

固相微萃取-气质联用分析贵州沙姜挥发性成分

罗静, 吴迪, 钟永科

(遵义医学院药学院, 贵州遵义 563000)

摘要: 本文采用固相微萃取-气质联用技术分析了贵州沙姜的挥发性成分, 同时, 采用相应技术及傅立叶变换红外将所得主要成分与广西沙姜的成分进行了比较。结果发现: 贵州沙姜的挥发性成分不同于广西沙姜, 主要为爱草脑, 其次是 2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萹酮和塞舌尔烯。采用峰面积归一化法, 对匹配度大于 90%的可检索组分进行了统计和分析, 结果表明: 从贵州沙姜中鉴别出的挥发性成分共 47 个, 三主要成分含量占总体的绝大多数, 爱草脑、2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萹酮和塞舌尔烯的含量分别为 61.53%、15.54%和 7.19%; 鉴别出的 47 个挥发性成分的分布是醚类 4 个、酮类 3 个、萜类 28 个、酚类 3 个、醇类 2 个、酯类 2 个、醛类 2 个、烃类 3 个, 其中醚类、酮类、萜类化合物的含量较高, 分别为 62.22%、15.83%、13.68%。

关键词: 贵州沙姜; 挥发性成分; 爱草脑; 固相微萃取

文章编号: 1673-9078(2014)12-271-276

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2014.12.045

Analysis of Volatile Components of *Kaempferia galanga* L. from Guizhou by Solid Phase Microextraction and Gas Chromatography-Mass Spectrometry

LUO Jing, WU Di, ZHONG Yong-ke

(School of Pharmacy, Zunyi Medical College, Zunyi 563000, China)

Abstract: The volatile components of *Kaempferia galanga* L. from Guizhou were analyzed using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) coupled with solid phase microextraction (SPME). The volatile components were also compared with those of *Kaempferia galanga* L. from Guangxi using the same techniques in combination with Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy. The volatile components of *Kaempferia galanga* L. from Guizhou were different from those from Guangxi. The main components were estragole, followed by 5(1H)-azulenone, 2,4,6,7,8,8a-hexahydro-3,8-dimethyl-4-(1-methylethylidene), and seychellene. Using the peak area normalization method, the detectable components with over 90% matching were statistically analyzed. Notably, 47 volatile components were detected in *Kaempferia galanga* L. from Guizhou, and the three major components comprised most of the contents: estragole at 61.53%, 5(1H)-azulenone, 2,4,6,7,8,8a-hexahydro-3,8-dimethyl-4-(1-methylethylidene) at 15.54%, and seychellene at 7.19%. Moreover, the 47 identified volatile components included ethers (4), ketones (3), terpenoids (28), phenolic compounds (3), alcohols (2), esters (2), aldehydes (2), and hydrocarbons (3). Among them, ethers, ketones, and terpenoids comprised 62.22%, 15.83%, and 13.68% of the total composition, respectively.

Key words: *Kaempferia galanga* L. from Guizhou; volatile components; estragole; solid phase microextraction

沙姜, 又名山奈、山辣, 是姜科植物沙姜 (*Kaempferia galanga* L.) 的干燥根茎, 主产于广东、广西和云南, 其次在四川、贵州和福建等地。沙姜气味辛香, 广泛用作调味品和香料; 同时, 沙姜也是重要的中草药, 具有温中化湿、行气止痛的功效, 用于

收稿日期: 2014-05-29

基金项目: 贵州省科技厅自然科学基金资助项目(黔科合 J 字[2008]2233 号)及遵义医学院博士启动基金资助

作者简介: 罗静(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 药用天然产物

通讯作者: 钟永科(1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 药用天然产物

急性胃肠炎、消化不良、胃寒疼痛、牙痛、高血压、风湿关节痛和跌打损伤等诸症, 甚至防癌治癌等^[1]。

沙姜挥发性成分具有重要的药理作用^[2], 沙姜挥发性成分的分析对了解沙姜的品质和作用具有重要意义。一般而言, 对植物挥发性成分进行分析时, 都要进行前期提取。目前, 有关沙姜挥发性成分的分析报道很少, 其产地也主要限制在广东和广西两地。就沙姜的主要挥发性成分而言, 樊亚鸣和周漩等^[3-7]的分析结果表明, 广东和广西沙姜挥发性成分中, 主要是对甲氧基肉桂酸乙酯, 其次是肉桂酸乙酯、十五烷等;

就沙姜的提取方法而言,目前使用的方法有索氏法^[1]、水蒸气蒸馏法^[3-5]、超临界CO₂流体萃取法^[6]、微波辅助水蒸气蒸馏法^[7]等,这些方法虽然相对较为成熟,但都存在样品用量大、分析时间长等缺点。此外,水蒸气蒸馏法和微波辅助水蒸气蒸馏法还容易破坏对水敏感的成分,而超临界CO₂流体萃取法则所需仪器贵重。

固相微萃取技术(SPME, Solid Phase Microextraction)是近来出现的一个前期提取法。由于集采样、吸附、萃取、浓缩、进样等操作和过程于一体,该法具有所需仪器简单、操作时间短、样品用量少、无需萃取溶剂、对被测样品的选择性高和重现性好等优点而受关注^[8-9]。本文报道采用固相微萃取/气相色谱-质谱联用法(SPME/GC-MS)对贵州沙姜挥发性成分的分析结果,并将所得结果与广西沙姜的挥发油成分的结果进行了对比。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

气相色谱-质谱联用仪GC6890/MS5973型,美国Agilent仪器公司;固相微萃取仪HP-1510,上海济成分析仪器有限公司;萃取头PA,美国Supelco公司;电子天平EL-303型,梅特勒-托利多仪器有限公司;傅立叶变换红外光谱仪1000FT-IR,美国Varian公司;溴化钾(光谱纯),天津市光复精细化工研究所;爱草脑(99.0%,批号:20322),德国Dr.Ehrenstorfer公司。沙姜于2013年12月16日采自贵州遵义,经遵义医学院杨建文主任药师鉴定为贵州沙姜。

1.2 挥发性成分的固相微萃取

先称取干燥粉碎成末的沙姜0.4 g放置在5 mL萃取瓶中,插入经活化的萃取头(230 °C下活化3分钟)在90 °C下萃取,40分钟后取出萃取头,直接插入气相色谱仪进样口(250 °C)脱附3分钟。

1.3 气相色谱-质谱条件

气相色谱条件:使用Agilent HP-5MS弹性石英毛细管色谱柱(30.0 m×250 μm×0.25 μm);载气为高纯He,流速0.5 mL/min;采用不分流进样,进样口温度250 °C。

质谱条件:采用能量70 eV的EI离子源,温度230 °C;MS四极杆温度150 °C;接口温度150 °C;质量扫描范围m/z30~500。谱图积分参数:初始峰宽:0.152,初始阈值:16.2。

1.4 数据处理

样品中各挥发性成分的定性由计算机与美国Wiley7Nist05、NIST05两种标准质谱数据库检索匹配,统计匹配度大于90%的挥发性成分。挥发性成分的定量分析采用峰面积归一化法。

1.5 红外光谱获取

贵州沙姜或广西沙姜约2 mg与200 mg KBr一起研磨均匀,自动压片机压成均匀透明薄片后扫描获得,扫描范围为4000 cm⁻¹~400 cm⁻¹,分辨率为4 cm⁻¹,累加次数为16。

2 结果与讨论

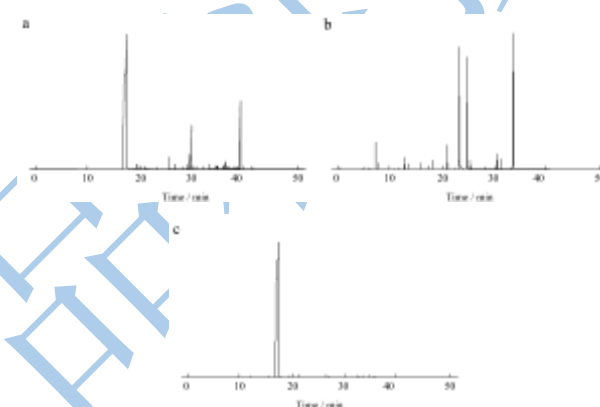


图1 固相微萃取法萃取沙姜挥发性成分的总离子流图

Fig.1 The total ion chromatogram of volatile components in *Kaempferia galanga L.* using SPME/GC-MS

注: a: 贵州沙姜; b: 广西沙姜; c: 爱草脑标准品对照。

按1.2和1.3所述方法实验,所得贵州沙姜挥发性成分的总离子流图见图1a。从图1a可见,先通过固相微萃取富集,再利用气质联用仪分析贵州沙姜,完全能分析出沙姜的挥发性成分。

对成分质谱图相似度大于90%的分析鉴定,结果见表1所示。表1结果表明:从贵州沙姜中鉴定出的挥发性成分共有47个,涵盖了醚、酮、酚、醛、酯、醇和萜等类,具体分布是醚类4个(62.22%)、酮类3个(15.83%)、萜类28个(13.68%)、酚类3个(0.44%)、醇类2个(0.44%)、酯类2个(0.26%)、醛类2个(0.24%)、烃类3个(0.08%)。47个挥发性成分中,爱草脑(匹配度99%,其保留时间与标准品出峰时间完全吻合,见图1c)含量最高,达到了61.53%,占鉴定出的47个挥发性成分总量的大半;除爱草脑外,主要成分还有2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萘酮(15.54%)和塞舌尔烯(7.19%),三成分的总含量达到了84.26%。将贵州沙姜的挥发性成分与文献^[3-7]

报道的广东广西沙姜的挥发性成分进行对比,发现贵州沙姜的挥发性成分与广东广西的显著不同。文献结

果表明,广东广西沙姜中的挥发性成分主要为对甲氧基肉桂酸乙酯。

表 1 贵州沙姜中挥发性成分的 SPME/GC-MS 分析结果

Table 1 Analysis of volatile components in *Kaempferia galanga* L. from Guizhou by SPME/GC-MS

NO.	t/min	化合物名称	相对含量/%
1	5.13	α -蒎烯 (α -pinene)	0.01
2	6.67	桉烯 (sabinene)	0.01
3	6.81	β -蒎烯 (β -pinene)	0.01
4	8.83	对伞花烃 (p-cymene)	0.01
5	9.01	dl-柠檬烯 (dl-limonene)	0.02
6	9.41	β -罗勒烯 (β -ocimene)	0.01
7	10.36	γ -萜品烯 (γ -terpinene)	0.02
8	12.26	δ -3-萜烯 (δ -3-carene)	0.10
9	17.33	爱草脑 (estragole)	61.53
10	19.35	反式茴香脑 (trans-anethole)	0.55
11	20.16	肉桂醛 (cinnamaldehyde)	0.15
12	23.13	4-甲基-3-异丙基-4-乙烯基环己烯 (cyclohexene,4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl))	0.12
13	25.51	β -榄香烯 (β -elemene)	1.38
14	26.01	丁香油酚甲醚 (methyleugenol)	0.04
15	26.19	顺式异丁子香酚 (cis-isoeugenol)	0.05
16	26.68	石竹烯 (caryophyllene)	0.55
17	27.93	对甲氧苯基丙酮 (p-methoxy propiophenone)	0.13
18	28.10	α -蛇麻烯 (α -humulene)	0.14
19	28.23	甲基反式异丁子香酚 (methyl trans-isoeugenol)	0.34
20	28.42	香橙烯 (aromadendrene)	0.08
21	28.76	α -衣兰油烯 (α -muurolene)	0.54
22	29.24	大根香叶烯 D (germacrene-D)	0.06
23	29.51	朱栾倍半萜 (valencene)	0.09
24	29.95	塞舌尔烯 (seychellene)	7.19
25	30.28	β -红没药烯 (β -bisabolene)	0.23
26	30.80	双环大根香叶烯 (bicyclgermacrene)	0.32
27	30.92	δ -杜松烯 (δ -cadinene)	0.15
28	31.24	大根香叶烯 B (germacrene-B)	0.09
29	31.83	1a,2,6,7,7a,7b-六氢-1,1,7,7a-四甲基-1H-环丙基萘 (1H-cyclopropa[a]naphthalene,1a,2,6,7,7a,7b-hexahydro-1,1,7,7a-tetramethyl)	0.24
30	31.96	榄香醇 (elemol)	0.18
31	32.71	3-甲氧基肉桂醛 (3-methoxy cinnamaldehyde)	0.09
32	33.00	α -紫穗槐烯 (α -amorphene)	0.41
33	33.30	石竹烯氧化物 (caryophyllene oxide)	0.10
34	33.52	(3E,5E,8E)-3,7,11-三甲基-1,3,5,8,10-十二碳五烯 ((3E,5E,8E)-3,7,11-trimethyl-1,3,5,8,10-dodecapentaene)	0.05
35	33.70	α -榄香烯 (α -elemene)	0.10
36	34.05	甲氧基丁香子酚 (methoxyeugenol)	0.05

转下页

接上页

37	34.46	γ -芹子烯 (γ -selinene)	0.14
38	35.53	香榧醇 (terreyol)	0.26
39	35.88	β -芹子烯 (β -selinene)	0.27
40	36.03	α -古芸烯 (α -gurjunene)	0.44
41	37.74	γ -杜松烯 (γ -cadinene)	0.87
<hr/>			
42	39.29	2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4-(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萹酮 (5(1H)-Azulenone,2,4,6,7,8,8a-hexahydro-3,8-dimethyl-4-(1-methylethylidene))	15.54
<hr/>			
43	39.92	苯甲酸苄酯 (benzyl benzoate)	0.21
44	40.41	表姜烯酮 (epizonaren)	0.09
45	41.30	螺岩兰草酮 (solavetivone)	0.16
46	44.10	α -氰基-4-硝基肉桂酸甲酯 (methyl α -cyano-4-nitrocinnamate)	0.05
47	50.71	正二十烷 (n-icosane)	0.02

为确证贵州沙姜挥发性成分与广东广西的差异，我们也分析了广西沙姜的挥发性成分，其总离子流图见图1b。

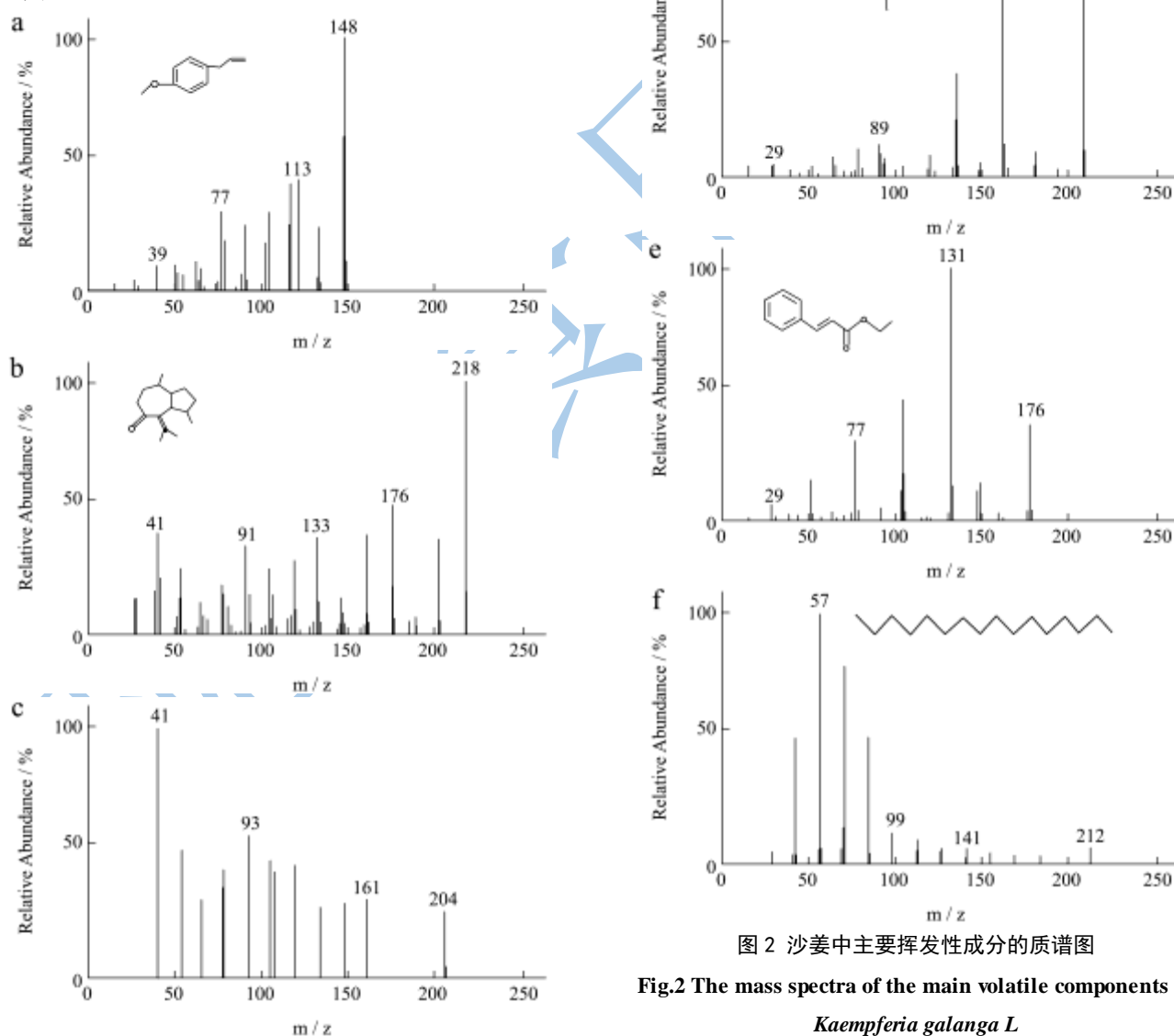


图2 沙姜中主要挥发性成分的质谱图

Fig.2 The mass spectra of the main volatile components in *Kaempferia galanga L*

注：a-爱草脑；b-2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4(1-甲基亚乙

基)-5(1H)-萹酮; c-塞舌尔烯; d-对甲氧基肉桂酸乙酯; e-肉桂酸乙酯; f-十五烷。

图1b的结果表明, 我们用固相微萃取法分析所得的挥发性成分与文献报道的索氏法^[3]、水蒸汽蒸馏法^[3-5]、超临界CO₂法^[6]、微波辅助水蒸汽蒸馏法^[7]等分析得到的沙姜挥发性成分基本一致, 即: 采用固相微萃取法分析的广西沙姜的主要挥发性成分也是文献报道的对甲氧基肉桂酸乙酯、肉桂酸乙酯和十五烷。

图2是贵州沙姜和广西沙姜中鉴别出的六个主要成分的质谱图, 其中的a、b、c是贵州沙姜的主要成分, d、e、f则是广西沙姜的主要成分。结果表明, 贵州沙姜与广西沙姜主要成分的质谱图完全不同, 说明两地沙姜的主要成分完全不同。

对两地沙姜6个主要成分的质谱图的分析如下: 图2a是爱草脑的质谱: 分子离子峰是m/z148; 爱草脑的苯环上有取代基, 所以存在烷基取代苯的特征离子C₆H₅⁺(m/z77)、C₃H₃⁺(m/z39)^[10]。图2b是2,4,6,7,8,8a-六氢-3,8-二甲基-4(1-甲基亚乙基)-5(1H)-萹酮的质谱: 分子离子峰是m/z218; 由于失去质量数为42的中性碎片C₃H₆得到m/z176的碎片离子, 失去质量数为85的中性碎片C₆H₁₃得到m/z133的碎片离子; 由于分子中有七元环, 故有m/z91的草鎗离子^[10]。图2c是塞舌尔烯的质谱: 分子离子峰是m/z204; 失去质量数为43的中性碎片C₃H₇得到m/z161的碎片离子; 由于属于单萜类, 故有符合C_nH_{2n-5}通式的m/z93碎片C₇H₉。图2d是对甲氧基肉桂酸乙酯的质谱: 由于是一元脂肪酸酯, 分子离子峰很弱^[10]; 由于失去质量数为45的中性碎片CH₃CHOH而得到m/z161的碎片离子, m/z89是碎片CH₃CH₂COHOCH₃⁺, m/z29是碎片CHO⁺。图2e是肉桂酸乙酯的质谱: 分子离子峰是m/z176; 由于失去质量数为45的中性碎片CH₃CHOH得到m/z131的碎片离子, m/z77是苯基离子C₆H₅⁺, m/z29是碎片CHO⁺。图2f是十五烷的质谱: 分子离子峰是m/z212; 烷烃的特征离子为C₁₀H₂₁⁺(m/z141)、C₇H₁₅⁺(m/z99)、C₄H₉⁺(m/z57)^[10]。

为进一步确证贵州沙姜成分与广东广西的差异, 我们分别检测了贵州沙姜与广西沙姜的红外吸收光谱。图3是贵州沙姜与广西沙姜的红外吸收光谱, 表2列出了两地红外光谱吸收峰的位置。图3中, 3800~3000 cm⁻¹的吸收主要是含O-H或N-H的伸缩振动; 3000~2800 cm⁻¹的吸收主要是亚甲基的饱和碳氢伸缩振动特征峰, 即挥发油类的特征表现^[11]; 1700~1600 cm⁻¹的吸收主要是含C=O类化合物的伸缩振动吸收峰; 1514~1100 cm⁻¹区域内的吸收峰可能包

含多种成分, 如C-H弯曲振动吸收以及(O) C-O伸缩振动吸收。对比两地沙姜红外光谱图的峰强度比例及吸附峰的位置, 可以看出, 两地沙姜红外光谱在2000 cm⁻¹以下的吸收明显不同, 说明两地沙姜所含成分相差较大, 在贵州沙姜红外吸收图中, 1417 cm⁻¹的强吸收峰可能就是爱草脑中C-O的伸缩振动吸收。

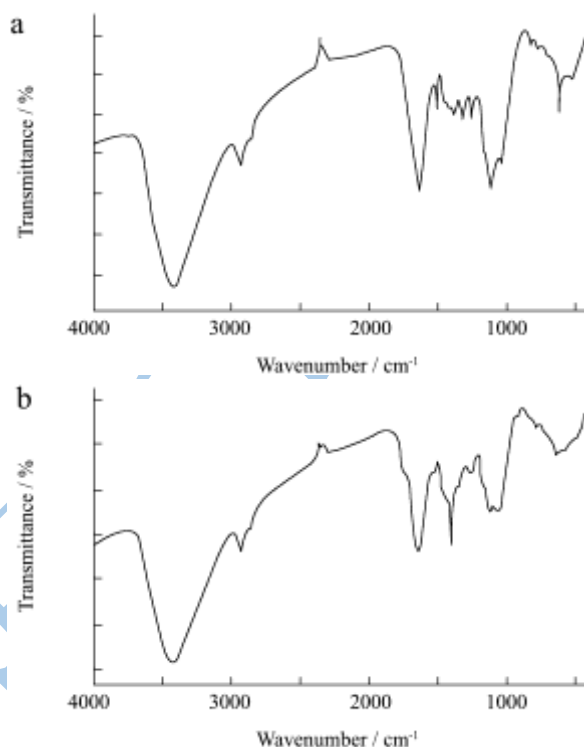


图3 沙姜的傅立叶变换红外光谱

Fig.3 FT-IR spectrum of *Kaempferia galanga* L.

注: a-广西沙姜; b-贵州沙姜。

表2 贵州与广西沙姜红外光谱吸收位置显著不同的特征峰

Table 2 The characteristic peaks in inferred absorption spectra of *Kaempferia galanga* L. from Guizhou and Guangxi

产地	特征峰位(σ)/cm ⁻¹						
广西	3423	2284	1457	1322	1113	1036	618 534
贵州	3431	2174	1417	1384	1108	560	

我国许多常用中药材的质量, 因产地地势、土壤、气候(气温、光照、降雨)、水质、生态环境的不同, 同种药材在质量上存在不同的差异, 有时这种差异甚至是巨大的。因此, 鉴别区分不同产地的同种药材对合理使用中药材具有重要意义。广东广西沙姜的主要挥发性成分是对甲氧基肉桂酸乙酯^[3-7], 文献报道具有抗促癌活性^[12]。本实验检测到的贵州沙姜的主要挥发性成分爱草脑, 具有优良的抗食性腐败菌和致病菌活性^[13]以及升高白细胞的作用^[14], 并且可用于制杀虫剂, 是重要的医药中间体之一, 应用前景广阔。因此, 贵州沙姜中爱草脑的发现, 对贵州沙姜的鉴别及开发

应用, 无疑都具有重要意义。

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: 化学工业出版社, 2010
Chinese Pharmacopoeia Commission. The pharmacopoeia of the People's Republic of China (The First) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010
- [2] 刘彦芳, 魏品康. 山柰挥发油提取物对裸鼠原位移植人胃癌组织的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2005, 10(5): 486-491
LIU Yan-fang, WEI Pin-kang. Effect on the volatile oil of *kaempferia galanga* l. inhibiting the growth and metastasis of human gastric carcinoma [J]. Chinese Clinical Oncology, 2005, 10(5): 486-491
- [3] 陈福北, 陈少东, 刘红星, 等. 索氏法和水蒸汽蒸馏法提取沙姜(鲜品)挥发油化学成分的比较研究[J]. 中国调味品, 2009, 34(11): 105-107
CHEN Fu-bei, CHEN Shao-dong, LIU Hong-xing, et al. Comparison of chemical constituents for volatile oil from fresh *kaempferia galanga* L. by soxhelt method and steam distillation [J]. China Condiment, 2009, 34(11): 105-107
- [4] 樊亚鸣, 任三香, 陈永亨, 等. GCMS 法分析广东阳春沙姜精油的化学成分[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 196-198
FAN Ya-ming, REN San-xiang, CHEN Yong-heng, et al. Analysis of chemical components of volatile oil from *kaempferia galanga* L. in south China by GCMS [J]. Food Science, 2005, 26(6): 196-198
- [5] 周漩, 宋粉云, 钟兆健. 不同产地沙姜挥发油化学成分的比较[J]. 现代食品与药品杂志, 2006, 16(2): 2-4
ZHOU Xuan, SONG Fen-yun, ZHONG Zhao-jian. Analysis of constituents of essential oil in *kaempferia galanga* L. from various habitats [J]. Journal of Modern Food and Pharmaceuticals, 2006, 16(2): 2-4
- [6] 刘雪梅, 梁建钦, 卢彬, 等. 超临界二氧化碳萃取沙姜鲜品和干品挥发油化学成分的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 2007-2009
LIU Xue-mei, LIANG Jian-qin, LU Bin, et al. Study on the chemical constituents of volatile oils from *kaempferia galanga* L. in fresh and dried characters [J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2008, 19(8): 2007-2009
- [7] 凌育赵, 刘经亮. 微波辅助水蒸汽蒸馏提取沙姜挥发油的研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(6): 57-60
LING Yu-zhao, LIU Jing-liang. Microwave assisted hydro-distillation extraction of essential oil from of *kaempferia galanga* L. [J]. China Condiment, 2010, 35(6): 57-60
- [8] Urruty L, Giraudel J L, Lek S, et al. Assessment of strawberry aroma through SPME/GC and ANN methods, classification and discrimination of varieties [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50: 3129-3136
- [9] Pelusio F, Nilsson T, Montanarella L, et al. Headspace solid-phase microextraction analysis of volatile organic sulfur compounds in black and white truffle aroma [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43: 2138-2143
- [10] 李发美. 分析化学(第六版)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007
LI Fa-mei. Analytical chemistry (sixth edition) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007
- [11] 孙素琴, 周群, 陈建波. 中药红外光谱分析与鉴定[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010
SUN Su-qin, ZHOU Qun, CHEN Jian-bo. Analysis of traditional chinese medicine by infrared spectroscopy [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010
- [12] 薛颖, 陈杭. 沙姜中肉桂酸乙酯类化合物抗促癌作用的研究[J]. 卫生研究, 2002, 31(4): 246-251
XUE Ying, CHEN Hang. Study on the anti-carcinogenic effects of three compounds in *kaempferia galanga* L. [J]. Journal of Hygiene Research, 2002, 31(4): 246-251
- [13] 钟瑞敏, 王羽梅, 曾庆孝, 等. 芳香精油在食品保藏中的应用性研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2005, (3): 93-98
ZHONG Rui-min, WANG Yu-mei, ZENG Qing-xiao, et al. The current status of the application of essential oils in food preservation [J]. Food and Fermentation Industries, 2005, (3): 93-98
- [14] 宋述芹, 谷茂, 陈飞鹏. 固相微萃取气质联用分析罗勒花和叶的挥发性成分[J]. 质谱学报, 2008, 29(2): 110-114
SONG Shu-qin, GU Mao, CHEN Fei-peng. Analysis of volatile compounds from flowers and leaves of *ocimum basilicum* L. with solid phase microextraction by GC/MS [J]. Journal of Chinese Mass Spectrometry Society, 2008, 29(2): 110-114