

滇桂艾纳香茎和叶中挥发性化学成分 的 HS-SPME-GC-MS 分析*

马芝玉¹, 林翠梧¹, 黄克建², 潘智文³, 蒋双双¹

(1. 广西大学化学化工学院, 广西南宁 530004;

2. 广西壮族自治区公安厅物证鉴定中心, 广西南宁 530012;

3. 柳州市产品质量监督检验所, 广西柳州 545001)

摘要: 采用固相微萃取法提取中草药滇桂艾纳香茎和叶中挥发性成分, 经气相色谱/质谱测定其化学成分和相对含量, 共鉴定了 98 种化学成分, 茎和叶中各 82 种。主要挥发成分及含量为: 大叶香烯 D (茎: 36.59%; 叶: 40.87%)、香木兰烯 (茎: 13.20%; 叶: 17.00%)、顺- α -没药烯 (茎: 6.06%; 叶: 7.48%)、 β -萜澄茄油烯 (茎: 4.83%; 叶: 5.85%)、 γ -依兰油烯 (茎: 2.18%; 叶: 2.58%) 和 1, 2, 4a, 5, 6, 8a-六氢-4, 7-二甲基-1-(1-甲乙基)-萘 (茎: 2.03%; 叶: 2.55%), 它们都为倍半萜类化合物。本实验中发现滇桂艾纳香茎和叶的中倍半萜类化合物含量分别占挥发性成分含量的 91.75% 和 94.52%。

关键词: 滇桂艾纳香; 挥发油; 顶空固相微萃取; 气相色谱/质谱

中图分类号: O657.7 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2009) 01-0046-05

Analysis of Volatile Components from the Fresh stems and Leaves of *Blumea riparia* (Bl.) DC. by Headspace Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

MA Zhiyu¹, LIN Cuiwu¹, HUANG Kejian², PAN Zhiwen³, JIANG Shuangshuang¹

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China;

2. Institute of Forensic Science, Public Security of Guangxi Province, Nanning 530012, China;

3. Liuzhou Product Quality Supervision Testing Institute, Liuzhou 545001, China)

Abstract: Volatile components from the fresh stems and leaves of *Blumea riparia* (Bl.) DC. were analyzed by headspace solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. The volatile constituents were separated and identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The result showed that 98 kinds of compounds were identified from the volatile constituents (82 from stems and 82 from leaves). The principal components and relative contents were germacrene D (stem: 36.59%, leaf: 40.87%), aromadendrene (stem: 13.20%, leaf: 17.00%), *cis*- α -bisabolene (stem: 6.06%, leaf: 7.48%), β -cubebene, (stem: 4.83%, leaf: 5.85%), γ -muurolene (stem: 2.18%, leaf: 2.58%) and 1, 2, 4a, 5, 6, 8a-hexahydro-4, 7-dimethyl-1-(1-methylethyl)-naphthalene (stem: 2.03%, leaf: 2.55%), which were terpene. Sesquiterpenes were the dominant components which relative contents were 91.75% for stems and 94.52% for leaves respectively.

Key words: *Blumea riparia* (Bl.) DC.; volatile component; headspace solid-phase microextraction; gas chromatography-mass spectrometry

* 收稿日期: 2008-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20662001); 广西科技攻关资助项目 (桂科攻 0480005); 2007-2009 年度教育部大学生创新实验资助项目

作者简介: 马芝玉 (1983 年生), 女, 硕士研究生; 通讯作者: 林翠梧; E-mail: lincuiwu@gxu.edu.cn

菊科植物滇桂艾纳香 *Blumea riparia* (Bl.) DC. 为壮族民间草药, 在广西尤其是在百色地区有较长的使用历史。主要产于云南东南部和广西西南部。具有活血、止血、利尿作用。用于经期提前、产后血崩、产后浮肿、不孕症、阴疮等。分布于印度、缅甸、泰国、马来西亚、中南半岛、菲律宾、印度尼西亚、巴布来新几内亚和所罗门群岛^[1]。

王治平等^[2]曾用水蒸气蒸馏提取法, GC/MS 法分析鉴别了滇桂艾纳香全草中的 57 种挥发油化学成分。本实验采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术 (HS/SPME/GC/MS), 分析了滇桂艾纳香叶和茎中 98 种挥发性化学成分。固相微萃取技术由于无需有机溶剂, 对样品需求量小, 环境友好等优点, 近年来在挥发性成分分析中日益受到重视^[3-5]。

1 实验部分

1.1 材料来源及处理

滇桂艾纳香新鲜全草采自广西南宁市郊区。4 °C 冷藏备用。经广西中医学院刘寿养副教授鉴定, 为菊科植物滇桂艾纳香 *Blumea riparia* (Bl.) DC. 新鲜全草。

1.2 SPME 取样

取新鲜的滇桂艾纳香叶和茎各 2 g, 切碎后分别放入 10 mL 带塞萃取瓶中, 置于顶空固相微萃取加热块上, 将活化了的聚甲基硅氧烷涂层 SPME 插入, 70 °C 顶空瓶萃取 2 h, 于 250 °C 气化室脱附 3 min, GC/MS 分析。

1.3 仪器及分析条件

QP2010 气相色谱-质谱联用仪 (日本岛津公司); CORNING 固相微萃取仪 (美国 Supelco 公司); 100 μm 聚二甲基硅氧烷萃取头 (美国 Supelco 公司)。

气相色谱条件: J&W DB-1MS 石英毛细柱 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 进样口温度: 250 °C; 载气: He; 线速度: 44 cm/min; 柱温: 60 °C 保持 2 min, 以 10 °C/min 程序升温升至 280 °C, 保持 12 min; 进样方式: 不分流进样。

质谱条件: EI 源; 电子能量: 70 eV; 传输线温度: 250 °C; 离子源温度: 200 °C; 扫描方式: 全扫描; 质量扫描范围: 40 ~ 500 u。

2 结果与分析

样品经过 GC/MS 分析, 得到总离子色谱图 (图 1), 采用计算机检索, 参考标准谱图

(NIST147、NIST27 和 WILEY7), 同时查阅资料, 鉴定样品中挥发性成分, 并用峰面积归一化法定量分析各成分含量。结果见表 1。

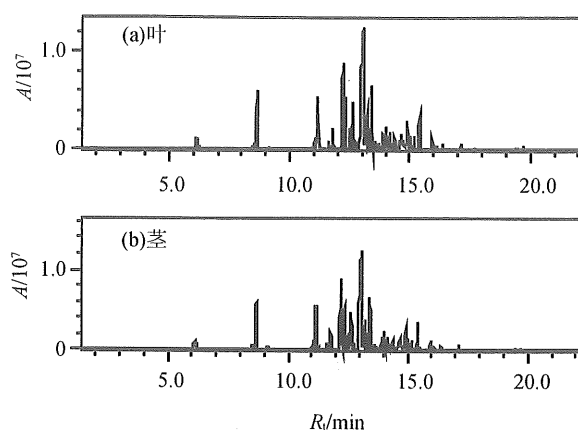


图 1 滇桂艾纳香叶和茎固相微萃取总离子色谱图

Fig. 1 Chromatograms of volatile components from leaves and stems of *Blumea riparia* (Bl.) DC

由表 1 可知, 从滇桂艾纳香叶和茎中共分离得到 98 个峰, 茎和叶中各 82 个, 通过数据库检索鉴定出其中 95 种化合物。滇桂艾纳香叶和茎中挥发性成分主要由烯烃、醇、醛酮和酸酯等组成。其中以烯烃含量最高 (茎中 86.50%, 叶中 92.73%)。比较发现, 茎和叶的主要挥发性成分种类和含量基本一致, 由高到低分别为: 大叶香烯 D (茎: 36.59%; 叶: 40.87%)、香木兰烯 (茎: 13.20%; 叶: 17.00%)、顺- α -没药烯 (茎: 6.06%; 叶: 7.48%)、 β -萜澄茄油烯 (茎: 4.83%; 叶: 5.85%)、 γ -依兰油烯 (茎: 2.12%; 叶: 2.58%) 和 1, 2, 4a, 5, 6, 8a-六氢-4, 7-二甲基-1-(1-甲基)-萜 (茎: 2.03%; 叶: 2.55%), 它们都为倍半萜类化合物。本实验中发现滇桂艾纳香茎和叶的中倍半萜类化合物含量分别占挥发性成分含量的 91.75% 和 94.52%, 没有发现单萜类化合物, 这与报道的艾纳香属其它种挥发油的成分有所不同: Mwangi 等^[6]用 GC 和 GC-MS 分析通过水蒸气蒸馏得到的 *Blumea evipes* 挥发油成分: 4-萜品烯醇、香桉烯、Y-萜品烯等单萜化合物; 郝小燕、周欣和菲律宾的 *Unalivia* 等分别对 *Blumea balsamifera* (L.) DC. 的挥发油做了研究^[7-9], 其中鉴定出樟脑、龙脑、芳樟醇、香叶烯和莰烯等单萜化合物。这点说明滇桂艾纳香中的挥发性成分有其自身的特点。

王治平等^[2]报导的干燥滇桂艾纳香挥发油的

表1 滇桂艾纳香叶和茎中挥发成分和相对含量

Table 1 Volatile components and relative contents in leaves and stems of *Blumea riparia* (Bl.) DC.

No	R_f /min	化合物名称	分子式	w/%	
				茎	叶
1	1.601	2-甲基丙醛	C_4H_8O	0.29 (91)	0.25 (94)
2	1.835	正丁醛	C_4H_8O	0.34 (90)	0.40 (88)
3	2.867	正己醛	$C_6H_{12}O$	-	0.19 (92)
4	3.433	(<i>E</i>)-2-己烯醛	$C_6H_{10}O$	-	0.60 (93)
5	3.883	(<i>Z</i>)-2-己烯醛	$C_6H_{10}O$	-	0.07 (80)
6	4.167	(<i>E, E</i>)-2, 4-己二烯醛	C_6H_8O	-	0.02 (79)
7	5.801	3-环己烯甲醛	$C_7H_{10}O$	0.15 (88)	0.27 (90)
8	7.372	沉香醇	$C_{10}H_{18}O$	0.02 (79)	0.03 (82)
9	10.158	4-乙基-2-甲基苯甲醚	$C_{10}H_{14}O$	-	0.01 (78)
10	10.458	1-苯基-1, 2-丙二酮	$C_9H_8O_2$	-	0.01 (81)
11	10.683	2-甲基-7-外-乙烯基双环 [4.2.0] -1 (2) -癸烯 1R, 3Z, 9s-4, 11, 11-三甲基-8-亚甲基双环 [7.2.0]	$C_{11}H_{16}$	-	0.03 (76)
12	10.936	十一烷-3-烯	$C_{15}H_{24}$	0.27 (88)	0.30 (87)
13	11.050	γ -榄香烯	$C_{15}H_{24}$	1.18 (92)	1.43 (92)
14	11.258	α -萜澄茄烯	$C_{15}H_{24}$	0.31 (95)	0.34 (95)
15	11.367	2-甲基-3-苯基-2-丙烯醛	$C_{10}H_{10}O$	-	0.03 (75)
16	11.500	1-二连-1-烯-环辛烷	$C_{16}H_{26}$	0.06 (79)	-
17	11.629	古巴烯	$C_{15}H_{24}$	1.16 (94)	1.74 (94)
18	11.788	γ -依兰油烯	$C_{15}H_{24}$	2.18 (92)	2.58 (92)
19	11.884	异长叶烯	$C_{15}H_{24}$	0.15 (89)	0.16 (83)
20	12.240	香木兰烯	$C_{15}H_{24}$	13.20 (91)	17.00 (91)
21	12.353	β -萜澄茄油烯	$C_{15}H_{24}$	4.83 (94)	5.85 (93)
22	12.510	1, 2, 4a, 5, 6, 8a-六氢-4, 7-二甲基-1- (1-甲基) -萜	$C_{15}H_{24}$	2.03 (92)	2.55 (93)
23	12.640	顺- α -没药烯	$C_{15}H_{24}$	6.06 (90)	7.48 (90)
24	12.733	异喇叭烯	$C_{15}H_{24}$	1.04 (94)	1.16 (94)
25	13.097	大叶香烯 D	$C_{15}H_{24}$	36.59 (94)	40.87 (95)
26	13.192	α -法尼烯	$C_{15}H_{24}$	1.11 (93)	0.57 (89)
27	13.225	(+) -环异酒酊烯	$C_{15}H_{24}$	2.42 (90)	0.93 (90)
28	13.275	六氢-4, 7-二甲基-1- (1-异丙基) -萜	$C_{15}H_{24}$	1.30 (92)	3.09 (93)
29	13.358	γ -杜松烯	$C_{15}H_{24}$	5.26 (93)	1.39 (93)
30	13.420	杜松-1, 4-二烯	$C_{15}H_{24}$	0.33 (94)	0.31 (95)
31	13.617	α -衣兰油烯	$C_{15}H_{24}$	0.47 (94)	0.50 (95)
32	13.717	环氧石竹烯	$C_{15}H_{24}O$	0.51 (83)	0.23 (83)
33	13.783	8-异丙基-5-甲基-2-亚甲基-1, 2, 3, 4, 4a, 5, 8, 8a- 八氢-1-萜	$C_{15}H_{24}$	0.13 (81)	0.10 (85)
34	13.917	环氧化- (2) -香橙烯	$C_{15}H_{24}O$	1.26 (82)	0.49 (84)
35	14.033	环氧化异香木兰烯	$C_{15}H_{24}O$	1.50 (87)	0.96 (85)
36	14.092	环氧化丁香烯	$C_{15}H_{24}O$	0.86 (93)	0.71 (91)
37	14.197	2- (4-甲基-1-环己-1-烯) -1-丙醇	$C_{10}H_{18}O$	1.21 (86)	0.61 (86)
38	14.250	5, 5-二甲基-4- (3-甲基-1, 3-丁二烯基) -1-氧杂螺环 [2.5] 环己烷	$C_{14}H_{22}O$	0.36 (84)	0.15 (84)
39	14.283	斯巴醇	$C_{15}H_{24}O$	0.15 (83)	0.08 (78)
40	14.367	顺-Z- α -没药烯环氧化物	$C_{15}H_{24}O$	0.77 (84)	0.42 (86)
41	14.425	香橙烯 (2)	$C_{15}H_{26}$	0.20 (83)	0.11 (79)
42	14.458	绿花白千层醇	$C_{15}H_{26}O$	0.13 (82)	-
43	14.533	(蛇麻烷-1, 6-二烯-3-醇)	$C_{15}H_{26}O$	0.16 (84)	0.07 (85)
44	14.558	α -布藜烯	$C_{15}H_{24}$	0.06 (84)	-
45	14.608	11, 11-二甲基-螺 [2.9] 十二-3, 7-二烯	$C_{14}H_{22}$	0.46 (84)	0.22 (83)
46	14.633	4, 7a-二甲基-4-乙烯基-六氢-1-苯并咪喃-2 (3H) -酮	$C_{12}H_{18}O_2$	0.26 (79)	0.10 (79)
47	14.675	4, 4-二甲基-四环 [6.3.2.0 (2, 5) .0 (1, 8)] 十三烷-9-醇	$C_{15}H_{24}O$	0.52 (84)	0.25 (83)

(转下页)

(接上页)

No	R_t /min	化合物名称	分子式	$w/\%$	
				茎	叶
48	14.725	α -杜松醇	$C_{15}H_{24}O$	0.58 (84)	0.30 (90)
49	14.792	4-(1-亚异丙基)-1,2-二乙烯基环己烷	$C_{13}H_{20}$	0.14 (82)	0.10 (75)
50	14.867	异-杜松醇	$C_{15}H_{26}O$	0.65 (82)	0.32 (84)
51	14.908	顺-1,2-二乙烯基-4-(1-甲基乙缩醛)-环己烷	$C_{15}H_{24}O$	2.36 (85)	1.04 (84)
52	15.042	3-异丙三环 [4.3.1.1 (2,5)] 十一烷-3-烯-10-醇	$C_{14}H_{22}O$	1.17 (85)	0.62 (85)
53	15.133	匙叶桉叶油醇	$C_{15}H_{24}O$	0.24 (82)	0.11 (81)
54	15.192	反-长松香芹醇	$C_{15}H_{24}O$	0.86 (81)	0.42 (80)
55	15.267	4-亚甲基-1-甲基-2-(2-甲基-1-丙烯)-1-乙烯基-环庚烷	$C_{15}H_{24}$	0.07 (81)	-
56	15.450	十八烷醛	$C_{18}H_{36}O$	0.20 (90)	0.11 (91)
57	15.517	长松香醇	$C_{15}H_{24}O$	0.03 (80)	0.22 (95)
58	15.575	顺- α -环氧红没药烯	$C_{15}H_{24}O$	0.04 (75)	0.04 (76)
59	15.675	(<i>E, E</i>)-3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烷三烯醛	$C_{15}H_{24}O$	0.01 (79)	0.07 (93)
60	15.742	γ -1-萜澄茄烯醛	$C_{15}H_{22}O$	0.04 (75)	0.02 (80)
61	15.925	1-甲基-8-(1-异丙基)-三环 [4.4.0.0 (2,7)] 十烷-3-烯-3-甲醇	$C_{15}H_{24}O$	0.86 (80)	0.35 (80)
62	16.025	2-甲基-4-(2,6,6-三甲基-环己烯-1-基)-2-烯-丁醇	$C_{14}H_{24}O$	0.28 (80)	0.06 (82)
63	16.050	9-异丙基-1-甲基-2-亚甲基-5-氧杂三环 [5.4.0.0 (3,8)] 十一烷	$C_{19}H_{30}O_2$	0.25 (83)	0.15 (80)
64	16.134	氧化别香橙烯	$C_{15}H_{24}O$	0.26 (79)	0.12 (81)
65	16.242	绒白乳菇二醇	$C_{15}H_{24}O_2$	0.25 (76)	0.03 (75)
66	16.375	[3aR-(3 α , 7 α , 9 α)]-1,4,5,6,7,8,9,9a- 八氢-1,1,7-三甲基-3a,7-甲醇-3aH-环戊环辛烯	$C_{15}H_{24}$	0.44 (80)	0.17 (79)
67	16.550	4-甲基二十二烷	$C_{23}H_{48}$	0.07 (82)	0.13 (84)
68	16.725	5,9,13-三甲基-4,8,12-十四烷三醛	$C_{17}H_{28}O$	0.07 (87)	0.10 (90)
69	16.869	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	$C_{18}H_{36}O$	0.10 (81)	-
70	16.942	新植二烯	$C_{20}H_{38}$	0.09 (89)	-
71	17.225	十四烷基环氧乙烷	$C_{16}H_{32}O$	0.09 (87)	0.08 (89)
72	17.267	(<i>Z, Z, Z</i>)-9,12,15-十八烷三烯-1-醇	$C_{18}H_{32}O$	0.04 (85)	-
73	17.375	十八炔	$C_{18}H_{34}O$	0.02 (78)	-
74	17.408	未知	-	0.01 (78)	-
75	17.533	6,10,14-三甲基-5,9,13-十五烷三烯-2-酮	$C_{18}H_{30}O$	0.02 (78)	0.08 (89)
76	17.583	未知	-	0.02 (87)	-
77	17.667	十六烷酸甲酯	$C_{17}H_{34}O_2$	0.12 (93)	0.08 (85)
78	17.908	2,5-十八碳二炔酸甲酯	$C_{19}H_{30}O_2$	-	0.02 (70)
79	17.967	未知	-	0.02 (81)	-
80	18.017	正十六烷酸	$C_{16}H_{32}O_2$	-	0.02 (79)
81	18.342	2,4,6-三甲基壬酸甲酯	$C_{20}H_{40}O_2$	0.01 (80)	0.03 (87)
82	18.458	17-三十五碳烯	$C_{35}H_{70}$	0.02 (85)	-
83	18.550	3,8-二甲基十一烷	$C_{13}H_{28}$	0.02 (89)	0.03 (90)
84	18.880	1-亚甲基-3-(1-亚丙烯基)-5-乙烯环己烷	$C_{17}H_{24}O$	0.02 (75)	0.06 (81)
85	18.925	镰叶芹醇	$C_{17}H_{24}O$	-	0.03 (77)
86	19.197	二十二烷烯	$C_{22}H_{44}$	0.02 (85)	-
87	19.233	11,14-二十碳二烯酸甲酯	$C_{21}H_{38}O_2$	0.05 (92)	0.01 (86)
88	19.275	11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	$C_{21}H_{36}O_2$	0.03 (89)	-
89	19.425	(<i>2E, 6E</i>)-3,7,11-三甲基-2,6-十一碳二烯-1-醇	$C_{15}H_{28}O$	0.12 (82)	0.01 (75)
90	19.492	叶绿醇	$C_{20}H_{40}O$	0.15 (94)	0.03 (87)
91	19.575	1,2-双(1-丁烯-3-烯)苯	$C_{14}H_{18}$	-	0.06 (75)
92	19.725	2-(2-辛烷基)环戊酮	$C_{13}H_{22}O$	0.26 (82)	-
93	19.942	2-(苯基亚甲基)-辛醛	$C_{17}H_{24}O$	-	0.04 (75)
94	20.025	未知	-	-	0.02 (75)
95	20.375	2-辛基十二烷醇	$C_{20}H_{42}O$	0.02 (88)	0.02 (91)
96	20.583	(5-甲基-1,3-庚二烯基)苯	$C_{14}H_{18}$	-	0.08 (80)
97	21.092	2 <i>Z, 6E</i> -法呢醇	$C_{15}H_{26}O$	0.01 (81)	-
98	21.225	二十六烷	$C_{26}H_{54}$	-	0.03 (91)

主要成分为: 十六酸 (16.98%)、杜松醇 (9.04%)、5, 5-2 二甲基-4-(3-甲基-1, 3-丁烯基)-1-氧螺 [2.5] 辛烷 (4.44%)、香树素 (2)-氧化物 (3.45%)、丁子香烯氧化物 (2.46%)。本实验结果与之比较在化合物种类和相对含量上均有较大区别, 特别是在本实验中发现了多种低级的醛和大量的倍半萜类化合物, 十六酸、杜松醇和丁子香烯氧化物等在含量上区别比较大, 可能是二者分析的样品、样品的采摘地点、采摘季节以及挥发成分的提取方法不同所致。本实验采用顶空固相微萃取结合气相色谱质谱联用技术, 具有操作简单, 无需有机溶剂, 分析快速等优点, 非常适合植物中挥发性物质的分析。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物编辑委员会. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 王治平, 孟祥平, 樊华. 滇桂艾纳香挥发油化学成分的 GC-MS 分析 [J]. 中草药, 2005, 36(8): 1138 - 1139.
WANG Zhiping, MENG Xiangping, FAN Hua. Volatile components from *Blumea riparia* analysis by GC-MS [J]. Chinese Traditional and Herbal Druggs, 2005, 36(8): 1138 - 1139.
- [3] 谢惜媚, 陆慧宁. 新鲜叶下珠挥发性成分的 GC-MS 分析 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2006, 45(5): 142 - 144.
XIE Ximei, LU Huining. Analysis of volatile components of the fresh *Phyllanthus urinaria* L. by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2006, 45(5): 142 - 144.
- [4] ELEFThERIOS Alissandrakis, TARANTILIS P A. Aroma investigation of unifloral Greek citrus honey using solid-phase microextraction coupled to gas chromatographic-mass spectrometric analysis [J]. Food Chemistry, 2007, 100(1): 396 - 404.
- [5] STEFANIA Vichi, MONTSERRAT Riu-Aumatell, MERCÉ Mora-Pons. HS-SPME coupled to GC/MS for quality control of *Juniperus communis* L. berries used for gin aromatization [J]. Food Chemistry, 2007, 105(4): 1748 - 1754.
- [6] MWANGI J W, ACHOLA K J, WANDE L W, et al. Constituents of the essential oil of *Blumea brevipes* (Oliv. & Hiern) Willd. [J] Flavour and Fragrance Journal, 1994, 9(5): 233 - 235.
- [7] 郝小燕, 余珍, 丁智慧. 黔产艾纳香挥发油化学成分研究 [J]. 贵阳医学院学报, 2000, 25(2): 121 - 122.
HAO Xiaoyan, YU Zhen, DING Zhihui. The study on chemical constituents of volatile oil on *Blumen balsamifera* growing in Guizhou [J]. Journal of Gui Yang Medical College, 2000, 25(2): 121 - 122.
- [8] 周欣, 杨小生, 赵超. 艾纳香挥发油化学成分的气相色谱质谱分析 [J]. 分析测试学报, 2001, 20(5): 76 - 78.
ZHOU Xin, YANG Xiaosheng, ZHAO Cao. Chemical component of volatile oil from *Folium et Cacumen Blumeae Balsamiferae* originated from Guizhou [J]. Journal of instrumental Analysis, 2001, 20(5): 76 - 78.
- [9] UNALIVIA E D, ANZALDO F E, CONCHA J A. Extraction of essential oil from sambong [J]. NSTA Technology Journal, 1983, 8(2): 4 - 8.