

野菊挥发油的固相微萃取处理条件优化

于海平¹, 杨显辉^{2,3}, 康文艺^{2*}

(1. 中国医药科技出版社, 北京 100082; 2. 河南大学中药研究所, 河南 开封 475004;
3. 郑州铁路职业技术学院, 郑州 450052)

[摘要] 目的: 对野菊挥发油的固相微萃取 (SPME) 处理条件进行优化。方法: 以野菊挥发油为测定物, 研究了萃取温度和 PDMS-DVB, PA, PDMS 3 种萃取头对野菊挥发油中主要的化学成分的 SPME 效果的影响。结果: 在野菊花挥发油的 SPME 处理中, 70 ℃ 是最佳的工作温度, 65 μm PDMS-DVB 萃取头为最合适的萃取头。结论: 实际工作中应该在选择好最佳工作温度的同时, 根据目标化合物的种类来选择合适的萃取头, 提高萃取效率。

[关键词] 野菊; 挥发油; 固相微萃取; 条件优化

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0052-06

[doi] 10.11653/syfyj2013150052

Optimization of Solidphase Microextraction in Analysis of Essential Oil from *Dendranthema indicum*

YU Hai-ping¹, YANG Xian-hui^{2,3}, KANG Wen-yi^{2*}

(1. Medical Science Publishing House, Beijing 100082, China;

2. Institute of Chinese Materia Medica, Henan University, Kaifeng 475004, China;

3. Zhengzhou Railway Vocation & Technical College, Zhengzhou 450052, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the optimized conditions in essential oil of *Dendranthema indicum*. **Method:** The fibers of SPME and extract temperature, including polydimethylsiloxane-divinylbenzene (PDMS-DVB), polyacrylate (PA) and polydimethylsiloxane (PDMS) fibers, were chosen and the conditions were optimized. **Result:** The best response was obtained using a 65 μm PDMS-DVB fibern at 70 ℃. **Conclusion:** The suitable fiber should be chosen according to the target compounds under the best temperature. This method could improve the extract efficiency.

[Key words] *Dendranthema indicum* L.; essential oil; SPME; optimization

野菊是菊科菊属植物,产于河南省各山区,我国除新疆外均有分布。全草入药,治流行性感、脑脊髓膜炎、高血压病、肝炎、痢疾、毒蛇咬伤等^[1]。对野菊挥发油传统的研究方法是水蒸气蒸馏法^[2-9],也有学者利用较新 SPME 提取技术进行研究^[10]。

SPME 技术是目前挥发油的检测的一种新型方法,本实验以野菊为研究对象,对其挥发油的 SPME 样品处理条件进行了优化,为以后开展菊花挥发油的研究提供依据。

1 材料

野菊于 2008 年 10 月采集于河南省平顶山市,标本存放于河南大学天然药物研究所。

PDMS-DVB, PA, PDMS 萃取头,美国安捷伦公司 GC 6890 N GC/5975 MS 气相色谱-质谱联用仪。

2 方法

2.1 挥发油提取 将 SPME 的 65 μm PDMS-DVB 萃取纤维头在气相色谱的进样口老化 10 min,老化

[收稿日期] 20121227(011)

[第一作者] 于海平,编辑,从事中医药理论研究, E-mail: yuhaiping0000@126.com

[通讯作者] * 康文艺,教授,从事中药活性成分及新药研究, Tel:0378-3880680, E-mail: kangweny@ hotmail.com

温度 250 ℃,载气体积流量 1.0 mL·min⁻¹。取阴干野菊 0.7 g,置于 5 mL 的样品瓶中,盖上盖子,插入萃取纤维头,于 30 ℃下顶空取样 30 min 后,立即取出,在气相色谱仪进样口(250 ℃),脱附 1 min。然后用 65 μm PDMS-DVB 萃取纤维头分别在 50,70,80 ℃下顶空取样,在同样条件下进行 GC-MS 分析。再分别采用 65 μm PDMS-DVB,85 μm PA,100 μm PDMS 萃取头都在 70 ℃下顶空取样,在同一条件下进行 GC-MS 分析。

2.2 GC-MS 分析条件

2.2.1 气相色谱 HP-5 MS 石英弹性毛细管柱(0.25 μm × 250 μm × 30.0 m),载气为高纯氦气(99.999%),流速 1.0 mL·min⁻¹,进样口温度 250 ℃,色谱柱初始温度 50 ℃(保持 1.0 min),以 3 ℃·min⁻¹升温至 120 ℃(保持 2 min),最后以 4 ℃·min⁻¹升温至 210 ℃(保持 10 min)。分流进样,分流比为 10:1。

2.2.2 质谱条件 电离方式 EI 源,电离能量 70 eV,离子源温度 250 ℃,四极杆温度 150 ℃,传输线温度 280 ℃,四级杆温度 150 ℃,电子倍增器电压 1 765 V。质量扫描范围 m/z 30 ~ 440,采用 RTLPEST3. L 和 NIST05. L 进行检索。

2.2.3 保留指数测定 Kovats 保留指数可提高鉴

定结果的准确性。在挥发性复杂组分鉴定中,该方法得到认可并大量使用^[11-13]。

3 结果与讨论

按上述实验条件,采用计算机检索和人工解析各峰相应的质谱图,65 μm PDMS-DVB 萃取头在 30,50,70,80 ℃ 4 个不同温度下的定性结果和相对含量见表 1。在 70 ℃下 65 μm PDMS-DVB,85 μm PA,100 μm PDMS 3 种不同的萃取头的定性结果和相对含量见表 2。表 1 显示,30,50,70,80 ℃ 4 个不同温度下,从野菊花中分别鉴定出 40,38,42,38 个化合物,分别占总含量的 92.91%,90%,93.67%,75.04%;19 个化合物为共有成分,其中主要成分为 1*R*- α -蒎烯、蒎烯、桉叶油素、(+)-樟脑、桃金娘烯醇、薄荷酮和藏花醛,分别占总含量的 64.83%,63.6%,65.08%,58.98%。采用 65 μm PDMS-DVB,85 μm PA,100 μm PDMS 萃取头都在 70 ℃下顶空取样,从野菊花中分别鉴定出 42,38,52 个化合物,分别占总含量的 93.67%,86.38%,91.39%,其中 22 个化合物为共有成分,主要成分为 1*R*- α -蒎烯、蒎烯、桉叶油素、(+)-樟脑、桃金娘烯醇、薄荷酮和藏花醛,分别占总含量的 65.08%,67.97%,54.32%。在不同的实验条件下,各种组分的百分含量有所不同。

表 1 65 μm PDMS-DVB 萃取头在不同温度下的含量

化合物	30 ℃含量	50 ℃含量	70 ℃含量	80 ℃含量	KI 值
2-methyl-1-butanol 2-甲基-1-丁醇	0.23	-	-	-	640.97
1-octene1-辛烯		0.21	0.14	0.15	668.85
tricyclene 三环烯	-	-	-	0.29	917.32
3-thujene 3-侧柏烯	0.26	0.3	0.35	0.21	921.59
1 <i>R</i> - α -pinene 1 <i>R</i> - α -蒎烯	6.04	5.71	7.39	4.36	927.64
camphene 蒎烯	3.22	6.51	6.21	6.97	941.94
β -phellandrene β -水芹烯	2.87	2.14	1.21	1.58	965.65
β -pinene β -蒎烯	1.25	1.08	1.17	0.9	948.32
1-octen-3-ol 1-辛烯-3-醇	-	0.2	-	-	978.74
myrcene 月桂烯	-	3.99	2.52	2.63	986.65
3-octanol 3-辛醇	0.24	-	-	-	969.33
α -phellandrene α -水芹烯	-	-	1.91	-	1 001.78
terpinolene 异松油烯	0.47	0.29	0.32	0.37	1 011.33
2-isopropyltoluene 2-邻甲基异丙基苯	2.04	1.85	1.36	-	1 019.07
eucalyptol 桉叶油素	21.18	16.53	16.78	10.35	1 019.07
(<i>E</i>)-ocimene (<i>E</i>)-罗勒烯	0.2	0.54	0.22	-	1 027.29
<i>g</i> -terpinene <i>g</i> -松油烯	1.11	0.48	0.33	-	1 031.73
cis-4-thujanol 顺式-4-侧柏醇	2.63	1.39	1.44	-	1 063.86

续表 1

化合物	30 ℃ 含量	50 ℃ 含量	70 ℃ 含量	80 ℃ 含量	KI 值
terpinolene 萜品油烯	-	-	0.16	-	1 076.06
cis- β -terpineol 顺式- β -萜品醇	-	-	0.73	-	1 096.89
isocyclocitral 异环柠檬醛	1.27	0.45	-	-	1 107.10
1,2,5,5-tetramethyl-1,3-cyclopentadiene 1,2,5,5-四甲基-1,3-环戊二烯	3.82	3.93	-	-	1 115.23
1,6-dimethylhepta-1,3,5-triene 1,6-二甲基-1,3,5-庚三烯	-	-	5.19	5.83	1 116.05
2,2,4-trimethyl-3-cyclohexene-1-carbaldehyde 2,2,4-三甲基-3-环己烯-1-醛	0.34	-	-	0.47	1 131.05
(+)-camphor (+)-樟脑	18.46	20.62	23.51	25.26	1 142.10
trans-pinocamphone 反式-松莪酮	0.17	-	-	-	1 152.53
α -pinocarvone α -松香芹酮	-	0.35	0.47	0.19	
borneol 龙脑	1.39	1.94	1.07	1.7	1 166.50
cis-pinocamphone 顺式-松莪酮	0.71	0.26	0.2	0.23	1 168.58
4-carvomenthenol 松油醇	0.47	0.21	0.27	0.18	1 175.03
myrtenal 桃金娘烯醛	0.23	0.32	0.17	-	1 188.80
myrtenol 桃金娘烯醇	6.43	4.13	2.52	0.99	1 195.25
verbenone 马鞭草烯酮	0.78	-	0.25	0.16	1 203.18
cis-piperitol 辣薄荷醇	0.36	0.36	0.21	0.28	1 207.07
piperitone 薄荷酮	5.24	5.67	4.22	4.82	1 248.99
p-isopropyltoluene 对异丙基甲苯	0.2	-	-	-	1 265.32
bornyl acetate 乙酸冰片酯	0.45	0.43	1.35	0.39	1 276.26
γ -limonene γ -柠檬烯	0.29	-	-	-	1 304.78
(-)-myrtenyl acetate (-)-乙酸桃金娘烯醇酯	0.84	0.22	-	-	1 314.34
a-terpinyl propionate 丙酸松油酯	-	-	-	0.14	1 338.04
4-carene 4-萜烯	1.25	-	0.37	-	1 338.64
2,3,6-trimethyl-anisole 2,3,6-三甲基-茴香醚	0.24	0.42	0.51	0.43	1 343.23
copaene 古巴烯	0.15	0.16	-	-	1 360.76
b-elemene b-榄香烯	-	0.22	-	-	1 377.08
a-gurjunene a-古芸烯	0.46	0.49	0.43	0.56	1 383.66
safranal 藏花醛	4.26	4.43	4.45	6.23	1 391.64
caryophyllene 石竹烯	0.5	0.56	0.47	0.5	1 401.36
β -sesquiphellandrene 倍半水芹烯	0.17	0.34	0.53	0.43	1 440.74
cis-b-farnesene 顺式-b-法呢烯	-	2.39	2.4	1.88	
(E)- β -farnesene (E)- β -金合欢烯	1.79	-	-	-	1 445.04
curcumene 姜黄烯	0.48	0.44	0.44	-	1 467.45
(-)-a-selinene (-)-a-桉叶烯	-	-	-	0.55	1 467.63
2-methyl-butyricacid, isobornyl ester 2-甲基丁酸异冰片酯	-	-	-	0.4	1 492.21
bornyl isovalerate 异戊酸龙脑酯	-	-	1.16	0.18	1 492.61
α -farnesene α -金合欢烯	0.42	-	0.39	0.44	1 498.25
caryophyllene oxide 石竹烯氧化物	-	0.32	0.2	0.22	1 553.34
guaia-3,9-diene 愈创木酚磺酸钾-3,9-二烯	-	-	0.23	0.29	1 639.27
g-gurjunene g-古芸烯	-	-	0.3	0.29	1 643.52
bisabolol oxide A 红没药醇氧化物 A	-	-	-	0.49	1 729.83
heneicosane 二十一烷	-	0.12	0.12	0.22	2 096.53
total/%	92.91	90	93.67	75.04	

表2 在70℃下3种不同的萃取头的相对含量

化合物	含量			KI
	65 μm PDMS-DVB	85 μm PA	100 μm PDMS	
acetic acid 乙酸	-	0.11	0.07	609.09
1-octene1-辛烯	0.14	-	0.28	668.85
2-ethyl-1,1-dimethyl-cyclopentane 2-乙基-1,1-二甲基环戊烷	-	-	0.18	736.34
tricyclene 三环烯	-	-	0.39	917.32
3-thujene 3-侧柏烯	0.35	-	0.60	921.59
1 <i>R</i> - α -pinene 1 <i>R</i> - α -蒎烯	7.39	2.27	8.62	927.64
camphene 莜烯	6.21	3.60	8.53	941.94
benzaldehyde 苯甲醛	-	0.19	-	956.54
β -phellandrene β -水芹烯	1.21	-	1.36	965.65
4-thujene 4-侧柏烯	-	0.45	-	965.75
β -pinene β -蒎烯	1.17	0.75	1.30	948.32
myrcene 月桂烯	2.52	3.03	2.97	986.65
α -phellandrene α -水芹烯	1.91	0.66	2.97	1 001.78
terpinolene 异松油烯	0.32	0.37	0.49	1 011.33
2-isopropyltoluene 2-邻甲基异丙基苯	1.36	0.39	1.94	1 019.07
eucalyptol 桉叶油素	16.78	13.37	14.34	1 019.07
(<i>E</i>)-ocimene (<i>E</i>)-罗勒烯	0.22	-	-	1 027.29
(<i>Z</i>)- β -ocimene (<i>Z</i>)- β -罗勒烯	-	-	0.19	1 041.91
<i>g</i> -terpinene <i>g</i> -松油烯	0.33	0.65	0.76	1 031.73
<i>cis</i> -4-thujanol 顺式-4-侧柏醇	1.44	3.39	0.79	1 063.86
terpinolene 萜品油烯	0.16	-	0.19	1076.06
<i>cis</i> - β -terpineol 顺式- β -萜品醇	0.73	-	-	1 096.89
1,2,5,5-tetramethyl-1,3-cyclopentadiene 1,2,5,5-四甲基-1,3-环戊二烯	-	0.91	-	1 115.23
1,6-dimethylhepta-1,3,5-triene 1,6-二甲基-1,3,5-庚三烯	5.19	-	3.43	1 116.05
phenylethyl alcohol 苯乙醇	-	0.13	-	1 118.97
2,2,4-trimethyl-3-cyclohexene-1-carbaldehyde 2,2,4-三甲基-3-环己烯-醛	-	-	3.43	1 131.05
(+)-camphor (+)-樟脑	23.51	33.70	16.66	1 142.10
<i>trans</i> -pinocamphone 反式-松莪酮	-	-	0.15	1 152.53
α -pinocarvone α -松香芹酮	0.47	0.63	0.28	1 154.40
borneol 龙脑	1.07	-	1.11	1 166.50
<i>cis</i> -pinocamphone 顺式-松莪酮	0.2	-	0.15	1 168.58
4-carvomenthenol 松油醇	0.27	0.46	0.21	1 175.03
myrtenal 桃金娘烯醛	0.17	0.62	0.30	1 188.80
myrtenol 桃金娘烯醇	2.52	10.11	3.48	1 195.25
verbenone 马鞭草烯酮	0.25	-	0.27	1 202.45
<i>cis</i> -piperitol 辣薄荷醇	0.21	0.35	0.11	1 207.07
<i>cis</i> -carveol 顺式-香芹醇	-	0.12	-	1 218.77
<i>trans</i> -carveol 反式-香芹醇	-	0.09	-	1 231.75
<i>o</i> - <i>tert</i> -butyl phenol 邻叔丁基苯酚	-	-	0.32	1 236.38

续表 2

化合物	含量			KI
	65 μm PDMS-DVB	85 μm PA	100 μm PDMS	
piperitone 薄荷酮	4.22	2.75	2.51	1 248.99
<i>p</i> -isopropyltoluene 对异丙基甲苯	-	-	-	1 265.32
bornyl acetate 乙酸冰片酯	1.35	0.28	0.61	1 276.26
4-carene 4-萜烯	0.37	-	-	1 338.64
isocyanic acid 异氰酸酯	-	0.10	-	1 341.83
2,3,6-trimethyl-anisole 2,3,6-三甲基-茴香醚	0.51	0.35	-	1 343.23
chrysanthenone 菊油环酮	-	-	0.35	1 344.02
copaene 古巴烯	-	-	-	1 360.76
α -cubebene α -葎澄茄油烯	-	-	0.18	1 361.15
α -gurjunene α -古芸烯	0.43	-	-	1 383.66
cyperene 香附烯	-	-	0.89	1 384.46
safranal 藏花醛	4.45	2.17	0.18	1 391.64
2-ethylidene-6-methyl-3,5-heptadienal 2-亚乙基-6-3,5-七二烯醛	-	2.08	5.50	1 395.21
caryophyllene 石竹烯	0.47	0.24	0.73	1 401.36
<i>Z,Z,Z</i> -1,5,9,9-tetramethyl-1,4,7,-cycloundecatriene	-	-	0.08	1 435.67
<i>Z,Z,Z</i> -1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一三烯				
β -sesquiphellandrene 倍半水芹烯	0.53	0.09	0.61	1 440.74
<i>cis</i> - β -farnesene 顺式- β -法呢烯	2.4	-	-	1 445.42
<i>cis</i> - β -farnesene 顺式- β -法呢烯	-	-	2.12	1 446.98
(<i>E</i>)- β -farnesene (<i>E</i>)- β -金合欢烯	-	0.62		1 445.04
germacrene D 右旋大根香叶烯	-	-	0.12	1 461.41
curcumene 姜黄烯	0.44	0.15		1 467.45
(+)- β -selinene (+)- β -桉叶烯	-	-	0.39	1 468.42
(-)- α -selinene (-)- α -桉叶烯	-	-	0.17	1 476.03
bornyl isovalerate 异戊酸龙脑酯	1.16	-	0.26	1 492.61
α -farnesene α -金合欢烯	0.39	0.21	-	1 498.25
β -sesquiphellandrene 倍半水芹烯	-	-	0.13	1 512.31
caryophyllene oxide 石竹烯氧化物	0.2	0.25	0.22	1 553.34
guaia-3,9-diene 愈创木酚磺酸钾-3,9-二烯	0.23	-	-	1 639.27
<i>g</i> -gurjunene <i>g</i> -古芸烯	0.3	-	0.12	1 643.52
(-)- <i>g</i> -cadinene (-)- <i>g</i> -杜松烯	-	-	0.11	1 673.03
<i>n</i> -hexadecanoic acid <i>n</i> -十六烷酸	-	0.22	-	1 966.35
heneicosane 二十一烷	0.12	0.25	0.21	2 096.53
musk ambrette 藜子麝香	-	0.26	0.15	2 104.48
total/%	93.67	86.38	91.39	

3.1 萃取温度对萃取效率的影响 萃取温度对 SPME 法的影响具有双重效应,升高温度时,液体分子热运动加快,有利于分析物在基质中的扩散,缩短平衡时间、加快分析速度,尤其对于顶空固相微萃取;但升高温度使分析物在涂层与基质中的分配系

数降低,涂层对分析物的吸附量减小,影响 SPME 法的灵敏度^[14]。本实验采用 65 μm PDMS-DVB 萃取头在 30,50,70,80 $^{\circ}\text{C}$ 下所到的野菊挥发油经 GC-MS 分析后的得到的化合物占总峰面积的比例以 70 $^{\circ}\text{C}$ 时为最大,且鉴别出的化合物数量做多,说明在 70

℃时,萃取效率最高。

3.2 不同型号的萃取头对萃取效率的影响 萃取头涂层的种类和厚度对灵敏度有很大影响,不同的萃取头适用于分析不同种类的化合物^[14]。65 μm PDMS-DVB 萃取头得到的桉叶油素占总量的16.78%,相同条件下85 μm PA 萃取头得到的桉叶油素为13.37%,100 μm PDMS 萃取头为14.34%。薄荷酮、乙酸冰片酯和藏花醛3种化合物也是以65 μm PDMS-DVB 萃取头得到的最多,这说明65 μm PDMS-DVB 萃取头比其他2种萃取头更适合分析这4种类型化合物。85 μm PA 萃取头比其他2种萃取头更适合分析顺式-4-侧柏醇、(+)-樟脑、α-松香芹酮、松油醇、桃金娘烯醛和桃金娘烯醇,而100 μm PDMS 则适合萃取1*R*-α-蒎烯、蒎烯、α-水芹和烯石竹烯等化合物。但是以萃取所得化合物的种类、占总峰面积的比例以及主要化合物的含量综合分析,65 μm PDMS-DVB 萃取头的萃取效率最高。

本实验证明,在野菊挥发油的SPME处理中,70℃是最佳的工作温度,65 μm PDMS-DVB 萃取头为最合适的萃取头。萃取温度和萃取头的种类对萃取所得到的化合物的种类和数量有很大影响,所以在实际工作中应该在选择好最佳工作温度的同时,根据目标化合物的种类来选择合适的萃取头,提高萃取效率。

[参考文献]

- [1] 丁宝章,王遂义. 河南植物志.第3册[M]. 郑州:河南省科学技术出版社,1997:634.
- [2] 张永明,黄亚非,陶玲,等. 不同产地野菊花挥发油化学成分比较研究[J]. 中国中药杂志,2002,27(4):265.
- [3] 张永明,黄亚非. 广西野菊花挥发油化学成分研究

[J]. 中草药,2002,33(8):687.

- [4] 回瑞华,侯冬岩,李铁纯,等. 黄山野菊花挥发性化学成分中提取及分析[J]. 食品科学,2004,25(6):162.
- [5] 陈晓辉,谭晓杰,田中克佳,等. 野菊花挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用分析[J]. 色谱,2005,23(2):213.
- [6] 任爱农,鞠建明. 江苏产野菊花、菊花脑挥发油成分分析[J]. 中药材,1999,22(10):511.
- [7] 胡浩斌,郑旭东. 子午岭野菊花挥发油的化学成分及抑菌活性[J]. 新疆大学学报:自然科学版,2005,22(3):295.
- [8] 王丽丽,陈小梅,刘文涵,等. 野菊菊米和野菊花挥发油化学成分的比较研究[J]. 浙江工业大学学报,2006,34(4):389,424.
- [9] 黄亚非,张永明,陶玲,等. 广东野菊花挥发油的化学成分[J]. 分析测试学报,2001,20(6):40.
- [10] 周明瑞,田建坤,周海梅. 固相微萃取-气相色谱-质谱分析不同产地野菊花的挥发性成分[J]. 云南中医中药杂志,2006,27(5):46.
- [11] 张伟,卢引,李昌勤,等. HS-SPME-GC-MS 分析金钩南瓜雄花挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(15):127.
- [12] KANG W Y, WANG J M, TIAN P Y. Analysis of volatiles in the flowers of *Patrinia scabiosifolia* by HS-SPME-G-MS [J]. Chem Nat Compd, 2011, 47(1):101.
- [13] 田璞玉,顾雪竹,王金梅,等. HS-SPME-GC-MS 分析茸毛木兰地上部分和根挥发性成分 [J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):86.
- [14] 傅彦斌. 固相微萃取分析条件的优化[J]. 干旱环境检测,2006,20(1):5.

[责任编辑 顾雪竹]