

- [12] 刘梦茵, 刘芳, 周涛, 等. 乌梅乙醇提取物抑菌作用及其抑菌成分分析[J]. 食品科学, 2011, 32(17): 190-193.
- [13] 晋鹏飞, 张浩然, 王婷婷, 等. 5种中草药的不同溶剂提取物对嗜水气单胞菌抑菌活性的研究[J]. 水产科技情报, 2022, 49(4): 212-218.
- [14] 朱志军, 陈耀升, 张楠楠, 等. 中药有效成分(组)分提取试验研究方法及其特点的探讨[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(1): 190-192.
- [15] 苏敬. 新修本草[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1981.
- [16] 熊辉岩, 张晓峰. 唐古特大黄叶柄的营养成分分析[J]. 天然产物研究与开发, 2003, 15(6): 515-517.
- [17] 曹煌, 张静雅, 龚苏晓, 等. 中药酸味的药性表达及在临证配伍中的应用[J]. 中草药, 2015, 46(24): 3617-3622.
- [18] 李曼玲. 抗菌消炎中草药的研究 I 活性成分—有机酸类[J]. 中药通报, 1986(6): 57-60.
- [19] 潘晓倩, 成晓瑜, 张顺亮, 等. 不同检测方法在抗菌肽抑菌效果评价的比较研究[J]. 肉类研究, 2014, 28(12): 17-20.
- [20] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.
- [21] 田双娥. 三种不同抑菌圈试验法在牛至油抑菌评价中的应用研究[J]. 香料香精化妆品, 2019(1): 37-41.

不同炮制方法对草果挥发油成分的影响

朱新文^{1,2}, 徐东川^{2,3}, 王建刚⁴, 高奇^{2,3}, 王变利^{2,3}, 杨青^{2,3*}, 周倩^{2,3*}

(1. 山东中医药大学药学院, 山东 济南 250355; 2. 山东省中医药研究院, 山东 济南 250014; 3. 传统中医芳疗的现代化研究与开发山东省工程研究中心, 山东 济南 250014; 4. 山东博康中药饮片有限公司, 山东 潍坊 262500)

摘要: 目的 探讨不同炮制方法对草果挥发油成分的影响。方法 分别制备草果仁(直接去壳法和药典法)和姜草果仁, 电子鼻和 GC-MS 法分析其所含挥发油的种类及组成, 主成分分析、正交偏最小二乘法判别分析考察差异性成分。结果 在3种炮制品中分别鉴定出87、57、62种成分。直接去壳法、药典法所得草果仁可明显区分开。2种方法所得草果仁的差异成分有5种(桉油精、橙花醇、反式-2-癸烯醛、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬烯), 草果仁(药典法)与姜草果仁的差异性成分有4种(2-十五炔-1-醇、乙酸香叶酯、柠檬烯、月桂烯醇)。结论 该方法稳定可靠, 可为草果炮制品质量评价和药效物质基础研究提供数据支持。

关键词: 草果; 挥发油; 炮制方法; 化学成分; 电子鼻; GC-MS; 主成分分析; 正交偏最小二乘法判别分析

中图分类号: R283

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)12-4126-08

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.12.037

草果为姜科植物草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire 的干燥成熟果实, 具有燥湿温中、截疟除痰功效, 可用于治疗寒湿内阻、脘腹胀痛、痞满呕吐、疟疾寒热、瘟疫发热等症。该药材主要成分为挥发油, 具有抗炎^[1]、抑菌^[2]、抗氧化^[3]、抗肿瘤、调节肠道菌群^[4]等多种药理作用。

虽然古代本草中草果的炮制方法多有记载, 如《本草蒙筌》《本草从新》等, 但发展至今除了清炒去壳法(草果仁)和姜制法(姜草果仁)外, 其余工艺均已不再广泛应用。草果经炮制后药性和功效会发生变化, 如炒制去壳

后可降低挥发性成分含量, 从而使其燥烈之性降低, 而姜制可增强温胃止呕功效。目前, 对不同炮制工艺下草果挥发油成分的研究大多集中在炮制前后其含量变化, 尚未涉及成分组成, 并且炮制后其药性、功效变化的物质基础仍不明晰。

因此, 本实验以草果及其炮制品为对象, 采用电子鼻和 GC-MS 法分析其挥发油成分变化, 并通过主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析筛选差异性成分, 以期为探究炮制过程中加热、辅料姜汁对该成分的影响, 以及解析其药效物质基础提供一定的数据支持。

收稿日期: 2024-01-02

基金项目: 山东省重点研发计划(2020CXGC010505); 山东省自然科学基金联合基金(ZR2022LZY015); 济南市“新高校20条”引进创新团队项目(20228026, 202333089)

作者简介: 朱新文(1996—), 男, 硕士, 研究方向为中药炮制学。Tel: 17864183499, E-mail: xw251812@163.com

*通信作者: 杨青(1980—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向为中药药理学。Tel: 13905318124, E-mail: 13905318124@163.com

周倩(1982—), 女, 博士, 研究员, 研究方向为中药炮制学。Tel: 13589044563, E-mail: zhouqian0126@126.com

1 材料

1.1 仪器 GCMS-QP2010 型气相色谱质谱联用仪 (日本 Shimadzu 公司); PEN3.5 型电子鼻 (德国 Airsense 公司); KDM 型控温电热套 (山东鄞城华鲁电热仪器有限公司); AE224C 型电子天平 (万分之一, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司); 忠臣电陶炉 (广东顺德忠臣电器有限公司)。

1.2 试剂 无水硫酸钠 (分析纯, 天津市大茂化学试剂厂, 批号 20211101); 无水乙醇 (分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司)。

1.3 药材 草果共 8 批, 编号 CG01~CG0108, 均采自云南省, 经山东省中医药研究院中药资源研究所靳光乾主任药师鉴定为姜科植物草果 *Amomum tsao-ko* Crevost et Lemaire 的干燥成熟果实。

2 方法

2.1 炮制品制备

2.1.1 草果仁 [直接去壳法, CGR (QK)] 取药材适量, 去壳, 取仁, 即得。

2.1.2 草果仁 [药典法, CGR (YD)] 取药材适量, 在电陶炉上炒至焦黄色并微鼓起, 去壳, 取仁, 即得。

2.1.3 姜草果仁 (JCGR) 取净草果仁适量, 按 10:1 比例加姜汁拌匀, 置于锅中, 用文火炒至姜汁被吸尽, 取出, 晾凉, 即得。

2.2 电子鼻 取各炮制品适量, 粉碎, 过 24 目筛, 精密称取粉末 0.2 g, 置于 20 mL 顶空瓶中, 室温密封 20 min, 插入电子鼻探头取样测定, 参数为采样时间 300 s, 气体流量 400 mL/min, 等待时间 5 s, 清洗时间 180 s。选取传感器信号稳定后的数值, 重复采集 3 次, 传感器性能见表 1。再采用 Origin 2021 软件, 以各传感器的响应值为变量进行主成分分析 (PCA), 并根据 8 批药材 3 种炮制品在传感器上的响应值绘制雷达图。

表 1 电子鼻传感器性能

传感器	性能
W1C	芳香成分、苯类
W5S	灵敏度大, 对氮氧化物敏感
W3C	对芳香类成分、氨类敏感
W6S	对氢化物敏感
W5C	短链烷烃、芳香成分
W1S	对甲基类敏感
W1W	对硫化物敏感
W2S	对醇类、醛酮类敏感
W2W	对芳香成分、有机硫化物敏感
W3S	对长链烷烃敏感

2.3 GC-MS 法

2.3.1 挥发油提取 取“2.1”项下炮制品适量, 粉碎, 过 24 目筛, 称取粉末 40 g, 置于 1 000 mL 圆底烧瓶中, 加 400 mL 水和沸石, 振荡混匀, 连接挥发油提取装置, 置于电热套中加热至沸并保持 5 h, 直至挥发油测定器中油量不再增加时停止加热, 静置 1 h 后收集挥发油, 计算得率。

2.3.2 供试品溶液制备 将“2.3.1”项下挥发油加适量无水硫酸钠脱水, 密封避光保存 12 h, 过滤, 取 0.1 mL,

无水乙醇定容至 5 mL, 摇匀, 过 0.45 μm 微孔滤膜, 取续滤液, 即得。

2.3.3 分析条件

2.3.3.1 色谱 Restek Rxi-5 ms 毛细管柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm); 体积流量 1 mL/min; 进样量 1 μL; 进样口温度 250 °C; 载气氮气; 分流比 10:1; 程序升温 (40 °C 保持 1 min, 以 5 °C/min 升至 180 °C, 保持 2 min, 以 8 °C/min 升至 250 °C, 保持 5 min)。

2.3.3.2 质谱 电离方式 EI; 电子能量 70 eV; 离子源温度 230 °C; 四级杆温度 150 °C; 接口温度 280 °C。

2.4 定性鉴别及数据处理 采用 NIST08s 标准谱库进行检索, 选取相似度 80% 以上的成分, 采用峰面积归一化法计算其相对含量。以共有成分峰面积为变量, 采用 Origin 2021 软件进行 PCA 分析, SIMCA 14.1 软件进行正交-偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 以变量重要性投影值 (VIP) >1 为标准筛选差异性成分。

3 结果

3.1 电子鼻 雷达图见图 1, 可知 3 种炮制品中氮氧化物、硫化物、芳香类成分、有机硫化物含量较高; 炮制前后 W1W 传感器响应值差异明显, 对 CGR (QK) 的响应值最高, 炒制后降低, 而姜制后又升高至接近 CGR (QK) 水平; 其余 7 个传感器响应值均较小且几乎一致, 表明不同炮制品中芳香类、醇类、醛酮类、烷烃类成分组成相似, 含量均较低。

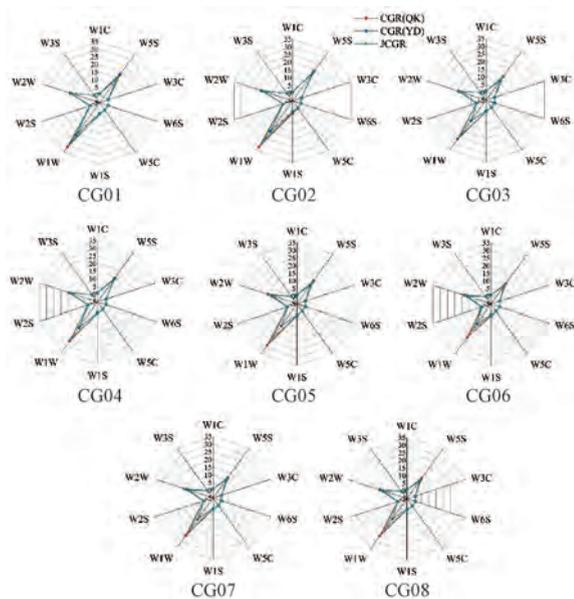


图 1 各批草果炮制品雷达图

PCA 分析结果见图 2, 可知 PC1、PC2 累积贡献率超过 85.0%, 能充分代表样本整体信息; 3 种炮制品除少数散落在第二象限外, 其余均显示理想的分离效果; CGR (QK) 主要分布在三象限, CGR (YD) 主要分布在第四象限, JCGR 主要分布在第一象限, 表明电子鼻能较好地地区分不同炮制品。

3.2 GC-MS 法 得率见表 2, 离子流图见图 3, 相对含量

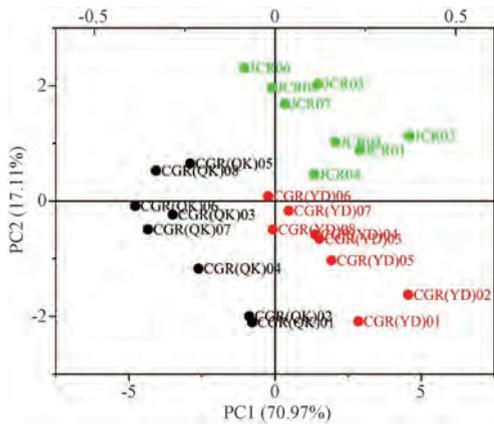
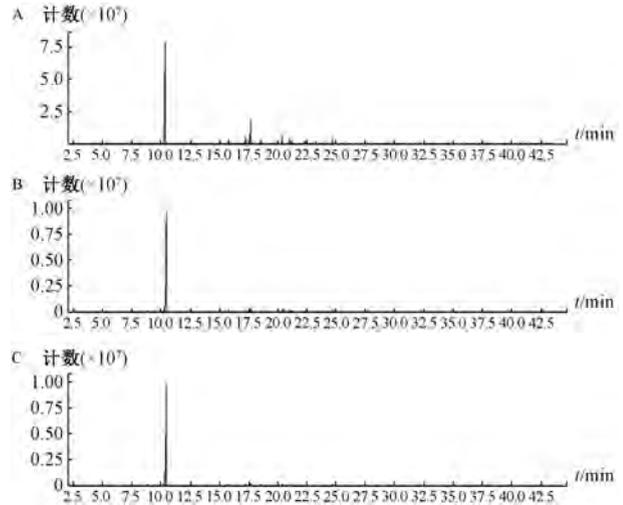


图2 各批草果炮制品PCA图

见表3。由此可知,3种炮制品挥发油所含成分的含量均占色谱峰总面积的95%以上,其中CGR(QK)、CGR(YD)、JCGR中分别鉴定出87、57、62种成分;占比较高的成分均为萜及萜烯类,在3种炮制品挥发油中的数量(相对含量)分别为42(82.99%)、32(89.50%)、32(91.49%);CGR(QK)中平均相对含量大于1%的有桉油精、橙花醇、反式-2-癸烯醛、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬醛、乙酸香叶酯、 α -松油醇、反式-橙花叔醇、2,8-癸二炔、 α -甲基肉桂醛、 α -亚乙基苯乙醛,CGR(YD)中平均相对含量大于1%的有桉油精、反式-2-癸烯醛、橙花醇、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬醛、水芹烯、 α -松油醇,JCGR中平均相对含量大于1%的有桉油精、橙花醇、4-丙基苯甲醛、反式-2-癸烯醛、 β -柠檬醛、水芹烯。

表2 草果不同炮制品中挥发油得率测定结果

批次	得率/%		
	CGR(QK)	CGR(YD)	JCGR
CG01	3.61	3.36	3.24
CG02	4.74	4.50	4.11
CG03	2.85	2.28	2.00
CG04	3.56	3.13	2.54
CG05	3.14	2.57	2.37
CG06	2.85	2.57	2.25
CG07	3.42	2.86	2.49
CG08	3.57	3.13	2.62



注:A~C分别为CGR(QK)、CGR(YD)、JCGR。

图3 草果仁不同炮制品离子流图

表3 草果不同炮制品挥发油中各成分相对含量测定结果(%)

名称	CAS号	分子式	CGR(QK)	CGR(YD)	JCGR
反式-2-癸烯醛	3913-81-3	C ₁₀ H ₁₈ O	6.09	3.39	2.24
反式-2-癸烯醇	22104-80-9	C ₁₀ H ₂₀ O	—	—	0.97
反式-2-庚烯酸乙酯	16939-73-4	C ₉ H ₁₆ O ₂	0.59	—	—
反-2-壬烯-1-醇	31502-14-4	C ₉ H ₁₈ O	0.06	—	—
反式-2-壬烯醛	18829-56-6	C ₉ H ₁₄ O	—	0.03	0.19
反式-2-辛烯醛	2548-87-0	C ₈ H ₁₄ O	0.41	0.41	0.37
(E)-3-decen-1-yne	2807-10-5	C ₁₀ H ₁₆	—	—	0.29
反式-香芹醇	1197-07-5	C ₁₀ H ₁₆ O	0.08	0.04	0.04
醋酸(Z)-11-十四烯酯	20711-10-8	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	0.02	—	—
2,6-壬二烯乙酸醇酯	68555-65-7	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	—	—	0.08
顺式-2-癸烯醛	2497-25-8	C ₁₀ H ₁₈ O	0.08	0.05	0.05
顺式-2-壬烯醛	60784-31-8	C ₉ H ₁₆ O	—	—	0.01
(顺,反式)-法尼醇	3790-71-4	C ₁₅ H ₂₆ O	0.02	—	—
1,5-癸二炔	53963-03-4	C ₁₀ H ₁₄	0.12	—	—
1-acetoxyoctadiene	30460-73-2	C ₁₀ H ₁₆ O ₂	0.03	—	—
1-己炔	2203-80-7	C ₇ H ₁₂	0.30	—	—
顺式- β -金合欢醇	28973-97-9	C ₁₅ H ₂₄	—	—	0.03
1-壬醇	143-08-8	C ₉ H ₂₀ O	0.07	—	0.04
4-萜烯醇	562-74-3	C ₁₀ H ₁₈ O	0.51	0.29	0.25
2,5-二甲基-2,4-己二烯	764-13-6	C ₈ H ₁₄	0.10	—	—
1S- α -蒎烯	7785-26-4	C ₁₀ H ₁₆	—	0.36	0.36
2,5-二乙基苯酚	876-20-0	C ₁₀ H ₁₄ O	—	—	0.03
2,8-癸二炔	4116-93-2	C ₁₀ H ₁₄	1.46	0.67	0.58
2-烯丙基酚	1745-81-9	C ₉ H ₁₁ O	0.06	—	—

续表 3

名称	CAS号	分子式	CGR(QK)	CGR(YD)	JCCR
2-丁基辛醇	3913-02-8	C ₁₂ H ₂₆ O	0.04	—	—
2-十二烯醛	20407-84-5	C ₁₂ H ₂₂ O	0.04	—	—
2-庚炔醇	1002-36-4	C ₇ H ₁₂ O	0.05	—	—
2-己烯醛	505-57-7	C ₆ H ₁₀ O	0.02	—	—
2-己烯乙酸酯	2497-18-9	C ₈ H ₁₄ O ₂	—	0.30	0.19
2-壬烯-1-醇	22104-79-6	C ₉ H ₁₈ O	0.04	0.03	0.02
2-壬炔	19447-29-1	C ₉ H ₁₆	—	0.05	0.04
2-辛基呋喃	4179-38-8	C ₁₂ H ₂₀ O	0.21	0.17	0.16
2-十五炔-1-醇	2834-00-6	C ₁₅ H ₂₈ O	0.76	0.85	0.79
2-苯基丁醛	2439-43-2	C ₁₀ H ₁₂ O	0.09	0.12	0.25
α-亚乙基苯乙醛	4411-89-6	C ₁₀ H ₁₀ O	1.09	0.47	0.37
2-苯基丁酸	90-27-7	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.56	0.32	0.43
3-十一烯	1002-68-2	C ₁₁ H ₂₂	0.08	—	0.04
4-十一烯	821-98-7	C ₁₁ H ₂₂	—	0.04	0.03
4-羟基-2-金刚烷酮	26278-43-3	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	0.13	—	—
7-十四烯	41446-63-3	C ₁₄ H ₂₈	0.02	—	—
1-辛烯-3-醇乙酸酯	2442-10-6	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.04	0.05	0.06
马鞭烯醇	473-67-6	C ₁₀ H ₁₆ O	0.05	0.05	—
马茅烯酮	80-57-9	C ₁₀ H ₁₄ O	0.04	0.03	0.02
茨烯醇	3570-04-5	C ₁₀ H ₁₆ O	0.02	—	—
carvotanacetone	499-71-8	C ₁₀ H ₁₆ O	0.03	—	—
香茅醇	106-22-9	C ₁₀ H ₂₀ O	0.06	0.03	0.02
顺-4-癸烯醛	21662-09-9	C ₁₀ H ₁₈ O	0.07	0.05	0.05
顺式-香芹醇	1197-06-4	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.05	—
橙花醇	106-25-2	C ₁₀ H ₁₈ O	11.31	2.71	2.81
顺-薄荷醇	16721-38-3	C ₁₀ H ₁₈ O	0.02	—	—
顺式-香桉醇	3310-02-9	C ₁₀ H ₁₆ O	0.37	0.12	0.02
柠檬醛	141-27-5	C ₁₀ H ₁₆ O	0.15	1.08	0.61
柠檬二乙缩醛	7492-66-2	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	0.18	0.25	0.04
香茅醛	106-23-0	C ₁₀ H ₁₈ O	0.02	0.01	—
癸醛	112-31-2	C ₁₀ H ₂₀ O	0.12	—	—
正癸酸	334-48-5	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	0.05	—	—
橙花叔醇	142-50-7	C ₁₅ H ₂₆ O	0.09	—	0.63
十二醛	112-54-9	C ₁₂ H ₂₄ O	0.08	—	0.08
1,2-环氧基环庚烷	286-45-3	C ₇ H ₁₂ O	—	0.38	0.30
杜烯酚	527-35-5	C ₁₀ H ₁₄ O	0.09	0.04	0.03
榄香醇	639-99-6	C ₁₅ H ₂₆ O	0.05	—	—
桉油精	470-82-6	C ₁₀ H ₁₈ O	51.08	74.15	76.80
金合欢醇	106-28-5	C ₁₅ H ₂₆ O	0.02	—	—
乙酸香叶酯	16409-44-2	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	2.28	0.97	0.74
丙酸叶醇酯	105-90-8	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	0.02	—	—
香叶基丙酮	3796-70-1	C ₁₃ H ₂₂ O	0.19	0.11	—
大根香叶烯	23986-74-5	C ₁₅ H ₂₄	0.05	—	—
正庚醛	111-71-7	C ₇ H ₁₄ O	0.05	0.03	0.02
正己醛	66-25-1	C ₆ H ₁₂ O	0.01	—	—
乙酸异龙脑酯	125-12-2	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.03	—	—
侧柏醇	513-23-5	C ₁₀ H ₁₈ O	0.02	—	0.02
异松蒎醇	51152-11-5	C ₁₀ H ₁₈ O	—	0.02	—
柠檬烯	138-86-3	C ₁₀ H ₁₆	0.10	0.96	0.87
芳樟醇	78-70-6	C ₁₀ H ₁₈ O	0.36	0.15	0.12
环氧长叶蒎烯	142792-93-6	C ₁₅ H ₂₄ O	0.88	—	—
乙酸薄荷酯	89-48-5	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.20	0.10	0.06
月桂烯醇	543-39-5	C ₁₀ H ₁₈ O	0.23	0.12	0.54
十九烷酸	646-30-0	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	0.02	—	—
正壬酸	112-05-0	C ₉ H ₁₈ O ₂	0.03	—	—

续表 3

名称	CAS号	分子式	CGR(QK)	CGR(YD)	JCGR
正辛醛	124-13-0	C ₈ H ₁₆ O	0.38	—	—
辛酸	124-07-2	C ₈ H ₁₆ O ₂	0.04	—	—
棕榈酸	57-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.07	—	—
戊基苯	538-68-1	C ₁₁ H ₁₆	0.46	—	—
罗勒烯	502-99-8	C ₁₀ H ₁₆	—	0.23	0.24
4-丙基苯甲醛	28785-06-0	C ₁₀ H ₁₂ O	5.66	2.65	2.40
桉烯	3387-41-5	C ₁₀ H ₁₆	—	0.11	0.08
乙酸桉酯	3536-54-7	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	0.05	0.09	0.15
甲基庚烯酮	110-93-0	C ₈ H ₁₄ O	0.06	0.06	0.05
萜品油烯	586-62-9	C ₁₀ H ₁₆	0.03	0.03	0.02
反-2-十一烯醛	53448-07-0	C ₁₁ H ₂₀ O	2.33	—	—
(E)-5-癸烯-1-乙酸酯	38421-90-8	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	—	0.18	—
反式-橙花叔醇	7212-44-4	C ₁₅ H ₂₆ O	2.21	0.85	0.69
α-桉叶醇	473-16-5	C ₁₅ H ₂₆ O	0.03	—	—
α-甲基肉桂醛	101-39-3	C ₁₀ H ₁₀ O	1.11	0.45	0.37
α-衣兰油烯	31983-22-9	C ₁₅ H ₂₄	0.02	—	—
水芹烯	99-83-2	C ₁₀ H ₁₆	0.09	2.14	2.10
α-松油醇	10482-56-1	C ₁₀ H ₁₈ O	2.21	1.03	0.75
β-柠檬醛	106-26-3	C ₁₀ H ₁₆ O	4.72	2.23	2.11
β-桉叶醇	473-15-4	C ₁₅ H ₂₆ O	0.03	0.04	0.04
β-金合欢烯	18794-84-8	C ₁₅ H ₂₄	0.09	—	—
β-月桂烯	123-35-3	C ₁₀ H ₁₆	—	0.08	0.07
β-蒎烯	127-91-3	C ₁₀ H ₁₆	—	0.06	0.05
β-松油醇	7299-41-4	C ₁₀ H ₁₈ O	0.03	0.04	0.08
γ-松油烯	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	0.07	0.17	0.12
δ-杜松烯	483-76-1	C ₁₅ H ₂₄	0.06	0.03	0.02
τ-依兰油醇	19912-62-0	C ₁₅ H ₂₆ O	0.03	—	—

注：—表示未检出。

由图 4 可知, 3 种炮制品中共有成分 19 种, 相对含量分别为 82.51%、91.57%、92.08%; 水芹烯、柠檬烯、柠檬醛经加热(炒制和姜制)后相对含量明显升高, 正庚醛、橙花醇、4-丙基苯甲醛、乙酸香叶酯、2, 8-癸二炔、α-甲基肉桂醛相对含量明显降低; 与未经辅料处理后相比, 姜制后月桂烯醇相对含量更高, 可能是由姜汁引入所致; 反

式-2-庚烯酸乙酯、正辛醛、榄香醇、正癸酸、α-衣兰油烯、金合欢醇、α-桉叶醇为 CGR(QK) 专属成分, 经加热(炒制和姜制)后消失; 反式-2-壬烯醛、1, 2-环氧基环庚烷、1S-α-蒎烯、2-壬炔、罗勒烯、桉烯、β-月桂烯、β-蒎烯等为加热后新产生成分, 反式-2-癸烯醇、顺式-2-壬烯醛、2, 5-二乙基苯酚为姜制后新产生成分。

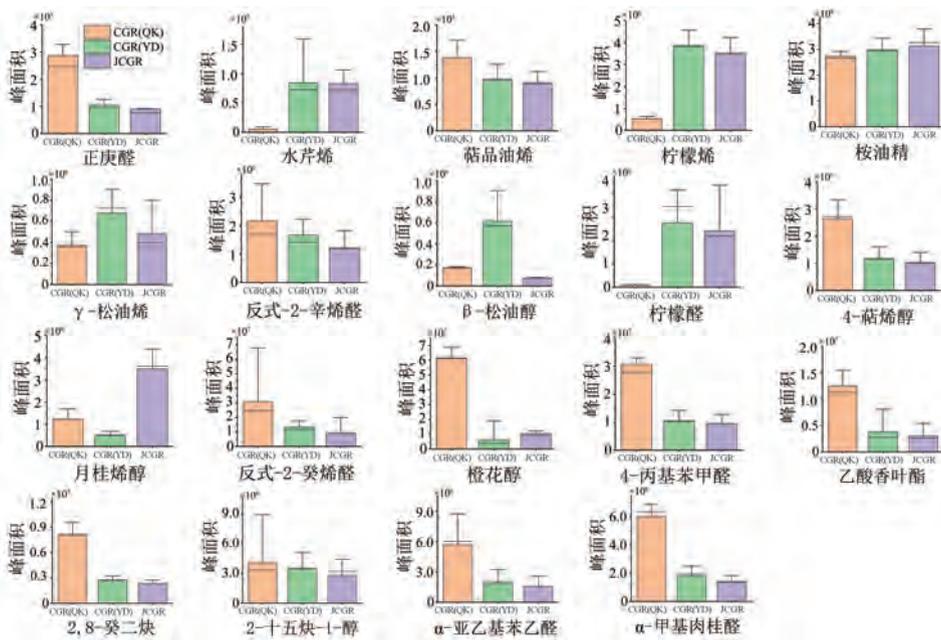


图 4 草果不同炮制品中共有成分相对含量

3.3 CGR (QK)、CGR (YD) 比较

3.3.1 主成分分析 (PCA) 以共有峰峰面积为变量进行 PCA 分析, 结果见图 5、表 4, 可知 CGR (QK)、CGR (YD) 能较好地分离, 并且提取到 3 个特征值大于 1 的主成分, 可代表两者基本特征和主要信息。另外, 因子载荷矩阵显示, 对第一主成分贡献率较高的有 α -松油醇、 α -甲基肉桂醛、反式-橙花叔醇、2, 8-癸二炔、顺式-香桉醇, 对第二主成分贡献率较高的有月桂烯醇、 α -亚乙基苯乙醛、2-十五炔-1-醇、4-萘烯醇、桉油精, 对第三主成分贡献率较高的有柠檬醛、2-十五炔-1-醇、反式-2-辛烯醛。

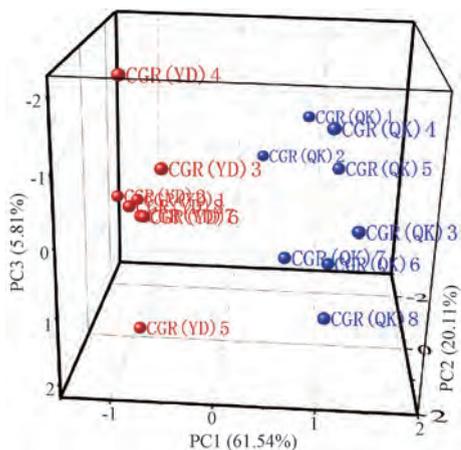


图 5 CGR (QK)、CGR (YD) PCA 得分图

表 4 CGR (QK)、CGR (YD) 主成分特征值及方差贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	12.307 6	61.54	61.54
2	4.0218 6	20.11	81.65
3	1.1614 1	5.81	87.45

3.3.2 正交偏最小二乘法判别分析 (OPLS-DA) 以共有峰峰面积为变量进行 OPLS-DA 分析, 发现 CGR (QK)、CGR (YD) 能明显分离, 与 PCA 分析一致, 并且 R^2 (cum) = 0.984, Q^2 (cum) = 0.961, 表明模型预测性可靠, 见图 6A。再对模型进行 200 次置换检验, 发现左侧所有 R^2 和 Q^2 均小于最右侧原点, 而且后者与 Y 轴相交于 0 刻度以下, 表明模型不存在过拟合现象, 见图 6B。VIP 值 > 1 的差异标志物有 5 种, 分别为桉油精、橙花醇、反式-2-癸烯醛、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬醛, 并且除桉油精外其余成分相对含量炒制后均降低, 见图 6C。

3.4 CGR (YD)、JCGR 比较

3.4.1 PCA 分析 以共有峰峰面积为变量进行 PCA 分析, 结果见表 5、图 7。由此可知, 共得到 5 种特征值大于 1 的主成分, 但 CGR (YD)、JCGR 无明显分离趋势, 即无法将两者区分。

3.4.2 OPLS-DA 分析 以共有峰峰面积为变量进行 OPLS-DA 分析, 发现 CGR (YD)、JCGR 能明显分离, 并且 R^2 (cum) = 0.957, Q^2 (cum) = 0.689, 表明模型预测性可

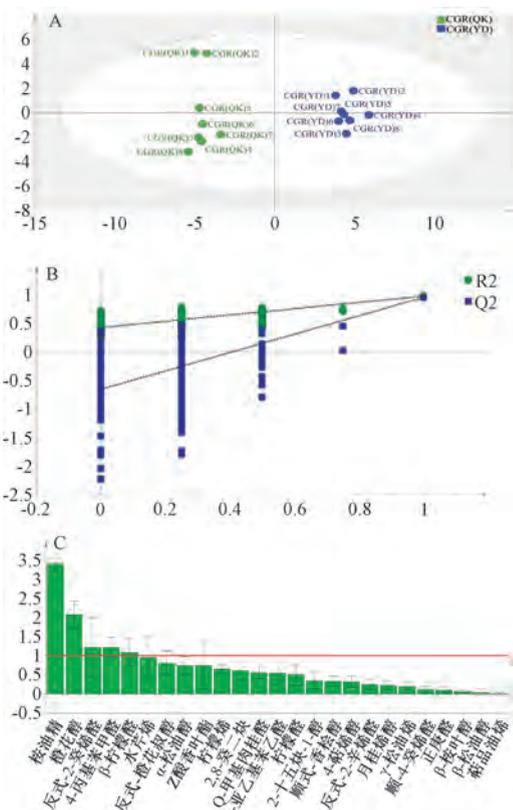


图 6 CGR (QK)、CGR (YD) OPLS-DA 分析图

表 5 CGR (YD)、JCGR 主成分特征值及方差贡献率

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	7.742 7	35.19	35.19
2	4.325 4	19.66	54.85
3	3.248 4	14.77	69.62
4	2.356 9	10.71	80.33
5	1.717 1	7.81	88.14

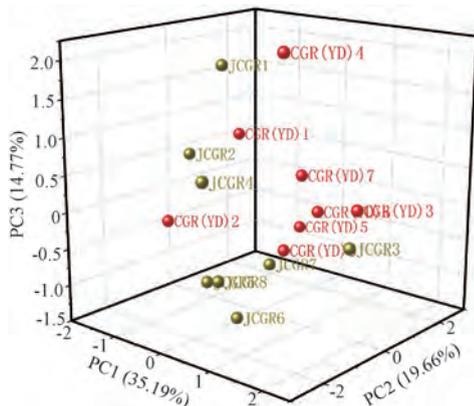


图 7 CGR (YD)、JCGR PCA 得分图

靠, 见图 8A。再对模型进行 200 次置换检验, 发现左侧所有 R^2 和 Q^2 均小于最右侧原点, 而且后者与 Y 轴相交于 0 刻度以下, 表明模型不存在过拟合现象, 见图 8B。VIP 值 > 1 的差异标志物有 4 种, 分别为 2-十五炔-1-醇、乙酸香叶酯、柠檬烯、月桂烯醇, 并且除月桂烯醇外其余成分相对

含量姜制后均降低, 见图 8C。

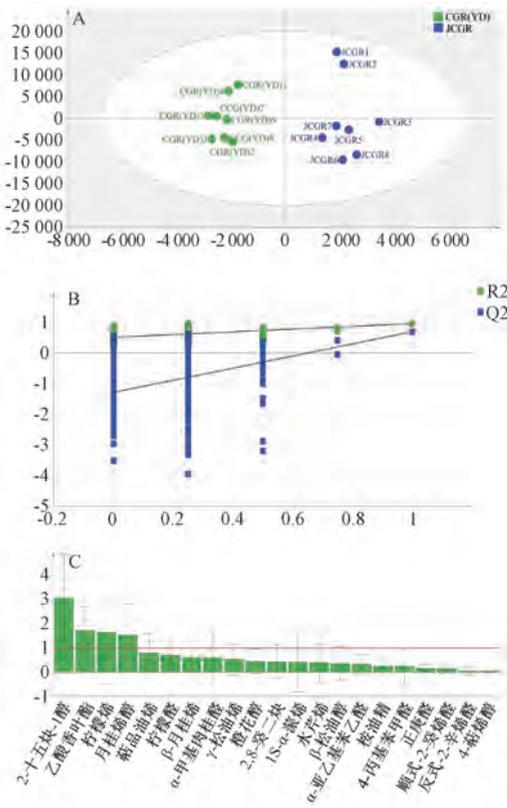


图 8 CGR (YD)、JCGR OPLS-DA 分析图

4 讨论与结论

本实验采用 GC-MS 技术对 3 种草果炮制品挥发油进行分析, 共鉴定出 110 种化学成分, 其中 CGR (QK)、CGR (YD)、JCGR 中分别有 87、57、62 种, 三者中含量最高的成分均为桉油精, 并且其含量在炒制、姜制后均有不同程度的升高, 被认为是草果挥发油主要有效物质, 可用于治疗肺纤维化^[5]、溃疡性结肠炎^[6]等疾病, 具有抗氧化、肾脏保护^[7]、抗炎^[8]等药理作用。另外, 在其他含量较高的成分中, 橙花醇具有较强的抗癌活性^[9-10], 能诱导细胞凋亡, 提高促凋亡蛋白的表达^[11]; 反式-2-癸烯醛被广泛用于气味修饰中^[12], 具有较强的杀虫、灭菌作用^[13]; α -柠檬醛和 β -柠檬醛互为同分异构体, 在自然状态下共存, 具有抗炎^[14]、抗菌^[15]、抗肿瘤^[16]、抗氧化^[17]等作用。

采用主成分分析和正交偏最小二乘法判别分析筛选差异性成分, 结果从 CGR (QK)、CGR (YD) 中发现 5 种, 其中橙花醇、反式-2-癸烯醛、4-丙基苯甲醛、 β -柠檬醛含量明显降低, 四者均具有较强的刺激性, 易引发机体免疫反应^[18], 并具有一定的毒性, 长期过量使用会损伤机体功能, 还可能与一些药物产生相互作用^[19]而降低药效, 甚至产生毒副作用; 主要药效成分桉油精含量明显升高。

电子鼻结果显示, 药典法制得的草果仁与直接去壳法相比, 硫化物响应值在炒制后明显降低, 总挥发油含量降低, 反式-2-庚烯酸乙酯、反-2-十一烯醛等具有潜在生物毒

性、致癌作用的成分消失, 而新增的 1S- α -蒎烯、4-萜烯醇、罗勒烯、桉烯等成分大多具有抑菌^[20]、抗炎^[21]、抗氧化^[22]、抗焦虑^[23]、镇痛^[24]等作用。上述变化可能为草果炒制后燥烈之性缓解的潜在原因和主要物质基础, 可为阐明药典法(炒制后去壳)的科学性提供了一定的数据支持。

与 CGR (YD) 相比, JCGR 姜制后具有抗炎^[25]、镇静^[26]、抗肿瘤等生物活性的月桂烯醇含量明显升高, 而柠檬烯能激活大麻素 CB2 受体而发挥抗炎、镇静、止呕作用^[25], 上述变化可能为草果姜制后温胃止呕功效增强的主要物质基础。另外, 姜草果中的橙花叔醇具有浓郁的花果香气, 常被用作调香剂^[27], 可能是姜草果仁矫味作用的功效成分。

综上所述, 本实验采用现代科技手段分析了不同炮制方法对草果挥发油成分的影响, 为阐释该药材炮制后辛燥之性缓和、姜制后温胃止呕功效增强提供了一定的科学依据, 也进一步证明了中药炮制减毒增效、矫正偏性的传统理论。

参考文献:

- [1] Liao L K, Yang S T, Li R Y, et al. Anti-inflammatory effect of essential oil from *Amomum tsaoko* Crevost et Lemarie [J]. *J Funct Foods*, 2022, 93: 105087.
- [2] Li W D, Li J J, Qin Z, et al. Insights into the composition and antibacterial activity of *Amomum tsaoko* essential oils from different regions based on GC-MS and GC-IMS [J]. *Foods*, 2022, 11(10): 1402.
- [3] Zhong J L, Muhammad N, Yang X Y, et al. Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory activities of eight essential oils obtained from traditional Chinese medicines using supercritical fluid extraction coupled molecular distillation [J]. *J Essent Oil Bear Pl*, 2022, 25(5): 1145-1158.
- [4] Liu L J, Zhao Y M, Ming J, et al. Polyphenol extract and essential oil of *Amomum tsaoko* equally alleviate hypercholesterolemia and modulate gut microbiota [J]. *Food Funct*, 2021, 12(23): 12008-12021.
- [5] Rui Y, Han X J, Jiang A B, et al. Eucalyptol prevents bleomycin-induced pulmonary fibrosis and M2 macrophage polarization [J]. *Eur J Pharmacol*, 2022, 931: 175184.
- [6] Venkataraman B, Almarzooqi S, Raj V, et al. Molecular docking identifies 1, 8-cineole (eucalyptol) as a novel PPAR gamma agonist that alleviates colon inflammation [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(7): 6160.
- [7] Kazak F, Deveci M Z Y, Akçakavak G. Eucalyptol alleviates cisplatin-induced kidney damage in rats [J]. *Drug Chem Toxicol*, 2022, 47(2): 172-179.
- [8] Horváth A, Pandur E, Sipos K, et al. Anti-inflammatory effects of lavender and eucalyptus essential oils on the *in vitro* cell culture model of bladder pain syndrome using T24 cells [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2022, 22(1): 119.
- [9] Ortiz N, Jiménez M F, Chaverri C, et al. Effect on cell growth, viability and migration of geraniol and geraniol-containing

- essential oil from *Lippia alba* (Verbenaceae) on gastric carcinoma cells[J]. *J Essent Oil Res*, 2022, 34(1): 65-76.
- [10] Duan S F, Xia Y F, Tian X, et al. A multi-bioresponsive self-assembled nano drug delivery system based on hyaluronic acid and geraniol against liver cancer[J]. *Carbohydr Polym*, 2023, 310: 120695.
- [11] Pavithra P S, Mehta A, Verma R S. Essential oils: from prevention to treatment of skin cancer[J]. *Drug Discov Today*, 2019, 24(2): 644-655.
- [12] 许润春, 黄 伟, 刘 倩, 等. 基于超临界 CO₂ 低温流体萃取的鸡内金去腥存效方法研究[J]. *药学报*, 2022, 57(11): 3419-3428.
- [13] Zhang J P, Zhong Y Z, Tang R, et al. Olfactory reception of host alarm pheromone component by the odorant-binding proteins in the samurai wasp, *Trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae) [J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 1058.
- [14] Li Q, Yu C N, Chen Y H, et al. Citral alleviates peptidoglycan-induced inflammation and disruption of barrier functions in porcine intestinal epithelial cells [J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(3): 1768-1779.
- [15] Kang S M, Li X J, Xing Z Y, et al. Antibacterial effect of citral on yersinia enterocolitica and its mechanism[J]. *Food Control*, 2022, 135: 108775.
- [16] Nordin N, Yeap S K, Rahman H S, et al. Antitumor and anti-metastatic effects of citral-loaded nanostructured lipid carrier in 4T1-induced breast cancer mouse model[J]. *Molecules*, 2020, 25(11): 2670.
- [17] Ling Q Y, Zhang B H, Wang Y B, et al. Chemical composition and antioxidant activity of the essential oils of citral-rich chemotype *Cinnamomum camphora* and *Cinnamomum bodinieri*[J]. *Molecules*, 2022, 27(21): 7356.
- [18] Liu C, Wang C, Zheng T T, et al. Characterization of key odor-active compounds in sun-dried black tea by sensory and instrumental-directed flavor analysis [J]. *Foods*, 2022, 11(12): 1740.
- [19] Abiko Y, Okada M, Aoki H, et al. A strategy for repression of arsenic toxicity through nuclear factor E2 related factor 2 activation mediated by the (E)-2-alkenals in *Conundrum sativum* L. leaf extract [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111706.
- [20] Cordeiro L, Figueiredo P, Souza H, et al. Terpinen-4-ol as an antibacterial and antibiofilm agent against *Staphylococcus aureus*[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4531.
- [21] Salehi B, Upadhyay S, Erdogan O I, et al. Therapeutic potential of α - and β -pinene: A miracle gift of nature[J]. *Biomolecules*, 2019, 9(11): 738.
- [22] Gu C L, Yang Z T, Su S S, et al. 4-Terpineol attenuates pulmonary vascular remodeling via suppressing PI3K/Akt signaling pathway in hypoxia-induced pulmonary hypertension rats[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2023, 473: 116596.
- [23] Zhang Y, Long Y, Yu S, et al. Natural volatile oils derived from herbal medicines: A promising therapy way for treating depressive disorder[J]. *Pharmacol Res*, 2021, 164: 105376.
- [24] Sharifi-Rad M, Berkay Y Y, Antika G, et al. Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum* [J]. *Phytother Res*, 2021, 35(1): 95-121.
- [25] Eddin L B, Jha N K, Meeran M F N, et al. Neuroprotective potential of limonene and limonene containing natural products[J]. *Molecules*, 2021, 26(15): 4535.
- [26] Aoshima H, Takeda K, Okita Y, et al. Effects of beer and hop on ionotropic gamma-aminobutyric acid receptors [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(7): 2514-2519.
- [27] Chan W K, Tan L T, Chan K G, et al. Nerolidol: A sesquiterpene alcohol with multi-faceted pharmacological and biological activities[J]. *Molecules*, 2016, 21(5): 529.