

超临界 CO₂ 萃取鸡骨柴精油正交试验及 GC/MS 分析

康淑荷, 师永清

(西北民族大学化工学院, 甘肃 兰州 730030)

摘要:应用超临界 CO₂ 萃取技术研究了鸡骨柴精油的萃取工艺, 最佳萃取条件为压力 15 MPa、温度 45 ℃、萃取时间 1.5 h、CO₂ 流量 5 mL · min⁻¹, 在此工艺条件下超临界 CO₂ 萃取法得到的鸡骨柴精油收率为 2.87%。利用气相色谱-质谱联用法对鸡骨柴萃取物的化学组成进行分析, 用归一化法测定其相对百分含量, 共分离出 44 种成分, 鉴定了其中的 38 种成分, 占出峰物质总量的 96.46%, 主要成分为对聚伞花素 (19.34%)、顺式-石竹烯 (18.23%)、 β -蒎烯 (7.10%)、香荆芥酚 (5.63%)、百里香酚 (6.48%)、3-辛酮 (5.26%) 等。并且在鸡骨柴精油中鉴定出十五烷醇乙酸酯 (0.86%), 乙酸十二烷基酯 (0.29%), 9,12-亚油酸甲酯 (1.58%), 9-十八烯酸甲酯 (0.84%), 9-十八碳烯酸 (0.92%) 等成分。

关键词:超临界 CO₂ 萃取; 鸡骨柴; 精油; 气相色谱-质谱法 (GC/MS)

中图分类号: O 657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2009)01-36-05

Supercritical CO₂ Fluid Extraction of *Elsholtzia Fruticosa* and GC/MS Analysis

KANG Shu-he, SHI Yong-qing

(School of Chemical Engineering, Northwest Minorities University, Lanzhou 730030, China)

Abstract: Essential oils were extracted from *Elsholtzia fruticosa* with supercritical CO₂ fluid extraction. The results of experiments indicate that the optimum extraction of pressure, temperature, extraction time and CO₂ fluid are 15 MPa, 45 ℃, 1.5 h, 5 mL · min⁻¹, respectively, and the yield of SFE-CO₂ extracts is 2.87%. The chemical constituents of extracts of *Elsholtzia fruticosa* were determined by GC/MS. The relative contents of constituents were determined by area normalizing method. 38 constituents are identified from 44 separated peaks, amounting to total mass fraction 96.46%. The main compounds are *p*-cymene (19.34%), *cis*-caryophyll-ene (18.23%), β -pinene (7.10%), carvacrol (5.63%), thymol (6.48%), 3-octanone (5.26%), etc. Acetic acid dodecyl ester (0.29%), 2-octene-1-ol (0.69%), pentadecanol acetate (0.86%), hexadecanoic acid (0.70%), 9,12-octadecadienoic acid methyl ester (1.58%), 9-octadecenoic acid methyl ester (0.84%), 9-octadecenoic acid (0.92%) are determined in essential oils of *Elsholtzia fruticosa*.

Key words: supercritical CO₂ fluid extraction; *Elsholtzia fruticosa*; essential oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)

鸡骨柴(*Elsholtzia fruticosa*) 又叫双翎草,系唇形科香薷属植物,一年生草本或亚灌木,高 0.5~1 m,全株有香气,是一种可供观赏的芳香族植物,花期 7~9 月,果期 10~11 月。我国主要分布于甘肃南部(白龙江流域)、湖北西部、四川、西藏、云南、贵州及广西等地,生于海拔 1 200~3 200 m 的山谷侧边、谷底、路旁、开旷山坡及草地中^[1]。鸡骨柴具有很高的药用价值,能治疗多种疾病,主要功效为温经通络、祛风除湿、治疗关节疼痛等^[2]。朱干培^[3]报道了水蒸气蒸馏法提取昆明产鸡骨柴精油的化学成分;郑尚珍等^[4]报道了水蒸气蒸馏法提取四川产鸡骨柴精油的化学成分。超临界流体萃取技术具有操作温度低,提取率高,有效成分不易被分解破坏,无溶剂残余等优点^[5-6]。直接采用超临界流体萃取鸡骨柴全草精油的研究未见报道,为进一步开发利用该植物,本工作对超临界 CO₂ 流体萃取(SFE-CO₂)鸡骨柴全草精油的萃取条件进行研究,并利用气相色谱-质谱(GC/MS)法分析萃取精油的组成,为实际应用提供理论和试验依据。

1 试验部分

1.1 主要仪器与试剂

色谱-质谱联用仪:色谱为 HP-5890A 型,质谱为 HP-5988A 型,并配有 Incos 图谱检索系统;超临界 CO₂ 流体萃取仪:美国 Hewlett-Packord 7680T,输送 CO₂ 流体的泵为 HP 1050 型泵,HP 专用萃取池容积为 7 mL,收集池容积为 3 mL;CO₂ 气体为食品级。

1.2 主要材料与试剂

鸡骨柴全草于 2006 年 7 月采自昆明,经西北师范大学生命科学学院康永善教授鉴定为鸡骨柴,自然阴干、粉碎、过 60 目筛,备用。

1.3 试验条件

1.3.1 色谱条件 色谱柱:HP-5 石英弹性毛细管柱;升温程序:70 ℃ 保持 3 min,以 4 ℃ · min⁻¹ 升至 300 ℃,保持 20 min;汽化温度 300 ℃;载气(氮气)流速:2 mL · min⁻¹;进样量 0.11 μL;分流比 50 : 1。

1.3.2 质谱条件 电子轰击(EI)离子源,电子能量 70 eV,传输线温度 275 ℃,离子源温度 250 ℃,发射电源 1 mA,质量扫描范围 m/z 50~550。

2 结果与讨论

2.1 鸡骨柴精油的正交试验因素水平设计

为了全面考察超临界 CO₂ 萃取各因素对鸡骨柴全草精油萃取效率的影响,根据预试验,采用超临界 CO₂ 流体萃取精油,以精油提取量为考察指标,选择萃取压力(A)、萃取温度(B)、萃取时间(C)、CO₂ 流量(D)4 个因素,选定 4 因素 3 水平进行 L₉(3⁴) 正交试验,因素水平列于表 1。

2.2 正交试验方法及结果

按 L₉(3⁴) 作正交试验,记录鸡骨柴精油得量,结果列于表 2。

表 2 中 K_1 、 K_2 、 K_3 为相应水平所得萃取率的总和, $\bar{K}_1$ 、 $\bar{K}_2$ 、 $\bar{K}_3$ 分别为 K_1 、 K_2 、 K_3 的平均值, R 为极差,即 $R = \bar{K}_{\max} - \bar{K}_{\min}$ 。从表 2 可以看出,(A) $K_2 > K_3 > K_1$ 、(B) $K_2 > K_3 > K_1$ 、(C) $K_3 > K_1 > K_2$ 、(D) $K_1 > K_2 > K_3$ 。因此,超临界 CO₂ 流体萃取法萃取鸡骨柴精油的最佳组合条件是 A2B2C3D1,即萃取压力为 15 MPa、萃取温度为 45 ℃、萃取时间为 1.5 h、CO₂ 流量为 5 mL · min⁻¹。用此条件萃取鸡骨柴精油,得到的产品提取率为 2.87%,高于文献报道的水蒸

表 1 鸡骨柴 SFE-CO₂ 提取工艺考察因素水平

Table 1 Technological factors analysis of SFE-CO₂ extracting *Elsholtzia fruticosa*

水平	压力(A)/MPa	温度(B)/℃	时间(C)/h	CO ₂ 流量(D)/(mL · min ⁻¹)
1	10	35	0.5	5
2	15	40	1	10
3	20	45	1.5	15

表 2 L9(3⁴)表及试验结果
Table 2 L9(3⁴) table and experiment results

水平	因素				鸡骨柴精油得率/%
	A1	B2	C3	D4	
1	1	1	1	1	0.42
2	1	2	2	2	0.93
3	1	3	3	3	0.54
4	2	1	2	3	2.01
5	2	2	3	1	2.87
6	2	3	1	2	2.36
7	3	1	3	2	1.52
8	3	2	1	3	2.10
9	3	3	2	1	1.94
K ₁	1.890	3.951	4.881	5.229	
K ₂	6.839	5.901	4.878	4.809	
K ₃	4.959	4.839	4.929	4.650	
$\bar{K}_1$	0.630	1.317	1.627	1.743	
$\bar{K}_2$	2.413	1.967	1.626	1.603	
$\bar{K}_3$	1.853	1.613	1.643	1.550	
优化水平	A2	B2	C3	D1	
极值 R	1.783	0.650	0.017	0.193	
主次顺序	A>B>D>C				

气蒸馏法的得率(0.75%)^[5]，此提取条件与正交试验任意组对比,大于所有提取率,验证了所确定的条件为最佳工艺条件。正交试验结果的方差分析列于表 3,由表 3 可知,因素对试验结果的影响依次为萃取压力、萃取温度、CO₂ 流量、萃取时间。分析结果表明,在试验范围内萃取压力对萃取鸡骨柴挥发油收率有显著性影响,而萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量对萃取收率的影响不显著。

表 3 方差分析
Table 3 Analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	F 比	显著性
A	4.990	2	83.167	显著
B	0.635	2	10.583	有影响
C	0.001	2	0.017	不显著
D	0.640	2	1.000	不显著

2.3 精油的 GC/MS 分析

按上述的 GC/MS 条件对超临界 CO₂ 萃取的鸡骨柴精油进行分析,得其总离子流图。根据

质谱离子峰面积归一法测得各成分的百分含量,对总离子流图中各峰的质谱图,用 Incos 数据系统检索和质谱资料^[7-8]核对及人工解析,共鉴定出 38 个成分,列于表 4。

3 结 论

超临界 CO₂ 萃取鸡骨柴精油的最佳萃取条件为:萃取压力 15 MPa、萃取温度 45 ℃、萃取时间 1.5 h、CO₂ 流量 5 mL·min⁻¹,在此条件下鸡骨柴精油提取率为 2.87%。采用超临界 CO₂ 萃取的鸡骨柴精油经 GC/MS 分析共鉴定出 38 种化学成分,占出峰物质总量的 96.46%,其中总含量在 1% 以上的有:萜类化合物 13 种,占 56.69%;醇类化合物 8 种,占 3.03%;酮类化合物 4 种,占 8.62%;酚类化合物 2 种,占 12.11%;酯类化合物 6 种,占 6.53%;脂肪酸 2 种,占 1.62%。主要成分为对聚伞花素(19.34%)、顺式-石竹烯(18.23%)、β-蒎烯(7.10%)百里香酚(6.48%)、香荆芥酚(5.63%)、3-辛酮(5.26%)等,并且在鸡骨柴精

表 4 鸡骨柴精油化学成分及其含量

Table 4 The chemical compounds and concent of essential oils from *Elsholtzia fruticosa*

序号	化合物	相对分子质量	分子式	相对百分含量/%
1	糠醛 Furfural	96	C ₅ H ₄ O ₂	0.07
2	2-甲基-5-(1-甲基乙基)-双环[3. 1. 0]己-2-烯 2-Methyl-5-(1-methylethyl)-bicyclo[3. 1. 0]hex-2-ene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.18
3	未知物	128		0.55
4	α -蒎烯 α -Pinene	136	C ₁₀ H ₁₆	2.03
5	莰烯 Camphene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.18
6	β -蒎烯 β -Pinene	136	C ₁₀ H ₁₆	7.10
7	水芹烯 α -Phellandrene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.12
8	月桂烯 β -Myrcene	136	C ₁₀ H ₁₆	0.28
9	对聚伞花素 <i>p</i> -Cymene	134	C ₁₀ H ₁₆	19.34
10	异松油烯 Terpinolene	136	C ₁₀ H ₁₆	4.21
11	3-辛酮 3-Octanone	128	C ₈ H ₁₆ O	5.26
12	3-辛醇 3-Octanol	128	C ₈ H ₁₆ O	0.62
13	2-辛烯-1-醇 2-Octene-1-ol	126	C ₈ H ₁₄ O	0.69
14	紫苏烯 Perillen	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.38
15	8-羟基对聚伞花素 8-Hydroxy-cymene	150	C ₁₀ H ₁₄ O	0.23
16	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.29
17	1,8-桉叶油素 1,8-Cineole	154	C ₁₀ H ₁₈ O	0.31
18	乙酸辛烯酯 Octenylacetate	170	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	3.82
19	芳樟醇 Linalool	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1.20
20	松油烯-4-醇 Terpinen-4-ol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	3.01
21	α -松油醇 α -Terpineol	154	C ₁₀ H ₁₈ O	1.32
22	反式-松香芹醇 <i>trans</i> -Pinocarveol	152	C ₁₀ H ₁₆ O	1.62
23	2-甲基-4-乙酰基-环己酮 2-Methyl-4-acetyl-cyclohexano	152	C ₁₀ H ₁₆ O	0.26
24	香蒿酮 Elsholtzia ketone	166	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	2.34
25	α -香柠檬烯 α -Bergamotene	208	C ₁₂ H ₁₆ O ₃	0.12
26	未知物	164		0.11
27	香荆芥酚 Carvacrol	150	C ₁₀ H ₁₄ O	5.63
28	百里香酚 Thymol	150	C ₁₀ H ₁₄ O	6.48
29	顺式-石竹烯 <i>cis</i> -Caryophyllene	204	C ₁₅ H ₂₄	18.23
30	律草烯 Humulene	204	C ₁₅ H ₂₄	4.21
31	未知物	204		1.18
32	十六烷 Hexadecane	226	C ₁₆ H ₃₄	0.08
33	十二烷酮 Dodecanone	184	C ₁₂ H ₂₄ O	0.76
34	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	220	C ₁₅ H ₂₄ O	0.37
35	邻苯二甲酸二乙酯 Diethyl phthalate	222	C ₁₂ H ₁₄ O ₄	0.14
36	未知物	222		0.35
37	乙酸十二烷基酯 Acetic acid dodecyl ester	228	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	0.29
38	未知物	254		1.13
39	十五烷醇乙酸酯 Pentadecanol acetate	270	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	0.86
40	棕榈酸 Hexadecanoic acid	256	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	0.70
41	未知物	278		0.21
42	9,12-亚油酸甲酯 9,12-Octadecadienoic acid methyl ester	294	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	1.58
43	9-十八烯酸甲酯 9-Octadecenoic acid methyl ester	296	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	0.84
44	9-十八碳烯酸 9-Octadecenoic acid	282	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.92

油中鉴定出十五烷醇乙酸酯、乙酸十二烷基酯、9,12-亚油酸甲酯、9-十八烯酸甲酯、棕榈酸、9-十八碳烯酸等高级脂肪酸及高级脂肪酸酯。超临界 CO_2 萃取法具有收率高、萃取时间短、鸡骨柴精油品质好、无溶剂残留等优点,适合天然产物的分离精制,更适合精油中热敏性成分的提取。试验还发现,昆明产鸡骨柴全草精油与郑尚珍等^[6]报道的四川产鸡骨柴全草精油的主要成分及含量有明显不同。由此可见:同一个物种,产地不同,挥发油组成存在较大差异;同一个物种,产地相同,提取方法不同,所得挥发油组成也存在较大差异。

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大词典[M]. 上海:上海科学技术出版社, 1985:311.

- [2] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京:人民卫生出版社, 1982:839.
- [3] 赵 欧, 梁逸曾. 辛夷挥发油不同提取方法的研究[J]. 质谱学报, 2007, 28(2): 106-113.
- [4] 侯彩霞, 李淑芬. 挥发油的超临界流体萃取与分离进展[J]. 化工进展, 2007, 26(1): 42-46.
- [5] 朱干培. 十种中国香薷属植物挥发油的气相-色谱-质谱分析[J]. 中国中药杂志, 1990, 15(11): 37-39.
- [6] 郑尚珍, 马雪梅, 确 生, 等. GC-MS 法测定双翎草精油的化学成分[J]. 西北师范大学学报:自然科学版, 2004, 40(1): 48-50.
- [7] 丛浦珠. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京:科学出版社, 1978.
- [8] STENHAGEN. Registry of mass spectra data [M]. New york: Wiley, 1974.

欢迎订阅 欢迎投稿 欢迎刊登广告 《分析测试学报》

《分析测试学报》是由中国分析测试协会、中国广州分析测试中心共同主办的全国性学术刊物,中文核心期刊。刊登质谱学、光谱学、色谱学、波谱学、电化学、电子显微学等方面的分析测试新理论、新方法、新技术的研究成果,介绍新仪器装置及在生物、医药、化学化工、商检、食品检验等方面实用性强的实验技术。适合科研院所、高等院校、检测机构、医药、卫生以及厂矿企业分析测试工作和管理人员阅读。

经过多年的发展,本刊已成为国内知名的化学类核心期刊。2006 年,影响因子在全国分析学科刊物排名中列第 1 名,被引频次每年递增约 30%,稿源丰富,基金论文比超过 70%。近几年,本刊刊发的论文被 CA(美国化学文摘)收录率达 94%,2006 年引文频次在 CA 千种表中国部分中列第 38 名,并被国际上其它知名的数据库如日本科技文献速报、俄罗斯文摘、英国分析文摘(AA)、《质谱公报》等收录。中文核心期刊(入选《中文核心期刊要目总览》2004 年版);进入由全国 8000 种期刊遴选出的 500 种科技期刊组成的“中国科技期刊精品数据库”;中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)统计刊源;中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊);《中国科学引文数据库》来源期刊;中国期刊全文数据库(CJFD)收录期刊;《中国核心期刊(遴选)数据库》收录;《中国学术期刊(光盘版)》全文收录期刊;《中国期刊网》全文收录期刊;《中国学术期刊文摘(中、英文版)》收录为源期刊等。

本刊为月刊,国内外公开发行人。大 16 开,单价:12.00 元/册,全年 144 元。请在全国各地邮局订阅。未在邮局订到者可直接向本编辑部补订。补订办法:请从邮局汇款至广州市先烈中路 100 号《分析测试学报》编辑部,邮编:510070,写明订户单位、详细地址、收刊人姓名、邮编及补订份数(全年或某期),电话:(020)87684776 或 37656606,http://www.fxcsxb.com, E-mail: fxcsxb@china.com。