

醉蝶花种子化学成分提取及 GC-MS 分析^①

覃彪, 刘杨, 王勇

遵义师范学院 化学化工学院, 贵州 遵义 563006

摘要: 以醉蝶花种子为研究材料, 用超声波提取技术对醉蝶花种子成分进行提取, 通过单因素试验和正交试验探究了不同的提取时间、提取温度和料液比等因素对提取率的影响, 用气相色谱-质谱分析(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)技术对提取物进行分析检测. 结果表明, 在固定超声功率为 300 W, 提取时间为 24 min, 提取温度为 38 ℃, 料液质量体积比(g/mL)为 1:12 的提取条件下, 醉蝶花种子成分提取率可达 17.84%. 醉蝶花种子用丙酮作浸提剂的超声波提取法提取的主要物质是醇类化合物, 含量高达 66.48%. 超声波提取法操作简便, 效率高, 成本相对较低, 是一种对醉蝶花种子有效成分提取的可行方法.

关键词: 超声波提取; 醉蝶花; 种子; 气相色谱-质谱分析(GC-MS)

中图分类号: O657.7

文献标志码: A

文章编号: 1000-5471(2021)05-0032-06

醉蝶花(*Cleome spinosa* Jacq), 因其花朵形状像蝴蝶而得名, 一年生草本植物, 在我国很多地方都有栽种, 醉蝶花花序呈总状花顶生, 分枝比较多, 花朵大而且密集, 在盛开的季节一朵朵的醉蝶花像一只只翩翩起舞的蝴蝶, 带给人视觉上的美感. 因醉蝶花栽培管理比较简便, 观赏价值高, 在生活之中大多作为观赏性花卉栽培, 用于庭院、园林、花坛等场合的装饰, 其实醉蝶花的用途还有很多, 醉蝶花对 SO₂ 和 Cl₂ 这些有毒物质具有很强的抵抗能力, 在遭受严重污染的地带也能很好地生长, 若在城市的适宜位置栽种, 既可以供人们观赏又可以净化环境, 起到一举两得的作用^[1]. 醉蝶花的种子还可以入药防治肝癌^[2], 但是目前人们对其种子成分知之甚少^[3], 为探索其更多的价值, 笔者从研究醉蝶花种子成分的角度出发, 综合多种提取方法后采用超声波提取法^[4-8]对醉蝶花种子成分进行提取, 并用气相色谱-质谱分析(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)进行分析^[9-10].

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料: 丙酮(分析纯, 洛阳昊华化学试剂有限公司). 醉蝶花种子采摘于贵州省遵义市桐梓万亩花海景区, 经遵义师范学院何林教授鉴定为醉蝶花科植物醉蝶花的干燥成熟果实.

仪器: AL204 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司); KM-1030D 型科盟牌超声波清洗机(广州市科洁试验仪器有限公司); RE-2000E 型旋蒸蒸发器(郑州亚荣仪器有限公司); SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市予华仪器有限责任公司); Trace1300+ISQ 型气相色谱质谱联用仪(赛默飞世尔科技有限公司).

① 收稿日期: 2020-06-09

基金项目: 遵义市科技局、遵义师范学院联合科技研发资金项目(遵市科合计[2018]05号); 贵州省科技厅基础研究计划项目(黔科合基础[2017]1199号).

作者简介: 覃彪, 副教授, 博士研究生, 主要从事天然产物化学成分提取与分析研究.

1.2 方 法

1.2.1 醉蝶花种子成分的提取

取经干燥后的醉蝶花种子,研磨成粉末后过三号筛(50 目),准确称取 1.500 0 g 粉末置于体积为 250 mL 的锥形瓶中,以丙酮作为浸提液按一定的料液比浸泡 6 h,根据丙酮的沸点设置提取温度在 56 ℃ 以下,设置一定的超声提取时间,在固定超声功率 300 W 下进行超声提取.待提取完成后进行过滤,滤液经旋蒸除去丙酮后得到提取物,称质量后计算提取率,提取物用丙酮溶解后,取上清液,过 0.22 μm 微孔滤膜,作为供试品溶液,备用.

提取率=(提取物质量/称取的种子质量)×100%

1.2.2 GC-MS 分析条件

气相色谱条件:色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);升温程序:设置初始温度为 50 ℃,保温 1 min 以后以 30 ℃/min 的速度升温到 230 ℃,保温 1 min 以后以 10 ℃/min 的速度升温到 280 ℃,保温 12 min.汽化室温度设置为 250 ℃;载气为高纯氦气;载气流量为 1 mL/min;分流比 20:1,进样量:1 μL.

质谱条件:质谱的电离方式为 EI,灯丝电流 0.6 mA;电子轰击电压为 70 eV,倍增器电压 1 023 V,离子源温度为 200 ℃,扫描周期 0.5 s,溶剂延迟 3.0 min,扫描范围为 m/z 50~550.

1.2.3 单因素试验

1) 选择适宜的料液比.在固定超声功率为 300 W,提取温度为 38 ℃,提取时间为 30 min 的条件下,每个锥形瓶中加入不同体积的丙酮溶液,分别以料液质量体积比(g/mL)为:1:5,1:10,1:15,1:20,1:25 进行提取,探究不同的料液比对醉蝶花种子成分提取率的影响.

2) 选择适宜的提取温度.超声功率固定为 300 W,设置料液质量体积比(g/mL)为 1:10,提取时间为 30 min,在一定的温度范围内以各温度差为 6 ℃ 分别在温度:32,38,44,50 ℃ 下对醉蝶花种子成分进行提取,探究不同的提取温度对醉蝶花种子成分提取率的影响.

3) 选择适宜的提取时间.超声功率固定为 300 W,设置料液质量体积比(g/mL)为 1:10,提取温度为 38 ℃,分别选择提取时间:10,20,30,40 min 对醉蝶花种子成分进行提取,探究不同的提取时间对醉蝶花种子成分提取率的影响.

4) 原料粒度的选择.粒度越小,原料与溶质的接触面积越充分,提取率越高,研磨时尽量研磨充分确保每颗种子都研磨碎,本试验中对原料粒度大小不作特别规定,研磨充分即可.

1.2.4 正交试验

通过前面的单因素试验,了解到了各单因素对提取率的影响状况,从中得到了各单因素作用比较显著的取值范围,在单因素试验的基础之上选择料液质量体积比(g/mL)(X)、提取时间(Z)、提取温度(Y)3 个因素设计三因素三水平的正交试验^[11],其因素和水平见表 1.

表 1 正交试验因素和水平

水 平	因 素		
	X/(g/mL)	Y/℃	Z/min
1	1:5	33	24
2	1:10	38	30
3	1:15	43	36

2 结果与分析

2.1 单因素结果与分析

2.1.1 不同的料液质量体积比对醉蝶花种子成分提取率的影响

试验了不同料液质量体积比对醉蝶花种子成分提取率的影响,结果见图 1.根据图 1 中的折线变化趋

势可知,随着料液比的增大提取率总体呈上升趋势,料液质量体积比(g/mL)为 1 : 10 时提取率达到峰值,当料液质量体积比(g/mL)由 1 : 5 变化到 1 : 10 的时候提取率增大得较明显,料液质量体积比(g/mL)为 1 : 10以后提取率变化基本趋于稳定,说明在料液质量体积比(g/mL)达到 1 : 10 时醉蝶花种子成分已基本被提取出,所以在固定其他条件不变的情况下探索得到的适宜料液质量体积比(g/mL)为 1 : 10.

2.1.2 不同的提取温度对醉蝶花种子成分提取率的影响

试验了不同的提取温度对醉蝶花种子成分提取率的影响,结果见图 2. 根据图 2 中的折线变化趋势可知,在选取的温度范围内,温度由 32 ℃变化到 38 ℃时提取率逐渐增大,温度为 38 ℃时提取率达到最大值,38 ℃以后随着温度的升高提取率逐渐降低,所以在探索的条件范围内所得到的适宜温度为 38 ℃.

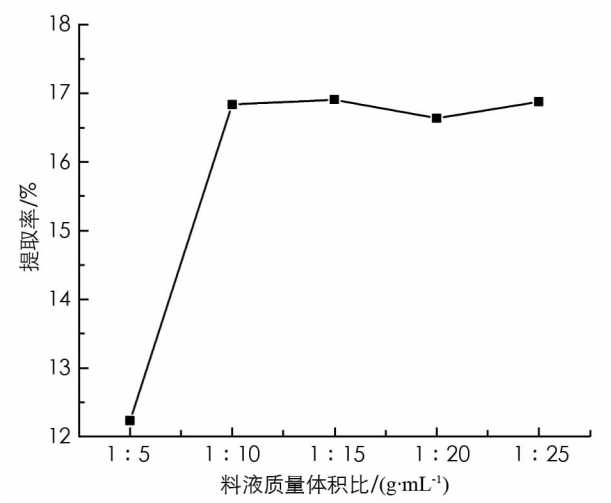


图 1 不同的料液质量
体积比对醉蝶花提取率的影响

2.1.3 不同的提取时间对醉蝶花种子成分提取率的影响

试验了不同的提取时间对醉蝶花种子成分提取率的影响,结果见图 3. 根据图 3 中的折线变化趋势可知,随着提取时间的增长提取率增大,当提取时间达到 30 min 时提取率达到峰值,提取时间为 30 min 以后的提取率没有太大的变化,说明在提取时间为 30 min 时已经能够完成对醉蝶花种子成分的提取,所以在探索的条件范围内适宜的提取时间为 30 min.

2.2 正交试验结果与分析

正交试验结果表明,在正交试验中每种条件下的提取率都相差不是太大,它们的极差按由大到小的顺序排列为 $R_x > R_y > R_z$, 所以各因素对醉蝶花种子成分提取率的影响大小次序依次为料液比、提取温度、提取时间. 通过均值对比可得到相对最佳提取工艺为 X3Y3Z1, 正交试验结果见表 2.

2.3 正交试验验证

为了使正交试验结果更具可靠性,特意在正交试验所得到的最佳提取工艺 X3Y3Z1 下进行了 3 次平行试验加以验证,验证结果表明 3 次平行试验的提取率分别为 18.01%,17.89%和 17.61%, 3 次平行试验的平均提取率为 17.84%, 3 次平行试验所得到的提取率都要比在正交试验中每组条件下得到的提取率高,试

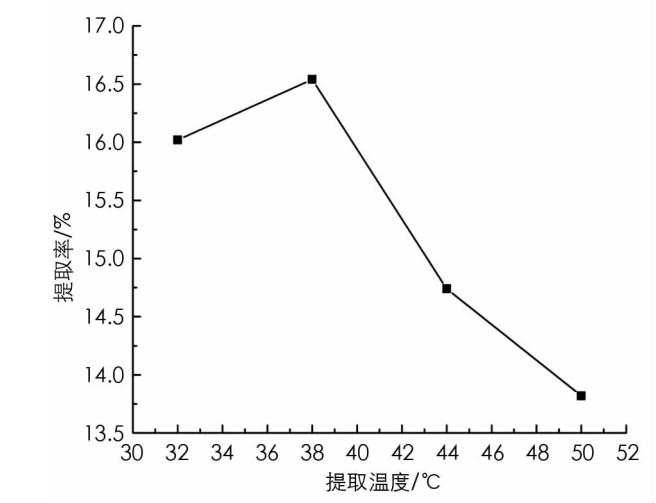


图 2 不同提取温度
对醉蝶花种子成分提取率的影响

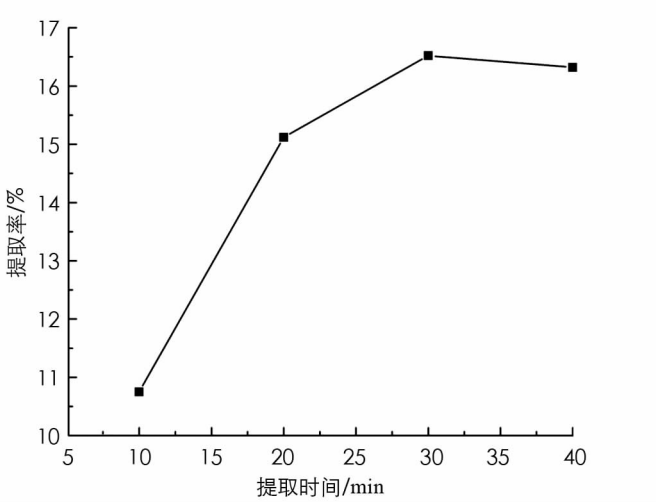


图 3 提取时间对提取率的影响

验验证结果见表 3.

表 2 L₉(3³)正交试验结果

试验编号	因 素			提取率/%
	X	Y	Z	
①	1	1	1	15.99
②	1	2	2	16.07
③	1	3	3	15.83
④	2	1	2	16.48
⑤	2	2	3	16.78
⑥	2	3	1	16.56
⑦	3	1	3	16.71
⑧	3	2	1	16.78
⑨	3	3	2	16.76
K ₁	15.96	16.39	16.44	
K ₂	16.61	16.54	16.41	
K ₃	16.72	16.38	16.44	
R	0.76	0.16	0.01	
最优提取工艺	X ₃	Y ₃	Z ₁	

表 3 正交试验验证结果

提取工艺	试验编号	提取率/%	平均提取率/%
X ₃ Y ₃ Z ₁	①	18.01	17.84
	②	17.89	
	③	17.61	

2.4 醉蝶花种子提取物的 GC-MS 分析结果

取最优工艺下提取到的醉蝶花种子成分进行 GC-MS 分析检测,把所得到的总离子流图经计算机谱库进行数据检索,并和人工解谱的结果相结合,鉴定出醉蝶花种子里所含有的化学物质种类,采用峰面积归一化法计算各化合物的质量分数,其 GC-MS 分析检测的总离子流图(因为提取时用丙酮作溶剂,所以得到的谱图为去除溶剂峰的谱图)见图 4,在 GC-MS 分析检测中各化合物的保留时间、名称和质量分数见表 4.

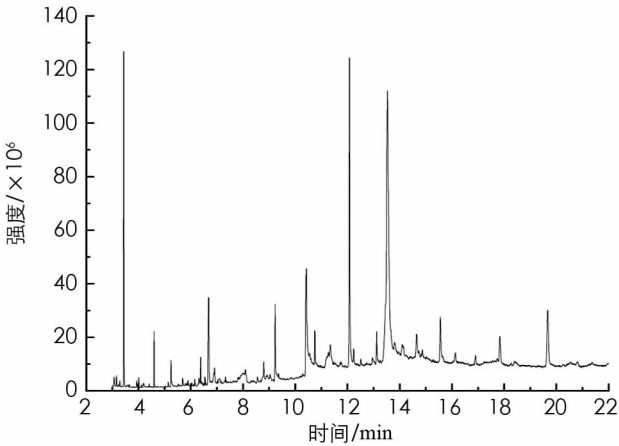
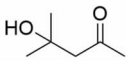
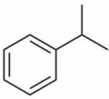
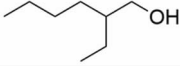
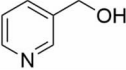
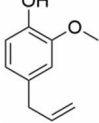
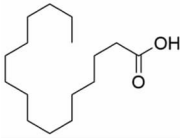
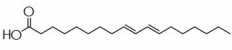
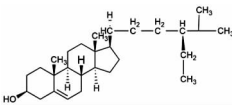
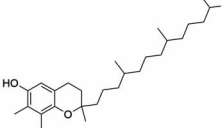


图 4 GC-MS 分析的总离子流图

3 结 论

通过对正交试验的结果进行验证得出,在固定超声功率为 300 W 的情况下,醉蝶花种子成分提取的最佳工艺:提取温度为 38 ℃,提取时间为 24 min,料液质量体积比(g/mL)为 1∶12,在该条件下醉蝶花种子成分的提取率可达 17.84%. 超声波提取法操作简便,效率高,成本相对较低,是一种对醉蝶花种子成分进行提取的可行方法.

表 4 醉蝶花种子提取物的 GC-MS 分析结果

出峰 次序	保留时间 /min	分子式	名 称	结构式	匹配度 /%	质量分数 /%
1	3.44	C ₆ H ₁₂ O ₂	4-hydroxy-4-methyl-2-Pentanone, (4-羟基-4-甲基-2-戊酮)		88.33	17.87
2	4.01	C ₉ H ₁₂	(1-methylethyl)-benzen(1-甲基乙基苯)		85.04	0.55
3	4.60	C ₁₈ H ₁₈ O	2-Ethylhexanol(2-乙基己醇)		89.72	2.41
4	5.25	C ₆ H ₇ NO	3-Pyridinemethanol(3-吡啶甲醇)		87.58	1.34
5	6.38	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Eugenol(丁香酚)		88.04	1.12
6	9.24	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Palmitic acid(棕榈酸)		94.31	4.64
7	10.42	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	trans, trans-9, 11-Octadecadienoicacid(异亚油酸)		85.12	9.34
8	13.53	C ₂₉ H ₅₀ O	beta-Sitosterol (β-谷甾醇)		90.23	51.37
9	19.67	C ₂₈ H ₄₈ O ₂	3, 4-Dihydro-2, 7, 8-Trimethyl-2-(4, 8, 12-Trimethyltridecyl)-2H-Benzopyran-6-ol (3, 4-二氢-2, 7, 8-三甲基-2-(4, 8, 12-三甲基十三烷基)-2H-苯并吡喃-6-醇)		85.54	11.36

用 GC-MS 法对提取到的醉蝶花种子成分进行分析鉴定结果显示：在用超声波提取法得到的提取物之中能够分析鉴定出 9 种化合物，分别为 4-羟基-4-甲基-2-戊酮、1-甲基乙基苯、2-乙基己醇、3-吡啶甲醇、丁香酚、棕榈酸、异亚油酸、β-谷甾醇、3, 4-二氢-2, 7, 8-三甲基-2-(4, 8, 12-三甲基十三烷基)-2H-苯并吡喃-6-醇。其中，含量最少的物质是 1-甲基乙基苯，其质量分数仅为 0.55%；主要含有的物质为醇类化合物，总质量分数达 66.48%，β-谷甾醇的质量分数高达 51.37%，是醉蝶花种子的主要化学成分。

参考文献：

[1] 张 凯, 吴志帅, 侯 敏. 醉蝶花的栽培及应用 [J]. 现代园艺, 2015(16): 43.

[2] 姜天奇, 张洪亮. 原发性肝癌的中西医治疗现状 [J]. 医学信息, 2019, 32(13): 35-38.

[3] DA SILVA A P, NASCIMENTO DA SILVA L C, MARTINS DA FONSECA C S, et al. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of Organic Extracts from Cleome Spinosa Jaqc [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 963-1-963-10.

[4] 隋世江, 韩京峰, 隽英华. 超声波辅助提取绿茶中茶多酚的方法研究 [J]. 辽宁农业科学, 2019(3): 22-25.

[5] 钱施凯, 李桂林, 杨 爽, 等. 正交试验法优化超声提取黄米中多糖 [J]. 粮食与油脂, 2019, 32(3): 73-75.

[6] 孙丽, 杨小云, 楚婉玉, 等. 正交试验优化超声波辅助提取荞麦皮色素工艺 [J]. 食品工业, 2018, 39(11): 41-44.

[7] 孟凡磊, 孙乐乐, 张立华. 正交试验优化超声波辅助提取石榴皮渣中果胶 [J]. 湖北农业科学, 2018, 57(7): 100-103.

- [8] 龚 婷,张 敏,王海珠,等. 大叶茜草精油挥发性物质抑菌及抗氧化活性研究 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2019, 44(6): 54-59.
- [9] 张 洁,陈功锡,徐 恒,等. 野生桃种仁油的超声波辅助提取及 GC-MS 分析 [J]. 中国粮油学报, 2015, 30(9): 79-82.
- [10] 肖 雪,高映敏,许思敏,等. 不同形态女贞子挥发油成分的 GC-MS 研究 [J]. 中药材, 2019, 42(10): 2280-2283.
- [11] 曾 珍,李 玲,杨帆,等. 牛蒡子配方颗粒制备与牛蒡子苷元质量分数测定研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2019, 41(2): 27-32.

On Extraction and GC-MS Analysis of Chemical Constituents from Seeds of *Pieris*

QIN Biao, LIU Yang, WANG Yong

College of Chemistry and Chemical Engineering, Zunyi Normal University, Zunyi Guizhou 563006, China

Abstract: The components of the spiderflower seeds were extracted by ultrasonic technology, with single factor and orthogonal experiments, the influence of different extraction time, extraction temperature and material to liquid ratio were studied, and the extraction analyzed by GC-MS. The results show that under the conditions of ultrasonic power 300 W, extraction time 24 min, extraction temperature 38 °C and ratio of material to liquid 1:12, the extraction rate of the spiderflower seeds was 17.84%. The main substance extracted by ultrasonic method with acetone was the alcohol as content of 66.48%. The ultrasonic extraction method is simple, high efficiency and low cost. It is a feasible method to extract the effective components from the seeds of spiderflower seeds.

Key words: ultrasonic extraction; spiderflower; seed; gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS)

责任编辑 潘春燕