

肉桂挥发物顶空固相微萃取条件的正交优化

李为争, 柴晓乐, 付国需, 王英慧, 游秀峰, 原国辉*

(河南农业大学 植物保护学院 河南 郑州 450002)

摘要: 为探讨肉桂挥发物顶空固相微萃取采集的最优条件, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计方案, 测定了萃取温度、萃取时间、热解吸时间和萃取头类型 4 个因素对于肉桂挥发物检出峰数量、萃取头吸附量和色谱峰分辨率的影响。结果表明, 若色谱检出峰数量和吸附量 2 个评价指标为望大特性, 应选择 $85\mu\text{m}$ PDMS 萃取头, 适当升高顶空萃取温度或者延长萃取时间; 若目的成分已知, 且希望精确定量分析, 采用 $7\mu\text{m}$ PDMS 萃取头, 在 25°C 室温下萃取 5 min 即可, 肉桂挥发物分辨率最高, 1 min 甚至更短的热解吸时间也可满足植物挥发物的分析要求。

关键词: 肉桂; 固相微萃取; 植物挥发物; 正交优化

中图分类号: S567.1⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1004-3268(2011)02-0131-04

Orthogonal Optimization of Headspace Solid Phase Micro-extraction Conditions for Collecting *Cinnamomum cassia* Volatiles

LI Wei-zheng, CHAI Xiao-le, FU Guo-xu, WANG Ying-hui, YOU Xiu-feng, YUAN Guo-hui*

(College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To explore optimal conditions of headspace solid phase micro-extraction (SPME) for collecting *Cinnamomum cassia* volatiles, the effects of extraction temperature, extraction time, desorption time, and SPME fiber to the peak numbers, total adsorption amount, and mean resolution of peaks from *Cinnamomum cassia* volatiles detected by gas chromatographic method by using $L_9(3^4)$ orthogonal array design. The results showed that if total adsorption amount as well as total peak numbers were larger-the-better expected, the optimal condition should be $85\mu\text{m}$ PDMS + 60°C + 40 min, while for accurate quantitative analysis of known target component, the optimal extraction condition should be $7\mu\text{m}$ PDMS fiber + room temperature + 5 min extraction time. One minute or shorter desorption time was sufficient for the desorption of plant derived volatiles.

Key words: *Cinnamomum cassia*; Solid phase micro-extraction (SPME); Plant volatile; Orthogonal array optimization

肉桂为樟科植物肉桂 (*Cinnamomum cassia*) 的干燥树皮^[1], 是常用的香料植物和中草药。肉桂挥发油的主要成分为肉桂醛, 具有镇静、镇痛、解热、抗惊厥、增强胃肠蠕动、利胆和抗肿瘤等药理作用^[2], 还具有广谱的抑菌活性和较强的抗氧化能力^[3], 已

广泛应用于食品添加剂、中医药和日用化学品领域。但由于肉桂产地、树龄和采收部位及采收时间不同, 挥发物的含量及其组成成分变化较大^[4-5], 且市场上经常见到其他樟科植物的伪品^[6], 因此, 建立可靠、灵敏、快速的检测技术体系用于肉桂的质量评价非

收稿日期: 2010-07-10

基金项目: 河南省重点科技攻关项目 (082102150003)

作者简介: 李为争 (1978-), 男, 河南宜阳人, 讲师, 博士, 主要从事植物挥发性物质化学生态学功能研究。

E-mail: weizhengli@163.com

*通讯作者: 原国辉 (1959-), 男, 河南温县人, 教授, 硕士, 主要从事昆虫化学生态学研究。E-mail: hmdygh@126.com

©1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

常必要。目前肉桂挥发物样品制备有液-液溶剂萃取、水蒸气蒸馏、超临界流体萃取、气体吸附等方法^[7], 这些方法不仅需要大量的样品和较长的取样时间, 而且部分挥发物的结构会受到高温破坏, 一些杂质的引入也会给后续分析带来困难。而固相微萃取(solid phase micro-extraction, SPME)是一种集萃取、浓缩、解吸于一体的样品前处理技术, 具有方便、快捷、样品用量少、不使用有机溶剂等特点^[8], 近年来已用于中草药^[9-10]、粮食、果品^[11-12] 及其他植物材料挥发物^[13] 和农药残留分析^[14-15], 但至今未见到用于肉桂挥发物的研究报道。为此, 以肉桂粉末为材料, 用正交设计法探讨了顶空固相微萃取采集的最优条件。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 肉桂皮 购自河南省郑州市农贸市场, 自然干燥后用 FW-100 型高速万能粉碎机在 1 200 r/min 转速下粉碎 10 s, 过 0.45 mm 筛, 密封于保鲜袋中, 保存于 4℃冰箱中备用。

1.1.2 萃取器 采用 Supelco 公司生产的手动固相微萃取器, 每套装置配备 1 个操作手柄和 3 种萃取头, 其涂层分别为 7μm PDMS、85μm PDMS 和 100μm PA。萃取头在使用前按照 Supelco 公司推荐的条件(250℃, 2 h)插入进样口老化, 老化处理后经检测无色谱干扰峰出现。

1.1.3 色谱仪 采用 Shimadzu GC 2010 型气相色谱仪分析肉桂挥发物, 该仪器配置 RTX-1 型熔融石英毛细柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)。柱初温设置为 80℃, 保留 2 min; 然后以 3℃/min 的速率升温至 160℃; 再以 10℃/min 升温至 220℃; 最后以 5℃/min 的速率升温至 250℃。进样口和 FID 检测器的温度分别为 250℃和 280℃。载气为高纯 N₂, 流量为 30 mL/min, 在色谱柱中 N₂ 的线速率为 1.0 mL/min, 氢气流量为 40 mL/min, 空气流量为 400 mL/min, 无分流模式进样。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 采用 L₉(3⁴) 正交设计试验, 考察萃取温度、萃取时间、热解吸时间和萃取头类型 4 个因素, 并根据预试验初步结果每个因素设 3 个水平(表 1)。

1.2.2 挥发物萃取 每次萃取时, 取 5 g 肉桂粉末放入 10 mL 顶空样品瓶(上海安谱公司), 加垫密封后放置于控温水浴锅中。温度平衡后, 插入 SPME 萃取头采集挥发物, 萃取头距离样品粉末上表面约 5 mm。

表 1 SPME-GC 肉桂挥发物采集 L₉(3⁴) 正交设计

水平	因素			
	萃取温度/ ℃	萃取时间/ min	热解吸时间/ min	萃取头类型
1	25	5	1	7μm PDMS
2	40	20	5	85μm PDMS
3	60	40	10	100μm PA

1.3 数据分析

1.3.1 评价指标 采用检出峰数量、总吸附量和色谱峰分辨率 3 个指标评价不同萃取条件, 其中总吸附量以 FID 电压与时间轴的积分面积表示, 色谱峰分辨率取相邻峰分辨率的平均值。根据预试验初步结果, 肉桂挥发物主要成分的保留时间在 11 ~ 22 min, 其中肉桂醛在上述 GC 条件下的保留时间为 12.65 min, 含量达 89%, 因此, 取该时间段的检出峰数量和总吸附量用于萃取条件评价。

1.3.2 极差分析 分别计算各因素、各水平对应的评价指标之和(Ti), 然后计算各因素引起的 Ti 值的极差(R), 根据评价指标的望大(larger-the-better)或望小(smaller-the-better)特性, 判断各因素对评价指标的影响。

2 结果与分析

2.1 不同萃取条件对肉桂挥发物的检出峰数量的影响

不同萃取条件组合对检出峰数量的影响见表 2。比较表 2 的极差值可以看出, 因子效应顺序为: 萃取头类型> 萃取温度> 萃取时间≈热解吸时间。其中, 85μm PDMS 检出峰数量多于其他 2 种萃取头, 且萃取时间越长检出峰越多。如果检出峰数量为望大特性, 最佳组合条件应为萃取温度 40℃, 萃取时间 40 min, 热解吸时间 5 min, 采用 85μm PDMS 萃取头; 如果检出峰数量为望小特性, 则最佳组合条件应为萃取温度 25℃, 萃取时间 5 min, 热解吸时间 1 min, 采用 7μm PDMS 萃取头。

2.2 不同萃取条件对肉桂挥发物吸附量的影响

不同萃取条件组合对肉桂挥发物吸附量影响的试验结果见表 3。从表 3 可以看出, 极差最大的因素仍为萃取头类型, 且远大于热解吸时间、萃取时间和萃取温度。在设定的因素水平范围内, 萃取温度越高、萃取时间越长则总吸附量就越大。如果总吸附量为望大特性, 最佳组合条件应是萃取温度 60℃, 萃取时间 40 min, 热解吸时间 1 min, 采用 85μm PDMS 萃取头。

表 2 不同萃取条件对肉桂挥发物检出峰数量的影响

编号	萃取温度/℃	萃取时间/ min	热解吸时间/ min	萃取头类型	检出峰数量/ 个
1	25	5	1	7 μ m PDMS	43
2	25	20	5	85 μ m PDMS	75
3	25	40	10	100 μ m PA	64
4	40	5	5	100 μ m PA	72
5	40	20	10	7 μ m PDMS	61
6	40	40	1	85 μ m PDMS	95
7	60	5	10	85 μ m PDMS	84
8	60	20	1	100 μ m PA	66
9	60	40	5	7 μ m PDMS	70
T1	182	199	204	174	
T2	228	202	217	254	
T3	220	229	209	202	
R	46	30	30	80	

表 3 不同萃取条件对肉桂挥发物吸附量的影响

编号	萃取温度/℃	萃取时间/ min	热解吸时间/ min	萃取头类型	总吸附量/($\times 10^6 \mu\text{V} \cdot \text{min}$)
1	25	5	1	7 μ m PDMS	7. 48
2	25	20	5	85 μ m PDMS	124. 45
3	25	40	10	100 μ m PA	27. 00
4	40	5	5	100 μ m PA	15. 26
5	40	20	10	7 μ m PDMS	6. 95
6	40	40	1	85 μ m PDMS	147. 07
7	60	5	10	85 μ m PDMS	119. 91
8	60	20	1	100 μ m PA	51. 85
9	60	40	5	7 μ m PDMS	12. 26
T1	158. 93	142. 65	206. 40	26. 69	
T2	169. 28	183. 25	151. 97	391. 43	
T3	184. 02	186. 32	153. 86	94. 11	
R	25. 09	43. 67	54. 43	364. 74	

2.3 不同萃取条件对肉桂挥发物分辨率的影响

不同萃取条件组合对肉桂挥发物色谱峰分辨率影响的试验结果见表 4。从表 4 可以看出, 极差最大的因素为萃取时间, 其次是萃取温度、萃取头类型

和热解吸时间。最佳组合条件应为萃取温度 25℃, 萃取时间 5 min, 热解吸时间 1 min, 采用 7 μ m PDMS 萃取头。可见, 总吸附量与色谱峰平均分辨率构成一对技术矛盾。

表 4 不同萃取条件对肉桂挥发物分辨率的影响

编号	萃取温度/℃	萃取时间/ min	热解吸时间/ min	萃取头类型	平均分辨率
1	25	5	1	7 μ m PDMS	6. 30
2	25	20	5	85 μ m PDM S	2. 95
3	25	40	10	100 μ m PA	2. 95
4	40	5	5	100 μ m PA	3. 35
5	40	20	10	7 μ m PDMS	2. 64
6	40	40	1	85 μ m PDM S	2. 13
7	60	5	10	85 μ m PDM S	2. 62
8	60	20	1	100 μ m PA	2. 74
9	60	40	5	7 μ m PDMS	2. 57
T1	12. 19	12. 26	11. 16	11. 51	
T2	8. 11	8. 32	8. 87	7. 69	
T3	7. 93	7. 65	8. 20	9. 03	
R	4. 26	4. 61	2. 96	3. 81	

3 讨论

与因素轮换试验法相比, 正交试验设计法具有工作量小、获得信息丰富、数据分析直观简便等优点, 在化学分析条件的优化中具有较高的应用价值。

本研究采用正交设计方法考察了 4 个萃取因素对肉桂挥发物色谱检出峰数量、萃取纤维吸附量和色谱分辨率的影响, 发现色谱峰数量和吸附量 2 个参数之间存在较大相关性, 如果这 2 个参数为望大特性, 影响最大的因素是萃取头种类, 且远大于热解吸时

间、萃取时间和萃取温度。因此,在实际操作时应根据“相似相溶”的原理选择萃取头,以分析物在涂层与样品基质间的分配系数最大为佳。选择 85 μm PDMS 萃取头时,应适当升高顶空萃取温度或者延长萃取时间;若仅关心的是主要成分的相对含量,可采用 7 μm PDMS 萃取头在室温下萃取 5 min 即可。试验还表明,热解吸时间对 3 个评价指标的影响甚微,多数报道为 3~10 min,本试验表明,1 min 以下也可满足植物挥发物分析的一般要求,这样可以延长萃取头的使用寿命。

参考文献:

- [1] 陶玲,黄际薇,麦海燕.肉桂挥发油的超临界 CO_2 萃取法与水蒸气蒸馏法提取的比较分析[J].分析测试学报,2004,23(4):65-67.
- [2] 朱晓楠,魏士刚,王浩南,等.微波辅助提取—气相色谱质谱联用测定肉桂中的挥发油[J].高等学校化学学报,2009,30(7):1300-1304.
- [3] 顾仁勇,傅伟昌,李佑稷,等.肉桂精油抑菌及抗氧化作用的研究[J].食品研究与开发,2008,29(10):29-32.
- [4] 尹亮亮,刘子琛,李慧,等.不同产地肉桂及桂枝中有效成分量的分析[J].中草药,2007,38(7):1094-1096.
- [5] 黄亚非,黄际薇,陶玲,等.不同树龄肉桂挥发油的成分比较[J].中山大学学报,2005,44(1):82-85.
- [6] 董岩,崔庆新,魏兴国,等.真、伪肉桂挥发油成分的

GCMS 分析[J].中药材,2003,26(5):329-330.

- [7] 张文焕,罗思,赵谋明,等.肉桂挥发油不同提取工艺的比较研究[J].食品科技,2008(8):158-160.
- [8] 常宇文,田野,曹红,等.1,4-二噁烷含量测定中固相微萃取头的选择研究[J].分析测试学报,2008,27(增刊):130-133.
- [9] 郭方道,黄兰芳,周邵云.顶空固相微萃取—气相色谱—质谱法用于白术中挥发性成分的分析[J].色谱,2007,25(1):43-47.
- [10] 马芝玉,黄克建,潘智文,等.固相微萃取—气相色谱/质谱法分析毛老虎叶中挥发性成分[J].中草药,2009,40(6):876-877.
- [11] 邓翠红,李丽萍,韩涛,等.“京艳”桃果实香气成分的气相色谱—质谱测定[J].食品科学,2008,29(6):304-307.
- [12] 林家永,高艳娜,吴胜芳,等.顶空固相微萃取—气质联用法分析稻谷挥发性成分[J].食品科学,2009,30(20):277-282.
- [13] 郝德君,马良进.火炬松挥发物的固相微萃取—气相色谱/质谱法分析[J].分析科学学报,2008,24(1):88-90.
- [14] 田孟魁,冯喜兰.固相微萃取—气相色谱法测定橙汁中残留有机氯杀虫剂[J].理化检验·化学分册,2008,44(9):833-836,839.
- [15] 刘德仓,何娟,高会云,等.自制丙烯酸酯类共聚物固相微萃取/气相色谱对水中农药残留的分析[J].分析测试学报,2008,27(9):977-979.

(上接第 120 页)

3 结论和讨论

本试验结果表明,酥梨花序分离期喷施 40%福星 EC 可以增加酥梨的脱萼数量,形成更多的母梨,且距酥梨初花期越近,使用浓度越大,脱萼效果越好。在实际应用中,建议应结合病害防治于酥梨初花前 2~5 d,使用 40%福星 EC 8000 倍液全树喷施,可显著提高梨果脱萼率;再结合人工疏果,基本上能达到商品果的生产要求。这一效果在 2a 的大田应用中得到验证。本研究也表明,在酥梨初花前 2~5 d,使用 40%福星 EC 8000 倍液全树喷施,对果柄、果实纵径有一定的抑制作用,使果柄度、果形指数适当减小。因此,在酥梨生产中,施用 40%福星 EC 不仅能够有效防治梨树黑星病^[6],而且可显著提高梨果脱萼率。酥梨公梨、母梨的形成受多种外部因素的影响,其形成的内因,有待进一步探讨。

致谢:国家梨产业技术体系郑州综合试验站、河南省农

科院园艺研究所王东升老师提出意见并修改,特此感谢!

参考文献:

- [1] 杨谦俊,吕波,张现伟.酥梨果实发育期土壤水分调控方法及其对果实品质的影响[J].中国农业气象,2006,27(3):237-239.
- [2] 宫美英,王盛,纪永强,等.PBO 对黄金梨脱萼效果的试验初报[J].山西果树,2008(2):13-14.
- [3] 宋清,岳长安,吴宪峰,等.砀山酥梨不脱萼果多的原因初探[J].落叶果树,2004(2):41-42.
- [4] 张利琪.多效唑在果树上应用的技术要点[J].新疆林业,1993(6):15.
- [5] 陈昭存,葛敏,吴邦良,等.砀山酥梨应用 PBO 提高品质的效果试验[J].河北果树,2003(3):10-11.
- [6] 赵晓军,周建波,李霞,等.不同药剂对山西梨区梨树黑星病的田间防效比较[J].山西农业科学,2008,36(7):71-73.
- [7] 盖钧镒.试验统计方法[M].北京:中国农业出版社,2000:120-124.