

蜡梅花挥发油成分的 GC-MS 分析

熊敏^{1,2} 周明芹³ 向林⁴ 吴华¹ 陈龙清¹

1. 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070; 2. 北京市农林科学院蔬菜研究中心, 北京 100097;
3. 长江大学园艺园林学院, 荆州 434023; 4. 浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310021

摘要 采用同时蒸馏萃取法提取蜡梅鲜花与干花中的挥发油, 并利用毛细管气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪对蜡梅鲜花与干花挥发油的成分进行定性和定量分析。结果表明: 蜡梅鲜花与干花的挥发油提取率分别为 0.57%、0.71%。从蜡梅鲜花挥发油中鉴定出 45 种化学物质, 占挥发油色谱总峰面积的 92.62%; 从蜡梅干花中鉴定出 41 种化学物质, 占挥发油色谱总峰面积的 87.08%。蜡梅鲜花与干花挥发油的化学成分基本一致, 主要成分为石竹烯、长叶烯、 β -榄香烯、大叶香烯、茅苍术醇、 α -愈创木烯。

关键词 蜡梅; 挥发油; 同时蒸馏萃取; 气相色谱-质谱; 提取率

中图分类号 S 685.99 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2012)02-0182-05

蜡梅(*Chimonanthus praecox*)为蜡梅科蜡梅属植物, 也是我国特产的多年生观赏植物, 在我国分布广泛, 资源极其丰富^[1]。蜡梅花挥发油用途广泛, 在食品工业和香料中大量应用。国内外关于蜡梅香精的提取研究刚刚起步, 主要集中在蜡梅花和蜡梅叶成分的提取、鉴定以及药理等方面的研究^[2]。

目前用于实验室挥发油提取的方法主要有水蒸气蒸馏法、顶空吸附法、同时蒸馏萃取法。挥发油成分分析多采用气相色谱-质谱联用技术。康杰芳等^[3]用水蒸气蒸馏法提取阴干的华西银蜡梅挥发油, 鉴定了 39 种化合物; 江婷等^[4]用水蒸气蒸馏法提取蜡梅鲜花挥发油, 鉴定了 65 种化合物; 周明芹等^[5-6]采用顶空固相微萃取吸附法分析蜡梅鲜花花香及其花色色素, 鉴定了 37 种化合物; 李正国等^[7]采用同时蒸馏萃取法提取素心蜡梅和红心蜡梅鲜花的挥发油, 分别鉴定了 38 种和 42 种化合物, 为区别蜡梅品种间的香气差别和进一步开发利用蜡梅属植物资源提供了参考。

笔者采用同时蒸馏萃取法提取蜡梅花挥发油, 比较蜡梅鲜花和蜡梅干花挥发油的提取率及化学成分的差异, 为蜡梅花遗传改良和化学成分形成机制研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蜡梅鲜花采自华中农业大学校园内, 蜡梅干花与同批蜡梅鲜花在自然条件(25℃)下阴干所得。Varian cp-3800-Saturn 2200 GC-MS(瓦里安公司)气相色谱-质谱联用仪, 石油醚为分析纯, 提取器采用同时蒸馏萃取装置(simultaneous distillation extraction, SDE)。

1.2 试验方法

1) 挥发油的提取。称取盛花期花朵 20 g(20 g 蜡梅鲜花自然状态阴干后为 5.7 g), 用液氮快速研磨成粉末, 加入 600 mL 蒸馏水置于 2 L 样品瓶中浸泡 30 min。量取 50 mL 石油醚(30~60℃)倒入溶剂瓶中, 置于 45℃环境, 水浴加热, 连续蒸馏萃取 4 h, 保持馏出液 1~2 滴/min。蒸馏结束后为保证提取效果, 冷却萃取液 20 min。分液漏斗将溶剂瓶中融有蜡梅挥发油的石油醚萃取液静置使其自然分层, 收集上层溶液于离心管中, 置于 4℃保存 2 h, 之后继续将溶液置于-20℃保存 5 h。在相同环境下快速除去离心管下面少量冰块, 并用封口膜将离心管口密封。在低温(≤ 0 ℃)环境中用氮气小心吹去全部石油醚, 得到黄色油状液体, 为蜡梅花挥发油, 置于

收稿日期: 2011-08-12

基金项目: 国家自然科学基金项目(30571310)

熊敏, 硕士。研究方向: 园林植物种质资源及利用。E-mail: xiongmin@nerv.org

通讯作者: 陈龙清, 博士, 教授。研究方向: 园林植物及观赏园艺。E-mail: chenlq0206@163.com

冰箱中冻藏,待 GC-MS 分析其挥发性香气成分。

2)气相色谱-质谱联用仪分析条件。色谱条件: HP-5MS 石英毛细管柱(50 m×0.25 mm×0.5 μm),程序升温:石英毛细管柱初始温度为 60 °C, 4 °C/min 升温至 150 °C,保持 5 min,再以 15 °C/min 升温至 250 °C,保持 2 min,柱流量 1 mL,进汽化室 250 °C,载气为 He。质谱条件:EI 离子源,电子能源 70 eV,分辨率 500,离子源温度 230 °C,接口温度 280 °C,扫描范围 40~400 amu。进样量:1 μL,不分流。

2 结果与分析

2.1 蜡梅鲜花与蜡梅干花挥发油的提取率

通过同时蒸馏萃取法提取蜡梅鲜花、干花挥发油,二者的提取率差异明显,鲜花挥发油提取率

0.57%,干花挥发油提取率为 0.71%(换算成蜡梅鲜花质量计算,提取率为 0.24%)。

2.2 挥发油成分的 GC-MS 分析

采用同时蒸馏萃取法(SDE)提取蜡梅鲜花和干花挥发油,GC-MS 分析蜡梅鲜花与蜡梅干花挥发油成分,总离子流图分别见图 1 和图 2。从图中可看出两者离子流色谱图并没有明显不同,主要是峰面积大小的细微差别,使用计算机质谱数据库(NBS)进行检索,从而确定蜡梅鲜花和干花挥发油成分名称。从蜡梅鲜花中分离出 49 种化合物,鉴定了其中的 45 种化合物,占挥发性成分的 92.62%;从蜡梅干花中分离出 43 种化合物,鉴定了其中的 41 种化合物,占挥发性成分的 87.08%。挥发油经气相色谱数据系统按峰面积归一化法计算得出各成分相对百分含量见表 1。从蜡梅鲜花和干花中萃取的

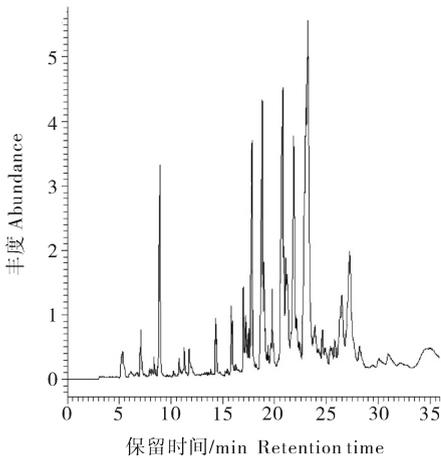


图 1 蜡梅鲜花挥发油的总离子流图

Fig. 1 Total ions chromatogram of essential oils from fresh wintersweet flowers

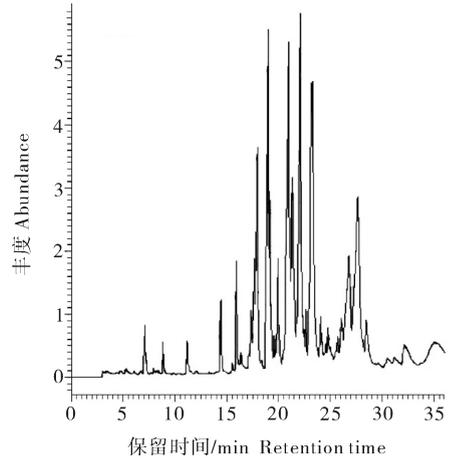


图 2 蜡梅干花挥发油的总离子流图

Fig. 2 Total ions chromatogram of essential oils from dry wintersweet flowers

表 1 蜡梅挥发油化学成分 GC-MS 分析结果¹⁾

Table 1 Chemical constituents of the volatile oil in *Chimonanthus praecox* by GC-MS

序号 No.	化合物 Compounds	分子式 Formula	RCFEO/%	RCDEO/%
1	3,7,7-三甲基二环[4,1,0]庚-3-烯 3,7,7-Trimethyl-bicyclo[4,1,0]hept-3-ene	C ₁₀ H ₁₆	0.257	0.170
2	α-蒎烯 α-Pinene	C ₁₀ H ₁₆	0.100	0.147
3	罗勒烯 Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	1.184	0.983
4	芳樟醇 Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	0.324	0.363
5	1,3,7-二甲基-1,3,7-辛三烯 1,3,7-Dimethyl-1,3,7-octatriene	C ₁₀ H ₁₆	1.711	1.522
6	乙酸苯甲酯 Benzyl acetate	C ₉ H ₁₀ O ₂	2.826	3.102
7	壬醛 Nonanal	C ₁₀ H ₁₈ O	0.300	0.361
8	紫丁香醇 2,6-Dimethoxyphenol	C ₈ H ₁₀ O ₃	0.296	0.229
9	未定 Undefined		0.849	0.703
10	十四烷醇 Tetradecanol	C ₁₄ H ₃₀ O	0.060	—
11	马兜铃烯 Aristolene	C ₁₅ H ₂₄	0.782	0.673
12	乙酸乙脑酯 Bornylacetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.683	0.516

续表 1 Continued from Table 1

序号 No.	化合物 Compound	分子式 Formula	RCFEO %	RCDEO/%
13	4-丁基苯乙酮 4-Butylacetophenone	C ₁₂ H ₁₆ O	1.028	0.841
14	邻乙酰苯酚 O-Acetoacetylphenol	C ₁₀ H ₁₀ O ₃	0.759	0.657
15	未定 Undefined		<0.010	—
16	别罗勒烯 Ocimene	C ₁₀ H ₁₆	1.731	1.790
17	异喇叭茶烯 Lsoledene	C ₁₅ H ₂₄	1.330	1.060
18	未定 Undecided		0.883	0.844
19	茅苍术醇 Hinesol	C ₁₅ H ₂₆ O	5.489	5.075
20	β-葎草烯 β-Humulene	C ₁₅ H ₂₄	<0.010	—
21	长叶烯 Longifolene	C ₁₅ H ₂₄	8.122	8.179
22	β-新丁香三环烯 β-Neodovene	C ₉ H ₁₂ N ₂ O ₃	1.850	1.178
23	β-愈创木烯 β-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	0.493	0.434
24	α-毕澄茄油烯 α-Cubebene	C ₁₅ H ₂₄	0.405	0.425
25	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-异丙基)-萘 1,2,3,4,4a,5,6,8a-(8H)-7-Methylene-1-(1-isopropyl)	C ₁₅ H ₂₄	0.358	0.401
26	Aciphyllene	C ₁₅ H ₂₄	1.485	1.458
27	石竹烯 Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	9.087	8.682
28	1,2,3,4,4a,7,8,8a-八氢-1,6-二甲基-4-(1-异丙基)-甲萘 1,2,3,4,4a,7,8a-(8H)-1,6-Dimethyl-4-(1-isopropyl)-methylnaphthalene	C ₁₅ H ₂₆ O	1.828	2.101
29	沉香螺萜醇 Agarospirol	C ₁₅ H ₂₆ O	1.950	1.993
30	胡萝卜醇 Carotol	C ₁₅ H ₂₄	2.719	2.979
31	大香叶烯 Germacrene	C ₁₅ H ₂₄	6.565	5.240
32	古巴烯 Copaene	C ₁₅ H ₂₄	0.927	—
33	依兰烯 Ylangene	C ₁₅ H ₂₄	<0.010	—
34	环氧柏木烷 α-Cedrene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	3.938	4.079
35	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-α,α,4a,8-四甲基-二萘甲醇 1,2,3,4,4a,5,6,8a-(8H)-α,α,4a,8-Tetramethyl-2-naphthalenemethanol	C ₁₅ H ₂₆ O	4.952	4.991
36	榄香烯 Elemene	C ₁₅ H ₂₄	4.292	4.611
37	α-愈创木烯 α-Guaiene	C ₁₅ H ₂₄	3.439	3.325
38	β-榄香烯 β-Elemene	C ₁₅ H ₂₄	7.018	6.253
39	杜香醇 Ledol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.854	0.811
40	十氢-α,α,4α-三甲基-8-甲基-二萘甲醇 (10H)-α,α,4α-Trimethyl-8-methyl-2-naphthal-enemethanol	C ₁₅ H ₂₆ O	<0.010	—
41	T-杜松醇 T-Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.627	0.490
42	蓝桉醇 Globulol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.296	0.220
43	表圆线藻烯 Epizonarene	C ₁₅ H ₂₄	0.851	0.759
44	△-芹子烯 △-Selinene	C ₁₅ H ₂₄	0.839	0.688
45	1,2,3,4,4a,5,6,8a-八氢-7-甲基-4-亚甲基-1-(1-异丙基)萘 1,2,3,4,4a,5,6,8a-7-Methyl-4-methylene-1-(1-isopropyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	1.415	1.411
46	木罗醇 Muurolol	C ₁₅ H ₂₆ O	1.375	1.083
47	未定 Undefined		1.718	1.666
48	α-法呢烯 α-Farnesene	C ₁₅ H ₂₄	7.108	7.752
49	1,2,3,5,6,7,8,8a-八氢-1,8a-二甲基-7-(1-异丙基)-萘 1,2,3,5,6,7,8,8a-(8H)-1,8a-Dimethyl-7-(1-isopropyl)-naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	0.719	0.536

1)RCFEO:鲜样挥发油相对含量 Relative content of fresh *Chimonathus praecox* essential oil; RCDEO:干样挥发油相对含量 Relative content of dry *Chimonathus praecox* essential oil; “—”表示该成分不存在 “—”indicates that the composition does not exist.

挥发油主要是烯萜类、醇类等化合物。蜡梅鲜花和蜡梅干花挥发油的主要成分基本相同,各成分相对百分含量有所差别。2种挥发油中相对含量较高的有石竹烯、长叶烯、β-榄香烯、茅苍术醇、大香叶烯和α-愈创木烯,在蜡梅鲜花挥发油中含量分别为9.087%、8.122%、7.018%、5.489%、6.565%、

3.439%;在蜡梅干花挥发油中含量分别为8.682%、8.179%、6.253%、5.075%、5.240%、3.325%。

3 讨论

本研究中蜡梅鲜花与干花挥发油提取率均比前人试验的提取率高,康杰芳等^[3]提取阴干的华西银

蜡梅挥发油,提取率为0.41%;江婷等^[4]提取新鲜蜡梅花挥发油,提取率为0.12%。在同等条件下鲜花挥发油的提取率为干花的2倍。蜡梅干花提取率偏低可能是由于蜡梅花在自然状态阴干的过程中,低沸点香味成分的释放所致。这在一定程度上说明在蜡梅花挥发油成分中,低沸点的成分含量比较高。

本研究中用GC-MS对蜡梅鲜花和干花挥发油成分测定,为确保各成分达到理想的分离效果以及保证出峰的连续性,在检测过程中多次对升温速率和保持时间进行调整,结果与前人研究结果存在一定的区别。肖炳坤等^[8]研究认为,蜡梅属植物的蜡梅花挥发油均含有 α -蒎烯(α -pinene)、1,8-桉叶素(1,8-cineole)、 β -蒎烯(β -pinene)、柠檬烯(limonene)、龙脑(borneol)、芳樟醇(linalool)、樟脑(camphor)、异龙脑(isoborneol)。郑瑶青等^[9]通过循环吹气吸附法收集蜡梅花香气,通过气相色谱-质谱联用技术确定蜡梅花花香成分,其中主要成分为罗勒烯、芳樟醇、乙酸苯甲酯。Hiroshi等^[10]用顶空吸附法收集蜡梅花花香成分,并用气相色谱-质谱联用技术分析其香味成分,确定蜡梅花主要成分为乙酸苜酯、反式- β -罗勒烯、芳樟醇和苯甲醇。Deng等^[11]用顶空吸附收集蜡梅花花香成分,并用气相色谱-质谱联用技术分析其香味成分,确定蜡梅花主要成分为苯甲醇、 α -芳樟醇、水杨酸甲酯。江婷等^[4]用水蒸气蒸馏法提取鲜蜡梅花精油,本试验中提取蜡梅花精油主要成分与其部分相同,但单组分含量都在4%以上的只有 β -榄香烯、石竹烯、大香叶烯D、 α -法呢烯。周明芹等^[5]采用固相微萃取对华中农业大学蜡梅花6个品种花香成分进行研究,6个品种中共同含有的花香成分是 β -月桂烯、反式- β -罗勒烯、 γ -松油烯、萘品油烯、芳樟醇、别罗勒烯、石竹烯、大香叶烯D、 β -橙椒烯、乙酸苜酯,本研究与其相比较,相同的成分是芳樟醇、别罗勒烯、石竹烯、大香叶烯D。通过蜡梅花挥发油主要成分的比较,主要成分各自差异明显,但可知 β -榄香烯、石竹烯、大香叶烯D、芳樟醇在蜡梅花中普遍存在。蜡梅花挥发油主要成分差异明显,可能与蜡梅生长的地理环境、采花时间、提取方法以及成分检测仪器的不同等因素有关。由于蜡梅花生长的地理环境不同,不同的气候使蜡梅花花期有差别及采花时间的差别都可能造成蜡梅花挥发油主要成分的不同及各成分相对百分含量的差异。张文标等^[12]研究认为,对于同一物种,位于高光照下的植株花朵开放速度显著加快。

因此,在高光照环境下生长的蜡梅,挥发油中部分低沸点成分在自然开放状态下挥发量相对减少,使得提取的挥发油成分相对含量升高。另外处于半开期的花朵,自然状态下挥发量少,提取的蜡梅花挥发油成分相对含量较高;而盛花期花朵嗅之香味甚浓,浓于半开之时,说明蜡梅花的低沸点香味成分正在挥发损耗。对于不同的提取方法和不同沸点的萃取剂以及控制温度,对提取挥发油不同沸点成分也有差异;不同的成分检测仪器、不同的计算机质谱检索库,对挥发油成分的定性造成了一定影响。

综上所述,本研究中利用同时蒸馏萃取法提取蜡梅鲜花和蜡梅干花2种挥发油,通过气相色谱-质谱联用技术对2种挥发油成分进行分析,得出2种挥发油主要成分相同,且相对百分含量相差不大;相同条件下尽管蜡梅干花的提取率不足蜡梅鲜花提取率的一半,但主要成分相同,挥发的只是部分低沸点的成分而不是挥发油的主要成分,并不影响到挥发油的香味品质。由于蜡梅花开花期受季节限制,利用鲜花提取挥发油需要提供合适的保存环境,提高了生产成本。因此,利用蜡梅干花提取挥发油解决了受花期的影响和保存条件的限制,有利于大规模生产蜡梅花挥发油。然而由于蜡梅干花在自然阴干过程中低沸点成分的挥发,导致蜡梅挥发油的香味与原香味有一定的差别,在后续研究中可以摸索真空干燥的条件,减少蜡梅花香味成分的损失;另外本研究中采用氮气吹干石油醚获得蜡梅挥发油,速度慢且石油醚不能回收重新利用,影响了在工业生产上速度及原料的损耗,在以后的试验中需要更深入的探索。

参 考 文 献

- [1] 张若蕙,沈湘林. 蜡梅科的分类及地理分布与演化[J]. 北京林业大学学报,1999,21(3):6-9.
- [2] 卢航,苟琳. 蜡梅叶醇提取抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(5):2660-2661.
- [3] 康杰芳,李焱. 华西银蜡梅挥发油化学成分的研究[J]. 西北植物学报,2006,26(7):1478-1481.
- [4] 江婷,苑金鹏,程传格,等. 蜡梅花挥发油化学成分分析[J]. 光谱实验室,2005,22(6):1329-1332.
- [5] 周明芹,向林,陈龙清. 蜡梅花香及花色色素成分的初步研究[J]. 北京林业大学学报,2007,29(S1):22-25.
- [6] 周明芹,陈龙清. 蜡梅花色素种类的初步分析[J]. 华中农业大学学报,2010,29(1):107-110.
- [7] 李正国,刘明春,邓伟,等. 素心蜡梅和红心蜡梅挥发油成分分析[J]. 精细化工,2008,25(10):985-988.

- [8] 肖炳坤,刘耀明. 腊梅属植物分类、化学成分和药理作用研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2003,17(2):59-63.
- [9] 郑瑶青,朱芸,张瑞英. 蜡梅鲜花香气成分的研究[J]. 北京大学学报:自然科学版,1990,26(6):667-673.
- [10] HIROSHI A, MASAO T, YOSHINORI A. Floral scent chemistry and stamen movement of *Chimonanthus praecox* (L.) Link (Calycanthaceae)[J]. The Japanese Society for Plant Systematics, 2005, 56(2):197-201.
- [11] DENG C H, SONG G, HU Y M. Rapid determination of volatile compounds emitted from *Chimonanthus praecox* flowers by HS-SPME-GC-MS[J]. Z Nsturforsch, 2004, 59:636-640.
- [12] 张文标,金则新. 濒危植物夏蜡梅(*Sinocalycanthus chinensis*)的开花物候与传粉成功[J]. 生态学报, 2008, 28(8):4037-4046.

Analysis of essential oil in *Chimonanthus praecox* by GC-MS

XIONG Min^{1,2} ZHOU Ming-qin³ XIANG Lin⁴ WU Hua¹ CHEN Long-qing¹

1. College of Horticulture and Forestry Sciences,

Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Vegetable Research Center, Beijing Academy of
Agricultural and Forestry Sciences, Beijing 100097, China;

3. College of Horticulture and Gardening, Yangtze University,
Jingzhou 434023, China;

4. Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences,
Hangzhou 310021, China

Abstract The essential oil was obtained from the flowers of fresh *Chimonanthus praecox* and dry *Chimonanthus praecox* by simultaneous distillation extraction method and the compounds of essential oils were assayed with combined capillary gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The result showed that the extracted ratio of fresh *Chimonanthus praecox* and dry *Chimonanthus praecox* essential oil is 0.57% and 0.71%, respectively. A total of 45 and 41 compounds were identified in fresh *Chimonanthus praecox* and dry *Chimonanthus praecox*, respectively, representing 92.623% and 87.078% of the total peak area. These chemical constituents mainly included caryophyllene, longifolene, β -elemene, germa-crene, hinesol, α -guaiene.

Key words *Chimonanthus praecox*; essential oil; simultaneous distillation extraction; gas chromatography-mass spectrometry; extracted ratio

(责任编辑:陆文昌)