

# 石墨烯-顶空搅拌棒联用技术检测 金花茶中挥发油类成分

程金生<sup>1,2\*</sup>, 万维宏<sup>1</sup>, 朱文娟<sup>1</sup>, 陈信炎<sup>2</sup>, 黄华娜<sup>1</sup>

(1. 嘉应学院医学院客家养生保健研究所, 广东 梅州 514031;  
2. 肇庆学院化学化工学院, 广东 肇庆 526061)

**摘要:**利用基于生物质源三维介孔石墨烯的顶空搅拌棒固相吸附萃取-气相色谱-质谱联用技术(HDSBSE-GC-MS)高效检测金花茶花朵、叶、果实中二十三烷、(E,E)-2,4-十二碳二烯醛、香叶基丙酮、(E)-9-十八烯酸、棕榈酸、硬脂酸等天然挥发油类活性成分。结果表明,该方法可分别实现金花茶不同部位中挥发性精油成分的有效检测,具有样品用量小,操作时间短,检测灵敏度高,再现性好等特点。

**关键词:**石墨烯;顶空搅拌棒;金花茶;挥发油;检测

中图分类号:0652.6

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2015)07-0173-05

## Analysis of volatile components in camellia chrysantha by GS-MS with graphene-based headspace stir bar sportive extraction

CHENG Jin-sheng<sup>1,2\*</sup>, WAN Wei-hong<sup>1</sup>, ZHU Wen-juan<sup>1</sup>, CHEN Xin-yan<sup>2</sup>, HUANG Hua-na<sup>1</sup>

(1. Institute of Hakka Health Care, School of Medicine, Jiaying University, Meizhou 514031, China;

2. School of Chemical Technology, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, China)

**Abstract:** The volatile components in the flower, leaf or fruit of *Camellia chrysantha* are analyzed by GS-MS with biomass derived graphene-based headspace stir bar sportive extraction technology (HDSBSE-GC-MS). These volatile components include tricosane, (E,E)-2,4-dodecadienal, geranylacetone, 9-octadecenoic acid, (9E)-palmitic acid, tearic acid etc., in the flower, leaf or fruit of *Camellia chrysantha*. This technology can be applied to volatile components analysis in different parts of *Camellia chrysantha* with small sample amount, short time, high sensitivity and good reproducibility.

**Key words:** graphene; headspace stir bar sportive extraction; *Camellia chrysantha*; volatile components; analysis

金花茶是我国一级重点珍稀保护植物,有着“植物界大熊猫”的美称<sup>[1]</sup>。目前尚无针对金花茶中挥发性精油成分进行专门研究的报道,大多是关注于金花茶中茶多酚、总黄酮、茶多糖、皂苷等有效成分检测或分离研究<sup>[3-5]</sup>。均未涉及到香叶基丙酮、(E)-9-十八烯酸、棕榈酸、硬脂酸、紫罗酮、亚油酸、 $\beta$ -大马士酮、月桂酸等金花茶挥发性精油成分的检测或分离技术。

搅拌棒吸附萃取(SBSE)是一种新型的固相微萃取样品前处理技术<sup>[6-8]</sup>。SBSE目前有2种萃取模式:直接搅拌棒吸附萃取,该模式适用于无挥发性或挥发性较弱物质的萃取,如金花茶中挥发性较弱的茶多酚、总黄酮、皂苷类物质等;顶空吸附萃取(HDSBSE),适用于挥发性较强的挥发性物质的吸附萃取,如棕榈酸、紫罗酮等金花茶中挥发性精油成分。

目前尚未见有应用HDSBSE-GC-MS技术开展

金花茶挥发性精油成分检测的相关报道。笔者基于低成本稻草、甘蔗渣或玉米秆等生物质源的三维多孔石墨烯-聚合物涂层的HDSBSE-GC-MS技术对金花茶叶、花朵、果实中香叶基丙酮、棕榈酸、硬脂酸、紫罗酮、亚油酸、月桂酸等挥发性精油成分进行高灵敏检测。

## 1 试剂与仪器

### 1.1 主要试剂

所用试剂除特殊说明外均为分析纯,购自阿拉丁上海有限公司;实验用水为蒸馏水;稻草、玉米秆等可再生资源为广东河源、梅州等地采集;金花茶花、叶等原料由广东盛世通生物有限公司提供。

### 1.2 样品表征

产物尺寸和形貌的表征在JEM-2010F透射电镜、JEOL-2010F高分辨透射电镜及JSM-7401F场发射扫描电镜上进行;产物的粉末X射线衍射

(XRD) 表征在德国 Bruker D8-advance X 射线衍射仪上进行, X 射线是单色的  $\text{CuK}\alpha$  辐射线 ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ),  $2\theta$  扫描角度从  $10$  到  $70^\circ$ , 步长  $0.02^\circ$ ; 傅里叶红外光谱 (FTIR) 实验在 FTIR-8201 (PerkinElmer 公司) 红外光谱仪上进行。

### 1.3 三维介孔石墨烯纳米材料制备

氧化石墨烯的制备: 称取  $10 \text{ g}$  优选洗净干燥后的稻草 (或玉米秆、甘蔗渣), 切段粉碎, 过  $30$  目筛, 放入瓷坩锅中, 加入  $10 \text{ mL}$  氯化锌溶液 ( $0.05 \text{ mol/L}$ ) 作为活化剂, 搅拌均匀, 将混匀的料液在室温下浸渍  $12 \text{ h}$ 。随后将浸渍好的料液放入马弗炉中, 从室温升至  $900^\circ\text{C}$ , 保温一定时间后立即将试样倒入到一定浓度的盐酸水溶液中, 用水洗涤至  $\text{pH}$  为  $7$ 。再将洗涤好的试样  $110^\circ\text{C}$  烘干  $4 \text{ h}$ , 静置冷却。最后将试样粉碎过  $300$  目筛, 得到活性炭粗品。上述粗品采用 Cellu. sep 透析袋, 在  $\text{pH}$  为  $7.38$  的去离子水中透析一周, 真空干燥后即得活性炭纯样, 并以为之碳源, 采用改进型 Hummers 法制备氧化石墨烯  $200 \text{ mg}$  备用<sup>[8]</sup>。

生物质源三维介孔石墨烯聚合物的制备: 取上一步制备的甘蔗渣 (或玉米秆、稻草) 源氧化石墨烯制成分散液 ( $1.0 \text{ mg/mL}$ ,  $100 \text{ mL}$ ), 超声  $1 \text{ h}$  后逐步滴加壳聚糖溶液 ( $80 \text{ mg}$  壳聚糖溶于  $20 \text{ mL}$   $5\%$  的醋酸后于  $-20^\circ\text{C}$  静置一夜), 搅拌  $10 \text{ h}$ , 过滤,  $60^\circ\text{C}$  下真空干燥  $24 \text{ h}$ 。所得中间体放入石英舟, 氩气保护下  $150^\circ\text{C}$  热处理  $45 \text{ min}$ 。随后于  $60^\circ\text{C}$  下真空干燥, 即得三维介孔石墨烯纳米复合材料 (3D-CSGR)。

### 1.4 金花茶优选及 SBSE 萃取工艺

金花茶叶优选、洗净、粉碎: 采摘春季新鲜的金花原叶按《中华人民共和国药典》(2010 年版) 要求优选。洗净干燥粉碎后, 取一定量粉碎样品, 过  $120$  目筛, 将过筛后的  $0.7 \text{ g}$  粉末置于  $8 \text{ mL}$  顶空瓶中, 然后采用无活性的不锈钢钩将涂有石墨烯涂层的搅拌棒 (SBSE, 预先涂布制备并保存于三次水中) 置于

距瓶底部约  $2/3$  处, 最后用聚四氟乙烯胶垫瓶盖密封盖将顶空瓶密封,  $75^\circ\text{C}$  温度下用小型磁力搅拌萃取  $18 \text{ min}$ 。金花茶花朵、花瓣或果实优选及 SBSE 萃取采用上述类似工艺。

### 1.5 金花茶挥发油类成分分析检测

顶空搅拌棒吸附萃取-气质联用 (HDSBSE-GC-MS) 分析过程如图 1 所示。

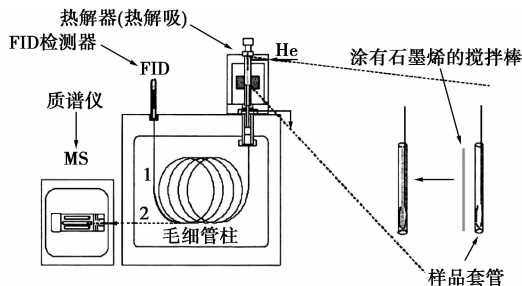


图 1 顶空搅拌棒吸附萃取-气质联用 (HDSBSE-GC-MS) 过程示意图

将涂布好石墨烯材料的 SBSE 棒放入样品套管中, 通过 Agilent CDS5200 裂解器进行热解吸, GC-MS 选用 Agilent 6890-5973 型气质联用色谱。程序升温以  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  从室温  $25^\circ\text{C}$  升温到  $85^\circ\text{C}$ , 再以  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  升温到  $180^\circ\text{C}$ , 最后以  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  升温到  $250^\circ\text{C}$  (保持  $5 \text{ min}$ ); 进样口和检测器 (FID) 温度均为  $250^\circ\text{C}$ ; 分流比:  $30:1$ ; 柱流量:  $1 \text{ mL}/\text{min}$ , 载气为高纯氮气; 质谱条件: 高纯氮气, EI 离子源, 电离电压  $70 \text{ eV}$ ; 离子源温度:  $250^\circ\text{C}$ , 传输线温度:  $250^\circ\text{C}$ ; 扫描范围:  $40 \sim 500 \text{ amu}$ ; 质谱标准库: Nist 谱图库。

## 2 结果与讨论

### 2.1 生物质源三维介孔石墨烯纳米材料合成与表征

三维介孔石墨烯纳米材料的电镜图及原子力图如图 2 所示。

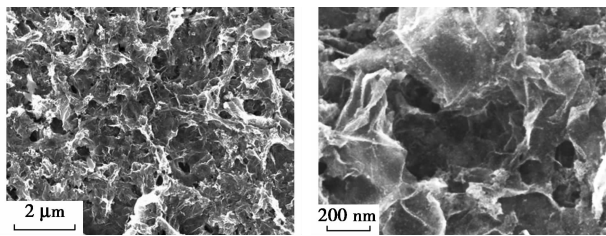
(上接第 172 页)

### 参考文献

- [1] 付国秀, 牛勤学, 党小杰. EDTA 测定氧化锌浸出渣中铅含量 [J]. 冶金分析, 2014, 34(2): 70-73.
- [2] 曹宏杰, 张婵, 李文波. 高铅炉渣中铅的测定 [J]. 理化检验 (化学分册), 2013, 49(3): 324-325, 328.
- [3] 高风光. EDTA 滴定法快速测定铅基合金中铅 [J]. 理化检验 (化学分册), 2004, 40(5): 298-299.
- [4] 吕彦玲, 王冬珍. 硫酸盐沉淀分离法测定粗铅中的铅含量 [J].

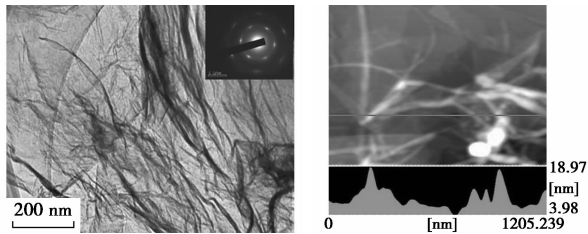
甘肃冶金, 2007, 29(1): 73-74.

- [5] 北京矿冶研究总院分析室. 矿石及有色金属分析手册 [M]. 北京: 冶金工业出版社, 1990.
- [6] 石志圣, 周桂圆. EDTA 络合滴定快速测定矿石中的铅 [J]. 湖南有色金属, 1990, 6(6): 51-53.
- [7] 陈宙文. 快速络合滴定测定矿石中的铅 [J]. 湖南冶金, 1996, 3: 51-52.
- [8] 王铭, 李蓉, 毛禹平. 稀土铅中铅的络合滴定法测定 [J]. 云南冶金, 2002, 31(2): 61-62.
- [9] 田海燕, 刘云. EDTA 容量法测定铅渣水浸渣中铅含量 [J]. 云南冶金, 2011, 40(4): 63-65. ■



(a) 三维介孔石墨烯纳米复合材料扫描电镜图

(b) 三维介孔石墨烯纳米复合材料扫描电镜图



(c) 三维介孔石墨烯纳米复合材料透射电镜图, 右上角插图为选区验收图

(d) 三维介孔石墨烯纳米复合材料原子力图, 基底: 云母片, 尺寸 1.2 μm × 1.2 μm

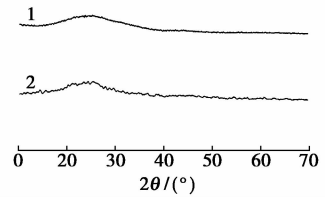
图2 电镜及原子力分析

传统石墨烯成本高昂<sup>[8]</sup>, 笔者利用我国南方地区非常丰富的稻草等可再生资源, 经壳聚糖功能化及可控热处理制备得到三维介孔石墨烯纳米材料, 并成功地将其应用于 SBSE 技术中。该工艺不仅有望实现金花茶挥发性活性成分的高效检测, 也可提高上述农业尾料的附加值, 延长产业链, 提高土地产出率。

由图2(a)可知, 该类材料具有空间三维结构, 经过 150℃ 热处理后, 材料原始的二维片层结构已发生根本的变化。图2(b)是更清晰的材料的空间三维结构<sup>[9]</sup>。由图2(c)透射电镜图(材料最薄处)同样证实了材料的三维结构, 其中右上角插图显示的选区衍射(SAED)已无法非常清晰地观察到石墨烯晶格特有的对称的6个点, 而是弱的漫射环, 表明三维石墨烯材料已失去了原有的长程有序, 与材料属性吻合。由图2(d)可以看到, 材料具有显著的三维高低起伏特征, 在较薄处, 该三维纳米材料的厚度约为 15.0 nm。

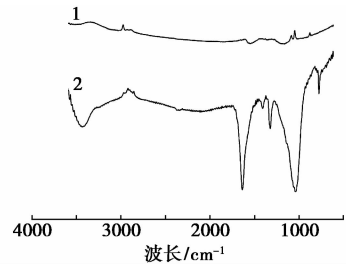
石墨烯和三维介孔石墨烯纳米复合材料的 XRD 射线衍射及红外光谱分析分别如图3、图4所示。

由图3可以看出, 3D-CSGR 介孔材料具有 1 个典型的 24.7° 强峰, 与石墨烯特征峰是一致的, 也直接证实经由非共价修饰的方法, 3D-CSGR 介孔材料中石墨烯的本征属性可以得以保留。



1—石墨烯; 2—三维介孔石墨烯纳米复合材料

图3 XRD 射线衍射分析

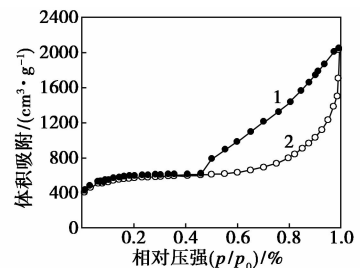
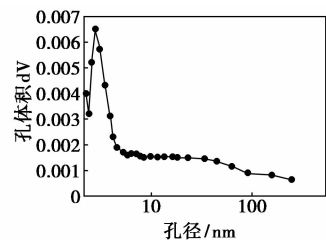


1—石墨烯; 2—三维介孔石墨烯纳米复合材料

图4 红外光谱图

由图4可以看出, 与曲线1相比, 曲线2在 890、1150  $\text{cm}^{-1}$  处有 2 个特征峰, 为壳聚糖的特征峰, 表明壳聚糖的成功引入。另外, 2 个曲线都可以观察到 1545  $\text{cm}^{-1}$  左右的峰(归属为石墨烯的骨架震动), 表明转化为三维介孔材料后, 材料的石墨烯本质特性仍然得以保留。

三维介孔石墨烯纳米复合材料  $\text{N}_2$  吸附-脱附等温线图及孔径分布曲线如图5所示。由图5可知, 由于存在相互连通的微孔和介孔, 吸附脱附曲线

(a)  $\text{N}_2$  吸附-脱附等温线图

(b) 孔径分布曲线

图5 三维介孔石墨烯纳米复合材料  $\text{N}_2$  吸附-脱附等温线图及孔径分布曲线

在比压 0.5~1.0 之间有滞后环。分析结果表明,三维介孔石墨烯纳米复合材料的比表面积为 603.2 m<sup>2</sup>/g,较低温剥离的石墨烯(约 442.9 m<sup>2</sup>/g)及 CVD 法制备的石墨烯比表面积(约 127.2 m<sup>2</sup>/g)大大提高<sup>[10-11]</sup>。

## 2.2 金花茶 SBSE 萃取工艺研究

为确保萃取原料的品质及代表性,金花茶叶、花(花瓣、花蕊、花粉等)、果需严格按 2010 年版《中华人民共和国药典》要求进行优选;优选出金花茶原料洗净粉碎后,置于顶空瓶内,75℃ 温度下,采用涂有石墨烯涂层的 SBSE 搅拌棒萃取 18 min。

### 2.2.1 萃取涂层选择

按 1.4、1.5 所述实验方法,以检出峰个数和色谱峰总面积为衡量指标,分别考察涂有 100 μm 全氟化树脂(常见商用 SBSE 膜)、100 μm 三维介孔石墨烯、30 μm 三维介孔石墨烯涂层的 SBSE 萃取棒的萃取能力。结果显示,同等积分条件下,100 μm 全氟化树脂 SBSE 萃取棒共检出 53 个峰,峰面积和为 653;100 μm 三维介孔石墨烯 SBSE 萃取棒共检出 67 个峰,峰面积和为 781;30 μm 三维介孔石墨烯涂层的 SBSE 萃取棒共检出 47 个峰,峰面积和为 386。无论是峰面积和还是峰个数,100 μm 三维介孔石墨烯涂层的 SBSE 萃取棒均具有明显的优势,能够更有效地萃取吸附金花茶挥发性精油成分。

### 2.2.2 样品用量

将过筛后的 0.7 g 粉末置于 8 mL 顶空瓶中用于 SBSE 萃取。为考察样品用量对萃取效率的影响,分别研究了 0.1、0.3、0.5、0.7、0.9 g 样品粉末 SBSE 萃取后色谱峰总面积。结果表明,在相同积分条件下,对应的总峰面积分别为 532、655、689、781、748,表明 0.7 g 样品用量时所得峰面积已达到峰值,峰的分离度也相对较好。

### 2.2.3 顶空萃取温度及时间

顶空萃取包括吸附及解吸 2 个动态过程,萃取温度对 SBSE 萃取棒对金花茶挥发性成分吸附量影响较大,实验选定 45、55、65、75、85、95、105、115℃ 8 个温度点进行检测分析(18 min),以色谱峰总面积作为考察指标。实验结果表明,当吸附温度为 75℃ 时,吸附量(色谱法总面积为衡量指标)已经达到最大峰值,85℃ 时挥发性成分吸附量已经开始下降。因此选择最终吸附温度为 75℃。

笔者也以不同萃取吸附时间下色谱峰总面积作为考察指标,实验结果表明,金花茶萃取吸附时间达

到 18 min 后,色谱峰总峰面积已到最大峰值,继续增加萃取吸附时间反而使色谱峰面积进一步减小。因此,选择 18 min 作为金花茶挥发性成分 SBSE 萃取吸附时间。

### 2.2.4 实验重现性考察

按 1.4~1.5 所述萃取分析条件进行萃取进样分析,重复 5 次,以金花茶挥发油成分的总峰面积值为考察指标,计算其标准偏差 RSD 为 1.32%,显示该检测方法重现性较好,适于金花茶挥发油类成分的分析检测。

## 2.3 金花茶挥发性成分 HDSBSE-GC-MS 检测分析结果

经对萃取条件考察,得出金花茶挥发油类活性成分最佳萃取条件,即萃取头为 100 μm 三维介孔石墨烯涂层的 HDSBSE 棒,样品用量 0.7 g,平衡及吸附温度为 75℃,吸附萃取时间为 18 min。在该条件下得到的 HDSBSE-GC-MS 分析总离子流图中,共计 67 个成分被积分得到。利用美国 Nist 质谱数据库的质谱数据进行计算机检索比对,并进行人工图谱解析,结果其中 43 个成分得到鉴定,其中相对质量分数较高的有(*E,E*)-9-十八烯酸(18.72%)、棕榈酸(13.28%)、硬脂酸(5.67%)、(*E,E*)-2,4-十二碳二烯醛(4.52%)、二十三烷(4.29%)、香叶基丙酮(2.65%)、(*E,E*)-2,4-庚二烯醛(1.96%)等,未鉴定成分中无质量分数较高成分,鉴定结果如表 1 所示。

表 1 金花茶挥发油类成分的 HDSBSE-GC-MS 分析结果

序号	保留时间/min	化合物名称	质量分数/%
1	6.53	( <i>E,E</i> )-2,4-庚二烯醛	1.96
2	7.44	己酸	0.35
3	7.78	苯乙醛	0.65
4	10.76	1-壬醛	0.28
5	11.12	芳樟醇	0.48
6	14.28	2-(甲基苯基)异丙醇	0.12
7	14.73	1,6-辛二烯-3-醇-3,7-二甲基丙酸	0.78
8	15.02	正癸醛	0.15
9	16.17	( <i>Z</i> )-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	0.06
10	17.22	2-癸烯醛	0.32
11	17.44	柠檬醛	0.15
12	17.57	丁烯基环己烯	0.25
13	18.53	( <i>E,E</i> )-2,4-十二碳二烯醛	4.52

序号	保留时间/min	化合物名称	续表
			质量分数/%
14	18.95	壬酸	0.07
15	21.56	反-2-十一烯醛	0.32
16	22.21	$\beta$ -大马士酮	1.02
17	23.02	癸酸	0.15
18	23.92	月桂醛	0.18
19	24.38	$\alpha$ -紫罗酮	0.71
20	25.65	香叶基丙酮	2.65
21	26.59	4-[2,2,6-三甲基-7-氧杂二环[4.1.0]庚-1-基]-3-丁烯-2-酮	0.32
22	26.73	$\beta$ -紫罗酮	0.98
23	27.89	2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚	0.30
24	29.53	顺式-3-己烯醇苯甲酸酯	0.26
25	30.05	橙花叔醇	0.57
26	30.30	月桂酸	0.35
27	31.19	十四烷醛	0.68
28	31.17	鲸蜡烷	0.18
29	34.03	二十烷	0.77
30	34.19	(2E,6E)-3,7,11-三甲基-2,6,10-十二烷三烯醛	0.29
31	35.21	肉豆蔻酸	0.45
32	36.76	3-甲基金刚烷	0.20
33	36.97	植酮	0.48
34	37.98	7,9-二叔丁基-1-氧杂螺(4,5)癸烯二酮	0.37
35	38.58	金合欢醇丙酮	0.26
36	39.97	棕榈酸	13.28
37	40.37	棕榈酸甲酯	0.32
38	42.25	亚油酸	0.36
39	42.46	(E)-9-十八烯酸	18.72
40	42.79	硬脂酸	5.67
41	43.34	二十五烷	1.75
42	44.39	二十三烷	4.29
43	44.59	芥酸	0.65
合计			66.69

### 3 结论

以玉米秆、稻草、甘蔗渣等生物质资源为原料,采用改进型 Hummers 法及可控热处理法制备得到

壳聚糖功能化的三维石墨烯纳米材料,并成功将其作为顶空搅拌棒吸附萃取的萃取涂层,在优化的实验条件基础上建立了金花茶中挥发油类有效成分的顶空搅拌棒固相吸附萃取-气相色谱-质谱联用高效检测技术,成功检测到(E)-9-十八烯酸(18.72%)、棕榈酸(13.28%)、硬脂酸(5.67%)、(E,E)-2,4-十二碳二烯醛(4.52%)、二十三烷(4.29%)、香叶基丙酮(2.65%)、(E,E)-2,4-庚二烯醛(1.96%)等43个挥发油类活性化合物。该方法具有操作时间短,样品用量小,无需萃取溶剂,检测限低及再现性好等特点,是一种实用性较强的金花茶中挥发油类活性成分高灵敏检测技术。该技术也适用于山茶花、玫瑰花、薇甘菊、紫茎泽兰、橘子、柚子、薰衣草、肉桂、八角等植物中挥发油类有效成分检测分析。

### 参考文献

- [1] 梁盛业,陆敏珠,黄晓娜. 中国金花茶图谱[M]. 北京:中国林业出版社,2012.
- [2] 曾秋文,林华娟,秦小明,等. 金花茶皂甙的分离纯化研究[J]. 食品科技,2010,(10):233-237.
- [3] 林华娟,田晓春,秦小明,等. 金花茶多糖单一成分的化学结构特征解析[J]. 食品科学,2013,(3):141-146.
- [4] 彭晓,于大永,冯宝民,等. 金花茶花化学成分的研究[J]. 广西植物,2011,31(04):550-553.
- [5] 唐前,罗燕英,黄连冬,等. 金花茶组植物化学成分的定量分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(4):769-771.
- [6] 欧阳钢锋,[加]波利西恩(Pawliszyn J). 固相微萃取:原理与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2012.
- [7] Luo Y B, Cheng J S, Ma Q, et al. Graphene-polymer composite: Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from water samples by stir rod sorptive extraction[J]. Analytical Methods, 2011, 3:92-98.
- [8] 程金生. 功能化石墨烯纳米材料合成及应用[D]. 北京:中国科技大学,2011.
- [9] Kawahara M, Yui T, Oka K, et al. Fourth 3D structure of the chitosan molecule: Conformation of chitosan in its salts with medical organic acids having a phenyl group[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2003, 67:1545-1550.
- [10] Kaniyoor A, Baby T T, Ramaprabhu S. Graphene synthesis via hydrogen induced low Temperature exfoliation of graphite oxide[J]. Journal of Material Chemistry, 2010, 20:8467-8469.
- [11] 李志扬,王小美,倪红军,等. 石墨烯负载电催化剂的研究进展[J]. 现代化工,2013,6:46-49. ■