

## HS-SPME-GC/MS 对比分析四棱豆叶和花中挥发性成分研究

张 伟<sup>1</sup>,朱晓娣<sup>2</sup>,张娟娟<sup>1</sup>,张 勇<sup>1</sup>,尹震花<sup>1\*</sup><sup>1</sup>黄河科技学院,郑州 450063;<sup>2</sup>河南大学中药研究所,开封 475004

**摘要:**首次采用顶空固相微萃取四棱豆叶和花挥发性成分,气相色谱-质谱联用技术检测其成分,面积归一化法计算各成分的相对含量,并进行比较分析。结果显示,从四棱豆叶挥发油中鉴定出 32 个化学成分,占挥发油总量的 65.60%,其主要成分为十七烷(5.75%)、2-甲基-十六烷(5.29%)、姥鲛烷(5.05%)、3-甲基-十六烷(4.26%)、棕榈酸(3.76%)、2-溴-十二烷(3.14%)、六氢法尼基丙酮(2.95%)、二氢猕猴桃内酯(2.89%)和肉豆蔻醚(2.59%)等,主要由烷烃类(38.25%)、酮类(8.49%)、酸类(3.76%)、酯类(6.76%)和醚类(3.51%)组成;四棱豆花中共鉴定出 33 个化学成分,占挥发油总量的 76.91%,其主要成分为棕榈酸(11.42%)、六氢法尼基丙酮(10.77%)、十七烷(4.79%)、十六烷(4.69%)、肉豆蔻醚(3.88%)、姥鲛烷(3.42%)、2-溴-十二烷(3.10%)、3-甲基-十六烷(2.97%)、油酸(2.50%)和己酸(2.43%),主要由烷烃类(29.42%)、酮类(13.29%)、酸类(19.51%)、酯类(5.89%)和醚类(4.71%)组成。两者共有成分 23 个,种类与种数存在一定差异,且其相对含量也存在明显差异,这些成分赋予了肉豆蔻花和叶药理作用的差别。

**关键词:**四棱豆;叶;花;挥发性成分;顶空固相微萃取;气相色谱-质谱

中图分类号:R284.2

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2015.10.009

## Contrastive Analysis of Volatile Components in Leaves and Flowers of *Psophocarpus tetragonolobus* (Linn.) DC.

ZHANG Wei<sup>1</sup>, ZHU Xiao-di<sup>2</sup>, ZHANG Juan-juan<sup>1</sup>, ZHANG Yong<sup>1</sup>, YIN Zhen-hua<sup>1\*</sup><sup>1</sup>Huanghe Science and Technology College, Zhengzhou 450063, China;<sup>2</sup>Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China

**Abstract:** The volatile components in leaves and flowers of *Psophocarpus tetragonolobus* (Linn.) DC. were extracted by headspace solid phase microextraction for the first time, and their chemical components were identified by GC-MS and relative content of the components were calculated with peak area normalization method. The results showed that 32 compounds, representing 65.60% of the total of volatile compounds, were identified from the leaves. The main components were heptadecane (5.75%), 2-methyl-hexadecane (5.29%), pristane (5.05%), 3-methyl-hexadecane (4.26%), palmitic acid (3.76%), 2-bromo dodecane (3.14%), hexahydrofarnesylacetone (2.95%), dihydroactinidiolide (2.89%) and myristicin (2.59%), and was mainly composed of alkanes (38.25%), ketones (8.49%), acids (3.76%), esters (6.76%) and ethers (3.51%). 33 compounds were identified from flowers, which comprised 76.91% of the volatile fraction. The main components were plamitic acid (11.42%), hexahydrofarnesylacetone (10.77%), heptadecane (4.79%), hexadecane (4.69%), myristicin (3.88%), pristane (3.42%), 2-bromo dodecane (3.10%), 3-methyl-hexadecane (2.97%), oleic acid (2.50%) and hexanoic acid (2.43%), and was mainly composed of alkanes (29.42%), ketones (13.29%), acids (19.51%), esters (5.89%) and ethers (4.71%). 23 compounds were common in both parts of *P. tetragonolobus* with different quantities. These ingredients gave different pharmacological activity between leaves and flowers of *P. tetragonolobus*.

**Key words:** *Psophocarpus tetragonolobus* (Linn.) DC.; leaves; flowers; volatile constituents; HS-SPME; GC-MS

收稿日期:2015-05-06

接受日期:2015-08-26

基金项目:河南省高等学校青年骨干教师资助计划(2013GGJS-220);郑州市科技局科技攻关计划(20120684;20140790);河南省科技厅重点科技攻关(142102310147);河南省教育厅高等学校重点科研项目(15A310022)

\* 通讯作者 Tel:86-371-87541018; E-mail: yinzhenhua1000@126.com

四棱豆为豆科四棱豆属植物,原产于亚洲热带地区,我国云南、广西、广东、海南和台湾均有栽培。四棱豆的嫩叶、嫩荚、种子和块根可作蔬菜食用<sup>[1]</sup>,均含有丰富的可溶性总糖和黄酮类等成分<sup>[2,3]</sup>,此外,种子中还富含蛋白质。四棱豆种子中蛋白质和

脂肪油含量较高,具有较高的营养价值,目前对其研究较多,但鲜见对该植物挥发性成分的报道<sup>[4-7]</sup>。此外,文献研究发现,四棱豆叶的甲醇提取物对绿脓杆菌具有较显著的抑制活性,且对卤虫无明显的毒杀效果<sup>[8]</sup>;四棱豆提取物具有抗氧化活性,可能与其总多酚含量较高有关<sup>[9,10]</sup>。目前,未见对四棱豆叶和花挥发性成分的报道,本文首次采用顶空固相微萃取(HS-SPME)四棱豆叶和花中挥发性成分,气相色谱/质谱联用(GC-MS)技术对其挥发性成分进行分析,为进一步开发利用四棱豆资源提供理论基础。

## 1 材料与仪器

四棱豆的叶与花于2013年7月采集于海南省,由河南大学李昌勤教授鉴定为豆科四棱豆属植物四棱豆 *Psophocarpus tetragonolobus* (Linn.) DC. 的叶和花,标本存放于河南大学中药研究所。

手动固相微萃取(SPME,美国 Supelco 公司),GC 6890 N GC/5975 MS 气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),聚二甲基硅氧烷(PDMS-DVB)萃取纤维头(65  $\mu\text{m}$ ,美国 Supelco 公司), $\text{C}_6\text{-C}_{26}$ 正构烷烃(美国 Alfa Aesar 公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 挥发性成分的提取

使用前先将 SPME 萃取纤维头在气相色谱的进样口老化 10 min,老化温度为 250  $^{\circ}\text{C}$ ,载气体积流量为 1.0 mL/min。取阴干并粉碎的四棱豆的叶与花少量,置于 5 mL 的样品瓶中,盖上盖子,插入萃取纤维头,于 80  $^{\circ}\text{C}$  下顶空取样 30 min 后,取出后立即插入色谱仪进样口(温度 250  $^{\circ}\text{C}$ )脱附 1 min。

### 2.2 GC/MS 分析条件

气相色谱:色谱柱为 DB-5 ms 石英弹性毛细管

柱(0.25  $\mu\text{m} \times 30.0 \text{ m} \times 250.0 \mu\text{m}$ ),载气为高纯氮气(99.999%),流速 1.0 mL/min,进样口温度 250  $^{\circ}\text{C}$ ;升温程序:初始温度为 50  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2.0 min,以 8  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 120  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2 min,最后以 4  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$  升温至 220  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 5 min。分流进样,分流比为 10:1。

质谱条件:离子源为 EI 源,电离能量 70 eV;离子源温度为 230  $^{\circ}\text{C}$ ;四极杆温度 150  $^{\circ}\text{C}$ ;传输线温度为 280  $^{\circ}\text{C}$ ;电子倍增器电压 1776 V。质量扫描范围  $m/z$  30 ~ 400,谱图检索采用 Nist08.L 进行检索。

### 2.3 保留指数测定

按照文献<sup>[11,12]</sup>进行 Kovats 保留指数(Kovats index, KI)计算。

## 3 结果与讨论

按上述实验方法和条件进行实验,对肉四棱豆的叶与花的挥发性成分进行顶空固相微萃取,GC-MS 分析,峰面积归一化法确定各组分在挥发性物质中的相对含量。根据所得的质谱信息并结合有关文献从基峰、相对丰度和 KI 值等几个方面进行直观比较,从而确定了其中的部分化学成分。其结果见表 1。由表 1 可知,四棱豆叶挥发油中共鉴定出 32 个化学成分,占挥发油总量的 65.60%,其主要成分为十七烷(5.75%)、2-甲基-十六烷(5.29%)、姥鲛烷(5.05%)、3-甲基-十六烷(4.26%)、棕榈酸(3.76%)、2-溴-十二烷(3.14%)、六氢法尼基丙酮(2.95%)、二氢猕猴桃内酯(2.89%)和肉豆蔻醚(2.59%);四棱豆花挥发油中共鉴定出 33 个化学成分,占挥发油总量的 76.91%,其主要成分为棕榈酸(11.42%)、六氢法尼基丙酮(10.77%)、十七烷(4.79%)、十六烷(4.69%)、肉豆蔻醚(3.88%)、姥鲛烷(3.42%)、2-溴-十二烷(3.10%)、3-甲基-十六烷(2.97%)、油酸(2.50%)和己酸(2.43%)。

表 1 四棱豆叶和花中挥发性成分及相对百分含量

Table 1 Volatile components and relative content in leaves and flowers of *P. tetragonolobus*

t (min)	化合物 Compounds	叶		KI 计算值/ 参考值 Calculated value/ Reference value	相似度 Similarity	定性方法 Qualitative method
		Leaves (%)	Flowers (%)			
2.142	3-methyl-Butanal 3-甲基-丁醛	0.62	-	751/681 <sup>[13]</sup>	91	MS, KI
4.056	Hexanal 己醛	-	0.51	793/801 <sup>[12]</sup>	94	MS, KI
7.644	Hexanoic acid 己酸	-	2.43	976/957	94	MS, KI
9.475	2-Pyrrolidinone 2-吡咯烷酮	0.17	-	1065	90	MS

11.023	Pyranone 吡喃酮	1.09	-	1139/1146 <sup>[12]</sup>	93	MS, KI
12.105	2-Decanone 2-癸酮	-	0.54	1190/1193	91	MS, KI
14.036	Nonanoic acid 壬酸	-	1.42	1262/1263	93	MS, KI
14.86	Safrole 黄樟素	-	0.76	1292/1284	95	MS, KI
16.808	4-Nonanolide 4-壬内酯	-	1.36	1359/1364	90	MS, KI
19.422	Geranylacetone 香叶基丙酮	0.87	0.73	1447 /1447 <sup>[12]</sup>	90/92	MS, KI
20.287	Dehydroionone 脱氢紫罗酮	0.35	-	1476/1476 <sup>[12]</sup>	97	MS, KI
20.362	( <i>E</i> )- $\beta$ -Ionone ( <i>E</i> )- $\beta$ -紫罗酮	1.22	-	1479	96	MS
21.028	Pentadecane 十五烷	1.13	1.15	1501/1500	96/96	MS, KI
21.486	Dibenzofuran 二苯并呋喃	0.63	0.96	1517/1545	90/90	MS, KI
21.577	Myristicin 肉豆蔻醚	2.59	3.88	1520/1525	98/98	MS, KI
21.802	Dihydroactinidiolide 二氢猕猴桃内酯	2.89	1.19	1528/1553	96/97	MS, KI
22.302	Elemicin 榄香素	0.92	0.83	1545/1550	93/93	MS, KI
22.426	6,9-dimethyl-Tetradecane 6,9-二甲基十四烷	0.8	-	1549	92	MS
22.701	4-methyl-Pentadecane 4-甲基十五烷	1.39	0.76	1559/1554 <sup>[14]</sup>	92/93	MS, KI
22.884	2-methyl-Pentadecane 2-甲基十五烷	1.88	1.51	1565/1559 <sup>[14]</sup>	93/96	MS, KI
23.084	3-methyl-Pentadecane 3-甲基十五烷	1.38	1.04	1572	96/90	MS
23.276	Spathulenol 桉油烯醇	-	1.86	1578/1577	99	MS, KI
23.4	Fluorene 芴	1.28	2.00	1583	94/95	MS
23.608	3,4-Ditolyl 3,4-联甲苯	1.79	-	1590	95	MS
23.841	( <i>Z</i> )-7-Hexadecene ( <i>Z</i> )-7-十六烯	1.21	-	1598	94	MS
23.941	Hexadecane 十六烷	3.61	4.69	1601/1600	98/98	MS, KI
24.133	6-Tetradecanesulfonic acid, butyl ester 6-十四烷磺酸丁酯	2.39	1.96	1608	90/91	MS, KI
25.265	2-Bromo dodecane 2-溴-十二烷	3.14	3.10	1649	90/93	MS, KI
25.731	2-methyl-Hexadecane 2-甲基-十六烷	5.29	1.7	1665/1664 <sup>[14]</sup>	97/94	MS, KI
25.931	3-methyl-Hexadecane 3-甲基-十六烷	4.26	2.97	1672	92/92	MS
26.746	Heptadecane 十七烷	5.75	4.79	1701/1700	96/96	MS, KI
26.846	Pristane 姥鲛烷	5.05	3.42	1705	90/91	MS
28.794	Diphencyclopentenone 二苯基环丙烯酮	1.84	1.25	1778	91/93	MS
29.427	Octadecane 十八烷	1.1	0.72	1801/1800	98/98	MS, KI
29.601	Phytane 植烷	2.19	1.57	1808/1814	97/91	MS, KI
30.45	hexahydrofarnesylacetone 六氢法尼基丙酮	2.95	10.77	1841/1842	99/99	MS, KI
30.842	Diisobutyl phthalate 邻苯二甲酸二异丁酯	1.48	1.38	1856/1873	95/90	MS, KI
33.455	Palmitic acid 棕榈酸	3.76	11.42	1961/1961	99/99	MS, KI
37.359	Linoleic acid 亚油酸	-	1.01	2125/2133	99	MS, KI
37.525	Oleic Acid 油酸	-	2.50	2132/2137	99	MS, KI
37.484	( <i>Z</i> )-9,17-Octadecadienal ( <i>Z</i> )-9,17-十八碳二烯醛	0.58	-	2130	95	MS
38.083	Stearic acid 硬脂酸	-	0.73	2156/2186	99	MS, KI
		65.60	76.91			

注:未标注参考文献的参考值由 www.vcf-online.nl 检索而得。

Note: Reference values that not marked references were retrieved by www.vcf-online.nl.

由化合物结构类型进行分析可以看出,四棱豆 叶挥发性成分结构类型主要由烷烃类(38.25%)、

酮类(8.49%)、酸类(3.76%)、酯类(6.76%)和醚类(3.51%)组成,此外还含有少量的呋喃类(0.63%)、醛类(1.20%)、芳香族类(1.79%)和烯炔(1.21%);肉豆蔻花主要由烷烃类(29.42%)、酮类(13.29%)、酸类(19.51%)、酯类(5.89%)和醚

类(4.71%)组成,另外还含有少量的呋喃类(0.96%)、醛类(0.51%)、芳香族类(0.76%)和醇类(1.86%),结果见表2。可见,四棱豆叶和花中挥发性成分的种类与种数存在一定差异,且其相对含量也存在明显差异。

表2 四棱豆叶和花挥发性成分结构类型

Table 2 Structure types of volatile components in leaves and flowers of *P. tetragonolobus*

化合物类型 Compound types	叶 Leaves		花 Flowers	
	数量 Amount	相对含量 Relative content (%)	数量 Amount	相对含量 Relative content (%)
烷烃类	14	38.25	13	29.42
酮类	7	8.49	4	13.29
酸类	1	3.76	6	19.51
酯类	3	6.76	4	5.89
醚类	2	3.51	2	4.71
呋喃类	1	0.63	1	0.96
醛类	2	1.20	1	0.51
芳香族类	1	1.79	1	0.76
烯炔	1	1.21	0	0
醇类	0	0	1	1.86
总计	32	65.60	33	76.91

文献报道,四棱豆种子挥发性成分主要含有 $\alpha$ -桉叶醇(9.36%)、*D*-橙花叔醇(7.53%)、 $\beta$ -桉叶醇(7.44%)、 $\beta$ -石竹烯(7.19%)、 $\gamma$ -桉叶醇(4.47%)、4-烯丙基-1,2-亚甲二氧基苯(3.52%)、 $\alpha$ -石竹烯(2.69%)、1-氯-正十四烷(2.84%)和 $\delta$ -杜松萜烯(1.85%)等,由烷烃类(4.52%)、烯炔类(15.64%)、醇类(34.61%)、醛类(3.48%)、酮类(27.44%)、酸类(0.31%);酯类(6.25%)、杂环类(0.96%)和芳香族类(3.52%)等组成<sup>[15]</sup>。这与四棱豆叶和花的挥发性成分种类、总量具有明显差异,这些成分不同赋予了肉豆蔻种子与花和叶药理作用的差别。

挥发性成分具有一定的生物活性。在四棱豆叶和花中均含有含量较高的烷烃,如十七烷、十六烷、2-甲基十六烷和3-甲基-十六烷等,饱和脂肪烃是植物蜡质的主要成分,对植物起着保护的作用,并且一旦形成就不再参与物质代谢,是新陈代谢末端的产物<sup>[16]</sup>。可见,这些烷烃在叶被和花被上,对其起保护作用,避免其害虫等成分的破坏;棕榈酸是一种不饱和脂肪酸,人体最重要的产能脂肪酸,能够抑制MIN6细胞的生长和复制,显示出其对 $\beta$ -细胞的细胞毒性作用<sup>[17]</sup>,且可以诱导大鼠主动脉内皮细胞凋

亡;二氢猕猴桃内酯具有木香、茶香、桃子样等香气,用于调配食品香精和烟用香精,能明显的掩盖杂气和增香;六氢法尼基丙酮和香叶基丙酮香味物质的产生与高级脂肪酸的代谢有很大的相关性,根据这些成分的药效作用就可以推测四棱豆叶和花的药理作用,同理也可以根据其药理实验结果反过来寻找新的药效成分。

## 4 结论

本文首次采用顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术快速检测四棱豆叶和花中的挥发性成分。从四棱豆叶挥发油中鉴定出32个化学成分,占挥发油总量的65.60%,主要由烷烃类(38.25%)、酮类(8.49%)、酸类(3.76%)、酯类(6.76%)和醚类(3.51%)组成;四棱豆花中共鉴定出33个化学成分,占挥发油总量的76.91%,主要由烷烃(29.42%)、酮类(13.29%)、酸类(19.51%)、酯类(5.89%)和醚类(4.71%)组成。叶和花中化合物种类与相对含量的差异赋予了其药理作用的差别。顶空固相微萃取结合气相色谱-质谱联用技术实现了四棱豆叶和花挥发性成分的快速检测,为进一步

开发利用四棱豆资源提供理论基础。

### 参考文献

- 1 Chinese Academy of Science Chinese Flora Writers (中国科学院《中国植物志》编委会). Chinese Flora (中国植物志). Beijing: Science Press, 1995, 41: 268.
- 2 Quan MH (全妙华), Chen DM (陈东明). The determination of soluble total sugar content in winged bean. *J Huaihua Univ* (怀化学院学报), 2008, 27(8): 52-53.
- 3 Quan MH (全妙华), Chen DM (陈东明). Study on the flavonoid content in winged bean. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2006, 17: 1907-1909.
- 4 Mohanty CS, Pradhan RC, Singh V, et al. Physicochemical analysis of *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC seeds with fatty acids and total lipids compositions. *J Food Sci Technol*, 2015, 52: 3660-3670.
- 5 Zheng BF (郑兵福), Li BY (李白玉), Fu ZH (傅振华), et al. Analysis of fatty acid composition of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus* DC.) seeds oil. *Sci Technol Food Ind* (食品工业科技), 2010, 31: 342-344.
- 6 Higuchi M, Terao J, Iwai K. Gas chromatography-mass spectrometric determination of fatty acids in seed oil of winged bean [*Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC]. *J Nutr Sci Vitaminol*, 1982, 28: 511-518.
- 7 Jiang LW, Zheng BF, Li BY, et al. Analysis of the volatile substances in *Psophocarpus tetragonolobus* D. C seeds. *Med Plant*, 2011, 2(8): 37-40.
- 8 Yoga Latha L, Sasidharan S, Zuraini Z, et al. Antibacterial activity and toxicity of *Psophocarpus tetragonolobus*. *Pharm Biol*, 2007, 45: 31-36.
- 9 Zhu XD (朱晓娣), Lian PL (连朋丽), Zhang D (张丹), et al. Antioxidant activities of *Psophocarpus tetragonolobus* (L.) DC. *J Henan Univ, Med Sci* (河南大学学报, 医学版), 2015, 34: 17-20.
- 10 Mohd Adzim Khalili R, Emynur Shafekh S, Norhayati AH, et al. Total phenolic content and *in vitro* antioxidant activity of winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*). *Pakistan J Nutr*, 2013, 12: 416-422.
- 11 Zhang YB, Kang WY. Volatiles in *Potentilla discolor* by HS-SPME-GC-MS. *Chem Nat Compd*, 2014, 50: 982-983.
- 12 Zhang JJ, Kang WY. Volatiles from Flowers of *Lagerstroemia caudate* by HS-SPME-GC-MS. *Chem Nat Compd*, 2014, 50: 806-807.
- 13 Zhang W (张伟), Lu Y (卢引), Li CQ (李昌勤), et al. HS-SPME-GC-MS analysis of volatile components in the pulp and flesh of *Cucurbita moschata* from Xinmin of Liaoning province. *China Pharm* (中国药房), 2012, 23: 3706-3708.
- 14 Wang JM (王金梅), Ji ZQ (姬志强), Kang WY (康文艺). Volatiles in buds and flowers of *Forsythia suspense*. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2011, 23: 458-463.
- 15 Jiang LW (蒋立文), Zheng BF (郑兵福), Liao LY (廖卢燕), et al. Changes in volatile compounds of *Psophocarpus tetragonolobus* [L.] D. C. seeds before and after *Aspergillus oryzae* fermentation. *Food Sci* (食品科学), 2010, 31: 221-224.
- 16 Kang WY (康文艺), Ji ZQ (姬志强), Wang JM (王金梅), et al. Analysis of the volatile constituents from *Pyrrosia petiolosa* (Christ) Ching. by HS-SPME-GC-MS. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2008, 39: 994-995.
- 17 Cui W (崔巍), Huang T (黄葶), Liu JL (刘均利), et al. Effect of palmitate on proliferation and apoptosis of INS-1 pancreatic  $\beta$ -cell. *Chin J Cell Mol Immunol* (细胞与分子免疫学杂志), 2009, 25: 219-221.

(上接第 1731 页)

- 5 Ko Ko TW, Stephenson SL, Bahkali AH, et al. From morphology to molecular biology: can we use sequence data to identify fungal endophytes? *Fungal Divers*, 2011, 50: 113-120.
- 6 Pena-rodriguez, LM, Armingeon NA, Chilton WS. Toxins from weed pathogens, I. phytotoxins from *Abipolaris* pathogen of Johnson grass. *J Nat Prod*, 1988, 51: 821-828.
- 7 Osterhage C, König GM, Höller U, et al. Rare sesquiterpenes from the Algicolous fungus *Drechslera dematioidea*. *J Nat Prod*, 2002, 65: 306-313.