

· 化学成分 ·

两个不同产地大蒜挥发油成分的比较研究

曾仲大,梁逸曾*,李博岩,胡 芸

(中南大学化学化工学院 中药现代化研究中心,湖南 长沙 410083))

摘 要:目的 利用色谱联用技术(GC-MS)对陕西兴平基地大蒜和湖南普通食用大蒜中的挥发油成分进行测定,比较挥发油成分的异同。方法 采用质谱相关色谱理论,比较了这两个不同地区大蒜挥发油成分;同时基于直观推导式演进特征投影法(HELP)对产生的二维气相色谱/质谱数据进行解析,根据得到的色谱保留时间和纯质谱在质谱库中进行相似性检索,实现对组份的鉴定。结果 鉴定并用总体积分法定量计算了19个挥发油成分。质谱相关色谱理论和HELP方法得到了相同的定性信息。结论 采用化学计量学的方法,成功地实现了两个地区大蒜挥发油成分的比较研究,得到了两者整体组份信息的异同,为药理药效的比较研究奠定了基础。

关键词:大蒜;挥发油;气相色谱-质谱联用;质谱相关色谱;直观推导式演进特征投影法

中图分类号:R284.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2003)09-0772-05

Comparative study of volatile oil components in garlic from two different habitats

ZENG Zhong-da, LIANG Yi-zeng, LI Bo-yan, HU Yun

(1. Research Center of Chinese Traditional and Herbal Drug Modernization, College of Chemistry and Chemical Engineering, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract **Object** To detect and compare chemical components of volatile oil in common edible garlic from Xingping base, Shaanxi Province and Hunan Province. **Methods** By the theory of mass spectrum correlation chromatography, their similarities and differences of the volatile oil were compared. Then, heuristic evolving latent projections (HELP) resolution and overall volume integration method upon two-dimensional GC-MS data were employed to determine and quantify the components. **Results** The qualitative information was found by the above theory and HELP, and 19 volatile oils were identified and calculated for the common edible garlic from Xingping base, Shaanxi Province and Hunan Province. Among them, Seven components were not reported in the known references before. **Conclusion** The resolution results by HELP are coincident with the results of mass spectral correlation chromatography. Their quantitative information has great differences of the two different places' garlic. All these results provide powerful evidence for future pharmacological research.

Key words garlic; volatile oil; GC-MS; mass spectrum correlation chromatography; heuristic evolving latent projections (HELP)

大蒜又名胡蒜、独蒜、独头蒜等,是百合科葱属植物大蒜 *Allium sativum* L. 的地下鳞茎。自古以来就是世界各国人民广泛食用的食物。大蒜性味辛、温,归脾、胃、肺经^[1]。有抗菌、抗病毒、消炎、杀虫、调血脂、降血糖、解毒、抗肿瘤、抗风湿、预防动脉粥样硬化、提高机体免疫能力等功效^[2-5]。研究表明,大蒜中的挥发性化学成分,如一些含硫化合物是主要的生物活性成分^[2,5]。目前,对挥发油的化学成分测

定一般采用GC-MS检测,基于色谱保留指数或质谱等对部分组份进行定性和定量^[6]。但往往由于未充分地利用二维数据的信息,而难于解决色谱峰纯度鉴定等问题。本研究先采用质谱相关色谱理论,实现对二个不同产地大蒜挥发油化学组份的比较研究,同时借助化学计量学对高维数据的解析方法,如直观推导式演进特征投影法(heuristic evolving latent projections, HELP)^[7,8]对陕西兴平基地和湖

收稿日期:2003-03-12

基金项目:国家自然科学基金重点项目(20235020,20175036)

作者简介:梁逸曾(1950-),男,湖南长沙人,博士,教授,博士生导师,主要从事化学计量学和中药现代化方面的研究。

Tel (0731) 8822841

Fax: (0731) 8825637

E-mail yzhang@public.cs.hn.cn

南普通食用大蒜挥发油的定性定量结果进行了比较研究,得到了令人满意的结果

1 实验部分

1.1 仪器与药品: GC-17A Shinadzu气相色谱仪, QP-5000 Shimadzu质谱仪。大蒜分别采自陕西兴平大蒜生产基地和湖南长沙左家垅菜市场,经湖南省中医药研究院中药研究所鉴定

1.2 挥发油的提取: 分别称取二个不同地点的 400 g 干蒜,按《中华人民共和国药典》(2000年版)中的方法提取挥发油

1.3 挥发油的测定条件

1.3.1 气相色谱条件: DB-5弹性石英毛细管柱(30 m× 0.25 mm),高纯氮做载气,柱前压为 68.948 kPa 程序升温: 柱温从 50℃ (保持 3 min),程序升温至 230℃ (保持 10 min), 10℃ /min 进样口温度为 250℃,进样量为 0.04 μL

1.3.2 质谱条件: 电离方式 EI,离子源温度为 150℃,电子能量为 70 eV,倍增电压为 1 100 V,扫描质量范围(m/z)为 40~ 425 amu,扫描周期为 0.2 s,接口温度为 250℃。

2 结果与讨论

2.1 质谱相关色谱及不同地点大蒜挥发油化学成分的比较: 相同的化学物质具有相同的质谱,同一试验样本的化学成分在同种类型的色谱柱上虽然保留时间不可能完全相同,但是洗脱的顺序是基本一致的。利用联用色谱的质谱信息与色谱信息,可判断不同地点大蒜挥发油化学成分之间的相关关系

两个不同的色谱曲线,虽对应的流出组份的保留时间有些差异,但其质谱相同或相似。通过对不同流出时间点的质谱相关计算,可得一条类似于色谱的质谱相关系数曲线,称之为质谱相关色谱。

一般说来,两个组份的质谱相关系数可由下式计算。r越大,表示组份 i 的质谱 S 与组份 j 的质谱 S 越相似。当 $r=1$ 时,两个组份就是相同的化学物质。实际上由于量测误差的存在, r 最大值不可能等于 1,只能逼近于 1 在此, $\| \cdot \|$ 表示 Frobenius 范数。

$$r(i, j) = \frac{(S_i - \overline{S_i})^T \cdot (S_j - \overline{S_j})^T}{\| (S_i - \overline{S_i}) \| \cdot \| (S_j - \overline{S_j}) \|} \quad (-1 \leq r(i, j) \leq 1) \quad (1)$$

假设通过某种色谱峰纯度检验的方法,得到了 GC-MS 数据中的某一纯物质质谱,记为 S_i 。为进一步得到该纯物质质谱相对于另一色谱指纹图谱中该纯物质的质谱相关色谱,可通过对另一个样本的二

维色谱指纹图谱所包含的所有质谱,记为 $X_j (j=1, \dots, n)$,来计算他们与该目标纯物质质谱的相似系数。这样所得到的将是本研究所定义的相对于该目标纯物质的质谱相关色谱。式(1)可改写为

$$r(i, j) = \frac{(S_i - \overline{S_i})^T \cdot (X_j - \overline{X_j})^T}{\| (S_i - \overline{S_i}) \| \cdot \| (X_j - \overline{X_j}) \|} \quad (j=1, \dots, n) \quad (2)$$

根据质谱相关系数大小,可识别出不同地点所得的数据中同一化学物质对应的流出组份,而勿需具体鉴定该组份为哪种化学物质。继结合目标纯物质质谱所在的原色谱峰簇的保留时间信息,即可正确判断其准确的峰位置,实现对不同体系所含组份的比较研究

下面以陕西基地大蒜保留时间在 1 160.4 s 处的 42号峰为例,来说明实现上述组分判断的过程。首先通过色谱峰纯度检验可知,42号峰在 1 160.4 s 处为纯色谱峰,可获得其纯质谱(记为质谱 A),如图 1 的上部分所示。继而根据式(2)计算湖南普通食用大蒜 GC-MS 数据的每一色谱保留时间点对应的质谱与质谱 A 的相关系数(r)。以相关系数 r 对保留时间 t 作图(如图 2)就是其质谱相关色谱曲线。陕西基地大蒜中的 42号峰显然与湖南普通食用大蒜中保留时间在 1 157.6 s 的峰(如图 1 中的下图所示质谱)对应,他们的(r)达到 0.999 5 色谱保留时间偏移也不大,据此可判断组份 A 与组份 B 应是同一化学组份,这与我们对这二种物质的质谱进行分析所得的结果是一致的。依照此原理,可依次识别出两个不同地点大蒜中化学组份的异同,结果列于表 1 陕西兴平基地大蒜中存在的 60个挥发性化学组份中,在湖南普通食用大蒜中找到了其中的 54个,第 3, 14, 26, 47, 48和 51号峰难以匹配,而在湖南普通食用大蒜中存在的所有挥发性化学组份,都存在于陕西兴平基地大蒜组份中。

2.2 挥发油化学成分的定性定量分析与鉴定

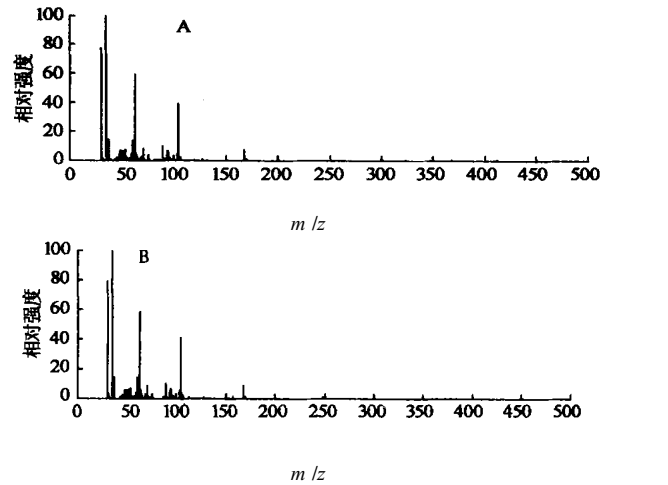
2.2.1 挥发油化学成分的定性分析与鉴定: 为鉴定并确证质谱相关色谱所得结果,对得到的数据进行了化学计量学的解析。从陕西基地和湖南普通食用大蒜挥发油化学组份的总离子流图中看出: 前者约有 56个色谱峰,后者约有 52个色谱峰。二个数据都只有少部分的色谱峰重叠。经过 HELP方法解析后,分别得到了 60个和 54个组份。所得结果与用质谱相关色谱所得结果一致。下面截取陕西基地大蒜 GC-MS 数据保留时间点在 580~ 720(116~ 144 s)的色谱峰,以说明 HELP法的解析原理以及过程。

表 1 陕西兴平基地大蒜和湖南普通食用大蒜挥发油成分的比较结果

Table 1 Comparative results of volatile oil from Xingping base (Shaanxi) garlic and Hunan common edible garlic						
峰号	保留时间 t_R/s		相关系数 r	峰号	保留时间 t_R/s	
	兴平基地	湖南食用			兴平基地	湖南食用
1	120.8	121.4	0.928 1	31	874.0	871.2
2	125.2	125.8	0.999 9	32	890.0	889.6
3	134.0	—	—	33	911.2	910.0
4	149.8	149.6	0.998 4	34	926.0	924.8
5	159.2	159.0	0.992 1	35	940.0	938.6
6	168.4	167.8	0.988 7	36	954.2	953.6
7	188.4	187.4	0.986 9	37	961.6	959.4
8	205.0	205.8	0.988 8	38	1 042.0	1 041.8
9	235.8	235.8	0.936 4	39	1 078.2	1 077.8
10	240.0	238.0	0.948 9	40	1 127.8	1 124.0
11	339.0	338.4	0.999 2	41	1 140.2	1 138.2
12	363.4	363.2	0.998 8	42	1 160.4	1 157.6
13	400.2	399.6	0.894 0	43	1 184.2	1 182.2
14	480.8	—	—	44	1 213.6	1 213.4
15	429.0	428.8	0.967 6	45	1 245.0	1 244.8
16	443.6	442.4	0.999 7	46	1 503.6	1 502.6
17	466.2	464.8	0.994 6	47	1 590.4	—
18	479.0	479.4	0.996 0	48	1 620.4	—
19	496.8	497.4	0.993 0	49	1 642.0	1 643.4
20	497.2	494.6	0.998 7	50	1 676.6	1 673.8
21	523.6	523.4	0.996 1	51	1 689.4	—
22	688.6	685.6	0.974 4	52	1 776.2	1 775.4
23	732.0	730.2	0.998 7	53	1 790.6	1 788.2
24	757.4	756.6	0.999 7	54	1 817.2	1 815.8
25	772.0	768.2	0.999 4	55	1 841.0	1 842.2
26	790.6	—	—	56	1 872.6	1 873.8
27	833.0	826.2	0.999 2	57	1 893.2	1 891.6
28	840.4	837.2	0.982 0	58	1 995.2	1 991.8
29	849.6	847.6	0.969 3	59	2 062.6	2 060.8
30	866.2	871.8	0.991 4	60	2 116.2	2 112.4

一些看似纯的色谱峰,其实可能是混合组份的色谱峰。图 3为所截取的数据在扣除背景后的情形。从图中可以看出,该体系组份没有完全分离,传统的质谱检索不能得到真实解。图 4为该保留段的演进特征投影图,从图中大致可以判断,这是一个三组份体系。然后通过特征结构跟踪分析(Eigenstructure tracking analysis, ETA)所得到的秩图(Rank Map)^[7,8],可更清楚地表征该体系所具有的化学组份情况。图 5为相应的秩图,在此图中,区域 1, 1+ 2, 2, 2+ 3和 3分别示为组份 1的纯组份区、组份 1和 2的两组份重叠区、组份 2的纯组份区、组份 2和 3的两组份重叠区和组份 3的纯组份区。由该秩图可明确判断在该时间段内是一个三组份体系。根据确定的组份数、组份 1, 2和 3的纯组份区域和零组份区域(没有对应组份流入的区域),利用局部因子分析进行满秩分辨即可唯一地解析出每一组份的纯

色谱曲线和质谱。图 6为解析完后,组份 1, 2和 3的纯色谱曲线,图 7和图 8为解析后得到组份 2与组份 3的质谱和相似性检索得到的标准质谱。他们可能的化合物分别为丙烯和甲硫醇。在质谱库中,组份 1没有很好地匹配。其他保留时间段的组份解析及



A 陕西兴平基地大蒜 GC-MS数据在保留时间为 1 160.4 s时的质谱;
B 湖南普通食用大蒜 GC-MS数据在保留时间为 1 157.6 s时对应的质谱
A-mass spectra of GC-MS data of Xingping base garlic at retention time 1 160.4 s;
B-corresponding mass spectra of GC-MS data of Hunan common edible garlic at retention time 1157.6 s

图 1 陕西兴平基地大蒜在保留时间为 1 160.4 s处的质谱及其通过质谱相关色谱理论得到的湖南普通食用大蒜对应的质谱

Fig. 1 Mass spectra of Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time 1 160.4 s and its corresponding mass spectra of Hunan common edible garlic by mass spectrum correlation chromatography

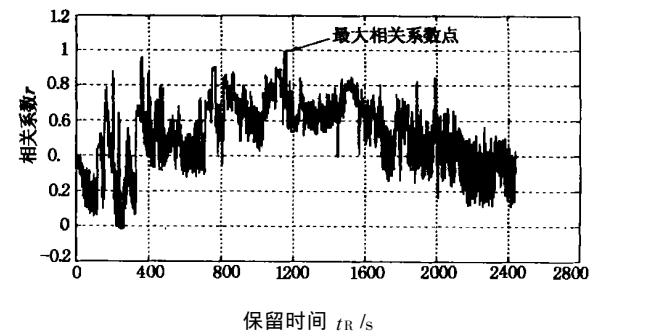


图 2 陕西兴平基地大蒜在保留时间为 1 160.4 s处的组份与湖南普通食用大蒜组份的质谱相关色谱图

Fig. 2 Correlation chromatogram of mass spectrum between Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time 1 160.4 s and Hunan common edible garlic

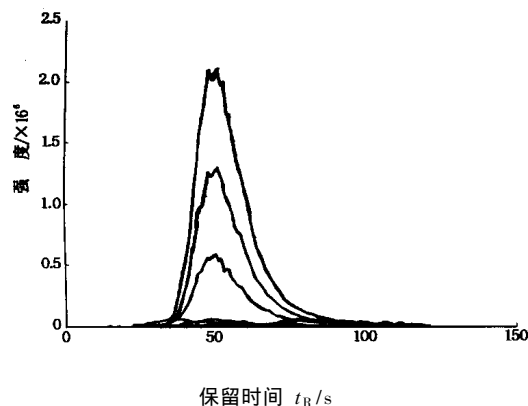


图 3 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720 色谱保留时间点范围内的 GC-MS 图谱

Fig. 3 GC-MS original data of Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

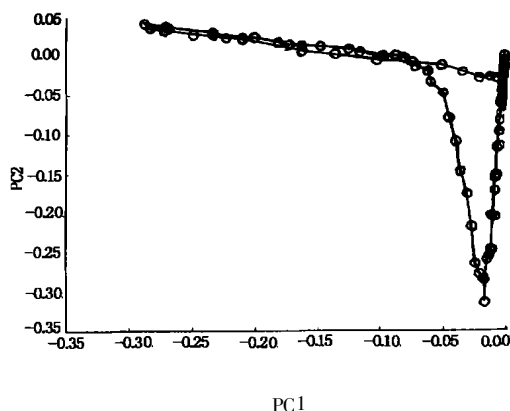


图 4 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720 色谱保留时间点范围内的演进特征投影图

Fig. 4 HELP of Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

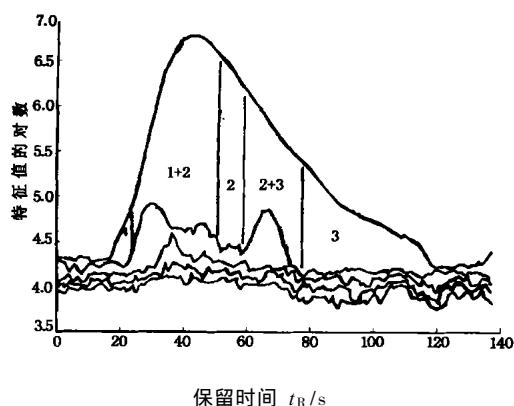


图 5 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720 色谱保留时间点范围内的化学组份秩图

Fig. 5 ETA of Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

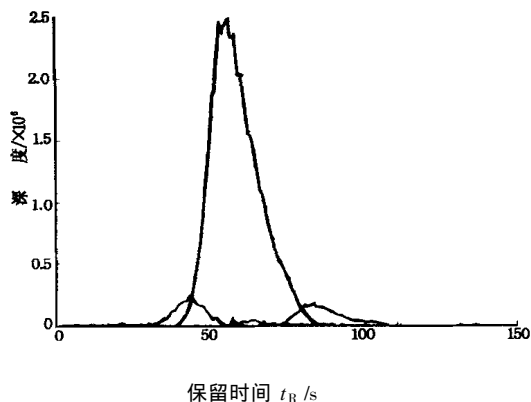


图 6 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720 色谱保留时间点范围内的解析色谱图

Fig. 6 Resolution chromatograms of Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

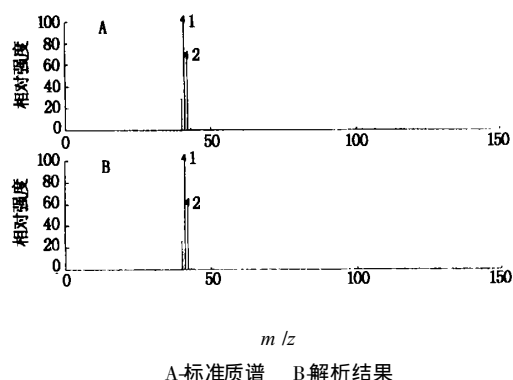


图 7 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720 保留时间点范围内解析得到组份 2 的质谱和相似性检索得到的标准质谱

Fig. 7 Resolution mass spectra and its standard mass spectra of components 2 in Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

感兴趣,需要对其进行定性,也可以采用 HELP 方法,先得到纯质谱和色谱的保留时间位置,然后增大进样量,提高信噪比,或者分离出组份等进行定性。两个不同地点在蒜的检索结果见表 2。从表中可以看出,除了甲硫醇 (CH_3SH) 在陕西基地大蒜中存在,而在湖南普通食用大蒜中没有找到外,其余的已经被鉴定为 18 个挥发油组份是相同的,而且大都是含硫化合物。质谱的相似性和保留时间比较都很清楚地表明了这一点。经查阅大量相关文献,并深入对比研究后发现,在这些确认的化合物中,有 7 个化合物是以前还没有报道过的。他们是保留时间依次在 129 s (陕西兴平) 和 127 s (湖南) 位置的 propene (丙烯, C_3H_6), 保留时间在 133 s (陕西兴平) 甲硫醇,

定性可仿此进行,但有些组份因其信噪比太低,某些组份相对分子质量太大以及沸点很高,或者是质谱库不完全而没有确证。当然,如果对一些组份特别

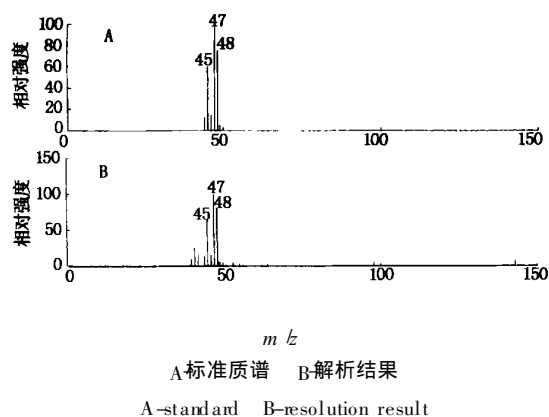


图 8 陕西兴平基地大蒜在 580~ 720保留时间点范围内解析得到的组份 3 的质谱和相似性检索得到的标准质谱

Fig. 8 Resolution mass spectra and its standard mass spectra of component 3 in Xingping base (Shaanxi) garlic at retention time points 580- 720

保留时间都在 150 s 位置的 allyl alcohol(烯丙醇, C_3H_6O),保留时间在 429 s(陕西兴平)和 430 s(湖南)位置的 2, 4-dimethylthiophene(2, 4-二甲基噻吩, C_6H_8S),保留时间都在 523 s 位置的 dimethyl trisulfide(三硫代乙烷, $C_2H_6S_3$),保留时间分别在 954 s 和 953 s 的 3 vinyl-1, 2-dithiocyclohex-5-ene (4-ene(3-乙烯基四氢化-1, 2-二硫杂苯, $C_6H_8S_2$),以及保留时间分别在 2 116 s(陕西兴平)和 2 114 s(湖南)位置的 undecanoic acid(十一羧酸, $C_{11}H_{22}O_2$)

2.2.2 挥发油成分的定量分析: 总体积分法^[9]中的总体积分值类似于常规的 GC-MS 中的色谱峰面积,基于此值可以对组份做相对定量分析,但该值利用了解析后的组份纯色谱和纯质谱,优于常规 GC-MS 对重叠色谱做切割法以定量的近似处理,可提高结果的准确度,定量结果也列于表 2 中,以作对比。从表 2 可看出,尽管定性分析得到的二个不同产地,不同种植条件的大蒜具有基本相似的挥发油化合的结构,但是他们的含量是有很大差异的,主要是由于不同的种植地点、种植条件、采收情况和储存状况所造成的。这也是指导工业生产的有力依据。

从以上的讨论可知,质谱相关色谱可较好地判断不同地点大蒜挥发油成分的异同。处理高维数据的 HELP 方法,可以鉴别色谱峰的纯度,并分辨出各组份的纯色谱和纯质谱,避免了由于检索的是混合物的质谱而导致错误的信息。另外,本研究所给出的一些结果,有一些是以前没得到或没报道过的,为大蒜的药理研究奠定了基础

表 2 已鉴定的陕西兴平基地大蒜和湖南普通食用大蒜挥发油成分的定量结果比较

Table 2 Comparative results of qualitative and quantitative information of volatile oil extracted from Xingping base (Shaanxi) garlic and Hunan common edible garlic

峰号	化合物名称	百分含量 %	
		兴平	湖南
2	丙烯	1.05	1.06
3	甲硫醇	0.06	-
4	烯丙醇	0.01	0.02
5	烯丙硫醇	0.27	0.12
6	硫代丙烯	0.02	0.10
8	硫代甲基丙烯	0.09	0.07
9	二硫代乙烷	0.05	0.04
11	1, 2-二硫丙烯	0.51	0.50
12	硫代二丙烯	0.16	0.59
15	2, 4-二甲基噻吩	0.01	0.05
18	二硫代甲基-2-丙烯	0.16	0.34
19	三硫代乙烷	0.57	0.37
22	二硫代二丙烯	31.27	40.93
32	3-乙烯基四氢化-1, 2-二硫杂苯	0.18	0.42
35	3-乙烯基四氢化-1-2-二硫杂苯	1.02	0.04
36	四硫代乙烷	0.16	0.05
39	三硫代二丙烯	26.00	24.55
56	四硫代二丙烯	0.02	0.05
59	十一羧酸, $C_{11}H_{22}O_2$	0.17	0.06

References

[1] Huang T K. *Handbook of Composition and Pharmacological Action of Commonly-used Traditional Chinese Medicines* (常用中药成分与药理手册) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1994.

[2] Wang J H, Wang Z G, Guo H M. Recent progress of chemical and pharmacological effect research of garlic [J]. *Heilongjiang Med J* (黑龙江医药), 1996, 9(6): 340-341.

[3] Wang B H, Zuzel K A, Rahman K, et al. Treatment with aged garlic extract protects against bromobenzene toxicity to precision cut rat liver slices [J]. *Toxicology*, 1999, 132(2-3): 215-225.

[4] Chen G W, Chung J G, Hsieh C L, et al. Effects of the garlic components diallyl sulfide and liallyl disulfide on arylamine N-acetyltransferase activity in human colon tumour cells [J]. *Food Chem Toxicol*, 1998, 36(9-10): 761-770.

[5] Yu X R, Cong Y Z. Recent progress of chemical components and pharmacological effect research of garlic [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1994, 25(3): 158-161.

[6] Gong F, Peng Y G, Cui H, et al. Application research of HELP in herbal medicine analysis [J]. *Chem J Chin Univ* (高等学校化学学报), 1999, 20(2): 199-203.

[7] Kvalheim O M, Liang Y Z. Heuristic evolving latent projections; (resolving two-way multicomponent data. 1. Selectivity, latent projective graph, datascope, local rank and unique resolution [J]. *Anal Chem*, 1992, 64: 936-945.

[8] Liang Y Z, Kvalheim O M, Keller H R. Heuristic evolving latent projections: resolving two-way multicomponent data. 2. Detection and resolution of minor constituents [J]. *Anal Chem*, 1992, 64: 946-953.