

顶空液相微萃取法与水蒸气蒸馏法提取金盏花挥发性成分的比较研究*

黄妙玲¹, 杨得坡¹, 梁 祈², 梅家齐³, 王冬梅¹

(1. 中山大学药学院生药学与天然药物化学实验室, 广东 广州 510006;

2. 南方医科大学南方医院药学部, 广东 广州 510515;

3. 珠海安和生化科技有限公司芳香技术研发中心, 广东 珠海 519040)

摘 要: 采用顶空液相微萃取法(HS-LPME)与水蒸气蒸馏法(SD)分别提取金盏花中的挥发性成分, 经GC-MS分析, 通过质谱图计算机辅助谱库检索和人工解析相结合, 并参考相关文献进行化合物的定性分析, 以峰面积归一化法计算各组分的相对含量。HS-LPME法所得挥发油提取物中鉴定出15种化合物, 在SD法提取的挥发油中共鉴定出31种化合物, 两者共有成分为14个, 其中主要成分均为 α -杜松醇, τ -依兰油醇, δ -杜松烯, α -依兰油烯, τ -杜松烯等, 且相对含量无显著差异, 5个化合物的总含量分别占总挥发油的93.43%(HS-LPME法)和87.18%(SD法)。

关键词: 金盏花; 挥发油; 水蒸气蒸馏法; 顶空液相微萃取法; GC-MS

中图分类号: O656.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-6579(2010)01-0145-04

Study on Volatile Oils from *Calendula officinalis* Prepared by Headspace Liquid Phase Micro-extraction and Steam Distillation

HUANG Miaoling¹, YANG Depo¹, LIANG Qi², MEI Jiaqi³, WANG Dongmei¹

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China;

2. Department of Pharmacy, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

3. Onward Bio-Tech Ltd, Aromatic Technology R&D Center, Zhuhai 519040, China)

Abstract: The volatile oils were prepared from *Calendula officinalis* by headspace liquid phase micro-extraction (HS-LPME) and steam distillation (SD). Their constituents were analyzed and identified by gas chromatography-mass spectrometry combined with computer retrieval, and were quantified by calculating the relative contents basing on the peak areas normalization method. The results showed that fifteen components were identified for the volatile oil extracted by HS-LPME, and thirty-one components were identified for that extracted by SD. However, the main components obtained from both methods were found to be quite similar. Among the fourteen mutual components, α -cadinol, τ -Muurolol, τ -cadinene, δ -cadinene, α -muurolene were the main components, occupied 93.43% and 87.18% of the total volatile oils prepared by HS-LPME and SD, respectively. It was also observed that there were no significant differences in the relative contents of these five components between the two methods.

Key words: *Calendula officinalis* (Pot Marigold); volatile oil; steam distillation; headspace liquid phase micro-extraction; GC-MS

金盏花 (*Calendula officinalis* L.) 为菊科金盏花属植物, 别名山金菊、水涨菊、金盏菊, 原产于

* 收稿日期: 2009-06-03

基金项目: 广东省教育部产学研结合资助项目(2006D90504016)

作者简介: 黄妙玲(1984年生), 女, 硕士研究生; 通讯作者: 王冬梅; E-mail: sswdm@mail.sysu.edu.cn

欧洲南部及地中海沿岸, 现在我国四川、贵州、广东、广西等省均有栽培。金盏花的应用有着悠久的历史, 在欧洲早在中世纪就已被用于治疗静脉曲张、褥疮和皮肤病等^[1]。在我国“本草拾遗”记为性平, 味苦, 功用主治清热解毒、活血调经、行气止痛……。金盏花油芳香优雅怡人, 在芳香疗法中有着广泛的应用, 已凸现出了其对皮肤护理、皮肤疾患治疗、净化心灵和情绪调节上的“整体医护”效果。此外, 金盏花油还是一种极好的化妆品功能性底物, 能调理敏感性肤质, 具有舒缓、抗菌、消炎、抗自由基等功效, 但关于其挥发油成分的研究报道甚少。本研究建立了顶空液相微萃取 (Headspace Liquid Phase Micro-extraction, HS-LPME) 快速测定金盏花中挥发油化学成分的方法, 该技术是 1996 年 Jeannot 等^[2]首先提出的一种建立在悬挂于微量进样器针端有机溶剂微滴基础之上的新型试样前处理技术, 最初应用在环境样品中痕量污染物的分析^[3]。如今, 国外已有一部分应用于植物挥发性成分分析的报道, 采用该法对茵陈蒿、狭叶薰衣草、夜来香鲜花等植物^[4-7]进行样品前处理, 并用 GC-MS 对其挥发性成分进行分析, 取得了比较好的结果, 截止到目前国内关于采用 HS-LPME 提取挥发性成分的报道还很少。常规提取挥发油的方法是水蒸气蒸馏法 (Steam Distillation, SD), 但由于该法提取时间长, 样品消耗量大, 不适合对样品的快速分析鉴定。本研究尝试采用 HS-LPME 法和 SD 法对金盏花挥发性成分进行提取, 通过 GC-MS 分析两者提取所得的化学成分, 并对其结果进行了比较研究。

1 实验部分

1.1 材料与试剂、仪器

金盏花, 采自珠海安和生化科技有限公司植物园, 经中山大学药学院杨得坡教授鉴定为菊科金盏花属植物金盏花 (*Calendula officinalis* L.); 正十七烷 (色谱纯, ACROS 公司)。

TRACE DSQ GC-MS 联用仪 (美国 Thermo Finnigan)。

1.2 实验方法

1.2.1 顶空液相微萃取法提取金盏花挥发性成分 取金盏花 10 g、蒸馏水 120 mL, 置于 250 mL 三颈瓶中, 加热至沸腾。用微量注射器吸取正十七烷 1 μL 后将针尖置于样品上方, 待回流 5 min 后将注射器中溶剂推出, 以液滴形式悬挂于针尖, 4 min 后液滴萃取结束, 抽回针尖液滴, 进入 GC-MS 分析。

1.2.2 水蒸气蒸馏法提取金盏花挥发性成分 取金盏花 250 g, 置于 2 L 圆底烧瓶中, 加入 6 倍量蒸馏水, 烧瓶上安装挥发油提取器, 在提取器内加满蒸馏水后, 再加入 1 mL 正己烷, 连接冷凝管。加热烧瓶, 蒸馏提取约 5 h 后, 分取正己烷层, 经无水 Na_2SO_4 干燥, 即得到金盏花挥发油提取物。吸取 1 μL 进行 GC-MS 分析。

1.2.3 GC-MS 分析条件 GC 条件: DB-5MS 石英毛细管柱 (30 m \times 0.25 mm i. d., 0.25 μm); 柱温 60 $^\circ\text{C}$, 恒温 2 min, 以 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^\circ\text{C}$, 载气 He, 分流比 30:1, 流速 1 mL/min, 进样量 1 μL 。

MS 条件: EI 离子源, 离子源温度 250 $^\circ\text{C}$, GC-MS 连接口温度 250 $^\circ\text{C}$, 质荷比扫描范围 m/z : 30 ~ 500。

2 实验结果与讨论

2.1 金盏花挥发油的成分分析结果

按上述 GC-MS 条件, 对两种不同方法提取得到的金盏花挥发油进行分析, 其总离子流色谱图见图 1。通过对各色谱峰相应的质谱数据进行 NIST 谱库检索、人工解析以及参照相关文献^[8-10], 对各色谱峰进行定性分析, 同时采用峰面积归一化法计算出金盏花挥发油中各化学成分的相对百分含量, 结果见表 1。

2.2 HS-LPME 和 SD 两种方法的比较

本研究采用气相色谱-质谱联用技术分别对两种不同方法提取得到的金盏花挥发性成分进行了分析, 由表 1 可见, HS-LPME 法提取得到的金盏花挥发油中主要成分为 α -杜松醇 (46.18%)、 τ -依兰油醇 (22.23%)、 δ -杜松烯 (17.17%)、 α -依兰油烯 (4.52%)、 τ -杜松烯 (3.33%), 占挥发油总量的 93.43%, 采用 SD 法得到的挥发油的主要成分为 α -杜松醇 (37.35%)、 τ -依兰油醇 (20.22%)、 δ -杜松烯 (20.62%)、 α -依兰油烯 (5.25%) τ -杜松烯 (3.74%), 占挥发油总量的 87.18%。两种方法提取得到的金盏花挥发油中主要化学成分有 14 个相同, 且其相对含量也基本一致。

在 HS-LPME 法提取金盏花挥发油化学成分的过程中, 影响提取效率的主要因素有: 萃取溶剂种类、萃取时间、温度和萃取溶剂体积等。本实验对其主要因素进行考察, 最后得出较佳萃取条件: 溶剂为正十七烷, 萃取时间为 4 min, 温度为 100 $^\circ\text{C}$, 萃取溶剂体积为 1 μL 。

表 1 顶空液相微萃取法 (HS-LPME) 与水蒸气蒸馏法 (SD) 提取金盏花挥发性成分分析结果

Table 1 Constituents of essential oil from *Calendula officinalis* obtained by HS-LPME and SD

序号	t/min	化合物	分子式	M _r	相对含量/%	
					HS-LPME	SD
1	4.26	α-侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.67
2	4.39	α-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.44
3	5.16	香桉烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.07
4	5.50	水芹醛	C ₁₀ H ₁₆ O	152	-	0.21
5	5.82	α-水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.04
6	6.09	α-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.09
7	6.38	柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136	1.67	0.12
8	7.08	τ-松油烯	C ₁₀ H ₁₆	136	-	0.12
9	8.16	异胡薄荷醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.07
10	8.77	反式-异丙基-1-甲基-2-环己烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.24
11	9.25	顺式-异丙基-1-甲基-2-环己烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.11
12	9.38	4-松油烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.02
13	10.23	trans-薄荷烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.27
14	10.64	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.16
15	14.70	α-葑澄茄烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.43	0.24
16	15.40	α-胡椒烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.35	0.31
17	15.76	β-葑澄茄烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.19	0.24
18	16.27	α-古香油烯	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.14
19	16.56	β-丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.22
20	16.80	α-丁香烯	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.09
21	17.66	(+) 双环倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.46	0.28
22	17.99	τ-依兰油烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.49	1.19
23	18.58	α-依兰油烯 (异构体 I)	C ₁₅ H ₂₄	204	3.51	4.28
24	18.95	τ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	3.33	3.74
25	19.19	δ-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	17.17	20.62
26	19.36	β-杜松烯	C ₁₅ H ₂₄	204	0.56	-
27	19.51	α-依兰油烯 (异构体 II)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.01	0.97
28	20.50	大根香叶烯 D-4-醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	2.95
29	20.92	喇叭茶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	3.83
30	21.69	葑澄茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	2.41	0.70
31	22.11	τ-依兰油醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	22.23	20.22
32	22.47	α-杜松醇	C ₁₅ H ₂₆ O	222	46.18	37.35

分析结果表明, 与 SD 法提取相比, HS-LPME 法具有消耗样品量、溶剂量小, 装置简单, 操作快捷, 灵敏度高等特点, 并同时集采样、萃取、浓缩、进样于一体。HS-LPME 法虽然对含量极低的挥发性成分的提取有一些局限性, 但所得挥发油提

取物中主要成分的相对组成与 SD 法基本一致, 而且整个实验萃取时间短 (仅为水蒸气蒸馏法的 1/60), 样品消耗量少 (仅为水蒸气蒸馏法的 1/25), 实验条件温和, 对环境污染小, 是适合样品中挥发性成分快速分析鉴定的一种理想方法。

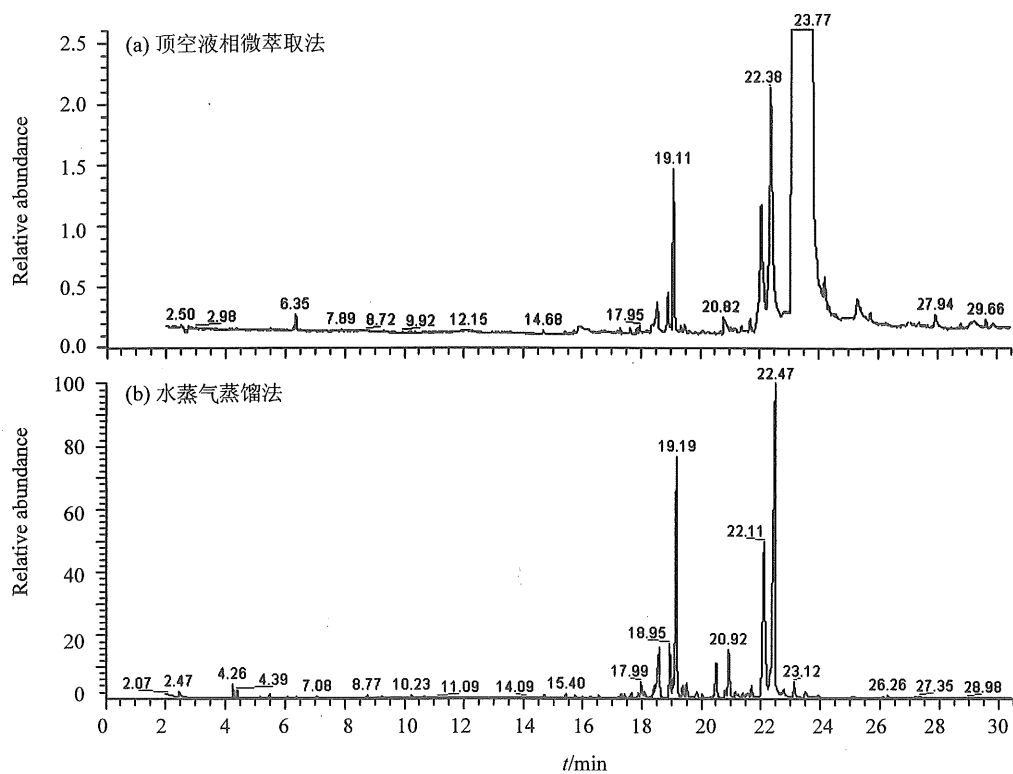


图 1 金盏花挥发油的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of the essential oil from *Calendula officinalis*

参考文献:

- [1] 金敬宏, 张卫明, 孙小明, 等. 金盏花的栽培和经济用途[J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(4): 40-41.
- [2] JEANNOT M A, CANTWELL F F. Solvent micro-extraction into a single drop[J]. Anal Chem, 1996, 68: 2236-2240.
- [3] PRZYJAZNY A, KOKOSA J M. Analytical characteristic of the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in water by headspace solvent micro-extraction[J]. J Chromatography A, 2002, 977:143-153.
- [4] DENG C H, MAO Y, HU F L, et al. Development of gas chromatography-mass spectrometry following microwave distillation and simultaneous headspace single-drop micro-extraction for fast determination of volatile fraction in Chinese herb[J]. Journal of Chromatography A, 2007, 1152(1-2):193-198.
- [5] FAKHARI A R, SALEHI P, HEYDARI R, et al. Hydro-distillation headspace solvent micro-extraction, a new method for analysis of the essential components of *Lavandula angustifolia* Mill [J]. J Chromatography A, 2005, 1098:14-18.
- [6] BESHARAT I-SEIDANI A, JABBARI A, YMINI Y. Headspace solvent micro-extraction: a very rapid method for identification of volatile components of Iranian *Pimpinella anisum* seed [J]. Anal Chem Acta, 2005, 530: 155-161.
- [7] KIM N S, JUNG M J, YOO Z W, et al. Headspace hanging drop liquid phase micro-extraction and GC-MS for determination of *Linalool* from evening primrose flowers [J]. Bull Korean Chem Soc, 2005, 26(12): 1996-2000.
- [8] PETROVIC L, LEPOJEVIC Z, SOVILJ V, et al. An investigation of CO₂ extraction of marigold (*Calendula officinalis* L.) [J]. J Serbian Chemical Society, 2007, 72(4): 407-413.
- [9] OKOH O O, SADIMENKO A P, ASEKUM O T, et al. The effects of drying on the chemical components of essential oils of *Calendula officinalis* L. [J]. African J Biotechnology, 2008, 7(10): 1500-1502.
- [10] KHALID K A, EL-GHORAB A H. The effect of presowing low temperature on essential oil content and chemical composition of *Calendula officinalis* [J]. J Essential Oil Bearing Plants, 2006, 9(1): 32-41.