香椿葉部精油化學成分之研究

Studies on Essential oil Constituent from the Leaves of *Toona sinensis* Roem.

簡碩賢　謝博進
中原大學化學研究所

郭文隆*
崇仁醫護管理專科學校 美容保健科 助理教授

李蕙君　陳瑋渲
崇仁醫護管理專科學校 美容保健科 講師

摘要

將採集新鮮的香椿葉，經清洗、風乾之後，把葉子搗碎進行水蒸氣蒸餾，再經溶劑萃取(正己烷、乙醚)、鹼處理、水洗與濃縮等步驟，得其棕褐色的中性精油。中性精油經液相色層分析粗分得到碳氫化合物和含氧基化合物兩大部分，並使用氣相層析-火焰離子偵測器(GC-FID)、氣相層析-質譜儀(GC-MS)、傅立葉轉換紅外光光譜儀(FT-IR)、核磁共振光譜儀(NMR)鑑定其化學成分。共鑑定出21個碳氫化合物，其中單離出的成分有δ-Elemene、α-Cubebene、β-Elemene這3個化合物且純度有達到95%，而以GC-MS光譜儀鑑定出的成分有Dodecane、Tridecane、Ylangene、α-Guaiene、Isoledene、α-Caryophylene、(Z)-β-Caryophyllene、(+)-Aromadendrene、β-Patchoulene、δ-Cadinene、β-Selinene、δ-Guaiene、γ-Selinene、α-Muurolene、δ-Cadinene、Cadina-1,4-diene、L-alloaromadendrene、3,7(11)-selinadiene共18個化合物。

關鍵字：香椿、精油、氣相層析-火焰離子偵測器、氣相層析-質譜儀、傅立葉轉換紅外光光譜儀、核磁共振光譜儀

* 通訊作者：郭文隆，600 嘉義市東區盧厝里紅毛埤217號，E-mail: m049@cjc.edu.tw

一、前言：

近年來，精油已經普遍的應用於大眾生活之中。在精油生活化的同時，除了具備特殊的香味外，人們也開始注重其自身健康的養生作用。而精油都是來自具有高度芳香的植物和動物體中萃取而來，不同植物的精油會具有其獨特味道和治療用途。精油為植物成分之重要族群，它通常儲存於植物的油腺 (Oil glands)、腺毛(Glandular hair) 或是溶於樹脂且充填植物體的空洞之中；故精油可分佈於植物體的各部分如根、心材、皮、葉、花及果實等。精油通常不溶於水中，而溶於有機溶劑裡；精油本身具獨特氣味的揮發性物質，常為吸引外物或抵抗侵害的功效；一般而言比重較水輕，約在0.7～1.07之間，沸點則在70℃至350℃之間，常溫下大部分呈液態。

精油中有很多成份是萜類化合物，其組成架構為 $(C_5H_8)n$，乃是Isoprene的縮合物。在2007年以前，未見有對香椿葉部的精油化學成分之研究，因此引發了我們對香椿葉部精油探討的興趣。然而在2008年，中國期刊上發表了一篇香椿揮發性化學成分的研究的論文[1]，觀其內文發現是對莖葉部做其化學成分的研究，並以乙醚來萃取香椿精油水層溶液，然而未經過鹼處理便直接將精油進行GC-MS來做成分的鑑定，發現單萜類碳氫化合物有1,3,6-Heptatriene,2,5,6-trimethyl；而倍半萜類有α-Cubebene、α-Selinene、δ-Cadinene、1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8(1-methyl-ethenyl) 、5,6-Decadien-3-yne,5,7-diethyl、1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene。產地是在湖北恩施(北緯30度16分，東經109度28分)，因植物的精油會因種植的地點、氣候、季節之不同而其成分會有差異，且實驗方法不盡相同，所以繼續研究香椿揮發性化學成分的差異性。

香椿[2], [3]，學名*Toona sinensis* Roem.，為楝科 (Meliaceae)的植物。

樹幹直立，高可達50公尺，側枝少，樹皮略白，髓心大，全體具特殊味道。葉子為偶數羽狀複葉，互生，小葉7 - 9對，揉之有香味，卵狀披針形，先端漸尖，近圓基，疏細鋸齒緣或近全緣，長9 - 18公分，葉柄紅色。

花序為複聚繖花序，圓錐狀排列，白色；花萼5裂：花瓣5裂，長橢圓形，花期5-6月。蒴果長橢圓形或倒卵形，長約2.5公分，熟時五角狀之中軸分離為5裂片，種子具翅，種翅生於種子上方。生長在臺灣中低海拔山區及一般庭園栽培。

其用途有[4], [5], [6]：

1. 食用：嫩葉常以沙拉、涼拌等方式食用，或經乾燥製成粉末提供素食者之調味品。
2. 觀賞用：成熟果序乾燥後可以製作成飾品；樹形特殊，是優良觀賞樹種。
3. 樹幹直立，適於打樁之用材。
4. 藥用：樹皮含川楝素 (toosendanin) ，兒茶酚 (catecol) ，葉含胡蘿蔔素(carotene)，維生素B、C及蛋白質等。川楝素為良好驅蟲劑，根則有收斂、止痛、止血功效，樹皮則可去燥熱，澀腸止血。

據《本草綱目》記載香椿可以"祛風、解毒"，現代醫學臨床驗證：香椿可以抑制金黃色葡萄球菌、肺炎球菌、痢疾桿菌、綠膿桿菌等。香椿不僅色鮮味美，而且營養豐富。它含有大量蛋白質、碳水化合物、胡蘿蔔素、維生素B、C，經測定，每百克香椿芽中含蛋白質9克以上，居群菜之冠，維生素C的含量比西紅柿高數倍，醃的鹹香椿含鈣量比韭菜高3倍。因此也引發了我們對香椿葉部精油成分之生物活性探討的興趣。

二、研究目的

針對上述許多研究香椿在中草藥民間用法處理及中醫科學中藥進行的動物臨床生物活性試驗不是很多，因此引起本人有興趣想研究分析香椿之相關的精油化學成分，並想由其化學成分中發現是否有新的化合物成分，並進一步測試其生化活性。

三、研究方法

1. 藥品與儀器

1.1 **藥品：**

表1. 藥品等級與生產廠商

藥品名稱	等 級	廠 商
正己烷 (n-Hexane)	試 藥 級	景明化工公司
乙醚 (Diethyl Ether)	試 藥 級	景明化工公司
碳酸氫鈉 (Sodium Bicarbonate)	試 藥 級	日本 島久
氫氧化鈉 (Sodium Hydroxide)	試 藥 級	日本 島久
矽膠填充劑 (Silica gel ,230-400 mesh)		Merck
氯化鈉 (Sodium Chloride)		台鹽股份有限公司
Chloroform-d ($CDCl_3$)		Aldrich

1.2 **儀器：**

表2. 使用儀器與型號

儀器名稱	型號
氣相層析儀	PerKinElmer
氣相層析質譜儀	Agilent 7890A (GC) Agilent 5975C (MS)
傅立葉轉換紅外線光譜儀	JASCO FT-IR 460 PLUS
核磁共振光譜儀	Bruker AC-400 FT-NMR

1.3 管柱：

毛細管管柱- (Agilent J&W GC Columns HP-5MS)

Length：30 m

Column ID：0.25 mm

Film Thickness：0.25 μm

Temperature Limits：60℃ To 325℃

1.4 中性精油之製備：

植物樣品經過清洗乾淨和搗碎的前處理後，即開始製備精油，一般而言，抽取精油成分最常用的方法有數種：(1)壓榨法 (2)水蒸汽蒸餾法 (3)萃取法 (4)浸漬法等，隨樣品之種類、油份含量、材質及所要的研究對象而加以選擇應用。本文之研究對象為香椿葉部，其實驗流程如圖(1)，因精油成分中有很多是高沸點物質，加上我們有興趣的乃是具有蒸汽揮發性的物質(Steam volatile)，如萜類等。因此採用水蒸汽蒸餾法的方式來抽取精油成分。

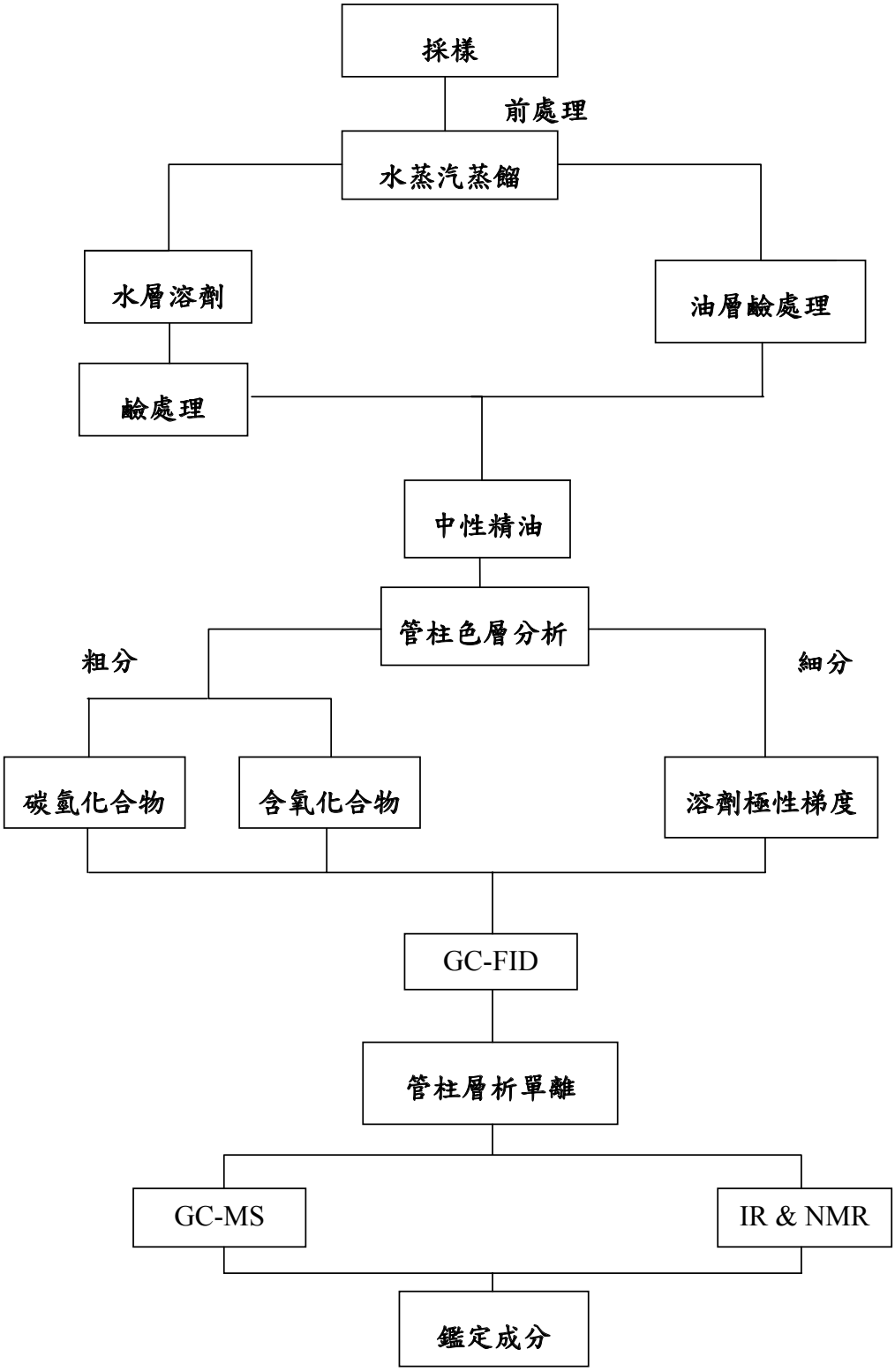
首先將香椿葉部經由粉碎機細碎，以破壞其油細胞及組織。細碎後的香椿葉置入三頸燒瓶球中並稱其淨重，進行水蒸汽蒸餾，餾出的液體收集於分液漏斗中(蒸餾前先取約200 mL正己烷於分液漏斗中)，經過多次蒸餾時間的分析，整個平均蒸餾過程是60小時，蒸餾結束後，將油層和水溶液層分別處理[(7), (8)]。

油層部份直接以鹼處理，先用5%的$NaHCO_3$去除精油中的酸性物質，再以5%的NaOH去除其中的酚類物質；然後用去離子水將精油水洗至中性，利用無水硫酸鈉去水，最後經過濾、濃縮即可得油層內之中性精油。

水層溶液先進行溶劑萃取，實驗中是採用多次萃取法，先用乙醚萃取二次，再以正己烷萃取一次；然後施以鹼處理、去水及濃縮，步驟同油層，即可得到水溶液層之中性精油。

將油層和水溶液層之中性精油混合，即為香椿葉部之中性精油。

實驗流程如下：



圖(1)實驗步驟流程圖

1.5 精油成分之純化與分析：

A、成分之粗分與分析：

取中性精油，利用管柱層析法，通入含有25g矽膠的管柱(ϕ 1cm × 50cm)。先以正己烷沖流 (Elution)，直到所有碳氫化合物被沖提出來，然後改用乙醚沖流出含氧化合物；將兩部份精油濃縮後秤重，可得知含碳氫化合物佔中性精油百分比為何？含氧化合物佔中性精油百分比為何？分別以GC分析，即可得知含碳氫化合物及各含氧化合物成分的分佈情況及相互關係，並以滯留時間的先後，進行成分編號。

氣相色層分析儀條件如下：

毛細管管柱- (Agilent J&W GC Columns HP-5MS)　0.25mm x 30m x 0.25 μm

Carrier gas：40 ml/min (N_2)

Air：0.6 kg/cm^2

Inj. Temp：200℃

Det.Temp:：g/cm^2

B、成分之細分與分析：

取中性精油，利用溶劑極性梯度法 (Gradient solvent system) 進行細部分離的動作。將中性精油注入充滿矽膠的管柱(ϕ 4cm × 250cm)，先以正己烷沖流，直到所有碳氫化合物被沖提出來，所收集之沖流液則以10 mL為一個試管收集單位。將收集液的每根試管進行濃縮，並測定其氣相色層分析光譜。

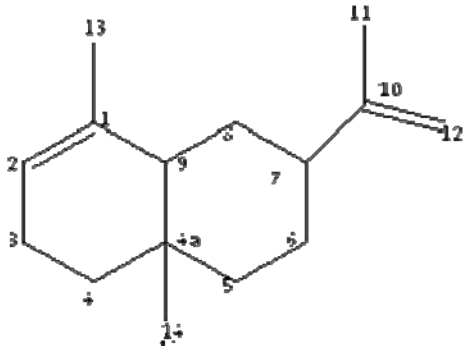
C、鑑定：

將碳氫化合物經多次管柱色層分析的純化後，得到單離的成分，將其進行氣相層析儀、氣相層析質譜儀，核磁共振光譜儀及紅外線光譜儀的測定，並進一步與文獻光譜資料核對，進而確認中性精油成分中的化合物。

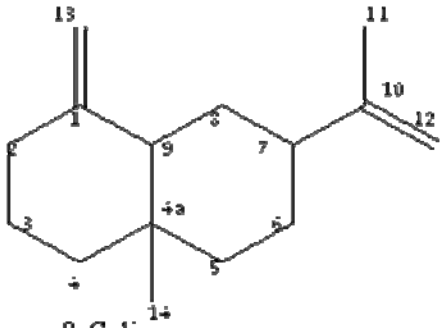
四、結果與討論

本研究分析出來的萜類化合物 (Terpenoids)共有19個，分別是δ-Elemene、α-Cubebene、β-Elemene、Ylangene、α-Guaiene、Isoledene、α-Caryophylene、(Z)-β-Caryophyllene、(+)-Aromadendrene 、β-Patchoulene、δ-Cadinene、β-Selinene、δ-Guaiene、γ-Selinene、α-Muurolene、δ-Cadinene、Cadina-1,4-diene、L-alloaromadendrene、3,7(11)-selinadiene。跟大陸發表的論文[7] 裡做比較，含有的相同萜類化合物是α-Cubebene和δ-Cadinene這兩個化合物；然而1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8(1-methylethenyl) 、1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene和α-Selinene，在本研究的香椿精油研究中是沒有這三個成分。依據學習到的天然物知識來探討這兩者間差異性；相同植物的精油成份，會隨著季

節、氣候變化改變根、莖、葉以及花果的精油成份分佈和含量。此大陸香椿的產地是在湖北省恩施市(北緯30度16分，東經109度28分)，氣溫、雨量、地形明顯和臺灣不同。大陸的α-Cubebene含量百分比是5.94%，δ-Cadinene則是5.88%；而本論文中的α-Cubebene含量百分比是6.13%，δ-Cadinene則是5.63%，故可證明氣候、季節、地形高低會影響成份含量。比較 α-Selinene和β-Selinene，此兩化合物骨架結構均相同； β-Selinene的1, 13碳上有 -C=C-；α-Selinene的-C=C-則是在1,2號碳上；



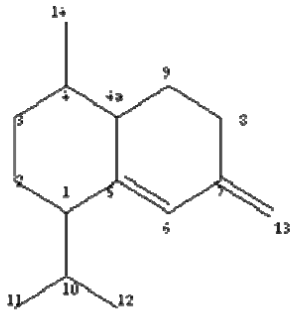
α-selinene



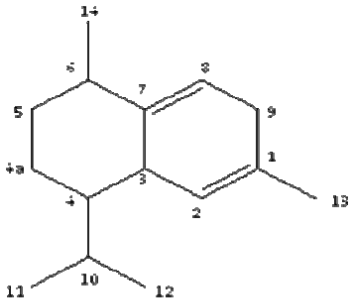
β-Selinene

比較

Cadina-1,4-diene 和1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene，此兩化合物骨架結構均相同，Cadina-1,4-diene的4號碳上有Isopropyl ，1號和6碳上有methyl，1,2號和7,8碳上有-C=C-；1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene的1號碳上有Isopropyl ，4號碳上有methyl，7號碳上是methylene，5,6號碳上有-C=C-。此兩個化合物結構只有些許的差異性，是產地氣候和雨量不同所造成結構上的不同。



1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene



Cadina-1,4-diene

比較本研究和大陸論文[6]中的倍半萜類化合物可發現，此篇研究萜類化合物比大陸論文中多出13種萜類化合物；除了從氣候、溫度、地型所造成的成分、含量差異，也能從實驗步驟上做的討論。大陸論文的實驗方法是水蒸汽蒸餾6小時，得到的蒸餾液用乙醚萃取三次，乙醚

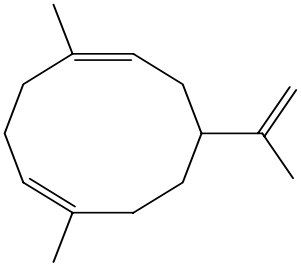
合併後用無水硫酸鈉去水乾燥過夜，吹入N_2除去乙醚得精油濃縮液5mL，經由GC- MS鑑定成分。

此研究的實驗步驟一樣是進行水蒸汽蒸餾，餾出的液體收集在裝有200 mL正己烷的分液漏斗中，油層部份直接以鹼處理，先用5%的$NaHCO_3$去除精油中的酸性物質，再以5%的NaOH去除其中的酚類物質；然後用蒸餾水將精油水洗至中性，利用無水硫酸鈉去水，最後經過濾、濃縮即可得油層內之中性精油。

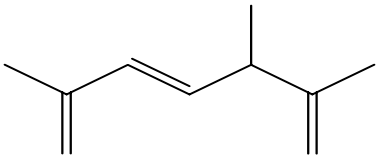
水層溶液先進行溶劑萃取，實驗中是採用多次萃取法，先用乙醚萃取二次，再以正己烷萃取一次(乙醚會與水微溶，正己烷乃是將水中的乙醚萃取出來)；然後施以鹼處理、去水及濃縮，步驟同油層，即可得到水溶液層之中性精油。

此研究經過鹼處理去除酸性物質和酚類物質，只保留碳氫結構的萜類化合物，經由GC-MS 檢測，各萜類化合物的含量百分比皆有放大。而在收集蒸餾液體的分液漏斗中裝有200 mL正己烷，可防止精油常時間與空氣接觸，並減少逸散於空氣中，且更兼具萃取作用，使大部分精油溶於正己烷中，使水層精油含量減少，降低水層中精油的揮發。多了在分液漏斗中裝有正己烷，以及用正己烷萃取水層中的乙醚這兩個實驗步驟，能有效提升萃取植物精油中的萜類化合物。本研究中的倍半萜類總含量是73.8% 而大陸論文的含量則是35.73%，相比之下成分和總含量較多。

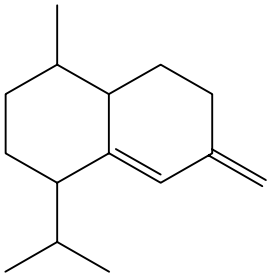
以下7個是大陸香椿揮發性精油碳氫化合物的結構：



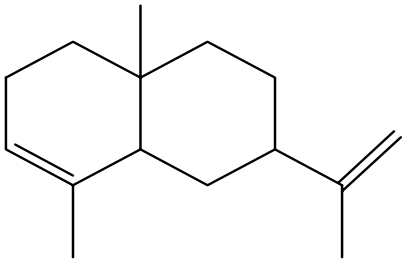
1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8(1-methylethenyl)



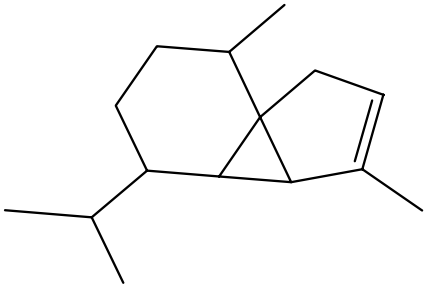
1,3,6-Heptatriene,2,5,6-trimethyl



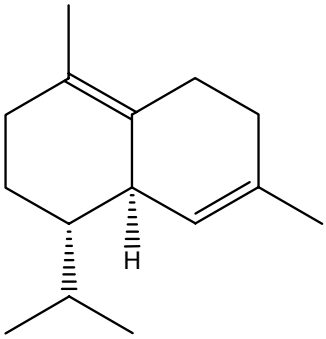
1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene



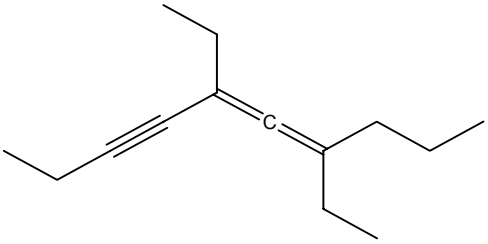
α-selinene



α-Cubebene



δ-Cadinene



5,6-Decadien-3-yne,5,7-diethyl

表3. 大陸論文香椿碳氫化合物成分[9]

Component	MW	Formula	RT(min)	Relative mass fraction %
α-Selinene	204	$C_{15}H_{24}$	15.01	5.67
α-Cubebene	204	$C_{15}H_{24}$	33.99	5.49
1,5-Cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8(1-methylethenyl)	204	$C_{15}H_{24}$	34.01	5.37
5,6-Decadien-3-yne,5,7-diethyl	202	$C_{15}H_{22}$	34.76	3.14
δ-Cadinene	204	$C_{15}H_{24}$	36.01	5.88
1-Isopropyl-4-methyl-7-methylene-1,2,3,4,4a,5,6,7-octahydronaphthalene	204	$C_{15}H_{24}$	38.42	5.87
1,3,6-Heptatriene,2,5,6-trimethyl	136	$C_{10}H_{16}$	44.02	4.31

表4. 香椿精油碳氫化合物成分[9], [10], [11],[13], [14], [15]

Component	MW	Formula	RT(min)	Relative mass fraction %
Dodecane	170	$C_{12}H_{26}$	9.25	1.09
Tridecane	184	$C_{13}H_{28}$	10.99	0.63
δ-Elemene	204	$C_{15}H_{24}$	11.65	4.06
Ylangene	204	$C_{15}H_{24}$	11.98	0.32
α-Cubebene	204	$C_{15}H_{24}$	12.25	6.13
β-Elemene	204	$C_{15}H_{24}$	12.47	14.28
(Z)-β-Caryophyllene	204	$C_{15}H_{24}$	12.71	4.92
α-Guaiene	204	$C_{15}H_{24}$	13.12	0.91
Isoledene	204	$C_{15}H_{24}$	13.28	1.09
α-Caryophylene	204	$C_{15}H_{24}$	13.37	1.73
(+)-Aromadendrene	204	$C_{15}H_{24}$	13.49	0.42
β-Patchoulene	204	$C_{15}H_{24}$	13.64	8.56
α-Muurolene	204	$C_{15}H_{24}$	13.70	1.62
β-Selinene	204	$C_{15}H_{24}$	13.80	13.40
γ-Selinene	204	$C_{15}H_{24}$	13.92	15.93
δ-Guaiene	204	$C_{15}H_{24}$	14.02	0.35
γ-Cadinene	204	$C_{15}H_{24}$	14.14	1.00
δ-Cadinene	204	$C_{15}H_{24}$	14.25	5.63
Cadina-1,4-diene	204	$C_{15}H_{24}$	14.32	0.43
L-alloaromadendrene	204	$C_{15}H_{24}$	14.44	1.51
3,7(11)-selinadiene	204	$C_{15}H_{24}$	14.51	1.54

五、結論

從植物的採集，精油的製備，成分的分離、單離到分析鑑定，各階段均耗時，而所處理的樣品亦均屬微量，故須十分謹慎小心。

總合整理本論文可得以下結語：

1. 香椿葉部以水蒸氣蒸餾帶出揮發性精油經鹼處理後,絕大部分為Terpenoids，其中又以倍半萜類為主。依嗅覺感受而言，碳氫化合物部份略具刺激性氣味。
2. 精油成分的瞭解，對植物學的分類有正面之貢獻，因成分越相似的植物，其分類上也越相近。相對地在研究某一植物成分時，如能和已研究過的同科、甚至同屬植物的成分做比較，則定能達事半工倍之效。

香椿葉部經攪碎後，以水蒸氣蒸餾帶出揮發性精油，再經溶劑萃取、鹼處理、精油水洗成中性精油和濃縮等步驟，便可得到褐色的中性精油，利用管住色層分析方式分離純化，以GC、GC-MS、FT-IR、NMR鑑定其化學成分，共確認21種碳氫化合物的成分，其中的化合物分別是δ-Elemene(4.06%)、Ylangene(0.32%)、α-Cubebene(6.13%)、β-Elemene(14.28%)、Dodecane(1.09%)、Tridecane(0.63%)、(Z)-β-Caryophyllene(4.92%)、α-Guaiene(0.91%)、Isoledene(1.09%)、α-Caryophylene(1.73%)、(+)-Aromadendrene (0.42%)、β-Patchoulene(8.56%)、δ-Cadinene(1.62%)、β-Selinene(13.40)、γ-Selinene(15.93%)、δ-Guaiene(0.35%)、α-Muurolene(1.00%)、δ-Cadinene(5.63%)、Cadina-1,4-diene(0.43%)、L-alloaromadendrene(1.51%)、3,7(11)-selinadiene(1.54%)。

六、參考文獻

1. 邱年永、張光雄，原色台灣藥用植物圖鑑，南天書局出版，1987。
2. 游以德，台灣原生植物，淑馨出版社，1990。
3. 甘偉松，藥用植物學，國立中國醫藥研究所出版，1997。
4. 李崗榮，台灣青草藥，西北出版社，2004。
5. 江蘇新醫學院，中藥大辭典，上海科學技術出版社，1993。
6. 香椿揮發性化學成分的研究.FINE CHEM ICALS (2008), 01, 0041-44。
7. 張仲平、邵林：香椿葉揮發性成分的GC-MS分析。中藥材 1999, 22(11)：578。
8. 陳從瑾、楊國恩、袁列江、黃克瀛：HS-SPME/GC-MS法分析香椿芽、葉的揮發性化學成分。精細化工 2009, 26(1)：1081- 1084。
9. 周育寬，天胡荽精油成分之研究與活性測試，中原大學碩士論文，2005。
10. 溫淑玉，兩面針葉部精油成分之研究，中原大學碩士論文，2005。

11. 廖俊彥，崗梅葉部精油成分之研究，中原大學碩士論文，2006。
12. 林忠男、許盤銘，天然物化學，昭人出版社，1974。
13. NIST MASS Spectra Database.
14. Charles J.Pouchert, The Aldrich Libarary of NMR spectra. 1974.
15. Charles J.Pouchert, The Aldrich Libarary of Infrared spectra, 3th , 1981.
16. H-P. Korthals, Merkel D, Mühlstäd t M. Liebigs Ann. Chem. 1971; 745: 39–58.