

加速溶剂萃取/气相色谱-质谱法 分析朝鲜淫羊藿挥发油成分

陆 钊¹, 高 凯², 潘淑霞³, 汪东芳¹, 张 帅¹

(1. 吉林医药学院 药学院, 132013 吉林 吉林, luzhao712@yahoo.com.cn; 2. 吉林石化分公司电石厂, 132022 吉林 吉林; 3. 吉林医药学院 公共卫生系, 132013 吉林 吉林)

摘 要: 为探究朝鲜淫羊藿挥发油的化学成分, 采用加速溶剂萃取法(ASE)提取朝鲜淫羊藿挥发油, 气相色谱-质谱联用(GC/MS)分析检测, 在完全随机设计优化 ASE 的萃取条件下, 萃取收率 4.0%, 通过 NIST 98 谱图库检索, 确认挥发油中包含 91 种化合物, 并用峰面积归一化法, 求得各化学成分在挥发油中的质量分数. 结果表明: 朝鲜淫羊藿挥发油中的主要化学成分依次为: 4, 4a, 5, 6, 7, 8-2(3H)-萘酮; 1, 2-苯二羧酸; 十氢-4a-甲基-1-萘; N, N'-二(1-甲基)-1, 4-苯二胺; 丁基-1, 2-苯基双环二羧酸; 硼酸乙基二癸酯等.

关键词: 朝鲜淫羊藿; 挥发油; 化学成分; 加速溶剂萃取法; 气相色谱-质谱

中图分类号: Q248.1 文献标志码: A 文章编号: 0367-6234(2011)08-0145-04

Analysis of constituents of volatile oil of *Epimedium koreanum* Nakai by accelerated solvent extraction-GC-MS-chromatographic

LU Zhao¹, GAO Kai², PAN Shu-Xia³, WANG Dong-fang¹, ZHANG Shuai¹

(1. College of Pharmacy, Jilin Medical College, 132013 Jilin, Jilin, China, luzhao712@yahoo.com.cn;

2. Calcium Carbide Factory of PetroChina, Jilin Petrochemical Company Limited, 132022 Jilin, Jilin, China;

3. Department of Basics, Jilin Medical College, 132013 Jilin, Jilin, China)

Abstract: To study the volatile oil of Korean *Epimedium Nakai*, it is extracted by accelerated solvent extraction (ASE), and then identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). In the completely randomized design optimization of extraction conditions ASE, the extraction yield of volatile oil is 4.0%, by retrieving NIST 98 spectrum library, 91 of them were confirmed. With peak area normalization method, the chemical ingredients in the relative content of volatile oil were obtained. The result is that the main constituents of Korean *Epimedium* volatile oil are: 4, 4a, 5, 6, 7, 8-2(3H)-naphthalene-one; 1, 2-benzene dicarboxylic acid; 10hydrogen-4a-methyl-1-naphthalene; N, N'-2(1-methyl)-1, 4-phenylenediamine; -butyl-1, 2-phenyl bicyclic 2-carboxylic acid; two decanoic acid ethyl ester.

Key words: Korean *Epimedium Nakai*; volatile oil; chemical constituents; accelerated solvent extraction method; gas chromatography-mass spectrometry

朝鲜淫羊藿(*Epimedium koreanum* Nakai)是中国药典收载的淫羊藿 5 个主要来源品种之一, 小檗科淫羊藿属多年生草本植物, 地上全草. 为常

用中药, 具有补肾阳、强筋骨、祛风湿之功效. 中医用于治疗阳痿, 半身不遂, 四肢麻木, 神疲健忘, 更年期高血压等症. 在吉林省的长白山地区资源丰富, 分布较广. 目前学者研究多集中在黄酮及多糖方面^[1-2], 对该种淫羊藿挥发油研究未见报道. 有关分析淫羊藿样品前处理方法的报道有超声波萃

收稿日期: 2009-11-16.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20803030).

作者简介: 陆 钊(1972—), 男, 高级工程师.

取法^[3]和水蒸气蒸馏法^[4],加速溶剂萃取法未见报道.加速溶剂萃取(ASE)^[5-10]具有有机溶剂用量少、萃取效率高、选择性好的优点,且使用方便、安全性好、自动化程度高,已经广泛运用于药品、食品、环境样品、化工产品等分析及农检、商检、进出口检验检疫、刑侦等诸多领域.本实验首次采用了加速溶剂萃取法提取朝鲜淫羊藿的挥发油,完全随机设计优化 ASE 的萃取条件下,采用气相色谱-质谱(GC/MS)^[11-13]对其进行分析,结果可靠.本实验可为进一步开发长白山地区的朝鲜淫羊藿提供科学依据.

1 材料和方法

1.1 仪器与材料

朝鲜淫羊藿叶,2009 年 6 月采于吉林省长白山地区,经吉林市丰满区药检所鉴定为 *Epimedium koreanum* Nakai;乙醚,分析纯,天津化学试剂有限公司;无水硫酸钠,分析纯,北京化学试剂厂生产.

ASE100 快速溶剂萃取仪,美国 Dionex 公司生产,配 34 mL 样品池、清洗池和收集瓶;HP5988A 气相色谱-质谱-计算机联用仪,美国

Hewlett-Packard 公司生产;挥发油提取器及回流冷凝装置;旋转蒸发仪.

1.2 方法

加速溶剂萃取法:取朝鲜淫羊藿叶片,粉碎,过 80 目筛,置于 60 ℃烘箱内烘干.提取挥发油用乙醚溶解,加无水硫酸钠干燥,过滤,旋转蒸发仪除去乙醚,得到淡黄色透明液体.

采用完全随机实验方案安排实验,因素水平见表 1.加速溶剂萃取工作参数:萃取压力为 10.3~11.0 MPa;冲洗的体积 60% (每次循环新加入到样品中的新萃取液的体积比);时间为 60 s,循环次数为 1 次,氮气吹扫时间为 1 min.

色谱条件:HP-5 MS 石英毛细管柱(54.25 m×0.25 mm×0.33 μm;气化室温度为 280 ℃;程序升温,40~150 ℃时 3 ℃/min,150~250 ℃时 4 ℃/min;进样口温度为 250 ℃;载气为氦气,流量为 1 mL/min,分流比为 40:1,进样量为 0.8 μL.

质谱条件:EI 离子源温度为 200 ℃;电离电压为 70 eV,接口温度为 260 ℃,扫描范围 *m/z* 为 20~506.

表 1 因素水平

水平	因素			
	萃取溶剂(体积分数)	静态萃取时间/min	萃取温度/℃	样品质量/g
1	100% 石油醚	3	60	1
2	100% 乙酸乙酯	5	90	3
3	95% 无水乙醇	8	120	5

2 结果与讨论

2.1 ASE 萃取完全随机设计试验结果

应用 SPSS14.0(中文版)计算得出方差分析

结果,见表 2.

水平间 $F=1.454$, $P=0.306$,统计结果无差异;因素间 $F=27.752$, $P=0.001$,因素水平差异非常显著.

表 2 方差分析

变异来源	变异	自由度	均方差	方差分析的统计量 <i>F</i> 值	方差分析的统计量 <i>P</i> 值
水平	594.300	2	297.150	1.454	0.306
因素	17 017.384	3	5 672.461	27.752	0.001
误差项	1 226.368	6	204.395		
总变异	18 838.052	11			

为进一步探讨水平间差异,本文进行 LSD 和 Bonferroni 水平间两两比较:1)萃取温度与萃取溶剂、静态萃取时间、样品重量的 LSD 比较, $P=0.000$,差异有统计学意义.2)萃取温度与萃取溶剂、静态萃取时间、样品重量的 Bonferroni 比较, $P=0.002$,差异有统计学意义.

结果表明:在实验范围内,萃取温度为显著因素,其他因素对萃取朝鲜淫羊藿挥发油得率的影响不显著.

所以,萃取朝鲜淫羊藿挥发油的最佳试验条件是:萃取溶剂为 95% 无水乙醇,静态萃取时间为 8 min,萃取温度为 120 ℃,样品质量为 3 g,收率为 4.0%.

2.2 最佳提取条件的验证

为验证萃取条件的正确性,按该组合做 6 组平行试验,挥发油萃取率(质量分数)分别为 4.00%,3.92%,3.97%,3.94%,3.95%,4.05%,

平均值为 3.972% ,RSD 为 0.03% ,有较强的重复性和可靠性.

2.3 GC-MS 分析

取朝鲜淫羊藿挥发油 0.4 μL,进行 GC-MS 联用分析,其总离子流图如图 1 所示.采用计算机对各峰质谱图进行 NIST98 标准库的检索,经解析并与标准谱图对照,共分离出 111 个组分,鉴定出 91 种化合物.利用峰面积归一化法计算各组分的相对质量含量,分析鉴定结果见表 3,所鉴定化学成分占色谱峰总面积的 82.01 %.

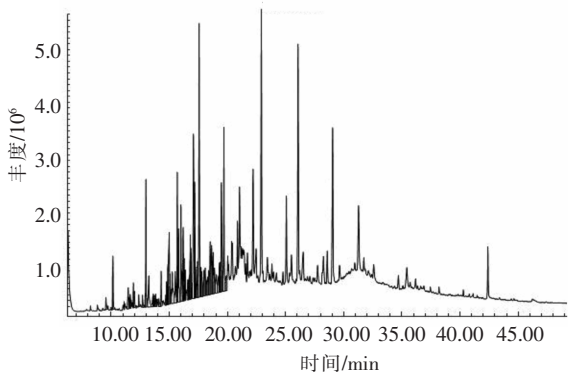


图 1 朝鲜淫羊藿挥发油的 GC/MS 总离子流图

表 3 朝鲜淫羊藿中挥发油的鉴定结果

序号	保留时间/ min	化合物名称	质量分数/%	序号	保留时间/ min	化合物名称	质量分数/%
1	9.55	蚁酸	0.24	47	18.51	十氢化-4a-甲基-1-萜	1.32
2	10.12	壬醛	0.37	48	18.64	3,7,11-三甲基-反-1,6,10- 十二亚乙基四胺-3-醇	1.10
3	10.16	3,7-二甲基-1,6-辛二烯	0.63	49	18.78	4a,5,6,7,8,8a-2(1H)-萜酮	1.03
4	11.13	2-壬烯	0.11	50	18.89	3-甲基-十四(碳)烷	0.62
5	11.47	辛酸	0.51	51	19.24	苄	0.48
6	11.55	冰片	0.18	52	19.31	斯巴醇	0.51
7	11.64	5-甲基-2-(1-甲基)环己醇	0.29	53	19.38	1-(4-氯苯基)-环戊腈	0.58
8	11.92	3-环己烯基-1-甲醇	0.32	54	19.61	环十四(碳)烷	0.35
9	12.00	癸醛	0.33	55	19.70	十六烷	2.72
10	12.38	1-环己烯-1-炔氧基丙酸	0.17	56	19.92	2-甲基-1,7,7-三丁酸	0.54
11	12.70	胡薄荷酮	0.20	57	20.10	(+)(6S,10R)-6,10-二甲基二环[4]	0.58
12	12.93	3,7-二甲基-2,6-辛二烯-1-醇	0.15	58	20.37	3-苯基-1-三甲硅烷基-1-丁烯	1.13
13	12.99	2-癸烯醛	1.51	59	20.43	双环[6.3.0]十一碳-1(8)-烯-3-酮	0.91
14	13.24	壬酸	0.91	60	20.68	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八萜	0.75
15	13.57	2-十一(烷)腈	0.21	61	21.72	6,10,14-三甲基-十五酮	0.89
16	13.63	1,7,7-三甲基-2-环乙酸	0.16	62	21.93	乙基-环十二烷	0.50
17	13.83	2-甲基-萜	0.21	63	22.05	3-双环苯(甲)酰[3.3.1]6-壬烯	0.33
18	14.12	2-甲基-萜	0.17	64	22.21	硼酸乙基二癸酯	2.83
19	14.30	2-甲基双环[4.3.0]-1(6)-壬烯	0.47	65	22.47	2,6,10,14-四甲基十五癸烷	1.32
20	14.70	1-乙基-3-(1-丙烯基)金刚烷	0.15	66	22.92	4,4a,5,6,7,8-2(3H)-萜酮	5.66
21	14.76	2-十一碳烯醛	0.30	67	23.05	1-六癸烯	0.17
22	14.89	1,2-二氢-1,1,6-三萜	0.55	68	23.44	11-亚异丙基三环[4.3.1.1]	0.86
23	15.00	n-癸酸	1.95	69	23.65	8R-8-羟基-亚异丙烷	0.20
24	15.08	丁香香素	0.42	70	23.83	7R,8R-8-羟基-4-异亚丙基-7- 7-甲基双环[5.3.1]十一碳-1-烯	0.40
25	15.26	1,2-二甲氧-4-(2-丙烯)苯	0.92	71	23.98	2-甲基十七(碳)烷	0.26
26	15.69	十四(碳)烷	1.52	72	24.22	3-甲基十七(碳)烷	0.25
27	15.80	N,N-二甲基-苯并唑	1.24	73	24.78	1-十五癸烯	0.26
28	16.01	4-(2,6,6-三甲基)-3-丁烯-2-酮	1.71	74	25.07	八癸烯	1.89
29	16.29	6,10-二甲基-5,9-二烯-2-酮	0.57	75	25.50	2,6,10,14-四甲基十六烷	1.04
30	16.33	丁香香素	0.26	76	26.07	1,2-苯二羧酸	5.29
31	16.38	2,3,5,6-四甲基-贝比碱	0.42	77	26.52	3,7,11,15-四甲基-2-六癸烯	0.98
32	16.59	6-乙烯基-6-甲基-1-环己烯基	0.38	78	27.75	2-十五酮	0.47
33	16.72	1,2,4-三乙基-5-甲基-苯	0.58	79	28.26	十九烷	1.06
34	16.82	丁基化羟基苯甲醚	1.22	80	29.05	丁基-1,2-苯基双环二羧酸	3.83
35	17.08	N,N'-二(1-甲基)-1,4-苯二胺	4.39	81	29.65	植醇	0.39
36	17.19	顺式-1,4-二甲基金刚烷	1.69	82	30.26	四癸酸	0.10
37	17.26	十氢-4a-甲基-1-萜	0.53	83	30.69	n-六癸酸	0.04
38	17.43	庚基环己烷	0.77	84	30.96	n-六癸酸	0.16
39	17.57	十氢-4a-甲基-1-萜	5.12	85	31.28	5-羟基的-3,4'-二甲基-1,1'-联苯	1.97
40	17.68	1,2,4a,5,6,8a-六氢化萜	0.29	86	31.74	二十烷	0.31
41	17.73	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八萜	0.48	87	35.44	植醇	0.89
42	17.81	1-甲基-1-4-(1,2,2-三甲基)-苯	0.60	88	35.72	n-癸酸	0.20
43	17.99	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八萜	0.54	89	38.20	廿二烷	0.16
44	18.09	1,2,3,5,6,8a-六氢化萜	0.74	90	40.29	二十三烷	0.11
45	18.28	2,3-二氢-3,3,4-1H-二氢茛-1-酮	0.55	91	42.4	4-(2-苯乙烯基)-苯胺	1.07
46	18.38	1,2,4-三甲氧基-5-苯	0.47				

结果表明,朝鲜淫羊藿挥发油中的主要化学成分依次为:4,4a,5,6,7,8-2(3H)-萘酮;1,2-苯二羧酸;十氢-4a-甲基-1-萘;N,N'-二(1-甲基)-1,4-苯二胺;丁基-1,2-苯基双环二羧酸;硼酸乙基二癸酯;十六烷;5-羟基的-3,4'-二甲基-1,1'-联苯;n-癸酸;八癸烯;4-(2,6,6-三甲基)-3-丁烯-2-酮;顺式-1,4-二甲基金刚烷;十四(碳)烷;2-癸烯醛;十氢化-4a-甲基-1-萘;2,6,10,14-四甲基十五癸烷;N,N-二甲基-苯并唑;丁基化羟基苯甲醚;3-苯基-1-三甲硅烷基-1-丁烯和3,7,11-反-1,6,10-十二三亚乙基四胺-3-醇。

3 结论

1)挥发油化学成分因其相对分子量小,亲脂性,沸点低,采用加速溶剂萃取法较其他萃取法更易制得。

2)采用了 ASE 技术萃取朝鲜淫羊藿挥发油化学成分的正交实验法,在完全随机设计优化 ASE 的萃取条件下,萃取收率为 4.0%,利用 GC-MS 法分离并确认了 91 种化学成分,占总挥发油的 82.01%。

3)建立了 ASE-GC/MS 分析朝鲜淫羊藿的挥发油化学成分的方法,该方法具有高效、无污染、工艺简单和实用性强等优点。

参考文献:

- [1] 程岩,王新雷,张大威,等. 朝鲜淫羊藿中的非黄酮类化合物[J]. 中草药杂志,2007,38(8):1135-1138.
- [2] 郭洪利,王敏杰,郑金,等. 心叶淫羊藿化学成分研究[J]. 中国药理学杂志,2006,41(14):1060-1062.
- [3] 回瑞华,侯冬岩,李铁纯,等. 萃取淫羊藿挥发油的实验与分析[J]. 分析实验室杂志,2005,24(10):63-66.
- [4] 王丹红,陈玉婷,李飞,等. 巫山淫羊藿叶中挥发油成分的气相色谱-质谱分析[J]. 时珍国医国药杂志,2007,18(12):3022-3023.
- [5] 佟玲,周瑞泽,吴淑琪,等. 加速溶剂提取凝胶渗透色谱净化气相色谱质谱快速测定玉米中多环芳烃[J]. 分析化学,2009,37(3):357-362.
- [6] 陈军辉,杨佰娟,李文,等. 加速溶剂萃取技术在中药有效成分分析中的应用[J]. 色谱杂志,2007,25(5):628-632.

- [7] SANYAL D, RANI A, ALAM S. A multi-residue method for the analysis of organophosphorus residues in cooked and polished rice using accelerated solvent extraction and dispersive-solid phase extraction (D-SPE) technique and uncertainty measurement [J]. Journal of Environmental Science and Health Part B: Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 2009, 44(7): 706-716.
- [8] CHO S K, EL-ATY A M A, PARK Y S, *et al.* A multi-residue method for the analysis of pesticide residues in polished rice (*Oryza sativa* L.) using accelerated solvent extraction and gas chromatography and confirmation by mass spectrometry [J]. Biomedical Chromatography, 2007, 21(6): 602-609.
- [9] SAITO K, SJODIN A, SANDAU C D, *et al.* Development of a accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography analytical method for measuring persistent organohalogen compounds in adipose and organ tissue analysis [J]. Chemosphere, 2004, 57(5): 373-381.
- [10] ABEND A M, CHUNG L, MCCOLLUM D G, *et al.* Development and validation of an automated extraction method (accelerated solvent extraction (R)) and a reverse-phase HPLC analysis method for assay of ivermectin in a meat-based chewable formulation [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2003, 31(6): 1177-1183.
- [11] ADOU K, BONTOLYAN W R, SWEENEY P J. Multi-residue method for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(9): 4153-4160.
- [12] JIANG Jinhua, CHEN Tao. Determination of 39 polychlorinated biphenyls in coastal sediments by ultrasonic extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2009, 37(11): 627-1632.
- [13] ZHAO Jinping, PENG Ping'an, SONG Jinzhong, *et al.* Characterization of organic matter in total suspended particles by thermodesorption and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Environmental Sciences-China, 2009, 21(12): 1658-1666.

(编辑 魏希柱)