

## 干姜挥发油提取优化及 GC-MS 图谱研究

李翔<sup>1,2</sup>, 吴豪<sup>1</sup>, 朱东亮<sup>1</sup>, 柴逸峰<sup>1</sup>, 娄子洋<sup>3</sup> (1. 第二军医大学药学院药物分析教研室, 上海 200433; 2. 北京军区疾病预防控制中心, 北京 100042; 3. 第二军医大学药学院分析测试中心, 上海 200433)

**摘要** 目的: 优化干姜挥发油提取工艺, 同时建立干姜挥发油 GC-MS 指纹图谱。方法: 以挥发油得率为指标, 采用正交设计, 对加水量、超声时间、浸泡时间和提取时间进行优化, 并采集 GC-MS 图谱。结果: 确定加 17 倍量水, 超声 35 min, 浸泡 40 min, 再提取 8 h 的效果最优, 挥发油得率分别为 1.89%, GC-MS 图谱稳定、重复。结论: 干姜挥发油经过提取优化可以保证得率, 获得的 GC-MS 图谱稳定可靠, 并鉴定出的 49 种化合物。

**关键词** 干姜; 挥发油; 正交设计; GC-MS

中图分类号: R284

文献标识码: A

文章编号: 1006-0111(2009)01-0046-04

## Studies on volatile oil extraction by orthogonal design and GC-MS analysis for *Rhizoma Zingiberis*

LIXiang<sup>1,2</sup>, WU Hao<sup>1</sup>, ZHU Dong-liang<sup>1</sup>, CHAI Yi-feng<sup>1</sup>, LOU Zi-yang<sup>3</sup> (1. Department of pharmaceutical analysis, School of pharmacy, Second military medical university, Shanghai 200433, China; 2. Center of Disease prevention and Control, Beijing Military Region, Beijing 100042, China; 3. Test centre, School of pharmacy, Second military medical university, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT Objective:** To optimize the extraction methods and GCMS analysis of volatile oil in *Rhizoma Zingiberis* **Methods:** The distilled water volume, ultrasonic time, soaking time and extraction time were optimized by orthogonal design and GCMS chromatogram was obtained **Results:** The yield of volatile oil was 1.89% by orthogonal design. Also, a stable, reliable chromatogram was obtained under optimized GC-MS conditions **Conclusion:** The design can be applied for optimizing the extraction condition of volatile oil in *Rhizoma Zingiberis* and 49 compounds were identified by GCMS analysis

**KEY WORDS** *Rhizoma Zingiberis*; volatile oil; orthogonal design; GCMS

干姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc 的干燥根茎<sup>[1]</sup>, 干姜性辛、温、大热, 多用于温中散寒、温肺化饮及回阳通脉<sup>[2]</sup>。现代药理研究表明, 干姜具有抗血小板聚集、降血脂、抗动脉粥样硬化、抗病源微生物、保护胃黏膜、抗溃疡、镇痛、抗炎、抗缺氧和保护心肌细胞等作用<sup>[3]</sup>。干姜的主要化学成分包括挥发油和辛辣成分两大类, 其中干姜中含挥发油 1.2% ~ 2.8%, 为淡黄色或黄色液体<sup>[4]</sup>。本实验采用正交设计对干姜中挥发油的提取条件进行优化, 得到了满意的提取效果, 并对挥发油 GC-MS 指纹图谱进行了研究。

### 1 仪器和材料

**1.1 仪器** 气相色谱-质谱联用仪: THERMO Trace Ultra/DSQ II

**1.2 材料** 干姜 (批号: 070228, 产地: 山东) 购自上海养和堂中药饮片有限公司, 经药学院生药教研室孙莲娜副教授鉴定为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc 的根茎干燥的加工品。所有试剂均为分析纯, 水为去离子水。

### 2 方法和结果

#### 2.1 正交设计优化提取工艺

**2.1.1 正交实验设计** 选用  $L_9(3^4)$  正交设计表, 进行加水倍数 A (11、14、17 倍)、超声时间 B (5、20、35 min)、浸泡时间 C (10、40、70 min)、提取时间 D (2、5、8 h) 共 4 个因素 3 个水平的优化, 以挥发油得率 (Y) 为指标, 结果见表 1。

**2.1.2 提取方法** 照中国药典 2005 年版挥发油测定法甲法提取干姜挥发油。取干姜粉末约 100 g, 精密称定, 置 2 L 圆底烧瓶中, 加入沸石数颗, 按表 1 加入适量的水, 混匀, 并进行相应的浸泡和超声处理, 置恒温电热套中加热至微沸, 并保持相应的时

作者简介: 李翔 (1976-), 男, 博士, 主管药师. E-mail: ph\_d\_lixiang@hotmail.com.

通讯作者: 娄子洋. E-mail: buzhiyang@126.com.

间,停止加热,放冷,读取挥发油提取器中挥发油的量计算得率,结果见表 1。

表 1  $L_9(3^4)$ 正交设计表

试验号	A(倍)	B(min)	C(min)	D(h)	Y(%)
1	11	5	10	2	1.00
2	11	20	40	5	1.40
3	11	35	70	8	1.77
4	14	5	40	8	1.85
5	14	20	70	2	1.16
6	14	35	10	5	1.44
7	17	5	70	5	1.50
8	17	20	10	8	1.90
9	17	35	40	2	1.26
K1	4.17	4.35	4.34	3.42	
K2	4.45	4.46	4.51	4.34	
K3	4.66	4.47	4.43	5.52	
R	0.49	0.13	0.17	2.1	

2.1.3 数据处理 以超声时间(B)作为误差项,利用 spss11.0 统计软件对数据进行方差分析,结果见表 2。

表 2 方差分析

来源	离差平方和	自由度	均方	F值	P值
相关模型	$7.827 \times 10^{-5}$	6	$1.305 \times 10^{-5}$	109.653	0.009
截距	$1.960 \times 10^{-3}$	1	$1.960 \times 10^{-3}$	16473.835	0.000
A	$3.870 \times 10^{-6}$	2	$1.935 \times 10^{-6}$	16.265	0.058
C	$4.899 \times 10^{-7}$	2	$2.449 \times 10^{-7}$	2.059	0.327
D	$7.391 \times 10^{-5}$	2	$3.696 \times 10^{-5}$	310.636	0.003
误差	$2.379 \times 10^{-7}$	2	$1.190 \times 10^{-7}$		
总和	$2.038 \times 10^{-3}$	9			

2.1.4 结果 方差分析模型检验的 F 值为 109.653 ( $P < 0.05$ ),说明模型具有统计学意义。提取时间(D)的 F 值为 310.636, P 值为 0.003,说明其对得率(Y)的影响具有统计学意义,而其余影响对得率的影响没有显著性差异,其影响次序依次为提取时间(D) > 加水倍数(A) > 浸泡时间(C) > 超声时间(B),由表 1 中 K 值大小可确定理论最优提取条件为 D3A3C2B3。

2.1.5 验证实验 按照以上确定的最优条件,即加 17 倍量水,超声 35 min,浸泡 40 min,再提取 8 h 进行 3 个批次药材的挥发油提取,干姜挥发油的平均得率为 1.89%,RSD 值小于 1.0%,表明制备方法重现性良好,结果稳定、可靠。

## 2.2 GC-MS 指纹图谱研究

2.2.1 色谱条件 TR-35 MS 石英毛细管柱 (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m);进样口温度:250 $^{\circ}$ C。程序升温:起始温度 60 $^{\circ}$ C,3 $^{\circ}$ C/min 升至 80 $^{\circ}$ C,保持 10 min,3 $^{\circ}$ C/min 升至 140 $^{\circ}$ C,保持 15 min,6 $^{\circ}$ C/min 升至 270 $^{\circ}$ C,保持 10 min;载气:高纯氦气,流速 1.0 mL/min。

2.2.2 质谱条件 电子轰击源(ED);离子源温度:250 $^{\circ}$ C;接口温度:280 $^{\circ}$ C;电子能量:70 eV;调谐方式:标准调谐;质量扫描方式:全部扫描范围:10~400 amu 扫描速度 5 s/dec。Xcuiibar 数据处理系统。

2.2.3 挥发油样品制备 按照均匀设计的最优条件提取干姜挥发油,经无水硫酸钠干燥后用乙醚稀释 1000 倍后进样分析,进样体积为 1  $\mu$ L。

2.2.4 稳定性试验 取同一份干姜挥发油分别在 0、2、4、8、12 h 进样检测,发现占色谱峰总峰面积 87.61% 的 20 个特征色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 1.5%,样品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.2.5 精密度试验 取同一份干姜挥发油连续进样 5 次,发现 20 个特征色谱峰的对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 2.5%,试验的精密度良好。

2.2.6 重复性试验 按照前述方法制备 5 份干姜样品溶液并进行检测,发现 20 个特征色谱峰的相对保留时间和相对峰面积的 RSD 均小于 2.5%,符合指纹图谱检测要求。

2.2.7 指纹图谱的采集 将挥发油样品进样分析,采集 GC-MS 图谱,结果见图 1。

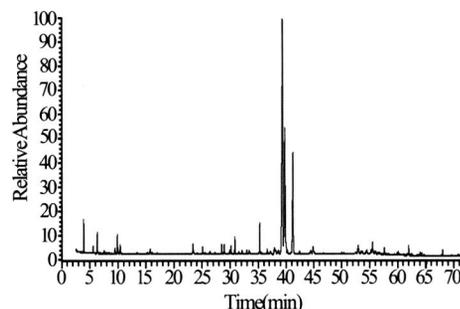


图 1 干姜挥发油 GC-MS 图谱

2.2.8 干姜挥发油化学成分 GC-MS 分析 根据 GC-MS 图谱中得到的色谱峰对应的质谱信息,利用质谱数据库进行计算机检索,经人工谱图解析,并结合文献,对干姜中挥发油活性成分进行鉴定,结果见表 3。

## 3 讨论

以往文献报道,采用超声预处理的方式可以缩短某些姜科植物挥发油的水蒸气提取时间并提高产率,且不影响挥发油的化学组成。但在本实验中,增加超声对药材中挥发油的提取效率并没有产生显著影响。考虑原因可能为干姜药材的细胞壁在粉碎过程中破裂较为完全,已经可以满足细胞化学物质的释放和扩散的需要。

表 3 干姜挥发油化学成分 GC/MS分析

序号	保留时间	化合物名称	分子式	分子量	面积 (%)
1	3.94	1,2-丙二醇 (1,2-Propanediol)	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	76	2.32
2	5.62	蒎烯 (-Pinene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.89
3	6.35	茨烯 (Camphene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	2.35
4	7.60	月桂烯 (-Myrcene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.38
5	9.51	柠檬烯 (Limonene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.71
6	9.95	水芹烯 (-Phellandrene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	2.57
7	10.44	芳樟醇 (Linalol)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1.41
8	13.44	罗勒烯 (Ocimene)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.20
9	15.80	顺式-松油醇 (cis- $\alpha$ -Terpineol)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0.64
10	23.39	龙脑 (Borneol)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1.50
11	25.11	松油醇 (-Terpineol)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	1.04
12	26.44	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇 (6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl)	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O	156	0.42
13	28.50	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇 (2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl)	C <sup>10</sup> H <sub>18</sub> O	154	1.35
14	28.96	反式-3,7-二甲基-2,6-辛二烯 (2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl, (Z)-)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	1.32
15	29.93	龙脑醋酸酯 (Bomyl acetate)	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196	0.50
16	30.16	2-十一酮 (2-Undecanone)	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O	170	1.07
17	30.84	顺式-3,7-二甲基-2,6-辛二烯 (2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl, (E)-)	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	2.33
18	31.57	刺蕊草烯 (Seychellene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.35
19	32.11	胡椒烯 (Copaene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.46
20	32.98	3,7-二甲基-6-辛烯-1-醇醋酸酯 (6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl, acetate)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	198	0.57
21	33.39	1-乙烯基-1-甲基-2,4-二(1-甲基乙烯)环己烷 (Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.64
22	35.28	反式-3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇 醋酸酯 (2,6-Octadien-1-ol, 3,7-dimethyl, acetate, (Z)-)	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	196	3.81
23	35.62	榄香烯 (-Elemene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.25
24	37.23	顺式-金合欢烯 ((E)-Farnesene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.61
25	37.88	反式-金合欢烯 ((Z)-Farnesene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.47
26	37.96	二表-雪松烯 (Di-epi-cedrene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.56
27	38.62	别香木兰烯 (Albatomadendrene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.44
28	39.37	姜烯 (-Zingiberene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	32.24
29	39.58	没药烯 (-Bisabolene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.29
30	39.78	金合欢烯 (-Farnesene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	14.98
31	39.97	香橙烯 (Aromadendrene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.42
32	40.21	反式-佛手柑油烯 (trans- $\beta$ -Bergamotene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.33
33	41.21	倍半菲兰烯 (-Sesquiphyllylandrene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	13.39
34	42.35	(-Gurjunepoxide)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.23
35	44.46	石竹烯 (-Caryophyllene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.45
36	44.88	顺式-3,7,11-三甲基-1,6,10-十二烷三烯-3-醇 (1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl, (E)-)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	0.98
37	52.93	-毕澄茄醇 (-Cadinol)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1.23
38	53.66	库贝醇 (Cubenol)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	0.21
39	54.45	反式-环氧化没药烯 (trans-Z- $\beta$ -Bisabolene epoxide)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.49
40	55.22	-愈创木烯 (-Guaiene)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.32
41	55.48	表蓝桉醇 (Epiglobulol)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	1.31
42	55.93	蓝桉醇 (Globulol)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	0.21
43	57.62	雪松烯-9-醇 (-Cedren-9-ol)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.69
44	59.87	雪松烯-13-醇 (Cedren-13-ol)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.23
45	60.12	反式-香柠檬醇 (Bergamol, Z- $\alpha$ -trans-)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.41
46	61.97	二表-雪松烯-1-氧化物 (Diepicedrene-1-oxide)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.81
47	64.01	6-(1-甲基)-2-甲基-2-庚烯醇 (6-(1-Tolyl)-2-methyl-2-heptenol)	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub> O	218	0.38
48	64.30	反式-香柠檬醇 (Bergamol, Z- $\alpha$ -trans-)	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> O	220	0.21
49	68.05	3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烷三烯-1-醇 (2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl)	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	222	0.43

在进行方差分析中,为了计算  $F$  值和  $P$  值,需要根据对试验因素的了解,指定试验数据中的某一或某几个交互作用项为误差项。对于认为不影响或

基本不影响结果的因素(包括交互作用),其离差平方和可以合并到误差项中以增加精密度。在正交设计(下转第 50 页)

置三氧化二铝坩埚中,按实验条件程序升温,分别对上述 6 个样品进行热图谱扫描,每个样品重复 3 次。

## 2 结果与讨论

2.1 每个样品重复 3 次,均完全再现。为方便比较,通过本仪器的热分析应用软件将 6 个样品的原始差热图谱曲线从曲线 1 到曲线 6 依次逐个提高 30  $\mu\text{V}$  排列在同一个坐标上,如图 1。

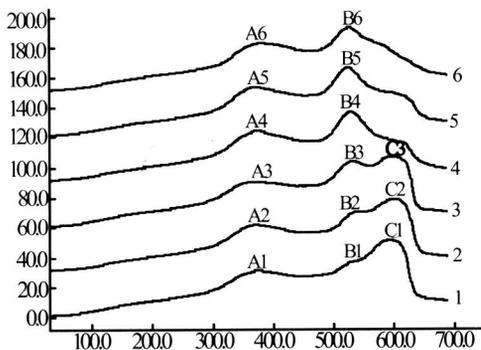


图 1 不同产地青箱子 and 鸡冠花子的 DTA 图谱

1. 青箱子 (广东湛江); 2. 青箱子 (江苏南京)
3. 青箱子 (浙江雁荡); 4. 鸡冠花子 (四川成都)
5. 鸡冠花子 (北京); 6. 鸡冠花子 (浙江东清)

2.2 1~3 号曲线为 3 个不同产地青箱子的热图谱,从图中可以看出,它们均有 3 个放热峰,具有相同的峰形及图谱特征,此特征可作为青箱子的热谱指纹。其中个别峰的大小存在差异,是由于不同产地青箱子中所含某种成分的含量高低所致。

2.3 4~6 号曲线为 3 个不同产地鸡冠花子的热图谱,图中显示,它们均有 2 个明显的放热峰,具有相同的峰形及图谱特征,此特征同样可作为鸡冠花子的热谱指纹。

2.4 图中显示,1~6 号曲线中的 6 个 A 峰及 6 个 B 峰的峰位、峰的形态相似,较好地印证了青箱子和鸡冠花子的同属关系。而青箱子的热谱曲线明显地比鸡冠花子的热谱曲线多了一个 C 峰,很好地显示了它们的种间差别,据此可作为鉴别青箱子和鸡冠花子的依据。

2.5 本文通过差热分析法对样品进行热谱扫描,较好地实现了对青箱子及其混淆品鸡冠花子的鉴别,该法为形态特征区别不明显且组织构造特征较为相似的同属植物药材的鉴别提供了有用的信息。

差热分析方法用于中药鉴别具有方便、快速、准确、重复性好、样品用量少等优点,可为中药材的鉴别提供另一有效的手段,值得推广应用<sup>[7]</sup>。

## 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 137.
- [2] 阴焱宏. 青箱子水提物 CE 对 D-半乳糖胺/脂多糖诱导的急性肝损伤大鼠 NK 细胞活性的影响 [J]. 国外医学. 中医中药分册, 1999, 21 (06): 31.
- [3] 黄秀榕, 祁明信, 王 勇, 等. 十一种归肝经明目中药对 Fen-ton 反应所致晶状体氧化损伤防护作用的研究 [J]. 中药药理学, 2003, 21 (10): 1650.
- [4] 黄秀榕, 祁明信, 汪朝阳, 等. 四种归肝经明目中药防护晶状体氧化损伤和上皮细胞凋亡的研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9 (04): 441.
- [5] 单俊杰, 任晋玮, 杨 静, 等. 青箱子提取物降血糖活性的研究 [J]. 中国药理学杂志, 2005, 40 (16): 1230.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 135.
- [7] 林锦明, 张汉明, 赵长文. 关黄柏与川黄柏的差热分析法鉴别 [J]. 中国中药杂志, 1995, 20 (8): 457

收稿日期: 2008-05-13

(上接第 48 页)

计中,如果没有重复实验,又无空白项时,常取其中某一离均差平方和最小项作为误差估计。本实验选择离均差平方和最小的超声时间 (B) 最为误差项,用以检验其他因素作用的显著性,可以体现提取时间 (D) 对得率有显著的影响。

挥发油是干姜中的主要活性成分,本实验优化了挥发油提取的条件,并且工艺验证试验结果表明提取率高,稳定性好。

在 GC-MS 图谱研究中,色谱峰分离良好,图谱稳定,具有一定的代表性,可以为干姜挥发油的指纹图谱和质量控制提供基础。表 3 中可以看出鉴定出的 49 种化合物,占挥发油总量的 99.4%。这

些成分主要是萜类化合物,其中相对含量最高的 3 种成分分别为 姜烯、金合欢烯和 倍半菲兰烯,分别占挥发油总量的 32.24%、14.98% 和 13.39%。

## 参考文献:

- [1] 中国药典 2005 版. 一部 [S]. 2005: 12.
- [2] 林 渊, 王华楠. 论干姜在血证中的运用 [J]. 河南中医学院学报, 2006, 21 (2): 37.
- [3] 吴建华, 张丽君. 药用姜研究进展 [J]. 陕西中医学院学报, 2002, 25 (1): 61.
- [4] 肖培根, 李大鹏, 杨世林. 新编中药志 (第一卷) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 48

收稿日期: 2008-06-12