

内蒙和吉林产地马勃的对比分析

李小丽^{a,b} 刘宝峰^b 谢文兵^b 邓建成^{a*} 徐经纬^b

(^a湘潭大学化学学院,化学与应用教育部环境友好重点实验室 湘潭 411105;

^b中国科学院长春应用化学研究所 长春 130022)

摘要 采用扫描电子显微镜(SEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)和裂解-气质联用(Py-GCMS)从微观形貌、元素组成、主要类别及小分子的化学组成等方面对产自内蒙和吉林的马勃中药材直接进行原位分析,并对产自两地的马勃进行区分。SEM结果表明,内蒙马勃属于灰包科栓皮马勃属栓皮马勃;吉林马勃属于灰包科静灰球属长根静灰球菌。FTIR光谱显示,内蒙马勃在酰胺 I 带吸收峰 1636 cm^{-1} ,而吉林马勃的在 1654 cm^{-1} 。吉林马勃二阶导数红外光谱在 1625 cm^{-1} 有较强烈的吸收峰说明吉林马勃含芳香环骨架的化合物含量高于内蒙马勃,与 Py-GCMS 的结论中吉林马勃苯酚、对甲苯酚含量明显高于内蒙马勃相符。另外,Py-GCMS 结果可以分析出两地马勃的裂解成分及含量的差异。

关键词 扫描电子显微镜,傅里叶变换红外光谱,裂解-气质联用(Py-GCMS),马勃

中图分类号:O657.3; O657.6

文献标识码:A

文章编号:1000-0518(2012)04-0477-06

DOI:10.3724/SP.J.1095.2012.00139

马勃(*puffball*)属于药用真菌,它的孢子具有消肿、止血和解毒等功效,用于治疗咽喉肿痛及各种出血。硬皮马勃科和灰包科包含数十种不同的马勃,不同种的马勃药用效果也不一样。目前鉴别不同种的马勃主要是依靠它的形态特征和孢子显微特征^[1-4],在某些方面有一定局限性,如不能反映不同种马勃之间化学成分的差异。因此,需要一种或多种方法结合来鉴别和区分不同产地的马勃。红外光谱法的无损、快速和宜于推广等优点使其在中药鉴定领域具有较大的应用前景。二阶导数红外光谱使得红外光谱的分辨率以及谱图的识别能力有了进一步发展^[5-6],在这方面未见马勃的研究报道。裂解气质联用(Py-GCMS)^[7-8]因其预处理简单、分析速度快、信息量大等特点,有效地用于研究高聚物的单体、共聚单体间的连接情况、高聚物的热降解情况及其产物和微量添加剂的分析等方面,但单纯应用在中药指纹图谱方面的研究未见报道。本研究采用扫描电子显微镜(SEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)和裂解-气质联用(Py-GCMS),从微观形貌、主要类别及小分子的组成方面进行产地对比研究,为中药的快速鉴别提供依据。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

CDS Pyroprobe 5000 series 型热裂解仪(美国 CDS 公司);GC:6890N-MS:5975 型气相色谱质谱联用(美国 Aglient 公司);SIRION 200 型场发射扫描电子显微镜(美国 FEI 公司);Vertex 70 型傅里叶变换红外光谱仪(德国布鲁克公司)。

吉林马勃购于吉林省吉林大药房;内蒙马勃购于长春市吉深药店。

1.2 测试方法

1.2.1 扫描电子显微镜(SEM) 取自然干燥的马勃孢子粉末粘样镀膜,用扫描电子显微镜观察,对观察结果摄影记录。

1.2.2 红外光谱(FTIR) 取马勃孢子粉末适量,加入 KBr 研磨均匀,然后压片,进行 FTIR 测定。

1.2.3 裂解气质(Py-GCMS) 取马勃 0.2 mg 放入裂解器中,在 750 ℃下裂解 20 ms。分别在 400、500、600、700、750 和 800 ℃下裂解,然后进行 GC-MS 测定。

2 结果与讨论

2.1 扫描电子显微镜

内蒙和吉林马勃的 SEM 照片如图 1 所示。其中 A 和 B 为内蒙马勃不同放大倍率下的 SEM 照片, C 和 D 为吉林马勃的 SEM 照片。

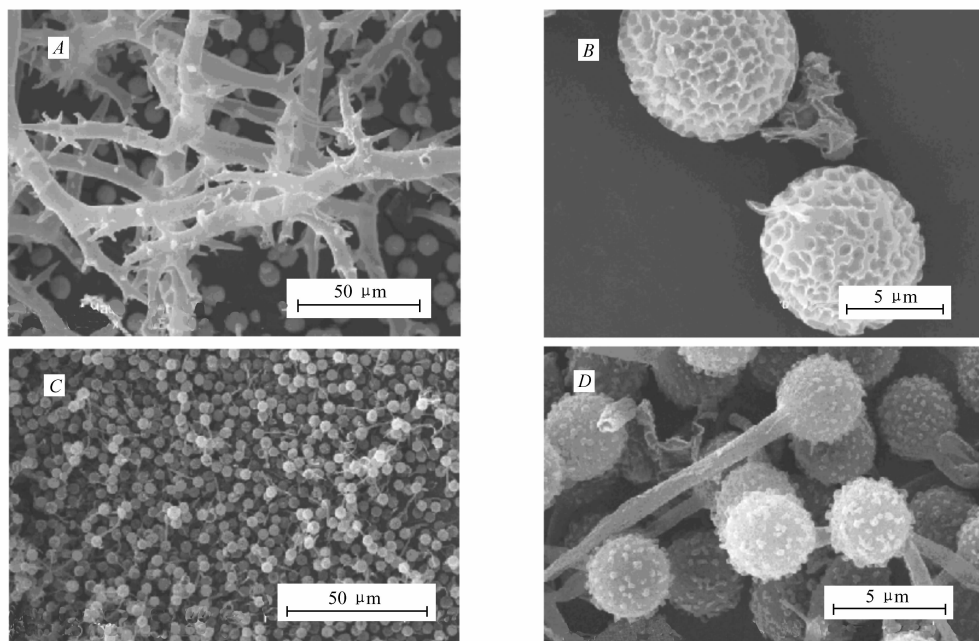


图 1 内蒙(A、B)和吉林(C、D)马勃扫描电子显微镜图像

Fig. 1 SEM images of *puffballs* from Inner Mongolia(A、B) and Jilin(C、D)

内蒙产马勃孢子为球型,直径 9.6 ~ 11.5 μm,孢子表面有大的蜂窝状纹饰,孢子无柄或具短柄;孢丝较粗,具树状分枝,并有纵多粗刺,主干粗一般与孢子直径相同。文献^[3,4]报道,属于灰包科栓皮马勃属栓皮马勃 *Mycenastrum corium*(guers.) Desv。

吉林产马勃孢子为卵球形,直径 4.5 ~ 5.5 μm,孢子表面可见较稀少的疣状突起,孢子柄长,圆柱形,直径 6 ~ 16.8 μm,孢丝有分枝,渐细,主干直径约 5 μm,属于灰包科静灰球属长根静灰球菌 *Bovistella sinansis* Lloyd。

2.2 红外光谱

2.2.1 一级红外光谱图 内蒙和吉林马勃的一级红外光谱见图 2。由图 2 谱线 a 可看出,3298 cm⁻¹为羟基的伸缩振动峰,1074 cm⁻¹为 C—O 伸缩振动产生的吸收峰,为马勃多糖的吸收;2926 cm⁻¹为亚甲基 C—H 反对称伸缩振动吸收峰,2856 cm⁻¹为亚甲基 C—H 对称伸缩振动吸收峰,1376 cm⁻¹为甲基的面内弯曲振动峰,为马勃的脂类化合物吸收;1636 cm⁻¹为蛋白质的酰胺 I 带吸收峰,1558 cm⁻¹为蛋白质的酰胺 II 带吸收峰。图 2 谱线 b 与 a 中峰

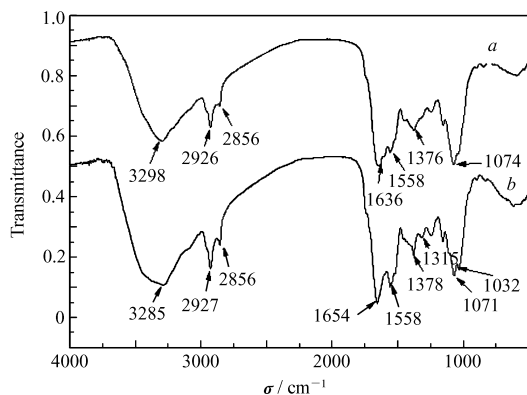


图 2 内蒙(a)和吉林(b)马勃的红外光谱

Fig. 2 FTIR spectra of *puffballs* from Inner Mongolia (a) and Jilin(b)

的个数基本相同,只是图2谱线*b*中的峰更尖锐一些,可能是由于二者样品用量不同所致。综上所述,在两地马勃的红外光谱上可以直接看到脂肪、蛋白质和糖类3种主要成分的特征峰。

内蒙和吉林马勃最明显的区别为蛋白质的酰胺 I 带吸收峰,内蒙马勃在 1636 cm^{-1} ,吉林马勃在 1654 cm^{-1} ,二者出峰位置偏移较大,可能是相邻的原子或基团通过电子效应、空间效应等对相应基团力常数的影响不同,使其振动频率发生位移。在高波数的羟基吸收峰附近,内蒙马勃在 3298 cm^{-1} 、吉林马勃在 3285 cm^{-1} 有吸收。另外,吉林马勃在 1032 cm^{-1} 处吸收较明显,内蒙马勃则不明显。

2.2.2 马勃的二阶导数红外光谱 传统红外光谱是对混合物进行鉴别的基础,构成一级鉴别。二阶导数红外光谱具有更高的分辨率,可以对很多红外光谱上重叠的谱峰进行分辨,确定谱峰的位置及数目,适用于相似度较大的药材的鉴别,构成二级鉴别。

内蒙与吉林马勃的二阶导数红外光谱图 $3500\sim2500\text{ cm}^{-1}$ 和 $1800\sim1000\text{ cm}^{-1}$ 如图3A和3B。内蒙马勃原一级红外光谱中只有 2927 和 2856 cm^{-1} 2个亚甲基的吸收峰比较明显,由于二阶导数光谱上吸收峰变窄,在图3A中可以清楚地看到,亚甲基 2925 和 2853 cm^{-1} 与甲基 2959 和 2873 cm^{-1} 的吸收峰,并且可以明显看到 3009 cm^{-1} 为不饱和 C—H 伸缩振动吸收峰。

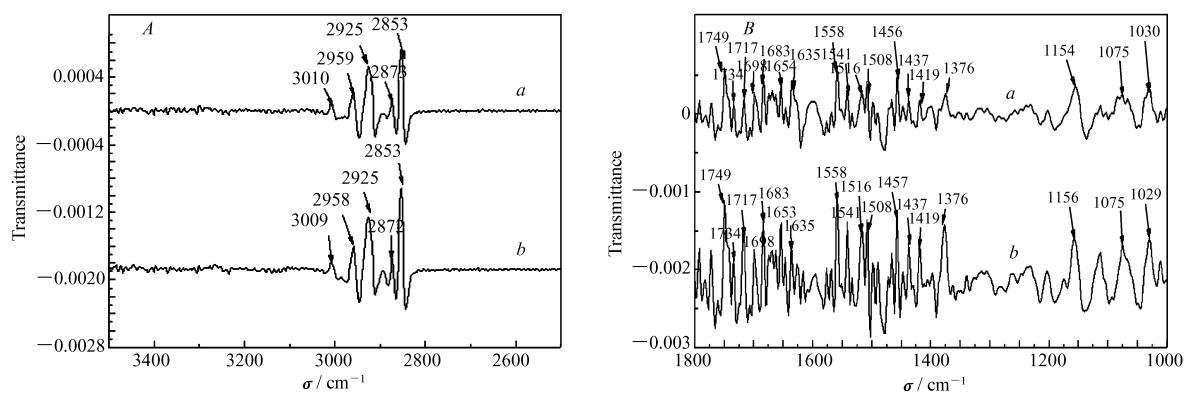


图3 内蒙(a)和吉林(b)马勃二阶导数红外光谱
Fig. 3 The second derivative FTIR spectra of *puffballs* from Inner Mongolia (a) and Jilin (b)

图3B显示, 1749 、 1734 、 1717 、 1698 和 1683 cm^{-1} 为脂类物质的羰基 (C=O) 伸缩振动吸收峰。从峰强度看,二级谱中内蒙马勃蛋白质的酰胺 I 带吸收峰应在 1635 cm^{-1} ,吉林马勃在 1653 cm^{-1} ,与一级谱图结论一致。 1558 cm^{-1} 为蛋白质的酰胺 II 带吸收峰。 1376 cm^{-1} 是 C—H 弯曲振动吸收峰, $1300\sim950\text{ cm}^{-1}$ 主要为各类 C—O 伸缩振动吸收峰,此区域的吸收峰主要在 1154 、 1075 和 1030 cm^{-1} ,其为多糖的叠加吸收带。

1620 和 1510 cm^{-1} 附近为芳香环骨架振动吸收峰,吉林马勃的二阶红外光谱在 1625 cm^{-1} 有较明显的吸收峰,而内蒙马勃则不明显,说明吉林马勃含有芳香环骨架的化合物含量高于内蒙马勃,Py-GCMS的结论中吉林马勃中苯酚、对甲苯酚含量明显高于内蒙马勃与之相符。在多糖的叠加吸收带 $1300\sim950\text{ cm}^{-1}$ 区域的吸收峰的形状有较大差别。内蒙马勃吸收带宽而多,而吉林马勃吸收带较窄。为内蒙和吉林马勃多糖含量差异较大所致。

2.3 裂解气质 (Py-GCMS)

实验结果表明, 400 、 500 和 $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下在 GC-MS 上未检测到明显的组分。 700 和 $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的 GC-MS 图谱相似,故选 $750\text{ }^{\circ}\text{C}$ 进行不同产地 Py-GCMS 指纹图谱的研究。内蒙和吉林马勃的 Py-GCMS 图谱如图4所示。内蒙和吉林马勃的 GCMS 结果如表1所示。

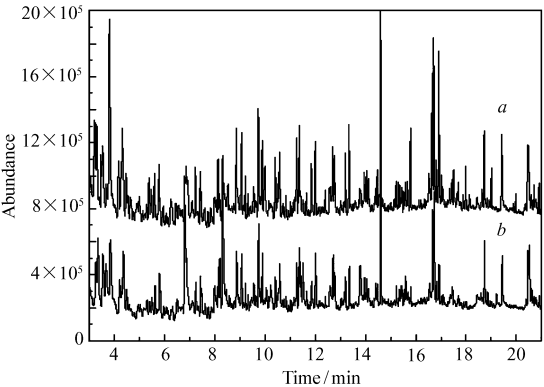
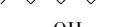
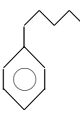
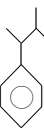
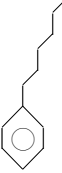
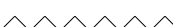


图4 马勃的总离子流色谱图
Fig. 4 Total ion chromatograms of *puffballs* by Py-GCMS
a. Inner Mongolia; b. Jilin

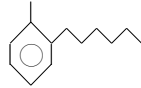
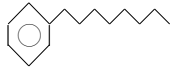
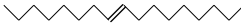
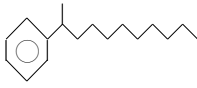
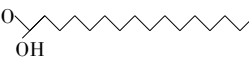
表 1 马勃的 Py-GCMS 分析结果

Table 1 Analytical results of *puffballs* by Py-GCMS

No.	Compound	Formula	MW	Structure	Relative content/%	
					Inner Mongolia	Jilin
1	1-Heptene	C ₇ H ₁₄	98		6.16	5.30
2	Heptane	C ₇ H ₁₆	100		5.68	5.52
3	Pyridine	C ₅ H ₅ N	79		2.68	0.13
4	1-Octene	C ₈ H ₁₆	112		2.90	2.91
5	Octane	C ₈ H ₁₈	114		6.09	5.70
6	1-Nonene	C ₉ H ₁₈	126		2.12	1.20
7	Nonane	C ₉ H ₂₀	128		1.66	2.86
8	Phenol	C ₆ H ₆ O	94		2.22	8.12
9	1-Decene	C ₁₀ H ₂₀	140		2.10	2.08
10	Decane	C ₁₀ H ₂₂	142		1.65	1.60
11	Butyl-benzene	C ₁₀ H ₁₄	134		3.02	2.45
12	4-Methyl-phenol	C ₇ H ₈ O	108		6.52	12.48
13	1-Undecene	C ₁₁ H ₂₂	154		2.62	2.34
14	Undecane	C ₁₁ H ₂₄	156		1.66	0.51
15	(<i>E</i>)-5-Undecene-	C ₁₁ H ₂₂	154		1.73	1.56
16	Pentyl-benzene	C ₁₁ H ₁₆	148		2.60	2.36
17	1,2-Dimethylpropyl-benzene	C ₁₁ H ₁₆	148		2.23	1.62
18	1-Dodecene	C ₁₂ H ₂₄	168		2.70	2.14
19	Dodecane	C ₁₂ H ₂₆	170		3.53	2.12
20	Hexyl-benzene	C ₁₂ H ₁₈	162		2.78	2.49
21	(1,3-dimethylbutyl)-benzene	C ₁₂ H ₁₈	162		3.38	2.68
22	Indole	C ₈ H ₇ N	117		1.12	1.27
23	2-Methyl-naphthalene	C ₁₁ H ₁₀	142		1.10	0.57
24	1-Tridecene	C ₁₃ H ₂₆	182		2.00	1.63
25	Tridecane	C ₁₃ H ₂₈	184		2.25	2.48

Continued on next page

continued from previous page

No.	Compound	Formula	MW	Structure	Relative content/%	
					Inner Mongolia	Jilin
26	1-Methyl-2- <i>n</i> -hexylbenzene	C ₁₃ H ₂₀	176		2.04	1.76
27	Tetradecane	C ₁₄ H ₃₀	198		2.59	1.80
28	Octylbenzene	C ₁₄ H ₂₂	190		1.23	0.95
29	Pentadecane	C ₁₅ H ₃₂	212		5.29	3.92
30	8-Heptadecene	C ₁₇ H ₃₄	238		4.10	3.57
31	1-Methyldecyl-benzene	C ₁₇ H ₂₈	232		1.84	1.96
32	Heptadecane	C ₁₇ H ₃₆	240		4.07	1.41
33	Heptadecanenitrile	C ₁₇ H ₃₃ N	251		0.60	0.93
34	Nonadecane	C ₁₉ H ₄₀	268		1.07	0
35	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256		2.29	2.22
36	Oleanitrile	C ₁₈ H ₃₃ N	263		2.22	4.10

由表1可以看出,内蒙和吉林马勃主要含有烷烃类、烯烃类、苯酚类和烷基取代苯类、腈类等。烷烃类:庚烷、辛烷、壬烷、癸烷、十一烷、十二烷、十三烷、十四烷、十五烷。烯烃类:1-庚烯、1-辛烯、1-壬烯、1-癸烯、1-十一烯、1-十二烯、8-十七烯。烷基取代苯类:苯丁烷、苯戊烷、苯己烷、苯辛烷。苯酚类:苯酚、对甲苯酚。

从图4可以看出,内蒙和吉林马勃的化学组分基本相同,但含量有所差别。如内蒙马勃中吡啶、十七烷等含量明显高于吉林马勃,且十九烷仅存在于内蒙马勃,而吉林马勃中苯酚、对甲苯酚含量明显高于内蒙马勃。

3 结 论

采用扫描电子显微镜(SEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)和裂解-气质联用(Py-GCMS)对产自内蒙和吉林的马勃中药材直接进行原位分析,结果表明,Py-GCMS有一定的潜在优势,可以看出小分子组成上的差别。此方法为中药指纹图谱的进一步研究提供了依据。

参 考 文 献

[1] DING Yonghui. Herbological Study of “Mabo”[J]. *J Chinese Med Mater*,1995,**18**(9):476-478(in Chinese).
丁永辉. 中药马勃的本草考证[J]. *中药材*,1995,**18**(9):476-478.

[2] ZHAO Huizhen,XU Yanyan,FU Xiaoyan,*et al.* The Progress of Food and Medical on Values of *Puff-balls*[J]. *Microbiol Chin*,2007,**34**(2):367-369(in Chinese).
赵会珍,胥艳艳,付晓燕,等. 马勃的食药两用价值及其研究进展[J]. *微生物学通报*,2007,**34**(2):367-369.

[3] LI Chengxian. Differentiation Between *Lycoperdon* and Confusion Herbs[J]. *Guiding J Tradit Chinese Med Pharmacol*, 2003,**9**(9):36(in Chinese).
李成先. 马勃及其混淆品的鉴别[J]. *中医药导报*,2003,**9**(9):36.

[4] JIN Zhenqian. Microscopical Chatacteristics of *Puffballs*[J]. *China Pharm*,2003,**12**(9):58-59(in Chinese).
金珍钱. 真伪马勃的显微鉴别[J]. *中国药业*,2003,**12**(9):58-59.

[5] ZHANG Hongmei,GUO Xihua. Analysis of *Belamcanda Chinensis* Quality by FTIR[J]. *Chinese J Spectrosc Lab*,2008,**25**(4):609-610(in Chinese).
张红梅,郭西华. 应用红外光谱法鉴定中药材射干质量[J]. *光谱实验室*,2008,**25**(4):609-610.

[6] TIAN Jinguo,ZHU Wenrong,REN Jian,*et al.* Study on IR Fingerprint of 13 Kinds of Chinese Medicinal Granules[J].

Chinese Tradit Pat Med, 2004, **26**(7): 517-521 (in Chinese).

田进国, 朱文荣, 任健, 等. 茯苓、党参、重楼等 13 种中药配方颗粒红外指纹图谱的研究[J]. *中成药*, 2004, **26**(7): 517-521.

- [7] DING Yi, WU Guosheng, LIU Xiaoying. Analysis of Essential Components from Clove by Py-GC-MS[J]. *Chinese J Biochem Pharm*, 2003, **24**(1): 36-37 (in Chinese).

丁毅, 吴国胜, 刘晓颖. 用裂解气相色谱-质谱法分析丁香油中的成分[J]. *中国生化药物杂志*, 2003, **24**(1): 36-37.

- [8] LIU Yong, YANG Changzhi, KANG Qinghe. Determination of Trichlorfon Residues in Foodstuffs of Animal Origin by Pyrolysis Gas Chromatography[J]. *Chinese J Anal Lab*, 2008, **27**(2): 119-122 (in Chinese).

刘永, 杨长志, 康庆贺. 热裂解气相色谱法测定动物源性食品中敌百虫残留量[J]. *分析试验室*, 2008, **27**(2): 119-122.

The Contrastive Analysis of *Puffballs* Produced from Inner Mongolia and Jilin

LI Xiaoli^{a,b}, LIU Baofeng^b, XIE Wenbing^b, DENG Jiancheng^{a*}, XU Jingwei^b

(^aCollege of Chemistry, Xiangtan University, Key Laboratory of Environmentally

Friendly Chemistry and Applications of Ministry of Education, Xiangtan 411105, China;

^bChangchun Institute of Applied Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130022, China)

Abstract To identify and analyze *puffballs* from Inner Mongolia and Jilin *in situ*, the SEM, FTIR and pyrolysis gas chromatography mass spectrometry (Py-GCMS) were used for the analysis of the microstructure, elemental composition, main category and chemical composition of small molecules, *etc.* The SEM results indicated that *puffball* from Inner Mongolia was *Mycenastrum corium* (guers.) Desv but from Jilin was *Bovistella radicata* (Mont.) Pat. The FTIR spectra showed that the absorptions of amide I bands of proteins of *puffball* from Inner Mongolia and Jilin were at 1636 cm⁻¹ and 1654 cm⁻¹, respectively. The second derivative FTIR spectrum of *puffball* from Jilin had stronger absorption at 1625 cm⁻¹ suggesting that it contained more aromatic compounds, which was in accordance with the results of Py-GCMS that the contents of phenol and *p*-methylphenol from Jilin were apparently higher than those from Inner Mongolia. In addition, the Py-GCMS results showed the differences in the pyrolysis compositions and contents between two places of origin of *puffballs*.

Keywords scanning electron microscope, Fourier transform infrared spectroscopy, pyrolysis-gas chromatography mass spectrometer, *puffball*