

# 滁菊精油的超临界流体萃取及全二维色谱分析

黄贵凤<sup>1</sup>, 徐志强<sup>2</sup>, 葛少林<sup>2</sup>, 黄 兰<sup>2</sup>, 田振锋<sup>2</sup>, 邹 鹏<sup>2</sup>, 杨 俊<sup>1</sup>

(1. 中国科学技术大学化学系, 安徽合肥 230026;

2. 安徽中烟工业有限责任公司技术中心, 安徽省烟草化学重点实验室, 安徽合肥 230088)

**摘要:**以超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取(SFE)结合全二维气相色谱-飞行时间质谱(GC×GC-TOF/MS)分析, 提取和鉴定滁菊精油的化学成分。采用正交试验设计考察 SFE 萃取压力、夹带剂添加量、萃取温度、萃取时间和 CO<sub>2</sub> 流量等因素对精油得率的影响。获得最佳萃取条件为萃取压力 35 MPa, 夹带剂添加量 16%, 温度 55 °C, 时间 3 h, CO<sub>2</sub> 流量 5.0 kg/h; 得率为 6.40%。通过比对色谱数据库的保留指数和 TOF/MS 的谱库检索, 共鉴定出精油中的 92 种组分, 其主要成分为萜类物质, 占已鉴定化合物的 66.74%。此外, 首次在菊属植物中初步检出 3,4-二氢-β-紫罗兰酮、5,6-环氧化物-β-紫罗兰酮、3-羟基-5,6-环氧基-β-紫罗兰酮等 3 种重要的花香类物质。

**关键词:**超临界流体萃取; 全二维气相色谱/飞行时间质谱; 滁菊; 精油成分

中图分类号: O657.7+1

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.0253-2778.2016.10.004

**引用格式:** 黄贵凤, 徐志强, 葛少林, 等. 滁菊精油的超临界流体萃取及全二维色谱分析[J]. 中国科学技术大学学报, 2016, 46(10): 814-820, 831.

HUANG Guifeng, XU Zhiqiang, GE Shaolin, et al. Analysis of essential oil of *Dendranthema morifolium* cv. *Chuju* by GC×GC-TOF/MS with supercritical CO<sub>2</sub> extraction [J]. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2016, 46(10): 814-820, 831.

## Analysis of essential oil of *Dendranthema morifolium* cv. *Chuju* by GC×GC-TOF/MS with supercritical CO<sub>2</sub> extraction

HUANG Guifeng<sup>1</sup>, XU Zhiqiang<sup>2</sup>, GE Shaolin<sup>2</sup>, HUANG Lan<sup>2</sup>,  
TIAN Zhenfeng<sup>2</sup>, ZOU Peng<sup>2</sup>, YANG Jun<sup>1</sup>

(1. *Department of Chemistry, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China;*

*Anhui Key Laboratory of Tobacco Chemistry, Technology Center, China Tobacco Anhui Industrial Co., Ltd, Hefei 230088, China*)

**Abstract:** The chemical compounds of essential oil from the flowers of *Dendranthema morifolium* cv. *Chuju* were studied by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry (GC×GC-TOF/MS) combined with supercritical carbon dioxide extraction (SFE). The effects of SFE different parameters including extraction pressure, co-solvent content, extraction time, extraction temperature and CO<sub>2</sub> flow rate on the essential oil yield was investigated using orthogonal array design. The results indicate that the optimal extraction conditions are as follow: pressure 35 MPa, co-solvent content 16%,

收稿日期: 2016-04-11; 修回日期: 2016-05-17

基金项目: 中国烟草总公司科技重大专项项目(110201301030CBR-051), 安徽省烟草化学重点实验室开放基金(0920140421001)资助。

作者简介: 黄贵凤, 女, 1990年生, 硕士。研究方向: 分离科学。E-mail: sa130190@mail.ustc.edu.cn

通讯作者: 杨俊, 博士/副教授。E-mail: yjun8202@ustc.edu.cn

temperature 55 °C, extraction time 3 h and CO<sub>2</sub> flow rate 5.0 kg/h. Under the optimal extraction conditions, the essential oil yield is 6.40%. By searching TOF/MS spectral library and comparing the GC×GC retention indices with database values, 92 compounds are identified. The major constituents in the essential oil are terpenoids which make up 66.74% of the identified volatile compounds. In addition, three important floral aroma components, 3,4-didehydro-β-ionone, β-Ionon-5,6-epoxide, 3-Hydroxy-5,6-epoxy-β-ionone are rudimentarily found in *Dendranthema morifolium*.

**Key words:** supercritical fluid extraction; comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry; *Dendranthema morifolium* cv. Chuju; essential oil

## 0 引言

滁菊是菊科植物菊的干燥头状花序,主产于安徽滁州。其气味清香、味甘,具有清热解毒、护肝明目、增加人体免疫力等功效,是药茶两用佳品<sup>[1]</sup>。药理研究表明,菊花精油组分是其药理活性的主要成分<sup>[2-4]</sup>。目前,滁菊精油提取多采用水蒸气蒸馏法<sup>[5]</sup>和同时蒸馏萃取法<sup>[6]</sup>,方法操作简单,但提取率低,且高温操作条件对目标成分的破坏严重。超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取(SFE)提取率高,萃取条件温和,已成为获得高品质精油的有效手段<sup>[7]</sup>。检测精油组分常用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)<sup>[2,4-5]</sup>,但传统一维 GC-MS 分辨率和灵敏度低、分离效果不佳,难以对复杂的精油体系进行准确鉴定。全二维气相色谱与飞行时间质谱联用技术(GC×GC-TOF/MS)具有峰容量大、分辨率高、分离能力强、鉴定迅速和准确等特点,已成为石油化工、植物精油等复杂体系样品中化学组分分离分析的有效方法<sup>[8]</sup>。

本文采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取滁菊精油,通过优化 SFE 的萃取压力、夹带剂添加量、温度、时间和 CO<sub>2</sub> 流量对精油萃取得率的影响,确定 SFE 最佳条件。利用 GC×GC-TOF/MS 技术,结合 GC×GC 保留指数和 TOF/MS 谱库检索,实现目标精油化学组分的有效分离和鉴定。

## 1 实验

### 1.1 试剂与材料

标准样品 L(-)-樟脑、龙脑购于北京世纪奥科生物技术有限公司;α-石竹烯、β-金合欢烯为加拿大 ChromaDex 公司产品;3-甲基-2-环己烯酮为日本 TCI 公司产品(纯度均大于 98%)。C<sub>6</sub>~C<sub>40</sub> 的正构烷烃(纯度 95.5%)为美国 Sigma-Aldrich 公司产品。乙醇、二氯甲烷(分析纯)为德国 Merck 公司产

品;2013 年份滁菊样品由滁州市滁菊研究所提供。

### 1.2 仪器与设备

7890A 全二维气相色谱(美国 Agilent 公司);Pegasus 4D 飞行时间质谱(美国 LECO 公司);KT-2001 型冷喷调制解调器(美国 Zoex 公司);SFE-2 型超临界流体萃取仪(美国 Applied Separation 公司);7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司)。

### 1.3 色谱-质谱仪器系统

#### 1.3.1 GC×GC-TOF/MS 分析条件

GC×GC 一维柱为 HP-5MS 色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),二维柱为 DB-17HT 色谱柱(1.5 m×0.1 mm×0.1 μm)。一维柱初始温度 60 °C,恒温 1 min 后以 5 °C/min 升温到 270 °C,保持 5 min;二维柱初始温度 70 °C,恒温 1 min 后以 5 °C/min 升温到 280 °C,保持 5 min。色谱进样口温度 250 °C,进样量 1.0 μL,分流比 50:1。载气为纯度大于 99.9% 的氦气,流速 1.0 mL/min。调制周期 4 s。TOF/MS 的电离源(EI)电子能量 70 eV;检测器电压 1 650 V;传输线温度 260 °C;离子源温度 230 °C;采集频率 100 Hz,质量扫描范围 33~450 amu。

#### 1.3.2 GC-MS 分析条件

DB-5 石英毛细管柱:60 m×0.25 mm×0.25 μm;升温程序为:60 °C,保持 1 min,以 5 °C/min 升温到 270 °C,保持 5 min。高纯氮作为载气,流速 1 mL/min,分流比 10:1。进样口温度 250 °C,传输线温度 260 °C,进样量 1 μL,EI 源电子能量 70 eV,质量扫描范围 50~350 amu。

### 1.4 样品制备

称取约 55 g 滁菊粉末(40 目)于 SFE 萃取釜(体积 100 mL)中,根据单因素试验和正交试验设计条件,确定萃取釜加热温度、萃取压力。定量泵入 50% 乙醇水溶液的夹带剂与 CO<sub>2</sub> 充分混合形成超临界流体,静态浸泡样品 30 min。调整 CO<sub>2</sub> 流量进

行动态萃取,达到动态萃取设定的时间后关闭仪器. 试验获得黄色油状萃取物即滁菊精油,称量并计算得率. 将精油样品溶解于 15 mL 二氯甲烷,过 0.45  $\mu\text{m}$  的有机滤膜,进行 GC $\times$ GC-TOF/MS 分离与鉴定.

### 1.5 数据处理

采用 LECO 公司的 Chroma TOF 软件 (V 4.32),识别信噪比大于 100 的色谱峰. 软件自动完成峰的采集、去卷积以及 NIST 谱库检索. 色谱保留指数由仪器软件根据 Van den Dool 和 Kratz 公式<sup>[9]</sup>计算得到. 色谱定性结果与质谱 NIST 谱库比对后生成组分鉴定表.

## 2 结果与讨论

### 2.1 超临界流体萃取条件的优化

#### 2.1.1 单因素轮换试验

超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取的影响因素包括萃取压力、夹带剂种类及添加量、萃取温度、萃取时间、CO<sub>2</sub> 流量等<sup>[10-11]</sup>. 根据文献<sup>[7, 12-13]</sup>,采用单因素轮换试验,以 50% 乙醇水溶液为夹带剂,分别选择萃取压力为 15, 20, 25, 30, 35 MPa, 夹带剂添加量 0, 8%, 16%, 24%, 32%, 萃取温度 35, 45, 55, 65, 75  $^{\circ}\text{C}$ , 萃取时间 1, 2, 3, 4, 5 h, CO<sub>2</sub> 流量 2.0, 3.5, 5.0, 6.5, 8.0 kg/h 的条件下,考察各因素对滁菊精油萃取得率大小的影响. 结果表明,获得高精度得率的超临界萃取条件为萃取压力 30 MPa、夹带剂添加量 16%、萃取温度 45  $^{\circ}\text{C}$ 、萃取时间 3 h 和 CO<sub>2</sub> 流量 5.0 kg/h.

#### 2.1.2 正交设计试验

在单因素轮换试验的基础上,选取萃取压力、夹带剂添加量、萃取温度、萃取时间、CO<sub>2</sub> 流量等因素及各因素最佳点附近的 4 个水平,选用表 1 所示的 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 正交设计方案,进行了 16 组试验. 计算各因素在不同水平上滁菊精油得率的平均值( $k_j$ )和极差( $R_j$ )值<sup>[14]</sup>列于表 1 中.  $R_j$  是评价因素显著性的参数,其大小表示该因素对试验指标影响程度的大小. 由表 1 可知,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取条件对滁菊精油得率影响程度的大小顺序为萃取压力 > 夹带剂添加量 > 萃取温度 > 萃取时间 > CO<sub>2</sub> 流量. 获得 SFE 最佳萃取工艺条件为萃取压力 35 MPa, 夹带剂添加量 16%, 萃取温度 55  $^{\circ}\text{C}$ , 萃取时间 3 h, CO<sub>2</sub> 流量 5 kg/h. 在此条件下重复 3 次萃取试验,滁菊精油的平均得率为 6.40%.

表 1 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取的 L<sub>16</sub>(4<sup>5</sup>) 正交试验表

Tab. 1 Orthogonal array design matrix

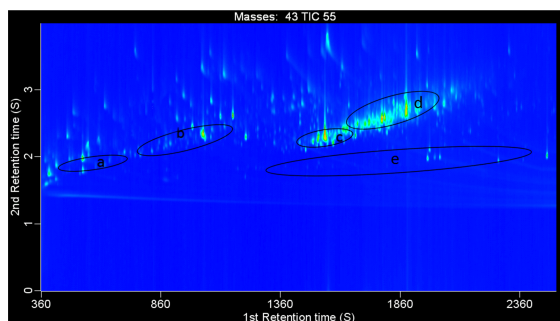
试验号	因 素					得率 /%
	压力 /MPa	添加量 /%	温度 / $^{\circ}\text{C}$	时间 /h	流量 /( $\text{kg} \cdot \text{h}^{-1}$ )	
1	20	0	35	1	2.0	0.84
2	25	8	35	2	3.5	2.89
3	30	16	35	3	5.0	6.16
4	35	24	35	4	6.5	5.54
3	20	16	45	2	6.5	2.15
6	25	24	45	1	5.0	4.14
7	30	0	45	4	3.5	5.01
8	35	8	45	3	2.0	5.53
9	20	24	55	3	3.5	1.86
10	25	16	55	1	2.0	3.90
11	30	8	55	4	6.5	5.53
12	35	0	55	2	5.0	5.81
13	20	8	65	4	5.0	0.89
14	25	0	65	3	6.5	3.71
15	30	24	65	2	2.0	5.74
16	35	16	65	1	3.5	6.34
$k_1$	1.44	3.84	3.86	3.81	4.00	
$k_2$	3.66	3.71	4.21	4.15	4.03	
$k_3$	5.61	4.64	4.28	4.32	4.25	
$k_4$	5.81	4.32	4.17	4.24	4.23	
$R_j$	4.37	0.93	0.31	0.51	0.25	

### 2.2 滁菊精油化学成分的分离与鉴定

#### 2.2.1 全二维气相色谱的族分离

GC $\times$ GC 是通过一个调制器把分离机理不同的两根色谱柱以串联的方法连接在一起的二维系统<sup>[8]</sup>. 色谱柱固定相的选择对实现正交分离有重要影响,柱温也是实现正交分离的重要参数. 由于滁菊精油主要包含弱极性或者中等极性的化合物,因此本研究选择弱极性 HP-5MS 色谱柱作为第一维柱按组分沸点高低顺序进行第一维分离,选择中等极性 DB-17HT 色谱柱作为第二维柱按极性大小进行第二维分离. 此外,超临界 CO<sub>2</sub> 萃取获得的滁菊精油组分种类丰富、沸程较宽,故本试验第一维和第二维色谱柱分别采用程序升温模式. 应用 GC $\times$ GC 分离方法对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取获得的目标精油进行色谱分离,得到图 1 所示的全二维气相色谱图. 由图 1 可知,色谱峰分布在整个二维平面区域,充分利用了两维空间,实现了良好的正交分离. 目标化合物的分布呈现明显的族分离,低分子酸类分布在图 1 的 a 区, b 区为单萜烯醇类, c 区为萜烯类, d 区为倍半萜烯醇类, e 区为烷烃类. 结果表明, GC $\times$ GC 系统是

复杂滁菊精油组分的良好分离工具。



a 低分子酸; b 单萜烯酸; c 萜烯; d 倍半萜烯醇; e 烷烃

图 1 滁菊精油成分的 GC×GC-TOF/MS 总离子流图

Fig. 1 GC×GC/TOFMS total ion current chromatogram (TIC) of essential oil

### 2.2.2 滁菊精油化学组分的鉴定

采用 GC×GC 方法对超临界流体萃取获得的滁菊精油进行色谱分离,共分离出 313 个峰。通过与 L(-)-樟脑、龙脑、 $\alpha$ -石竹烯、 $\beta$ -金合欢烯、3-甲基-2-环己烯酮等标准试剂的保留时间进行比较,同时与色

谱数据库的保留指数值、TOF/MS 的 NIST 谱库进行比照,并以相似度和反相似度大于 800 为标准<sup>[9]</sup>,本文共鉴定出滁菊精油中的 92 种化合物。按面积归一化法计算各鉴定组分相对含量,共占总峰面积的 40.54%,结果列于表 2。已鉴定的滁菊精油化学组分含烃类 33 种、酮类 18 种、醇类 17 种、酯类 10 种、酸类 6 种、萜烯氧化物 5 种和醛类 3 种。其主要成分为杜松脑(质量分数 4.96%), $\beta$ -芹子烯(2.64%), $\tau$ -榄香烯(2.17%),正二十八烷(2.08%),石竹烯氧化物(1.74%)等。萜类化合物(含萜烯、萜烯氧化物、萜烯醇及萜烯酮)是其主要成分,占已鉴定化合物的 66.74%,是滁菊独特清凉药草香味的来源物质<sup>[6]</sup>。采用传统一维 GC-MS 分离和鉴定滁菊精油中的化学物质,得到如图 2 所示的 GC-MS 总离子流图。传统一维 GC-MS 定性出 18 种烷烃、12 种醇、5 种酮、4 种酯、7 种萜烯氧化物等 46 种化学成分。由此可见,GC×GC-TOF/MS 更适用于分离鉴定目标精油中的化学成分。

表 2 滁菊精油成分的 GC×GC-TOF/MS 鉴定结果

Tab. 2 Identification of chemical composition of the essential oil by GC×GC-TOF/MS

名称	保留时间/s		保留指数		CAS 号	质量分数/%
	第一维,第二维	实验值	参考值			
烃类						
$\alpha$ -蒎烯	1 367, 1.830	1 364.7	1 376	3856-25-5	0.08	
$\beta$ -榄香烯	1 371, 1.850	1 404.7	1 389	515-13-9	0.24	
石竹烯	1 419, 1.940	1 439	1 423	87-44-5	0.55	
反式- $\alpha$ -香柠檬烯	1 431, 1.840	1 446.8	1 439	13474-59-4	0.22	
$\beta$ -古巴烯	1 431, 1.910	1 446.9	1 390	13744-15-5	0.03	
(E)- $\beta$ -金合欢烯 *	1 451, 1.840	1 460	1 455	18794-84-8	1.01	
$\alpha$ -石竹烯 *	1 471, 1.960	1 473.2	1 457	6753-98-6	0.11	
香橙烯	1 483, 1.940	1 481.1	1 484	109119-91-7	0.14	
$\gamma$ -古芸烯	1 499, 1.950	1 491.6	1 479	22567-17-5	0.32	
姜黄烯	1 503, 1.990	1 494.3	1 484	644-30-4	1.22	
(Z,E)- $\alpha$ -金合欢烯	1 507, 1.860	1 496.8	1 495	26560-14-5	0.1	
$\beta$ -顺式-金合欢烯	1 511, 1.920	1 491.5	1 461	28973-97-9	0.97	
(-)-大根香叶烯 D	1 513, 1.990	1 499.5	1 480	23986-74-5	1.38	
(-)-姜烯	1 514, 1.910	1 501.2	1 489	495-60-3	0.14	
$\beta$ -芹子烯	1 519, 2.020	1 502.2	1 476	17066-67-0	2.64	
$\tau$ -榄香烯	1 520, 2.150	1 506	1 489	339154-91-5	2.17	
(-)- $\beta$ -红没药烯	1 535, 1.890	1 516.6	1 517	495-61-4	0.25	
$\alpha$ -倍半菲兰烯	1 559, 1.950	1 533.8	1 523	20307-83-9	1.88	
(-)- $\alpha$ -人参烯	1 567, 2.020	1 539.5	1 527	56633-28-4	0.33	
邻异丙基甲苯	1 707, 2.320	1 642.1	—	527-84-4	0.07	
1-甲基-1,4-环己二烯	383, 1.500	767.9	—	4313-57-9	0.25	
2-十三碳烯	1 499, 1.670	1 491.4	1 315	41446-59-7	0.05	
1,13-十四烷二烯	1 759, 1.920	1 681.2	—	21964-49-8	0.06	

续表

名称	保留时间/s		保留指数		CAS 号	质量分数/%
	第一维,第二维	实验值	参考值			
母菊萹	1 859, 2. 580	1 759. 3	1 735	529-05-5	0. 86	
1-二十二烯	2 137, 2. 120	1 996. 2	2 188	1599-67-3	0. 17	
正十四烷烃	1 203, 1. 600	1 249. 7	—	629-59-4	0. 01	
2-甲基-十七烷	1 311, 1. 690	1 282. 9	1 764	1560-89-0	0. 36	
2,6,10,14-四甲基-十七烷	1 455, 1. 610	1 462. 5	—	18344-37-1	0. 02	
正十八烷	1 883, 1. 780	1 778. 2	—	593-45-3	1. 06	
2,7,10 三甲基-十二烷	1 919, 1. 630	1 806	—	74645-98-0	0. 51	
正二十烷	1 939, 1. 830	1 824. 9	—	112-95-8	0. 35	
正二十四烷	2 027, 1. 900	1 899. 1	—	646-31-3	0. 69	
正二十八烷	2 355, 2. 050	2 010. 7	—	630-02-4	2. 08	
醇类						
桉叶油醇	767, 1. 820	1 039. 1	1 038	470-82-6	0. 01	
顺式-4-侧柏醇	883, 1. 900	1 106. 6	1 067	15537-55-0	0. 06	
(S)-顺马鞭草烯醇	919, 1. 960	1 127. 5	1 142	18881-04-4	0. 02	
(-)-反式-1-松香芹醇	959, 2. 030	1 150. 8	1 140	547-61-5	0. 02	
龙脑*	1 007, 2. 080	1 178. 7	1 177	507-70-0	1. 28	
4-萸烯醇	1 023, 1. 970	1 188	1 180	562-74-3	0. 03	
$\alpha$ -松油醇	1 043, 2. 000	1 199. 6	1 190	98-55-5	0. 07	
桃金娘烯醇	1 055, 2. 060	1 203. 6	1 212	19894-97-4	0. 02	
2-羟基-桉油醇	1 083, 2. 150	1 212. 3	1 229	18679-48-6	0. 01	
2,6-二甲基-1,7-辛二烯-3,6-二醇	1 171, 2. 120	1 239. 8	—	51276-33-6	0. 01	
橙花叔醇	1 611, 1. 930	1 570. 9	1 565	7212-44-4	0. 38	
桉油烯醇	1 651, 2. 160	1 599. 6	1 582	6750-60-3	0. 41	
杜松脑	1 763, 2. 320	1 684. 6	1 682	473-04-1	4. 96	
$\alpha$ -红没药醇	1 783, 2. 280	1 699. 5	1 685	515-69-5	0. 74	
Z- $\alpha$ -反式-佛手柑	1 879, 2. 300	1 774. 7	1 697	88034-74-6	1. 34	
对甲基苯异丙醇	1 031, 2. 150	1 192. 7	1 187	1197-01-9	0. 02	
十六烷醇	2 123, 1. 880	1 982	1 882	36653-82-4	0. 01	
醛类						
3-甲基-2-丁烯醛	399, 1. 700	785. 86	783	107-86-8	0. 03	
己醛	411, 1. 590	799. 04	800	66-25-1	0. 03	
苯乙醛	787, 2. 290	1 051	1 049	122-78-1	0. 04	
酮类						
2-己酮	355, 1. 460	736. 81	787	591-78-6	0. 01	
4-甲基-3-戊烯-2-酮	415, 1. 640	802. 41	798	141-79-7	0. 02	
2-戊酮	427, 1. 790	807. 26	689	107-87-9	0. 02	
2-庚酮	535, 1. 710	893. 31	889	110-43-0	0. 02	
6-甲基-5-庚烯-2-酮	679, 1. 890	986. 74	987	110-93-0	0. 81	
3-甲基-3-环己烯酮	683, 2. 090	989. 43	—	31883-98-4	0. 03	
4-甲基-4-乙烯基丁内酯	783, 2. 350	1 048. 7	1 043	1073-11-6	0. 02	
3-甲基-2-环己烯酮*	815, 2. 400	1 067. 3	1 064	1193-18-6	1. 37	
(1S)-(-)-樟脑*	971, 2. 140	1 157. 8	1 145	464-48-2	0. 34	
间甲基苯乙酮	1 035, 2. 290	1 195. 1	1 192	585-74-0	0. 02	
(S)-(+)-5-(1-羟基-1-甲基乙基)-2-甲基-2-环己烯-1-酮	1 423, 2. 480	1 442	1 424	60593-11-5	0. 02	
长松香芹酮	1 871, 2. 400	1 768. 5	—	—	1. 06	
6-(1-羟基-1-甲基乙基)-3-甲基-2-环己烯-1-酮	1 879, 1. 280	1 773. 9	—	87791-00-2	0. 32	
六氢假紫罗兰酮	1 369, 1. 840	1 404. 5	1 408	1604-34-8	0. 21	

续表

名称	保留时间/s		保留指数		CAS 号	质量分数/%
	第一维, 第二维	实验值	参考值			
法尼基丙酮	2 059, 2.060	1 927	1 919.8	1117-52-8	0.01	
3,4-二氢- $\beta$ -紫罗兰酮	1 507, 2.180	1 497	1 484	1203-08-3	0.04	
5,6-环氧化物- $\beta$ -紫罗兰酮	1 515, 2.150	1 502.5	1 488	23267-57-4	0.01	
3-羟基-5,6-环氧基- $\beta$ -紫罗兰酮	1 791, 2.470	1 706.1	1 715	38274-01-0	0.03	
酸类						
3-甲基-丁酸	459, 1.710	845.77	875	503-74-2	0.06	
2-甲基-丁酸	471, 1.720	844.87	846	116-53-0	0.01	
戊酸	511, 1.790	875.2	879	109-52-4	0.01	
2-甲基-2-丁烯酸	641, 1.880	919.41	941	80-59-1	0.09	
己酸	663, 1.880	976.48	1 008	142-62-1	0.04	
癸酸	1 371, 1.920	1 398	1 380	334-48-5	0.02	
酯类						
乙酸叶醇酯	977, 2.220	1 019.1	1 009	3681-71-8	0.7	
乙酸薰衣草醇酯	1 191, 1.970	1 246	—	—	0.07	
乙酸冰片酯	1 199, 2.000	1 248.5	1 261	76-49-3	0.64	
癸酸甲酯	1 359, 1.850	1 326.8	1 328	110-42-9	0.02	
乙酸环氧-2-羟基桉叶油醇酯	1 367, 2.040	1 336.1	1 341	57709-95-2	0	
丁酸 2-甲基-异冰片酯	1 555, 1.960	1 530.9	—	94200-10-9	0.26	
二氢猕猴桃内酯	1 591, 2.660	1 557.1	1 538	15356-74-8	0.03	
橙花叔醇乙酸酯	1 663, 1.980	1 648.5	1 687	2306-78-7	0.17	
苯甲酸苄酯	1 891, 2.680	1 784.4	1 770	120-51-4	0.04	
醋酸-1-十七醇酯	2 103, 3.190	1 980.8	2 106	822-20-8	0.02	
萜烯氧化物						
金合欢烯环氧化物	1 655, 2.000	1 602.5	1 624	83637-40-5	0.13	
石竹烯氧化物	1 663, 2.190	1 608.7	1 583	1139-30-6	1.74	
香橙烯氧化物 II	1 755, 2.240	1 678.4	—	—	1.29	
反式-Z- $\alpha$ -红没药烯环氧化物	1 779, 2.280	1 696.6	—	—	0.76	
异香橙烯环氧化物	1 947, 2.380	1 830.7	—	—	0.27	

【注】 a 保留指数参考值来源于 NIST 数据库(<http://webbook.nist.gov/chemistry/>)

b 标 \* 为本试验购买标准品

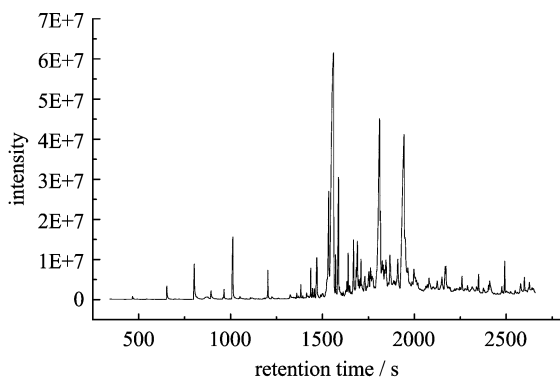


图 2 滁菊精油成分的 GC-MS 总离子流图

Fig. 2 GC-MS total ion current chromatogram (TIC) of the essential oil

滁菊精油的不同提取方法将对其化学成分鉴定

结果造成较大差异. 超临界  $\text{CO}_2$  萃取法提取效率高、条件温和、副反应产物含量少. 由表 2 可知, 采用 SFE 结合 GC $\times$ GC-TOF/MS 分离鉴定, 滁菊精油中含量较高的组分为杜松脑(4.96%),  $\tau$ -榄香烯(2.17%), 石竹烯氧化物(1.74%), 香橙烯氧化物 II(1.29%), 龙脑(1.28%)等, 这些成分是滁菊的主要药理活性物质. 对比文献[6]采用同时蒸馏萃取法提取滁菊精油, 其中龙脑(质量分数 3.47%)为主要活性化合物, 而  $\tau$ -榄香烯、石竹烯氧化物、香橙烯氧化物 II 未被检出. 主要原因是同时蒸馏萃取的提取效率低、高温条件导致菊花中的药理活性成分因副反应流失<sup>[15]</sup>. 因此, 针对菊花中萜类及其氧化物的药理活性成分提取, SFE 方法具有明显优势.

此外, 3 种重要的花香类物质首次在菊属植物

中被检出,初步确定为 3,4-二氢- $\beta$ -紫罗兰酮、5,6-环氧化物- $\beta$ -紫罗兰酮、3-羟基-5,6-环氧基- $\beta$ -紫罗兰酮<sup>[2,4-6,16]</sup>。这些化合物是重要的花香味物质,是菊花花香气息的物质基础。此类物质在菊类植物中含量较低,采用 SFE 和 GC $\times$ GC-TOF/MS 方法可实现其高效萃取、分离和鉴定。

### 3 结论

将 SFE 与 GC $\times$ GC-TOF/MS 结合,对滁菊精油进行了提取和成分分析。SFE 最佳萃取条件为萃取压力 35 MPa,夹带剂添加量 16%,萃取温度 55  $^{\circ}$ C,萃取时间 3 h,CO<sub>2</sub> 流量 5 kg/h,精油得率为 6.40%。与同时蒸馏萃取比较,SFE 法对目标精油中的萜烯类活性成分具有更高的萃取效率。GC $\times$ GC-TOF/MS 共鉴定出滁菊精油中 92 种化合物,含烃类 33 种、酮类 18 种、醇类 17 种、酸类 6 种、萜烯氧化物 5 种和醛类 3 种,比传统一维 GC-MS 的鉴定能力强。此外,在菊属植物中初步检测出 3,4-二氢- $\beta$ -紫罗兰酮、5,6-环氧化物- $\beta$ -紫罗兰酮、3-羟基-5,6-环氧基- $\beta$ -紫罗兰酮等重要花香味物质。本试验为滁菊天然产物的开发利用提供了重要的研究方法。

#### 参考文献(References)

[1] 田东,朱栋梁,徐志强,等. 二维液相色谱分离及鉴定滁菊中的多酚类化合物 [J]. 分析测试学报, 2015, 34(8): 917-922.  
TIAN Dong, ZHU Dongliang, XU Zhiqiang, et al. Separation and characterization of phenolic compounds in Chuju by two-dimensional hydrophilic interaction/reversed phase liquid chromatography coupled to diode array detection [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2015, 34(8): 917-922.

[2] ZHU S, YANG Y, YU H, et al. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Chrysanthemum indicum* [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2005, 96(1): 151-158.

[3] CAI Y, LUO Q, SUN M, et al. Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer [J]. Life Sciences, 2004, 74(17): 2 157-2 184.

[4] LEE B H, NAM T G, PARK W J, et al. Antioxidative and neuroprotective effects of volatile components in essential oils from *Chrysanthemum indicum* Linné flowers [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(2): 717-723.

[5] 王亚君,郭巧生,杨修伟,等. 安徽产菊花挥发性化学成分的特征分析 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(19): 2 207-2 211.  
WANG Yajun, GUO Qiaosheng, YANG Xiuwei, et al. Characterization of chemical components of essential oil from flowers of *Chrysanthemum morifolium* produced in Anhui province [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2008, 33(19): 2 207-2 211.

[6] 韩婷,毛健,姬中伟,等. 滁菊挥发性成分的全二维气相色谱/飞行时间质谱研究 [J]. 食品科学, 2013, 2(34): 159-164.  
HAN Ting, MAO Jian, JI Zhongwei, et al. Analysis of volatile oil from flowers of *Chrysanthemum morifolium* Ramat by comprehensive two-dimensional gas chromatography-time-of-flight mass spectrometry [J]. Food Science, 2013, 2(34): 159-164.

[7] SAMI G O, MERYEM E Y. Supercritical carbon dioxide extraction of flaxseed oil: effect of extraction parameters and mass transfer modeling [J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2016, 112(2): 76-80.

[8] BIEDERMANN M, GROB K. Comprehensive two-dimensional gas chromatography for characterizing mineral oils in foods and distinguishing them from synthetic hydrocarbons [J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1375(3): 146-153.

[9] MUHLEN C, ZINI C A, CARAMAO E B, et al. Comparative study of *Eucalyptus dunnii* volatile oil composition using retention indices and comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to time-of-flight and quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1200(1): 34-42.

[10] ROY B C, GOTO M, HIROSE T. Extraction of Ginger oil with supercritical carbon dioxide: Experiments and modelling [J]. Industrial and Engineering Chemistry Research, 1996, 35 (2): 607-612.

[11] AKGÜN M, AKGÜN N A, DINÇER S. Extraction and modeling of lavender flower essential oil using supercritical carbon dioxide [J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2000, 39(2): 473-477.

[12] 沈懋文,邵月亮,侯付景,等. 响应面法优化杭白菊花精油的提取工艺及其化学成分研究 [J]. 食品科学, 2010, 31(10): 101-105.  
SHEN Maowen, SHAO Liangliang, HOU Fujing, et al. Response surface methodology as an approach to optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction and chemical composition analysis of volatile oil from flowers of *chrysanthemum morifolium* [J]. Food Science, 2010, 31(10): 101-105.