

艾纳香挥发油萃取工艺优化及成分分析[△]

赵超*,徐文芬#,孙庆文,孙开芬,陈滕(贵州中医药大学药学院,贵阳 550025)

中图分类号 R917;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2022)08-0950-07

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2022.08.08



摘要 目的 优化艾纳香挥发油的超临界二氧化碳(CO₂)萃取工艺,并比较超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法所得艾纳香挥发油的成分。方法 采用超临界CO₂萃取法提取艾纳香挥发油,以挥发油萃取率为指标,以萃取温度、萃取压力、萃取时间为因素,在单因素实验的基础上,采用正交实验优化超临界CO₂萃取工艺;采用气相色谱-质谱法鉴定艾纳香挥发油的成分,采用峰面积归一化法计算各成分的相对含量;以水蒸气蒸馏法所得挥发油为参照,比较两种方法的挥发油萃取率、成分及含量。结果 艾纳香挥发油最优超临界CO₂萃取工艺为萃取压力30 MPa、萃取温度50 ℃、萃取时间50 min;经3次实验验证,得挥发油的平均萃取率为4.64%(RSD=0.54%,n=3)。从超临界CO₂萃取法所得艾纳香挥发油中共鉴定出39种成分,如三十三烷、豆甾醇、角鲨烯等,从水蒸气蒸馏法所得挥发油中共鉴定出51种成分,如正三十烷、喇叭茶萜醇、葎草烯环氧化物等;两种提取方法所得艾纳香挥发油的萃取率分别为4.64%、0.99%,其中含花椒油素、L-龙脑、β-石竹烯等26种共有成分。除花椒油素(超临界CO₂萃取法为34.829%,水蒸气蒸馏法为30.676%)、叶绿醇(超临界CO₂萃取法为2.401%,水蒸气蒸馏法为1.273%)外,超临界CO₂萃取法所得挥发油成分的相对含量均低于水蒸气蒸馏法。结论 所得最优超临界CO₂萃取工艺稳定、可行;虽然两种提取方法所得艾纳香挥发油成分与含量的差异较大,但主要均为醛酮类、烯类、醇类等成分。

关键词 艾纳香;挥发油;超临界CO₂萃取法;正交实验;水蒸气蒸馏法;气相色谱-质谱法

Optimization of extraction technology of volatile oil from *Blumea balsamifera* and analysis on its compositions

ZHAO Chao, XU Wenfen, SUN Qingwen, SUN Kaifen, CHEN Teng (College of Pharmacy, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To optimize the supercritical CO₂ extraction technology of volatile oil from *Blumea balsamifera*, and compare the components of the volatile oil from *B. balsamifera* obtained by supercritical CO₂ extraction and steam distillation. **METHODS** The volatile oil of *B. balsamifera* was extracted by supercritical CO₂ extraction. Using extraction rate of volatile oil as index, extraction temperature, extraction pressure and extraction time as factors, based on single-factor experiment, orthogonal experiment was used to optimize the supercritical CO₂ extraction technology. Gas chromatography-mass spectrometry was used to identify the components of volatile oil from *B. balsamifera*. Peak area normalization was used to calculate the relative contents of each component. Taking the volatile oil obtained by steam distillation as a reference, the extraction rates, components and contents of volatile oil by the two methods were compared. **RESULTS** The optimal supercritical CO₂ extraction technology of volatile oil from *B. balsamifera* included extraction pressure of 30 MPa, extraction temperature of 50 ℃ and extracting for 50 min. After 3 times of validation tests, average extraction rate of volatile oil was 4.64% (RSD=0.54%, n=3). Thirty-nine components such as tritriacontane, stigmaterol, squalene were identified in the volatile oil of *B. balsamifera* obtained by supercritical CO₂ extraction; and 51 components such as triacontane, ledol, humulene epoxide I were identified by steam distillation. The extraction rate of volatile oil from *B. balsamifera* obtained by 2 methods were 4.64% and 0.99%. A total of 26 common components were obtained, such as xanthoxylin, L-borneol, β-caryophyllene. Except for xanthoxyline (34.829% by supercritical CO₂ extraction, 30.676% by steam distillation method) and phytol (2.401% by supercritical CO₂ extraction, 1.273% by steam distillation), the relative contents of the components of volatile oil obtained by supercritical CO₂ extraction were lower than those of steam distillation. **CONCLUSIONS** The optimal supercritical CO₂ extraction technology is stable and feasible; the components and contents of volatile oil obtained by two methods varies greatly, and main compounds are aldehydes and ketones, alkenes, alcohols and other components.

KEYWORDS *Blumea balsamifera*; volatile oil; supercritical CO₂ extraction; orthogonal experiments; steam distillation; gas chromatography-mass spectrometry

[△] 基金项目:贵州省科技计划项目(No.黔科合平台人才[2019]5658);贵州省一流学科建设项目(No.GNYL[2017]008号)

* 硕士研究生。研究方向:中药民族药质量控制与新药研发。E-mail:13158064588@163.com

通信作者:教授,硕士生导师。研究方向:中药民族药质量控制与新药研发。E-mail:wenfenu@126.com

艾纳香为贵州苗族特色药材,又名大风艾、牛耳艾,系菊科植物艾纳香 *Blumea balsamifera*(L.)DC.的干燥全草,收载于2003年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》,具有祛风除湿、温中止泻、活血解毒之功效,可用于治疗风寒感冒、寒湿泻痢、头风痛等症^[1]。同时,艾纳香

作为中药艾片的原药材,被2020年版《中国药典》(一部)收录^[2]。艾纳香含有挥发油和黄酮类、苯丙素类等成分^[3],其中挥发油的主要活性成分包括萜类、脂肪酸类、烯醇类等,具有抗炎、抗氧化及修复皮肤损伤等活性^[4]。目前,艾纳香挥发油是贵州多种特色民族药复方制剂(如咽立爽滴丸、金喉健喷雾剂、透骨香药乳等)的组成之一^[5];此外,因具有显著的抑菌活性,艾纳香挥发油还被广泛应用于日化用品行业^[6]。

随着艾纳香挥发油在医药化工、日化用品等行业应用的日益广泛,其相关研究也日渐增多,但大多聚焦于化学成分分析、药理作用研究等方面^[7-8],对提取工艺的研究有限。目前,艾纳香挥发油的提取方法有水蒸气蒸馏法、顶空固相微萃取法、同时蒸馏萃取法、超声波辅助法、有机溶剂萃取法等^[9-10],其中以水蒸气蒸馏法的应用较多,该方法虽然操作简单、成本低,但提取效率低、能耗大,且易破坏药材的有效成分^[11]。超临界二氧化碳(CO₂)萃取技术不仅对热敏性强,对易氧化分解的成分的提取效率高,而且对小极性成分的溶解性极强,压力及温度的微小变化都可以极大地改变成分的溶解性能,从而实现对样品的选择性提取,同时还具有无毒、安全、环保及无溶剂残留等优点,故具有很好的应用前景^[12]。基于此,本研究采用超临界CO₂萃取技术对艾纳香中的挥发油进行提取,通过单因素实验和正交实验优化提取工艺;采用气相色谱-质谱(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法比较超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法所得艾纳香挥发油的成分,旨在为其挥发油的提取及开发利用提供科学依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器有SFE-2型超临界萃取仪(美国Applied Separation公司)、HP6890-5975C型GC-MS仪(美国Agilent公司)、AG135型电子天平(瑞士Mettler Toledo公司)等。

1.2 主要药品与试剂

艾纳香药材由本课题组于2020年10月12日采集自贵州省晴隆县光照镇凉水营村,经贵州中医药大学药学院孙庆文教授鉴定为菊科植物艾纳香*B. balsamifera* (L.) DC.的干燥全草。药材采集后自然阴干,粉碎,过二号筛,粉末置于干燥器中,备用。

乙酸乙酯(分析纯)购自天津市富宇精细化工有限公司;高纯CO₂和高纯氮气(纯度均为99.999%)均购自贵阳申建气体有限公司;其余试剂均为分析纯,水为重蒸水。

2 方法与结果

2.1 超临界CO₂萃取艾纳香挥发油

取艾纳香药材粉末10 g,精密称定,置于50 mL超临界萃取反应釜中,以压力30 MPa、温度50 ℃、萃取时间

30 min为萃取条件提取艾纳香挥发油。采用质量法计算艾纳香挥发油萃取率[挥发油萃取率(%)=挥发油质量(g)/艾纳香称样量(g)×100%]。每样品平行提取3次,取平均值。

2.2 单因素实验

超临界CO₂萃取技术主要是利用CO₂在超临界状态下的特殊溶解能力,其溶解能力与CO₂的密度相关,温度和压力的微小改变都会影响CO₂的密度,而萃取时间的长短可影响萃取率^[13]。故本研究以萃取压力、萃取温度、萃取时间为指标进行单因素实验。

2.2.1 萃取压力 取艾纳香药材粉末10 g,精密称定,置于50 mL超临界萃取反应釜中,设定萃取温度50 ℃、萃取时间30 min,在参照相关文献^[14-15]的基础上,考察不同萃取压力(20、25、30、35、40 MPa)对艾纳香挥发油萃取率的影响,详见图1A。由图1A可知,随着萃取压力的增加,艾纳香挥发油萃取率呈先升高后降低的趋势;当萃取压力为30 MPa时,挥发油萃取率达到峰值;但当萃取压力超过30 MPa时,挥发油萃取率开始降低。因此,选择萃取压力25~35 MPa进行后续研究。

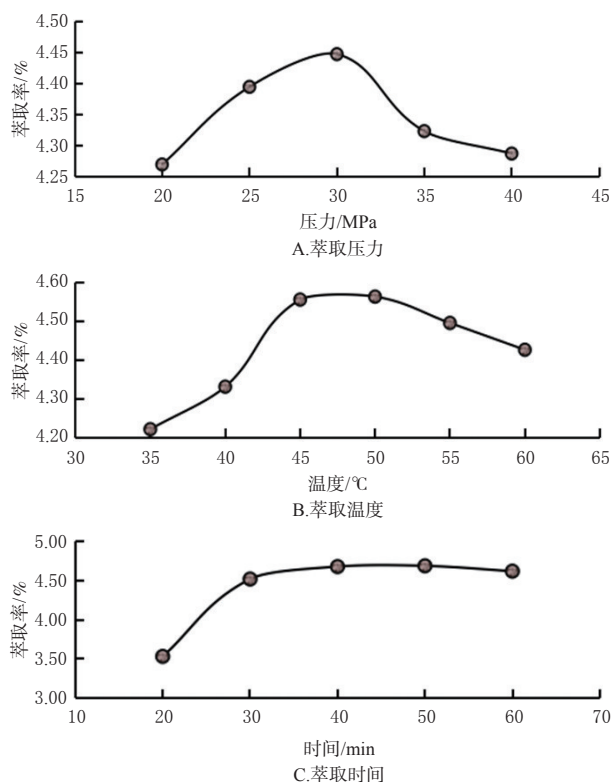


图1 萃取压力等因素对艾纳香挥发油萃取率的影响

2.2.2 萃取温度 取艾纳香药材粉末10 g,精密称定,置于50 mL超临界萃取反应釜中,设定萃取压力30 MPa、萃取时间30 min,在参照相关文献^[14-15]的基础上,考察不同萃取温度(35、40、45、50、55、60 ℃)对艾纳香挥发油萃取率的影响,详见图1B。由图1B可知,随着萃取温度的增加,艾纳香挥发油萃取率呈先升高后降低的趋

势;当萃取温度为 50 ℃时,挥发油萃取率达到峰值;随后随着萃取温度的增加,挥发油萃取率开始降低。因此,选择萃取温度 45~55 ℃进行后续研究。

2.2.3 萃取时间 取艾纳香药材粉末 10 g,精密称定,置于 50 mL 超临界萃取反应釜中,设定萃取压力 30 MPa、萃取温度 50 ℃,在参照相关文献^[14-15]的基础上,考察不同萃取时间(20、30、40、50、60 min)对艾纳香挥发油萃取率的影响,详见图 1C。由图 1C 可知,随着萃取时间的延长,艾纳香挥发油萃取率逐渐升高,且以 20~30 min 内的变化较为明显,而 30 min 后则趋于稳定。综合考虑艾纳香挥发油萃取率及成本,选择萃取时间 30~50 min 进行后续研究。

2.3 正交实验

2.3.1 正交实验方案设计与结果 在单因素实验的基础上,以萃取温度(A)、萃取压力(B)、萃取时间(C)为考察因素,以艾纳香挥发油萃取率为指标,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验设计进行工艺优化。艾纳香挥发油萃取工艺的因素与水平见表 1,正交实验方案设计与结果见表 2,方差分析结果见表 3。

表 1 艾纳香挥发油萃取工艺的因素与水平

水平	A/℃	B/MPa	C/min
1	45	25	30
2	50	30	40
3	55	35	50

表 2 艾纳香挥发油萃取工艺的正交实验方案设计与结果

试验号	A	B	C	D(空白)	挥发油萃取率/%
1	1	1	1	1	4.32
2	1	2	2	2	4.56
3	1	3	3	3	4.46
4	2	1	2	3	4.43
5	2	2	3	1	4.64
6	2	3	1	2	4.57
7	3	1	3	2	4.39
8	3	2	1	3	4.56
9	3	3	2	1	4.43
K_1	4.45	4.38	4.48	4.46	
K_2	4.55	4.59	4.47	4.51	
K_3	4.46	4.48	4.50	4.48	
R	0.10	0.21	0.03	0.05	

表 3 方差分析结果

误差来源	偏差平方和	自由度	方差	方差比	临界值	显著性
A	0.018	2	0.009	6.0	19	$P>0.05$
B	0.064	2	0.032	21.3	19	$P<0.05$
C	0.001	2	0.001	0.3	19	$P>0.05$
误差	0.003	2				$P>0.05$

由表 2、表 3 可知,萃取压力对艾纳香挥发油萃取率的影响最大,其次为萃取温度,而萃取时间的影响最小。萃取压力对艾纳香挥发油萃取率有显著影响($P<0.05$),萃取温度和萃取时间对艾纳香挥发油萃取率无显

著影响($P>0.05$)。最终得到艾纳香挥发油最优萃取工艺为 $A_2B_2C_3$,即萃取温度 50 ℃、萃取压力 30 MPa、萃取时间 50 min。

2.3.2 验证实验 取艾纳香药材粉末 10 g,精密称定,置于 50 mL 超临界萃取反应釜中,按上述最优萃取工艺萃取艾纳香挥发油,并按“2.1”项下公式计算艾纳香挥发油萃取率。实验平行验证 3 次。结果显示,艾纳香挥发油萃取率分别为 4.66%、4.61%、4.64%,平均为 4.64% ($RSD=0.54\%$, $n=3$),表明优化所得萃取工艺稳定、可行。

2.4 水蒸气蒸馏法提取艾纳香挥发油

取艾纳香药材粉末 50 g,精密称定,置于 1 L 圆底烧瓶中,参照 2020 年版《中国药典》(四部)通则“2204”项下“挥发油测定(甲法)”操作^[16]。结果显示,艾纳香挥发油萃取率为 0.99%。

2.5 艾纳香挥发油成分 GC-MS 分析

2.5.1 供试品溶液的制备 分别精密称取超临界 CO_2 萃取法(最优工艺)和水蒸气蒸馏法所得的艾纳香挥发油各 0.1 g,置于 10 mL 量瓶中,加入乙酸乙酯溶解并稀释至刻度,摇匀,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得供试品溶液,备用。

2.5.2 GC 条件 色谱柱为 HP-5MS 弹性石英毛细管柱(60 m \times 0.25 mm, 0.25 μm);载气为高纯氦气(99.999%),流量为 1.0 mL/min;汽化室温度为 250 ℃;柱前压力为 16.85 psi;溶剂延迟时间为 3 min;升温程序为初始温度 50 ℃,保持 2 min,以 5 ℃/min 升温至 310 ℃,保持 3 min;运行时间为 57 min;不分流进样,进样量为 1 μL ^[8,15]。

2.5.3 MS 条件 离子源为电子轰击离子源,离子源温度为 230 ℃;四极杆温度为 150 ℃;电子能量为 70 eV;发射电流为 34.6 μA ;倍增器电压为 1 682 V;接口温度为 280 ℃;扫描范围为 m/z 29~500^[8,15]。

2.5.4 GC-MS 分析 取“2.5.1”项下供试品溶液,按“2.5.2”“2.5.3”项下条件进样,得到超临界 CO_2 萃取法和水蒸气蒸馏法所得艾纳香挥发油的总离子流图(图 2)。经与 NIST 2014、Wiley 275 标准质谱图进行对比、鉴定(相似度 $>90\%$),采用峰面积归一化法计算各成分的相对含量,结果见表 4。由表 4 可知,从超临界 CO_2 萃取法所得艾纳香挥发油中共鉴定出 39 种成分,其总相对含量占艾纳香挥发油总量的 82.584%,主要为醛酮类成分(5 种,占 39.424%)、醇类成分(16 种,占 28.381%)、烷烃类成分(2 种,占 9.390%)及烯类成分(8 种,占 4.092%)等,其中相对含量最高的为花椒油素(34.829%),其次为 L-龙脑(17.458%)、7-(2-羟基异丙基)-1,4a-二甲基十氢萘-1-醇(5.223%)、二十四烷(5.165%)、三十三烷(4.225%)、(+)-2-樟脑(3.946%)、叶绿醇(2.401%)、 β -石竹烯(1.641%)、豆甾醇(1.211%);从水蒸气蒸馏法所得艾纳

香挥发油中鉴定出51种成分,其总相对含量占艾纳香挥发油总量的92.341%,主要为醛酮类成分(7种,占37.256%)、醇类成分(18种,占31.844%)、烷烃类成分(4种,占14.522%)及烯类成分(6种,占5.217%)等,其中含量最高的为花椒油素(30.676%),其次为L-龙脑(24.003%)、正三十烷(7.487%)、二十四烷(6.984%)、(+)-2-樟脑(6.428%)、 β -石竹烯(2.460%)、 γ -桉叶油醇(2.439%)、石竹烯氧化物(1.988%)、叶绿醇(1.273%)。

两种提取方法所得挥发油成分类型存在较大差异;有26种共有成分,主要为醛酮类[花椒油素、(+)-2-樟脑]及醇类[L-龙脑、 γ -桉叶油醇、叶绿醇、 β -桉叶油醇];各成分的相对含量亦存在差异,除花椒油素(超临界CO₂萃取法为34.829%,水蒸气蒸馏法为30.676%)、叶绿醇(超临界CO₂萃取法为2.401%,水蒸气蒸馏法为1.273%)外,超临界CO₂萃取法所得挥发油成分的相对含量均低于水蒸气蒸馏法。

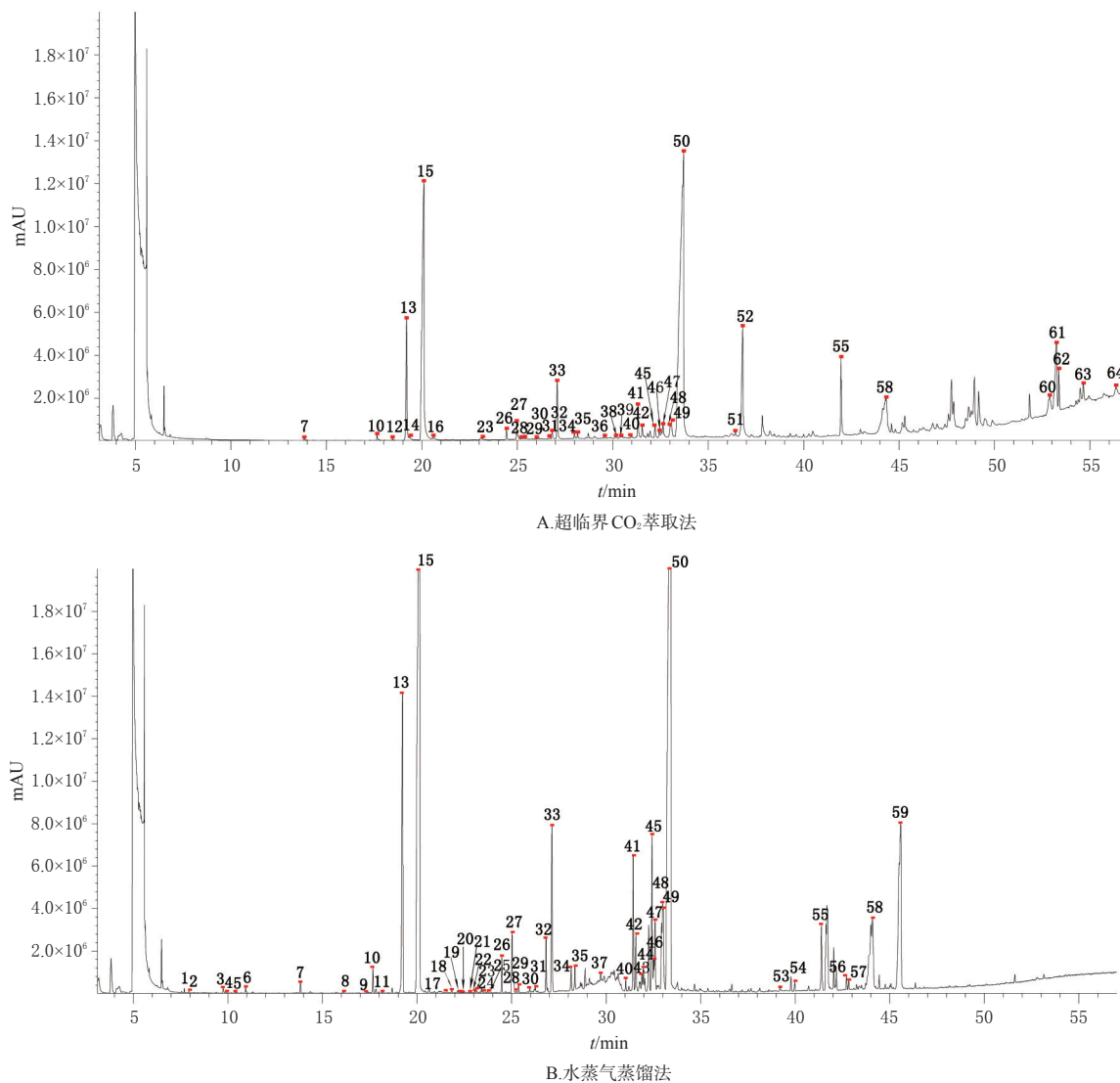


图2 超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法所得艾纳香挥发油的总离子流图

表4 两种方法所得艾纳香挥发油成分鉴定结果

峰号	保留时间/min	化合物	分子式	超临界CO ₂ 萃取法	水蒸气蒸馏法
				相对含量/%	相对含量/%
1	7.70	1,1-二乙氧基乙烷(1,1-diethoxy-ethane)	C ₆ H ₁₄ O ₂	—	0.043
2	7.94	反式-3-戊烯-2-酮[(E)-3-penten-2-one]	C ₅ H ₈ O	—	0.015
3	9.76	醋酸丁酯(butyl acetate)	C ₆ H ₁₂ O ₂	—	0.062
4	9.94	1-(1-乙氧基乙氧基)丙烷 [1-(1-ethoxyethoxy)-propane]	C ₇ H ₁₆ O ₂	—	0.008
5	10.38	糠醛(furfural)	C ₅ H ₄ O ₂	—	0.018
6	10.94	2-己烯醛(2-hexenal)	C ₆ H ₁₀ O	—	0.072
7	13.84	1-辛烯-3-醇(1-octen-3-ol)	C ₈ H ₁₆ O	0.069	0.131

—:未检出

续表 4

峰号	保留时间/min	化合物	分子式	超临界 CO ₂ 萃取法	水蒸气蒸馏法
				相对含量/%	相对含量/%
8	16.72	苯甲醇(benzyl alcohol)	C ₇ H ₈ O	—	0.012
9	17.10	苯乙醛(benzeneacetaldehyde)	C ₈ H ₈ O	—	0.015
10	17.66	芳樟醇(linalool)	C ₁₀ H ₁₈ O	0.161	0.317
11	18.19	脱氢芳樟醇(3,7-dimethyl-1,5,7-octatrien-3-ol)	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.068
12	18.46	菊烯酮(chrysanthenone)	C ₁₅ H ₁₄ O	0.053	—
13	19.20	(+)-2-樟脑[(+)-2-bornanone]	C ₁₅ H ₁₆ O	3.946	6.428
14	19.68	异龙脑(isoborneol)	C ₁₅ H ₁₆ O	0.024	—
15	20.11	L-龙脑(L-borneol)	C ₁₅ H ₁₆ O	17.458	24.003
16	20.60	(E)-2,6-二甲基-3,7-二烯-2,6-二醇[(E)-2,6-dimethylocta-3,7-diene-2,6-diol]	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.105	—
17	21.51	<i>α, α, 4</i> -三甲苯基醇(<i>α, α, 4</i> -trimethyl-benzenemethanol)	C ₁₀ H ₁₄ O	—	0.014
18	21.73	<i>α</i> -松油醇(<i>α</i> -terpineol)	C ₁₅ H ₁₈ O	—	0.068
19	22.23	2,3-二氢苯并呋喃(2,3-dihydro-benzofuran)	C ₈ H ₈ O	—	0.017
20	22.36	7-甲基-3-亚甲基-6-辛烯-1-醇(7-methyl-3-methylene-6-octen-1-ol)	C ₁₀ H ₁₈ O	—	0.017
21	22.93	endo-bicyclo[2,2,1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-formate	C ₁₁ H ₁₈ O ₂	—	0.030
22	23.14	4-异丙基苯甲醛[4-(1-methylethyl)-benzaldehyde]	C ₁₀ H ₁₂ O	—	0.032
23	23.18	(-)-乙酸龙脑酯[(-)-bornyl acetate]	C ₁₇ H ₂₀ O ₂	0.028	0.059
24	23.56	对异丙基苯甲醇(<i>p</i> -cymen-7-ol)	C ₁₀ H ₁₄ O	—	0.012
25	23.83	<i>p</i> -mentha-1,8-dien-7-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	—	0.017
26	24.44	silphiperfol-5-ene	C ₁₅ H ₂₄	0.237	0.488
27	24.97	7-epi-silphiperfol-5-ene	C ₁₅ H ₂₄	0.387	0.853
28	25.33	silphiperfol-4,7(14)-diene	C ₁₅ H ₂₂	0.023	0.101
29	25.40	丁香酚(eugenol)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0.017	0.165
30	26.05	modephene	C ₁₅ H ₂₄	0.019	0.038
31	26.73	<i>α</i> -古芸烯(<i>α</i> -gurjunene)	C ₁₅ H ₂₄	0.032	0.058
32	26.83	1,4-二甲氧基-2-甲基-5-异丙基苯(1,4-dimethoxy-2-methyl-5-isopropyl-benzene)	C ₁₅ H ₁₈ O ₂	0.192	0.711
33	27.09	<i>β</i> -石竹烯(<i>β</i> -caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	1.641	2.460
34	27.99	葎草烯(humulene)	C ₁₅ H ₂₄	0.180	0.283
35	28.16	别香橙烯(alloaromadendrene)	C ₁₅ H ₂₄	0.153	0.312
36	29.58	<i>δ</i> -杜松烯(<i>δ</i> -cadinene)	C ₁₅ H ₂₄	0.029	—
37	29.76	3-(1,1-dimethylethyl)-4-methoxy-phenol	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	—	0.048
38	30.15	二氢猕猴桃内酯[5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-2(4H)-benzofuranone]	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	0.053	—
39	30.37	榄香醇(elemol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.021	—
40	30.98	喇叭茶醇(palustrol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.044	0.146
41	31.33	石竹烯氧化物(caryophyllene oxide)	C ₁₅ H ₂₄ O	0.937	1.988
42	31.55	愈创醇(guaiol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.327	0.781
43	31.88	葎草烯环氧化物(humulene epoxide I)	C ₁₅ H ₂₄ O	—	0.116
44	32.01	喇叭茶萜醇(ledol)	C ₁₅ H ₂₆ O	—	0.188
45	32.21	<i>γ</i> -桉叶油醇(<i>γ</i> -eudesmol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.398	2.439
46	32.55	二甲基-2,6-二甲甲基双环[7.2.0]十一碳-5 β -醇(10,10-dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5 β -ol)	C ₁₅ H ₂₄ O	0.214	0.362
47	32.63	11,11-二甲基-4,8-二甲甲基双环[7.2.0]十一碳-3-醇(11,11-dimethyl-4,8-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-3-ol)	C ₁₅ H ₂₄ O	0.405	1.013
48	33.03	<i>β</i> -桉叶油醇(<i>β</i> -eudesmol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.320	0.983
49	33.08	十氢二甲基甲乙烯基萜酚(neointermedeol)	C ₁₅ H ₂₆ O	0.341	0.722
50	33.71	花椒油素(xanthoxylin)	C ₁₆ H ₁₇ O ₄	34.829	30.676
51	36.42	新植二烯(neophytadiene)	C ₂₀ H ₃₈	0.121	—
52	36.80	7-(2-羟基异丙基)-1,4 α -二甲基十氢萜-1-醇[7-(2-hydroxypropan-2-yl)-1,4 α -dimethyldecahydronaphthalen-1-ol]	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	5.223	—
53	39.27	棕榈酸甲酯(hexadecanoic acid, methyl ester)	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	—	0.049
54	39.94	棕榈酸(n-hexadecanoic acid)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	—	0.061
55	41.96	叶绿醇(phytol)	C ₂₀ H ₄₀ O	2.401	1.273
56	42.49	kaur-16-ene	C ₂₀ H ₃₂	—	0.054
57	42.71	亚麻酸甲酯[methyl ester, (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoic acid]	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	—	0.044
58	44.31	二十四烷(tetracosane)	C ₂₄ H ₅₀	5.165	6.984
59	45.78	正三十烷(triacontane)	C ₃₀ H ₆₂	—	7.487
60	52.89	甾甾醇(stigmasterol)	C ₂₉ H ₄₈ O	1.211	—
61	53.24	三十三烷(tritriacontane)	C ₃₃ H ₆₈	4.225	—
62	53.37	角鲨烯(squalene)	C ₃₀ H ₅₀	0.999	—
63	54.94	<i>β</i> -香树脂酮(<i>β</i> -amyron)	C ₃₀ H ₄₈ O	0.117	—
64	56.37	<i>α</i> -香树脂酮(<i>α</i> -amyron)	C ₃₀ H ₄₈ O	0.479	—

3 讨论

挥发油是艾纳香药材重要的药效部位,具有抗炎、抑菌等多种药理活性,且含量丰富,极具开发潜力。本研究通过单因素实验考察了萃取压力、萃取温度、萃取时间对艾纳香挥发油萃取率的影响,发现在一定萃取压力和萃取温度范围内,挥发油萃取率随压力和温度的增加而增加,但达到一定程度时,挥发油萃取率会随压力和温度的增加而减少。有报道显示,超临界CO₂流体的溶解能力与密度成正比,在萃取温度、萃取时间等不变的情况下,萃取压力的增大会使流体的密度增加,而增强流体的溶解能力;但当萃取压力达到一定程度时,流体的扩散能力就会降低,不仅导致萃取率下降,还会对设备造成损坏^[17]。此外,在一定的温度范围内,温度的升高会使流体分子的运动速度变快,使其扩散能力和溶解能力增强,从而提高萃取率;但温度超过适度范围,CO₂流体的密度将急剧下降,从而使萃取率降低^[18]。因此,本研究选择萃取压力25~35 MPa、萃取温度45~55℃、萃取时间30~50 min进行正交实验,以进一步对萃取工艺进行优化。最终,得到最优萃取工艺为萃取压力30 MPa、萃取温度50℃、萃取时间50 min,在上述最优萃取条件下得到艾纳香挥发油的平均萃取率为4.64%。从超临界CO₂萃取法所得艾纳香挥发油中共鉴定出39种成分,包括L-龙脑、(+)-2-樟脑、β-石竹烯、花椒油素等,其中花椒油素具有抑制血小板凝聚的作用^[19],L-龙脑、(+)-2-樟脑均具有较好的抗脑缺血再灌注损伤作用^[20-21],β-石竹烯具有抑菌、抗炎、抗抑郁等作用^[22]。此外,艾纳香挥发油中的其他成分如芳樟醇、石竹烯氧化物、萜草烯、α-古芸烯、δ-杜松烯等都具有较好的抑菌活性^[23]。

本研究比较了超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法在艾纳香挥发油萃取率、成分种类及含量方面的差异。结果显示,超临界CO₂萃取法所得艾纳香挥发油萃取率(4.64%)高于水蒸气蒸馏法(0.99%),相差约为4.7倍,提示超临界CO₂萃取法萃取率优于水蒸气蒸馏法。两种提取方法所得艾纳香挥发油中,小分子物质[如L-龙脑、(+)-2-樟脑、β-石竹烯等]的相对含量较高,且均为水蒸气蒸馏法>超临界CO₂萃取法。部分分子量较大的成分(如α-香树脂酮、β-香树脂酮、角鲨烯等)仅在超临界CO₂萃取法所得挥发油中被鉴定出;两种提取方法所得挥发油有26种共有成分,但相对含量差异较大,这可能与两种提取方法的技术特点不同有关:水蒸气蒸馏法提取温度高且时间较长,难以提取热稳定性差、易氧化的成分;而超临界CO₂萃取法的温度低、时间短且在密封环境下完成,可避免易氧化及光不稳定成分的损失^[24]。采用水蒸气蒸馏法所得挥发油类成分较多,但样品消耗

量较大,提取率低;采用超临界CO₂萃取法,样品消耗量小,提取率高,同时在萃取过程中不使用有机试剂,安全无毒、无污染、效率高,易于工业化生产。但上述两种提取方法提取的成分各有不同,超临界CO₂萃取法不可完全取代水蒸气蒸馏法,在实际应用中需从研究目的、实验材料、挥发油含量、实验条件以及药效物质基础等方面加以考虑,选择适宜的方法。

文献报道,采用水蒸气蒸馏法提取所得的挥发油中主要成分多为L-龙脑(19.55%~54.77%)^[25-27],而本研究所用两种提取方法所得挥发油的主要成分均为花椒油素(超临界CO₂萃取法为34.829%,水蒸气蒸馏法为30.676%),且高于王远辉等^[28]经工艺优化所得花椒油素的含量(20.26%),提示超临界CO₂萃取法可能成为艾纳香中花椒油素提取的“绿色”方法。另外,2003年版《贵州省中药材、民族药材质量标准》^[1]中虽然收录了艾纳香药材的质量标准,但质量评价项目较单一,尚未建立含量测定项,故笔者建议可将艾纳香中有效成分花椒油素作为质量评价的指标成分。

综上所述,所得最优超临界CO₂萃取工艺稳定、可行;虽然两种提取方法所得艾纳香挥发油成分及含量的差异较大,但主要均为醛酮类、烯类、醇类等成分。

参考文献

- [1] 贵州省药品监督管理局.贵州省中药材、民族药材质量标准[S].贵阳:贵州药材科技出版社,2003:118.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:90-91.
- [3] 王鸿发.基于黄酮类化学成分的艾纳香种质资源评价研究[D].大庆:黑龙江八一农垦大学,2019.
- [4] 宝艳儒,冯贻东,曾伟珍,等.艾纳香挥发油化学成分及药理研究进展[J].人参研究,2020,32(6):59-64.
- [5] 师琴丽,覃军章,王用平,等.贵州优势苗族药物艾纳香及其产品[J].中药材,2003,26(z1):87-88.
- [6] 陈振夏,谢小丽,庞玉新,等.艾纳香的生物活性及其在日化品中的应用[J].香料香精化妆品,2016(5):54-58.
- [7] 蔡亚玲,廖加美,彭俊超,等.艾纳香油中抗炎成分的筛选及其对炎性因子的影响[J].天然产物研究与开发,2021,33(3):402-409.
- [8] 陈前祎.艾纳香油化学成分分离及其质量标准研究[D].贵阳:贵州大学,2020.
- [9] 李亮星,史云东,李明,等.顶空固相微萃取法结合气相色谱-质谱联用法分析2种滇产艾纳香的挥发性成分[J].食品安全质量检测学报,2020,11(8):2475-2480.
- [10] 李安,刘印,张泽望,等.微波辅助提取艾纳香精油的工艺优化及抗菌活性的研究[J].福建农业学报,2017,32(7):751-755.
- [11] 杜丽君,牛先前,林晓红,等.水蒸气蒸馏法与超临界CO₂

- 萃取法结合气相色谱-质谱分析胡椒木精油成分[J].分析测试学报,2019,38(1):86-91.
- [12] 范群红,刘芳,周丹,等.超临界流体萃取技术在中药挥发油提取中的应用[J].中国药房,2014,25(31):2964-2966.
- [13] 王志锋,王青.超临界流体萃取技术在中药提取中的应用[J].科技与创新,2018(14):13-15.
- [14] 何彦峰,王瑞楠,张璐璐,等.胡芦巴叶挥发油的萃取工艺、成分分析及抗氧化和抑菌活性研究[J].中国中药杂志,2020,45(13):3161-3168.
- [15] 邓秘莉,董娜娜,王旭兰,等.猪牙皂的萃取方法研究及萃取成分的GC-MS分析[J].中国药房,2020,31(20):2469-2472.
- [16] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:四部[S].2020年版.北京:中国医药科技出版社,2020:233.
- [17] 刘琳琪,赵晨曦,李佩娟,等.花椒挥发油超临界CO₂萃取的工艺优化及GC-MS分析[J].现代食品科技,2020,36(5):73-80.
- [18] 姜红宇,刘郁峰,谢国飞,等.陆英挥发油超临界CO₂萃取工艺优化及其成分分析[J].食品与机械,2017,33(10):154-157.
- [19] 金云海,程远远.花椒油素对血小板聚集的抑制作用[J].中药新药与临床药理,2000,11(6):352-353,387.
- [20] 付尹,杨显娟,王建,等.基于网络药理学研究艾片抗脑缺血再灌注损伤的作用机制及验证[J].中草药,2021,52(8):2374-2383.
- [21] 刘雨晴.左旋樟脑靶向microRNA-125a-3p对脑缺血再灌注损伤机制的研究[D].广州:广州中医药大学,2017.
- [22] 张季林,魏惠珍,张洁.β-石竹烯生物学功能的研究进展[J].山东医药,2018,58(38):110-112.
- [23] 高月,王万林,彭俊超,等.不同产源艾纳香油抗菌活性筛选及其对金黄色葡萄球菌抗菌作用的研究[J].畜牧兽医学报,2021,52(2):525-534.
- [24] 王文娟,李瑞锋.超临界CO₂萃取法与水蒸气蒸馏法提取枸骨叶挥发油的GC-MS分析[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2016,34(3):89-93.
- [25] 孙绪,付思红,熊丹丹,等.艾纳香及其提取物的GC-MS指纹图谱和相关性研究[J].中草药,2017,48(4):693-699.
- [26] WANG Y H, YU X Y. Biological activities and chemical compositions of volatile oil and essential oil from the leaves of *Blumea balsamifera*[J]. J Essent Oil Bear Plants, 2018,21(6):1511-1531.
- [27] 郝文凤,田玉红,张倩,等.艾纳香与马尾松精油的成分分析及抗氧化研究[J].中国调味品,2021,46(3):34-39,44.
- [28] 王远辉,宋燕燕.艾纳香叶中花椒油素的制备[J].食品与发酵工业,2015,41(1):131-135.
- (收稿日期:2021-11-01 修回日期:2022-02-28)
(编辑:陈宏)

(上接第942页)

- [28] 梁光焰,吴云山,陈伟英,等.巴西苏木素在大鼠体内的代谢产物与代谢途径分析[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(1):67-73.
- [29] QIAO X, LI R, SONG W, et al. A targeted strategy to analyze untargeted mass spectral data: rapid chemical profiling of *Scutellaria baicalensis* using ultra-high performance liquid chromatography coupled with hybrid quadrupole orbitrap mass spectrometry and key ion filtering[J]. J Chromatogr A, 2016,1441:83-95.
- [30] LIU W Y, ZHOU C, YAN C M, et al. Characterization and simultaneous quantification of multiple constituents in *Aurantii Fructus Immaturus* extracts by HPLC-DAD-ESI-MS/MS[J]. Chin J Nat Med, 2012,10(6):456-463.
- [31] 李军茂,何明珍,冯育林,等.木犀草素及木犀草苷在大鼠体内的代谢研究[J].中药新药与临床药理,2017,28(1):61-68.
- [32] 雷晓青,陈鳌,刘毅,等.山柰酚药理作用的研究进展[J].微量元素与健康研究,2017,34(2):61-62.
- [33] ROTONDO S, RAJTAR G, MANARINI S, et al. Effect of trans-resveratrol, a natural polyphenolic compound, on human polymorphonuclear leukocyte function[J]. Br J Pharmacol, 1998,123(8):1691-1699.
- [34] GE H, ZHANG J F, GUO B S, et al. Resveratrol inhibits macrophage expression of EMMPRIN by activating PPARgamma[J]. Vascul Pharmacol, 2007,46(2):114-121.
- [35] MA Z H, MA Q Y, WANG L C, et al. Effect of resveratrol on NF-kappaB activity in rat peritoneal macrophages[J]. Am J Chin Med, 2006,34(4):623-630.
- (收稿日期:2021-12-13 修回日期:2022-03-21)
(编辑:邹丽娟)