

许永,黄海涛,李晶,等.带固相萃取功能的索氏提取装置应用于气相色谱-质谱法测定薰衣草中挥发性成分[J].江苏农业科学,2020,48(23):181-185.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.23.037

带固相萃取功能的索氏提取装置应用于气相色谱-质谱法测定薰衣草中挥发性成分

许永,黄海涛,李晶,刘欣,孔维松,杨叶昆,王晋

(云南中烟工业有限责任公司技术中心,云南昆明 650106)

摘要:建立了一种新型带固相萃取功能的索氏提取装置结合气相色谱-质谱法(GC/MS)测定薰衣草中挥发性成分的方法。薰衣草花朵经冷冻干燥处理后,以二氯甲烷作为提取溶剂,用带固相萃取功能的索氏提取装置进行处理,萃取液用气相色谱-质谱联用仪分析其挥发性化学成分。采用新型的带固相萃取功能的索氏提取装置集提取、净化、浓缩及转移功能为一体,大大简化了前处理步骤;鉴定出 52 种挥发性物质,其中烯烃类物质 15 种,醇类物质 15 种,醛类物质 3 种,酯类物质 9 种,有机酸 1 种,其他物质 9 种;方法的重复性较好,测定值的日间和日内相对标准偏差($n=7$)均小于 5.0%。此方法能较好地应用于薰衣草中挥发性成分的测定。

关键词:固相萃取;索氏提取;气相色谱-质谱联用(GC/MS);薰衣草;挥发性成分

中图分类号: O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)23-0181-05

薰衣草,是唇形科薰衣草属多年草本或半灌木植物,花中含芳香油,是调制化妆品、皂用香精的重要原料。现代药理研究表明,从薰衣草所提取的挥发性成分具有抑菌消炎、镇静催眠、降血压、解痉以及抗肿瘤等作用,还可治疗昆虫叮咬以及烧灼伤^[1-5],而且薰衣草挥发油对改善记忆障碍也有一定效果^[6-7]。因此,研究薰衣草的挥发性成分具有重要的意义。

关于薰衣草挥发性成分,近几年常用的提取方法有水蒸汽蒸馏提取法^[8-11]、同时蒸馏萃取^[12]、超临界 CO₂ 提取法^[13-15]等。水蒸气蒸馏提取法和超临界 CO₂ 提取法都存在样品用量大、费时及提取成本高等缺点,而同时蒸馏萃取也存在某些欠稳定组分长期和热水反应会热分解,分析结果的重现性差。对固体物质的萃取,通常采用冷浸法或热浸法(索氏提取器),本研究采用新颖的带固相萃取的索

氏提取装置,集萃取、净化和浓缩为一体,中途不用转移样品,密闭环境进行加热萃取,建立更准确、客观的薰衣草挥发性成分分析方法,可为薰衣草的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料、仪器与试剂

材料:试验所用薰衣草样品为羽叶薰衣草,2017 年种植于云南烟草科学研究院工业园区内,于盛花期采摘(2019 年 6 月)。

仪器:北京中兴伟业仪器有限公司的高速万能粉碎机;美国 Agilent 公司的 Agilent 6890-5973N 气相色谱-质谱联用仪;德国 Sartorius 公司的 ME414S 型电子天平(感量 0.000 1 g);宁波双嘉 SJIA-5FE 小型视频冷冻干燥机;自主研发的带固相萃取功能的索氏提取装置,具体装置结构见图 1。

试剂:二氯甲烷,色谱纯,美国 Dicma 公司生产;柱色谱硅胶,200~300 目,青岛海洋化工厂生产;无水硫酸钠,AR,天津化学试剂厂生产。

1.2 样品处理及分析条件

1.2.1 样品的处理

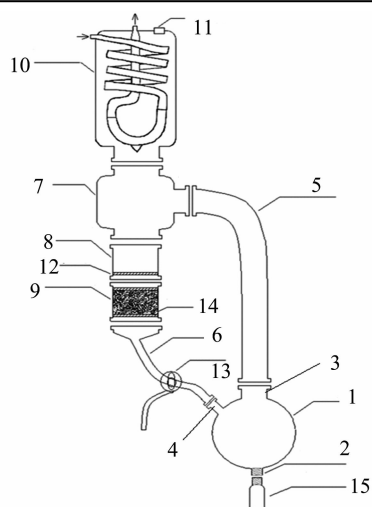
1.2.1.1 薰衣草样品前处理 将采摘的新鲜薰衣草花朵放入预冷至 -30℃ 以下的冷冻干燥机中,温度降至 -50℃ 以下打开真空泵,进行薰衣草的升华

收稿日期:2020-02-18

基金项目:中国烟草总公司科技重大专项[编号:110201901016(JY-03)];云南中烟工业有限责任公司技术中心项目(编号:2018JC07)。

作者简介:许永(1982-),女,云南昆明人,硕士,助理研究员,主要从事烟草化学分析研究工作。E-mail: xuyone@163.com。

通信作者:王晋,博士,助理研究员,主要从事烟草化学研究工作。E-mail:627686517@qq.com。



1—烧瓶；2—螺纹接口；3—第一接口；4—第二接口；5—隔热导气管；6—溶剂回流管；7—三通转换管；8—样品筒；9—固相萃取柱；10—密闭冷凝管；11—泄压阀；12—筛板；13—三通阀；14—硅胶；15—色谱进样瓶

图1 带固相萃取功能的索氏提取装置

干燥,程序如下: $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h) $\rightarrow -30\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h) $\rightarrow -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h) $\rightarrow -5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h) $\rightarrow 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 h) $\rightarrow 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (5 h) $\rightarrow 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (55 h)。待干燥完毕,取出样品,经高速万能粉碎机粉碎,过孔径为 $450\text{ }\mu\text{m}$ 的标准检验筛,得均匀粉末。

1.2.1.2 薰衣草样品提取回流 在固相萃取柱 9 中加入 10 g 硅胶 (200 ~ 300 目),称取 20 g 薰衣草样品于样品筒 8 中,在样品上方覆盖 1 层无水硫酸钠后,用夹紧装置密封,将色谱进样瓶与圆底烧瓶 1 的螺纹接口 2 密封连接,并在烧瓶 1 中加入 200 mL 二氯甲烷溶剂,然后将烧瓶置于水浴锅中, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热,冷凝回流 2.5 h。

1.2.1.3 薰衣草样品浓缩 待步骤“1.2.1.2”节样品回流提取完毕后,切换三通阀 13,使其与外界空气导通,不断挥发的溶剂通过三通阀 13 流出并回收,达到浓缩的目的,当色谱进样瓶中的样品溶液蒸发至约 1 mL 后,旋下色谱进样瓶即可进行 GC - MS 分析。

1.2.2 气相色谱条件 色谱柱: DB - 5 MS 色谱柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$); 进样量: $1.0\text{ }\mu\text{L}$; 柱流量: 1.0 mL/min ; 分流比: 10 : 1; 进样口温度: $260\text{ }^{\circ}\text{C}$; 程序升温条件: $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保持 4 min,再以 $1\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 速率升至 $180\text{ }^{\circ}\text{C}$,再以 $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$ 速率升至 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,保持 16 min。

1.2.3 质谱条件 电子轰击离子源: E1; 离子化电压: 70 eV ; 离子源温度: $230\text{ }^{\circ}\text{C}$; 传输线温度: $280\text{ }^{\circ}\text{C}$; 质量扫描范围: $45 \sim 450\text{ amu}$; 谱图检索: 通过

WILEY、NIST 谱库进行检索。

2 结果与分析

2.1 带固相萃取功能的索氏提取装置设计及工作原理

样品前处理装置结构见图 1,包括以下部件:烧瓶 1,烧瓶 1 上设有第 1 接口 3、第 2 接口 4 和螺纹接口 2,烧瓶 1 通过第 1 接口 3 与隔热导气管 5 气流导通连接,隔热导气管 5 另一端与三通转换管 7 气流导通连接,三通转换管 7 的另外 2 个接口分别与密闭冷凝管 10 和样品筒 8 气流导通连接,密闭冷凝管 10 上设有泄压阀 11,样品筒 8 远离三通转换管 7 的 1 端设有筛板 12 并与固相萃取柱 9 气流导通连接,固相萃取柱 9 的另一端通过溶剂回流管 6 与第 2 接口 4 气流导通连接,溶剂回流管 6 内设有三通阀 13。

本装置的工作原理:启动水浴锅加热,溶剂蒸发后经密闭冷凝管 10 冷凝回流到样品筒 8 中,溶剂先经无水硫酸钠层干燥,然后对样品进行提取,提取液经过硅胶柱 9 净化后回流至烧瓶 1 中。经过一段时间的回流提取后,把三通阀 13 调整为与外界空气导通的状态,不断挥发的溶剂通过三通阀 13 流出并回收,此时烧瓶 1 中的溶液不断被浓缩,当浓缩到约 1 mL 时停止加热,卸下色谱进样瓶即可进行分析。

2.2 硅胶填充量的优化

索氏提取法在提取过程中大量杂质会随挥发性成分一起溶出,因此本研究对传统索氏提取装置进行了改进,于索氏提取装置中增设了固相萃取柱,采用硅胶作为固相萃取填料以吸附提取液中的杂质,并对硅胶的用量进行了优化。在固相萃取柱 9 中分别加入 5、10、20 g 硅胶,在样品筒 8 中加入 20 g 薰衣草样品,以二氯甲烷为提取溶剂, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 加热,冷凝回流 2.5 h,比较了不同硅胶使用量对薰衣草挥发性成分检测结果的影响 (图 2)。结果表明,硅胶用量为 5 g 时,提取液总离子流图中化学成分种类较多,经检索后各物质匹配度均不高,且色谱峰面积明显小于另外 2 种硅胶用量,可能是由于硅胶用量较少,没有达到明显的净化效果;硅胶用量为 10 g 时,提取液总离子流图中化学成分匹配度较高,色谱峰面积较大;硅胶用量为 20 g 时,提取液总离子流图中化学成分种类及色谱峰面积略低于 10 g 的硅胶用量,可能是由于硅胶用量较大时吸附了部

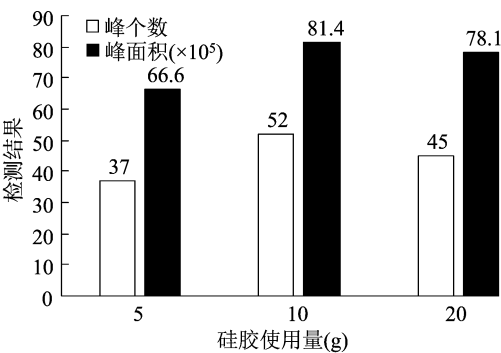


图2 硅胶使用量对挥发性成分检测结果的影响

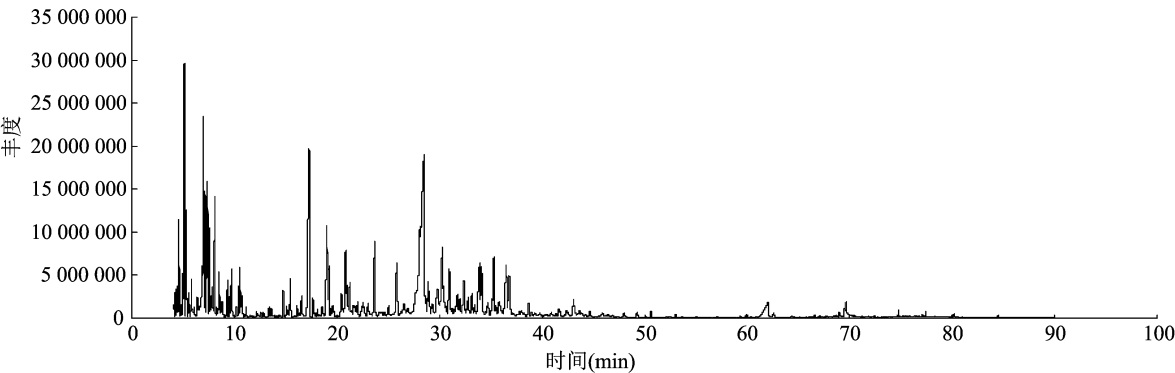


图3 薰衣草挥发性化学成分总离子流

表 1 薰衣草挥发性化学成分分析结果

类别	保留时间 (min)	化合物名称	匹配度	相对含量 (%)
烯烃类	4.26	α -蒎烯	96	0.05
	4.573	β -月桂烯	96	2.01
	4.806	3-甲基-6-(异丙基亚基)-环己烯	94	0.52
	5.016	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-辛三烯	96	0.05
	5.135	β -罗勒烯	97	5.55
	6.362	(E,Z)-2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯	97	1.54
	17.198	石竹烯	99	1.3
	17.841	反式- α -香柠檬烯	93	0.16
	18.954	(E)- β -金合欢烯	95	5.41
	20.807	大根香叶烯 D	99	0.09
	20.942	顺式- β -金合欢烯	98	0.07
	22.465	β -红没药烯	97	0.03
	26.16	顺-Z-a-环氧没药烯	95	0.02
	26.598	苾烯	96	0.01
	28.461	香树烯	94	0.09
	总计			16.9
醇类	4.438	1-辛烯-3-醇	98	0.91
	5.973	芳樟醇	97	19.86
	7.172	5-甲基-2-(1-甲基乙烯基)-4-己烯-1-醇	96	3.55
	7.599	(R)-4-甲基-1-异丙基-3-环己烯-1-醇	96	1.67
	7.95	松油醇	91	6.1
	8.566	顺式-2-甲基-5-(1-甲基乙烯基)-2-环己烯-1-醇	86	0.15

分挥发性成分。因此为了实现提取液的有效净化,本方法以 10 g 硅胶作为填充量。

2.3 薰衣草挥发性成分分析

薰衣草提取液进行 GC-MS 分析,挥发性成分用 WILEY、NIST 谱库进行检索,相应的质谱总离子流见图 3。相对含量利用峰面积归一化法进行计算,结果见表 1。

从表 1 可以看出,以二氯甲烷为溶剂,采用自制的带固相萃取功能的索氏提取装置从薰衣草中提取挥发性成分,经 GC-MS 分析,共鉴定出 52 种挥

表 1(续)

类别	保留时间 (min)	化合物名称	匹配度	相对含量 (%)
	8. 711	(<i>Z</i>) - 3, 7 - 二甲基 - 2, 6 - 辛二烯 - 1 - 醇	96	1. 24
	10. 915	对 - 聚伞花 - 7 - 醇	93	0. 21
	13. 789	(<i>Z</i>) - 3, 7 - 二甲基 - 乙酸酯 2, 6 - 辛二烯 - 1 - 醇	91	1. 78
	23. 243	α - (1 - 乙烯基戊基) - α - 甲基 - 苯甲醇	97	0. 19
	31. 362	反式 - 香叶基香叶醇	92	0. 02
	31. 794	橙花叔醇	90	0. 11
	33. 307	异长叶醇	99	0. 05
	38. 385	β - 檀香醇	92	0. 03
	72. 51	反式 - 香叶基香叶醇	93	0. 05
	总计			35. 92
醛类	6. 707	丁香醛	92	0. 08
	9. 09	橙花醛	90	0. 24
	14. 173	异橙花醛	95	0. 05
	总计			0. 37
酯类	4. 698	乙酸己酯	90	0. 08
	9. 587	乙酸芳樟酯	90	13. 64
	10. 786	5 - 甲基 - 2 - (1 - 甲基乙烯基) - 4 - 己烯 - 1 - 醇乙酸酯	91	9. 13
	10. 861	冰片基乙酸酯	99	0. 23
	12. 18	(<i>E</i>) - 2 - 甲基 - 2 - 丁烯酸己酯	95	0. 05
	14. 794	乙酸香叶酯	91	3. 17
	18. 025	香豆素	92	0. 07
	42. 923	苯甲基苯甲酸酯	96	0. 05
	48. 146	乙酸橙花酯	92	0. 01
	总计			26. 43
有机酸	61. 176	棕榈酸	96	0. 02
	总计			0. 02
其他	5. 605	碳酸酯 2 - (5 - 甲基 - 5 - 乙烯基四氢呋喃 - 2 - 基) 丙 - 2 - 基乙基	91	5. 49
	6. 902	3, 6 - 二氢 - 4 - 甲基 - 2 - (2 - 甲基 - 1 - 丙烯基) - 2H - 吡喃	97	0. 52
	6. 983	(+) - 2 - 樟脑	98	0. 44
	7. 41	龙脑	97	2. 38
	8. 436	2 - 亚甲基苄烷	91	0. 26
	17. 009	(-) - 1, 7 - 二甲基 - 7 - (4 - 甲基 - 3 - 戊烯基) - 三环[2. 2. 1. 0(2, 6)]庚烷	99	0. 28
	28. 175	石竹烯氧化物	94	5. 04
	38. 752	白菖油烯氧化物	90	0. 01
	72. 423	<i>O</i> - 百里香素	90	0. 02
	总计			14. 44

发性物质,其中烯烃类物质 15 种,醇类物质 15 种,醛类物质 3 种,酯类物质 9 种,有机酸 1 种,其他物质 9 种。

检出的物质以醇类物质、酯类物质为主,相对含量高达 35. 92%、26. 43%,醇类化合物中检出含量最高的是芳樟醇,为 19. 86%,它作为薰衣草最主要的化学成分,在薰衣草的气味中起着至关重要的作用,具有浓青带甜的木青气息,且具有明显的镇静作用,从而用来减轻术前压力和焦虑症,此外,检

出的反式 - 香叶基香叶醇虽然含量很低,仅占挥发性物质的 0. 02%,但它具有广泛的生理活性,如杀菌、抗病毒、抗肿瘤等,对于多种疾病有治疗作用,如溃疡、神经衰弱、皮肤老化、血栓、动脉硬化和免疫缺失等。酯类化合物中检出含量最高的是乙酸芳樟酯,为 13. 64%,它具有令人愉快的花香和果香,香气似香柠檬和薰衣草,透发而不持久。芳樟醇和乙酸芳樟酯决定了薰衣草的香气,也是薰衣草挥发发挥解挛镇痛、抗菌、抗抑郁、消炎等功能的

主要成分之一,芳樟醇和乙酸芳樟醇含量越高,精油的品质越好^[16]。

检出的烯烃类化合物含量约占整个挥发性物质的 16.9%,其中含量最高的是 β -罗勒烯,为 5.53%,具有草香、花香并伴有橙花油气息; (E) - β -金合欢烯的含量也很高,占整个挥发性物质的 5.41%,具有花香、青香和香脂香气。

检出的醛类化合物含量约占整个挥发性物质的 0.37%,含量最高的是橙花醛,为 0.24%,具有浓郁的柠檬香气。

检出的其他化合物含量约占整个挥发性物质的 14.44%,很多具有一定的药理作用,其中石竹烯氧化物含量最高,为 5.04%,具有镇痛和抗炎的作用;龙脑含量为 2.38%,可用于闭证神昏、目赤肿痛、喉痹口疮、疮疡肿痛、溃后不敛等症。

2.4 方法重复性

为了考察本方法的精密度,对薰衣草样品进行了 7 次日内重复测定,同时进行了 7 d 的重复性试验,选取 β -罗勒烯、乙酸芳樟酯、松油醇、乙酸香叶酯、石竹烯氧化物、 β -月桂烯、芳樟醇作为标记物,考察重复性,从表 2 可以看出,日内测定的相对标准偏差为 2.2%~3.7%之间,日间测定的相对标准偏差在 2.9%~3.5%之间,测定结果具有很好的重现性,表明本方法的日内和日间精密度较好。

表 2 带固相萃取功能的索氏提取装置方法重复性试验结果

物质	日内相对标准偏差 (%)	日间相对标准偏差 (%)
β -罗勒烯	2.2	2.9
乙酸芳樟酯	2.7	3.5
松油醇	3.7	3.3
乙酸香叶酯	2.5	3.5
石竹烯氧化物	2.6	3.2
β -月桂烯	3.2	2.9
芳樟醇	2.8	3.4

注: $n=7$ 。

3 结论

针对目前索氏提取前处理操作复杂、萃取过程中大量杂质会随挥发性成分一起溶出影响检测等问题,本研究设计开发了 1 种新型的集提取、净化、浓缩及转移功能为一体的索氏提取装置,中途不用转移样品,密闭环境进行加热萃取,提高了分析效率。

本研究利用自主设计的带固相萃取功能的索氏提取装置提取薰衣草中的挥发性成分,采用 GC/MS 联用技术分析鉴定出 52 种挥发性组分,且考察了方法的重复性,取得了满意的结果。

参考文献:

- [1] Afoulous S, Ferhout H, Raoelison E G, et al. Chemical composition and anticancer, anti-inflammatory, antioxidant and antimalarial activities of leaves essential oil of *Cedrelopsis grevei* [J]. Food and Chemical Toxicology, 2013, 56(2): 352-362.
- [2] 徐攀, 王克柱, 卢聪, 等. 薰衣草对神经系统药理作用的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2015, 30(10): 1298-1302.
- [3] 肖正春, 张卫明, 张广伦. 薰衣草的开发利用与人类健康[J]. 中国野生植物资源, 2015, 34(2): 63-66, 77.
- [4] 胡坤. 薰衣草精油化学成分及抗菌活性研究[J]. 黑河学院学报, 2018, 9(1): 215-216.
- [5] Hawken P R, Fiol C, Blache D. Genetic differences in temperament determine whether lavender oil alleviates or exacerbates anxiety in sheep[J]. Physiology & Behavior, 2012, 105(5): 1117-1123.
- [6] 朱丽云, 高永生, 宋林珍, 等. 法国蓝薰衣草挥发油改善记忆障碍的药效评价研究[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(24): 4819-4826.
- [7] Lin P W, Chan W C, Ng B F, et al. Efficacy of aromatherapy (*Lavandula angustifolia*) as an intervention for agitated behaviours in Chinese older persons with dementia: a cross-over randomized trial[J]. International Journal of Geriatric Psychiatry, 2007, 22(5): 405-410.
- [8] 裴亚萍. 不同季节薰衣草花精油挥发性香气成分的 GC-MS 分析及在花草茶饮料中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2018(3): 142-147.
- [9] 符继红, 高晶, 唐军. 气相色谱-质谱法测定不同品种薰衣草精油中芳樟醇和乙酸芳樟酯的含量[J]. 中国调味品, 2016, 41(10): 97-100.
- [10] 高奕红, 张知侠. 薰衣草花瓣、川穹精油的提取及成分分析[J]. 化学工程师, 2019(8): 20-23.
- [11] 蔡永智, 王力, 任群英, 等. 伊犁不同品种薰衣草精油主要成分比较[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(15): 188-190.
- [12] 刘贵有, 杨新周. 狭叶薰衣草精油成分研究[J]. 云南化工, 2019, 46(7): 11-13.
- [13] 唐石云, 申钦鹏, 刘春波, 等. 用超临界流体萃取-气相色谱-质谱法分析薰衣草中挥发性化学成分[J]. 江西农业学报, 2018, 30(3): 106-111.
- [14] Jerković I, Molnar M, Vidović S, et al. Supercritical CO₂ extraction of *Lavandula angustifolia* Mill. flowers: optimisation of oxygenated monoterpenes, coumarin and herniarin content[J]. Phytochemical Analysis, 2017, 28(6): 558-566.
- [15] 王仲, 高宇, 高洪福, 等. 不同产地薰衣草花中精油化学成分分析[J]. 北方园艺, 2017(6): 140-143.
- [16] Fisher K, Phillips C. Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? [J]. Trends in Food Science & Technology, 2008, 19(3): 156-164.