

不同方法提取的莲子心挥发油气质联用成分分析*

林文津, 徐榕青, 张亚敏

(福建省医学科学研究所 福建省医学测试重点实验室 福州 350001)

摘要 目的: 分析比较采用超临界 CO₂流体萃取法与水蒸气蒸馏法提取的莲子心提取物中挥发性化学成分的异同。方法: 使用水蒸气蒸馏法和超临界 CO₂萃取技术从莲子心中提取挥发性成分, 用归一化法测定其百分含量。用气相色谱-质谱(GC-MS)计算机联用技术分离鉴定其中的化学组成。结果: 莲子心超临界 CO₂流体萃取物中初步鉴定了 25 种成分, 主要成分为: 2-氯亚油酸乙酯(42.85%), n-十六烷酸(21.06%), Z-9, 17-十八碳二烯醛(11.99%); 水蒸气蒸馏法提取挥发油初步鉴定了 36 种成分, 主要成分为 14-甲基-十五烷酸甲酯(11.43%), 8, 11-十八碳二烯酸甲酯(8.95%), 十五烷(6.89%)。结论: 超临界 CO₂流体萃取法提取的挥发油能更真实、全面地反映药材中的化学成分。

关键词: 莲子心; 挥发油; 超临界 CO₂萃取法; 水蒸气蒸馏法; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: R917 文献标识码: A 文章编号: 0254-1793(2009)11-1858-05

GC-MS analysis of chemical constituents of the essential oil from *Plumula nelumbinis* by different extraction methods

LIN Wen-jin, XU Rong-qing, ZHANG Ya-min

(Fujian Institute of Medical Sciences, Fujian Key Laboratory of Medical Measurement, Fuzhou 350001, China)

Abstract Objective To compare the chemical constituents of the essential oil from *Plumula nelumbinis* by supercritical fluid extraction and steam distillation by using the GC-MS analysis. **Methods** The essential oils were extracted from the plumule of *Nelumbo nucifera* Gaertn by supercritical fluid extraction (SFE) and steam distillation (SD). The amounts of the components from the essential oil were determined by normalization method. The components were separated and identified by GC-MS. Chromatographic conditions were: Capillary column HP-5MS 5% Phenylmethylsiloxane Capillary 30.0 m × 250 μm × 0.25 μm nominal; Injector temperature 250°C; Program temperature initial column temperature 50°C, maintained 3 min, and increased to 250°C at the rate of 4°C · min⁻¹, held 7 min; Splitless injection. **Result** There were 25 components from *Plumula nelumbinis* by SFE which separated and identified by GC-MS. The major constituents are n-Hexadecanoic acid (21.06%), 2-Chloroethyl linoleate (42.85%) and (Z)-, 9, 17-Octadecadienal (11.99%). There were 36 components from *Plumula nelumbinis* by SD. The major constituents are Pentadecanoic acid 14-methyl-, methyl ester (11.43%), 8, 11-Octadecadienoic acid, methyl ester (8.95%) and Pentadecane (6.89%). **Conclusion** The result got by SFE method can reflect the chemical components of the medicinal materials more accurately and more comprehensively.

Key words *plumula nelumbinis*; volatile oil; supercritical fluid extraction (SFE); steam distillation (SD); GC-MS

莲子心为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根, 具有清心安神, 交通心肾, 涩精止血的功效^[1], 主要成分为异喹啉类生物碱。目前, 生物碱分离鉴定和含量分析方面的研究报道较多^[2], 亦有多糖^[3]、黄酮^[4]、非酚

性生物碱和非生物碱类^[5]研究的报道。本实验参考文献方法^[6, 7], 采用水蒸气蒸馏提取及超临界 CO₂流体萃取技术从莲子心中萃取挥发性成分, 并使用气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 方法进行化学成分分析, 为下一步优化莲子心提取物制备工艺及制定

* 福建省科技计划重点项目 (2007Y0013)

第一作者 Tel: (0591) 87514999, E-mail: lwjin@sinacn.com

质量标准提供参考。

1 仪器与试剂

仪器: W2-100SP恒温水浴锅(上海申生科技有限公司), HA221-40-11超临界CO₂流体萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司), 气相色谱-质谱联用仪(Agilent 6890N GC-5975MS), R206旋转蒸发器(上海申生科技有限公司), 艾科浦超纯水系统(重庆颐洋企业发展有限公司), AL204电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司)。

试剂: 95%乙醇、乙醚等试剂均为国产分析纯。

药材: 莲子心购自福州回春中药饮片有限公司, 批号: 071123 产地: 福建建阳, 经鉴定该品种为睡莲科植物莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn 的成熟种子中的干燥幼叶及胚根。

2 莲子心水蒸气蒸馏提取液的制备

精密称取莲子心粗粉 200 g 按照 2005年版中国药典(一部)挥发油测定法项下的甲法蒸馏提取莲子心挥发油, 将得到的挥发油用 40 mL 乙醚溶解, 加入无水硫酸钠适量, 放入冰箱脱水, 进样前用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

3 莲子心超临界 CO₂流体萃取溶液的制备

精密称取莲子心粗粉 200 g 装入 1L 的萃取罐中, 夹带剂为 95%乙醇, 按质量体积比 1:1.5 加入。萃取路线为: CO₂钢瓶 → 冷却系统 → 高压泵 → 萃取

釜 → 解析釜 I → 解析釜 II → 精馏柱 → CO₂储罐 → 循环。萃取温度 55 °C, 萃取压力 25 MPa 加入夹带剂, 至仪器达到设定条件时开始计时, 循环萃取 1.5 h。萃取结束后, 从解析釜 I、解析釜 II 中放出萃取物, 得到约 300 mL 深绿色液体。将收集到的萃取物经旋转蒸发器浓缩成浸膏后, 用 40 mL 乙醚萃取, 萃取液中加入无水硫酸钠适量, 放入冰箱脱水, 进样前用 0.45 μm 微孔滤膜滤过。

4 莲子心挥发油提取物的 GC-MS分析

GC条件: 毛细管柱: HP-5MS5% 苯基甲基硅氧烷毛细管(30.0 m × 250 μm × 0.25 μm), 柱温为 50 °C ~ 250 °C, 50 °C 保持 3 min, 程序升温 4 °C · min⁻¹, 250 °C 保持 7 min, 总分离时间为 1 h。设定 GC 条件: 进样口温度: 250 °C; 进样量: 1 μL; 进样方式: 不分流; 载气: 氦气; 体积流量: 1 mL · min⁻¹ 恒流模式; 传输线温度: 280 °C。

MS条件: 电离方式: EI 电子轰击能量: 70 eV, 离子源温度: 230 °C, 四极杆温度: 150 °C, 扫描范围: 40~450 amu, 溶剂延迟时间: 3 min。

将水蒸馏法及超临界流体萃取法提取所得样品分别进行 GC-MS 分析, 其总离子流图见图 1。所得各组分峰的质谱数据运用计算机谱库 NIST05 自行检索比较, 并核对标准图谱, 确定其化学结构, 初步鉴定了 59 种化学成分, 结果显示两种提取方法提取的成分差异较大, 结果见表 1。

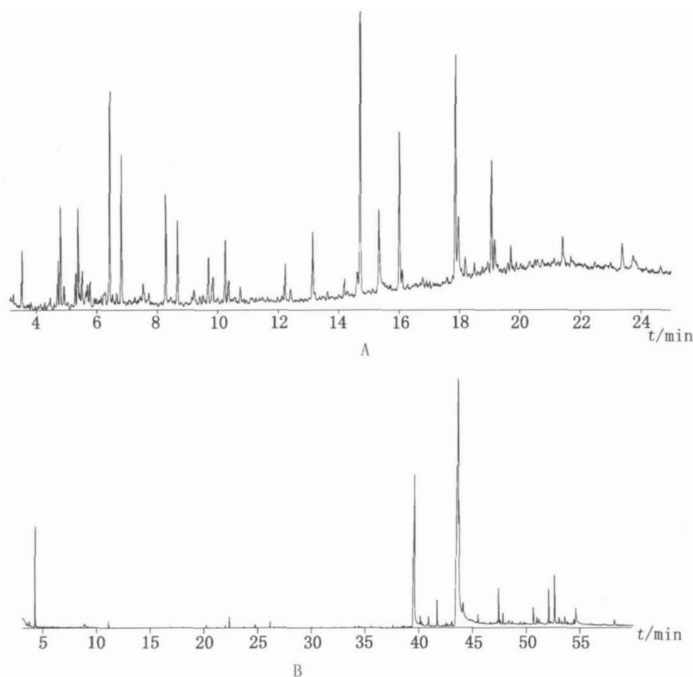


图 1 水蒸馏提取物(A)和超临界萃取物(B)总离子流图

Fig 1 Water distillation extraction(A) and supercritical extract(B) total ion flow graph

表 1 莲子心不同提取方法提取物 GC-MS成分分析表

Tab 1 Component analysis of different extraction method extracts from *Plumula nelumbinis* by GC-MS

序号(NO.)	化合物名称 (compound)	分子式 (formula)	分子量 (M _t)	相对含量 (relative content) %	
				SD	SFE
1	十三烷 (tridecane)	C ₁₃ H ₂₈	184.22	1.66	—
2	E-5-十四烯 (E-tetradecene)	C ₁₄ H ₂₈	196.37	1.36	—
3	十四烷 (tetradecane)	C ₁₄ H ₃₀	198.24	2.96	—
4	N-(3,5-二硝基-2-醛)-L-氨基丁二酸 (N-(3,5-dinitropropylidene-2-yl)-L-aspartic acid)	C ₉ H ₈ N ₄ O ₈	300.03	0.87	—
5	长叶烯 (1,4-methanoazulene, decahydro-4,8,8-trimethyl-9-methylene)	C ₁₃ H ₂₄	204.40	1.02	—
6	α-雪松烯 (α-cedrene)	C ₁₅ H ₂₄	204.19	3.28	—
7	B-柏木烯 (1H-3a,7-methanoazulene octahydro-3,8,8-trimethyl-6-methylene)	C ₁₃ H ₂₄	204.19	1.56	—
8	2-氨基-5-[(2-羧基)乙烯]咪唑 (imidazole 2-amino-5-[(2-carboxy)vinyl])	C ₆ H ₇ N ₃ O ₂	153.05	0.90	—
9	二十八烷 (octacosane)	C ₂₈ H ₅₈	394.45	1.04	—
10	十五烷 (pentadecane)	C ₁₅ H ₃₂	212.25	6.89	—
11	2,6-二叔丁基对羟基甲苯 (butylatedHydroxytoluene)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.18	5.19	—
12	2-溴基-乙醇 (ethanol 2-bromo)	C ₂ H ₅ BrO	123.95	1.30	—
13	十六烷 (hexadecane)	C ₁₆ H ₃₄	226.27	4.03	—
14	雪松醇 (cedrol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222.20	3.08	—
15	2,6,10,14-四甲基-十六烷 (hexadecane, 2,6,10,14-tetramethyl)	C ₂₀ H ₄₂	282.33	0.85	—
16	6,9-十七烷二烯 (6,9-heptadecadiene)	C ₁₇ H ₃₂	236.25	1.75	—
17	E-15-十七碳烯醛 (E-15-heptadecenal)	C ₁₇ H ₃₂ O	252.25	1.59	—
18	1-碘代-十六烷 (hexadecane 1-iodo)	C ₁₆ H ₃₃ I	352.16	3.45	—
19	11-溴代十一烷酸甲酯 (undecanoic acid 11-bromo-, methyl ester)	C ₁₂ H ₂₃ BrO ₂	278.09	0.63	—
20	十八烷 (octadecane)	C ₁₈ H ₃₈	254.30	1.36	—
21	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 (2-pentadecanone 6,10,14-trimethyl)	C ₁₈ H ₃₆ O	268.28	2.28	—
22	十九烷 (nonadecane)	C ₁₉ H ₄₀	268.52	0.71	—
23	1-甲酰-2,2-二甲基-3-反式-(3-甲基-2-丁烯)-6-次甲基环己烷 (1-formyl-2,2-dimethyl-3-trans-(3-methylbut-2-enyl)-6-methylidene-cyclohexane)	C ₁₅ H ₂₄ O	220.18	1.25	—
24	14-甲基-十五烷酸甲酯 (pentadecanoic acid 14-methyl-, methyl ester)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.26	11.43	—
25	n-十六烷酸 (n-hexadecanoic acid)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.24	5.44	21.06
26	十六烷酸甲酯 (hexadecanoic acid, ethylester)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.27	5.99	—
27	二十烷 (eicosane)	C ₂₀ H ₄₂	282.56	1.03	—
28	8,11-十八碳二烯酸甲酯 (8,11-octadecadienoic acid methyl ester)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294.26	8.95	—
29	12-十八碳烯酸甲酯 (12-octadecenoic acid, methyl ester)	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296.27	4.06	—
30	1,7,11-三甲基-4-(1-甲基乙基)-环十四烷 (cyclotetradecane 1,7,11-trimethyl-4-(1-methylethyl))	C ₂₀ H ₄₀	280.53	1.33	—
31	去甲替林 (nortriptyline)	C ₁₉ H ₂₁ N	263.17	0.95	—
32	亚油酸乙酯 (linoleic acid ethyl ester)	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	308.27	4.98	0.58

续表 1

序号(NO.)	化合物名称 (compound)	分子式(formula)	分子量 (Mt)	相对含量 (relative content) %	
				SD	SFE
33	N- (1, 1- 二甲基乙基) - α - 甲基 - γ - 苯 - 苯基丙胺 (benzenepropamine N- (1, 1- diethyl- ethyl) - alpha - methyl- gamma - phenyl -)	C ₂₀ H ₂₇ N	281. 21	2. 20	—
34	十七烷 (heptadecane)	C ₁₇ H ₃₆	240. 28	1. 26	—
35	1- 叶绿素二十七烷 (heptacosane, 1- chloro-)	C ₂₇ H ₅₅ Cl	414. 40	1. 84	—
36	二十四烷 (tetracosane)	C ₂₄ H ₅₀	338. 39	1. 50	—
37	1- 甲氧基丁烷 (butane 1- methoxy-)	C ₅ H ₁₂ O	88. 09	—	4. 20
38	桉叶素 (eucalyptol)	C ₁₀ H ₁₈ O	154. 14	—	0. 30
39	反式 - β - 松油基丁醇 (trans- beta - terpinylbutanol)	C ₁₄ H ₂₄ O ₂	224. 18	—	0. 56
40	1, 4- 二甲基 - 3, 3'- 吡嗪 - 2, 5- 二酮 (piperazine- 2, 5- dione 1, 4- dimethyl- 3, 3'- bis-)	C ₁₂ H ₁₈ N ₄ O ₄	282. 13	—	0. 34
41	1, 3, 3- 三甲基 - 2- (1- 甲基 - 1- 丁烯 - 3- 酮 - 1- 醛) - 1- 环己烯 (1- cyclohexene, 1, 3, 3- trimethyl- 2- (1- methylbut- 1- en- 3- on- 1- yl) -)	C ₁₄ H ₂₂ O	206. 17	—	0. 50
42	5- (4- 氟苯氨基) - 苯并咪唑 - 2(3H) - 酮 (benzimidazol- 2(3H) - one, 5- (4- fluorobenzylamino) -)	C ₁₄ H ₁₂ FN ₃ O	257. 10	—	0. 57
43	7- 异丙基 - 1, 1, 4a- 三甲基 - 1, 2, 3, 4, 4a, 9, 10, 10a- 八氢菲 (7- isopropyl- 1, 1, 4a- trimethyl- 1, 2, 3, 4, 4a, 9, 10, 10a- octahydrophenanthrene)	C ₂₀ H ₃₀	270. 24	—	1. 55
44	2- 氯亚油酸乙酯 (2- chloroethyl linoleate)	C ₂₀ H ₃₅ ClO ₂	343. 00	—	42. 85
45	Z- 9, 17- 十八碳二烯醛 (9, 17- octadecadienal (Z) -)	C ₁₈ H ₃₂ O	264. 25	—	11. 99
46	Z, Z- 9, 12- 十八碳二烯酸 (9, 12- octadecadienoic acid (Z, Z) -)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280. 24	—	0. 59
47	N- 苯基 - 2- 萘胺 (2- naphthalene N- phenyl -)	C ₁₆ H ₁₃ N	219. 10	—	0. 57
48	乙基磷酸化庚基五氟苯甲基 (heptyl pentafluorobenzyl ethyl phosphate)	C ₁₆ H ₂₂ F ₅ O ₃ P	388. 12	—	2. 24
49	1, 3- 二甲基 - 5, 7- di- n- 双苯戊酸二乙胺乙酯 (1, 3- dimethyl- 5, 7- di- n- propyladamantane)	C ₁₈ H ₃₂	248. 25	—	0. 70
50	1- 甲基 - 3- (2- 苯基乙基) - 4- 氮菲 (4- azaphenanthrene 1- methyl- 3- (2- phenylethyl) -)	C ₂₂ H ₁₇ N	295. 14	—	1. 27
51	三甲基硅氧基己烷 (hexane 2, 5- bis(trimethylsilyloxy) -)	C ₁₂ H ₃₀ O ₂ Si ₂	262. 18	—	0. 57
52	十六烷酸 - 2, 3- 二羟丙基酯 甘油酯 (hexadecanoic acid 2, 3- dihydroxypropyl ester)	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	330. 50	—	0. 47
53	1- (2- 氨基苯亚甲基) - 1, 2, 3, 4- 四氢吡啶氮氧化物 (1- (2- aminobenzylidene) - 1, 2, 3, 4- tetrahydroacridine N- oxide)	C ₂₀ H ₁₈ N ₂ O	302. 14	—	2. 20
54	N- 苯甲硫基二苯胺 (carbonyl di- N- benzylthio-)	C ₂₀ H ₁₈ N ₂ S	318. 12	—	3. 40
55	4- 雄甾烯 - 6β - 醇 - 3, 7- 二酮 3(4- androsten- 6 beta - ol- 3, 7- dione)	C ₁₉ H ₂₆ O ₃	302. 19	—	0. 40
56	R- 2', 3', 8', 8'a- 四氢化 - 5', 6'- 甲氧基 - 1'- 甲基 - 螺 [2, 5- 环己二烯 - 1', 7'(1H) 盐酸环戊酸乙胺酯异喹啉] - 4- 酮 (spiro [2, 5- cyclohexadiene- 1, 7'(1H) - cyclopent[ij] isoquinolin] - 4- one 2', 3', 8', 8'a- tetrahydro- 5', 6'- dimethoxy- 1'- methyl-, (R) -)	C ₁₉ H ₂₁ NO ₃	311. 15	—	0. 55
57	6- 硝基 - 1- (2, 6, 6- 三甲基 - 环己酮 - 1- 烯基) - 1- 十一烯 - 3- 酮 (6- nitro- 1- (2, 6, 6- trimethyl- cyclohex- 1- enyl) - undec- 1- en- 3- one)	C ₂₃ H ₃₃ NO ₃	335. 25	—	0. 37

续表

序号(NO.)	化合物名称(Compound)	分子式(Molecular formula)	分子量(Molecular weight)	相对含量(relative content) %	
				SD	SFE
58	Z,Z-9,12-十八酸二烯酸-2,3-二羟丙基酯(Z,Z-9,12-octadecadienoic acid(Z,Z)-,2,3-dihydroxypropyl ester)	C ₂₁ H ₃₈ O ₄	354.28	—	1.59
59	2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯(2,6,10,14,18,22-tetracosahexaene 2,6,10,15,19,23-hexamethyl-)	C ₃₀ H ₅₀ O	410.39	—	0.56

5 结论与讨论

由表1可知,超临界CO₂萃取法与水蒸气蒸馏法相比,两种提取方法得到的挥发油组分及含量相差较大。两种方法提取的挥发油,仅有2种组分相同,而且各组分的含量有明显的差异。超临界萃取法萃取出的挥发油中,大部分为高沸点的酸、醛、酮及不饱和烷烃类物质,而在用水蒸气蒸馏法提取的挥发油中,大部分为低沸点的酯类、饱和烷烃、烯、酸等。这可能与超临界CO₂萃取法与水蒸气蒸馏法相比可萃取出较高沸点组分,大分子质量的成分相对较多,所以低沸点的小分子物质由于相对含量较低,未能检出有关。

与文献报道^[7,8]氯仿提取的脂溶性成分比较发现,除主要成分含量差异较大外,水蒸气提取法提取的成分大部分为已被氧化的酯类及饱和烷烃,这可能与水蒸气蒸馏法的提取过程时间长、温度高、系统开放,其过程易造成热不稳定及易氧化成分的破坏及挥发损失有关。此外,本次试验未发现文献^[6]报道的前荷叶碱,这可能与使用的溶剂不同有关,我们使用的是乙醚而前者使用的是乙醇。该文报道的另一主要成分为亚油酸乙酯,本次得到的却是2-氯亚油酸乙酯,是否与使用的溶剂不同或者与所用莲子心产地不同有关,有待进一步研究。

超临界CO₂萃取法具有萃取过程短、操作温度低、有效成分不易被分解破坏、提取收率高、无溶剂残留等优点,在萃取过程中排除了一些化学成分遇氧化及见光反应的可能性,既可以提取低沸点的易挥发性成分,避免破坏具有易氧化性的烯类组分,又可以提取出较多的醇、酯、不饱和酸及热不稳定组分,较水蒸气蒸馏法更能真实、全面地反映药材中的化学组分,从而可使各组分相对含量的数值直接用于鉴定药材质量的真假与优劣。该技术的广泛应用将为中药GAP研究、工业化生产、提高中草药药用价值以及对我国的天然药物进入国际市场起到较大

的促进作用。

参考文献

- 1 ChP(中国药典). 2005. Vol I (一部): 193
- 2 LI Wen-long(李文龙), CHEN Jun-hui(陈军辉), YIN Yue-fen(殷月芬), *et al* Analysis of alkaloids in semen nelumbinis by accelerated solvent extraction-high performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time of flight-mass spectrometry(加速溶剂萃取-高效液相色谱-电喷雾飞行时间质谱联用分析莲子心中生物碱). *Anal Chem* (分析化学), 2008, 36(1): 79
- 3 YU Yuan-zhi(俞远志), WU Ya-lin(吴亚林), PAN Yuan-jiang(潘远江). Extraction, isolation and antioxidant activity of the polysaccharides from embryo of the seeds of *Nelumbo Nucifera* Gaertn. (莲子心多糖的提取、分离和抗氧化活性研究). *J Zhejiang Univ(Sci Ed)* [浙江大学学报(理学版)], 2008, 35(1): 48
- 4 XIA Jia-hong(夏稼红), TAO Ran(陶冉), FAN Nai-bing(范乃兵), *et al* Determination of the total flavonoids from plumule of *Nelumbo nucifera* by spectrophotometry(紫外分光光度法测定莲子心总黄酮的含量). *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2008, 24(2): 116
- 5 TAO Ran(陶冉), PAN Yang(潘扬), JIANG Ya-ping(蒋亚萍), *et al* Studies on the nonphenolic alkaloids and non-alkaloid constituents of plumule of *Nelumbo Nucifera* (莲子心非酚性生物碱和非生物碱类成分的研究). *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2008, 24(3): 173
- 6 JIA Yi-min(季爱民), CHE Ou(车瓠), XU Feng(徐峰), *et al* Carbon dioxide extraction of primary compositions in seed of *Nelumbo Nucifera* by SFE(莲子心超临界CO₂萃取物化学成分分析). *China Pharm* (中国药业), 2006, 15(2): 31
- 7 ZHANG Lian-wen(张连文), HE Yuan(贺媛), CUI Qing-xin(崔庆新). Chemical constituents in volatile oil from plumule of *Nelumbo Nucifera* (莲子心挥发油成分分析). *China Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(8): 695
- 8 PAN Yang(潘扬), YANG Guang-ming(杨光明), ZHANG Xian(张弦), *et al* Analysis of liposoluble components from plumule of *Nelumbo Nucifera* by gas chromatography-mass spectrometry(不同产地莲子心脂溶性成分的GC-MS分析). *J Nanjing Univ Tradit Chin Med* (南京中医药大学学报), 2007, 23(6): 374

(本文于2009年5月22日收到)