

贵州产辣蓼挥发性成分分析

林聪明¹, 王道平², 崔范洙², 朱海燕², 杨小生^{1,2*}

(1. 贵州大学 生命科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州省、中科院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002)

摘要: 采用固相微萃取法和水蒸气蒸馏法提取出贵州产辣蓼的挥发性成分, 运用 GC-MS 联用技术对挥发性成分进行分析鉴定, 并采用峰面积归一法确定各成分的相对含量。固相微萃取物中鉴定出 48 个化合物, 主要有 β -石竹烯(27.02%), 正癸醇(14.39%), 十二醛(12.96%)等, 水蒸气蒸馏物中鉴定出 27 个化合物, β -红没药烯(19.00%), 补身树醇(15.25%), 十二醛(14.41%)等。辣蓼中挥发性成分经两种不同提取方法成分存在明显差异。与文献数据比较, 不同省区产的辣蓼挥发性成分差异很大。体外抗菌试验表明, 辣蓼挥发性成分具有抑菌作用, 这些研究结果为辣蓼的有效利用提供了依据。

关键词: 辣蓼; 挥发性成分; 固相微萃取; 水蒸气蒸馏

中图分类号: R932 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)03-0410-05

Volatile components of *Polygonum hydropiper* distributed in Guizhou Province

LIN Cong-Ming¹, WANG Dao-Ping², CUI Fan-Zhu²,

ZHU Hai-Yan², YANG Xiao-Sheng^{1,2*}

(1. College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China)

Abstract: Volatile components of *Polygonum hydropiper* distributed in Guizhou province was extracted by solid-phase microextraction and steam distillation, identified by GC-MS technique, in which their relative content was ascertained by area normalization method of each constituent. 48 compounds were found in the extracts by the method of solid-phase microextraction, compounds β -Caryophyllene(27.02%), Decanol(14.39%) and Dodecanal(12.96%) were the main components. Main compounds β -Bisabolene(19.00%), Drimanol(15.25%) and Dodecanal(14.41%) were observed in the 27 constituents in the extracts by means of steam distillation. The evident difference of volatile components of *P. hydropiper* showed in the two different extraction methods and diversity in various districts compared with the data reported. The volatile components showed antimicrobial activities *in vitro*. These results provided evidences for using *P. hydropiper*.

Key words: *Polygonum hydropiper*; volatile components; solid-phase microextraction; steam distillation

辣蓼 (*Polygonum hydropiper*) 为蓼科 (Polygonaceae) 蓼属 (*Polygonum*) 一年生草本植物, 别名: 蓼子草, 柳草, 斑蕉草, 蝙蝠草等, 在中国大部分地区都有分布 (刘信平等, 2009)。全草均可入药, 其性温、辛, 具有祛风利湿, 散瘀止痛, 解毒消肿等功效

(张国英等, 2005)。国外近年来研究表明 (Akira 等, 1994), 辣蓼具有抗微生物, 杀虫, 抗氧化, 抗肿瘤等多种生物活性。辣蓼全草含蛋白质, 有机酸, 糖类, 鞣质, 黄酮, 挥发油等成分, 可能含有蒽醌类物质 (张国英, 2004)。在贵州苗族和侗族地区, 有大量人

* 收稿日期: 2011-12-02 修回日期: 2012-02-24

基金项目: 国家自然科学基金 (30973620); 贵州省科技厅项目 (黔科合 J 字 [2011] 2310) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30973620); Project of Department of Science and Technology of Guizhou Province (2011-2310)]

作者简介: 林聪明 (1985-), 男, 四川仪陇县人, 硕士研究生, 研究方向为药物化学, (E-mail) ncyllcm@163.com。

* 通讯作者: 杨小生, 博士, 研究员, 主要从事天然药物有机化学, (E-mail) gzcnp@yahoo.com.cn。

工种植栽培,主要作为佳肴酸汤鱼中的珍贵食料,有去腥味、添味作用,使酸汤鱼味鲜可口,广受食客青睐。由于地域与气候条件差异,其化学成分也不尽相同,特别是香味成分。为有效开发本香辛植物,我们开展了贵州苗族侗族集中区域黔东南凯里产的辣蓼植物中的挥发性成分研究。

固相微萃取法具有选择性好,简单快速,无溶剂使用等特点,是分析香气成分的有效手段。水蒸气蒸馏法是传统经典的提取挥发油的方法。本文利用此两种方法对辣蓼中挥发性成分进行提取,采用 GC-MS 测试分析其中的成分,并进行比较分析。旨在探讨辣蓼的挥发性化学成分,以及不同提取处理方法的成分变化。为进一步将辣蓼开发成为香料产品提供科学的依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

HP6890/HP5975C GC/MS 联用仪(美国安捷伦公司)。手动固相萃取装置(美国 Supelco 公司),萃取纤维头为:2 cm~50/30 μm DVB。辣蓼,采集于贵州省凯里,经贵阳中医学院陈德媛教授鉴定为蓼科植物辣蓼(*Polygonum hydropiper*)。

1.2 挥发性成分的提取

1.2.1 取新鲜辣蓼全草 3 130 g,洗净,切碎,用水蒸气蒸馏法提取,经乙醚萃取,无水硫酸钠干燥,除去乙醚后,得具有浓烈的芳香气息的黄色油状物(收率为 0.02%)。

1.2.2 取新鲜辣蓼全草 5 g,洗净,切碎,置于 25 mL 固相微萃取仪采集瓶中,插入装有 2 cm~50/30 μm DVB 纤维头的手动进样器,在 85 $^{\circ}\text{C}$ 左右顶空萃取 30 min 取出,快速移出萃取头并立即插入气相色谱仪进样口(温度 250 $^{\circ}\text{C}$)中,热解析 3 min,进样。

1.3 气相色谱-质谱分析

色谱条件为 HP-5MS 5% Phenyl Methyl Siloxane(30 m \times Φ 0.25 mm \times 0.25 μm)弹性石英毛细管,柱温为 45 $^{\circ}\text{C}$ (保持 2 min),以 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 升温至 300 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;气化室温度为 250 $^{\circ}\text{C}$;载气为高纯度 He(99.999%);柱前压 52.55 KPa,载气流量为 1.0 mL $\cdot\text{min}^{-1}$;进样量为 1 μL ,分流比 20:1。

离子源为 EI 源;离子源温度为 230 $^{\circ}\text{C}$;四级杆温度为 150 $^{\circ}\text{C}$;电子能量 70 eV;发射电流 34.6 μA ;倍增器电压 982 V;接口温度 280 $^{\circ}\text{C}$;质量范围 20~450。

1.4 定性定量分析

通过 HPMSD 化学工作站,结合 NIST005 标准质谱图库和 WILEY275 质谱图库,并结合有关文献(姚祖凤等,1998)对化合物进行人工图谱解析,按峰面积归一化法(宋晓红等,2009)进行计算求得各挥发性化学成分的相对含量。

1.5 体外抑菌试验

实验用菌株为:大肠杆菌(ATCC 25922)、枯草芽孢杆菌(ATCC 9372)、金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)、铜绿假单胞菌(ATCC 27853)。环丙沙星作为阳性对照药。采用纸片法(Alam 等,2009)测定抑菌圈,纸片挥发油载药量为 5600mg/disc,纸片环丙沙星载药量为 0.032 mg/disc。按照试管稀释法(NCCLS,2000)确定最小抑菌浓度(MIC)。

2 结果与分析

2.1 辣蓼挥发性成分的分析与鉴定

以固相微萃取和水蒸气蒸馏两种方法从辣蓼中共分离鉴定了 70 个化合物,其中,共性成分只有 5 个。检测鉴定出固相微萃取物中的挥发性成分 48 个,含量较高的有 β -石竹烯(27.02%),正癸醇(14.39%),十二醛(12.96%),正十二醇(7.39%),癸醛(6.50%), α -葎草烯(5.13%),含量超过 1% 的化合物共有 15 个。检测鉴定出水蒸气蒸馏得到的挥发性成分 27 个,含量较高的有 β -红没药烯(19.00%),补身树醇(15.25%),十二醛(14.41%), (3E)-3-甲基-4-(2,6,6-三甲基-2-环庚烯)-3-丁烯-2-醇(13.33%),石竹烯氧化物(7.87%),香柠檬醇(7.63%),含量超过 1% 的化合物共有 11 个。

化学成分分析表见表 1,气相色谱-质谱分析总离子流图见图 1 和图 2。

2.2 辣蓼挥发性成分的抑菌结果

采用纸片法和试管稀释法做抑菌试验(表 2)。表 2 结果显示,贵州产辣蓼的挥发性成分具有广谱抑菌作用,对革兰氏阳性菌作用更强些。由于辣蓼的挥发性成分及其复杂,尚难确定其抗菌的具体成分,也可能是多组分的联合作用。

3 结论与讨论

3.1 两种不同提取方法挥发性成分比较

从以固相微萃取和水蒸气蒸馏两种方法得到的

表 1 两种不同提取方法挥发性化学成分

Table 1 The volatile components from two different methods

编号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物名称 Compounds	分子式 Molecular formulas	分子量 Molecular weights	相对含量 relative contents (%)	
					固相微萃取	水蒸气蒸馏
1	2.858	1-戊烯-3-醇(1-penten-3-ol)	C ₅ H ₁₀ O	86	0.15	—
2	3.104	2-乙基呋喃(2-ethyl-furan)	C ₆ H ₈ O	96	0.05	—
3	4.364	2-戊烯-1-醇(2-penten-1-ol)	C ₅ H ₁₀ O	86	0.06	—
4	6.448	反-2-己烯醛(2-hexenal)	C ₆ H ₁₀ O	98	0.75	—
5	6.576	顺-3-己烯-1-醇(3-hexen-1-ol)	C ₆ H ₁₂ O	100	1.21	—
6	7.676	壬烯(1-nonene)	C ₉ H ₁₈	126	0.14	—
7	10.785	1-辛烯-3-醇(1-octen-3-ol)	C ₈ H ₁₆ O	128	0.43	—
8	11.041	6-甲基-5-庚烯-2-酮(6-methyl-5-hepten-2-one)	C ₈ H ₁₆ O	126	0.15	—
9	11.202	香叶烯(myrene)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.04	—
10	11.276	dl-6-甲基-5-庚烯-2-醇(dl-6-methyl-5-hepten-2-ol)	C ₈ H ₁₆ O	128	0.32	—
11	11.800	顺-3-己烯基乙酸酯(acetate)	C ₈ H ₁₄ O ₂	142	0.14	—
12	13.317	反-β-罗勒烯(trans-β-ocimene)	C ₁₀ H ₁₆	136	1.19	—
13	15.250	正十一烷(undecane)	C ₁₁ H ₂₄	156	1.82	—
14	19.086	癸醛(decanal)	C ₁₀ H ₂₀ O	156	6.50	0.40
15	21.479	正癸醇(decanol)	C ₁₀ H ₂₂ O	158	14.39	—
16	22.045	吲哚(indole)	C ₈ H ₇ N	117	0.49	—
17	22.536	十一醛(undecanal)	C ₁₁ H ₂₂ O	170	0.26	—
18	23.124	癸酸甲酯(decanoic acid, menthyl ester)	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	0.76	—
19	24.726	正十一醇(1-undecanol)	C ₁₁ H ₂₄ O	172	0.47	—
20	24.812	α-古巴烯(α-copaene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.50	—
21	25.292	α-姜烯(α-zingiberene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15	—
22	25.346	β-榄香烯(β-elemene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.10	—
23	25.485	癸酸乙酯(ethyl caprate)	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	200	0.28	—
24	25.955	十二醛(dodecanal)	C ₁₂ H ₂₄ O	184	12.96	14.41
25	26.318	β-石竹烯(β-caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	27.02	—
26	26.745	α-香柑油烯(α-bergamotene)	C ₁₅ H ₂₄	204	2.78	—
27	26.938	香橙烯(aromadendrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.49	—
28	27.312	α-律草烯(α-humulene)	C ₁₅ H ₂₄	204	5.13	—
29	27.376	反-β-法呢烯(trans-β-farnesene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.14	—
30	27.931	正十二醇(1-dodecanol)	C ₁₂ H ₂₆ O	186	7.39	—
31	28.038	1-癸烯(1-decene)	C ₁₀ H ₂₀	140	—	0.84
32	28.188	Ar-姜黄烯(Ar-curcumene)	C ₁₅ H ₂₂	202	2.01	—
33	28.230	正十四醇(1-tetradecanol)	C ₁₄ H ₃₀ O	214	—	2.49
34	28.294	β-芹子烯(β-selinene)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.04	—
35	28.412	佛术烯(eremophilene)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.12	—
36	28.508	α-萜澄茄油烯(α-cubebene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.37	—
37	28.957	β-红没药烯(β-bisabolene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.47	19.00
38	29.053	α-柏木烯(α-cedrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.68	—
39	29.235	α-人参烯(α-panasinsene)	C ₁₅ H ₂₄	204	2.03	—
40	29.405	月桂酸甲酯(methyl laurate)	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	1.16	—
41	29.993	檀香醇(santalol)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.39	—
42	30.239	γ-榄香烯(γ-elemene)	C ₁₅ H ₂₄	204	—	3.43
43	30.559	橙花叔醇(nerolidol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.32	—
44	30.783	金合欢醇(farnesol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	—	0.70
45	30.912	2-烯丙基苯酚(2-allylphenol)	C ₉ H ₁₀ O	134	0.19	—
46	31.136	石竹烯氧化物(caryophyllene oxide)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.70	7.87
47	31.446	月桂酸乙酯(ethyl laurate)	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.13	—
48	31.937	16-十八碳烯醛(16-octadecenal)	C ₁₈ H ₃₄ O	266	0.57	—
49	32.108	香柠檬醇(bergamotol)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	—	7.63
50	32.429	1,5-二甲基-6-亚甲基-螺[2,4]庚烷(spiro[2,4]heptanes 1,5-dimethyl-6-methylene)	C ₁₀ H ₁₆	136	—	0.40
51	32.536	2-甲基-丁酸丁酯(butyl-2-methyl butyrate)	C ₉ H ₁₈ O ₂	158	0.34	—
52	32.642	α-花柏烯(α-chamigrene)	C ₁₆ H ₂₆	218	0.47	—

续表 1

编号 No.	保留时间 Retention time(min)	化合物名称 Compounds	分子式 Molecular formulas	分子量 Molecular weights	相对含量 relative contents (%)	
					固相微萃取	水蒸气蒸馏
53	32.781	羽毛柏烯(widdrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	—	1.42
54	32.941	10,10-二甲基-2,6-二亚甲基环[7,2,0]十一烷-5-醇(10,10-dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7,2,0]undecan-5-ol)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	—	0.43
55	33.444	喇叭烯(ledene)	C ₁₅ H ₂₄	204	—	0.32
56	33.604	赖伯烯(junipene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15	—
57	33.882	雪松烯(α -cis-himachalene)	C ₁₅ H ₂₄	204	—	0.16
58	33.946	橙花醛(neral)	C ₁₀ H ₁₆ O	152	—	0.04
59	33.999	1,3,6-三亚甲基环庚烷(cycloheptane 1,3,6-trislmethylene)	C ₁₀ H ₁₄	134	—	0.40
60	34.213	α -蒎烯(α -longipinene)	C ₁₅ H ₂₄	204	—	0.40
61	34.320	1,3,8-对-薄荷三烯(1,3,8-p-menthatriene)	C ₁₀ H ₁₄	134	—	1.66
62	36.050	补身树醇(driminol)	C ₁₅ H ₂₆ O	220	0.19	15.25
63	39.725	(3E)-3-甲基-4-(2,6,6-三甲基-2-环庚烯)-3-丁烯-2-醇 ((3E)-3methyl-4-(2,6,6-trimethylcyclohex-2-en-1-yl)but-3-en-2-ol)	C ₁₄ H ₂₄ O	208	—	13.33
64	40.783	2,6-二甲基-2,4-庚二烯(2,6-dimethyl-2,4-heptadiene)	C ₉ H ₁₆	124	—	1.03
65	42.054	正二十烷(eicosane)	C ₂₀ H ₄₂	282	—	0.43
66	42.620	Naphthol-[1,2-c]furan-1(3H)-one,5,5a,6,7,8,9,9b-octahydro-6,6,9a-trimethyl-,[5aS-(5aa,9ab,9ba)]-(\rightarrow)-drimenin	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234	—	0.60
67	44.330	Naphthol[1,2-c]furan-1(3H)-one-4,5,5a,6,7,8,9,9a-octahydro-6,6,9a-trimethyl-(\rightarrow)drimenin	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234	—	0.60
68	44.372	2,3-二甲基-1,3-庚二烯(2,3dimethyl-1,3-heptadiene)	C ₉ H ₁₆	124	—	0.50
69	46.541	正二十二烷(docosane)	C ₂₂ H ₄₆	310	—	0.57
70	48.667	正二十三烷(tricosane)	C ₂₃ H ₄₈	324	—	0.92

注：“—”表示该物质未被检出。

Note: “—”means that the compound is not found.

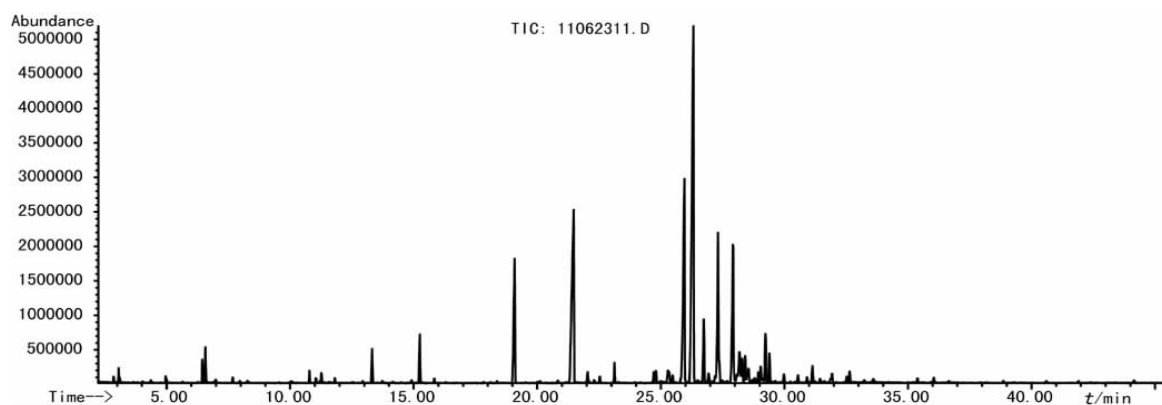


图 1 固相微萃取总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of the solid-phase microextraction

辣蓼挥发性成分的气相色谱—质谱总离子流图可见,前者的被检出的成分的数量远多于后者,说明水蒸气蒸馏法由于温度高,在提取过程中,可能破坏了其中稳定性较差的挥发性成分。固相微萃取方法是直接对原料样品进行检出,其挥发性成分得以较为客观的反应,但得到的只是定性和相对含量的结果,不能体现在原料中的总含量。而水蒸气蒸馏法可获得

挥发性成分在原料样品中的含量。这两种方法可在挥发性成分的研究中互为补充,可依据需要选择。

两种提取方法中挥发性成分有明显差异。固相微萃取中烯烃含量最高,占总成分的 46.02%,其次醇类占 25.13,醛占 21.10%。水蒸气蒸馏中醇含量最高,占总成分的 40.23%,其次烯烃类占 28.76%,醛占 14.85。固相萃取中鉴定出 2 个单萜

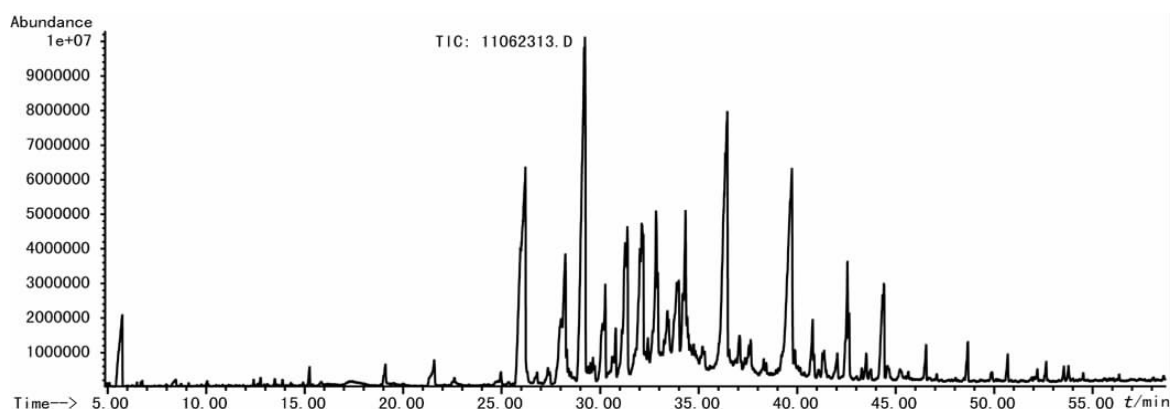


图 2 水蒸气蒸馏总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion chromatogram of steam distillation

表 2 辣蓼挥发性成分的体外抑菌作用
Table 2 Antimicrobial activity of volatile chemical constituents *in vitro*

供试菌株 Tested strains	抑菌圈直径 Diameters of zone of inhibition (mm)	最小抑菌浓度 Minimal inhibitory concentration (MIC)($\mu\text{g/mL}$)
金黄色葡萄球菌(ATCC 6538)	8/21*	700/0.38
枯草芽孢杆菌(ATCC 9372)	7/22	350/0.24
大肠杆菌(ATCC 25922)	6/17	1400/0.62
铜绿假单胞菌(ATCC 27853)	5/15	2800/4.6

注: 8/21*, 斜杠前的数值 8 为辣蓼的对应值, 斜杠后的数值 21 为环丙沙星的对值。

Note: 8/21*, .8 correspond to numerical value of *P. hydro Piper*, 21 correspond to numerical value of Ciprofloxacin.

类化合物, 含量占 1.23%, 21 个倍半萜类化合物, 含量占 45.68%。水蒸气蒸馏中鉴定出 6 个单萜类化合物, 含量占 2.94%, 13 个倍半萜类化合物, 含量占 57.81%。由此可知两种提取方法所得挥发性成分中均以倍半萜类化合物为主要成分。

3.2 不同产地辣蓼中挥发性成分的比较

从地域上来看, 贵州产辣蓼水蒸气蒸馏提取得到的挥发油中的挥发性成分有别于其它省区。文献调研, 湖南吉首产辣蓼中含量最高的化合物为 1-菲兰烯(13.60%) (姚祖凤等, 1998), 湖北恩施产辣蓼中含量最高的化合物为 N-(2-乙胺)次乙亚胺(39.09%) (刘信平等, 2009), 上海金山产辣蓼中含量最高的化合物为 2,4a,5,6,7,8-六氢-3,5,5,9-四甲基-苯并环庚三烯(10.13%) (蔡玲等, 2009), 而贵州凯里产辣蓼中含量最高的为 β -红没药烯(19.00%)。因此, 不同省区的辣蓼中的主要挥发性成分区别较大。

辣蓼植物在我国分布广泛, 当前对蓼属化学成分和药理作用的研究大多是单一的, 尚未进行系统、

深入的研究, 这就限制了蓼属植物的有效利用。另外, 辣蓼已被列入《贵州省中药、民族药材质量标准》收录品种, 是民间常用食材料, 具有开发价值。

致谢 贵州省、中科院天然产物化学重点实验室对样品进行气相色谱-质谱联用分析。

参考文献:

- 张国英. 2004. 辣蓼的主要成分提取、分离与鉴定[D]. 南京: 南京林业大学; 11-13
- Alam MT, Karim MM, Khan SN. 2009. Antibacterial activity of different organic extracts of *Achyranthes aspera* and *Cassia alata* [J]. *J Sci Res*, **1**(2): 393-398
- Akira Y, Takatoshiu, Nobuyukio, et al. 1994. Antioxidative sulphated flavonoids in leaves of *Polygonum hydro Piper* [J]. *Phytochemistry*, **35**(4): 885-887
- Cai L(蔡玲), Li AY(李爱阳). 2009. Extracted the essential oil from *Polygonum hydro Piper* and analysed by GC-MS(水蓼挥发油的提取及 GC-MS 分析) [J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药), **31**(6): 919-922
- Liu XP(刘信平), Zhang C(张弛), Tan ZW(谭志伟), et al. 2009. Study on chemical components of volatile oil from *Polygonum flaccidum messin*(辣蓼挥发性活性成分的 GC-MS 研究) [J]. *Chin JMAP*(中国现代应用药学杂志), **26**(4): 285-288
- NCCLS. 2000. In methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-fifth edition [M]. NCCLS Document M7-A5. NCCLS Wayne, PA, USA
- Song XH(宋晓红), Peng L(彭力) Shi XG(石祥刚), et al. 2009. The aroma components from the flowers of *Camellia rensanxiangine* by HS-SPME(顶空固相微萃取法分析毛药山茶花香气成分) [J]. *Guihaia*(广西植物), **29**(4): 561-563
- Yao ZF(姚祖凤), Liu JX(刘家欣), Zhou LC(周亮成). 1998. Study the chemical constituents on essential oil from *Polygonum hydro Piper* in Xiangxi(湘西辣蓼挥发油化学成分研究) [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), **11**(2): 37-40
- Zhang GY(张国英), Zeng T(曾韬). 2005. Study on chemical constituents of *Polygonum hydro Piper*(辣蓼主要化学成分的研究) [J]. *Chem Ind Fore Prod*(林产业化学与工业), **25**(3): 21-24