

文章编号:1674-7054(2014)02-0182-06

12批海南高良姜挥发油的GC-MS分析

王辉¹,翟红莉¹,梅文莉¹,易博²,蔡彩虹¹,曾艳波¹,董文化¹,戴好富¹

(1 中国热带农业科学院 热带生物技术研究所以农业部热带作物生物学与遗传资源利用重点实验室 / 海南省黎药资源天然产物研究与利用重点实验室,海南 海口 571101;2 中国人民解放军第一八七医院,海南 海口 571159)

摘要: 比较了12批海南高良姜挥发油的GC-MS指纹图谱,对其中20个特征化合物进行了相似度评价。结果表明,海南省不同地区的高良姜品质相似。与相同生长年份和相同采收期的徐闻产高良姜进行比较,海南不同产地高良姜在挥发油得率及挥发油主要成分上与其无显著差异,而且两地的高良姜GC-MS指纹图谱的相似度为0.956。因此,海南产高良姜可替代徐闻产高良姜用于食品和香料。

关键词: 高良姜;挥发油;GC-MS指纹图谱;相似度

中图分类号: R 284.1

文献标志码: A

高良姜(*Alpinia officinarum* Hance)主产于广东、广西、海南,在台湾及云南也有小面积种植。近年来,随着高良姜综合利用的不断深入,除药用^[1]外,高良姜已经被应用到食品、香料^[2]、驱虫剂^[3]等多个领域。高良姜作为食品或香料,其挥发油的品质倍受人们关注。赵晓颀等建立了同时测定高良姜挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉油精和 α -松油醇4种成分含量的气相色谱方法^[4]。WU J等利用GC-MS从海南定安产的自然晾干高良姜的挥发油中鉴定了30种成分^[5]。翟红莉等利用GC-MS从海南海口和广东徐闻产的新鲜高良姜挥发油样品中鉴定出77种化合物^[6]。高良姜的主产地为广东徐闻,种植面积约4 466 hm²,产量占全国90%以上,但近年来徐闻地区大面积爆发姜瘟,严重影响了高良姜的种植。海南省气候和徐闻相近,病虫害少,所以近年来高良姜在海南大面积种植。由于海南不同产地高良姜的挥发油成分有很大差异^[5-6],为此,笔者对12批次海南不同产地的高良姜挥发油进行GC-MS分析,旨在为高良姜在海南的规范化种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料 高良姜根茎于2012年7月采自海南省海口、文昌、临高、定安、万宁等市县的高良姜种植基地,其中文昌、海口、定安各2批次、临高5批次和万宁兴隆1批次,共计12个批次,另采广东徐闻样1批次(见表1)。所有样品材料经中国热带农业科学院热带生物技术研究所以代正福副研究员鉴定为姜科山姜属良姜亚属高良姜(*Alpinia officinarum* Hance),凭证标本(凭证号AO201207hn和AO201207gd)存放于中国热带农业科学院热带生物技术研究所以。

1.2 仪器及分析条件 美国安捷伦公司的Agilent 6890N-5975B气质联用仪。色谱柱:HP-5MS(50.0 m $\times$ 200 μ m $\times$ 0.33 μ m);程序升温:初始温度50 $^{\circ}$ C,2 $^{\circ}$ C $\cdot$ min⁻¹程序升温至150 $^{\circ}$ C,4 $^{\circ}$ C $\cdot$ min⁻¹程序升温至270 $^{\circ}$ C,保留10 min;进样口温度:250 $^{\circ}$ C;载气为氮气(纯度 $\geq$ 99.99%);载气流量:恒定1.0 mL $\cdot$ min⁻¹;分流比:40:1;进样量:0.6 μ L;采用面积归一法定量。EI离子源;离子源温度:230 $^{\circ}$ C;电子能量70 eV;四极杆温度150 $^{\circ}$ C;接口温度280 $^{\circ}$ C;质量扫描范围:33~450 u。

收稿日期:2014-03-25

基金项目:海南省重大科技专项(ZDZX2013008-4);海南省中药现代化专项资金(2011ZY002,2012ZY008)

作者简介:王辉(1981-),女,博士,副研究员. E-mail:wanghui@itbb.org.cn

通信作者:戴好富(1974-),男,博士,研究员,研究方向:天然产物化学. E-mail:daihaofu@itbb.org.cn

表 1 高良姜样品来源

Tab.1 Samples of *Alpinia officinarum* from different localities

序号 Code	样品编号 Sample code	采集地点 Sampling location	经纬度 Longitude and latitude
1	文昌 1 Wenchang 1	文昌新桥镇大水村附近 Dashui Villag, Xinqiao Town, Wenchang	N 19°45′13.9″; E110°36′45″
2	文昌 2 Wenchang 2	文昌新桥镇大水村附近 Dashui Villag, Xinqiao Town, Wenchang	N 19°45′17.6″; E 110°36′8″;
3	海口 1 Haikou 1	海口文岭 Wenling, Haikou	N 19°40′36.9″; E 110°31′28.8″
4	海口 2 Haikou 2	海口中税农场 Zhongrui Farm, Haikou	N 19°33′17.7″; E 110°36′58.2″
5	定安 1 Ding' an	定安黄竹 Huangzhu, Ding' an	N 19°28′56.2″; E 110°31′43.9″;
6	定安 2 Ding' an 2	定安黄竹 Huangzhu, Ding' an	N 19°28′58.1″; E 110°31′49.5″
7	临高 1 Lingao 1	临高和舍 Heshe, Lingao	N 19°35′53.5″; E 109°42′8.5″
8	临高 2 Lingao 2	临高和舍 Heshe, Lingao	N 19°35′53.8″; E 109°42′9.1″
9	临高 3 Lingao 3	临高和舍 Heshe, Lingao	N 19°35′55.5″; E 109°42′9.5″
10	临高 4 Lingao 4	临高和舍 Heshe, Lingao	N 19°35′56.5″; E 109°42′9.8″
11	临高 5 Lingao 5	临高和舍 Heshe, Lingao	N 19°35′55.1″; E 109°42′9.5″
12	万宁 Wanning	万宁兴隆, Xinglong, Wanning	N 18°44′38.1″; E 110°12′41.5″
13	徐闻 Xuwen	广东徐闻 Xuwen, Guangdong	N 20°18′52.09″; E 110°19′37.36″

1.3 挥发油的提取 挥发油的提取及出油率的测定参照 2010 年版《中国药典(一部)》附录 XD 挥发油测定法。分别称取上述不同产地的新鲜高良姜材料 200 g,置 1 000 mL 圆底烧瓶中,加水 500 mL 及数粒玻璃珠,振摇均匀,连接挥发油测定器与回流冷凝管,自冷凝管上端加水至挥发油测定器的刻度部分充满并溢流入烧瓶为止,置加热套中,设定加热温度为 80~100℃,缓缓加热至微沸 3 h,冷却 1 h,开启挥发油测定器下端活塞,将水缓缓放出,至油层上端达刻度 0 线上面 5 mm 处为止。所得挥发油用无水硫酸钠除去水分后置-20℃冰箱中保存备用。将上述提取的 13 批次样品挥发油置于 100 mL 容量瓶中,加乙醚定容至刻度,供 GC-MS 分析用。

1.4 数据处理及质谱检索 在 GC-MS 指纹图谱中选择含量较高且稳定的峰作为参照峰,将其峰面积的值设为 1,其它峰面积的值等于该峰面积与参照峰面积的比值。数据处理软件采用《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2009 版)》V1.1,国家药典委员会推荐,中软公司开发。总离子流图中的各峰经质谱计算机数据系统检索及核对谱库 LJZ. L, Wiley6.1 和 NIST08. L 质谱数据,再结合相关文献进行人工谱图解析,确定挥发性成分,采用峰面积归一化法测定各化学成分的相对质量分数。

2 结果与分析

2.1 挥发油的得率 13 份高良姜新鲜根茎在相同条件下提取挥发油的得率见表 2。海南产高良姜的得率在 0.36%~0.68% 范围,RSD 值为 18.7% (大于 15),说明挥发油的得率批次差异较大,可能是新鲜药材中水分含量有差异的原因。徐闻产与海南产高良姜的挥发油得率相差不大,基本与 12 批次海南产中位数相同。

2.2 指纹图谱的建立和相似度评价 将 12 批次海南产高良姜新鲜根茎挥发油样品的 GC-MS 数据,通过适当的调整和变换,以文本格式导入《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2009 版)》,经校准后得 12 批样品的总离子流叠加图(见图 1)。采用中国药典委员会推荐的《中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2009 版)》V1.1,对导入的高良姜 GC-MS 指纹图谱进行相似度计算。结果(见表 3)表明,12 批次海南不同产地的高良姜样品的相似度均值为 0.90~1.00,未发现离群样本,符合国家食品药品监督管理局对中药指纹图谱相似度的要求。

以海南产 12 批次形成的 GC-MS 指纹图谱做对照图,将徐闻产 GC-MS 数据导入中药色谱指纹图谱相似度评价系统进行检测,其相似度为 0.956。结果表明,海南产高良姜与徐闻产高良姜挥发油成分的相似度高;该指纹图谱可以作为高良姜根茎药材挥发油指纹图谱运用;目前海南种植的高良姜品种在挥发油成分上品质与道地产地无显著性差异。

表 2 高良姜新鲜根茎挥发油得率

Tab. 2 The volatile oil extraction rate of fresh rhizomes of *A. officinarum* Hance

序号 Code	样品编号 Sample code	鲜重 Fresh weight/g	收集量 Yield/mL	得率 Extraction rate/(mL · g ⁻¹)
1	文昌 1 Wenchang 1	200.0	0.8	0.40%
2	文昌 2 Wenchang 2	200.0	1.25	0.63%
3	海口 1 Haikou 1	200.0	0.72	0.36%
4	海口 2 Haikou 2	200.0	1.04	0.52%
5	定安 1 Ding'an	200.0	1.36	0.68%
6	定安 2 Ding'an 2	200.0	1.1	0.55%
7	临高 1 Lingao 1	200.0	1.0	0.50%
8	临高 2 Lingao 2	200.0	1.0	0.50%
9	临高 3 Lingao 3	200.0	1.1	0.55%
10	临高 4 Lingao 4	200.0	1.1	0.55%
11	临高 5 Lingao 5	200.0	0.8	0.40%
12	万宁 Wanning	200.0	0.8	0.40%
13	徐闻 Xuwen	200.0	1.1	0.55%

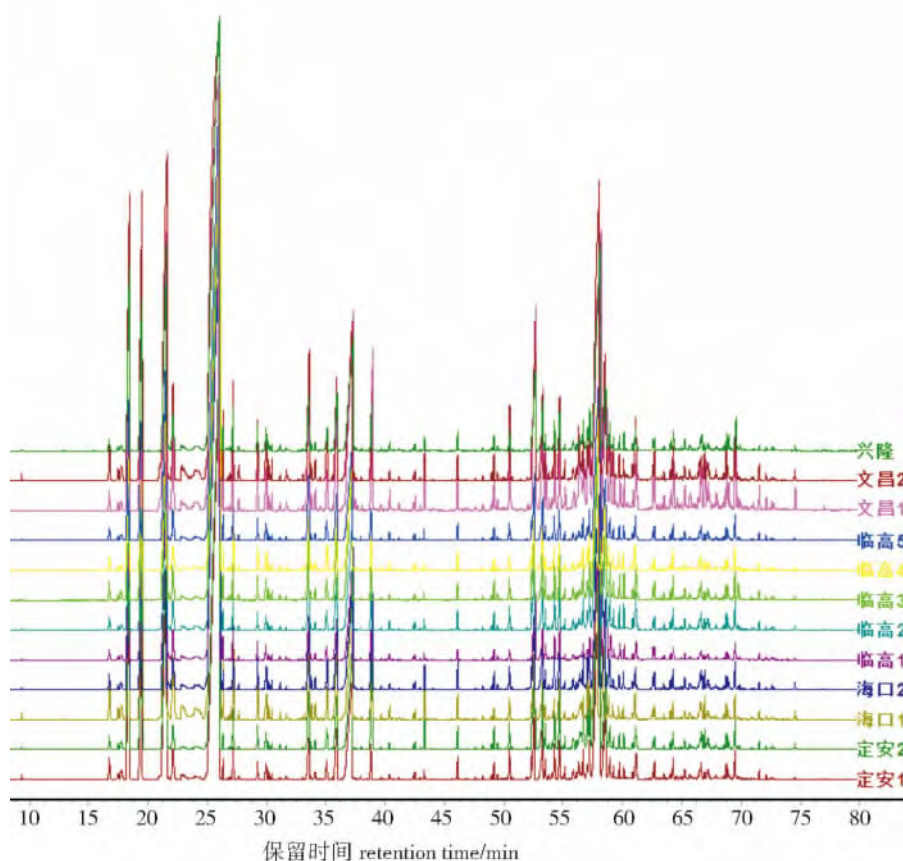


图 1 高良姜挥发油 12 批样品的 GC-MS 指纹图谱叠加图

Fig. 1 The overlapping plot of GC/MS fingerprints of the *A. officinarum* volatile oil in 12 localities

表 3 12 批次高良姜挥发油的相似度

Tab.3 The similarity of fingerprints of *A. officinarum* volatile oil in 12 localities of Hainan

	定安 1 Ding'an1	定安 2 Ding'an2	海口 1 Haikou1	海口 2 Haikou2	临高 1 Lingao1	临高 2 Lingao2	临高 3 Lingao3	临高 4 Lingao4	临高 5 Lingao5	文昌 1 Wenchang1	文昌 2 Wenchang2	兴隆 Xinglong	对照指 纹图谱 Control
定安 1 Ding'an1	1	0.956	0.989	0.953	0.963	0.955	0.949	0.978	0.972	0.913	0.954	0.936	0.981
定安 2 Ding'an1	0.956	1	0.949	0.918	0.993	0.995	0.994	0.935	0.992	0.93	0.995	0.973	0.989
海口 1 Haikou1	0.989	0.949	1	0.952	0.955	0.946	0.937	0.992	0.964	0.909	0.942	0.931	0.977
海口 2 Haikou1	0.953	0.918	0.952	1	0.93	0.922	0.905	0.95	0.938	0.93	0.908	0.919	0.957
临高 1 Lingao1	0.963	0.993	0.955	0.93	1	0.998	0.995	0.952	0.999	0.93	0.991	0.979	0.993
临高 2 Lingao2	0.955	0.995	0.946	0.922	0.998	1	0.997	0.944	0.997	0.925	0.993	0.978	0.99
临高 3 Lingao3	0.949	0.994	0.937	0.905	0.995	0.997	1	0.93	0.993	0.918	0.995	0.97	0.984
临高 4 Lingao4	0.978	0.935	0.992	0.95	0.952	0.944	0.93	1	0.96	0.90	0.927	0.927	0.971
临高 5 Lingao5	0.972	0.992	0.964	0.938	0.999	0.997	0.993	0.96	1	0.93	0.99	0.978	0.996
文昌 1 Wenchang1	0.913	0.93	0.909	0.93	0.93	0.925	0.918	0.90	0.93	1	0.924	0.961	0.951
文昌 2 Wenchang2	0.954	0.995	0.942	0.908	0.991	0.993	0.995	0.927	0.99	0.924	1	0.97	0.985
兴隆 Xinglong	0.936	0.973	0.931	0.919	0.979	0.978	0.97	0.927	0.978	0.961	0.97	1	0.98
对照指 纹图谱 Control	0.981	0.989	0.977	0.957	0.993	0.99	0.984	0.971	0.996	0.951	0.985	0.98	1

2.3 共有峰比对 取 12 批次海南产高良姜样品挥发油的 GC-MS 指纹色谱图,以各色谱峰的相对保留时间和相对峰面积为依据进行共有峰的标定,相对保留时间和相对峰面积相同,则归为一类。对 12 批次样品药材 GC-MS 色谱图进行分析,从中选定 20 个共有峰构成海南产高良姜指纹图谱的稳定特征峰,经计算特征峰占总峰面积的 80% 以上。在 20 个共有特征峰中,选择 4 号峰 Camphene 为内参峰(S)峰,以其保留时间和峰面积为 1,分别计算各特征峰的调整保留时间之比(α 值)和相对峰面积(峰面积之比),结果见表 4。

通过比对,发现海南产高良姜挥发油 GC-MS 指纹图谱 20 个共有峰在 13 号样徐闻产高良姜挥发油 GC-MS 总离子流图均存在,且特征峰面积约占总峰面积 72%,说明海南产高良姜和徐闻产高良姜的挥发油成分相似。海南产高良姜根茎挥发油中以单萜和倍半萜成分为主,其中相对含量最高的为 1,8-桉油精(30%~50%),其余较高的有 α -松油醇(5%~7%)、 β -蒎烯(7%~10%);樟脑萜(4%~6%)、 α -蒎烯(4%~6%)和反式石竹烯(约 2%)等。比较海南和徐闻两个产地的高良姜挥发油成分相对含量,出现 2 号峰 α -松油醇显示出明显差异,徐闻产高良姜中 α -松油醇含量(0.114%)明显偏低,远小于 12 批次海南产高良姜中的相对含量(12 批次中定安 2 相对含量(4.78%)最小;海南产高良姜挥发油中有 7 批样品的 1,8-桉油精含量高于徐闻产。这与周漩^[7]等报道的广东和海南的高良姜挥发油化学成分 α -松油醇质量分数结果(广东为 8.650%,海南没检测到)恰恰相反,这可能与地域和环境的变化有关。

表 4 12 批次海南产高良姜共有峰调整保留时间与相对峰面积的比值

Tab.4 Ratios of relative retention time (RTR) and relative peak area (RPA) of 12 samples of *A. officinarum* in Hainan

峰号	化合物 Constituent	α 值 α Value	样品相对峰面积比值 Ratio of RPA of the samples											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	1,8-cineole	1.33	7.83	6.19	6.39	11.5	7.66	6.37	10.88	10.21	9.32	12.47	10.66	10.74
2	Alpha terpineol	1.92	2.15	0.93	0.75	1.93	1.09	0.89	1.27	1.38	1.75	1.52	1.25	1.94
3	Beta-pinene	1.11	1.84	1.76	1.35	1.86	2	1.46	2.27	1.94	2.28	1.75	2.33	2.05
4	Camphene	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
5	Alpha-pinene	0.95	0.98	1	0.87	1.07	1.25	0.99	1.28	1.17	1.18	1.07	1.18	1.33
6	Trans-caryophyllene	2.71	0.97	0.48	0.21	0.48	0.34	0.51	0.53	0.54	0.49	0.26	0.4	0.56
7	Gamma-cadinene	3.01	0.96	0.5	0.21	0.64	0	0.01	0.5	0.84	0.82	0.49	0.55	0.68
8	Alpha-bergamotene	2.74	0.57	0.17	0.06	0.27	0.21	0.25	0.01	0.01	0	0.01	0.01	0.01
9	Camphor	1.73	0.45	0.36	0.23	0.34	0.18	0.22	0.28	0.33	0.32	0.33	0.36	0.32
10	4-terpineol	1.85	0.41	0.28	0.23	0.47	0.25	0.24	0.29	0.33	0.37	0.39	0.29	0.42
11	Alpha-humulene	2.82	0.38	0.17	0.07	0.17	0.12	0.17	0.23	0.2	0.01	0.1	0.13	0.2
12	Beta-myrcene	1.14	0.3	0.27	0.21	0.24	0.17	0.12	0.21	0.2	0.19	0.2	0.2	0.25
13	(-)-Beta-elemene	2.6	0.25	0.13	0.01	0.09	0.09	0.07	0.05	0.1	0.08	0.06	0.07	0.08
14	Alpha-santalene	2.7	0.24	0.07	0.02	0.06	0.06	0.09	0.11	0.1	0.09	0.04	0.06	0.07
15	Germacrene B	3.15	0.24	0.15	0.05	0.09	0.12	0.08	0.11	0.18	0.14	0.1	0.12	0.1
16	Valencene	2.94	0.24	0.08	0.08	0.13	0.06	0.15	0.07	0.1	0.09	0.09	0.06	0.13
17	Calarene	2.79	0.22	0.1	0.02	0.12	0.11	0.11	0.12	0.15	0.14	0.08	0.09	0.12
18	Gamma-terpinene	1.4	0.18	0.15	0.11	0.13	0.09	0.1	0.13	0.12	0.14	0.13	0.13	0.16
19	L-bornyl acetate	2.23	0.15	0.04	0.06	0.08	0.02	0.08	0.03	0.01	0.02	0.03	0.01	0.01
20	Linalool	1.54	0.12	0.08	0.04	0.08	0.06	0.04	0.06	0.05	0.06	0.06	0.06	0.08

1,8-桉油精为高良姜挥发油的主要成分,具有杀虫、抗菌、疏风解热、祛湿解毒的药理活性,辅助药物渗透作用较强^[8]。 α -蒎烯和 β -蒎烯具有显著的抗氧化活性^[9]。 α -蒎烯具有抑制大肠杆菌的活性^[10]。樟脑萜可明显降低脂质过氧化,抑制 NO 释放和 ROS 的产生,具有显著的抗氧化活性^[11]。 α -松油醇具有抗牙周病和龋齿病病原菌的作用^[12],并具有显著的抗氧化和体外抗肿瘤活性,可抑制人乳头腺癌细胞核慢性髓细胞样白血病细胞的增殖^[13]。用 GC-MS 分析方法明确了海南高良姜挥发油的主要组成,为下一步药理活性的研究奠定了基础。

3 结 论

海南省不同地区种植的高良姜品质相似。与相同生长年份和相同采收期的徐闻产高良姜进行比较,海南产高良姜根茎在挥发油得率及挥发油主要成分上与其无显著差异,以海南产高良姜 GC-MS 指纹图谱为参照检测徐闻道地产地高良姜,相似度为 0.956。海南产高良姜可替代徐闻产高良姜应用于食品和香料的生产。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中国药典: II 部 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2001: 236.
- [2] 胡佳惠, 闫明. 高良姜的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(10): 2544-2546.

- [5] 李隆云,钟国跃,卫莹芳,等. 中国中药种质资源的保存与评价研究 [J]. 中国中药杂志,2002,27(9): 641-645.
- [6] 赵晓頔,陈晓辉,谭晓婧,等. GC 同时测定高良姜挥发油中 α -蒎烯、 β -蒎烯、桉油精和 α -松油醇的含量 [J]. 中国中药杂志,2009,34(21): 2751-2753.
- [7] WU J, LEI L W, MEI W L, et al. High-level 1,8-cineole in the *Alpinia officinarum* essential oil from Hainan Island of China [J]. Chemistry of Natural Compounds, 2012, 48(2): 325-326.
- [8] 翟红莉,王辉,曾艳波,等. 两种不同产地高良姜挥发油成分的 GC-MS 分析 [J]. 热带作物学报,2013,34(12): 1-7.
- [9] 周璇,郭晓玲,冯毅凡. 不同产地高良姜挥发油化学成分研究 [J]. 中草药,2006,27(1): 33-34.
- [10] 赖展鹏,程轩轩,杨全,等. 不同种源高良姜 1,8-桉油精含量及挥发油成分分析 [J]. 亚太传统医药,2010,6(9): 6-8.
- [11] WANG W, WU N, ZU Y G. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to its main components [J]. Food Chemistry, 2008, 108(3): 1019-1022.
- [12] OJEDA-SANA A M, BAREN C M, ELECHOSA M A, et al. New insights into antibacterial and antioxidant activities of rosemary essential oils and their main components [J]. Food Control, 2013, 31(1): 189-195.
- [13] TIWARI M, KAKKAR P. Plant derived antioxidants-geraniol and camphene protect rat alveolar macrophages against t-BHP induced oxidative stress [J]. Toxicology in Vitro, 2009, 23(2): 295-301.
- [14] PARK S N, LIM Y K, FREIRE M O, et al. Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria [J]. Anaerobe, 2012, 18: 369-372.
- [15] BICAS J L, NERI-NUMA I A, RUIZ A L T G. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative potential of bioflavours [J]. Food and Chemical Toxicology, 2011, 49: 1610-1615.

GC-MS Analysis of Volatile Oil Extracted from *Alpinia Officinarum* Growing in Hainan

WANG Hui¹, ZHAI Hongli¹, MEI Wenli¹, YI Bo², CAI Caihong¹,
ZENG Yanbo¹, DONG Wenhua¹, DAI Haofu¹

(1. Institute of Tropical Bioscience and Biotechnology / Ministry of Agriculture Key Laboratory of Biology and Genetic Resources of Tropical Crops / Hainan Key Laboratory for Research and Development of Natural Products from Li Folk Medicine, CATAS, Haikou 571101, China; 2. Department of Pharmacy, the 187th Hospital of PLA, Haikou 571159, China)

Abstract: The volatile oil extracted from *Alpinia officinarum* growing in 12 localities of Hainan was analyzed by using GC-MS fingerprinting, and 20 characteristic peaks selected from the GC-MS fingerprints were evaluated in terms of similarity. The results showed that the volatile oil extracted from *A. officinarum* sampled from different localities in Hainan had similar quality. The yield and main constituents of the volatile oil extracted from *A. officinarum* in different localities of Hainan were compared with those in Xuwen, Guangdong at similar ages and harvest time, and no significant difference was observed. Moreover, the GC-MS fingerprints of the volatile oil extracted from *A. officinarum* in Hainan shared a 0.956 similarity with those in Guangdong. Therefore, the volatile oil extracted from *A. officinarum* growing in Hainan can be a substitute for that in Xuwen, Guangdong in food and spice.

Key words: *Alpinia officinarum*; volatile oil; GC-MS fingerprinting; similarity