

气相色谱-质谱技术分析姜油树脂中的挥发性及非挥发性成分

战琨友¹, 王超¹, 徐坤¹, 尹洪宗²

(1. 作物生物学国家重点实验室 山东农业大学园艺科学与工程学院, 山东 泰安 271018 ;

2. 山东农业大学化学与材料科学学院, 山东 泰安 271018)

摘要 :用超临界 CO₂ 萃取生姜根茎中的姜油树脂,并用气相色谱-质谱联用技术对其进行了成分分析。从姜油树脂中分析出 77 种化合物,其中挥发油成分 50 种,主要是 α -姜烯(22.29%)、 β -倍半水芹烯(8.58%)、 α -法尼烯(3.93%)、 β -没药烯(3.87%)和 α -姜黄烯(2.63%)等倍半萜类化合物;姜辣素成分 27 种,主要成分为 6-姜酚(9.38%)、6-姜烯酚(7.59%)和分析过程中由姜酚类或姜烯酚类化合物受热分解而形成的姜油酮(9.24%)。在姜辣素成分中 β -异姜酚、(Z)-10-异姜烯酚和(E)-10-异姜烯酚 3 种化合物是新发现的未见报道的化合物。实验中对这 3 种新化合物进行了质谱裂解分析。

关键词 :超临界萃取;气相色谱-质谱联用技术;姜油树脂;成分分析

中图分类号 :O658 文献标识码 :A 文章编号 :1000-8713(2008)06-0692-05 栏目类别 :研究论文

Analysis of volatile and non-volatile compositions in ginger oleoresin by gas chromatography-mass spectrometry

ZHAN Kunyou¹, WANG Chao¹, XU Kun¹, YIN Hongzong²

(1. State Key Laboratory of Crop Biology, College of Horticulture Science and Engineering, Shandong

Agricultural University, Tai'an 271018, China; 2. College of Chemistry and Material Science,

Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract :Ginger oleoresin was extracted from *Zingiber officinale* Rosc. var. Laiwudajiang by the technique of supercritical fluid extraction. Gas chromatography and mass spectrometry technique were employed to analyze the ginger oleoresin. This analysis resulted in the detection of 3 hitherto unknown natural compounds, 24 compounds previously reported as pungent compounds and 50 volatile compounds from ginger. The volatile compounds were mainly α -zingiberene (22.29%), β -sesquiphellandrene (8.58%), α -farnesene (3.93%), β -bisabolene (3.87%), α -curcumene (2.63%), which were mostly consisted of sesquiterpene hydrocarbons. The pungent compounds of ginger were mainly 6-gingerol (9.38%), 6-shogaol (7.59%), zingerone (9.24%) produced by the thermal degradation of gingerols or shogaols. The mass spectral fragmentation patterns for the three new compounds (6-isogingerol, (Z)-10-isoshogaol, (E)-10-isoshogaol) are discussed and interpreted.

Key words : supercritical fluid extraction (SFE); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); ginger oleoresin; component analysis

生姜(*Zingiber officinale* Rosc.)具特殊的辛辣芳香气味,其活性成分主要是含有 4'-羟基-3'-甲氧基苯官能团的姜辣素成分^[1],这些活性成分具有较高的食用价值和药用价值。自 1964 年 Nigam 等^[2]从姜油中鉴定了 9 种新的化合物以来,国外已陆续有文献报道从生姜中分离、提取和鉴定了多个

活性成分^[3-8]。国内虽有利用气相色谱-质谱(GC-MS)分析生姜提取物成分的报道^[9-11],但因选用品种不同,分析结果有较大的差异。特别是由于受分析条件及技术的限制,对低沸点成分——挥发油的鉴定较多,而代表生姜特征辛辣风味的姜辣素类化合物的鉴定未见详细报道。由于天然产物成分

收稿日期 2008-04-05

第一作者:战琨友,博士,主要研究方向为蔬菜与营养分析。Tel:(0538)8241783,E-mail:superus@sdau.edu.cn.

通讯联系人:徐坤,博士,教授,主要研究方向为蔬菜品质生理。Tel:(0538)8241783,E-mail:xukun@sdau.edu.cn.

尹洪宗,博士,教授,主要研究方向为分析化学。Tel:(0538)8249248,E-mail:hzyin@sdau.edu.cn.

基金项目:国家“948”项目(引进国际先进农业技术科技项目 X No. 2006-G15)。

复杂,尤其是一些非稳定成分在传统的高温提取过程中往往容易分解,影响分析结果,为此我们以莱芜大姜这一中国名优生姜品种为试材,采用低温超临界萃取技术分离提取了姜油树脂,并用 GC-MS 对未经修饰的姜油树脂进行了成分分析,旨在为生姜精深加工提供参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂和原料

仪器:QP2010 Plus GC-MS 仪(日本 Shimadzu);HA221-50-06 型超临界 CO₂ 萃取装置(南通华安超临界萃取有限公司);RE52-99 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂)。

试剂:二氯甲烷(色谱纯,天津市巴斯夫化工有限公司)、无水硫酸钠(分析纯,山东海化集团潍坊鲁星试剂有限公司)。

原料:刚收获的莱芜大姜新鲜根茎。

1.2 样品的制备及前处理

姜油树脂的提取:将生姜清洗、切片、烘干(温度 45 °C,烘干后的含水量为 13% 左右)、粉碎(过 40 目筛),取此姜粉 100 g,在温度 38 °C、压力 25 MPa 条件下,用超临界 CO₂ 萃取装置萃取 2 h。因萃取前清洗萃取装置时会残存少量的乙醇,所以萃取后再经真空旋转蒸发(30 °C)浓缩,然后加入无水硫酸钠脱水,得姜油树脂,在 -20 °C 条件下保存备用。

样品前处理:取约 20 mg 姜油树脂溶于 10 mL 二氯甲烷中,上柱前用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤。

1.3 GC-MS 测定条件

色谱条件:色谱柱为 Rtx-5 ms 柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);载气为氦气,流速为 1.2 mL/min;进样量为 1 μL,分流比为 10:1;升温程序为 80 °C(3 min) $\xrightarrow{20\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 140 °C(2 min) $\xrightarrow{6\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 230 °C(3 min) $\xrightarrow{15\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 260 °C(5 min)。

质谱条件:电离方式为电子轰击电离(EI),电离能 70 eV;扫描时间间隔为 1 s,扫描范围为 m/z 45 ~ 550;接口温度为 250 °C,离子源温度为 230 °C;电子倍增管电压为 800 V。

2 结果与讨论

2.1 姜油树脂的化学成分

超临界 CO₂ 萃取的姜油树脂经 GC-MS 分析所得的总离子流色谱图见图 1。经检索 NIST 05 质谱库、参照相关文献[5,7-11]及根据各组分的特征性碎片离子进行人工解谱,在莱芜大姜姜油树脂中共分析出 77 种成分,其中挥发油成分 50 种;姜辣素

成分 27 种,其中 3 种为新的化合物。以峰面积归一法确定各组分的相对含量。

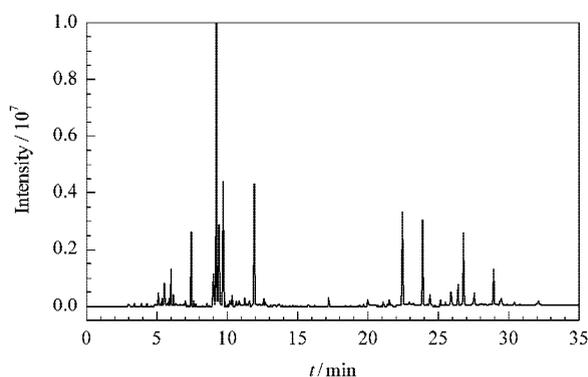


图 1 姜油树脂的总离子流色谱图
Fig. 1 Total ion current chromatogram of ginger oleoresin from *Zingiber officinale* Rosc.

从嗅觉和味觉上可将姜油树脂中的化学成分分为两大类:一类为与芳香性有关的挥发性物质——挥发油,其化学成分主要为萜类物质(见表 1);另一类为使生姜呈现特征辛辣风味的混合物——姜辣素,其化学成分主要为含有 4'-羟基-3'-甲氧基苯官能团的酚类化合物(见表 2)。

由表 1 可知,使生姜具有香味的挥发油成分的保留时间均小于 19 min,相对含量为 59.31%。主要为萜类及其氧化物,且以倍半萜为主(50.15%),其中主要成分为 α -姜烯(α -zingiberene, 22.29%)、 β -倍半水芹烯(β -sesquiphellandrene, 8.58%)、 α -法尼烯(α -farnesene, 3.93%)、 β -没药烯(β -bisabolene, 3.87%)和 α -姜黄烯(α -curcumene, 2.63%)。

Jolad 等^[7]认为姜油酮(zingerone)、甲基醚姜油酮(zingerone methyl ether)和脱氢姜油酮(dehydrozingerone)3 种化合物并不是生姜中的天然成分,它们是由姜辣素成分在分析过程中受热分解所形成的产物,所以将这 3 种化合物也列为姜辣素成分。由表 2 可知,除了这 3 种姜辣素热降解产物外,其他难挥发性的姜辣素成分的保留时间均大于 19 min,相对含量为 40.69%。其中主要成分为 6-姜酚(6-gingerol, 9.38%)、6-姜烯酚(6-shogaol, 7.59%)及姜辣素类的分解产物姜油酮(zingerone, 9.24%)。其中 6-异姜酚(6-isogingerol)、(Z)-10-异姜烯酚((Z)-10-isoshogaol)和(E)-10-异姜烯酚((E)-10-isoshogaol)3 种化合物为从生姜中新发现的化合物。

2.2 3 个新的化合物的质谱解析

每一种化合物均根据其特有的裂解方式、分子离子峰、辅助峰、与其同系物的质谱结果进行比较以及相关报道进行鉴定。表 2 中除了甲基醚姜油酮和

表 1 超临界 CO₂ 萃取得到的姜油树脂的挥发油成分

Table 1 Chemical compositions of volatile oil in ginger oleoresin obtained with supercritical carbon dioxide extraction

Retention time/min	Compound	Similarity ¹⁾	Relative cont. ²⁾ /%
2.88	octanal	93	tr ³⁾
3.38	1 β -cineole	92	0.08
4.24	β -linalool	85	0.13
4.91	β -citronellal	82	0.03
5.09	borneol	96	0.61
5.21	4-terpinenol	87	0.05
5.35	α -terpineol	96	0.32
5.50	decanal	93	1.77
5.71	citronellol	93	0.11
5.86	<i>trans</i> -citral	88	0.61
5.97	geraniol	96	0.61
6.15	<i>cis</i> -citral	94	1.00
6.33	1- α -bornyl acetate	95	0.15
6.36	2-undecanone	93	0.10
6.89	δ -elemene	93	0.11
7.02	geranic acid	88	0.19
7.28	cycloisositivene	84	0.10
7.41	geranyl acetate	94	2.16
7.60	β -elemene	92	0.36
7.75	<i>trans</i> - α -bergamotene	84	0.21
8.05	caryophyllene	87	tr
8.23	α -bergamotene	89	0.11
8.51	(<i>E</i>)- β -farnesene	90	0.34
8.56	(<i>Z</i>)- β -farnesene	87	0.14
8.71	aromadendrene	93	0.09
8.92	γ -selinene	83	0.24
8.99	α -curcumene	93	2.62
9.03	germacrene D	93	0.92
9.22	α -zingiberene	94	22.29
9.32	γ -cadinene	88	1.02
9.38	α -farnesene	94	3.93
9.42	β -bisabolene	91	3.87
9.55	(+)-epi-bicyclosesquiphellandrene	91	0.25
9.68	β -sesquiphellandrene	96	8.58
9.82	α -patchoulene	85	0.32
10.00	ledene oxide	82	0.15
10.14	4-ethenyl- α , α , 4-trimethyl-3-(1-methylethenyl)-cyclohexanemethanol	95	0.66
10.24	dodecanoic acid	93	0.10
10.32	4,11,11-trimethyl-8-methylenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	89	0.66
10.61	coniferol	85	0.40
10.82	(-)- α -bisabolol	85	0.64
11.11	(<i>E</i>)-farnesene epoxide	81	0.14
11.23	(+)- α -bisabolol	85	0.70
11.42	cubenol	84	0.25
11.54	nerolidol acetate	82	0.63
12.24	<i>cis</i> -(<i>Z</i>)- α -bisabolene epoxide	84	0.40
12.56	2 β -octadiene-1 β -diol, 2 β -dimethyl-	80	0.68
13.27	nuciferol	81	0.12
13.67	(<i>Z</i>)- α - <i>trans</i> -bergamotol	83	0.27
15.21	(<i>Z</i> , <i>E</i>)-farnesol	91	0.09

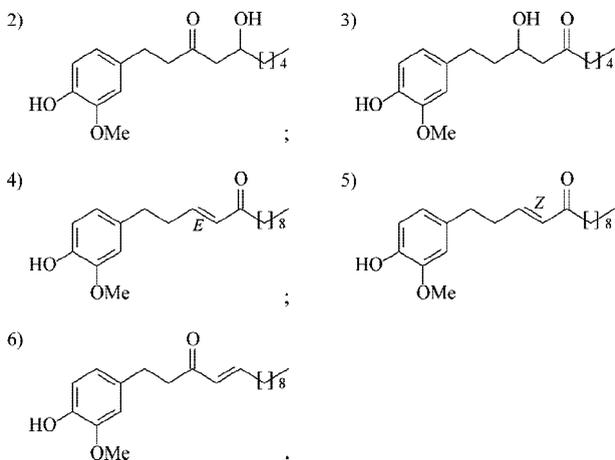
1) with NIST 05 ; 2) determination by peak area normalization method ; 3) tr : trace.

表 2 超临界 CO₂ 萃取得到的姜油树脂的姜辣素成分

Table 2 Chemical compositions of pungent compounds in ginger oleoresin obtained with supercritical carbon dioxide extraction

Retention time/min	Compound	Molecular ion (m/z)	Base peak (m/z)	Relative cont. ¹⁾ /%
11.90	zingeron	194	137	9.24
12.67	zingeron methyl ether	208	151	0.45
14.79	dehydrozingeron	192	177	0.10
19.26	4-shogaol	248	137	0.12
20.70	4-gingerol	266	137	0.14
21.36	(<i>E</i>)-6-shogaol	276	137	0.23
21.50	6-paradol	278	137	0.63
22.22	5-gingerol	280	137	0.06
22.43	(<i>Z</i>)-6-shogaol	276	137	7.36
22.91	6-gingerdione	292	137	1.24
23.22	diacetoxy-4-gingerdiol	352	137	0.30
23.88	6-gingerol ²⁾	294	137	9.38
24.17	6-isogingerol ³⁾ *	294	137	0.16
24.26	methyl 6-gingerol	308	151	0.11
24.74	8-paradol	306	137	0.04
25.12	acetoxy-6-gingerol	336	137	0.79
25.48	6-gingerdiol	296	137	0.43
25.89	8-shogaol	304	137	1.42
26.37	diacetoxy-6-gingerdiol	380	137	2.20
26.59	8-gingerdione	320	137	0.39
27.53	8-gingerol	322	137	1.36
27.85	(<i>E</i>)-10-isoshogaol ⁴⁾ *	332	137	0.06
27.94	(<i>Z</i>)-10-isoshogaol ⁵⁾ *	332	137	0.09
28.16	10-paradol	334	137	0.03
28.89	10-shogaol ⁶⁾	332	137	2.36
29.42	10-gingerdione	348	137	1.67
30.37	10-gingerol	350	137	0.33

* not previously reported from ginger. 1) determination by peak area normalization method ;



甲基 6-姜酚(methyl 6-gingerol)的 4'-羟基被甲基化外,其他化合物均含有 4'-羟基-3'-甲氧基苯基团,且主链 C₃ 上有一个取代基(结构式略)。此外,苯环 C_{4'} 上的羟基易发生甲基化生成甲基醚衍生物。除了姜酮酚(paradols)外,所有的化合物在主链 C₅

上均有一个取代基或 C_4/C_5 双键。姜辣素成分的主要质谱裂解路线发生于主链的 C_1 , C_3 和 C_5 上^[7,8], 可根据姜辣素的分子离子峰和基峰 m/z 137 (4'-羟基-3'-甲氧基苯) 对化合物的结构进行推导。其甲基化衍生物的基峰上移 14 个质量单位 (m/z 151), 二醇类则有两个连续的脱水质谱峰 $[M - H_2O]^+$ 和 $[M - 2H_2O]^+$ 。

2.2.1 6-异姜酚

由图 2 可以看出, 6-异姜酚 $[m/z$ 294 ($[M]^+$, 13% (相对丰度, 下同)), 276 (9%), 205 (4%), 180 (6%), 177 (6%), 163 (11%), 162 (5%), 150 (10%), 138 (33%), 137 (100%)] 与 6-姜酚 $[m/z$ 294

($[M]^+$, 19%), 276 (4%), 205 (6%), 194 (6%), 150 (50%), 138 (14%), 137 (100%)] 的质谱图很相似, 但是没有麦氏重排峰 m/z 194, 而出现 m/z 180, 且有 m/z 163 和 m/z 162 质谱峰出现。从这几个关键性的碎片离子可以推断该化合物有姜酚的骨架结构, 但是 C_3 的取代基与 C_5 的取代基发生互换, 即 C_3 为 $-OH$, C_5 为 $C=O$ 。另外, 6-异姜酚的质谱图与 Jolad 等^[7] 报道的 4-异姜酚 (m/z 266) 的质谱图只是其分子离子 (m/z 294) 有差异, 比 4-异姜酚多 2 个 $-CH_2-$ 基团 (28 个质量单位)。所以可以推断此化合物为 6-异姜酚, 其主要碎片离子的可能形成过程见图 3。

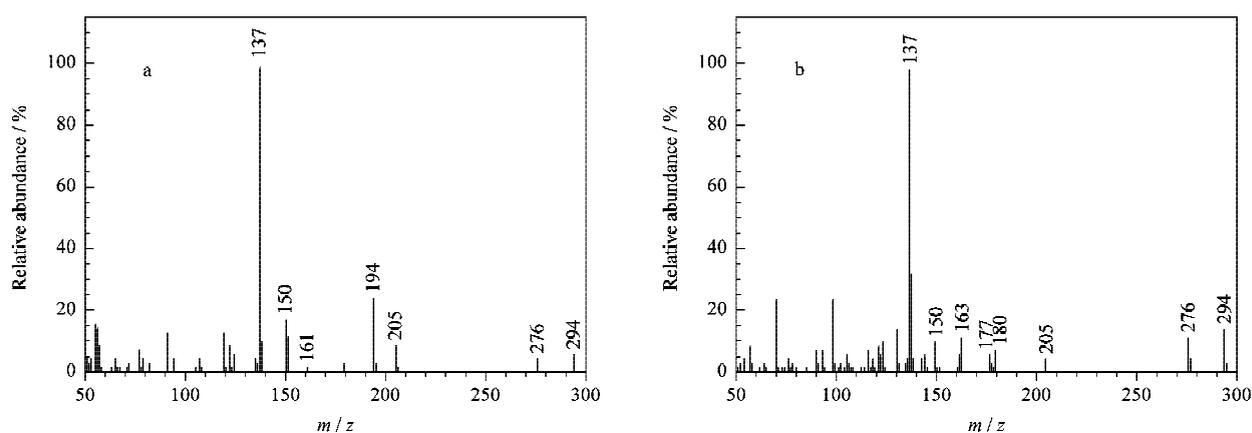


图 2 (a) 6-姜酚与 (b) 6-异姜酚的质谱图

Fig. 2 Mass spectra of (a) 6-gingerol and (b) 6-isogingerol

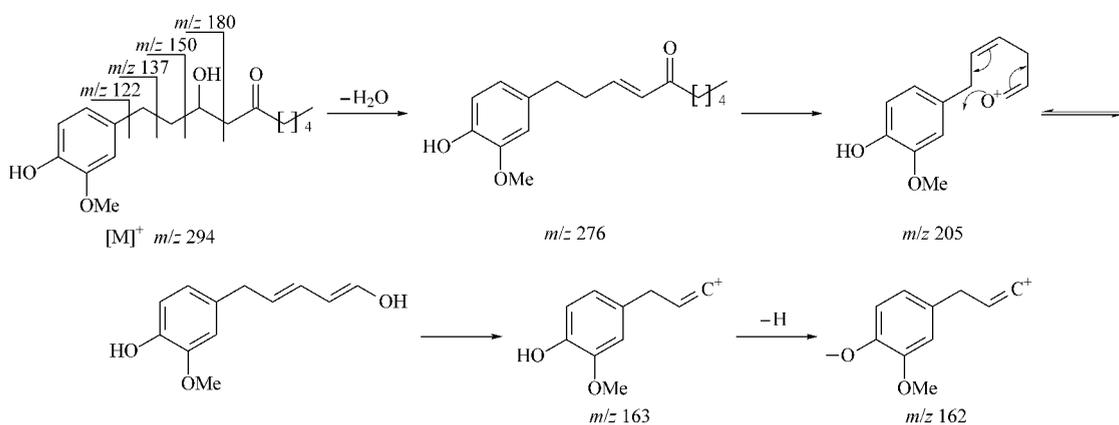


图 3 6-异姜酚的主要碎片离子及裂解路线

Fig. 3 Major fragment ions and mass spectrometric fragmentation route of 6-isogingerol

2.2.2 (*E*)-10-异姜烯酚和 (*Z*)-10-异姜烯酚

新化合物 (*E*)-10-异姜烯酚 $[m/z$ 332 ($[M]^+$, 6%), 151 (3%), 150 (2%), 138 (9%), 137 (100%)] 和 (*Z*)-10-异姜烯酚的保留时间 (分别为 27.85 min 和 27.94 min) 比 10-姜烯酚 $[m/z$ 332 ($[M]^+$, 18%), 205 (57%), 151 (12%), 150 (9%), 138 (10%), 137 (100%), 119 (11%)] 的保留时间 (28.895 min) 短, 根据其质谱图 (见图 4), 10-异姜烯酚有分子离子峰

m/z 332 和基峰 m/z 137, 但没有 C_3 上的 $C=O$ 基团所特有的 m/z 205 和 m/z 119 质谱峰, 说明在 C_3 上没有 $C=O$ 基团。另外, 10-异姜烯酚的质谱图与 Jolad 等^[8] 报道的 6-异姜烯酚 (分子离子峰 m/z 276) 的质谱图只是其分子离子峰 m/z 332 有差异, 比 6-异姜烯酚多 4 个 $-CH_2-$ 基团 (56 个质量单位)。所以我们推断该化合物为 10-异姜烯酚, 其分子结构见表 2。

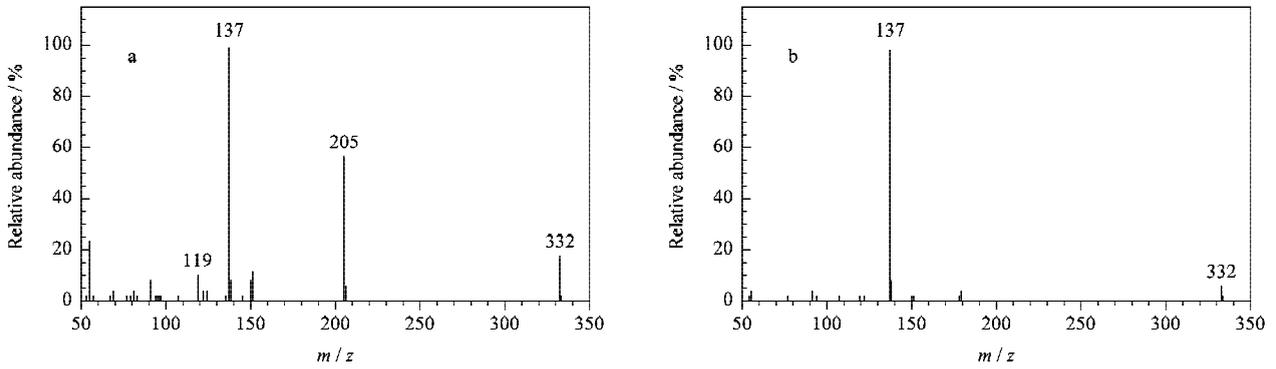


图 4 (a)10-姜烯酚和(b)10-异姜烯酚的质谱图
 Fig. 4 Mass spectra of (a) 10-shogaol and (b) 10-isoshogaol

3 结论

辛辣成分的分析对于具有辛辣味的香料——生姜是十分重要的。研究表明,超临界 CO₂ 萃取技术可以高效提取生姜中的有效成分,且具有提取效率高、不破坏非稳定成分、提取物分离简单等优点,提取的姜油树脂不需要衍生化处理即可直接应用 GC-MS 对化学成分进行分离分析。研究中分析鉴定了 27 种姜辣素成分,并发现了 6-异姜酚、(Z)-10-异姜烯酚和(E)-10-姜烯酚这 3 个新的未见报道的姜辣素化合物。与国内外的文献[7 - 10]相比,莱芜大姜超临界 CO₂ 提取物中的姜辣素成分所占比例高、品质优,相对含量高达 40.69%。

参考文献:

[1] Ali B H , Blunden G , Tanira M O , et al. Food Chem

Toxicol , 2008 , 46 : 409

[2] Nigam M C , Nigam I C , Levi L , et al. Can J Chem , 1964 , 42 : 2 610
 [3] Kikuzaki H , Kobayashi M , Nakatani N. Pytochem , 1991 , 30 (11) : 3 647
 [4] Kikuzaki H , Nakatani N. Pytochem , 1996 , 43(1) : 273
 [5] Onyenekwe P C , Hashimoto S. Eur Food Res Technol , 1999 , 209 : 407
 [6] Ma J P , Jin X L , Yang L , et al. Phytochem , 2004 , 65 : 1 137
 [7] Jolad S D , Lantz R C , Solyom A M , et al. Phytochem , 2004 , 65 : 1 937
 [8] Jolad S D , Lantz R C , Chen G J , et al. Phytochem , 2005 , 66 : 1 614
 [9] Guo Z D , Zhang X N , Zhang J C. Chinese Journal of Chromatography (郭振德, 张相年, 张镜澄. 色谱), 1995 , 13 (3) : 156
 [10] Yu Z , Wu H M , Ding J K. Acta Botanica Yunnanica (余珍, 巫华美, 丁靖垠. 云南植物研究), 1998 , 20(1) : 113
 [11] Hu Y S , Du Q Y , Tang Q H. Chinese Journal of Chromatography (胡永狮, 杜青云, 汤秋华. 色谱), 1998 , 16(6) : 528