

参考文献:

- [1] 杨诗兴.应用盐酸克伦特罗作饲料添加剂饲喂家畜对消费者的安全问题[J].动物营养学报,2001,13(3):14-18.
- [2] 陈继明,黄上新,周光宏,等.酶联免疫吸附测定法检测克伦特罗[J].中国兽药杂志,1999,33(2):19-22.
- [3] 冯杰,吴平谷.饲料中克伦特罗的气相色谱质谱联用法测定[J].动物营养学报,2000,12(4):47-50.
- [4] 黄士新,周光宏.β-激动剂克伦特罗在猪肝脏和肌肉组织中的残留[J].中国畜牧杂志,1999,35(1):3-4.
- [5] 林海丹,江庆娣,伍绍登.饲料中盐酸克伦特罗含量的检测[J].饲料工业,2000,21(1):25-26.
- [6] Presa C, Ramo M, REUVERS T. Rapid TIC Procedure for the determination of Clenbuterol residues in urine[J]. Alimentaria (Madrid), 1990, 27(209): 85-87.

不同方法提取的佩兰挥发油指纹图谱分析

曾虹燕

(湘潭大学生物技术研究所, 湖南 湘潭 411105)

摘 要: 目的: 利用 GC-MS 分析了三种方法提取的佩兰挥发油指纹图谱。方法: 采取超临界 CO₂ 萃取、微波萃取和水蒸汽蒸馏三种方法提取佩兰挥发油。结果: 三种方法提取佩兰挥发油的化学成分均有差异。结论: 超临界 CO₂ 萃取的佩兰挥发油更具天然性, 超临界 CO₂ 萃取法为提取佩兰挥发油的较理想方法; 微波辅助萃取也不失为一种可行的方法。

关键词: 佩兰; 挥发油; 超临界 CO₂ 萃取; 微波萃取; GC-MS

Fingerprint Chromatogram of the Volatile Oils from *Eupatorium fortunei* with Different Methods

ZENG Hong-yan

(The Biotechnology Research Institute, Xiangtan University, Xiangtan 411105, China)

Abstract: Objective: To analyze the GC-MS fingerprint chromatogram of the volatile oils from *Eupatorium fortunei* with three methods. Method: The volatile oils were obtained with supercritical CO₂, microwave and steam distillation. Result: The compounds from the volatile oils extracted with the three methods is different. Conclusion: The volatile oil obtained with supercritical CO₂ is natural. Supercritical CO₂ extraction is ideal for extracting the volatile oils, and microwave extraction is also viable.

Key words: *Eupatorium fortunei*; volatile oil; supercritical CO₂ extraction; steam distillation; GC-MS

中图分类号: O65

文献标识码: B

文章编号: 1002-6630(2004)01-0123-04

佩兰为菊科多年生植物佩兰(*Eupatorium fortunei* Turcz.)的干燥地上部分。为中医临床常用药之一,在我国分布极广,全国各地均产。佩兰挥发油具有祛痰和消炎作用,对流感病毒有直接抑制作用^[1,2],临床报道使用佩兰水蒸馏液治疗夏季感冒效果较好,单方佩兰治疗慢性气管炎有一定疗效^[3,4]。对佩兰的化学成分虽已有一些研究,但利用 GC-MS,对临界 CO₂ 萃取和微波诱导萃取的佩兰挥发油成分的分析研究尚未见报道^{[2][4,5]}。本文采用

超临界 CO₂ 萃取、微波诱导萃取和水蒸汽蒸馏的方法对佩兰进行挥发油的提取,所得挥发油分别进行 GC-MS 指纹图谱分析,并对这三种方法提取的挥发油成分进行了对比。

1 材料与方

1.1 材料

佩兰干品购自湖南邵东廉桥。用刀切碎,粉碎成粉末状(50目)样品。CO₂ 为食品级。

收稿日期: 2003-07-28

基金项目: 湖南省科技厅重点项目(02SSY1001-11)

作者简介: 曾虹燕(1963-),女,副教授,博士,长期从事植物资源和植物有效成分的分离提取工作。

1.2 仪器与试剂

江苏南通华安超临界萃取有限公司 HA221-50-06 超临界萃取装置; 美国 Hewlett-Packard 公司 HP6890/5973 型气-质-计算机联用机; 瑞士 BUCH 公司 HD-205 型旋转薄膜蒸发仪; 所用试剂均为分析纯。

1.3 气相色谱条件

载气: He; 石英毛细管柱 HP-5MS, $50\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.25\mu\text{m}$; 升温程序: 90°C 保持 7min, 以 $5^\circ\text{C}/\text{min}$ 速度升至 260°C , 保持 10min; 柱前压 49kPa; 柱流量: $1\text{ml}/\text{min}$; 进样量: $1\mu\text{l}$; 进样口温度: 270°C ; 分流比: 50:1。

1.4 质谱条件

离子源为 EI; 电离电压: 70eV ; 离子源温度: 270°C ; 质谱范围: $50 \sim 500\text{amu}$; 质量范围: $30 \sim 400\text{amu}$; 扫描周期: 1s。

1.5 方法

1.5.1 水蒸汽蒸馏法

将佩兰 300g 装入提取器中, 加水蒸馏 6h, 收集挥发油并称重为 2.3g, 收率为 0.76%。挥发油淡黄色, 具有特殊香味。

1.5.2 微波萃取法

将佩兰样品准确称量 40g, 装入烧瓶中, 加入 100ml 石油醚, 在辐射时间 200s, 微波功率 720W, 溶剂用量 400ml, 的条件下进行微波萃取。用 40ml 石油醚洗涤烧瓶的残渣, 将滤液集中于一锥形瓶中。经减压蒸馏回收石油醚, 用无水 Na_2SO_4 干燥样品, 24h 后称重, 萃取率为 3.76%。

1.5.3 超临界 CO_2 萃取法

准确称取佩兰 230g, 装入 1L 的萃取罐内, 超临界 CO_2 萃取。萃取压力 16MPa, 萃取温度 31°C , 流量 $20\text{kg}/\text{h}$; 解析釜 I 压力 $7 \sim 8\text{MPa}$, 温度 60°C ; 解析釜 II 压力 $4 \sim 6\text{MPa}$, 35°C , 萃取时间为 80min, 每 20min 收集提取物称量, 萃取率为 2.71%, 储存于冰箱用 GC-MS 分析。

1.6 佩兰挥发油的测定

将三种方法所得的佩兰挥发油用乙酸乙酯溶解后分别进行 GC-MS 分析鉴定。

2 结果与讨论

2.1 结果

佩兰挥发油的含量及性状见表 1, 成分分析结果见表 2; 挥发油指纹图谱见图 1、2、3。

由表 1 知: 超临界 CO_2 萃取和水蒸汽蒸馏提取佩兰挥发油在外观性状上优于微波萃取的; 微波萃取收率高, 时间短。超临界萃取 CO_2 收率较之传统水蒸汽蒸馏萃取方法已经有很大的提高, 品质也较好, 适合萃取品质要求高的挥发油。同时不存在有机溶剂残留所带来的一系列问题。

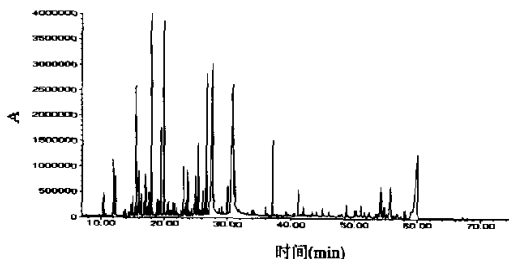


图1 佩兰挥发油指纹图谱(微波萃取)

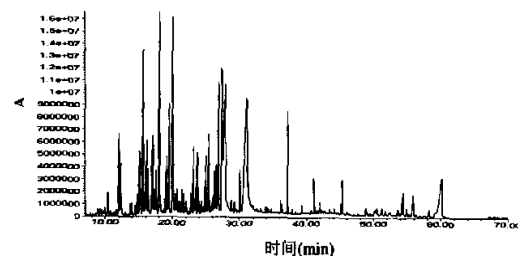


图2 佩兰挥发油指纹图谱(超临界 CO_2 萃取)

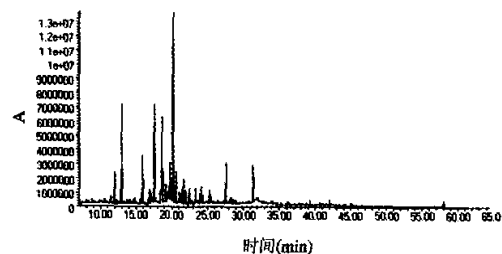


图3 佩兰挥发油指纹图谱(水蒸汽蒸馏)

表1 不同提取方法对萃取率的影响

实验方法	挥发油外观性状	时间	萃取率(%)
超临界 CO_2 萃取	黄色	80min	2.71
微波萃取	黄褐色	160s	3.76
水蒸汽蒸馏	淡蓝色	6h	0.76

2.2 讨论

2.2.1 通过 GC-MS 分析, 水蒸汽蒸馏所得的佩兰挥发油共分离出 45 个峰, 所得组分质谱图经计算机检索并参照标准谱图和质谱的裂解规律, 鉴定出 30 种成分, 占其挥发油总相对含量的 83.05% (以峰面积计, 下同); 超临界萃取所得的佩兰挥发油共分离出 52 个峰, 鉴定出 38 种成分, 占其挥发油总相对含量的 93.96%; 微波萃取所得的佩兰挥发油共分离出 49 个峰, 鉴定出 32 种成分, 占其挥发油总相对含量的 92.25%。

2.2.2 从表 2 可知, 三种方法提取的挥发油中仅有 5 种相同成分, 超临界萃取与微波萃取的挥发油有 23 种相同

成分,超临界萃取与水蒸汽蒸馏有11种相同成分,微波萃取与水蒸汽蒸馏的挥发油有9种相同成分,三种方法提取的挥发油共被鉴定出55种成分。

2.2.3 佩兰挥发油的化学成分较复杂,不同提取方法所提取的挥发油化学成分也有较大差异。超临界萃取挥发油的主要化学成分为十六酸、E,Z,1,5-环癸二烯、双(2-甲基丙基)-1,2-苯二甲酸、2,4-二甲基-2,6-辛二烯、β-倍半水芹烯、2,4-二甲基-2-戊烯和反式石竹烯;为十六酸、法呢醇、1,12-十三烷二烯、1,3-环辛二烯、2,4-二甲基-2-戊烯、β-法呢烯和反式石竹烯;水蒸汽蒸馏所得挥发油的化学成分与前两者有较大的差异,其主要化学成分

为2,4-二甲基-2,6-辛二烯、1,3-二甲基二环[3.3.0]辛-3-烯-2-酮、2,4,6-三甲基-1,3-二苯胺、5-甲基-3-(1-甲基乙烯)-环己烯和2-羟基-4-甲基苯乙酮。

2.2.4 首次利用超临界CO₂萃取和微波辅助萃取佩兰挥发油,和水蒸汽蒸馏提取佩兰挥发油在外观性状上优于微波萃取的;微波萃取的收率最高,超临界CO₂萃取的次之,水蒸汽蒸馏的最低(其三种方法提取的挥发油工艺的研究另发表)。

综上所述,超临界CO₂萃取挥发油的品质较优越,超临界CO₂萃取法为提取佩兰挥发油的理想方法,微波辅助萃取也不失为一种可行的方法。

表2 佩兰挥发油的化学成分

编号	化合物名称	分子式	分子量	相对含量(%)		
				SFE*	Micr*	SD*
1	3-己烯-2-酮(3-Hexen-2-one)	C ₈ H ₁₆ O	98	1.410	1.762	0.280
2	2,4-二甲基-2-戊烯(2-Pentene, 2,4-dimethyl-)	C ₇ H ₁₄	98	5.714	6.260	1.064
3	1,3-环辛二烯(1,3-Cyclooctadiene)	C ₈ H ₁₂	108	-	6.280	1.653
4	α-甲基苯甲醇(Benzenemethanol, α-methyl-)	C ₈ H ₁₀ O	122	-	-	1.985
5	2-丙烯基,环己烷(Cyclohexane, 2-propenyl-)	C ₉ H ₁₆	124	-	3.037	-
6	顺1,1,3,4-四甲基环戊烷(Cyclopentane, 1,1,3,4-tetramethyl-, cis-)	C ₉ H ₁₈	126	-	-	0.274
7	α-乙烯基苯甲醇(Benzenemethanol, α-ethenyl-)	C ₉ H ₁₀ O	134	0.501	1.108	1.709
8	5-甲基-3-(1-甲基乙烯)环己烯 (Cyclohexene, 5-methyl-3-(1-methylethenyl))	C ₁₀ H ₁₆	136	-	-	5.373
9	金刚烷(Adamantane)	C ₁₀ H ₁₆	136	1.052	0.287	-
10	β-月桂烯(beta-Myrcene)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.394	1.049	-
11	E,Z,1,5-环癸二烯(1,5-Cyclodecadiene, (E,Z)-)	C ₁₀ H ₁₆	136	10.166	-	-
12	2,4-二甲基-2,6-辛二烯(2,6-Octadiene, 2,4-dimethyl-)	C ₁₀ H ₁₈	138	7.113	-	14.113
13	2-乙烯基,2,3-二氢苯并呋喃(2-Vinyl-2,3-dihydrobenzofuran)	C ₁₀ H ₁₀ O	146	2.289	1.008	1.362
14	2-氢-1-苯并吡喃-2-酮(2-1-Benzopyran-2-one)	C ₉ H ₆ O ₂	146	3.022	-	-
15	甲基胡椒酚(3-Allylanisole)	C ₁₀ H ₁₂ O	148	0.239	1.621	0.790
16	2-羟基-4-甲基苯乙酮(2-Hydroxy-4-methylacetophenone)	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	-	-	5.188
17	2,4,6-三甲基-1,3-二苯胺(2,4,6-Trimethyl-1,3-benzenediamine)	C ₉ H ₁₄ N ₂	150	-	-	8.872
18	1,3-二甲基二环[3.3.0]辛-3-烯-2-酮 (1,3-Dimethylbicyclo[3.3.0]oct-3-en-2-one)	C ₁₀ H ₁₄ O	150	-	1.217	9.505
19	2-甲基-5-(1-异丙基)苯酚(Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-)	C ₁₀ H ₁₄ O	150	3.118	1.504	-
20	2-羟基-苯乙酮(2-Hydroxy-4-methylacetophenone)	C ₉ H ₁₀ O ₂	150	2.136	-	-
21	沉香醇(Linalool)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	-	0.486
22	2-(1,1-二甲基-2-戊烯基)-1-乙基-环丙烷 (Cyclopropane, 2-(1,1-dimethyl-2-pentenyl)-1-ethyl)	C ₁₂ H ₂₂	166	-	-	0.223
23	1-α-松油醇(1-α-Terpineol)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	-	0.103
24	百里香酚甲醚(Methyl Thymylether)	C ₁₁ H ₁₆ O	164	-	-	1.694
25	1,2,3,4-四氢-1,2-萘二酚(1,2-Naphthalenediol, 1,2,3,4-tetrahydro-)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	-	-	1.198
26	2-甲氧基-4-(2-丙烯基)苯酚(Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.313	-	1.958
27	1-甲氧基-4-(1-甲基丙基)苯(Benzene, 1-methoxy-4-(1-methylpropyl)-)	C ₁₁ H ₁₆ O	164	2.507	-	-
28	1,12-十三烷二烯(1,12-Tridecadiene)	C ₁₃ H ₂₄	180	-	7.467	-

续上表

29	6,7-二甲氧基-M-伞花烃(6,7-Dimethoxy-M-cymene)	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	194	-	-	6.705
30	橙花乙酸酯(Neryl acetate)	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.475	-	0.806
31	1-(3,7-二甲基-1-辛烯基环丙醇 (Cyclopropanol, 1-(3,7-dimethyl-1-octenyl))	C ₁₃ H ₂₄ O	196	0.166		
32	3,7-愈创木二烯(3,7-Gualadiene)	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.579
33	异石竹烯(Isocaryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	1.855
34	β-芹烯(beta.-Selinene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.762	-	3.625
35	6'-甲氧基-3'-氧茛苳基丙酮(6'-Methoxy-3'-benzofurylacitone)	C ₁₂ H ₁₂ O ₃	204	-	-	
36	α-华橙茄烯(alpha.-Cubebene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.380	0.610	-
37	白菖蒲油萜(Calarene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.445		
38	反式石竹烯(trans-Caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	4.734	5.031	-
39	α-香柠檬烯(alpha.-Bergamotene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.417	1.061	-
40	Z,β-法呢烯(Z)-.beta.-Farnesene)	C ₁₅ H ₂₄	204	3.322	5.672	-
41	β-没药烯(beta.-Bisabolene)	C ₁₅ H ₂₄	204	1.077	1.134	-
42	β-倍半水芹烯(beta.-Sesquiphellandrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	6.485	-	-
43	α-葎草烯(alpha.-Humulene)	C ₁₅ H ₂₄	204		1.412	
44	2,6,10-三甲基十二烷(Dodecane, 2,6,10-trimethyl-)	C ₁₅ H ₃₂	212	0.527		
45	十三酸(Tridecanoic acid)	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214			0.128
46	Liguhodgsonal	C ₁₄ H ₁₆ O ₂	216	0.348	2.708	0.201
47	马兜铃酮(Aristolone)	C ₁₅ H ₂₂ O	218	1.270	2.344	-
48	氧化石竹烯(-)-Caryophyllene oxide)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	2.856	2.903	-
49	橙花叔醇(Nerolidol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.193	1.456	-
50	法呢醇(Farnesol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	1.825	8.544	-
51	十六酸(Hexadecanoic acid)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	10.852	15.139	-
52	9,12,15-辛三烯醛(9,12,15-Octadecatrienal)	C ₁₈ H ₃₀ O	262			
53	顺-A/B-香紫苏醚(Cis-A/B-sclareoloxide)	C ₁₈ H ₃₀ O	262	4.762		1.739
54	6,10,14-三甲基,2-十五酮(2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-)	C ₁₈ H ₃₆ O	268			0.366
55	双(2-甲基丙基),1,2-苯二甲酸 (1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-methylpropyl))	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278	8.248	2.917	-
56	新植二烯(Neophytadiene)	C ₂₀ H ₃₈	278		1.061	
57	(E)-9-二十烯(9-Eicosene, (E)-)	C ₂₀ H ₄₀	280	0.777	-	
58	十八酸(Octadecanoic acid)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	1.371	2.353	-
59	十六酸乙酯(Hexadecanoic acid, ethyl ester)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	-	1.567	-
60	1,1-甲氧基-十六烷(Hexadecane, 1,1-dimethoxy-)	C ₁₈ H ₃₈ O ₂	286		1.275	0.172
61	3,7,11,15-四甲基,2-十六烯-1-醇 (2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	0.571		
62	二十七烷(Heptacosane)	C ₂₇ H ₅₆	380		0.770	
63	双(2-乙基己基)邻苯二甲酸 (1,2-Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl))	C ₂₄ H ₃₈ O ₄	390	1.948	2.235	
64	三十六烷(Hexatriacontane)	C ₃₆ H ₇₄	507	0.160	0.230	-
已鉴定物占总挥发油的百分含量				93.95	92.25	83.05

参考文献:

- 时珍国医国药,2001,12(9):774.
- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典(上册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002.1377-1378.
- [2] 鲁建江,王莉,陈宏伟,等. 佩兰中挥发油的微波提取法[M].
- [3] 崔兆杰,邱琴,刘延礼. 佩兰中挥发油化学成分的研究[J]. 药物分析杂志,2002,22(5):117-122.
- [4] 孙绍美,宋玉梅,刘俭,等. 佩兰挥发油药理作用的研究[J]. 西北药杂志,1995,10(1):24-26.