

中图分类号: R917; R927 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)22-0069-05  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.22.015



# 基于静态顶空法、超声提取法和水蒸气蒸馏法的防瘟九味香囊挥发性成分提取效果分析\*

万诗雨<sup>1,2</sup>, 陈琴华<sup>2</sup>, 杨洋<sup>2</sup>, 梁奇<sup>1</sup>, 梅全喜<sup>1</sup>

(1. 广州中医药大学第七临床医学院, 广东 深圳 518100; 2. 广东省深圳市宝安纯中医治疗医院中药临床药学重点实验室, 广东 深圳 518101)

**摘要:**目的 比较静态顶空法、超声提取法和水蒸气蒸馏法对防瘟九味香囊挥发性成分的提取效果。方法 采用超声提取法和水蒸气蒸馏法制备供试品溶液, 使用气相色谱质谱联用(GC-MS)法对3种提取物进行定性分析; 采用峰面积归一化法确定各化合物的相对含量。结果 3种提取物中共鉴定出挥发性成分51种, 其中水蒸气蒸馏提取物20种, 静态顶空进样样品28种, 超声提取物26种, 共有成分6种。结论 3种提取物的挥发性成分均以龙脑类含量较高。超声提取法提取效率较高, 静态顶空法可提取沸点相对较低的挥发性成分, 水蒸气蒸馏法测高挥发性成分效果较好(含量较高), 3种方法综合使用可全面分析防瘟九味香囊的挥发性成分。

**关键词:** 防瘟九味香囊; 气相色谱质谱联用法; 静态顶空法; 超声提取法; 水蒸气蒸馏法

## Extraction Effect of Volatile Components in Fangwen Jiuwei Sachets by Static Headspace, Ultrasonic Extraction and Hydrodistillation Methods

WAN Shiyu<sup>1,2</sup>, CHEN Qinhu<sup>2</sup>, YANG Yang<sup>2</sup>, LIANG Qi<sup>1</sup>, MEI Quanxi<sup>1</sup>

(1. The Seventh School of Clinical Medicine, Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong, China 518100; 2. Key Laboratory of TCM Clinical Pharmacy, Shenzhen Baoan Authentic TCM Therapy Hospital, Shenzhen, Guangdong, China 518101)

**Abstract: Objective** To compare the extraction effect of volatile components in Fangwen Jiuwei Sachets by the static headspace, ultrasonic extraction and hydrodistillation methods. **Methods** The ultrasonic extraction and hydrodistillation methods were used to prepare the test solution, and the gas chromatography - mass spectrometry (GC - MS) method was used to qualitatively analyze the three extracts. The peak area normalization method was used to determine the relative content of each compound. **Results** A total of 51 volatile components were identified in the three extracts, including 20 from the extracts by hydrodistillation, 28 from the samples injected by static headspace, 26 from the extracts by ultrasonic extraction, and six were identified as the common components. **Conclusion** The volatile components with high content in the three extracts are all borneol. The ultrasonic extraction method has a high extraction efficiency, the static headspace method can extract the volatile components with relatively low boiling points, and the hydrodistillation method has a better determination on highly - volatile components (with higher content). The comprehensive use of the above methods can better analyze the volatile components of Fangwen Jiuwei Sachets.

**Key words:** Fangwen Jiuwei Sachets; GC - MS; static headspace method; ultrasonic extraction method; hydrodistillation method

防瘟九味香囊由艾叶、苍术、广藿香、八角、薄荷等中药材组方。艾叶为菊科植物艾 *Artemisia argyi* Lévl. et Vant. 的干燥叶<sup>[1]</sup>, 有抑菌、抗病毒、增强机体免疫功能和抵抗力等作用<sup>[2]</sup>, 历代医家常以其防治瘟疫<sup>[3]</sup>。因此, 方中以艾叶为君药, 与苍术、广藿香配伍, 内可化湿和中, 外可宣化湿浊, 再加以八角、薄荷等其他芳香类药物, 可起到较好的芳香辟秽、驱浊解毒作用。中药香囊源自中医衣冠疗法, 是将药物佩戴在衣物或鞋帽中, 通过皮肤和呼吸吸收香囊的挥发性物质, 从而发挥其防病治病作用<sup>[4]</sup>。明代缪希雍《本草经疏》提到, “芳香之气, 能避一切恶邪”<sup>[5]</sup>。现代研究表明, 药物香囊可用于增

强免疫力及预防多种呼吸道疾病<sup>[6-7]</sup>。这些香囊发挥作用的主要物质是芳香性中药材中的挥发性化合物。为准确掌握上述挥发性物质的构成, 本研究中通过静态顶空法、超声提取法和传统的水蒸气蒸馏法结合气相色谱质谱联用(GC-MS)对防瘟九味香囊的挥发性成分进行了全面分析, 且对3种方法进行了比较。现报道如下。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器与试剂

仪器: Agilent7000D-8890型三重四极杆GC-MS仪(美国Agilent公司, 配有7697A顶空进样器); ME104E型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公

\*基金项目: 广东省深圳市医疗卫生三名工程项目[SZZYSM202206005]。

第一作者: 万诗雨, 女, 在读硕士研究生, 研究方向为地产药材药效物质基础与作用机制, (电子信箱)wanshiyuaaa@163.com。

通信作者: 梅全喜, 男, 大学本科, 教授, 主任中药师, 研究方向为地产道地药材及中药临床药学, (电子信箱)meiquanxi@163.com。

司,精度为0.1 mg);赛多利斯 arium® pro VF 纯水机(赛多利斯 <上海> 贸易有限公司);DA 型数控超声波清洗器(东莞市科桥超声波设备有限公司);磨口挥发油提取器(海宁市新华医疗器械厂);套式恒温器(海宁市新华医疗器械厂)。

试药:防瘟九味香囊[含药材艾叶(批号为20220512),苍术(批号为C22208139),广藿香(批号为20220501),肉桂(批号为220601),丁香(批号为220501),八角茴香(批号为20220301),白芷(批号为220201),薄荷(批号为20220401),冰片(批号为20220502),深圳市宝安纯中医治疗医院提供],药材经广州中医药大学第七临床医学院梅全喜教授鉴定均为正品;正己烷为色谱级,水为纯化水。

## 1.2 方法

### 1.2.1 供试品溶液制备

超声提取法:取样品粉末约1.2 g,精密称定,置具塞三角烧瓶中,加入正己烷18 mL(生药量约为0.067 g/mL),密塞,摇匀,称定质量,超声(功率200 W,频率40 kHz)处理30 min,取出,放冷至室温,再次称定质量,用正己烷补足减失的质量,再次摇匀,取上清液,经0.22 μm 微孔滤膜滤过,取续滤液,即得。

水蒸气蒸馏法:取样品粉末40 g,装入1 000 mL的圆底烧瓶中,加入去离子水400 mL,密封浸泡1 h,后连接挥发油提取装置,置电热套中缓缓加热至微沸,保持微沸6 h,直至测定器中挥发油含量不再增加,停止加热,室温静置1 h,打开活塞,收集上层挥发油,得到淡黄色透明浓烈气味油状液体;加入适量无水硫酸钠干燥,密封过夜,第2日13 000 r/min离心10 min,收集上层油层,得挥发油粗品0.198 g,用正己烷稀释至10 mL,即得。

### 1.2.2 顶空进样条件

加热箱温度110 °C,定量环温度120 °C,传输线温度130 °C,样品瓶平衡30 min,进样持续时间0.50 min,定量环体积1 mL。

### 1.2.3 GC-MS 分析条件

色谱条件:AgilentHP-5MS毛细管柱(30 m×0.25 mm, 0.25 μm),载气为高纯氦气;分流进样,分流比5:1,流

速为1.0 mL/min,进样量为1 μL;程序升温,初始温度60 °C,保持2 min,以4 °C/min的速率升温至90 °C,保持2 min,以3 °C/min的速率升温至117 °C,保持2 min,再以5 °C/min的速率升温至137 °C,保持2 min,以10 °C/min的速率升温至200 °C,保持2 min,以30 °C/min的速率升温至250 °C,保持2 min,后运行温度260 °C,后运行时间3 min。

质谱条件:溶剂延迟5 min,电子轰击(EI)离子源,电子能量70 eV;四极杆温度150 °C,离子源温度230 °C;采用Scan全扫描,扫描范围m/z 40~500;检索库为美国国家标准与技术研究院(NIST)20.L谱库。

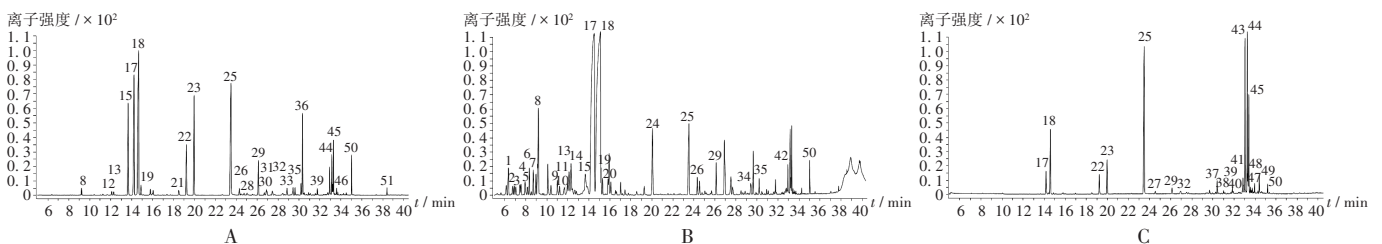
## 2 结果

### 2.1 样品挥发性成分鉴定

成分鉴定与相对含量测定:采用GC-MS法对样品挥发性物质总离子流图(见图1)进行分析和处理,根据对照的质谱图,采用NIST 20.L谱库对各峰质谱图进行检索,并查阅相关资料及参考文献[8-12]确定各色谱峰代表的化学成分,以峰面积归一化法计算出不同方法下各组分的相对百分含量,鉴定的化学成分。结果见表1(-为未检测到;SH为静态顶空法,UE为超声提取法,HD为水蒸气蒸馏法)。

### 2.2 样品挥发性成分定性比较与分析

3种提取物中共检出51种挥发性成分,包括萜类、醇类、萜烯类和其他类化学成分;水蒸气蒸馏法检出20种(占挥发性成分总量的92.52%),含量较高(>2%,下同)的主要有丁香酚(25.71%)、β-桉叶醇(15.04%)、(1S,6S,7R,10S)-10-Isothiocyano-4-cadinene(14.69%)、百秋李醇(9.11%)、左旋龙脑(8.93%)、草蒿脑(4.81%)、异龙脑(3.20%)、桂皮醛(2.68%);静态顶空法检出28种(占挥发性成分总量的79.03%),含量较高的主要有左旋龙脑(30.12%)、异龙脑(21.53%)、丁香酚(3.22%)、桉油精(3.05%)、p-Menth-2-en-7-ol,trans-(2.82%)、1,4-Methanocycloocta[d]pyridazine,1,4,4a,5,6,9,10,10a-octahydro-11,11-dimethyl-(1.alpha.,4.alpha.,4a.alpha.,10a.alpha.)-(2.50%);超声提取法检出26种(占挥发



A. 超声提取法 B. 静态顶空法 C. 水蒸气蒸馏法

图1 样品挥发性成分总离子流图

A. Ultrasonic extraction method B. Static headspace method C. Hydrodistillation method

Fig. 1 Total ion chromatograms of volatile components in the samples

表1 样品挥发性成分及其相对含量

Tab. 1 Volatile components in samples and their relative contents

序号	化学成分	分子式	相对分子质量	基峰	相对百分含量(%)			可靠程度(%)		
					SH	UE	HD	SH	UE	HD
1	eucalyptol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	154	3.05	0.5	-	82.52	81.58	-
2	camphor	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	95	1.50	9.45	-	-	82.73	-
3	isoborneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	95	21.53	13.83	3.20	-	80.10	81.34
4	(-)-borneol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	95	30.12	20.72	8.93	80.46	80.01	80.09
5	2-isopropyl-5-methylcyclohexyl methylphosphonofluoridate	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> FO <sub>2</sub> P	217	95	0.48	0.78	-	-	91.61	-
6	1,3,2-benzodioxaborole,2-hydroxy	C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	136	135	-	0.51	-	-	80.54	-
7	eugenol	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	172	164	3.22	14.36	25.71	-	98.82	90.07
8	(1S,6S,7R,10S)-10-isothiocyanato-4-cadinene	C <sub>10</sub> H <sub>25</sub> NS	263	161	0.43	0.91	-	-	86.58	-
9	seychellene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	122	-	0.34	0.6	-	82.69	82.92
10	acetylisoegenol	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	206	164	-	5.78	-	-	82.90	-
11	eudesmol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	149	-	2.04	15.04	-	81.44	82.48
12	patchouli alcohol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	222	1.32	2.98	9.11	-	80.95	82.31
13	atractylodin	C <sub>13</sub> H <sub>10</sub> O	182	182	0.57	1.78	0.76	-	80.75	80.79
14	fenchol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	81	1.54	0.32	-	-	80.78	-
15	methyl 4-methylcyclohexyl propylphosphonate (isomer 2)	C <sub>11</sub> H <sub>23</sub> O <sub>3</sub> P	261	139	-	0.35	-	-	80.97	-
16	estragole	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O	148	148	-	9.47	4.81	-	80.08	82.59
17	cinnamic aldehyde	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O	132	131	-	4.74	2.68	-	83.80	85.17
18	(1s,4s,4aS)-1-isopropyl-4,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,5-hexahydronaphthalene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	161	0.57	0.56	-	81.78	80.80	-
19	kessane	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	108	-	0.24	-	-	83.75	-
20	1,4-methanocycloocta[d]pyridazine,1,4,4a,5,6,9,10,10a-octahydro-11,11-dimethyl-(1.alpha,4.alpha,4a.alpha,10a.alpha)	C <sub>15</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub>	204	133	2.50	2.84	0.76	85.62	90.61	83.68
21	1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-(E,E)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	121	-	0.22	-	-	87.61	-
22	alpha-guaiene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	147	-	0.45	-	-	82.04	-
23	cedryl acetate	C <sub>17</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	264	105	-	0.6	-	-	88.58	-
24	1-[3-(2,6,6-trimethyl-cyclohex-2-enyl)-4,5-dihydro-3h-pyrazol-4-yl]-ethanone	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O	234	93	-	0.35	0.69	-	84.91	88.53
25	1-(3-methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O	202	134	-	0.37	-	-	80.01	-
26	atractylenolide i	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	230	215	-	0.27	-	-	80.42	-
27	3,5-methanocyclopentapyrazole,3,3a,4,5,6,6a-hexahydro-3a,4,4-trimethyl	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub>	188	93	1.08	-	-	82.88	-	-
28	2,4-thujadiene	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	91	0.35	-	-	80.72	-	-
29	benzoyl isothiocyanate	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> NOS	163	105	0.31	-	-	93.21	-	-
30	dimethyl (1-diazo-2-oxopropyl)phosphonate	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> N <sub>2</sub> O <sub>4</sub> P	192	109	0.54	-	-	80.50	-	-
31	yomogi alcohol a	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> BNO <sub>3</sub>	209	81	0.30	-	-	81.39	-	-
32	cyclopropane,trimethyl(2-methyl-1-propenylidene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	93	0.77	-	-	80.00	-	-
33	p-cymene	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	119	0.68	-	-	82.31	-	-
34	silicon tetrafluoride	F <sub>4</sub> Si	104	85	0.56	-	-	80.01	-	-
35	4-thujanol	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	93	0.43	-	-	84.49	-	-
36	2,3-diazabicyclo[2.2.1]hept-2-ene,7-isopropyl	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub>	138	95	0.51	-	-	86.70	-	-
37	3-cyclopentene-1-ethanol,2,2,4-trimethyl	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	95	1.20	-	-	80.51	-	-
38	cyclododecyne	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>	164	95	0.63	-	-	82.72	-	-
39	2-Carene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	93	0.52	-	-	85.25	-	-
40	p-Menth-2-en-7-ol,trans	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	95	2.82	-	-	80.12	-	-
41	Aciphyllene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	189	0.31	-	-	82.95	-	-
42	1,4-methano-1H-cyclohepta[d]pyridazine,4,4a,5,6,7,8,9,9a-octahydro-10,10-dimethyl	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> N <sub>2</sub>	176	149	1.19	-	-	84.95	-	-

续表1 样品挥发性成分及其相对含量  
Continued Tab. 1 Volatile components in samples and their relative contents

序号	化学成分	分子式	相对分子质量	基峰	相对百分含量(%)			可靠程度(%)		
					SH	UE	HD	SH	UE	HD
43	valencene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	189	-	-	0.37	-	-	82.93
44	acetyl eugenol	C <sub>12</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub>	206	164	-	-	1.37	-	-	83.23
45	alpha - elemol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	161	-	-	0.34	-	-	83.06
46	6-(1-Hydroxymethylvinyl)-4,8a-dimethyl-3,5,6,7,8,8a-hexahydro-1H-naphthalen-2-one	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	234	153	-	-	0.29	-	-	80.50
47	undeca-3,4-diene-2,10-dione,5,6,6-trimethyl	C <sub>14</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	222	120	-	-	0.27	-	-	80.81
48	(1S,6S,7R,10S)-10-Isothiocyanato-4-cadinene	C <sub>16</sub> H <sub>25</sub> NS	263	161	-	-	14.69	-	-	86.48
49	1-(3-methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> O	202	134	-	-	0.49	-	-	80.10
50	2',3',4'-trimethoxyacetophenone	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub>	210	195	-	-	0.84	-	-	81.19
51	pogostone	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	224	168	-	-	1.57	-	-	82.33

性总量的94.76%),含量较高的主要有左旋龙脑(20.72%)、丁香酚(14.36%)、异龙脑(13.83%)、反式茴香脑(9.47%)、樟脑(9.45%)、乙酰基异丁香酚(5.78%)、桂皮醛(4.74%)、百秋李醇(2.98%)、1,4-Methanocycloocta[d]pyridazine,1,4,4a,5,6,9,10,10a-octahydro-11,11-dimethyl-,(1.alpha,4.alpha,4a.alpha,10a.alpha)-(2.84%)、β-桉叶醇(2.04%)。对比得6种共有化合物,分别为左旋龙脑、异龙脑、丁香酚、1,4-Methanocycloocta[d]pyridazine,1,4,4a,5,6,9,10,10alpha-octahydro-11,11-dimethyl-(1-alpha,4-alpha,4a.alpha,10-alpha)-、百秋李醇、苍术素。

### 3 讨论

#### 3.1 GC-MS 条件的优化

预试验中考察了1:5、1:10、1:20分流比,结果分流比为1:5时响应较好,基线较平稳,故选用;还考察了不同进样口温度(230℃、250℃、280℃),发现对样品色谱峰影响不大,故选择原方法(250℃)进样分析;同时还考察了HP-5MS和DB-5色谱柱,结果前者对样品挥发性成分的分离度较好,故选择。

#### 3.2 3种提取方法的比较

超声提取法利用超声波的空化作用、机械效应和热效应等加速有效物质的释放、扩散和溶解,大幅提高了提取效率,在多种中药材中均有应用,如长叶轮钟草果实、冬虫夏草挥发油成分的提取<sup>[13-14]</sup>;静态顶空法直接进样分析,未经过其他溶剂提取处理,分析出的化合物最多,但由于未经过任何前处理,所含杂质也较其他两种方法较多;而水蒸气蒸馏法是将含有挥发性成分的药材与水一起蒸馏,使其挥发性成分随着水蒸气一并流出,后经冷凝管分离挥发性成分的方法,适合提取具有挥发性的物质,提取挥发油的传统方法,适用范围较广,但与其他两种方法比较提取时间较长,所需样

品量也最多。比较3种方法提取的挥发性成分发现,静态顶空法提取沸点相对较低的挥发性成分(如桉油精、龙脑),水蒸气蒸馏法测高挥发性成分(如丁香酚、百秋李醇)效果较好(含量较高),挥发油得率为0.495%与文献<sup>[15]</sup>报道的结果一致。本研究在水蒸气蒸馏提取物中未检测出艾叶的主要成分桉油精,可能与水蒸气蒸馏耗时太长,致其在提取过程中大量挥发有关。3种方法提取后龙脑含量均较高(其为萜类化合物,主要存在于艾叶、冰片、薄荷的挥发油中,有抗菌、抗炎、开窍醒神等药理作用<sup>[16]</sup>)。3种提取物所鉴定的峰面积占总流出峰面积的79.03%~94.76%。

#### 3.3 方法评价

本研究中对3种不同提取方法及GC-MS检测结果进行分析,能更全面地分析防瘟九味香囊的挥发性成分,最大限度地建立更全面的样品挥发性成分GC-MS信息,可为课题组后期建立防瘟九味香囊质量标准提供参考,对样品的质量控制有重要意义。

#### 参考文献

- [1] 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: 91.
- [2] 杨洋, 梅全喜, 杨光义, 等. 艾叶在古今瘟疫防治中的研究与应用[J]. 时珍国医国药, 2020, 31(2): 438-441.
- [3] 梅全喜. 艾叶的研究与应用[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2017: 9.
- [4] 王婕, 张晓东, 鲍凤和. 衣冠疗法中药香囊的临床应用及机制研究进展[J]. 光明中医, 2022, 37(20): 3827-3829.
- [5] 谭艳云, 赵扬, 王文平, 等. 药用香囊浅谈[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(14): 6-7.
- [6] 廖伶冰, 唐梦霜, 汤朝淳, 等. 民族药香囊防治流感的研究概况[J]. 中国民族民间医药, 2022, 31(17): 69-72.
- [7] 黄俊, 王剑峰. 静态顶空-气相色谱/质谱分析“防感驱蚊”香囊中挥发性成分[J]. 广东化工, 2021, 48(5): 193-195.
- [8] 张婕, 许曼筠, 李美萍, 等. 顶空固相微萃取-气相色谱/质谱分析艾叶中的易挥发性成分[J]. 分析科学学报, 2017,