

# 正交试验优选海通叶挥发油的提取工艺及其化学成分分析

杨广安, 黄倩, 林冰\*, 周英, 杨世林

(贵州大学药学院, 贵州省中药民族药创制工程中心,  
贵州省药食同源植物资源研究开发中心, 贵阳 550025)

**[摘要]** **目的:** 优选海通叶挥发油的提取工艺并分析其化学成分, 为该药材的资源开发提供参考。**方法:** 在单因素试验基础上, 采用正交试验考察加水量、浸泡时间、蒸馏时间和超声时间对提取工艺的影响。利用气相色谱-质谱联用仪分析海通叶挥发油的成分, 通过峰面积归一化法测定各成分的相对质量分数。**结果:** 最佳提取工艺为加 12 倍量水浸泡 12 h, 蒸馏提取 10 h, 超声 80 min, 挥发油得率 0.332%。共分离出 59 化合物, 鉴定了其中 53 个化学成分, 占总挥发油的 95.14%。相对质量分数 > 5% 的化学成分有 1-辛烯-3-醇 (19.020%), 芳樟醇 (12.981%), 植醇 (11.768%), 己烯醛 (9.911%) 及  $\alpha$ -蒎烯 (6.681%)。**结论:** 优选的海通叶挥发油提取工艺稳定合理, 挥发油的提取效率较高。海通叶挥发油主要化学成分为脂肪烃类和萜类及其衍生物。

**[关键词]** 海通叶; 挥发油; 气相色谱-质谱联用仪;  $\alpha$ -蒎烯; 芳樟醇

**[中图分类号]** R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)17-0009-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2015170009

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150713.1508.016.html>

**[网络出版时间]** 2015-07-13 15:08

**Optimization of Extraction Process of Volatile Oil from *Clerodendrum mandarinorum* Leaves with Orthogonal Design and Analysis of Its Chemical Components** YANG Guang-an, HUANG Qian, LIN Bing\*, ZHOU Ying, YANG Shi-lin (Guizhou Research and Development Center of Medicinal and Edible Plant Resources, Guizhou Engineering Center for Innovative Traditional Chinese Medicine and Ethnic Medicine, School of Pharmaceutical Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

**[Abstract]** **Objective:** To optimize extraction process of volatile oil from *Clerodendrum mandarinorum* leaves, and analyze its chemical components. **Method:** On the basis of single factor tests, the amount of water, soaking time, distillation time and ultrasonic time was optimized by orthogonal test. Chemical components in volatile oil were analyzed by GC-MS, the relative content of each component was determined by peak area normalization method. **Result:** Optimum extraction technology conditions were as follows: soaked in 12 times the amount of water for 12 hours, distilled for 10 hours, ultrasonic time of 80 min. Yield of volatile oil was 0.332%. Fifty-nine compounds were separated and fifty-three of them were identified accounting for 95.14% of the total content. Chemical components were 1-octen-3-ol (19.020%), linalool (12.981%), phytol (11.768%), 2-hexenal (9.911%),  $\alpha$ -pinene (6.681%), whose relative mass fractions were greater than 5%. **Conclusion:** Orthogonal test can accurately select extraction process of volatile oil from *C. mandarinorum* leaves, this process is reasonable with high efficiency. Main components of volatile oil are aliphatic hydrocarbons, terpenes and their derivatives.

**[Key words]** *Clerodendrum mandarinorum* leaves; volatile oil; gas chromatography-mass spectrometry instrument;  $\alpha$ -pinene; linalool

**[收稿日期]** 20150428(006)

**[基金项目]** 国家教育部新世纪优秀支持计划项目(NCET-11-0926);贵州省优秀青年科技人才培养对象专项[黔科合人字 2011(34)号];贵州省中药民族药创制工程中心项目(黔教科合 KY 字[2012]018 号)

**[第一作者]** 杨广安, 硕士, 从事药物分子设计 and 新药开发研究, Tel:13985190133, E-mail:506033517@qq.com

**[通讯作者]** \*林冰, 博士, 副教授, 从事中药谱效关系及中药材质量标准研究, Tel:15185034288, E-mail:sci.blin@gzu.edu.cn

海通别名满大青、泡桐树、木常山等,主要分布于江西、湖南、湖北等地,越南北部也有分布,生于海拔 250~2 200 m 的溪边、路旁或丛林中<sup>[1]</sup>。作为少数民族用药,其入药部位为茎、叶,具有祛风通络的功效,主半身不遂、小儿麻痹后遗症,四川、广西民间用其枝叶治疗半边疯<sup>[2]</sup>。研究表明海通的研究国内外报道甚少,对其挥发油的提取工艺研究及化学成分尚未见报道。研究发现海州常山、臭牡丹等挥发油具有抗炎、抗氧化、抗菌活性、镇痛、驱避蚊虫等生物活性<sup>[3-5]</sup>。挥发油的提取方法有水蒸气蒸馏法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术<sup>[6-7]</sup>等。其中超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法成本相对较高。本实验采用水蒸气蒸馏法,以挥发油得率为评价指标,通过正交试验优选海通叶中挥发油的提取工艺,通过 GC-MS 联用技术分析其挥发油的化学成分及相对质量分数,为丰富海通资源的化学信息提供佐证,为深入开发海通叶资源提供参考。

## 1 材料

HP6890/5973N 型气相色谱-质谱联用仪(美国安捷伦公司),FA2004 型电子分析天平(上海良平仪器有限公司),FW177 型中药粉碎机(温岭市百乐粉碎设备厂),BB89-2000 型挥发油提取器(兰州昱欣仪器设备有限公司)。海通药材采自贵州大学南校区,经贵州大学生命科学院熊源新教授鉴定为马鞭草科植物海通 *Clerodendrum mandarinorum* 的叶片;试剂均为分析纯,水为蒸馏水。

## 2 方法与结果

### 2.1 单因素试验考察

**2.1.1 加水量** 按 2010 年版《中国药典》一部附录 X D 挥发油测定甲法操作<sup>[8]</sup>。油水在提取器中粗分离,将蒸出的油水混合物迅速冷却,加入过量氯化钠至溶液达饱和<sup>[6]</sup>,静置 2 h,加正己烷萃取,无水硫酸钠脱水过夜,<40 °C 减压蒸干,得淡黄色油状物,精密称定,计算挥发油得率。称取海通叶干燥粗粉 100 g,共 6 份,分别加入 6,8,10,12,14,16 倍量水浸泡 2 h,蒸馏 5 h,计算挥发油得率分别为 0.21%,0.25%,0.27%,0.28%,0.27%,0.27%。表明加水量在 12 倍时,海通叶挥发油的得率最高。原因可能为加水量过多易导致溶液暴沸,原料沾壁,影响提取效果,水量过少又不能充分浸润其原料,故选择加水量 12 倍。

**2.1.2 浸泡时间** 称取海通叶粗粉约 100 g,共 6 份,分别加 12 倍量水浸泡时间 0,4,8,12,16,20 h,蒸馏 5 h,按 2.1.1 项下方法处理,结果挥发油得率

分别为 0.23%,0.25%,0.28%,0.30%,0.30%,0.29%。表明挥发油提取率随浸泡时间的延长而增大;但在浸泡时间 >12 h 后,挥发油得率变化不明显。浸泡可使植物细胞间隙变大,组织细胞充分膨胀,加速细胞内、外液动态交换而有利于挥发油的提取<sup>[9]</sup>。

**2.1.3 蒸馏时间** 称取海通叶粗粉约 100 g,共 6 份,加 12 倍量水浸泡 12 h,蒸馏时间分别为 2,4,6,8,10,12 h,按 2.1.1 项下方法处理,计算挥发油得率分别为 0.18%,0.22%,0.28%,0.30%,0.32%,0.32%。表明蒸馏时间 <6 h 时,挥发油得率随蒸馏时间的增加较为明显;蒸馏 6 h 后,挥发油得率增加相对缓慢,达 10 h 后,挥发油得率几乎不再有变化。随时间推移,料液中油类组分减少,挥发油得率相应减少。

**2.1.4 超声时间** 称取海通叶粗粉约 100 g,共 6 份,加 12 倍量水浸泡 12 h,蒸馏 10 h,超声时间分别为 20,40,60,80,100,120 min,按 2.1.1 项下方法处理,计算挥发油得率分别为 0.22%,0.24%,0.28%,0.30%,0.30%,0.29%。表明超声时间 <60 min 时,挥发油得率增加较为显著;>60 min 后,挥发油得率增加相对变慢;>100 min 后挥发油得率几乎保持不变。超声提取的优势在于超声波机械作用及温热效应的存在,使挥发油向外渗出的效率大大增加。①机械效应可使细胞内的物质产生震荡、旋转、摩擦等运动,还可改变细胞膜的通透性,刺激细胞半透膜的弥散过程,加快了细胞内物质向外的渗出。②温热效应可提高溶剂的温度,增加分子的运动速度,有利于细胞内成分的渗出<sup>[10]</sup>。

**2.2 正交试验优选** 在单因素试验基础上,选择加水量、浸泡时间、蒸馏时间和超声时间为考察因素,每个单因素各设置 3 个水平,以挥发油得率为评价指标,称取海通叶粗粉约 100 g,共 9 份,照 2.1.1 项下方法进行试验,试验安排及结果见表 1,方差分析见表 2。由直观分析可知,各因素对提取工艺的作用主次顺序为 C>A>B>D。以极差最小的 D 因素为误差项进行方差分析,结果发现 C 因素的影响具有极显著性意义,A 因素具有显著性影响,因素 B 显著性不明显。最优水平为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>1</sub>,即加水量 12 倍,浸泡时间 12 h,蒸馏时间 10 h,超声时间 80 min。

**2.3 验证试验** 取海通叶粗粉约 100 g,共 5 份,按优选的工艺进行提取,结果挥发油得率分别为 0.32%,0.34%,0.33%,0.33%,0.34%,平均得率 0.332%,RSD 2.5%,表明该提取工艺稳定可行。

表 1 海通叶挥发油提取工艺正交试验分析

Table 1 Orthogonal test analysis of extraction technology of volatile oil in *Clerodendrum mandarinorum* leaves

No.	A 加水量 /倍	B 浸泡时间 /h	C 蒸馏时间 /h	D 超声时间 /min	挥发油得率 /%
1	10	8	8	80	0.280
2	10	12	10	100	0.317
3	10	16	12	120	0.297
4	12	8	10	120	0.326
5	12	12	12	80	0.320
6	12	16	8	100	0.290
7	14	8	12	100	0.300
8	14	12	8	120	0.277
9	14	16	10	80	0.310

表 2 挥发油得率方差分析

Table 2 Variance analysis of yield of volatile oil

方差来源	SS	MS	F	P
A	$4.78 \times 10^{-4}$	$2.39 \times 10^{-4}$	26.56	<0.05
B	$4.80 \times 10^{-5}$	$2.40 \times 10^{-5}$	3.667	>0.05
C	$19.85 \times 10^{-4}$	$9.93 \times 10^{-4}$	110.33	<0.01
D(误差)	$1.80 \times 10^{-5}$	$9.00 \times 10^{-6}$		

注:  $F_{0.05}(2,2) = 19, F_{0.01}(2,2) = 99$ 。

## 2.4 海通叶挥发油 GC-MS 分析

**2.4.1 色谱条件** ZB-5 MSI 弹性石英毛细管柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm), 程序升温 (柱温 40 °C,

保持 2 min; 以 5 °C · min<sup>-1</sup> 升至 270 °C, 保持 10 min), 运行时间 58 min, 汽化室温度 250 °C, 载气为高纯 He (99.999%), 柱前压 0.049 MPa, 载气流量 1.0 mL · min<sup>-1</sup>, 不分流进样, 溶剂延迟时间 6 min。

**2.4.2 质谱条件** 离子源为电子轰击离子源 (electron impact ion source, EI), 离子源温度 230 °C, 四极杆温度 150 °C, 电子能量 70 eV, 发射电流 34.6 μA, 倍增器电压 1.125 kV, 接口温度 280 °C, 质量范围  $m/z$  20 ~ 450。

**2.4.3 样品测定** 精密吸取海通叶挥发油供试品 0.5 μL, 注入 GC-MS 中测定挥发油成分含量, 在确定各组分质谱数据和扫描峰信号后, 对总离子流图中各峰经质谱计算机数据系统检索及核对 Nist2005 和 Wiley275 标准质谱图, 利用峰面积归一化法测定了各化学成分的相对质量分数, 见表 3。结果发现鉴定的 53 种化学成分的相对质量分数之和占化合物检出总量的 95.14%, 其中烷烃类化合物 24 种 (24.481%), 烯烃类化合物 10 种 (11.103%), 醇类化合物 9 种 (46.547%), 醛酮类化合物 4 种 (10.853%) 和酯类化合物 6 种 (2.156%)。相对质量分数 > 5% 的化学成分有 1-辛烯-3-醇 (19.020%), 芳樟醇 (12.981%), 植醇 (11.768%), 己烯醛 (9.911%) 及 α-蒎烯 (6.681%), 这 5 种化合物占总挥发油化学成分的 60.361%。

表 3 海通叶挥发油化学成分的 GC-MS 分析

Table 3 GC-MS analysis of chemical components in volatile oils from *Clerodendrum mandarinorum* leaves

No.	$t_R$ / min	化合物	分子式	相对质量分数/%
1	7.51	-		0.294
2	7.71	己烯醛 2-hexenal	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O	9.911
3	7.89	3-己烯-1-醇 3-hexen-1-ol	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O	1.239
4	8.27	1-己醇 1-hexanol	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O	0.914
5	10.13	α-蒎烯 alpha-pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	6.681
6	11.39	香桉烯 sabinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.015
7	11.48	β-半蒎烯 beta-pinene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.286
8	11.57	1-辛烯-3-酮 1-octen-3-one	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O	0.035
9	11.73	1-辛烯-3-醇 1-octen-3-ol	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O	19.020
10	11.95	2-戊基呋喃 2-amylfuran	C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O	0.328
11	12.21	正癸烷 decane	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub>	0.347
12	12.45	(Z)-3-己烯基乙酸酯 cis-3-hexenyl acetate	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	0.346
13	13.15	柠檬精油 limonene	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	0.814
14	13.74	苯乙醛 hyacinthin	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O	0.467
15	14.53	(Z)-芳樟醇氧化物 cis-linaloloxide	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	0.087

续表 3

No.	$t_R$ /min	化合物	分子式	相对质量分数/%
16	15.02	( <i>E</i> )-芳樟醇氧化物 <i>trans</i> -linaloloxide	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	0.071
17	15.23	-		0.121
18	15.44	芳樟醇 linalool	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	12.981
19	16.81	-		0.140
20	18.30	正十二烷 dodecane	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>	0.610
21	18.99	$\beta$ -半环柠檬醛 <i>beta</i> -cyclocitral	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	0.440
22	23.19	$\alpha$ -古巴烯 <i>alpha</i> -copaene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.339
23	23.31	( <i>Z</i> )-3-己烯基己酸酯 <i>cis</i> -3-hexenyl hexanoate	C <sub>10</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	0.461
24	23.45	-		1.454
25	23.77	正十四烷 tetradecane	C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>	0.639
26	23.98	(+)-香橙烯 (+)-aromadendrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.110
27	24.33	$\alpha$ -柏木烯 <i>alpha</i> -cedrene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.064
28	24.45	$\gamma$ -葎澄茄烯 <i>gamma</i> -cadinene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	0.153
29	25.26	( <i>E</i> )- $\beta$ -法尼烯 <i>trans</i> -beta-farnesene	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	2.006
30	25.97	-		0.094
31	26.10	-		2.756
32	26.28	十五烷	C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>	0.135
33	27.93	( <i>E</i> )-苦橙油醇 <i>trans</i> -nerolidol	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	0.225
34	28.66	正十六烷 hexadecane	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>	0.532
35	30.92	正十七烷 heptadecane	C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>	0.442
36	31.04	2,6-二甲基-十七烷 2,6-dimethyl-heptadecane	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	0.220
37	31.29	正十六烷醇 hexadecanol	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	0.242
38	33.06	正十八烷 octadecane	C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>	0.645
39	33.26	植烷 phytane	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	0.334
40	34.02	苯甲酸丁酯 butyl benzoate	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	0.584
41	34.56	邻苯二甲酸二异丁酯 isobutyl phthalate	C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	0.317
42	34.94	亚油酸 linoleic acid	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	0.221
43	35.10	正十九烷 nonadecane	C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>	1.064
44	35.64	棕榈酸甲酯 methyl palmitate	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	0.227
45	37.05	正二十烷 eicosane	C <sub>20</sub> H <sub>42</sub>	0.710
46	38.22	考尔-16-烯 kaur-16-ene	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>	0.314
47	38.41	dehydroabietan	C <sub>20</sub> H <sub>30</sub>	0.219
48	38.92	正二十一烷 heneicosane	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	1.147
49	39.26	植醇 phytol	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O	11.768
50	40.71	正二十二烷 docosane	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	1.393
51	42.42	正二十三烷 tricosane	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	2.063
52	44.07	正二十四烷 tetracosane	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	2.153
53	45.66	正二十五烷 pentacosane	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	2.588
54	47.19	正二十六烷 hexacosane	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	1.762
55	48.68	正二十七烷 heptacosane	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	2.054
56	50.37	正二十八烷 octacosane	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	1.708
57	50.96	角鲨烯 squalene	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	1.135
58	52.39	正三十烷 triacontane	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	1.730
59	54.85	正三十二烷 dotriacontane	C <sub>32</sub> H <sub>66</sub>	0.844

### 3 讨论

水蒸气蒸馏法是提取挥发油最常用的方法,具有设备简单、容易操作、成本低、得油率高的优点。在提取过程中发现粉碎的海通叶粗粉质轻,易漂于水面上不易浸透,故在加水浸泡时应注意搅拌,使海通叶能充分浸润。另外,提取器蒸馏的海通叶挥发油滴散布在水中,有些密度大的成分会下沉至挥发油提取器的刻度下端,导致无法聚集,故本文采取加入少量正己烷的方法以促进其挥发油的聚集。

通过 GC-MS 检出海通叶挥发油主要化合物中含量最高的成分为 1-辛烯-3-醇(19.020%),又称蘑菇醇,其次为芳樟醇(12.981%),这 2 个化合物约占挥发油成分的 32%,因此构成了特殊的香味。目前使用的香料产品中,芳樟醇是使用频率最高的一种广谱性香料<sup>[11]</sup>,普遍应用于香精香料<sup>[12]</sup>、医疗保健、制药等领域<sup>[13]</sup>。海通在江西、湖南、湖北等地有大量野生资源,具有较高药用价值,普遍为少数民族用药,但目前对其研究有限,特别是未进行系统的药理学研究,使得其临床应用缺乏科学的理论支持。

#### [参考文献]

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志. 第 65 卷[M]. 北京:科学出版社,1982:132.  
[2] 中国科学院北京植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 北京:科学出版社,1972:602.  
[3] 吴明美,王利勤,华燕. 大青属植物的化学成分及药

理作用研究进展[J]. 化学工程与装备,2011(4):112-116.

[4] 李培源,霍丽妮,邓超澄,等. 臭牡丹挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 广西中医药,2010,33(4):56-57.  
[5] 李环环,王英姿,梁丽丽,等. 不同产地大青叶饮片反相高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):81-85.  
[6] 王佰灵,王淑美,孟江,等. 星点设计-效应面法优化鸡骨香挥发油提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(11):37-40.  
[7] 高梅,潘久香,贾茹. 挥发油提取方法的研究进展[J]. 生命科学仪器,2012,10(5):3-7.  
[8] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:附录 X D.  
[9] 伍振峰,王赛君,杨明,等. 中药挥发油提取工艺与装备现状及问题分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(14):224-228.  
[10] 朱兆友,汝绍刚,朱庆书. 超声辅助提取藿香挥发油的研究[J]. 化学与生物工程,2010,27(6):85-87.  
[11] 陈尚研,赵玲华,徐小军. 天然芳樟醇资源及其开发利用[J]. 林业科技开发,2013,27(2):13-17.  
[12] 王坚. 樟科樟属植物樟的化学成分和组织培养研究[J]. 江西中医学院学报,2004,16(2):69-70.  
[13] Bradley B F, Starkey N J, Brown S L, et al. Anxiolytic effects of *La-vandula angustifolia* odour on the Mongolian gerbil elevated plus maze[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111(3):517-525.

[责任编辑 刘德文]