

香叶中挥发性组分的超临界萃取及气相色谱-质谱分析

佟 健

(辽宁大学化学科学与工程学院分析测试中心, 辽宁 沈阳 110036)

摘要:用正交试验法研究超临界萃取香叶挥发性成分的条件,并用气相色谱-质谱联用技术分析了香叶挥发油的化学成分。结果显示萃取条件按对结果影响大小依次排列为:萃取压力、萃取温度、萃取时间,最佳萃取条件为萃取压力 30 MPa、萃取温度 40 °C、萃取时间 1 h。挥发油收率为 2.6%,从中确认出 47 种化学成分,而用同时水蒸气蒸馏-溶剂萃取方法收率仅为 0.8%,仅确认出 30 种挥发性成分。

关键词:香叶;挥发油;超临界萃取;二氧化碳;气相色谱-质谱分析

中图分类号:O657.63; Q949.783.5 文献标识码:A 文章编号:1004-2997(2006)02-94-05

Analysis of Volatile Constituents from *Lindera communis* Hemsl. by Supercritical Fluid Extraction Gas Chromatography-Mass Spectrometry

TONG Jian

(Analysis Center, Institute of Chemical Science and Engineering, Liaoning University, Shengyang 110036, China)

Abstract: Orthogonal design of 3 factors at 3 levels was applied for optimization of supercritical CO₂ fluid extraction conditions of essential oil from *Lindera communis* Hemsl. Constituents of the essential oil were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. The optimal conditions of extraction pressure 30 MPa, extraction temperature 40 °C and extraction time 1 h were obtained. The sequence according to the effect of the extraction results is as follows: extraction pressure → extraction temperature → extraction time. The average oil yield obtained by supercritical CO₂ fluid extraction was 2.6% and 47 chemical components were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) method. While by simultaneous distillation extraction method, the average oil yield was 0.8% and 30 chemical components were identified.

Key words: *Lindera communis* Hemsl.; essential oil; supercritical fluid extraction; carbon dioxide; gas chromatography-mass spectrometry

香叶 *Lindera communis* Hemsl. 为樟科山胡椒属植物香叶树的干燥茎叶,香叶树主要分布在黄河以南以及中南半岛北部地区,常见于干燥

砂质土壤,散生或混生于常绿或半长绿阔叶林中^[1]。香叶树茎叶可用于治疗跌打损伤、疮痍、外伤出血等,也可用于治疗牛马牲畜的癣疥疮

癩。近年来,对香叶化学成分的研究少见报道,而对其挥发性化学成分的研究报道更少,至于有关超临界 CO_2 萃取香叶挥发油的正交试验和 GC/MS 分析的研究尚未见报道。本文进行了超临界 CO_2 萃取香叶挥发油的正交试验^[2],在最佳条件下收率为 $w=2.6\%$ 。采用气相色谱-质谱计算机联用技术对其挥发油中化学成分进行了分析,通过检索 NIST98 谱图库,并结合标准质谱图和有关文献,确认了 47 个化学成分,同时还运用峰面积归一化法,通过 G170LBA 化学工作站数据处理系统,求得各化学成分在挥发油中的相对百分含量,为进一步开发利用香叶提供了科学依据。

1 实验部分

1.1 主要仪器、试剂与材料

Hewlett Packard 6890-5973 型气相色谱-质谱计算机联用仪(美国惠普公司);HA121-50-01 型超临界 CO_2 萃取装置(南通华安超临界流体萃取设备公司);无水硫酸钠、乙醚等均为分析纯;香叶:2003 年 6 月来自中国昆明。

1.2 超临界 CO_2 萃取法正交试验

取香叶茎叶,晒干粉碎(过孔径为 0.3 mm 筛)备用。经过预试验可知,在超临界流体萃取方法中,影响萃取的主要因素是萃取压力、萃取温度和萃取时间。本研究选取的条件是:萃取压力为 25~35 MPa,萃取温度为 35 °C~45 °C,萃取时间为 1~2 h。选定 3 因素 3 水平的正交试验方法,按表 $L_9(3^4)$ 安排试验,以挥发油的相对含量为考察指标。因素水平表见表 1。

试验操作中, CO_2 流量控制在 15 kg/h,每次进样量 150 g,所提取挥发油用乙醚溶解,加无水硫酸钠干燥,过滤,然后用旋转蒸发器除去乙醚,得到具有浓郁香味的黄色透明液体,收率为 $w=2.6\%$ 。

1.3 GC/MS 实验条件

1.3.1 气相色谱条件 色谱柱:HP-5 (25 m \times 0.32 mm \times 0.17 μm) 弹性石英毛细管柱;升温程序:初始温度 60 °C,以 5 °C/min 升至 200 °C;汽化温度 230 °C;进样量 0.2 μL ;溶剂延迟 4 min;载气(He)流量 1 mL/min;分流比 20:1。

1.3.2 质谱条件 电子轰击(EI)离子源;离子源温度 200 °C;电子能量 70 eV;发射电流 34.6 μA ;电子倍增器电压 1 341 V;接口温度

230 °C;质量扫描范围: m/z 20~500。

表 1 正交试验水平因素表

Table 1 Level and factor of orthogonal test

水平 Level	因素 (Factor)			D 误差 (Error) E
	A	B	C	
	萃取压力 (Extraction pressure) p/MPa	萃取温度 (Extraction temperature) $t/^\circ\text{C}$	萃取时间 (Extraction time) t/h	
1	25	35	1	1
2	30	40	1.5	2
3	45	45	2	3

2 结果与讨论

2.1 正交试验结果

正交试验结果列于表 2。表 2 中 K_1 、 K_2 、 K_3 为相应水平所得萃取率的总和, \bar{k}_1 、 \bar{k}_2 、 \bar{k}_3 分别为 K_1 、 K_2 、 K_3 的平均值, R 为极差,即 $R=\bar{k}_{\max}-\bar{k}_{\min}$ 。从表 2 可以看出(A) $K_2>K_3>K_1$ 、(B) $K_2>K_3>K_1$ (C) $K_1>K_3>K_2$ 。因此,萃取香叶茎叶挥发油的最佳组合条件是 $A_2B_2C_1$,即萃取压力为 30 MPa、萃取温度为 40 °C、萃取时间为 1 h。表 3 为正交试验结果的方差分析表。在表 3 中 S 为方差平方和, df 为自由度, V 为均方。由于 $S_A>S_B>S_C$,所以因素对试验结果的影响依次为萃取压力、萃取温度、萃取时间。分析结果表明,在试验范围内萃取压力对萃取香叶茎叶挥发油收率有显著性影响,而萃取温度、萃取时间对萃取收率的影响不显著。

2.2 在最佳萃取条件下的萃取效果

为了进一步考察在上述最佳萃取条件下的萃取效果,将 150 g 香叶茎叶粉末投入装置萃取得 3.9 g,收率为 2.6%,略低于试验中最高收率。符合萃取时间对萃取香叶茎叶挥发油收率的影响不显著的结论。

2.3 GC/MS 分析

2.3.1 定性分析 取香叶茎叶挥发油 0.2 μL ,用气相色谱-质谱计算机联用仪进行分析鉴定。其总离子流图见图 1。通过 G1701BA 化学工作站数据处理系统,检索 NIST98 谱图库,并分别与 8 峰索引及 EPA/NIH 质谱图集的标准谱图进行对照,再结合有关文献进行人工谱图解析^[3-5],确认香叶挥发油中的各个化学成分。

2.3.2 定量分析 通过 G1701BA 化学工作站数据处理系统,按面积归一化法进行定量分析,求得各化学成分在挥发油中的百分含量,结果列于表 4。

表 2 正交试验结果
Table 2 Result of orthogonal test

No	因素 (Factor)				萃取率 Extraction rate/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.34
2	1	2	2	2	0.56
3	1	3	3	3	0.68
4	2	1	2	3	1.54
5	2	2	3	1	2.68
6	2	3	1	2	2.56
7	3	1	3	2	1.52
8	3	2	1	3	2.46
9	3	3	2	1	2.42
K_1	1.58	3.40	5.36	5.44	$T=14.76$
K_2	6.78	5.70	4.52	4.64	
K_3	6.40	5.66	4.88	4.68	
\bar{k}_1	0.53	1.33	1.79	1.81	$P=24.21$
\bar{k}_2	2.26	1.90	1.51	1.55	
\bar{k}_3	2.10	1.87	1.63	1.56	
R	1.73	0.57	0.28	0.26	
Q	29.81	25.36	24.32	24.34	
S	5.60	1.15	0.11	0.13	

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源 Source of variance	S	df	V	F	F_α
A	5.60	2	2.80	40	$F_{0.01}=99$
B	1.15	2	0.58	8.29	$F_{0.05}=19$
C	0.11	2	0.06	0.86	
D(error)	0.13	2	0.07	1	
总和 total	6.99	8			

2.4 讨论

超临界 CO_2 萃取具有操作温度近于室温,溶解能力强,无毒、无残留污染,产品物性好、纯度高等优点,很适合于天然产物的分离精制。由于超临界 CO_2 萃取具有很多其它提取方法不具备的优点,所以更适合于挥发油中热敏性成分的提取。采用同时水蒸气蒸馏-溶剂萃取法,因其加热时间长,提取温度高,易使对热不稳定的挥发性成分发生分解,收率仅为 0.8%,确认出 30 种挥发性成分^[6]。用超临界 CO_2 进行萃取收率为 2.6%,确认出 47 种化学成分,占总挥发油含量的 98.80%。香叶挥发油中的主要成分为蒎烯、水芹烯、桉树脑、4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇、对-甲基-1-烯-8-醇、1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)-环己烯、丁香酚,其中桉树脑、丁香酚、 γ -榄香烯为首次发现。

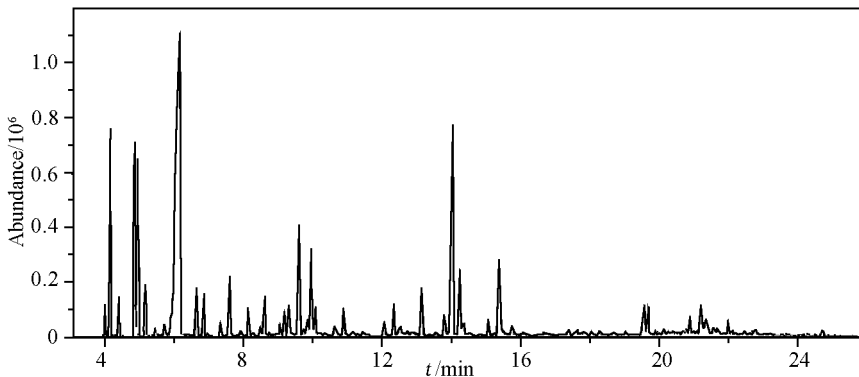


图 1 香叶挥发油总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatogram of volatile components from *Lindera communis* Hemsl.

表 4 香叶挥发油化学成分分析结果

Table 4 Identified components of volatile substances from *Lindera communis* Hemsl.

序号 No	保留时间 t_R /min	化合物名称 Compound	分子式 Formula	相对含量 R. cont/%	相似度 Similarity/%
1	4.02	2-methyl-5-(1-methylethyl)-bicyclo[3.1.0]hex-2-ene 2-甲基-5-(1-甲基乙基)-双环[3.1.0]己-2-烯	$C_{10}H_{16}$	0.67	91
2	4.17	α -蒎烯 α -pinene	$C_{10}H_{16}$	5.40	95
3	4.42	莰烯 camphene	$C_{10}H_{16}$	0.79	97
4	4.88	β -水芹烯 β -phellandrene	$C_{10}H_{16}$	6.63	90
5	4.96	6,6-二甲基-2-亚甲基-双环[3.1.1]庚烷 6,6-dimethyl-2-methylene-bicyclo[3.1.1]heptane	$C_{10}H_{16}O$	4.37	
6	5.47	α -水芹烯 α -phellandrene	$C_{10}H_{16}$	0.27	91
7	5.73	(+)-4-萜烯 (+)-4-carene	$C_{10}H_{16}$	0.53	97
8	6.19	桉树脑 eucalyphol	$C_{10}H_{18}O$	34.45	98
9	7.60	1-甲基-4-(1-甲基乙基)-1,4-环己二烯 1-methyl-4-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene	$C_{10}H_{16}$	0.44	95
10	6.86	松油醇 terpineol	$C_{10}H_{18}O$	0.94	97
11	7.34	(+)-4-萜烯 (+)-4-carene	$C_{10}H_{18}$	0.40	96
12	7.60	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 3,7-dimethyl-1,6-octadien-3-ol	$C_{10}H_{16}O$	2.01	80
13	8.14	反-1-甲基-4-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇 <i>trans</i> -1-methyl-4-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol	$C_{10}H_{16}O$	0.90	88
14	8.49	顺- <i>p</i> -甲基-2,8-二醇 <i>cis-p</i> -methyl-2,8-dienol	$C_{10}H_{16}O$	0.26	80
15	8.61	6,6-二甲基-2-亚甲基双环[3.1.1]庚-3-醇 6,6-dimethyl-2-methylene bicyclo[3.1.1]heptan-3-ol	$C_{10}H_{16}O$	1.02	82
16	9.06	5-(1-甲基乙基)双环[3.1.0]己烷-2-酮 5-(1-methylethyl)bicyclo[3.1.0]hexan-2-one	$C_{10}H_{18}$	0.49	94
17	9.32	(+)- α -松油醇(<i>p</i> -甲基-1-烯-8-醇) (+)- α -terpineol(<i>p</i> -methyl-1-en-8-ol)	$C_{10}H_{18}O$	1.07	86
18	9.61	4-甲基-1-(1-甲基乙基)-3-环己烯-1-醇 4-methyl-1-(1-methylethyl)-3-cyclohexen-1-ol	$C_{10}H_{18}O$	3.68	97
19	9.74	α -崖柏醛 α -thujenal	$C_{10}H_{14}O$	0.14	94
20	9.86	1,2,3,5-四甲基苯 1,2,3,5-tetramethylbenzene	$C_{10}H_{16}O$	0.66	91
21	9.96	对-甲基-1-烯-8-醇 <i>p</i> -methyl-1-en-8-ol	$C_{10}H_{18}O$	3.02	90
22	10.08	6,6-二甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯-2-甲醇 6,6-dimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene-2-methanol	$C_{10}H_{16}O$	1.06	95
23	10.65	反-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇 <i>trans</i> -2-methyl-5-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol	$C_{10}H_{16}O$	0.38	91
24	10.88	反-2-甲基-5-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-醇 <i>trans</i> -2-methyl-5-(1-methylethyl)-2-cyclohexen-1-ol	$C_{10}H_{16}O$	0.86	83
25	12.06	醋酸 4-崖柏烯-2 α -基酯 4-thujen-2 α -yl acetate	$C_{12}H_{18}O_2$	0.40	96
26	12.35	醋酸冰片酯 bornyl acetate	$C_{12}H_{20}O_2$	0.83	98
27	12.53	4-(1-甲基乙基)-苯甲醇 4-(1-methylethyl)-benzenemethanol	$C_{10}H_{14}O$	0.38	97
28	13.14	1-亚甲基-4-(1-甲基乙基)环己烷 1-methylene-4-(1-methylethyl)cyclohexane	$C_{10}H_{16}$	1.23	82
29	13.79	醋酸 1,3,3-三甲基-2-含氧双环[2.2.2]辛-6-醇酯 1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan-6-ol acetate	$C_{12}H_{20}O_3$	0.79	83

续表

序号 No	保留时间 t_R /min	化合物名称 Compound	分子式 Formula	相对含量 R. cont/%	相似度 Similarity/%
30	14.22	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯 1-methyl-4-(1-methylethylidene)cyclohexene	$C_{10}H_{16}$	11.91	90
31	14.23	丁香酚 eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	2.65	97
32	15.06	1-乙基-1-甲基-2,4-双(1-甲基乙基)环己胺 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)cyclohexane	$C_{15}H_{24}$	0.44	91
33	15.39	1,2-二甲氧基-4-(2-丙烯基)苯 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)benzene	$C_{11}H_{14}O_2$	2.63	94
34	15.76	石竹烯 caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	0.26	99
35	17.39	十脱氢化-4a-甲基-1-亚甲基-7-(1-甲基乙基)萘 decahydro-4a-methyl-1-methylene-7-(1-methylethyl)naphthalene	$C_{15}H_{24}$	0.16	99
36	18.04	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八脱氢化-7-甲基-4-亚甲基-1(1-甲基乙基)萘 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-7-methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)naphthalene	$C_{15}H_{24}$	0.16	98
37	19.56	4-烯丙氧基亚胺-2-莰烯 4-allyloxyimino-2-carene	$C_{13}H_{19}NO$	1.17	82
38	19.67	石竹烯醛 caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	1.13	96
39	19.88	喇叭萜醇 ldeol	$C_{15}H_{26}O$	0.29	98
40	20.80	10,10-二甲基-2,6-二亚甲基双环[7.2.0]十一-5-β醇 10,10-dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5-β-ol	$C_{15}H_{24}O$	0.19	99
41	20.88	10,10-二甲基-2,6-二亚甲基双环[7.2.0]十一-5-β醇 10,10-dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5-β-ol	$C_{15}H_{24}O$	0.55	99
42	21.20	顺-1-亚甲基庚氢化-7a-甲基-1H-茛 <i>cis</i> -1-ethylideneoctahydro-7a-methyl-1H-indene	$C_{12}H_{20}$	0.91	84
43	21.28	γ-榄香烯 γ-elemene	$C_{15}H_{24}$	0.43	89
44	21.35	全香树烯醛-(1)alloaromadendrene oxide-(1)	$C_{15}H_{24}$	0.76	90
45	21.59	2-氯-1,5,5-三甲基冰片 2-chloro-1,5,5-trimethyloxonorbornane	$C_{15}H_{24}O$	0.19	82
46	21.66	环氧化异香树烯 isoalloaromadendrene epoxide	$C_{15}H_{24}O$	0.25	91
47	21.99	八氢化-4,8,8,9-四甲基-1,4-甲醇基奥-7(1H)-酮 octahydro-4,8,8,9-tetramethyl-1,4-methanoazulen-7(1H)-one	$C_{15}H_{24}$	0.65	87

参考文献:

- [1] 王发松, 仰得波, 任三香, 等. 香叶树果挥发油的化学成分和抗菌活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 1999, 11(6): 1-5.
- [2] 张忠义, 王 鹏, 雷正杰, 等. 超临界 CO_2 萃取-分子蒸馏对白术挥发油的提取分离和 GC-MS 分析[J]. 分析测试学报, 2003, 22(4): 61-64.
- [3] 回瑞华, 李铁纯, 侯冬岩. GC/MS 分析紫丁香花和叶中的挥发性化学成分[J]. 质谱学报, 2002, 23(4): 210-213.
- [4] Heller S R, Milne G W A. EPA/NIH Mas Spectral Database. Washington: U S Government Printing Office, 1978; Vol. 1-4.
- [5] 施钧慧, 汪聪慧. 香料质谱图集. 北京: 中国质谱学会, 1992.
- [6] 李雪梅, 刘维涓, 周 瑾, 等. 香橼叶挥发性化学成分及其在卷烟加香中的应用研究[J]. 烟草科技/烟草化学, 2000, 144(5): 24-25.