果实可用于治疗寒疝腹痛、肾虚腰痛、胃寒呕吐和脘腹冷痛等症状^[2]。研究表明^[3-7], 八角茴香油的主要成分为挥发性苯丙烷类和单萜类化合物, 如反式茴香脑、茴香醛、茴香酮、丁香酚、甲基胡椒酚、黄樟素和 α -蒎烯、柠檬烯、1,8-桉叶素和 α -松油醇等, 其中以反式茴香脑含量最高, 可作为含量测定的指标成分^[2]; 同时, 它还具有抗菌^[6,8]和抗氧化活性^[9-10], 但其物质基础尚未阐明。

收稿日期: 2013-04-07

基金项目: 广西壮族自治区科技攻关项目 (0424008-10)

作者简介: 王琴 (1973-), 女, 博士, 副教授

另外, 八角茴香果实中含有丰富的水溶性成分莽草酸, 这已成为抗流感药物达菲的合成原料^[11]。李伟^[12]等通过 RP-HPLC 法测定了广西 9 个不同地区共 27 个八角茴香果实样品的莽草酸含量, 结果表明, 莽草酸的平均含量为 6.61%, 其中有 18 个样品莽草酸含量在 6.30% 以上, 最高的达 8.74%, 最低的也有 4.73%。梁芳琳等^[7]在此之前报道了八角茴香油的 GC 指纹图谱, 但其采用 FID 进行检测, 所选定的 5 个共有峰中只有参照峰经与对照品对照后确定为反式茴香脑, 其余的 4 个共有峰所对应的成分却未能鉴定。本文在上述报道的基础上, 利用 GC/MS 技术建立了八角茴香油的指纹图谱, 并通过检索质谱库对共有特征峰加以鉴定, 使指纹图谱所提供的信息更为丰富。同时, 利用建立的指纹图谱对来自广西、广东和云南共 15 个不同产地的八角茴香进行质量考察, 探究其用于八角茴香质量

控制的可行性。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

无水硫酸钠和正己烷(分析纯),广州化学试剂厂;自制蒸馏水。

八角茴香采自广西、广东和云南共 15 个不同的产地(见表 1),经中山大学药学院蒋林研究院鉴定为木兰科八角属植物八角茴香(*Illicium verum* Hook. f.)的干燥成熟果实。其中, No.1~11 为 10 批来自广西防城港八角茴香规范化种植基地不同采收时间的八角茴香果实。

表 1 八角茴香果实的来源

No.	产地	No.	产地
1~11	广西防城港	19	广西荔浦
12	广西南宁	20	广东信宜
13	广西田林	21	广东阳春
14	广西凌云	22	云南马关
15	广西百色	23	云南玉溪
16	广西岑溪	24	云南广南
17	广西桂平	25	云南富宁
18	广西东兰		

1.2 仪器与设备

Voyager GC/MS 仪,美国 Finnigan 公司; DB-5 毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),美国 Agilent 公司; BS210S 分析天平,德国 Sartorius 公司; PTHW 电热套,河南豫华仪器有限公司;挥发油提取器,广州伟业玻璃仪器厂。

1.3 实验方法

1.3.1 供试品溶液的制备

取八角茴香果实(60目)50 g 装于 500 mL 圆底烧瓶中,加入蒸馏水适量,按照中国药典(2010年版)第 1 部附录 XD^[13],采用水蒸气蒸馏法甲法进行提取。挥发油经无水硫酸钠脱水后,密封保存在棕色样品瓶中,并于-20 °C 下保存。吸取挥发油 5 μL 至 5 mL 容量瓶中,用正己烷溶解并定容即得供试品溶液。

1.3.2 方法学考察

1.3.2.1 GC/MS 条件

GC 升温程序:在 60 °C 的起始温度下保持 5 min 后以 5 °C/min 升温至 210 °C;载气及其流速:He, 1 mL/min;分流比:10:1;进样口温度:230 °C;进样

体积:0.2 μL。

电离方式:EI;电离能:70 eV;离子源温度:250 °C;传输线温度:250 °C;四极杆温度:250 °C;质量扫描范围及其速率:40~450 u, 1000 u/s;倍增电压:1.20 kV。

1.3.2.2 精密度试验

把八角茴香油供试品(No.1)连续进样 5 次进行分析,计算 9 个特征峰(依次标记为峰 1~9,下同)的保留时间和相对含量的 RSD。

1.3.2.3 稳定性试验

取八角茴香油供试品(No.1)分别在 1、3、6、24、48、72 h 进样分析,计算 9 个特征峰的保留时间和相对含量的 RSD。

1.3.2.4 重复性试验

按照 1.3.1 项下的方法平行制备 5 份八角茴香油供试品(No.1),然后分别进样分析,计算 9 个特征峰的保留时间和相对含量的 RSD。

1.3.3 指纹图谱的建立

对 10 批(No.1~10)八角茴香果实的挥发油进行分析,数据经软件“中药指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”处理得出它们的共有模式指纹图谱以及相似度系数。

1.3.4 不同产地八角茴香的质量考察

分析检测 15 个产地八角茴香果实(No.11~25)的挥发油,并以 1.3.3 项下所建立的共有模式图谱为对照模板,利用“中药指纹图谱相似度评价系统(2004A 版)”软件评价它们的相似度。

2 结果与讨论

方法学考察的结果如表 2 所示,三组试验中 9 个特征峰的保留时间 RSD 均小于 1%,而它们的相对含量 RSD 除峰 1 外,都小于 5%,表明仪器的精密度、供试品溶液的稳定性和分析方法的重现性良好。峰 1 经检索 NIST Library(2002 版)质谱库后鉴定为 α-蒎烯,该成分易在空气中氧化聚合,这可能是其相对含量 RSD 波动显著的原因。

由 10 批八角茴香规范化种植基地样品(No.1~10)所建立起的八角茴香油 GC/MS 共有模式指纹图如图 1 所示,在可分离鉴定的约 40 个色谱峰中,经比较后选取其中的 9 个作为共有特征峰。以峰 6 反式茴香脑为参照峰,计算各共有特征峰的相对保留时间和相对峰面积,见表 3。由于参照峰的峰面积占共有峰总量的 80%以上,使得其他特征峰的相对峰面积非常小,因此为了兼顾各个特征峰,供试品溶液的浓度可作适当的调整,以突出共有模式图的指纹性。

表 2 方法学考察的结果

Table 2 The result of methodological investigation

试验类型	指标	RSD/%								
		峰 1	峰 2	峰 3	峰 4	峰 5	峰 6	峰 7	峰 8	峰 9
精密度	保留时间	0.853	0.555	0.264	0.173	0.221	0.160	0.185	0.130	0.044
试验	相对含量	6.858	0.750	1.794	2.194	2.279	0.131	3.856	2.362	1.892
稳定性	保留时间	0.478	0.271	0.161	0.204	0.116	0.108	0.085	0.100	0.047
试验	相对含量	13.24	0.999	1.064	1.802	2.488	0.049	4.154	2.684	1.037
重现性	保留时间	0.406	0.328	0.134	0.126	0.104	0.063	0.067	0.100	0.069
试验	相对含量	11.320	1.240	2.171	1.239	3.022	0.214	3.804	1.857	1.190

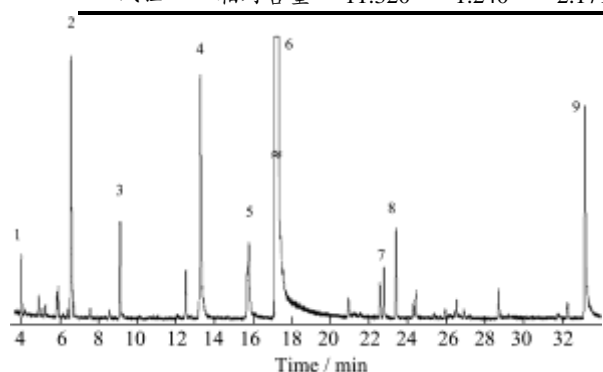


图 1 由 10 批八角茴香果实挥发油所建立的 GC/MS 指纹图谱

Fig.1 GC/MS fingerprints established based on 10 batches of fruits of star anise

表 3 八角茴香油 GC/MS 指纹图谱共有特征峰的相对保留时间及相对峰面积

Table 3 The relative retention time and relative peak area of each common characteristic peak in GC/MS fingerprinting of star anise oil

编号/成分	保留时间/min	相对保留时间	相对峰面积
峰 1/α-蒎烯	4.03	0.23	0.001~0.002
峰 2/柠檬烯	6.57	0.38	0.019~0.022
峰 3/芳樟醇	9.12	0.53	0.012~0.015
峰 4/草蒿脑	13.25	0.77	0.018~0.020
峰 5/茴香醛	15.74	0.91	0.007~0.009
峰 6/反式茴香脑	17.27	1.00	1.000
峰 7/α-香柠檬烯	22.76	1.32	0.005~0.006
峰 8/石竹烯	23.42	1.36	0.007~0.008
峰 9/对丙烯基苯酚异戊烯醚	33.14	1.92	0.014~0.016

以共有模式图谱作为对照模板, 10 批来自规范化种植基地样品 (No.1~10) GC/MS 色谱图谱相似度系数如表 4 所示, 分布在 0.9803~0.9959 之间。以同样的方式处理 15 个不同产地八角茴香样品 (No.11~25) 的色谱数据, 得到各自的相似度系数 (见表 4), 以此可把它们分为三组, 即 No.11、14、16、20、21、24 和 25 为第 1 组, 相似度系数大于 0.9, No.12、18、19

和 22 为第 2 组, 相似度系数介于 0.7~0.9 之间, No.13、15、17 和 23 为第 3 组, 相似度系数小于 0.7。

表 4 10 批来自规范化种植基地以及 15 个不同产地八角茴香样品 GC/MS 色谱图相似度评价结果

Table 4 The similarity evaluation of GC/MS chromatograms for 10 batches of samples from GAP base and samples harvested from 15 different regions

No.	相似度	No.	相似度
1	0.9897	14	0.9901
2	0.9836	15	0.6532
3	0.9895	16	0.9801
4	0.9803	17	0.5911
5	0.9953	18	0.8257
6	0.9959	19	0.7632
7	0.9851	20	0.9046
8	0.9953	21	0.9368
9	0.9795	22	0.8652
10	0.9900	23	0.5626
11	0.9913	24	0.9635
12	0.7985	25	0.9234
13	0.6192		

观察它们的色谱图 (见图 2) 可发现, 尽管这些样品均可被检测到共有模式图中的 9 个征峰, 但其相对含量有所不同 (见表 5), 有些成分甚至差异显著, 如草蒿脑 (峰 4) 在 No.12、17 和 18 样品中的相对含量是 4.11%、8.32% 和 4.14%, 而在 No.15、16 和 20 样品中却为 0.03%、0.03% 和 0.02%; 茴香醛 (峰 5) 和反式茴香脑 (峰 6) 也有类似的情况, 后者作为常用的质量评价指标性成分, 其相对含量介于 60~95% 之间; 另一方面, 各个样品在峰 2 与峰 7、峰 8 前后的杂峰相对含量也存在差异。上述不一致性产生的原因在于它们的种质、生长环境与年限、采收时间或贮藏加工方法不同。

进一步分析不同产地样品色谱图的相似度与其特征峰相对含量之间的关系可知, 对于相似度较高的第

1组而言,所有样品的反式茴香脑(峰6)相对含量均大于88%,同时9个特征峰的相对含量总和都在86%以上;而第2组样品虽然反式茴香脑(峰6)相对含量都高于80%,特征峰相对含量总和达到75%甚至95%以上,但总体来说还是不如第1组,而且该组样品的色谱图相似度也稍差;相似度最低的第3组样品,无论是反式茴香脑(峰6)的相对含量还是全部特征峰的相对含量总和皆是三组中最低的,两个指标数值分别只维持在70%和75%左右。

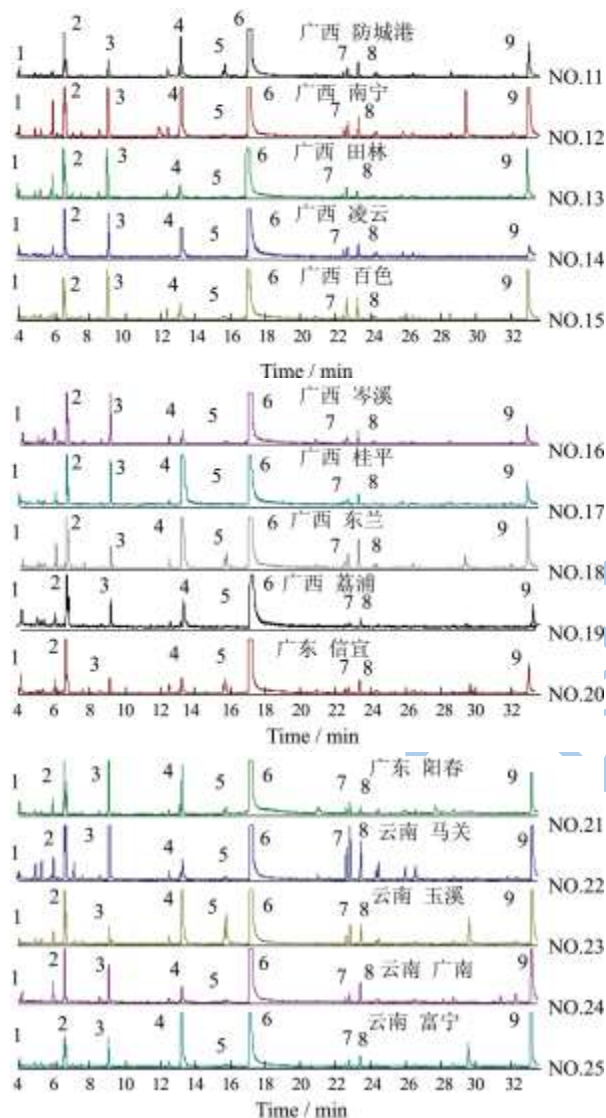


图2 15个不同产地八角茴香油 GC/MS 色谱图

Fig.2 GC/MS chromatograms of star anise sampled from 15 different regions

由此可见,八角茴香挥发油 GC/MS 色谱图的相似度与其质量存在一定的相关性,即挥发油色谱图相似度较高的八角茴香质量可能较好。值得一提的是,以这样一种方式判断不同产地八角茴香的品质有一定的局限性,因为该方法是基于共有模式图中的特征峰和一个目前公认的指标性成分而建立的,那就不可避

免的忽略了八角茴香油中其余微量或未知的成分。不过,在目前尚未阐明八角茴香相关药理作用物质基础的情况下,本文所建立的基于 GC/MS 指纹图谱的质量判断方式具有一定的指导作用。

表5 不同产地八角茴香油特征峰相对含量

Table 5 The relative content of characteristic peaks for star anise from different regions

No.	相对含量/%									
	峰1	峰2	峰3	峰4	峰5	峰6	峰7	峰8	峰9	合计
11	0.12	1.75	1.08	1.58	0.58	90.02	0.43	0.63	1.29	94.48
12	0.08	0.23	0.09	4.11	0.58	82.13	0.65	0.68	4.12	85.67
13	0.06	1.7	2.31	0.06	0.05	71.32	0.51	0.14	1.06	74.21
14	0.04	1.74	2.06	1.84	0.02	92.14	0.53	0.84	0.02	97.23
15	0.03	0.48	2.46	0.03	0.04	71.17	0.75	0.9	1.65	74.51
16	0.06	1.3	0.09	0.03	0.03	91.47	0.21	0.52	0.06	90.77
17	0.02	1.26	0.06	8.32	0.01	62.12	0.22	0.21	0.06	65.28
18	0.04	0.25	0.04	4.14	0.6	84.42	0.53	1.21	0.08	84.31
19	0.16	1.76	0.05	0.03	0.02	80.55	0.03	0.21	0.04	75.85
20	0.21	1.02	0.05	0.02	0.63	91.45	0.34	0.65	0.15	91.52
21	0.16	0.78	2.41	1.12	0.41	88.15	0.41	0.31	0.17	87.92
22	0.03	0.35	2.03	0.02	0.02	89.4	1.12	3.21	4.02	97.20
23	0.04	0.04	0.03	1.56	1.64	60.32	0.52	1.02	4.00	65.17
24	0.02	1.83	1.04	0.05	0.03	93.14	0.41	0.64	3.22	98.38
25	0.01	0.27	0.07	1.48	0.02	88.09	0.38	0.41	2.13	86.86

3 结论

八角茴香作为一种药食同源的植物,其果实精油不仅在食品和化妆品领域应用广泛,而且还具有抗菌和抗氧化等生理活性,但相关的物质基础却并不明确。本文在前人研究的基础上,首次建立了八角茴香油的 GC/MS 指纹图谱,并选取当中的9个色谱峰为共有特征峰,其中反式茴香脑(峰6)是参照峰。另一方面,以建立的指纹图谱对15个不同产地样品的质量进行了考察,推测 GC/MS 色谱图相似度与其品质存在正相关关系,即相似度系数较大,八角茴香的质量可能较好。尽管这判断方法存在一定的局限性,但仍可为八角茴香质量控制方法的建立提供一定的指导作用。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志(第30卷,第1分册)[M].北京:科学出版社,1996
Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (Tomus 77(1) [M]. Beijing: Science Press, 1996

[2] 中国药典委员会.中华人民共和国药典(2010年版,第1部)

- [M].北京:中国医药科技出版社,2010
National Pharmacopoeia Committee. Chinese Pharmacopoeia (2010 Edition, Volume 1) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010
- [3] 孙凌峰.上犹八角茴香挥发油化学成份的研究[J].有机化学,1990,2:183-186
Sun L F. Studies on the Chemical Constituents of the Volatile Oil of *Illicium verum* Hook. f. Grown in Shangyou [J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 1990, 2: 183-186
- [4] 刘红星,阳小勇,黄初升,等.广西八角挥发油的提取研究与GC-MS分析[J].分析测试学报,2007,26(z1):149-151
Liu H X, Yang X Y, Huang C S, et al. Study on Extracting Volatile Oil from *Illicium verum* Hook. f. and Analysis by GC-MS [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2007, 26(z1): 149-151
- [5] Jian Q C, Francis P, Gerard G. GCMS Analysis of Star Anise Oil [J]. Journal of Essential Oil Research, 1990, 2(2): 91-92
- [6] Singh G, Maurya S, deLampasona M P, et al. Chemical Constituents, Antimicrobial Investigations and Antioxidative Potential of Volatile oil and Acetone Extract of Star Anise Fruits [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(1): 111-121
- [7] 梁芳琳,唐春,吕高荣,等.广西八角茴香药材挥发油 GC 指纹图谱研究[J].中国中药杂志,2009,34(24):3299-3300
Liang F L, Tang C, Lv G R, et al. Studies on GC Fingerprinting of Volatile Oil from *Illicium verum* Hook. f. Grown in Guangxi [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2009, 34(24): 3299-3300
- [8] 王同禹,田玉红,周小柳.八角茴香水溶性挥发成分的抑菌活性研究[J].中国调味品,2010,6(35):46-49
Wang T Y, Tian Y H, Zhou X L. Studies on Antimicrobial Activities of Water-soluble of the Volatile Compounds from Star-anise[J]. China Condiment, 2010, 6(35): 46-49
- [9] 阳小勇,黄初升,刘红星.八角茴香油的化学成分及其抗氧化性研究[J].中国调味品,2010,7(35):38-44
Yang X Y, Huang C S, Liu H X. Studies on Chemical Components and Antioxidation of Oil of *Illicium verum* Hook. f. [J]. China Condiment, 2010, 7(35): 38-44
- [10] 杜丹,王晨,艾凤伟,等.微波提取八角茴香挥发油的工艺及抗氧化活性研究[J].吉林中医药,2011,31(5):466-468
Du D, Wang C, Ai F W, et al. Studies on Microwave Extraction Process of Volatile Oil from *Illicium verum* Hook. f. and Its Antioxidant Activity [J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 31(5): 466-468
- [11] 景羽,林静容,金荣华.以廉价原料合成抗流感药物达菲的研究进展[J].应用化工,2010,5(39):751-754,769
Jing Y, Lin J R, Jin R H. Progress in the Synthesis of Anti-influenza Drug Tamiflu with Inexpensive Raw Materials [J]. Applied Chemical Industry, 2010, 5(39): 751-754, 769
- [12] 李伟,丘冬平,马春梅.RP-HPLC 法测定广西不同地区八角茴香中莽草酸的含量[J].现代农业科技,2011,19:11-12,18
Li W, Qiu D P, Ma C M. Determination of Shikimic Acid in *Illicium verum* Hook. f. from Different Areas of Guangxi by RP-HPLC [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2011, 19: 11-12, 18
- [13] 中国药典委员会.中华人民共和国药典(2010年版,第1部附录)[M].北京:中国医学科技出版社,2010
National Pharmacopoeia Committee. Chinese Pharmacopoeia (2010 Edition, Appendix of Volume 1) [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010