

鸡蛋花挥发性成分的气相特征图谱及含量测定

林丽珍¹, 顾利红², 陈娟², 马鸿雁¹, 张戴英³, 刘飞³, 李书渊^{1*}

(1. 广东药学院 中药学院, 广州 510006; 2. 广州市药品检验所 中药室, 广州 510160;
3. 广东和翔制药有限公司, 广州 510385)

〔摘要〕 目的:采用气相色谱法(gas chromatography,GC)建立鸡蛋花中挥发性成分的特征图谱,测定芳樟醇、香叶醇和橙花叔醇的含量,为该药材的质量控制提供参考。方法:采用 GC 测定 20 批鸡蛋花和 3 批红鸡蛋花中指标成分含量,建立鸡蛋花中挥发性成分的 GC 特征图谱,考察鸡蛋花和红鸡蛋花特征图谱的差异性。结果:鸡蛋花特征图谱中指定了 11 个共有色谱峰,3 批红鸡蛋花与鸡蛋花的对照图谱明显不同,23 批样品聚分为 2 类,其中红鸡蛋花为一类。20 批鸡蛋花药材中挥发性成分的含量差异较大。结论:建立的鸡蛋花挥发性成分特征图谱特征性强,方法快速简便,能够表征鸡蛋花药材的内在信息,结合主要成分含量测定可用于鸡蛋花中挥发性成分的质量控制。

〔关键词〕 鸡蛋花;挥发性成分;特征图谱;聚类分析;芳樟醇;香叶醇;橙花叔醇
〔中图分类号〕 R284.2;R284.1;R917 〔文献标识码〕 A 〔文章编号〕 1005-9903(2015)11-0046-04
〔doi〕 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110046
〔网络出版地址〕 <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150414.1121.003.html>
〔网络出版时间〕 2015-04-14 11:21

GC Characteristic Spectra and Determination of Volatile Components from Drying Flowers of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia* LIN Li-zhen¹, GU Li-hong², CHEN Juan², MA Hong-yan¹, ZHANG Dai-ying³, LIU Fei³, LI Shu-yuan^{1*} (1. School of Chinese Materia Medica, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China; 3. Guangdong Hexiang Pharmaceutical Co. Ltd., Guangzhou 510385, China)

〔Abstract〕 Objective: To establish characteristic spectra of volatile components in drying flowers of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia* by gas chromatography (GC) and determine contents of linalool, geraniol and nerolidol. Method: GC was employed to determine contents of index ingredients in drying flowers of 20 batches of *P. rubra* cv. *Acutifolia* and 3 batches of *P. rubra*, then GC characteristic spectra of volatile components in drying flowers of *P. rubra* cv. *Acutifolia* was established in order to investigate differences between *P. rubra* cv. *Acutifolia* and *P. rubra*. Result: Eleven peaks were selected as characteristic peaks to assess similarities of different samples from different origins. There were significant differences in characteristic spectra between *P. rubra* cv. *Acutifolia* and *P. rubra*. Samples were divided into two categories, *P. rubra* was one of them. Contents difference of volatile ingredients in 20 batches of *P. rubra* cv. *Acutifolia* were great. Conclusion: This method is quick and simple, which can be used as an effective mean for quality evaluation of volatile ingredients in *P. rubra* cv. *Acutifolia*.

〔Key words〕 *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia*; volatile ingredients; characteristic spectra; cluster analysis; linalool; geraniol; nerolidol

鸡蛋花收载于《广东省中药材标准》(第一册)^[1],别名缅栀子、印度素馨、蛋黄花等,功效清热

〔收稿日期〕 20140818(006)
〔基金项目〕 广州市荔湾区科技项目(20134815026)
〔第一作者〕 林丽珍,在读硕士,从事中药质量控制研究,Tel:15918554526, E-mail:531562789@qq.com
〔通讯作者〕 *李书渊,硕士,教授,从事中药物质基础和质量标准研究,Tel:13660399909, E-mail:1018720684@qq.com

利湿、润肺解毒,用于治疗湿热下痢、里急后重、肺热咳嗽。在福建、广东、广西、海南等地,鸡蛋花常被用于泡茶、食用或制作凉茶,国外还常将其作化妆品原料和食品添加剂^[2-3],应用广泛且使用量大,故在生产中迫切需要科学严谨的质量控制手段以实际问题。鸡蛋花的现行质量标准仅有简单的性状描述,缺少专属性较强的定性和定量方法^[4]。此外,鸡蛋花与非药用的红鸡蛋花 *Plumeria rubra* 及其他栽培变种的干燥品非常相像,难以从外观形态上区分,基于鸡蛋花与红鸡蛋花中挥发性成分的差异性研究尚未见报道。本实验拟建立鸡蛋花中挥发性成分的特征图谱及其主要成分的含量测定方法,完善该药材的定性和定量评价系统,为鸡蛋花的质量控制提供参考。

1 材料

GC-2010 型气相色谱仪和 AY120 型 1/1 万电子天平(日本岛津公司),BP211D 型 1/100 万电子天平(德国 Sartorius 公司),GJ202A 型电子天平(常熟市清华电子有限公司),DFT-200 型手提式高速中药粉碎机(温岭市林大机械有限公司),YS100 型生物显微镜(日本 Nikon 公司)。高纯氮(广州市君多气体有限公司,纯度 >99.9%),芳樟醇、香叶醇对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为 1503-200001,111643-200301),橙花叔醇对照品(北京世纪奥科技生物技术有限公司,批号 7212-44-4,纯度 ≥95%),试剂为分析纯。鸡蛋花药材均经广东药学院中药学院李书渊教授鉴定。

表 1 鸡蛋花中 3 种指标成分含量测定的方法学考察 (n = 6)

成分	线性关系			精密度 RSD/%	稳定性 RSD/%	重复性 RSD/%	加样 回收率/%
	回归方程	R ²	线性范围/μg·L ⁻¹				
芳樟醇	$Y = 2\,920X + 13\,525$	0.999 8	9.7 ~ 388.8	0.6	0.6	0.3	103.12
香叶醇	$Y = 2\,662.6X - 1\,632.7$	0.999 9	9.0 ~ 360.8	2.3	0.2	0.7	101.27
橙花叔醇	$Y = 2\,635.9X - 5\,750.3$	0.999 8	15.0 ~ 600.4	1.3	1.9	0.2	99.53

2.1.5 样品测定 取各样品适量,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.1.1 项下条件测定,结果见表 2。

2.2 特征图谱的建立

2.2.1 色谱条件 RTX-1701 毛细管气相色谱柱(0.32 mm × 15 m × 0.25 μm),FID 检测器,程序升温(初始温度 80 ℃,保持 5 min;以 2 ℃·min⁻¹升温至 220 ℃,保持 5 min),载气 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 1 μL,见图 1。

2 方法与结果

2.1 芳樟醇、香叶醇、橙花叔醇的含量测定

2.1.1 色谱条件 RTX-11701 毛细管柱(0.32 mm × 15 m,0.25 μm),氢火焰离子检测器(FID),程序升温(初始温度 80 ℃,保持 5 min;以 5 ℃·min⁻¹升至 105 ℃,保持 2 min;以 10 ℃·min⁻¹升至 155 ℃,保持 3 min;以 15 ℃·min⁻¹升至 220 ℃,保持 3 min),载气 N₂,流速 1 mL·min⁻¹,进样口温度 220 ℃,检测器温度 230 ℃,进样量 1 μL。

2.1.2 对照品溶液的制备 精密称取芳樟醇、香叶醇、橙花叔醇对照品,用甲醇溶解并制成质量浓度分别为 0.210,0.213,0.200 mg·L⁻¹的混合对照品储备液,备用。

2.1.3 供试品溶液的制备 精密称取鸡蛋花药材粉末(过 3 号筛)约 50 g,置 500 mL 圆底烧瓶中,加水 350 mL,按 2010 年版《中国药典》一部附录 X D 甲法操作。自测定器上端加水使充满刻度,加热至微沸,保持 5 h,放冷,自冷凝管上端滴加乙酸乙酯适量并转移测定器内溶液至分液漏斗,用适量乙酸乙酯进行萃取,萃取液通过铺有无水硫酸钠约 1 g 的漏斗进行过滤,滤液置 10 mL 量瓶中,用乙酸乙酯稀释至刻度,摇匀,即得。

2.1.4 方法学考察 建立的方法进行方法学考察,包括线性关系考察、精密度试验、稳定性试验(0,2,4,8,16,24 h)、重复性试验、加样回收率试验,见表 1。结果表明仪器精密度良好,供试品溶液在 24 h 内稳定性良好,方法的重复性良好。

2.2.2 方法学考察 取同一供试品溶液重复进样 6 次,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积(参比峰为橙花叔醇)的 RSD 均 <3.0%,表明仪器精密度良好。取同一供试品溶液,分别在 0,2,4,8,12,18,24 h 进样,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 <3.0%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。取同一批鸡蛋花药材(14 号)6 份,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,计算各共有峰相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均 <3.0%,表

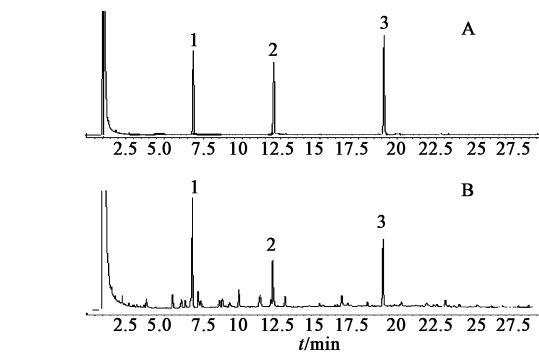
表 2 鸡蛋花和红鸡蛋花样品来源信息、含量测定及相似度评价

Table 2 Origins,determination and similarity evaluation of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia* and *P. rubra* samples

样品	来源	产地	芳樟醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	香叶醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	橙花叔醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	相似度
1	广州大学城	广州	2.66	3.71	55.49	0.936
2	致信药业	广州	2.99	3.98	20.14	0.936
3	肇庆(自采)	肇庆	2.49	11.19	53.88	0.973
4	王老吉	缅甸	33.20	13.26	9.37	0.933
5	王老吉	缅甸	29.11	26.14	18.54	0.940
6	王老吉	缅甸	30.73	18.29	14.60	0.993
7	王老吉	缅甸	57.29	19.46	16.70	0.948
8	王老吉	缅甸	8.24	7.30	11.07	0.951
9	王老吉	缅甸	13.37	8.35	7.04	0.993
10	广州金属仓	印尼	139.51	24.42	20.90	0.984
11	湛江霞山	湛江	8.28	8.36	18.79	0.908
12	广西玉林市场	越南	72.10	35.39	16.78	0.936

样品	来源	产地	芳樟醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	香叶醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	橙花叔醇 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	相似度
13	广西玉林	越南	7.04	6.92	16.43	0.951
14	广西玉林	越南	0.60	1.08	9.89	0.961
15	广西玉林	广西	60.51	36.24	35.48	0.995
16	广州清平市场	广西	62.90	39.08	59.00	0.956
17	广州清平市场	广西	20.81	9.91	11.63	0.933
18	广西玉林	海南	66.64	35.15	22.72	0.995
19	广西玉林	海南	68.50	37.83	37.89	0.995
20	广州金属仓	印尼	60.97	40.56	38.25	0.965
21	广州大学城	广州	23.60	14.42	23.22	0.711
22	广州土华村	广州	40.60	28.32	2.93	0.696
23	中山五桂山	中山	39.74	24.79	6.63	0.665

注:1~20 号为鸡蛋花,21~23 为红鸡蛋花。



A. 对照品;B. 供试品;1. 芳樟醇;2. 香叶醇;3. 橙花叔醇

图 1 鸡蛋花 GC

Fig.1 GC chromatograms of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia*

明本方法重复性良好。

2.3 特征图谱的相似度分析 取 20 批鸡蛋花样品,按 2.1.3 项下方法制备供试品溶液,按 2.2.1 项下条件检测,将所得的 GC 图谱 S1~S20 导入“中药指纹图谱相似度评价系统”2004A 版软件,确定共有特征峰 11 个,见图 2。通过与对照品保留时间对比,确定 4,8,11 号峰分别为芳樟醇、香叶醇、橙花叔醇。由于橙花叔醇(峰 11)峰面积大小适中,分离度最好且峰型最佳,故选择峰 11 为参照峰。共有峰的相对保留时间为 0.201,0.289,0.319,0.357,0.377,0.513,0.585,0.626,0.669,0.865,1.000,RSD 均 < 1.0%,符合相似度评价标准要求。对 20 批样品的特征图谱进行分析,采用平均数法计算,选定共有峰进行多点校正,自动匹配,匹配后的 20 批样品图,见图 3。各样品的相似度评价结果见表 1,说明各批鸡蛋花具有较高的均一性,能与红鸡蛋花进行区分。

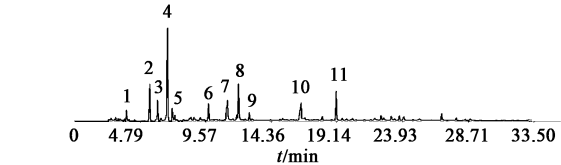


图 2 鸡蛋花中挥发性成分的 GC 特征峰
Fig. 2 GC characteristic spectrum of volatile ingredients in *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia*

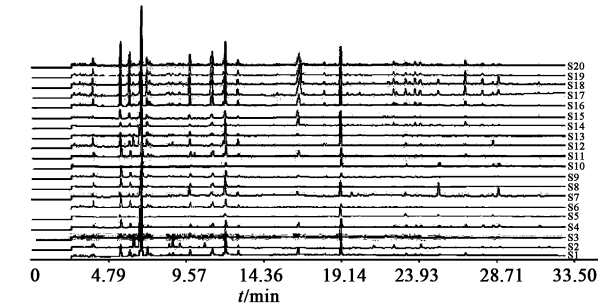
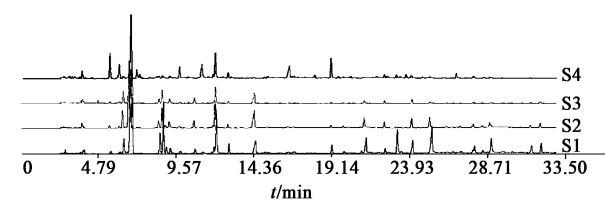


图 3 鸡蛋花中挥发性成分的 GC 特征谱
Fig. 3 GC characteristic spectra of volatile ingredients in 20 batches of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia*

建立的特征图谱可有效区分鸡蛋花及红鸡蛋花,见图 4。二者化学成分类别及含量差异可能会引起药效差异,故不应混用。

2.4 聚类分析 将 20 批鸡蛋花及 3 批红鸡蛋花的单位质量药材峰面积进行量化,得到 23×11 阶原数据矩阵,应用 SPSSv19.0 软件进行系统聚类分析,采用最近邻元素法,利用平方 Euclidean 距离作为度量标准。结果显示聚类分析将 23 批样品分为 2 类,红鸡蛋花 21,22,23 号聚为一类,这与相似度评价结果一致,见图 5。



S1. 样品 21; S2. 样品 22; S3. 样品 23; S4. 鸡蛋花

图 4 3 批红鸡蛋花 GC 与鸡蛋花对照谱的比较

Fig. 4 GC characteristic spectra of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia* and 3 batches of *P. rubra*

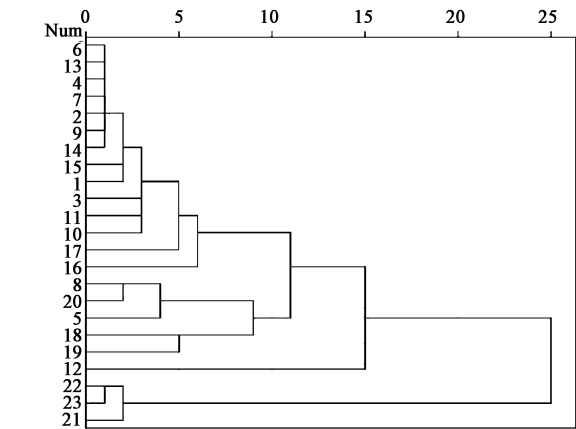


图 5 20 批鸡蛋花与 3 批红鸡蛋花的系统聚类分析

Fig. 5 Hierarchical cluster analysis of 20 batches of *Plumeria rubra* cv. *Acutifolia* and 3 batches of *P. rubra*

3 讨论

鸡蛋花与红鸡蛋花为近缘植物,可通过颜色及香气轻易区分二者鲜品,但二者干燥品无法通过花的颜色区分,本文通过富集样品中挥发性成分,重点比较二者挥发性成分的差异,建立特征图谱。相似度评价结果表明建立的鸡蛋花挥发性成分特征图谱可有效地区分二者,说明该方法专属性强,可作为鸡蛋花药材鉴别的有效手段。在相同色谱条件下,对 3 批自采的红鸡蛋花干燥品进行检测,考察鸡蛋花挥发性成分对照图谱与同属近缘植物的分辨能力,结果红鸡蛋花与鸡蛋花对照图谱的相似度分别为均 < 0.72,且色谱峰的数目、峰形等均有显著性差异,表明建立的特征图谱可较好地地区分鸡蛋花与原

种红鸡蛋花。此外,从相似度结果及图谱中均发现 21 号红鸡蛋花与其他 2 批样品有区别,可能是由于 21 号样为红鸡蛋花的一杂交品种引起的,相对于 22,23 号样品,21 号花色较鲜艳,花朵直径较小。

在鸡蛋花的药效成分尚未完全明确的情况下,建立特征图谱是一种有效的质量控制手段,可解决实际生产问题。不同批次鸡蛋花中挥发性化学成分的含量在特征图谱中显示出一定差异性,表明产地及储藏时间可能会影响鸡蛋花的品质。鸡蛋花虽已被证实无毒,但鉴于夹竹桃科植物多数有毒,且关于红鸡蛋花及其他一些栽培变种的毒性并未见相关报道,故关于红鸡蛋花及其他一些栽培变种的使用时应注意。此外,鸡蛋花的树皮、叶子等已被证实具有抑菌、抗肿瘤、促进伤口愈合等功效^[5-7],具有很大的潜在药用价值。

[参考文献]

[1] 广东省食品药品监督管理局. 广东省中药材标准[S]. 广州:广东科技出版社,2004:121-122.

[2] 卜晓东,张永和,武田修己,等. 鸡蛋花的鉴别研究[J]. 中药材,2008,31(6):834-836.

[3] Tohar N, Mohd M A, Jantan I, et al. A comparative study of the essential oils of the genus *Plumeria* Linn. from Malaysia[J]. Flavour Frag J, 2006, 21(6):859-863.

[4] 高则睿,黄静,刘劲芸,等. 鸡蛋花挥发性成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(19):10067-10070.

[5] Chomnawang M T, Trinapakul C, Gritsanapan W. *In vitro* antagonococcal activities of *Coscinium fenestratum* stem extract[J]. J Ethnopharmacol, 2009, 122(3):445-449.

[6] Kardono L B, Tsauri S, Padmawinata K, et al. Cytotoxic constituents of the bark of *Plumeria rubra* collected in Indonesia[J]. J Nat Prod, 1990, 53(6):1447-1455.

[7] Chand I, Sarma U, Basu S K, et al. A protease isolated from the latex of *Plumeria rubra* Linn (Apocynaceae) 2: Anti-inflammatory and wound-healing activities[J]. Trop J Pharm Res, 2011, 10(6):755-760.

[责任编辑 刘德文]