

# 超声雾化在线提取气相色谱法测定孜然中挥发性成分

王璐 梁悦 汪子明\* 师宇华 张寒琦

(吉林大学化学学院, 长春 130012)

**摘要** 建立了在线超声雾化提取气相色谱法测定孜然中枯茗醇的方法。利用超声雾化提取法的优势,使样品中的挥发性化合物直接进入提取瓶的顶空气相,再由载气携带入气相色谱仪进行检测。将提取与检测有效地结合起来,减少了提取过程中挥发性成分的损失和基质干扰并简化了实验步骤。实验的最优条件为 10 mL 乙醇提取 5 min,管路温度 80 °C;载气流速 270 mL/min,静置 1 min 后进样 10 s,测定了 3 种不同产地孜然中的枯茗醇,其含量在 13.3~17.7 mg/g 之间,回收率为 95.0%~115.5%。

**关键词** 孜然; 枯茗醇; 超声雾化; 气相色谱; 提取

## 1 引言

孜然为伞形花科孜然芹 (*Cuminum cyminum* L.) 的果实。孜然气味芳香浓烈,主要用于调味、提取香料等。孜然还是优良的天然防腐剂及重要的天然植物源农药。其香味主要来源于其挥发油。据报道,孜然挥发油中的主要成分为枯茗醛、枯茗醇、 $\beta$ -蒎烯、 $\gamma$ -松油烯和对伞花烃等<sup>[1-3]</sup>。

超声辅助提取法是一种常用的提取方法,具有提取时间较短、提取温度低、仪器操作简便、廉价等优点,广泛应用于多种复杂样品中目标化合物的提取<sup>[4-9]</sup>。常用的超声辅助提取中超声水浴装置的频率为 40 kHz,高于 200~1000 kHz 的超声波的雾化作用常被用在室内加湿、喷镀工业和医疗中,将其应用于提取方法的研究较少。本研究将超声雾化提取法与气相色谱在线联用,测定了孜然中枯茗醇的含量。在优化的实验条件下进行测定,测定结果与离线超声雾化提取法相比,证实两种方法所测枯茗醇含量基本一致。但在线方法具有实验步骤少、基体干扰小和易实现自动化等优点。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

超声雾化加湿器 (1.7 MHz, 35 W, 北京亚都公司); HP-4890 气相色谱仪 (美国惠普公司); 热电偶加热带 (奥特温度仪表厂)。正己烷、乙醇、丙酮、石油醚、萘 (分析纯,北京化工厂); 实验用水经 Milli-Q 纯水净化系统 (美国 Millipore 公司) 净化的超纯水。萘用作内标物,其储备液浓度为 4 g/L。枯茗醇标准品 (97%, 美国 Acros 公司), 其标准储备液 (4 mg/L) 由正己烷配制。孜然样品分别购自 3 个产地,样品经粉碎过筛后密封保存。

### 2.2 气相色谱分离

HP-1 毛细管色谱柱 (25.0 m  $\times$  0.32 mm, 0.25  $\mu$ m); 进样口温度: 240 °C; 进样方式: 不分流; 载气流量: 1 mL/min; 色谱柱温: 初温 60 °C, 维持 5 min, 以 5 °C/min 的速率升至 220 °C, 维持 5 min, 用火焰离子化检测器检测。

### 2.3 实验方法

**2.3.1 超声雾化在线提取气相色谱法** 超声雾化在线提取气相色谱法所用实验装置如图 1 所示。提取过程分为 3 步: (1) 超声雾化提取 (图 1A): 将 100 mg 孜然样品粉末、10 mL 乙醇和 100  $\mu$ L 4 g/L 萘内标物加至提取瓶中, 开启超声雾化器, 此时阀 5 控制流速为 270 mL/min 的 N<sub>2</sub> 气不通过提取瓶顶空, 阀 6 控制 N<sub>2</sub> 气通过取样环; (2) 取样过程 (图 1B): 提取 10 min 后, 关闭超声雾化器, 将提取瓶静置 1 min

2009-09-11 收稿; 2009-11-30 接受

\* E-mail: anakhen703@yahoo.com.cn

使得提取瓶顶空的大颗粒的气溶胶落入提取液中。控制阀 5 使得  $N_2$  气通过提取瓶顶空, 将样品气载入取样环中, 通气 1 min (3) 进样过程 (图 1C): 转动阀 6 利用气相色谱的载气将取样环中的样品气载入气相色谱系统。通过 3 步操作实现了样品中挥发性成分的在线测定。

**2.3.2 离线超声雾化提取法** 将 100 mg 样品和 10 mL 乙醇加入提取瓶中, 提取 10 min, 离心提取液, 再加入适量内标物, 并用无水  $Na_2SO_4$  除水后, 进行 GC 分析。

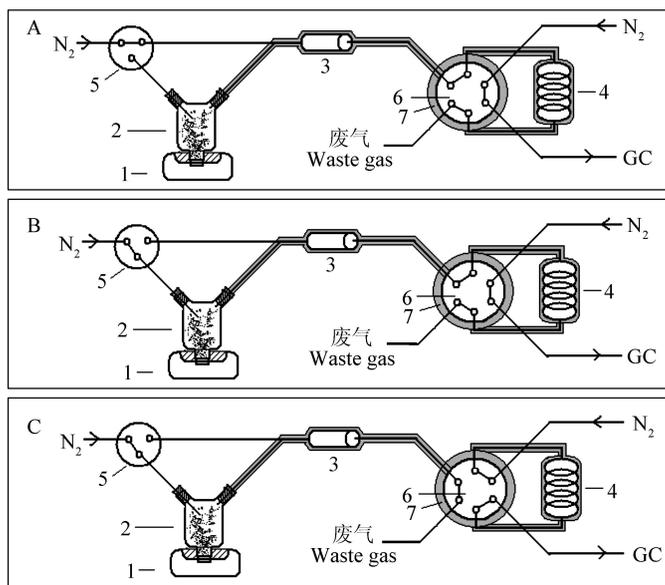


图 1 超声雾化提取气相色谱检测在线联用装置图

Fig 1 Online ultrasonic nebulization extraction (UNE) system

1. 超声雾化器 (Nebulizer); 2 提取瓶 (Extraction vessel); 3 过滤柱 (Filtration column); 4 取样环 (Sampling loop); 5 三通阀 (Three way valve); 6 六通阀 (Six way valve); 7. 加热带 (Heating tape).  
(A) 超声雾化提取 (Extraction); (B) 取样过程 (Sampling); (C) 进样过程 (Injection).

## 3 结果与讨论

### 3.1 实验条件的优化

超声雾化所用超声波频率约为 1.7 MHz, 高能超声波作用使得提取液如喷泉状喷起, 形成气溶胶, 并充满提取瓶的顶空。样品颗粒中的挥发性成分在超声波的空穴作用下被提取至提取液中, 再在“超声喷泉”的作用下, 样品颗粒随提取液被反复喷起。由于样品颗粒被不断地搅动和形成的气溶胶具有较大的比表面积, 加快了挥发性化合物的气液分配平衡。

**3.1.1 提取剂的选择** 选取正己烷、乙醇、丙酮和石油醚为提取溶剂进行测定。其它提取条件为: 提取 5 min, 管路温度 80 °C, 载气流速 270 mL/min, 静置 1 min 后进样 10 s, 实验结果如图 2 所示。4 种溶剂对枯茗醇均有较好的提取效果。在相同时间内, 乙醇的提取率略高, 这可能是由于不同溶剂对待测物枯茗醇的溶解度的差异引起的。为了得到更高的灵敏度, 实验选用乙醇为提取剂。

**3.1.2 提取时间的优化** 以 10 mL 乙醇提取 100 mg 样品, 提取时间分别为 3, 5, 10, 15 和 20 min,

其它提取条件为: 管路温度 80 °C, 载气流速 270 mL/min, 静置 1 min 后进样 10 s, 经比较可知, 提取时间为 5 min 时所得提取率最高。提取时间长于 5 min 后提取率略有下降。故提取时间选择为 5 min。

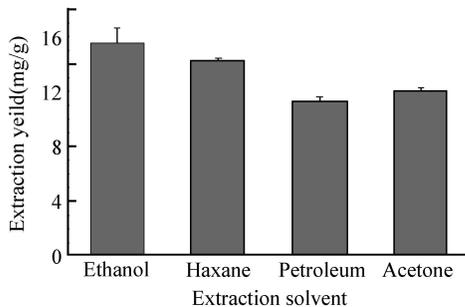


图 2 提取剂对枯茗醇提取率的影响

Fig 2 Influence of the extraction solvent

**3.1.3 管路温度选择** 由于在取样时样品气中会包含少量气溶胶, 而气溶胶如果在管路中碰撞凝结会影响取样甚至会阻塞管路。所以在提取瓶出口之后所有的连接管路以及取样环和取样阀都用加热带进行加热, 保证这些气溶胶能气化。管路温度在 20、50、80 和 110 °C 下对枯茗醇的提取率分别为 6.1、15.0、44 和 3.6 mg/g。50 °C 时所得枯茗醇提取率明显高于其它温度, 这可能与样品气中混合物的露点在 50 °C 附近有关。温度过低, 气溶胶颗粒将凝结在管壁上, 并且溶解少量气相中的枯茗醇使得样品气中枯茗醇浓度降低; 温度过高, 被引入样品管中的气溶胶将汽化后体积膨胀, 使得单位体积中的被测物浓度下降, 导致测得枯茗醇的提取率降低。为了获得更高的灵敏度, 管路温度选用 50 °C。

**3.1.4 正交试验设计** 载气流速过快使得样品气被稀释, 而过慢的载气携带能力差, 样品气不均匀。在超声雾化提取后, 提取瓶中充满了颗粒不等的气溶胶, 此时马上取样会造成大量气溶胶被导入管路中, 碰撞后凝结在管路内壁而阻塞管路, 故雾化提取后需要静止一段时间使得大颗粒的气溶胶沉降入提取液中后再进行取样操作。取样时间同样也显著影响枯茗醇的提取率, 取样时间过长样品瓶顶空样品气逐渐被吹扫稀释后, 样品气浓度过低, 取样时间过短会使取样环中的样品气平衡不足, 取样精密度差。实验选取三因素三水平设计方案, 实验结果如表 1 所示。经过极差分析法分析可以看出, 静置时间对提取率的影响最大, 取样时间的影响最小。优化的实验条件为: 10 mL 乙醇提取 5 min, 管路温度 80 °C, 载气流速 270 mL/min, 静置 1 min 后进样 10 s。

表 1 正交试验设计表

Table 1 Orthogonal experimental design

实验序号 Number	载气流速 Flow rate of purging (mL/min)	进样时间 Injection time (s)	静置时间 Standstill time (min)	峰面积 Peak area
1	200	10	1	8.25
2	200	20	3	6.49
3	200	30	5	5.71
4	270	10	1	6.88
5	270	20	3	5.37
6	270	30	5	8.45
7	360	10	1	5.29
8	360	20	3	7.81
9	360	30	5	5.41
Σ	20.81	20.68	24.92	
	21.03	19.98	19.01	
	18.63	19.81	16.53	
X	6.93	6.89	8.30	
	7.01	6.66	6.33	
	6.21	6.60	5.51	
R	0.79	0.29	2.80	

### 3.2 样品分析

将 4 mL/L 枯茗醇标准储备液配制成浓度分别为 0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 和 1.0 mL/L 的标准溶液, 在优化的提取条件下进行在线和离线提取。在线与离线方法测得标准曲线分别为  $A = 0.45922 + 46.34507c$  和  $A = -0.10073 + 30.14137c$ 。线性相关系数  $r$  分别为 0.9985 和 0.9994。本方法的检出限为 0.0005 mL/L。方法的回收率按如下方法测定: 将 100 mg 样品粉末、100 μL 4 g/L 萘标准溶液和 9.25 mL 乙醇加入提取瓶中, 再加入 0.75 mL 4 mL/L 枯茗醇标准溶液, 在最优的实验条件下进行测定。典型的色谱图如图 3 所示。

离线超声雾化法的提取效果已经被一些文献报道<sup>[1, 10, 11]</sup>, 其提取效果与常规水蒸馏法基本一致。比较在线和离线两种方法可以验证在线方法的准确性。将 3 种不同产地的孜然样品经在线和离线提取法进行测定后, 结果列在表 2 中。从表 2 可见, 3 种样品中枯茗醇含量略有差别, 其主要原因是产地、收割时间和储藏环境等条件影响。另外, 在线超声雾化气相色谱联用法和离线超声雾化法所得枯茗醇含量基本一致, 回收率和精密度良好。

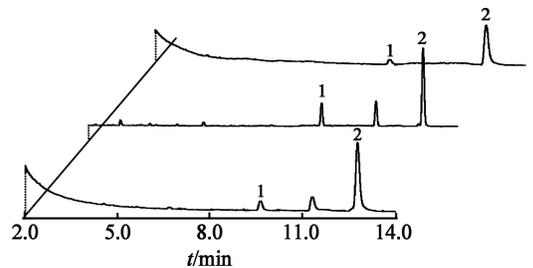


图 3 标准品 (a); 样品离线提取 (b); 样品在线提取 (c) 的色谱图

Fig. 3 Chromatograms of standard solution (a), extracts obtained by off line UNE (b) and on-line UNE (c)

1 萘溶液 (Naphthalene); 2 枯茗醇 (Cumic alcohol).

表 2 在线和离线方法测定 3 种孜然样品中枯茗醇的含量

Table 2 Contents of cumic alcohol in fruit of *Cuminum cyminum* L. obtained from different cultivated areas

样品 Sample	方法 Method	提取产率 Extraction yield (mg/g)	相对标准偏差 RSD (%)	加标量 Added (mg/g)	测定量 Found (mg/g)	回收率 Recovery (%)	相对标准偏差 RSD (%)
1	Online	14.8	2.4	20.0	43.1	115.5	0.55
1	Offline	14.3	5.9	20.0	38.2	90.9	2.8
2	Online	17.7	2.3	20.0	39.0	95.0	2.6
2	Offline	15.8	3.8	20.0	40.9	104.9	2.7
3	Online	13.3	4.1	20.0	41.5	107.5	1.0
3	Offline	14.4	5.9	20.0	40.5	102.7	2.1

## References

- 1 Wang L, Wang ZM, Zhang HH, Li XY, Zhang HQ. *Anal Chim Acta*, **2009**, 647(1): 72~77
- 2 YAN Jiarhui(阎建辉), TANG KeWen(唐课文), ZHONG Ming(钟明), DENG Ninghua(邓宁华). *Chinese Journal of Chromatography*(色谱), **2002**, 20(6): 569~572
- 3 Li R, Jiang ZT. *Flavour Fragr J*, **2004**, 19(4): 311~313
- 4 GUO MingQuan(郭明全), SONG FengRu(宋凤瑞), CHEN MaoLian(陈貌连), LIU ZhiQiang(刘志强), LIU ShuYing(刘淑莹). *Chinese J. Anal Chem.* (分析化学), **2002**, 30(2): 250
- 5 LI JiYun(李纪云), LI Li(李丽), FENG ChengWu(冯成武). *Chinese J. Anal Chem.* (分析化学), **2000**, 28(2): 263
- 6 Zuo YG, Zhang LL, Wu JP, Fritz JW, Medeiros S, Rego C. *Anal Chim Acta*, **2004**, 526(1): 35~39
- 7 Rostagno MA, Palma M, Barroso CG. *J Chromatogr A*, **2003**, 1012(2): 119~128
- 8 Sivakumar V, Anna JL, Vijayeeswari J, Swaminathan G. *Ultrason Sonochem.*, **2009**, 16(6): 782~789
- 9 Vinatoru M. *Ultrason Sonochem.*, **2001**, 8(3): 303~313
- 10 Wang L, Li D, Bao CL, You JY, Wang ZM, Shi YH, Zhang HQ. *Ultrason Sonochem.*, **2008**, 15(5): 738~746
- 11 WANG Lu(王璐), LIANG Yue(梁悦), WANG Ziming(汪子明), LI Dan(李丹), YOU Jingyan(游景艳), LI Hongmei(李红梅), SHI YuHua(师宇华), ZHANG Hanqi(张寒琦). *Chinese J. Anal Chem.* (分析化学), **2009**, 37(4): 597~601

## Determination of Volatile Component from Fruit of *Cuminum cyminum* L. by Ultrasonic Nebulization Extraction Coupled with On-line Gas Chromatography

WANG Lu, LIANG Yue, WANG Ziming\*, SHI YuHua, ZHANG Hanqi

(College of Chemistry, Jilin University, Changchun 130012)

**Abstract** The gas chromatography coupled with on-line ultrasonic nebulization extraction (UNE) was developed to the extraction and determination of cumic alcohol from fruit of *Cuminum cyminum* L. In this experiment the analyte can rapidly be extracted and transferred from the solid sample to gas phase. And then the sampling gas was introduced into GC. The proposed on-line system can reduce loss of analyte and affect of sample matrix and simplify the experimental operation. The experimental parameters of on-line UNE are as follows: extraction solvent of 10 mL alcohol; extraction time of 5 min; tubing temperature of 80 °C; flow rate of purging gas of 270 mL/min; standstill time of 1 min and sampling time of 10 s. Three kinds of samples were analyzed. The extraction yields of cumic alcohol were 13.3–17.7 mg/g from three kinds of samples and the recoveries were 95.0%–115.5%.

**Keywords** *Cuminum cyminum* L.; Cumic alcohol; Ultrasonic nebulization extraction; Gas chromatography

(Received 11 September 2009; accepted 1 November 2009)