

五种方法提取生姜挥发油的比较研究

晏菲, 王开亮, 张小飞, 邹俊波, 贾妍卓, 李佳怡, 史亚军*

陕西中医药大学药学院 陕西省中药基础与新药研究重点实验室, 咸阳 712046

摘要:对5种方法提取生姜挥发油进行比较研究。采用水蒸气蒸馏法(steam distillation, SD)、酶辅助水蒸气蒸馏法(enzymatic hydrolysis-assisted steam distillation, EHSD)、超声辅助水蒸气蒸馏法(ultrasonic-assisted steam distillation, UASD)、微波辅助水蒸气蒸馏法(microwave-assisted steam distillation, MASD)、压榨法(squeezing, SQ)5种方法提取生姜挥发油,并通过气相色谱-质谱法(GC-MS)测定化学成分。采用R语言平台进行主成分分析(principal component analysis, PCA)和聚类热图分析,比较其成分特征是否存在差异。显微下观察所得生姜药渣的结构差异。水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法4种方法得油率分别为0.18%、0.19%、0.21%、0.18%,经GC-MS测定,其所得挥发油成分相似,鉴定化合物59~65种;压榨法得油率为0.10%,鉴定化合物3种,分别为 α -姜烯、 β -水芹烯和6-姜烯酚。显微下观察,4种蒸馏法所得药渣单位面积下的油细胞数均少于压榨法。生姜挥发性成分可能受酶、超声、微波的作用而产生变化,以致不同提取方法所得挥发油化学成分及相对峰面积具有特征差异。压榨法可简便快捷地提取生姜中的 α -姜烯、 β -水芹烯及6-姜烯酚。本文为实际应用中生姜挥发油提取方法的选择及生姜的进一步开发利用提供参考依据。

关键词:生姜挥发油;化学成分;气相色谱-质谱法;主成分分析;聚类分析;显微鉴别

中图分类号:R932

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)12-1999-13

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.12.002

Comparative study on five methods for extracting volatile oil from ginger

YAN Fei, WANG Kai-liang, ZHANG Xiao-fei, ZOU Jun-bo, JIA Yan-zhuo, LI Jia-yi, SHI Ya-jun*

*Shaanxi Key Laboratory of New Drugs and Chinese Medicine Foundation Research, College of Pharmacy,
Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China*

Abstract: To compare the differences of five methods for extracting ginger volatile oil. Ginger volatile oil was extracted by five methods: steam distillation (SD), enzymatic hydrolysis-assisted steam distillation (EHSD), ultrasonic-assisted steam distillation (UASD), microwave-assisted steam distillation (MASD) and squeezing (SQ), and its chemical compositions were analyzed by GC-MS. R language platform was used for principal component analysis (PCA) and cluster heatmap analysis to compare the differences in their component characteristics. The structural differences of the obtained ginger dregs were observed by microscope. The oil yields of steam distillation, enzymatic hydrolysis-assisted steam distillation, ultrasonic-assisted steam distillation and microwave-assisted steam distillation were 0.18%, 0.19%, 0.21% and 0.18%, respectively. GC-MS analysis showed that the volatile oil obtained was similar in composition, 59-65 compounds were identified. The oil yield of squeezing was 0.10%, three compounds were identified, namely α -zingiberene, β -phellandrene and 6-shogaol. Microscopic observation showed that the number of oil cells in per unit area of the dregs obtained by the four distillation methods was less than that of the squeezing method. The volatile components of ginger may be affected by enzyme, ultrasound and microwave, therefore, the chemical composition and relative peak area of volatile oils obtained by different extraction methods had characteristic differences. Squeezing can easily and quickly extract α -zingiberene, β -sesquiphellandrene and 6-shogaol in ginger. Our research may provide some reference for the selection of the extraction method of ginger volatile oil in practical application and the further development and utilization of ginger.

收稿日期:2022-06-20 接受日期:2022-11-28

基金项目:陕西省重点研发计划(2020SF-316);陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-YL11);国家级大学生创新创业训练计划(202110716029)

*通信作者 Tel:86-29-38183689; E-mail:2051004@sntcm.edu.cn

Key words: ginger volatile oil; chemical constituents; GC-MS; PCA; cluster analysis; microscopic identification

生姜 *Zingiber officinale* Roscoe 为姜科姜属多年生草本植物姜的新鲜根茎^[1], 原产于亚洲热带地区, 在大多数美洲热带国家普遍种植^[2]。《神农本草经》云, “生者优良, 久服去臭气, 通神明。”《本草新编》曰“通畅神明, 辟疫, 且助生发之气, 能祛风邪。”古籍记载, 常食生姜能逐风驱邪, 健脑清神。生姜挥发油主要包含单萜和倍半萜两类化合物, 成分含量较高的有 α -姜烯、 α -蒎烯、 β -水芹烯、蒎烯、月桂烯、香茅醇等^[3]。现代药理研究表明, 生姜具有抗炎、镇痛、抗氧化、抑菌、止吐等药理作用, 还能治疗心脑血管疾病和免疫系统疾病^[4,5]。课题组前期通过网络药理学的方法证实了生姜挥发油治疗头风病是多成分、多靶点、多通路的作用机制^[6], 表明其对神经系统有一定的保护作用。

生姜挥发油的常用提取方法有水蒸气蒸馏法, 超声、微波、酶辅助蒸馏等^[7-9], 工业上常采用超临界 CO_2 萃取法^[10]。Li 等^[11]采用水蒸气蒸馏法提取不同产地生姜挥发油得油率为 0.14% ~ 0.41%, 鉴定化合物数量 23 ~ 39 种。Xie 等^[12]采用闪式辅助水蒸气蒸馏法提取生姜挥发油得油率可达 0.665%。Chen 等^[13]研究发现, 不同产地生姜挥发油提取率不同, 四川产生姜挥发油提取率较高, 山东产生姜挥发油提取率较低; 各地区生姜挥发油的成分种类相近, 主要差异在于各成分间的含量不同。但关于陕产生姜不同提取方法所得挥发油主要成分的差异却鲜有报道。本研究采用 GC-MS 对 5 种提取方法所得生姜挥发油化学成分进行检测, 通过主成分分析 (principal component analysis, PCA)、聚类热图分析比较其化学成分及相对峰面积的特征差异, 并对药渣的显微结构进行直观比较, 以期在实际应用中生姜挥发油提取方法的选择及生姜的进一步开发利用提供参考依据。

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

Agilent 7890B/5977B GC-MS (美国安捷伦科技有限公司); SCIENTZ-IIDM 微波光波超声波萃取仪 (宁波新芝生物科技股份有限公司); TDZ5-WS 低速台式离心机 (北京线上生物科技股份有限公司); HU-800LT-WN 原汁机 (上海韩惠人爱家电科技有限公司); DM3000 徕卡显微镜 (徕卡显微系统贸易有

限公司)。

生姜 (*Zingiber officinale* Roscoe) 购于陕西西安泮水园综合市场, 经陕西中医药大学颜永刚教授鉴定为姜科植物姜的新鲜根茎; 纤维素酶 (沧海夏盛酶生物技术有限公司, 批号: 2200645); 无水 Na_2SO_4 (分析纯, 天津市天力化学试剂有限公司, 批号: 20210302); 乙酸乙酯 (分析纯, 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20101220); 乙醚 (色谱纯, 烟台市双双化工有限公司, 批号: 20201107); 盐酸 (质量分数 10%, 深圳市博林达科技有限公司, 批号: 20210302); 实验用水 (纯净水)。

1.2 方法

1.2.1 生姜挥发油的提取

参考文献方法^[8,14,15]结合前期预试验, 确定采用水蒸气蒸馏法及酶、超声、微波辅助水蒸气蒸馏法 4 种方法进行比较, 同时为了简便快捷, 生姜原有成分不受加热影响, 参考文献方法^[16]采用压榨法提取生姜挥发油与前者进行比较。

1.2.1.1 水蒸气蒸馏法 (steam distillation, SD)

参考文献方法, 取新鲜生姜切成长宽 5 mm 的小块, 取 500 g 装入 2 000 mL 圆底烧瓶中, 加水 1 000 mL, 从出油开始计时 6 h, 停止加热, 收集生姜挥发油。

1.2.1.2 酶辅助水蒸气蒸馏法 (enzymatic hydrolysis-assisted steam distillation, EHSD)

取生姜小块 300 g 置于圆底烧瓶中, 在 600 mL 水中加入纤维素酶 6.0 g, 加入 10% 的盐酸调节 pH 为 6, 将配制好的溶液加入圆底烧瓶中, 放入 50 °C 的水浴锅中保持恒温, 待温度达到 50 °C 开始计时, 酶解时间 2 h, 酶解结束, 同“1.2.1.1”进行水蒸气蒸馏, 收集挥发油。

1.2.1.3 超声辅助水蒸气蒸馏法 (ultrasonic-assisted steam distillation, UASD)

取生姜小块 300 g 置于圆底烧瓶中, 加入 600 mL 水, 放入微波光波超声波萃取仪, 设置超声功率 600 W、超声时间 20 min, 超声完成, 同“1.2.1.1”水蒸气蒸馏提取并收集挥发油。

1.2.1.4 微波辅助水蒸气蒸馏法 (microwave-assisted steam distillation, MASD)

取生姜小块 300 g 置于圆底烧瓶中, 加入 600

mL 水,放入微波光波超声波萃取仪中,设置微波功率 300 W、微波时间 20 min,微波完成,同“1.2.1.1”水蒸气蒸馏提取并收集挥发油。

1.2.1.5 压榨法(squeezing, SQ)

参考文献方法,取生姜 300 g,切成大块放入原汁机,转速 43 r/min 榨汁,取新鲜生姜汁倒入离心管中,调整离心机转速为 3 000 r/min,离心 15 min,过滤,得到离心液。将离心液倒入分液漏斗中,加入乙酸乙酯,充分摇匀,静置 12 h,取其上层黄色浊液。将黄色浊液再次倒入离心管中,按照第一次的方法再次离心,第二次离心完成,取最上层黄色油状物,得到生姜脂溶性成分,减去两次加入的乙酸乙酯的质量,求得生姜脂溶性成分质量。

1.2.1.6 挥发油提取率

所得挥发油(脂溶性成分)中加入少量无水 Na_2SO_4 干燥,取油状物称量,以上 5 种方法分别进行 3 次平行试验,计算挥发油(脂溶性成分)平均提取率。

$$\text{提取率} = \frac{\text{挥发油(脂溶性成分)质量(g)}}{\text{新鲜生姜质量(g)}} \times 100\%$$

1.2.2 生姜挥发油 GC-MS 测定

1.2.2.1 GC-MS 条件

参考文献^[17]方法,设置色谱条件:进样口温度 230 °C,载气气体 He,气体流速 1.0 mL/min,升高温度至 70 °C,保持 2 min,再以 8 °C/min 升温到 170 °C,保持 4 min 后以 10 °C/min 升温到 250 °C,保持 2 min 后再运行 5 min。进样量 1 μL ,分流比 100:1。质谱条件:电离方式为 EI,离子源温度 230 °C,电子能量 70 eV,四级杆温度 150 °C,接口温度 250 °C,质量扫描范围 33 ~ 600 m/z ,电子能量 70 eV。采用 Data Analysis 将阈值调为 20。

1.2.2.2 供试品溶液的制备

取“1.2.1”所得生姜挥发油(脂溶性成分)共 5 支样品,水蒸气蒸馏法记为 A、酶辅助水蒸气蒸馏法记为 B、超声辅助水蒸气蒸馏法记为 C、微波辅助水蒸气蒸馏法记为 D、压榨法记为 E,分别吸取 100 μL 置 10 mL 容量瓶中,加入乙醚定容。使用注射器吸取样品,微孔滤膜过滤,即得样品 A ~ E。

1.2.2.3 相对峰面积计算方法

分别取 3 次平行试验样品,按照“1.2.2.1”GC-MS 条件测试,结果取平均值。利用 NIST17 质谱数据库检索,结合质谱数据信息,保留相似度 ≥ 60 的

成分。采用峰面积归一化法计算各化合物的相对峰面积。

1.2.3 5 种提取方法所得化合物主成分分析(PCA)、聚类热图分析

采用 R 语言平台 dplyr 包对数据进行清洗与整理,ggbiplot 包对 5 种方法所得化学成分的相对峰面积进行 PCA 处理,phheatmap 包进行总体数据分布聚类热图分析,ggplot2 包绘制火山图提取特征成分,分析其成分特征是否存在差异。

1.2.4 显微鉴别

取水蒸气蒸馏法生姜药渣为对照品,酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法、压榨法药渣为样品。分别切成 1 mm 厚的薄片,置电子显微镜下以 50 倍和 200 倍观察。

2 结果与分析

2.1 挥发油提取率

5 种方法提取生姜挥发油得率见表 1。

表 1 5 种方法提取生姜挥发油得率($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 1 Extraction rates of ginger volatile oil extracted by five methods($\bar{x} \pm s, n=3$)

| 方法 Method | 提取率 Extraction rate(%) |
|--------------|---------------------------|
| SD | 0.18 \pm 0.023 |
| EHSD | 0.19 \pm 0.015 |
| UASD | 0.21 \pm 0.016 |
| MASD | 0.18 \pm 0.022 |
| SQ | 0.10 \pm 0.009 |

2.2 不同提取方法所得挥发油 GC-MS 分析

根据 GC-MS 测定结果,分别得到 5 种提取方法的生姜挥发油成分总离子流图(见图 1~5),其成分和相对峰面积归纳见表 2。5 种方法所得生姜挥发油主要化学成分变化见图 6。

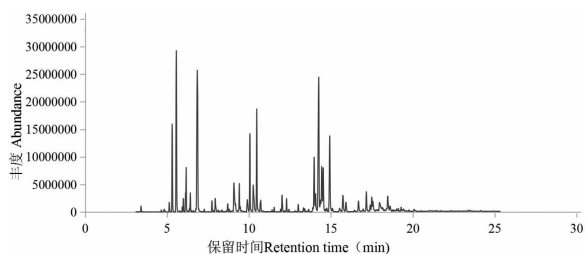


图 1 水蒸气蒸馏法提取生姜挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of ginger volatile oil extracted by SD

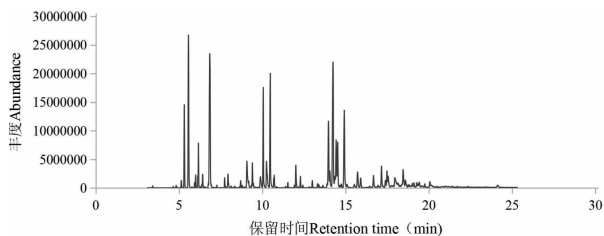


图2 酶辅助水蒸气蒸馏法提取生姜挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig. 2 GC-MS total ion chromatogram of ginger volatile oil extracted by EHSD

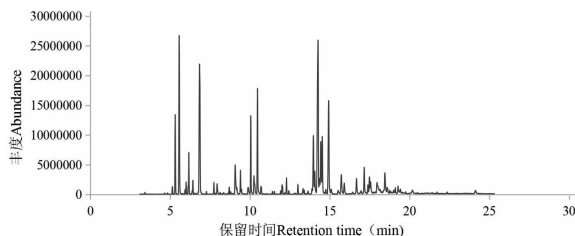


图4 微波辅助水蒸气蒸馏法提取生姜挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig. 4 GC-MS total ion chromatogram of ginger volatile oil extracted by MASD

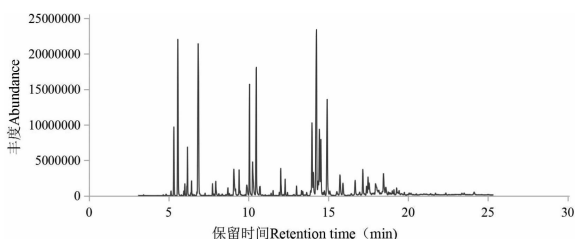


图3 超声辅助水蒸气蒸馏法提取生姜挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig. 3 GC-MS total ion chromatogram of ginger volatile oil extracted by UASD

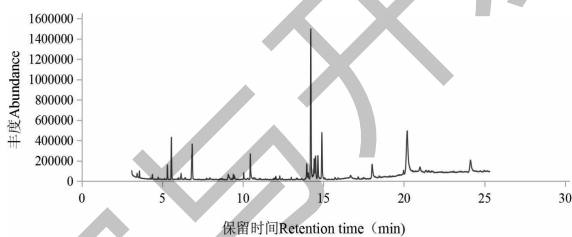


图5 压榨法提取生姜挥发油的 GC-MS 总离子流图

Fig. 5 GC-MS total ion chromatogram of ginger volatile oil extracted by SQ

表2 5种方法所得生姜挥发油 GC-MS 分析

Table 2 GC-MS analysis of ginger volatile oil obtained by five methods

| 序号 No. | CAS | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 Retention time (min) | 相似度 Similarity (%) | 相对峰面积 Relative peak area (%) | | | | |
|-----------|-------------|----------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------|------------------------------|---------|---------|---------|----|
| | | | | | | SD | EHSD | UASD | MASD | SQ |
| 1 | 000066-25-1 | 正己醛 Hexanal | C ₆ H ₁₂ O | 3.401 6 | 94 | 0.274 1 | - | - | - | - |
| 2 | 000543-49-7 | 2-庚醇 2-Heptanol | C ₇ H ₁₆ O | 4.823 3 | 83 | 0.253 7 | - | - | - | - |
| 3 | 000508-32-7 | 三环萜 Tricyclene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.137 7 | 95 | 0.446 7 | 0.330 8 | 0.385 4 | 0.463 4 | - |
| 4 | 007785-26-4 | 左旋-α-蒎烯 (1S)-(-)-α-Pinene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.315 4 | 96 | 4.370 6 | - | - | - | - |
| 5 | 000079-92-5 | 莜烯 Camphene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.561 4 | 97 | 9.682 2 | 9.268 3 | - | 8.452 8 | - |
| 6 | 003387-41-5 | 桉烯 Sabinene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.930 5 | 97 | 0.190 6 | 0.185 4 | 0.100 4 | 0.145 8 | - |
| 7 | 000127-91-3 | β-蒎烯 β-Pinene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.998 9 | 95 | 0.677 6 | 0.541 7 | 0.447 1 | 0.462 4 | - |
| 8 | 000123-35-3 | 月桂烯 Myrcene | C ₁₀ H ₁₆ | 6.162 9 | 91 | 2.427 0 | 1.980 8 | 1.277 1 | 1.805 1 | - |
| 9 | 000099-83-2 | α-水芹烯 α-Phellandrene | C ₁₀ H ₁₆ | 6.422 7 | 94 | 0.762 0 | 0.679 1 | 0.501 1 | 0.472 1 | - |
| 10 | 000099-85-4 | γ-松油烯 γ-Terpinene | C ₁₀ H ₁₆ | 7.270 2 | 96 | 0.072 6 | 0.118 7 | - | - | - |
| 11 | 000586-62-9 | 萜品油烯 Terpinolene | C ₁₀ H ₁₆ | 7.735 0 | 98 | 0.573 5 | 0.340 7 | 0.489 4 | 0.502 7 | - |
| 12 | 000078-70-6 | 芳樟醇 Linalool | C ₁₀ H ₁₆ | 7.940 0 | 97 | 0.976 8 | 0.906 4 | 0.807 0 | 0.752 6 | - |
| 13 | 002385-77-5 | (+)-香茅醛 (+)-Citronella | C ₁₀ H ₁₈ O | 8.705 5 | 97 | 0.477 2 | 0.258 8 | 0.243 8 | 0.222 4 | - |
| 14 | 000465-31-6 | 莜烯水合物 Camphenedhydrate | C ₁₀ H ₁₈ O | 8.787 5 | 97 | 0.066 4 | 0.252 0 | 0.087 6 | - | - |
| 15 | 010385-78-1 | 异龙脑 Isoborneol | C ₁₀ H ₁₈ O | 9.074 6 | 95 | 2.419 2 | 1.549 4 | 2.384 2 | 2.218 1 | - |
| 16 | 000562-74-3 | 4-萜烯醇 Terpinen-4-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | 9.170 3 | 92 | 0.233 1 | 0.411 7 | 0.410 7 | 0.381 7 | - |
| 17 | 007785-53-7 | (+)-α-松油醇 (+)-α-Terpine-ol | C ₁₀ H ₁₈ O | 9.402 7 | 91 | 1.483 8 | 1.372 8 | 1.369 0 | 1.352 2 | - |

续表 2(Continued Tab. 2)

| 序号 No. | CAS | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 Retention time(min) | 相似度 Similarity (%) | 相对峰面积 Relative peak area(%) | | | | |
|-----------|-------------|--|--|--------------------------------|--------------------------|-----------------------------|----------|----------|----------|----------|
| | | | | | | SD | EHSD | UASD | MASD | SQ |
| 18 | 000106-22-9 | 香茅醇 Citronellol | C ₁₀ H ₂₀ O | 9.894 8 | 89 | 0.957 8 | 0.617 3 | 0.597 2 | 0.715 1 | - |
| 19 | 000106-26-3 | 顺式-柠檬醛 (Z)-3,7-Dimethylocta-2,6-dienal | C ₁₀ H ₁₆ O | 10.058 8 | 95 | 4.506 6 | 4.876 7 | 4.416 2 | 4.158 2 | - |
| 20 | 000106-24-1 | 香叶醇 Geraniol | C ₁₀ H ₁₈ O | 10.263 9 | 94 | 2.219 6 | 1.230 3 | - | 1.873 7 | - |
| 21 | 005392-40-5 | 柠檬醛 Citral | C ₁₀ H ₁₆ O | 10.468 9 | 91 | 5.261 2 | - | - | 5.777 8 | - |
| 22 | 000112-12-9 | 甲基壬基甲酮 2-Undecanone | C ₁₁ H ₂₂ O | 10.715 0 | 97 | 0.281 5 | 0.428 1 | - | - | - |
| 23 | 002792-39-4 | 甲基香叶烯 2,6-Dimethylocta-2,6-diene | C ₁₀ H ₁₈ | 11.535 2 | 96 | 0.175 4 | 0.216 7 | 0.131 7 | 0.212 8 | - |
| 24 | 095910-36-4 | (-)-异喇叭烯 (-)-Isoledene | C ₁₅ H ₂₄ | 11.931 6 | 95 | 0.142 1 | - | - | - | - |
| 25 | 000105-87-3 | 乙酸香叶酯 Geranyl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 12.013 6 | 91 | 1.148 2 | 0.628 3 | 0.931 8 | 1.413 1 | - |
| 26 | 000515-13-9 | β -榄香烯 β -Elemene | C ₁₅ H ₂₄ | 12.287 0 | 99 | 0.667 6 | 0.578 0 | 0.789 1 | 0.752 7 | - |
| 27 | 159407-35-9 | (+)-7-表-倍半萜烯 (+)-7-epi-Sesquithujene | C ₁₅ H ₂₄ | 12.437 4 | 97 | 0.141 6 | 0.560 6 | 0.165 0 | 0.166 0 | - |
| 28 | 029873-99-2 | γ -榄香烯 γ -Elemene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.011 5 | 98 | 0.139 6 | - | - | - | - |
| 29 | 997220-79-2 | (E)- β -法尼烯 (E)- β -Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.325 9 | 90 | 0.276 2 | 0.136 5 | 0.190 7 | - | - |
| 30 | 058319-04-3 | 倍半香桉烯 Sesquisabinene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.394 3 | 97 | 0.118 0 | 0.175 0 | - | 0.135 8 | - |
| 31 | 997221-16-7 | 1,9-二甲基-7-(1'-甲基乙烯基)-1,2,3,5,6,7,8,9-八氢萘 1,9-Dimethyl-7-(1'-methylene-nyl)-1,2,3,5,6,7,8,9-octahydronaphthalene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.900 1 | 90 | 0.012 3 | 0.124 4 | 0.167 6 | 0.175 0 | - |
| 32 | 000644-30-4 | α -姜黄烯 α -Curcumene | C ₁₅ H ₂₂ | 13.982 1 | 99 | 3.665 6 | 4.422 8 | 2.969 9 | 3.851 7 | - |
| 33 | 023986-74-5 | 大根香叶烯 D Germacrene D | C ₁₅ H ₂₄ | 14.064 1 | 97 | 1.353 5 | 1.301 3 | 1.604 9 | 1.591 5 | - |
| 34 | 000495-60-3 | α -姜烯 α -Zingiberene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.255 5 | 96 | 5.808 5 | 10.973 1 | 12.937 1 | 13.554 1 | 48.126 2 |
| 35 | 020071-49-2 | (+)- γ -马来烯 (+)- γ -Maaliene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.364 8 | 93 | 0.816 2 | 0.429 6 | 0.922 1 | 0.943 0 | - |
| 36 | 030021-74-0 | 衣兰油烯 γ -Murolene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.446 8 | 95 | 3.570 2 | 3.516 1 | 1.040 8 | 3.905 5 | - |
| 37 | 000495-61-4 | β -红没药烯 β -Bisabolene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.528 9 | 99 | 3.088 9 | 3.217 6 | 3.647 1 | 3.606 6 | - |
| 38 | 054274-73-6 | (+)-表-双环倍半水芹烯 (+)-epi-Bicyclosesquiphellandrene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.761 3 | 96 | 0.150 3 | 0.144 4 | 0.292 9 | 0.207 2 | - |
| 39 | 020307-83-9 | β -倍半水芹烯 β -Sesquiphellandrene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.925 3 | 99 | 5.962 0 | 6.144 0 | 3.613 2 | 6.667 7 | 15.436 6 |
| 40 | 053585-13-0 | 反式- γ -没药烯 (E)- γ -Bisabolene (1aR,6S,7R,7aS,7bS)-1,1,7,7a-四甲基-2,3,5,6,7,7b-六氢-1aH-环丙[a]萘-6-醇 | C ₁₅ H ₂₄ | 15.089 3 | 98 | 0.206 4 | 0.308 7 | 0.363 9 | 0.374 3 | - |
| 41 | 110351-35-4 | (1R,7aS,7bS)-1,1,7,7a-Tetraethyl-2,3,5,6,7,7b-hexahydro-1aH-cyclopropa[a]naphthalen-6-ol | C ₁₅ H ₂₄ O | 15.526 8 | 70 | 0.400 6 | 0.434 7 | 0.260 2 | 0.3975 | - |
| 42 | 000639-99-6 | 榄香醇 Elemol | C ₁₅ H ₂₆ O | 15.731 8 | 91 | 1.555 1 | 1.661 8 | 1.107 9 | 1.706 4 | - |
| 43 | 007212-44-4 | 橙花叔醇 Nerolidol | C ₁₅ H ₂₆ O | 15.923 2 | 91 | 0.872 6 | 0.835 9 | 0.974 4 | 0.921 8 | - |
| 44 | 145512-84-1 | 双环[3.1.0]己烷-2-醇,5-(1,5-二甲基-4-己烯-1-基)-2-甲基-, (1R,2R,5S)-rel-Bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol,5-(1,5-dimethyl-4-hexen-1-yl)-2-methyl-, (1R,2R,5S)-rel- | C ₁₅ H ₂₆ O | 16.688 7 | 99 | 0.965 3 | 0.993 1 | 0.452 1 | 0.837 8 | - |
| 45 | 058334-55-7 | 姜烯醇 Zingiberenol | C ₁₅ H ₂₆ O | 17.167 1 | 86 | 1.456 8 | 1.507 6 | 1.827 9 | 1.715 2 | - |

续表 2 (Continued Tab. 2)

| 序号 No. | CAS | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 Retention time (min) | 相似度 Similarity (%) | 相对峰面积 Relative peak area (%) | | | | |
|-----------|-------------|--|---|---------------------------------|--------------------------|------------------------------|---------|----------|---------|----|
| | | | | | | SD | EHSD | UASD | MASD | SQ |
| 46 | 006813-21-4 | Eudesma-3,7(11)-二烯 Eudesma-3,7(11)-diene | C ₁₅ H ₂₄ | 17.399 5 | 66 | 0.080 3 | - | - | - | - |
| 47 | 997284-48-0 | 姜烯醇 Zingiberenol | C ₁₅ H ₂₆ O | 17.495 2 | 80 | 0.671 5 | 0.519 0 | - | 0.706 7 | - |
| 48 | 000473-15-4 | β -桉叶醇 β -Eudesmol | C ₁₅ H ₂₆ O | 17.960 0 | 97 | 1.407 4 | 1.629 5 | 1.729 8 | 1.605 4 | - |
| 49 | 997284-06-6 | 7-反式倍半香桉烯水合物 7-epi-trans-Sesquisabinene hydrate | C ₁₅ H ₂₆ O | 18.151 4 | 87 | 0.081 3 | 0.246 4 | - | - | - |
| 50 | 000502-67-0 | 合金欢醛 (<i>E,E</i>)-Farnesal | C ₁₅ H ₂₄ O | 19.121 9 | 95 | 0.111 0 | 0.254 0 | 0.319 7 | 0.253 3 | - |
| 51 | 000470-82-6 | 桉叶油醇 Eucalyptol | C ₁₀ H ₁₈ O | 6.860 1 | 97 | 6.073 9 | - | 10.070 4 | - | - |
| 52 | 000464-45-9 | 左旋龙脑 <i>L</i> (-)-Borneol | C ₁₀ H ₁₈ O | 9.074 6 | 95 | 2.508 3 | 1.376 7 | - | - | - |
| 53 | 000141-27-5 | (<i>E</i>)-柠檬醛 (<i>E</i>)-Citral | C ₁₀ H ₁₆ O | 10.482 6 | 91 | 6.385 3 | 6.914 9 | 6.039 3 | - | - |
| 54 | 004057-31-2 | 乙酸小茴香酯 α -Fenchyl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 10.687 6 | 99 | 0.384 5 | 0.448 9 | 0.599 3 | 0.644 9 | - |
| 55 | 003242-08-8 | 甘香烯 Elixene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.011 5 | 98 | 0.202 3 | 0.410 1 | 0.217 1 | 0.164 0 | - |
| 56 | 007216-56-0 | 别罗勒烯 Neo-alloocimene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.640 3 | 99 | 0.057 4 | 0.118 4 | 0.114 8 | 0.214 3 | - |
| 57 | 113561-07-2 | (-)-5-异丙基-3,8-二甲基-1,2,6,7,8,8a-六氢-莫(-)-5-Isopropyl-3,8-dimethyl-1,2,6,7,8,8a-hexahydro-azulene | C ₁₅ H ₂₄ | 17.399 5 | 64 | 0.238 9 | - | - | - | - |
| 58 | 997275-72-1 | 维齐亚枯胺 Waitziacuminone | C ₁₅ H ₂₄ O | 18.151 4 | 89 | 0.143 9 | 0.320 4 | 0.256 9 | - | - |
| 59 | 997261-66-1 | (<i>E</i> ,6 <i>S</i>)-2-甲基-6-(4-甲基苯基)-2-庚醛 (<i>E</i> ,6 <i>S</i>)-2-Methyl-6-(4-methylphenyl)-2-heptenal | C ₁₅ H ₂₂ O | 19.012 6 | 72 | 0.081 1 | - | 0.310 3 | 0.193 0 | - |
| 60 | 007785-70-8 | (+)- α -蒎烯 (+)- α -Pinene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.315 5 | 96 | - | 3.665 8 | 2.706 5 | 3.020 9 | - |
| 61 | 005794-04-7 | (-)-莰烯 (-)-Camphene | C ₁₀ H ₁₆ | 5.575 2 | 97 | - | 5.454 8 | 7.920 4 | 5.580 3 | - |
| 62 | 000106-25-2 | 橙花醇 Nerol | C ₁₀ H ₁₈ O | 9.894 9 | 94 | - | 0.868 6 | - | - | - |
| 63 | 000624-15-7 | 香叶醇 Geraniol | C ₁₀ H ₁₈ O | 10.263 9 | 94 | - | 2.052 0 | 2.209 5 | - | - |
| 64 | 022469-52-9 | (+)-环苜蓿烯 (+)-Cyclosativene | C ₁₅ H ₂₄ | 11.931 7 | 96 | - | 0.088 7 | 0.091 1 | 0.170 9 | - |
| 65 | 018794-84-8 | (<i>E</i>)- β -金合欢烯 (<i>E</i>)- β -Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.326 0 | 83 | - | 0.149 4 | - | - | - |
| 66 | 000088-84-6 | 愈创木烯 Guaiene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.900 1 | 91 | - | 0.084 5 | 0.192 6 | - | - |
| 67 | 052805-85-3 | 2-乙酰基-5-(5-甲基糠基)呋喃 2-Acetyl-5-(5-methylfurfuryl) furan | C ₁₂ H ₁₂ O ₃ | 17.399 6 | 70 | - | 0.460 9 | 0.399 0 | - | - |
| 68 | 997284-05-9 | 水合倍半香桉烯 Sesquisabinene hydrate | C ₁₅ H ₂₆ O | 17.495 3 | 87 | - | 0.761 6 | 0.644 8 | 0.702 0 | - |
| 69 | 004380-32-9 | (2 <i>Z</i> ,6 <i>E</i>)-金合欢醛 (<i>Z,E</i>)-Farnesal | C ₁₅ H ₂₄ O | 18.766 6 | 76 | - | - | 0.137 6 | 0.615 7 | - |
| 70 | 997137-75-3 | 6-甲基-6,7-二氢-9H-5-氧杂-9-氮杂苯并环庚-8-酮 6-Methyl-6,7-dihydro-9H-5-oxa-9-azabenzocyclohepten-8-one | C ₁₀ H ₁₁ NO ₂ | 20.065 2 | 62 | - | 0.018 0 | - | - | - |
| 71 | 000106-23-0 | 香茅醛 Citronellal | C ₁₀ H ₁₈ O | 8.705 6 | 96 | - | 0.152 8 | 0.305 8 | 0.241 4 | - |
| 72 | 000105-91-9 | 丙酸橙花酯 Neryl propionate | C ₁₃ H ₂₂ O ₂ | 12.013 7 | 91 | - | 0.813 1 | - | - | - |
| 73 | 997221-46-2 | 海内森 Hinesene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.364 9 | 94 | - | 0.266 7 | - | - | - |
| 74 | 150320-52-8 | 萘,1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1-甲基-6-亚甲基-4-(1-甲基乙基)-Naphthalene,1,2,3,5,6,7,8,8a-octahydro-1-methyl-6-methylene-4-(1-methylethyl)- | C ₁₅ H ₂₄ | 14.761 3 | 97 | - | 0.086 3 | - | - | - |

续表 2(Continued Tab. 2)

| 序号 No. | CAS | 化合物 Compound | 分子式 Molecular formula | 保留时间 Retention time (min) | 相似度 Similarity (%) | 相对峰面积 Relative peak area (%) | | | | |
|-------------------------|-------------|---|---|---------------------------------|--------------------------|------------------------------|------|---------|---------|----------|
| | | | | | | SD | EHSD | UASD | MASD | SQ |
| 75 | 018368-95-1 | 对薄荷-1,3,8-三烯 <i>p</i> -Mentha-1,3,8-triene | C ₁₀ H ₁₄ | 5.793 8 | 93 | - | - | 0.065 0 | 0.065 1 | - |
| 76 | 079120-98-2 | (+)- β -柏木萜烯 (+)- β -Funebrene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.394 2 | 96 | - | - | 0.212 2 | 0.082 0 | - |
| 77 | 023515-88-0 | (-)- α -紫穗槐烯 (-)- α -Amorphene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.446 8 | 95 | - | - | 2.911 9 | - | - |
| 78 | 017334-55-3 | 白菖烯 (+)-Calarene | C ₁₅ H ₂₄ | 17.399 5 | 83 | - | - | 0.370 9 | - | - |
| 79 | 997276-32-7 | 7-羟基法尼烯 7-Hydroxyfarnesen | C ₁₅ H ₂₄ O | 18.165 0 | 90 | - | - | 0.150 9 | 0.300 7 | - |
| 80 | 004443-51-0 | 2-甲氧基-1,7,7-三甲基双环[2.2.1]庚烷 2-Methoxy-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane | C ₁₁ H ₂₀ O | 8.131 4 | 95 | - | - | 0.049 8 | - | - |
| 81 | 001117-61-9 | <i>D</i> -香茅醇 <i>D</i> -Citronellol | C ₁₀ H ₂₀ O | 9.908 5 | 87 | - | - | 0.240 7 | - | - |
| 82 | 997304-14-3 | 3,7-二甲基辛-6-烯基碳酸乙酯 3,7-Dimethyloct-6-enyl ethyl carbonate | C ₁₃ H ₂₄ O ₃ | 11.535 2 | 95 | - | - | 0.039 6 | - | - |
| 83 | 016409-44-2 | 乙酸香叶酯 Geranyl acetate | C ₁₂ H ₂₀ O ₂ | 12.013 6 | 86 | - | - | 0.477 8 | - | - |
| 84 | 997137-65-7 | (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-羟基-2,3-二氢-1 <i>H</i> -茛-2-甲酰胺 (1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-Hydroxy-2,3-dihydro-1 <i>H</i> -indene-2-carboxamide | C ₁₀ H ₁₁ NO ₂ | 15.526 8 | 78 | - | - | 0.158 7 | - | - |
| 85 | 021657-90-9 | 异丁烯醇 Hedycaryl | C ₁₅ H ₂₆ O | 15.731 8 | 91 | - | - | 1.247 3 | - | - |
| 86 | 997284-06-0 | (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-5-((<i>R</i>)-1,5-二甲基-6-4-烯)-2-甲基-二环[3.1.0]己烷-2-醇 (1 <i>R</i> ,2 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-5-((<i>R</i>)-1,5-Dimethyl-hex-4-enyl)-2-methyl-bicyclo[3.1.0]hexan-2-ol | C ₁₅ H ₂₆ O | 16.675 0 | 97 | - | - | 0.929 3 | - | - |
| 87 | 021996-77-0 | 二表- α -雪松烯-(<i>I</i>) Di-epi- α -Cedrene-(<i>I</i>) | C ₁₅ H ₂₄ | 16.962 1 | 70 | - | - | 0.130 9 | - | - |
| 88 | 020307-84-0 | δ -榄香烯 δ -Elemene | C ₁₅ H ₂₄ | 11.412 2 | 98 | - | - | - | 0.142 8 | - |
| 89 | 000087-44-5 | β -石竹烯 β -Caryophyllene | C ₁₅ H ₂₄ | 13.326 0 | 87 | - | - | - | 0.104 2 | - |
| 90 | 005951-67-7 | α -榄香烯 α -Elemene | C ₁₅ H ₂₄ | 17.399 6 | 70 | - | - | - | 0.264 1 | - |
| 91 | 023178-88-3 | (+)- α -红没药醇 (+)- α -Bisabolol | C ₁₅ H ₂₆ O | 18.766 6 | 70 | - | - | - | 0.072 7 | - |
| 92 | 000119-47-1 | 抗氧化剂 2246 Thanox2246 | C ₂₃ H ₃₂ O ₂ | 24.138 8 | 99 | - | - | - | 0.373 3 | - |
| 93 | 000514-51-2 | β -广藿香 β -Patchouline | C ₁₅ H ₂₄ | 13.900 0 | 93 | - | - | - | 0.100 6 | - |
| 94 | 013744-15-5 | 荜澄茄油烯 Cubebene | C ₁₅ H ₂₄ | 14.761 2 | 96 | - | - | - | 0.106 4 | - |
| 95 | 997284-39-0 | 2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>R</i>)-4 <i>a</i> ,8-二甲基-3,4,5,6,7,8-六氢-2 <i>H</i> -萘-2-基]-2-丙醇 2-[(2 <i>R</i> ,4 <i>aS</i> ,8 <i>R</i>)-4 <i>a</i> ,8-Dimethyl-3,4,5,6,7,8-hexahydro-2 <i>H</i> -naphthalen-2-yl]-2-propanol | C ₁₅ H ₂₄ O | 17.399 5 | 62 | - | - | - | 0.263 8 | - |
| 96 | 997220-44-3 | (<i>E</i> , <i>Z</i>)- α -法尼烯 (<i>E</i> , <i>Z</i>)- α -Farnesene | C ₁₅ H ₂₄ | 18.151 3 | 78 | - | - | - | 0.140 1 | - |
| 97 | 000555-66-8 | 6-姜烯酚 6-Shogaol | C ₁₇ H ₂₄ O ₃ | 20.188 1 | 99 | - | - | - | 0.134 9 | 36.437 2 |
| 化合物数 Number of compound | | | | | | 59 | 63 | 65 | 62 | 3 |

注:“-”表示在本批次样品中未检测到此种成分。

Note:“-” means that component was not detected in current sample.

2.3 5种方法所得生姜挥发油化学成分分析

水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助

水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法及压榨法 5

种方法所得生姜挥发油通过GC-MS检测并鉴定得

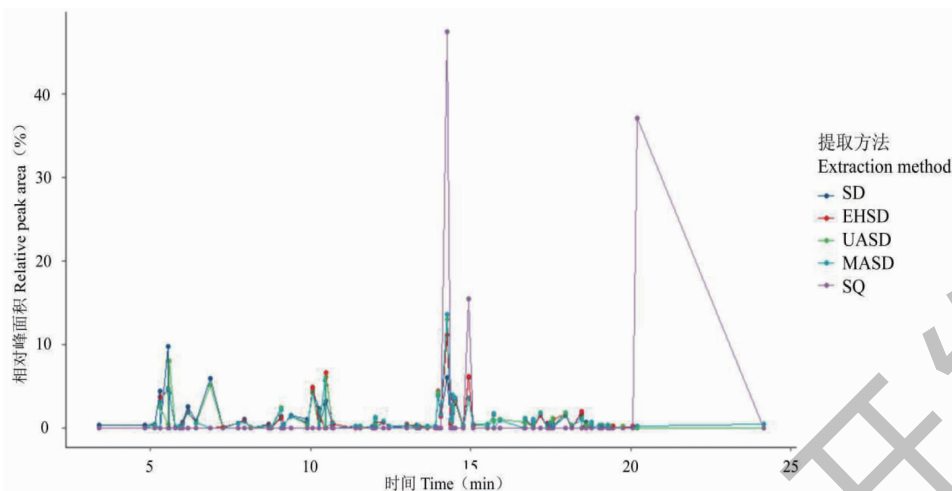


图6 5种方法所得生姜挥发油主要化学成分变化

Fig. 6 Changes of main chemical constituents in ginger volatile oil obtained by five methods

到的化合物数量分别为59、63、65、62、3种,结果见表2。由图1~6可知,4种蒸馏法所得生姜挥发油成分相似,而压榨法所得生姜挥发油总离子流图与前者有较大区别,说明其成分与前者有较大区别。

2.3.1 化学成分种类分析

5种提取方法均获得了挥发油成分,主要为单萜、倍半萜及萜醇、萜醛等含氧衍生物,单萜类化合物有莰烯、月桂烯、左旋- α -蒎烯等;倍半萜类化合物有 α -姜烯、 β -倍半水芹烯、 β -红没药烯等;单萜类含氧衍生物有顺式-柠檬醛、异龙脑、(+)- α -松油醇等;倍半萜类含氧衍生物有姜烯醇、榄香醇、 β -桉叶醇等。经鉴定,压榨法除挥发油外还获得了姜辣素类成分,挥发油主要含有 α -姜烯和 β -倍半水芹烯2种倍半萜类化合物,姜辣素类成分主要为烷基酚类化合物6-姜烯酚。

2.3.2 共有成分分析

5种提取方法所得生姜挥发油中共鉴定化合物数量97种,共有成分2种,为 α -姜烯和 β -倍半水芹烯。4种蒸馏法鉴定得到共有成分37种,相对峰面积较高的主要为 α -姜烯、 β -倍半水芹烯、顺式-柠檬醛等。水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法3种方法鉴定到共有成分4种,相对峰面积较高的为(*E*)-柠檬醛。水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法3种方法鉴定到共有成分3种,相对峰面积较高的为莰烯。酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法3种方法鉴定到共有成分5种,相对峰面积较高的为(-)-蒎烯。

2.3.3 特有成分分析

经鉴定,水蒸气蒸馏法得到的特有成分主要为左旋- α -蒎烯(4.3706%),超声辅助水蒸气蒸馏法得到的特有成分为(-)- α -紫穗槐烯(2.9119%)和异丁烯醇(1.2473%),微波辅助水蒸气蒸馏法得到的相对峰面积较高的特有成分为2,2'-亚甲基双(6-叔丁基-4-甲基苯酚),又称抗氧化剂2246(0.3733%),压榨法得到的特有成分为6-姜烯酚(36.4372%)。

2.3.4 相对峰面积差异分析

水蒸气蒸馏法所得挥发油化学成分经鉴定相对峰面积较高的是莰烯(9.6822%)、(*E*)-柠檬醛(6.3853%)、桉叶油醇(6.0739%)等;酶辅助水蒸气蒸馏法所得挥发油化学成分经鉴定相对峰面积较高的是 α -姜烯(10.9731%)、莰烯(9.2683%)、(*E*)-柠檬醛(6.9149%)等;超声辅助水蒸气蒸馏法所得挥发油化学成分经鉴定相对峰面积较高的是 α -姜烯(12.9371%)、桉叶油醇(10.0704%)、莰烯(7.9204%)等;微波辅助水蒸气蒸馏法所得挥发油化学成分经鉴定相对峰面积较高的是 α -姜烯(13.5541%)、莰烯(8.4528%)、 β -倍半水芹烯(6.6677%)等;压榨法所得化合物经鉴定得到 α -姜烯(48.1262%)、 β -水芹烯(15.4366%)及6-姜烯酚(36.4372%),因此压榨法提取挥发油实际得油率为0.10%。

2.3.5 PCA分析、聚类热图分析

PCA分析得分图显示,5种提取方法所得化合物明显分布于5个区域,提示5种提取方法所得化

学成分及相对峰面积存在一定差异。压榨法位于 PC1 轴正半轴,另 4 种方法位于 PC1 轴负半轴,且显著分离,表明压榨法与另 4 种提取方法所得化学成分的种类及相对峰面积均存在显著差异。水蒸气蒸馏法和酶辅助水蒸气蒸馏法位于 PC2 轴正半轴,超声、微波 2 种辅助水蒸气蒸馏法位于 PC2 轴负半轴,表明水蒸气蒸馏法和酶辅助水蒸气蒸馏法所得化学成分的种类及相对峰面积差异较小,超声、微波

2 种辅助水蒸气蒸馏法所得化学成分的种类及相对峰面积差异较小。结果见图 7。

聚类热图显示,5 种提取方法所得化合物可聚为 2 大类,压榨法为一类,另 4 种水蒸气蒸馏法聚为一类,其中水蒸气蒸馏法和酶辅助水蒸气蒸馏可聚为一类,超声和微波两种水蒸气蒸馏法亦可聚为一类,同 PCA 分析结果一致,结果见图 8。

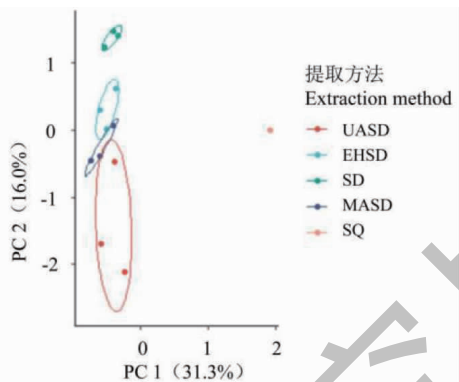


图 7 5 种方法所得生姜挥发油化合物 PCA 得分

Fig. 7 PCA scores of ginger volatile oil obtained by five methods

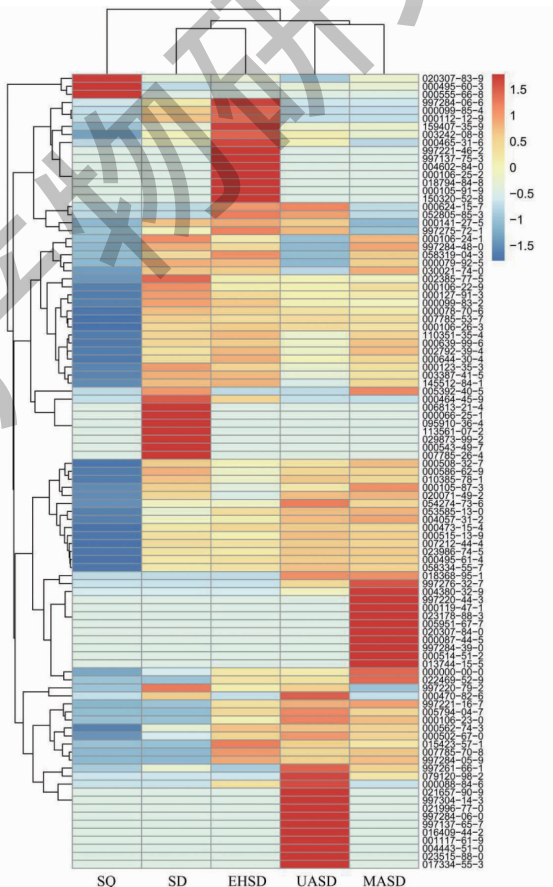


图 8 5 种方法所得生姜挥发油化学成分聚类热图

Fig. 8 Clustering heat map of chemical constituents of ginger volatile oil obtained by five methods

在 5 种方法 PCA 分析的基础上,进一步将水蒸气蒸馏法分别与另 4 种提取方法进行比较,以 $\log_{2}FC = 1$ 为标准,绘制火山图,寻找关键差异性成分。酶辅助法与水蒸气蒸馏法比较,相对峰面积差值高于 1 倍的指标有 3 个,为 (+)- α -蒎烯、(-)-蒎烯和香叶醇,低于 1 倍的指标有 2 个,为左旋- α -蒎烯和柠檬醛,见图 9A;超声法与水蒸气蒸馏法比较,相对峰面积差值高于 1 倍的指标有 6 个,为异丁烯醇、 α -姜烯、香叶醇、(+)- α -蒎烯、(-)-蒎烯、(-)- α -紫穗

槐烯,差值降低 1 倍的指标为 7 个,为月桂烯、衣兰油烯、香叶醇、左旋龙脑、左旋- α -蒎烯、蒎烯和柠檬醛,见图 9B;微波法比水蒸气蒸馏法所得化合物相对峰面积差值高于 1 倍的指标有 4 个,为蒎烯、衣兰油烯、左旋- α -蒎烯和 (*E*)-柠檬醛,相对峰面积差值低于 1 倍的指标有 3 个,为 (-)-蒎烯、 α -姜烯和 (+)- α -蒎烯,见图 9C;压榨法鉴定得到的 3 种化合物相对峰面积均高于水蒸气蒸馏法的 1 倍以上,见图 9D。

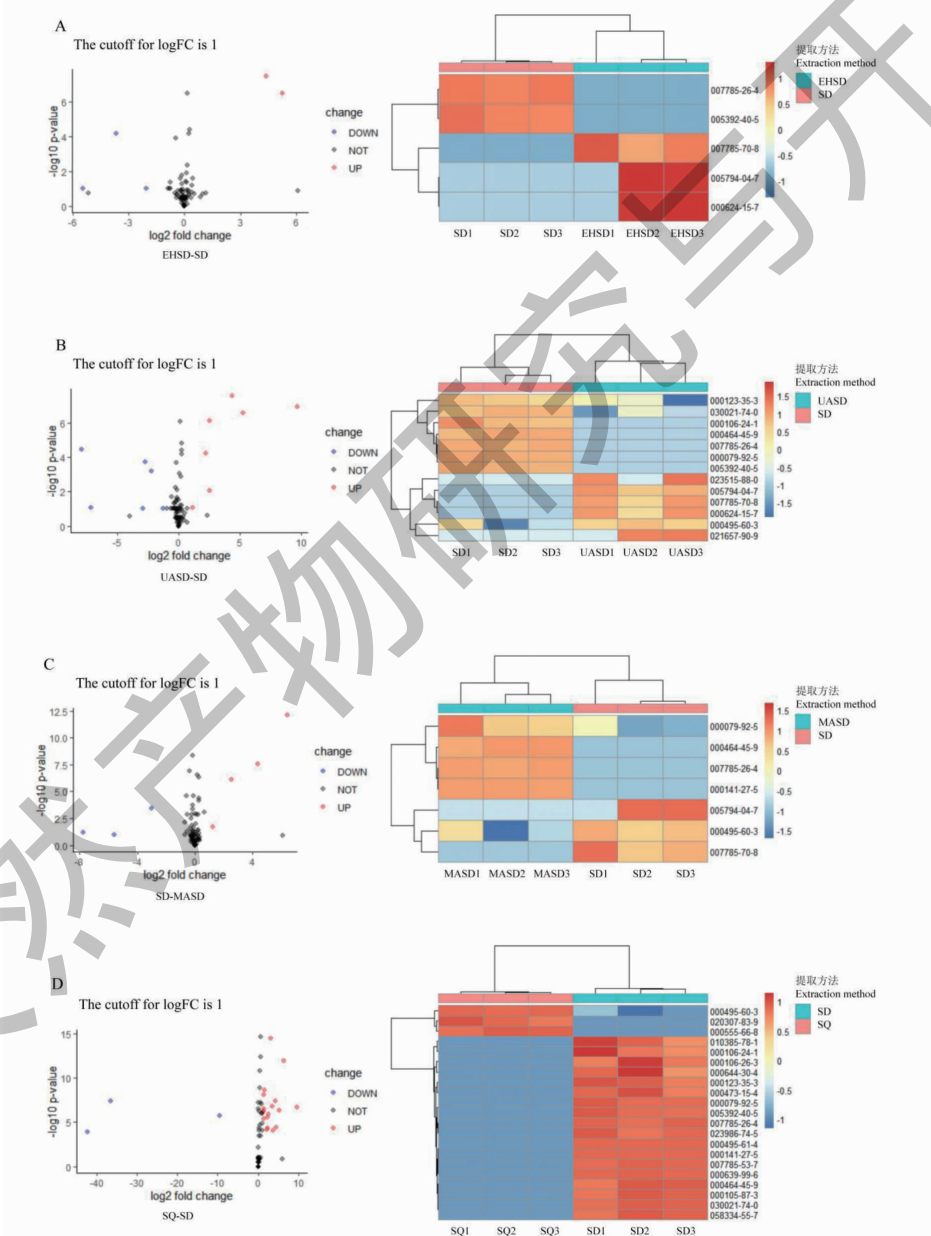


图 9 酶解、超声、微波、压榨 4 种方法与水蒸气蒸馏法所得挥发油成分比较火山图和聚类热图

Fig. 9 Volcano maps and cluster heatmaps of the comparison of volatile oil components obtained by EHSD, UASD, MASD and SQ with SD

2.4 显微鉴别

在 50 倍、200 倍显微下观察 5 种提取方法所得生姜药渣,结果见图 10。直观观察可知,酶解、超声、微波 3 种辅助水蒸气蒸馏法样品单位面积下油细胞数量与水蒸气蒸馏法接近,而压榨法单位面积

下油细胞数量相对较多,见图 10A。图 10B 显示超声辅助水蒸气蒸馏法所得药渣样品组织纹理较其他方法所得药渣更复杂细密。药渣结构纹理的复杂细密程度大致可排序为:超声 > 微波 > 酶解 > 压榨 > 水蒸气蒸馏法。

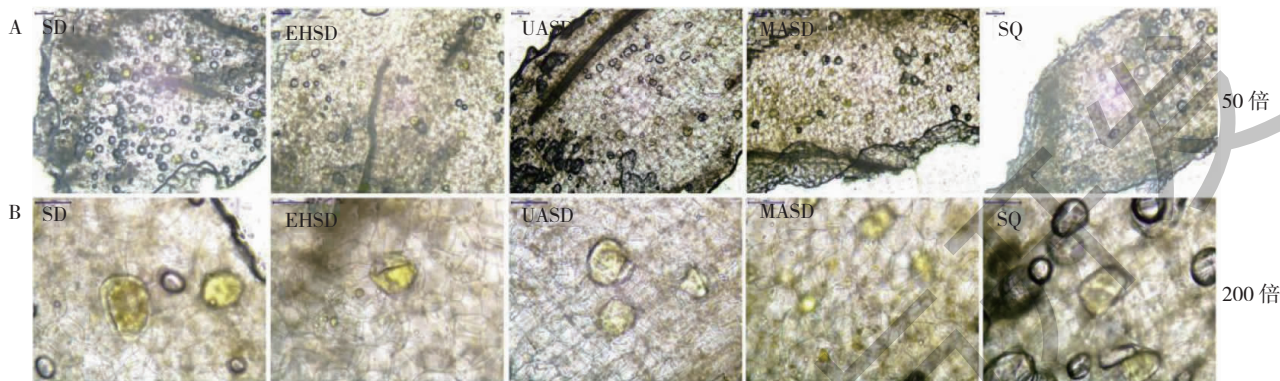


图 10 5 种方法所得药渣显微图

Fig. 10 Micrographs of dregs obtained by five methods

3 讨论与结论

中国药典(2020 版)^[1]一部生姜挥发油的提取按照挥发油测定法(通则 2204 甲法)进行,目前实验室提取生姜挥发油通常采用现行药典的水蒸气蒸馏法^[3]。文献研究表明,工业中采用超临界 CO₂ 萃取法获得的生姜挥发油成分较水蒸气蒸馏法更为复杂,成分差异较大,且容易混合有酚类等其他非挥发性成分^[10,18,19]。因此,本研究主要采用酶解、超声、微波 3 种辅助水蒸气蒸馏法与水蒸气蒸馏法进行类比,同时增加了操作简便的压榨法与以上 4 种方法进行比较。

水蒸气蒸馏法、酶辅助水蒸气蒸馏法、超声辅助水蒸气蒸馏法、微波辅助水蒸气蒸馏法、压榨法 5 种方法提取生姜挥发油得油率分别为 0.18%、0.19%、0.21%、0.18%、0.10%,其中超声辅助水蒸气蒸馏法得油率最高,鉴定得到化学成分种类也最多。本研究中 GC-MS 检测到的生姜挥发油成分与 Li 等^[11]、Gunaseena 等^[20]检测到的生姜挥发油成分相近,但也有所差异,可能由于生姜产地及提取方法的不同所致。

采用传统水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法等提取药材挥发油时,通常伴随着能源和时间消耗过多、有机溶剂残留、挥发油收率低等问题,并逐渐被新兴技术所取代。酶辅助水蒸气蒸馏是一种新开发的从天然植物中提取精油的方法,应用合适的酶进行植物的

酶促预处理将完全水解细胞壁,从而增强细胞内次生代谢物的释放,从而提高挥发油产量^[21]。超声辅助水蒸气蒸馏主要利用机械效应、空化效应、热效应、化学效应促进目标分子快速从载体上分离,即促进植物细胞结构的破坏,并有效促进了挥发油等细胞内容物的外流^[22]。微波是一种电磁波,可以通过偶极-偶极相互作用促进极性分子在电场中快速旋转,从而达到快速加热的目的。微波的引入,通过改变精油蒸馏中的加热方式,大大提高了系统的升温速率,通过传热和传质的协同作用,有效提高了挥发油分离率。但过大的微波辐照功率很容易导致植物材料的挥发性成分损失和热降解^[23]。3 种辅助水蒸气蒸馏法与水蒸气蒸馏法比较,因挥发性成分具有热不稳定性,可能受到微波、超声、酶的作用而产生变化,导致组分及相对峰面积的差异。

本研究参考文献中生姜挥发油的压榨提取法进行榨汁^[16],进一步处理获得脂溶性成分。采用 GC-MS 对不同提取方法所得挥发油(脂溶性成分)测定时,统一调整阈值为 20,此时压榨法鉴定到化合物 3 种。与其他方法相比,推测压榨法提取生姜挥发油并未不完全。但所得 α -姜烯和 β -倍半水芹烯相对峰面积均显著高于其他 4 种方法,且能够获得相对较多的 6-姜烯酚。由此可知,压榨法可简便快捷地提取新鲜生姜中的 α -姜烯、 β -倍半水芹烯和 6-姜烯酚,且耗能低、污染小。6-姜烯酚是 6-姜酚脱水形成

的烷基酚类化合物,属于姜辣素。姜辣素的分子结构中均含有3-甲氧基-4-羟基苯基官能团,根据该官能团所连接烃链的不同,姜辣素可分为姜酚、姜烯酚、姜油酮、姜酮、姜辣二酮、姜辣二醇等不同类型^[24]。姜烯酚的浓度低于姜酚,但具有更高的生物活性^[25]。

显微观察不同提取方法得到的生姜药渣时,手工切片难以保证样品薄厚标准均一,且样品含有大量气泡,因此显微观察只是一种简单直观的方法,以验证各种方法对挥发油提取的影响效果。结合得油率比较,生姜药材纤维性强,超声、酶解更有助于水蒸气蒸馏时油细胞破裂,挥发油外流,从而提高提取效率,微波虽然对生姜细胞结构产生一定影响,但可能导致新鲜植物的挥发性成分损失和热降解。

本研究对不同提取方法所得生姜挥发油的化学成分、相对峰面积及药渣的显微结构进行了比较,分析了不同方法所得生姜挥发油的特征性成分,以期为实际应用中生姜挥发油提取方法的选择及生姜的进一步开发利用提供参考依据。

参考文献

- 1 Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China(中华人民共和国药典)[M]. Beijing:China Medical Science Press,2020:104.
- 2 Baldin VP, Lima Scodro RB, Mariano Fernandez CM, et al. Ginger essential oil and fractions against *Mycobacterium* spp [J]. J Ethnopharmacol,2019,244:112095.
- 3 Liu LQ, Liu YH, Zhao CX, et al. Comparative analysis of main active constituents in ginger samples collected from different origins[J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2015,27:1016-1021.
- 4 Liu YM, Ling Y, Xu X, et al. Research progress on ginger and predictive analysis on its Q-Marker [J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药),2022,53:2912-2928.
- 5 Wang J, Liu HX, Zhang W, et al. Protection of essential oil of fresh ginger against cerebral ischemia reperfusion injury[J]. J Tradit Chin Med(中医杂志),2007,48:644-646.
- 6 Yan F, Gao JY, Zhang XF, et al. Study on the mechanism of ginger volatile oil in treating head wind disease based on network pharmacology and molecular docking technology [J]. Nat Prod Res Dev(天然产物研究与开发),2021,33:1032-1044.
- 7 Pei XN, Huang S. Study on enzyme-assisted extraction of volatile oil from ginger and its anti-oxidative activities[J]. App Chem Ind(应用化工),2014,43:1788-1792.

- 8 Li ZG, Meng WW, Wang F, et al. Analysis of volatile oil of *Zingiber officinale* Rosc. via ultrasound microwave assist steam distillation coupled with GC-MS[J]. J Zhejiang Univ Tech(浙江工业大学学报),2013,41:614-619.
- 9 Tao JZ. Research on the Microwave-assisted extraction of essential oil in traditional chinese medicine and analysis for the change of chemical composition [D]. Chongqing: Chongqing University(重庆大学),2010.
- 10 Wang LX, Feng S, Qian J, et al. Supercritical extraction optimization and component analysis of ginger essential oil[J]. Food Sci Technol(食品科技),2016,41:195-200.
- 11 Li ZN, Wei Y, Cao JY, et al. Characteristic analysis of volatile oil components in ginger and dried ginger from different origins[J]. Jiangsu Agric Sci(江苏农业科学),2020,48:215-221.
- 12 Xie J, Shi LX, Zhu XY, et al. Homogenate-assisted hydrodistillation extraction of essential oil from *Zingiber officinale* Rosc. [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药),2010,32:1882-1885.
- 13 Chen YR, Luo LM, Liu ZY. Comparison and analysis of chemical constituents of ginger volatile oil from different origins[J]. Jiangxi J Tradit Chin Med(江西中医药),2022,53:67-70.
- 14 Lei D, Li LX, Hong T, et al. GC-MS analysis of volatile oil from ginger in Jiushan Xingguo county Jiangxi province[J]. J Jiangxi Univ Tradit Chin Med(江西中医药大学学报),2021,33:67-71.
- 15 Meng WW. Studies and analysis of volatile components from plants via ultrasound/microwave assisted extraction[D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology(浙江工业大学),2013.
- 16 Wen HM, Wang YF, Wang YS, et al. Study on extraction of ginger volatile oil by pressing[J]. J Pract Chin Mod Med(中华实用中西医杂志),2006,19:2605-2608.
- 17 Xu JL, Xue YL, Hou WJ. Analysis on volatile oil components in different ginger varieties by GC-MS[J]. Agric Sci Technol Equip(农业科技与装备),2020,4:4-7.
- 18 Rehman T, Arshad MU, Ahmad RS, et al. Reconnoitring the impact of different extraction techniques on ginger bioactive moieties extraction, antioxidant characterization and physicochemical properties for their therapeutic effect [J]. Pak J Pharm Sci,2019,32:2223-2236.
- 19 Wang LX, Zhao WH, Lu YF, et al. Antioxidant and cytotoxic activities of distillates purified by means of molecular distillation from ginger extract obtained with supercritical CO fluid [J]. Chem Biodivers,2019,16:e1900357.