

# GC-MS 技术分析红车轴草和白车轴草种子挥发性成分

何春兰<sup>1</sup>, 张刚平<sup>1</sup>, 周平<sup>2</sup>, 王如意<sup>3</sup>, 温志浩<sup>1\*</sup>

(1. 广东食品药品职业学院 医疗器械学院, 广州 510520; 2. 暨南大学 生命科学技术学院, 广州 510632;  
3. 广东食品药品职业学院 实验实训中心, 广州 510520)

**[摘要]** **目的:**分析与比较红车轴草和白车轴草种子挥发性成分的差异。**方法:**采用顶空固相微萃取(HS-SPME)法萃取挥发性成分,结合气相色谱质谱联用(GC-MS)技术分析其组成,面积归一化法计算各成分的相对含量。**结果:**红车轴草种子中鉴定出46种化合物,挥发性成分总峰面积为 $3.48 \times 10^9$ 。其中相对质量分数较高的化合物为1-辛烯-3-醇(30.24%),正己醇(11.94%),2,2,4,6,6-五甲基庚烷(11.00%),壬醛(7.74%),辛醛(6.79%)和己酸(6.04%)。白车轴草种子中鉴定出44个化合物,挥发性成分总峰面积为 $6.37 \times 10^9$ 。其中相对质量分数较高的化合物为1-辛烯-3-醇(42.98%),十七烷(14.47%),3-辛醇(9.42%),己酸乙酯(8.82%)和5-甲基-4,6-二羟基嘧啶(6.59%)。红车轴草和白车轴草种子共有20种成分相同,但各成分的含量具有较大差异。1-辛烯-3-醇为共有成分中含量最高的物质。红车轴草种子有26种特有成分,占挥发性组分的54.85%。白车轴草种子有24种特有成分,占挥发性组分的46.79%。**结论:**红车轴草和白车轴草种子中含有较为丰富的挥发性成分,两品种之间挥发性成分的种类、峰面积和相对含量具有较大差异。

**[关键词]** 红车轴草; 白车轴草; 种子; 挥发性成分; 气相色谱质谱联用技术

**[中图分类号]** R284.1;R289;R22;R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)03-0156-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20190324

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20181115.1008.023.html>

**[网络出版时间]** 2018-11-16 14:27

## Analysis and Comparison of Volatile Components in *Trifolium pratense* and *Trifolium repens* Seed by GC-MS

HE Chun-lan<sup>1</sup>, ZHANG Gang-ping<sup>1</sup>, ZHOU Ping<sup>2</sup>, WANG Ru-yi<sup>3</sup>, WEN Zhi-hao<sup>1\*</sup>

(1. College of Medical Apparatus and Instruments, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China;

2. College of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China;

3. Department of Experimental Training Center, Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

**[Abstract]** **Objective:** To analyze and compare the difference of volatile components between *Trifolium pratense* and *T. repens* seeds. **Method:** The volatile components were extracted by the headspace solid phase microextraction (HS-SPME) method and analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and the relative contents of the components were calculated by the area normalization method. **Result:** Forty six compounds were identified in the seeds of *T. pratense*, with a total peak area of  $3.48 \times 10^9$  for the volatile components. The compounds with high content in this species were 1-octen-3-ol (30.24%), 1-hexanol (11.94%), heptane, 2, 2, 4, 6, 6-pentamethyl (11.00%), nonanal (7.74%), octanal (6.79%) and

**[收稿日期]** 20180727(014)

**[基金项目]** 广东省中医药局科研项目(20171038);广东省医学科学技术研究基金项目(B2017035);广东食品药品职业学院自然科学基金项目(2016YZ032);广州市科技计划项目(201604020120)

**[第一作者]** 何春兰, 硕士, 助理研究员, 从事医学生物材料方面的研究, Tel: 020-29164600, E-mail: hchunlan2012@163.com

**[通信作者]** \* 温志浩, 硕士, 教授, 从事医疗器械方面的研究, Tel: 020-29164600, E-mail: wenzh@gdyzy.edu.cn

hexanoic acid (6.04%)。44 compounds were identified from the seeds of *T. repens*, with a total peak area of  $6.37 \times 10^9$  for the volatile components. The compounds with high content in this species were 1-octen-3-ol (42.98%), heptadecane (14.47%), 3-octanol (9.42%), *n*-caproic acid vinyl ester (8.82%) and pyrimidine-4, 6-diol, 5-methyl (6.59%)。20 components were commonly shared in the seeds of *T. pratense* and *T. repens*, but the content of each component was quite different. 1-octen-3-ol had the highest content in the common components. *T. pratense* seeds had 26 unique components, accounting for 54.85% of volatile components. *T. repens* seeds had 24 unique components, accounting for 46.79% of volatile components.

**Conclusion:** The seeds of both *T. pratense* and *T. repens* have rich volatile components, but there are great difference in the variety, peak area and relative content of the volatile components between these two varieties

[**Key words**] *Trifolium pratense*; *Trifolium repens*; seed; volatile components; GC-MS

红车轴草和白车轴草是豆科车轴草属多年生草本植物<sup>[1]</sup>。因其在药用和环保领域的应用,在我国多个省份被广泛种植,具有较大的产量<sup>[2-3]</sup>。红车轴草又名红三叶、红花苜蓿,作为一种传统的民间用草药,主要用于止咳、止喘及治疗局部溃疡等<sup>[4]</sup>。白车轴草又名白三叶、白三草,具有清热、凉血、镇痉止痛和祛痰止咳等功效<sup>[5]</sup>。

中药材的挥发性成分具有广泛的药理作用<sup>[6]</sup>。目前,国内外关于红车轴草和白车轴草挥发性成分的研究较多。郑鹏等<sup>[7]</sup>采用索氏提取法提取红车轴草种子中的脂溶性成分,用气相色谱质谱联用技术(GC-MS)鉴定出 6 种脂溶性成分。何春兰等<sup>[8]</sup>采用顶空固相微萃取法萃取红车轴草茎、叶和花挥发油成分,通过 GC-MS 共鉴定出 155 种化合物。曹桂云等<sup>[9-10]</sup>采用水蒸气蒸馏法和顶空固相微萃取法对白车轴草地上部分挥发油进行提取,通过 GC-MS 分别鉴定出 36 种和 23 种成分。王胜碧等<sup>[11]</sup>采用水蒸气蒸馏法从白车轴草花蕾、盛花和衰花中提取精油,应用 GC-MS 技术分别鉴定出 39, 52 和 44 种物质。景书灏等<sup>[12]</sup>采用水蒸气蒸馏法和乙醚冷浸-水蒸气蒸馏法分别提取黔产白三叶鲜花中的挥发性成分,并采用 GC-MS 技术分析挥发油的化学组成。但未有文献报道红车轴草和白车轴草种子挥发性成分差异性研究。

本实验采用顶空固相微萃取气相色谱质谱联用技术(HS-SPME-GC-MS)对红车轴草和白车轴草种子挥发性成分进行分析,探讨种子之间挥发性成分种类、峰面积及其含量的差异,以期为我国车轴草属资源的开发利用提供参考。

## 1 材料

A11 型粉碎机[艾卡(广州)仪器设备有限公司];手动固相微萃取(SPME)进样手柄,50  $\mu\text{m}$  二乙苯基/碳分子筛/聚二甲基硅氧烷(DVB/CAR/

PDMS)萃取头(美国 Supelco 公司);GCMS-QP2010 Ultra 型气相色谱质谱联用仪(日本岛津公司)。烷烃混和对照品  $\text{C}_8 \sim \text{C}_{20}$  (货号 04070-1ML,规格 40  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,美国 Sigma-Aldrich 公司)。实验用红车轴草和白车轴草种子采购于江苏宿迁,经广东省中药研究所曾庆钱副主任中药师鉴定为豆科车轴草属红车轴草 *Trifolium pratense* 和白车轴草 *T. repens* 的成熟种子。凭证标本存放于广东食品药品职业学院食品学院产学研研究中心。

## 2 方法

**2.1 挥发性成分的萃取** 将红车轴草和白车轴草种子粉碎至细粉,过 80 目筛,避光储存备用。分别称取各样品 3 g 置于 15 mL 顶空瓶中,50  $\mu\text{m}$  的 DVB/CAR/PDMS 萃取头在气相色谱的进样口 250  $^\circ\text{C}$  老化 1 h。样品在 80  $^\circ\text{C}$  下平衡 10 min 后,将萃取头插入顶空瓶中,吸附 30 min 后拔出萃取头,用于 GC-MS 检测。

### 2.2 GC-MS 分析条件

**2.2.1 色谱条件** Rts-5MS 色谱柱(0.25 mm  $\times$  30 m, 0.25  $\mu\text{m}$ );升温程序(起始温度 40  $^\circ\text{C}$  保持 5 min,以 3  $^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 120  $^\circ\text{C}$ ,保持 5 min,以 10  $^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 250  $^\circ\text{C}$ ,保持 5 min)。载气为高纯氦气(99.999%),流速 0.8  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。进样口温度为 250  $^\circ\text{C}$ ,接口温度 280  $^\circ\text{C}$ ,解吸温度为 250  $^\circ\text{C}$ ,解吸时间为 5 min。不分流进样。总分析时间 54 min。

**2.2.2 质谱条件** 电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 230  $^\circ\text{C}$ ,质量扫描范围  $m/z$  35 ~ 500。

**2.3 定性分析** 通过对照品, NIST 11.0 标准谱库进行检索,并结合保留指数和文献报道结果共同进行定性分析。按照文献<sup>[13]</sup>计算保留指数(KI),公式为  $\text{KI} = 100n + 100(t_{\text{R}} - t_{\text{Rn}}/t_{\text{Rn}} + 1 - t_{\text{Rn}})$ ,式中: $n$  和  $n + 1$  分别为未知物流出前、后正构烷烃碳原子

数;  $t_{Rn}$  和  $t_{Rn+1}$  分别为相应正构烷烃的保留时间;  $t_R$  为未知物在气相色谱中的保留时间 ( $t_{Rn} < t_R < t_{Rn+1}$ )。并按峰面积归一化法计算各化合物在总挥发性成分中的相对百分含量。

### 3 结果与分析

#### 3.1 红车轴草和白车轴草种子挥发性成分分析

由图 1 及表 1 可知,红车轴草种子中鉴定出 46 种化合物,挥发性成分总峰面积为  $3.48 \times 10^9$ 。其中含量较高的化合物为 1-辛烯-3-醇 (30.24%), 正己醇 (11.94%), 2,2,4,6,6-五甲基庚烷 (11.00%), 壬醛 (7.74%), 辛醛 (6.79%) 和己酸 (6.04%), 共占挥发性成分的 73.75%。白车轴草种子中鉴定出 44 个化合物,挥发性成分总峰面积为  $6.37 \times 10^9$ 。其中含量较高的化合物为 1-辛烯-3-醇 (42.98%), 十七烷 (14.47%), 3-辛醇 (9.42%), 己酸乙烯酯

(8.82%) 和 5-甲基-4,6-二羟基嘧啶 (6.59%), 共占挥发性成分的 82.28%。

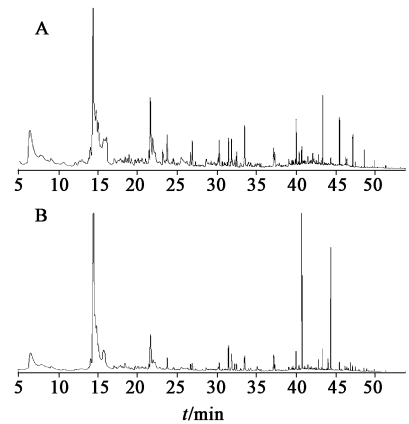


图 1 红车轴草种子 (A) 和白车轴草种子 (B) 挥发性成分总离子流  
Fig.1 Total ion chromatograms of volatile constituents from seeds of *Trifolium pratense* (A) and *T. repens* (B)

表 1 红车轴草和白车轴草种子挥发性成分种类、峰面积和相对含量

Table 1 Species, peak area and relative content of volatile components in *Trifolium pratense* and *T. repens* seeds

No.	$t_R$ /min	化合物	化学式	相对 分子 质量	红车轴草		白车轴草	
					峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%	峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%
1	6.446	正己醇 1-hexanol	$C_6H_{14}O$	102	41.60	11.94	-	-
2	14.447	1-辛烯-3-醇 1-octen-3-ol	$C_8H_{16}O$	128	105.35	30.24	273.93	42.98
3	14.755	己酸乙烯酯 n-caproic acid vinyl ester	$C_8H_{14}O_2$	142	-	-	56.19	8.82
4	15.838	3-辛醇 3-octanol	$C_8H_{18}O$	130	-	-	60.06	9.42
5	14.858	2,2,4,6,6-五甲基庚烷 heptane,2,2,4,6,6-pentamethyl	$C_{12}H_{26}$	170	38.32	11.00	-	-
6	15.802	辛醛 octanal	$C_8H_{16}O$	128	23.65	6.79	-	-
7	16.228	己酸 hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	116	21.04	6.04	-	-
8	17.230	d-柠檬烯 d-limonene	$C_{10}H_{16}$	136	1.54	0.44	1.16	0.18
9	17.425	桉叶油醇 eucalyptol	$C_{10}H_{18}O$	154	-	-	1.48	0.23
10	17.640	2-乙基-1-己醇 1-hexanol,2-ethyl	$C_8H_{18}O$	130	2.50	0.72	-	-
11	17.938	3-辛烯-2-酮 3-octen-2-one	$C_8H_{14}O$	126	3.98	1.14	-	-
12	18.242	1-硝基己烷 hexane,1-nitro	$C_6H_{13}NO_2$	131	1.53	0.44	2.99	0.47
13	18.502	5-乙基-二氢-2(3H)-呋喃 2(3H)-furanone,5-ethyl-dihydro	$C_6H_{10}O_2$	114	3.39	0.97	7.64	1.20
14	18.997	3-甲基-3-乙基-庚烷 heptane,3-ethyl-3-methyl	$C_{10}H_{22}$	142	3.95	1.13	-	-
15	19.034	3,7-二甲基-癸烷 decane,3,7-dimethyl	$C_{12}H_{26}$	170	-	-	2.80	0.44
16	19.730	甲酯-5-环亚丙基-戊酸 pentanoic acid, 5-cyclopropylidene, methyl ester	$C_9H_{14}O_2$	154	1.30	0.37	-	-
17	20.000	1-辛醇 1-octanol	$C_8H_{18}O$	130	1.59	0.46	-	-
18	20.200	7-甲基-1-十一碳烯 1-undecene,7-methyl	$C_{12}H_{24}$	168	-	-	5.15	0.81
19	20.835	庚酸 heptanoic acid	$C_7H_{14}O_2$	130	-	-	2.08	0.33
20	21.125	四氢薰衣草醇 1-hexanol,5-methyl-2-(1-methylethyl)	$C_{10}H_{22}O$	158	-	-	2.99	0.47
21	21.548	3,6-二甲基-癸烷 decane,3,6-dimethyl	$C_{12}H_{26}$	170	3.50	1.01	3.27	0.51
22	21.709	壬醛 nonanal	$C_9H_{18}O$	142	26.97	7.74	-	-

续表 1

No.	$t_R$ /min	化合物	化学式	相对 分子 质量	红车轴草		白车轴草	
					峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%	峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%
23	21.769	5-甲基-4,6-二羟基嘧啶 pyrimidine-4,6-diol,5-methyl	$C_5H_6N_2O_2$	126	-	-	42.01	6.59
24	23.287	苯乙腈 benzyl nitrile	$C_8H_7N$	117	6.40	1.84	13.49	2.12
25	23.660	2,6,6-三甲基-2-环己烯-1,4-二酮 2,6,6-trimethyl-2-cyclohexene-1,4-dione	$C_9H_{12}O_2$	152	2.01	0.58	-	-
26	24.617	2-壬烯醛 2-nonenal	$C_9H_{16}O$	140	1.44	0.41	2.44	0.34
27	25.194	反式-2-十一烯醇 <i>trans</i> -2-undecen-1-ol	$C_{11}H_{22}O$	170	1.10	0.32	-	-
28	26.360	1-十三烯 1-tridecene	$C_{13}H_{26}$	182	0.84	0.24	-	-
29	26.389	十二烷醇 1-dodecanol	$C_{12}H_{26}O$	186	-	-	0.73	0.11
30	26.812	十二烷 dodecane	$C_{12}H_{26}$	170	3.20	0.92	3.58	0.56
31	27.010	癸醛 decanal	$C_{10}H_{20}O$	156	6.30	1.81	4.51	0.71
32	27.452	2,5-二甲基-十一烷 undecane,2,5-dimethyl	$C_{13}H_{28}$	184	1.06	0.30	1.02	0.16
33	29.087	5-丙基-2-甲基-壬烷 nonane,2-methyl-5-propyl	$C_{13}H_{28}$	184	1.65	0.47	-	-
34	29.698	2-(1,5-二甲基-己基)-环丁酮 2-(1,5-dimethyl-hexyl)-cyclobutanone	$C_{12}H_{22}O$	182	1.24	0.35	-	-
35	29.821	2,3,7-三甲基-癸烷 decane,2,3,7-trimethyl	$C_{13}H_{28}$	184	0.85	0.24	-	-
36	30.431	4,6-二甲基-十二烷 dodecane,4,6-dimethyl	$C_{14}H_{30}$	198	5.22	1.50	4.06	0.64
37	31.435	5-甲基-5-丙基-壬烷 nonane,5-methyl-5-propyl	$C_{13}H_{28}$	184	1.19	0.34	1.00	0.16
38	31.621	十四烷 tetradecane	$C_{14}H_{30}$	198	5.75	1.65	9.43	1.48
39	31.894	十四碳醛 tetradecanal	$C_{14}H_{28}O$	212	1.53	0.44	-	-
40	32.315	2,7,10-三甲基-十二烷 dodecane,2,7,10-trimethyl	$C_{15}H_{32}$	212	-	-	1.02	0.16
41	32.404	2-丁基-辛醇 1-octanol,2-butyl	$C_{12}H_{26}O$	186	1.58	0.45	-	-
42	32.427	2-异丙基-5-甲基-1-庚醇 2-isopropyl-5-methyl-1-heptanol	$C_{11}H_{24}O$	172	-	-	3.62	0.57
43	33.683	三乙酸甘油酯 triacetin	$C_9H_{14}O_6$	218	-	-	10.02	1.57
44	34.155	3-甲基-5-丙基-壬烷 nonane,3-methyl-5-propyl	$C_{13}H_{28}$	184	1.51	0.43	1.44	0.23
45	34.410	桃醛 undecan-4-olide	$C_{11}H_{20}O_2$	184	1.71	0.49	-	-
46	34.434	5-戊基-二氢-2(3H)-呋喃 2(3H)-furanone, dihydro-5-pentyl	$C_9H_{16}O_2$	156	-	-	2.18	0.34
47	35.269	2-丁基-2-辛烯醛 2-octenal,2-butyl	$C_{12}H_{22}O$	182	-	-	3.45	0.54
48	35.483	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -copaene	$C_{15}H_{24}$	204	1.22	0.35	1.67	0.26
49	35.705	2,6,10-三甲基-十二烷 dodecane,2,6,10-trimethyl	$C_{15}H_{32}$	212	0.91	0.26	-	-
50	37.323	十六烷 hexadecane	$C_{16}H_{34}$	226	4.14	1.19	-	-
51	37.462	长叶烯 longifolene	$C_{15}H_{24}$	204	3.61	1.04	3.82	0.60
52	38.015	石竹烯 caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204	1.23	0.35	-	-
53	39.241	香叶基丙酮 ( <i>E</i> )-6,10-dimethylundeca-5,9-dien-2-one	$C_{13}H_{22}O$	194	1.47	0.42	1.20	0.19
54	39.400	2,5-二甲基-十三烷 tridecane,2,5-dimethyl	$C_{15}H_{32}$	212	0.84	0.24	-	-
55	40.079	$\gamma$ -衣兰油烯 $\gamma$ -muurolene	$C_{15}H_{24}$	204	1.53	0.44	1.17	0.18
56	40.415	2-乙基-2-甲基-十三醇 tridecanol,2-ethyl-2-methyl	$C_{16}H_{34}O$	242	-	-	0.76	0.12
57	40.685	十五烯 1-pentadecene	$C_{15}H_{30}$	210	-	-	0.43	0.07
58	40.906	十七烷 heptadecane	$C_{17}H_{36}$	240	-	-	92.19	14.47
59	41.262	2-己基-1-癸醇 1-decanol,2-hexyl	$C_{16}H_{34}O$	242	-	-	1.38	0.22
60	41.376	二氢猕猴桃内酯 2(4H)-benzofuranone,5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl	$C_{11}H_{16}O_2$	180	-	-	1.24	0.20
61	42.284	月桂酸 lauric acid	$C_{12}H_{24}O_2$	200	3.41	0.98	-	-
62	42.490	巨豆三烯酮 megastigmatrienone	$C_{13}H_{18}O$	190	1.42	0.41	-	-

续表 1

No.	$t_R$ /min	化合物	化学式	相对 分子 质量	红车轴草		白车轴草	
					峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%	峰面积 ( $\times 10^7$ )	相对质量 分数/%
63	42.705	1,3-二甲基丙烯酰氧基-1-(1,1-二甲基乙基)-2-甲基-2-甲基-丙酸 propanoic acid, 2-methyl-, 1-(1,1-dimethylethyl)-2-methyl-1,3-propanediyl ester	$C_{16}H_{30}O_4$	286	1.04	0.30	0.65	0.10
64	42.977	十八烷 octadecane	$C_{18}H_{38}$	254	1.75	0.50	-	-
65	44.111	乙酸-5-十二烯醇酯 5-dodecen-1-ol, acetate, (Z)	$C_{14}H_{26}O_2$	226	-	-	0.67	0.10
66	44.233	3-十七烷 3-heptadecene, (Z)	$C_{17}H_{34}$	238	-	-	3.96	0.62
67	46.387	6, 10, 14-三甲基-2-十五烷酮 2-pentadecanone, 6, 10, 14-trimethyl	$C_{18}H_{36}O$	268	-	-	1.02	0.16
68	46.601	邻苯二甲酸二异丁酯 1,2-benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl) ester	$C_{16}H_{22}O_4$	278	-	-	1.29	0.20
69	47.671	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	278	-	-	1.46	0.23
70	49.123	二十一烷 heneicosane	$C_{21}H_{44}$	296	1.06	0.30	0.68	0.11

注：“-”表示未检测出。

**3.2 红车轴草和白车轴草种子挥发性成分种类和含量差异** 由表 1 和表 2 可知,从挥发性成分种类结果来分析,红车轴草种子挥发性成分共有 5 类物质,主要含有 23 种烃类(24.78%),6 种醇类(44.13%),6 种醛类(17.68%),5 种酮类(2.9%),4 种酸类(7.69%),2 种杂环及其他类化合物(2.81%);白车轴草种子挥发性成分共有 6 类物质,主要含有 19 种烃类(22.11%),8 种醇类(54.12%),6 种酯类(11.12%),4 种杂环及其他类化合物(10.25%),3 种醛类(1.59%),2 种酮类(0.35%),2 种酸类(0.43%)。红车轴草和白车轴草种子中均含有丰富的烃类挥发性成分。尽管醇类成分数量少,但在两种种子的挥发性成分中所占比例最大。红车轴草种子中未检测到酯类成分,白车轴草种子中却含有 6 种酯类成分。

**3.3 红车轴草和白车轴草种子挥发性共有成分和特有成分分析** 由表 1 可知,从挥发性成分的共有成分结果来分析,红车轴草和白车轴草种子共有 20 种成分相同,但各成分的含量具有较大差异。共有成分占红车轴草种子和白车轴草种子挥发性组分的比例分别为 45.15% 和 53.21%。1-辛烯-3-醇为共有成分中含量最高的物质,红车轴草种子中峰面积为  $1.05 \times 10^9$ ,白车轴草种子中峰面积为  $2.74 \times 10^9$ 。

从挥发性成分的特异性成分结果来分析,红车轴草种子有 26 种特有成分,占挥发性组分的 54.85%。其中含量较高的化合物为正己醇(11.94%),2,2,4,6,6-五甲基庚烷(11.00%),壬醛(7.74%),辛醛(6.79%),己酸(6.04%),十六烷

(1.19%),3-辛烯-2-酮(1.14%)和 3-甲基-3-乙基-庚烷(1.13%)。白车轴草种子有 24 种特有成分,占挥发性组分的 46.79%。其中含量较高的化合物为 3-辛醇(9.42%),己酸乙酯(8.82%),5-甲基-4,6-二羟基嘧啶(6.59%)和三乙酸甘油酯(1.57%)。

表 2 红车轴草和白车轴草种子挥发性成分种类、相对含量和峰面积  
Table 2 Peak area, types and relative percentages of volatile oils in *Trifolium pratense*. and *T. repens* seeds

类别	红车轴草种子			白车轴草种子		
	数量 /种	相对质量 分数/%	峰面积 ( $\times 10^8$ )	数量 /种	相对质量 分数/%	峰面积 ( $\times 10^8$ )
烃类	23	24.78	8.64	19	22.11	14.08
醇类	6	44.13	15.37	8	54.12	34.50
酮类	5	2.90	1.01	2	0.35	0.22
酯类	0	0	0	6	11.12	7.09
醛类	6	17.68	6.16	3	1.59	1.04
酸类	4	7.69	2.68	2	0.43	0.27
杂环及其他 类化合物	2	2.81	0.98	4	10.25	6.53

#### 4 讨论

郑鹏等<sup>[7]</sup>采用索氏提取法提取红车轴草种子中的脂溶性成分,用 GC-MS 鉴定出 6 种脂溶性成分,包括亚油酸(29.64%), (Z)-6-十八烯酸(14.60%),棕榈酸(5.91%),硬脂酸(3.24%),三十烷酸(0.49%)和草酸葵基-丙基酯(0.17%)。本文通过 HS-SPME-GC-MS 从红车轴草种子中鉴定出

46 个化合物,但不包含上述 6 种成分。固相微萃取方法只能萃取到样品中的易挥发成分,上述 6 种成分沸点较高,无法被萃取头吸附,因此未被检测到。本文的研究结果可以更进一步了解红车轴草种子中的挥发性成分。

本团队前期采用 HS-SPME-GC-MS 分析贵州产红车轴草茎、叶和花挥发性成分,共鉴定出 155 种化合物。茎鉴定出 95 种化合物,主要含有 35 种烃类,18 种醇类,16 种酮类,6 种酯类和 11 种醛类。叶鉴定出 89 种化合物,主要含有 37 种烃类,16 种醇类,12 种酮类,3 种酯类和 14 种醛类。花鉴定出 78 种化合物,主要含有 28 种烃类,12 种醇类,10 种酮类,8 种酯类和 11 种醛类。本文采用 HS-SPME-GC-MS 从江苏产红车轴草种子中鉴定出 46 种化合物,主要含有 23 种烃类,6 种醇类,6 种醛类,5 种酮类和 4 种酸类,其中含量较高的化合物为 1-辛烯-3-醇,正己醇,2,2,4,6,6-五甲基庚烷,壬醛,辛醛和己酸。对比分析可得,贵州产红车轴草茎、叶和花所含挥发性成分种类远多于江苏产红车轴草种子,主要成分也不同。所鉴定得到挥发性成分差异较大的原因可能是不同产地、不同部位和不同成熟度药材所含挥发性成分不同。

曹桂云等<sup>[10]</sup>采用 HS-SPME-GC-MS 分析山东产地白车轴草中的挥发性成分,从中鉴定出 23 种化合物,含量较高的化合物为 2-甲基丁醛,3-甲基丁醛, [s-(E,E)]-1-甲基-5-甲基-8-(1-甲基乙基)-1,6 环十一烯,香橙烯和植物醇。本文采用 HS-SPME-GC-MS 从江苏产地白车轴草种子中鉴定出 44 种化合物,含量较高的化合物为 1-辛烯-3-醇,十七烷,己酸乙烯酯和 5-甲基-4,6-二羟基嘧啶。对比分析可得,江苏产白车轴草种子所含挥发性成分种类远多于山东产白车轴草,主要成分也不同。所鉴定得到挥发性成分差异较大的原因可能是不同产地、不同部位和不同成熟度药材所含挥发性成分不同。曹桂云等<sup>[10]</sup>文献采用的固相微萃取条件与本文不同,也可导致检测的挥发性成分有较大差异。

本文研究结果表明红车轴草和白车轴草种子中含有较为丰富的挥发性成分,但两品种之间挥发性成分的种类、峰面积和相对含量具有较大差异。1-辛烯-3-醇作为红车轴草和白车轴草种子中共有的含量最高的成分。文献报道 1-辛烯-3-醇也是尖齿臭茉莉、驳骨丹和菟丝子等中药材中的主要挥发性

成分,对这些中药材的药理作用有一定贡献<sup>[14-15]</sup>。因此,在后续研究中可深入探究红车轴草和白车轴草种子挥发性成分的药理作用,为车轴草属资源的应用奠定基础。

[参考文献]

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:1814-1819.
- [2] 王少滕. 红车轴草化学成分的研究[D]. 武汉:中南民族大学,2011.
- [3] 邢小姣. 白三叶人工种子制作技术研究[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2016.
- [4] 刘伟新,宋冠华. 红车轴草的生药学研究[J]. 中国民族民间医药,2008,17(3):34-35,67.
- [5] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海人民出版社,1986:65.
- [6] 赵鸿峥,骆骄阳,刘秋桃,等. 药用植物挥发油驱蚊作用的研究进展[J]. 中国中药杂志,2016,41(1):28-34.
- [7] 郑鹏,俞君如,白成科. 红车轴草种子脂溶性成分 GC-MS 分析及抗氧化活性研究[J]. 西安文理学院学报:自然科学版,2008,11(2):24-28.
- [8] 何春兰,张刚平,王如意,等. HS-SPME-GC-MS 和主成分分析红车轴草不同部位挥发油成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(5):71-81.
- [9] 曹桂云,袁绍荣,蒋海强,等. 白车轴草中挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 齐鲁药事,2009,28(10):592-593.
- [10] 曹桂云,蒋海强,范辉,等. 顶空固相萃取与气质联用分析白车轴草中挥发性成分[J]. 辽宁中医药大学学报,2010,12(4):219-220.
- [11] 王胜碧,赵荣飞,程劲松,等. 白车轴草不同花期挥发性成分研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(1):126-130.
- [12] 景书灏,王伯初,潘卫东. 黔产白三叶草挥发性成分的 GC-MS 分析[J]. 贵州农业科学,2010,38(4):82-85.
- [13] 胡鹏,蔡静,张园娇,等. 萝藦种子中脂肪油和挥发油成分分析[J]. 中国药房,2017,28(18):2532-2535.
- [14] 陈青,苏玲,朱华,等. 驳骨丹的生药学研究[J]. 时珍国医国药,2010,21(4):896-898.
- [15] 裴学军,卢金清,黎强,等. HS-SPME-GC-MS 法分析不同产地菟丝子中的挥发性成分[J]. 中国药房,2016,27(21):3006-3009.

[责任编辑 顾雪竹]