

当归挥发油提取工艺优化及其乳化芳香水成分分析

张小飞^{1,2}, 詹娟娟³, 吴司琪³, 王芳³, 伍振峰^{3*}, 杨明^{3*}, 徐传福³

(1. 成都中医药大学, 成都 611137; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712000;
3. 江西中医药大学, 南昌 330004)

[摘要] **目的:** 优选当归挥发油的提取工艺, 拟合其提取动力学模型方程, 同时测定挥发油及芳香水的化学成分, 为当归挥发油的工业化生产提供参考。**方法:** 采用改进的挥发油提取器, 应用响应面法对当归挥发油提取参数进行优化, 并对其提取速率进行拟合, 计算出拟合方程。采用 GC-MS 测定当归挥发油提取过程中轻油、重油、及其乳化芳香水的成分, 找出其产生乳化的化学物质基础。**结果:** 最佳提取工艺为提取时间 8.55 h, 料液比 1:10, 浸泡时间 1.82 h; 挥发油提取率 $(0.70 \pm 0.01)\%$ 。最优工艺的动力学方程 $V = 0.72(1 - e^{-0.00074t})$ ($R^2 = 0.9967$) 和 $\ln(0.72 - V) = -0.0141t - 0.3493$ ($R^2 = 0.9987$)。乳化芳香水成分与当归挥发油有较大的区别, 尤其在当归乳化芳香水中, 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚的相对质量分数为当归挥发油的 38.6 倍。**结论:** 应用响应面法优选当归挥发油提取工艺的方法可行, 2 种提取动力学方程可拟合其提取工艺过程, 当归挥发油及其芳香水的某些成分存在较大差异。

[关键词] 挥发油; 当归; Box-Behnken 响应面法; 动力学; 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚; 藁本内酯

[中图分类号] R283.6; R284.1; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)05-0027-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017050027

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20161207.1145.042.html>

[网络出版时间] 2016-12-07 11:45

Optimization of Extraction Technology of Volatile Oil from Angelicae Sinensis Radix and Analysis of Chemical Components in Its Aromatic Water

ZHANG Xiao-fei^{1,2}, ZHAN Juan-juan³, WU Si-qi³, WANG Fang³, WU Zhen-feng^{3*},
YANG Ming^{3*}, XU Chuan-fu³

(1. Chengdu University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Chengdu 611137, China;
2. Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712000, China;
3. Jiangxi University of TCM, Nanchang 330004, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize the extraction process of volatile oil from Angelicae Sinensis Radix and fit its extraction kinetic model equation, and then to detect chemical components in volatile oil and aromatic water. **Method:** The improved extractor of volatile oil was adopted, extraction process of volatile oil from Angelicae Sinensis Radix was optimized by response surface methodology, then the extraction rate of volatile oil was fitted and the regression equations were calculated. Components in light oil, heavy oil and emulsified aromatic water during the extraction process of volatile oil were determined by GC-MS, in order to find out the chemical material base for formation of emulsification. **Result:** Optimal extraction process was as follows: extracting time of 8.55 h, solid-liquid ratio of 1:10, soaked 1.82 h; extraction rate of volatile oil was $(0.70 \pm 0.01)\%$. Kinetic

[收稿日期] 20160616(021)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81560657); 江西省卫计委项目(2014A011); 江西省青年科学基金项目(20161BAB215211)

[第一作者] 张小飞, 在读博士, 副教授, 从事中药新技术与新剂型研究, Tel:029-38185175, E-mail: zhangxiaofei830@163.com

[通讯作者] * 伍振峰, 博士, 副教授, 从事中药新制剂研究, Tel:0791-87119032; E-mail: zfwu527@163.com;

* 杨明, 博士, 教授, 从事中药新制剂研究, Tel:0791-87119032, E-mail: yangming16@126.com

equations of optimal technology were $V = 0.72 (1 - e^{-0.00074t})$ ($R^2 = 0.9967$) and $\ln(0.72 - V) = -0.0141t - 0.3493$ ($R^2 = 0.9987$). Components in aromatic water were different from those in volatile oil from *Angelicae Sinensis Radix*, especially for 2-vinyl-4-methoxyphenol. **Conclusion:** This optimized extraction process is feasible and stable, two extraction dynamics equations can be fitted to its extraction process, components in aromatic water have a larger difference with those in volatile oil.

[Key words] volatile oil; *Angelicae Sinensis Radix*; Box-Behnken response surface methodology; kinetics; 2-vinyl-4-methoxyphenol; ligustilide

当归属多年生草本植物,主要分布于高寒多雨地区,是治疗冠心病、脑血栓、支气管炎、支气管哮喘等疾病的临床常用药^[1-2]。挥发油为当归药材中主要药用成分,具有起效快、吸收好、抗氧化活性良好等特点^[3]。但如何快速、高效地获得当归挥发油已成为研究者面临的一项难题^[4-6]。《中国药典》2015年版对于当归挥发油的提取率测定方法主要采用四部 2204 中的乙法测定,即向挥发油提取器中加入二甲苯测定提取率。但本课题组前期研究发现,采用《中国药典》2015年版的方法提取当归挥发油的过程中,二甲苯层存在分层、回流至烧瓶的现象,这使得当归挥发油提取率测定不准确;同时,当归挥发油提取过程中会发生严重的乳化现象,导致其挥发油很难收集、收率及转移率较低。因此,本实验拟对传统的挥发油提取器进行一些改进,以解决二甲苯层的分层问题。同时采用响应面法对当归挥发油的提取工艺进行优化^[7-8],并拟合其提取动力学方程,为其工业化提取提供依据。目前,关于当归挥发油尤其是其提取过程中的乳化芳香水及当归挥发油轻油、重油成分差异的研究尚未见报道。因此,本实验从分析不同密度挥发油、芳香水成分的角度出发,研究乳化芳香水与挥发油的成分差异,为产生乳化的机制探讨提供一定依据。

1 材料

BSA224S 型电子分析天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司],6202 型中药粉碎机(北京环亚天元机械技术有限公司),7890A/5975C 型气相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司),挥发油提取器(自制),SZ93 型双蒸水机(上海和杰科技有限公司)。当归(购自江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,批号 20150610,经江西中医药大学杨明教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* 的干燥根),二甲苯(武汉市鑫楚洋化工),无水硫酸钠(西陇化工有限公司),水为自制双蒸水,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 当归挥发油的提取^[6] 将当归粉碎并筛分为

粗粉,向 2 L 烧瓶中加入当归粉末 80 g,加水适量与玻璃珠数粒,向挥发油提取器中加水至刻度线并溢出至烧瓶,再加二甲苯 1 mL,接入冷凝管,同时向冷凝管及挥发油提取器保温夹套中通入冷凝水,改进的挥发油提取器见图 1。置电热套中将烧瓶内容物进行提取,提取到一定时间后收集油状物,即为当归挥发油。按 $(m_{\text{挥发油}}/m_{\text{药材}}) \times 100\%$ 计算供试品中挥发油的提取率。

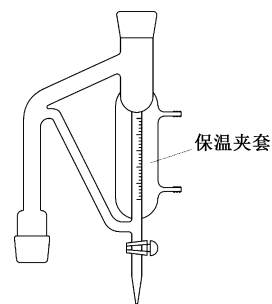


图 1 改进的挥发油提取器

Fig. 1 Improved extractor of volatile oil

2.2 当归挥发油、重油、轻油、芳香水的制备

^[6]

将当归粉碎并筛分为粗粉,向 2 L 烧瓶中加入当归粉末 80 g,加水适量与玻璃珠数粒,向挥发油提取器中加水至刻度线并溢出至烧瓶,接入冷凝管,同时向冷凝管及挥发油提取器保温夹套中通入冷凝水,置电热套中将烧瓶内容物进行提取,提取一定时间后分别收集上层挥发油、下层挥发油、乳化芳香水、总的挥发油,即分别得到当归挥发油轻油、当归挥发油重油、乳化芳香水、当归挥发油。

2.3 GC-MS 分析 取当归粗粉 80 g 放入 2 L 圆底烧瓶中,加水适量与玻璃珠数粒,振摇混合后连接挥发油测定器与回流冷凝管。自冷凝管上端加水使充满挥发油测定器的刻度部分,并溢流入烧瓶时为止,连接回流冷凝管。置电热套中将烧瓶内容物加热至沸腾,保持微沸,提取一定时间,停止加热,放冷后开启测定器下端的活塞,分别收集提取下端当归挥发油及其乳化芳香水。GC-MS 检测条件^[9]为 HP-5 毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),进样口温度 230 °C,

采用程序升温(80 ℃以 3 ℃·min⁻¹升温至 167 ℃,保持 2.5 min;以 2 ℃·min⁻¹升至 202 ℃,以 4 ℃·min⁻¹升至 280 ℃,保持 15 min),载气为高纯氦气,流速 1 mL·min⁻¹,进样量 1 μL。离子源温度 230 ℃,电子轰击电离源,电子能量 70 eV,传输线温度 250 ℃,四级杆温度 150 ℃,扫描范围 m/z 35 ~ 550。

2.4 单因素试验考察

2.4.1 提取时间 取当归粗粉 80 g,加 12 倍量水浸泡 1.5 h,按 2.1 项下方法进行提取,提取时间分别为 6, 8, 10, 12 h,结果当归挥发油收率分别为 0.64%, 0.69%, 0.69%, 0.68%,故选择提取时间 8 h。

2.4.2 料液比 取当归细粉 80 g,加水浸泡 1.5 h,提取时间 8 h,按 2.1 项下方法进行提取,料液比分别为 1:6, 1:8, 1:10, 1:12, 1:14, 1:16,结果当归挥发油提取率分别为 0.62%, 0.66%, 0.67%, 0.72%, 0.69% 和 0.58%,故选择料液比 1:12。

2.4.3 浸泡时间 取当归粗粉 80 g,分别加 12 倍量水浸泡 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 h,提取 8 h,按 2.1 项下方法进行提取,结果当归挥发油提取率分别为 0.45%, 0.55%, 0.72%, 0.76%, 0.67% 和 0.70%,故选择浸泡时间 2 h。

2.5 响应面法优化 在单因素试验基础上,以提取时间、料液比、浸泡时间为自变量,当归挥发油提取率为因变量,取当归粗粉 80 g,共 17 份,按设定的条件提取,采用 Box-Behnken 响应面法优选提取工艺,试验安排及结果见表 1。

表 1 当归挥发油提取工艺 Box-Behnken 响应面法分析

Table 1 Box-Behnken test analysis for extraction process of volatile oil from Angelicae Sinensis Radix

No.	A 提取时间/h	B 料液比	C 浸泡时间/h	挥发油提取率/%
1	10	1:12	1.5	0.69
2	10	1:12	2.5	0.64
3	8	1:12	2.0	0.68
4	8	1:12	2.0	0.70
5	10	1:10	2.0	0.71
6	6	1:12	1.5	0.64
7	8	1:14	1.5	0.65
8	6	1:10	2.0	0.67
9	6	1:14	2.0	0.59
10	8	1:12	2.0	0.70
11	8	1:14	2.5	0.63
12	6	1:12	2.5	0.53
13	6	1:10	2.5	0.66
14	6	1:12	2.0	0.68
15	6	1:12	2.0	0.70
16	10	1:14	2.0	0.69
17	8	1:10	1.5	0.69

对当归挥发油的试验数据进行处理,得各自变量与因变量的回归方程 $Y = 0.69 + 0.038A - 0.020B - 0.026C + 0.015AB + 0.016AC + 2.350 \times 10^{-3}BC - 0.031A^2 + 2.837 \times 10^{-3}B^2 - 0.034C^2$,对该方程进行统计学检验,结果见表 2。

表 2 回归方程的方差分析

Table 2 Variance analysis of regression equation

方差来源	SS	<i>f</i>	MS	<i>F</i>	<i>P</i>
模型	0.030	9	3.530×10^{-3}	11.00	0.002 3
A	0.010	1	0.011	35.85	0.000 5
B	3.358×10^{-3}	1	3.358×10^{-3}	10.47	0.014 3
C	5.429×10^{-3}	1	5.429×10^{-3}	16.92	0.004 5
AB	9.030×10^{-4}	1	9.030×10^{-4}	2.81	0.137 3
AC	1.076×10^{-3}	1	1.076×10^{-3}	3.35	0.109 7
BC	2.209×10^{-5}	1	2.209×10^{-5}	0.07	0.800 6
A ²	4.089×10^{-3}	1	4.089×10^{-3}	12.75	0.009 1
B ²	3.390×10^{-5}	1	3.390×10^{-5}	0.11	0.754 6
C ²	4.892×10^{-3}	1	4.892×10^{-3}	15.25	0.005 9
残差	2.245×10^{-3}	7	3.208×10^{-4}		
失拟项	1.861×10^{-3}	3	6.202×10^{-4}	6.44	0.051 9
纯误差	3.850×10^{-4}	4	9.625×10^{-5}		
总误差	0.030	16			

由表 2 可知,各自变量对提取率的影响均显著^[10],优选的当归挥发油的提取工艺条件为提取时间 8.55 h,料液比 1:10,浸泡时间 1.82 h,挥发油提取率的预测理论值 0.72%。取当归粗粉 80 g,共 3 份,按优先的工艺进行验证试验,结果挥发油提取率 0.70% ± 0.01%,与模型预测值偏差 -2.78%,表明实验预测结果较好。根据拟合函数,每 2 个因素对挥发油提取率之间的关系图,找出各因素对挥发油提取率的影响,见图 2。应用 Design Expert 8.05 软件处理,结果发现 3 种因素的影响顺序为 A > C > B。

2.6 提取过程动力学研究

2.6.1 挥发油的提取动力学模型分析 取当归粗粉 80 g,加至 2 L 圆底烧瓶中,按优选的工艺条件提取挥发油。向挥发油提取器加入适量水溢流到圆底烧瓶为止,加入二甲苯 1 mL,接入冷凝管,测定一定时间下的挥发油质量($n = 3$),计算挥发油提取率。根据文献[11]拟合的挥发油提取动力学方程 $V = V_s \times (1 - e^{-kt})$, V_s 表示挥发油总量, t 时间下挥发油量为 V 。采用 Origin 8.05 软件,通过 BoxLucasI 函数 $Y = a(1 - e^{-bx})$ 进行相应的拟合,得动力学模型方程 $V = 0.72(1 - e^{-0.00074t})$ ($R^2 = 0.9967$)。根据

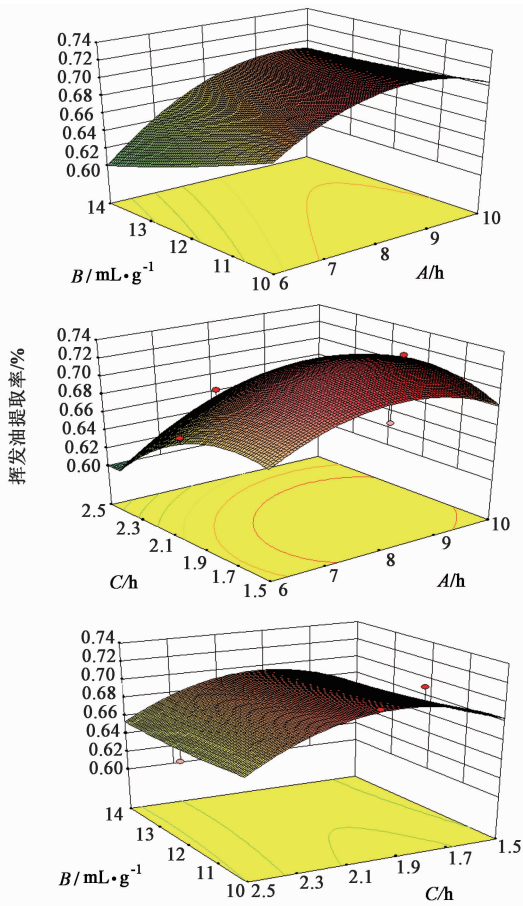


图 2 提取时间、料液比及浸泡时间对当归挥发油提取率交互影响的影响面

Fig. 2 Response surface plots of effects between extraction time, solid-liquid ratio, soaking time on yield of volatile oil from Angelicae Sinensis Radix

文献 [12] 拟合挥发油提取动力学方程 $\ln(V_0 - V) = -Kt + A$, 其中 $V_0 = 0.72$, V 为一定时间的挥发油提取量, 应用 SPSS 20.0 软件对其进行拟合, 得拟合方程 $\ln(0.72 - V) = -0.014 1t - 0.349 3 (R^2 = 0.998 7)$ 。

2.6.2 不同挥发油部位的成分分析 GC-MS 分析当归挥发油、重油、轻油、乳化芳香水的化学成分, 结果见表 3, 采用面积归一化法确定各化学成分的相对质量分数。结果发现各组分的挥发油成分之间存在一定的差异性; 当归乳化芳香水的成分与其他组的差异较大, 其中 4-乙炔基-2-甲氧基苯酚及 1-苯基-1-戊酮的含量远高于其他各组。已有研究表明藁本内酯为当归挥发油的主要成分^[13-14], 从结果可知, 藁本内酯仍为各组中含量最高的成分, 且各组中藁本内酯含量排序为轻油 (75.73%) > 重油 (75.14%) > 当归挥发油 (67.04%) > 乳化芳香水 (54.05%); 当归轻油、重油及乳化芳香水三者成分

表 3 不同当归挥发油部位的化学成分鉴定

Table 3 Identification of chemical compositions in different parts of volatile oil from Angelicae Sinensis Radix

No.	t_R /min	化合物名称	相对质量分数/%			
			挥发油	轻油	重油	乳化芳香水
1	5.045 5	α -蒎烯	5.16	-	-	0.61
2	7.204 2	别罗勒烯	1.63	-	-	-
3	7.986 4	5-环己酯-1,3-二烯	0.58	-	-	0.20
4	11.556 8	6-十一酮	0.24	-	-	0.15
5	12.369 0	1-甲基萘	-	-	-	0.17
6	13.050 8	4-乙炔基-2-甲氧基苯酚	0.54	1.05	0.50	20.85
7	14.591 9	1-苯基-1-戊酮	1.83	0.66	0.55	6.02
8	16.644 7	α -龙脑烯醛	0.25	-	-	0.28
9	16.785 9	β -柏木烯	1.11	-	-	-
10	17.421 1	罗汉柏烯	0.13	-	-	0.19
11	17.844 6	2-羟基-6-甲氧基苯乙酮	1.32	-	-	-
12	18.209 3	9,10-脱氢异长叶烯	0.21	-	-	-
13	18.509 3	α -柏木萜烯	0.21	-	-	-
14	19.150 4	β -花柏烯	0.40	-	-	-
15	19.850 4	α -古芸烯	0.50	-	0.15	-
16	19.997 5	α -二氢花侧柏烯	0.35	-	-	-
17	20.220 9	(+) - 花侧柏烯	0.78	0.25	0.29	-
18	20.356 2	β -没药烯	0.94	0.19	0.21	-
19	20.509 2	2,6-二叔丁基对甲酚	0.78	0.38	0.81	1.08
20	21.203 3	β -雪松烯	0.48	-	0.15	0.53
21	22.867 9	桉油烯醇	2.58	2.34	2.59	0.89
22	25.073 6	桉油烯醇	0.34	0.39	0.38	0.13
23	25.561 8	3-丁基-1(3H)-异苯并呋喃酮	1.71	3.41	2.76	3.24
24	25.726 5	广霍香醇	-	-	0.36	-
25	26.326 5	正丁烯基苯酚	9.33	13.72	14.51	5.79
26	28.791 0	藁本内酯	67.04	75.73	75.14	54.05
27	33.884 8	邻苯二甲酸二异丁酯	-	1.12	0.78	-
28	55.436 5	2,2'-亚甲基双-(4-甲基-6-叔丁基苯酚)	-	-	0.20	0.27

之间也存在一定的差异性。

3 讨论

3.1 改进的挥发油提取器 对挥发油提取器进行改进, 可以较好地解决当归挥发油提取过程中存在的分层问题, 本研究除了向冷凝器中通入冷凝水之外, 也向挥发油收集部位通入冷凝水, 主要目的是防止当归油-二甲苯的混合物发生分层。根据文献 [15] 研究表明, 当归挥发油随着温度的升高其黏度、表面张力均发生降低, 使得在高温下挥发油层容易分层。而通入冷凝水可以增大当归油-二甲苯

混合物的黏度,增加其表面张力,从而减少其分层现象的发生。

3.2 挥发油提取工艺优化 应用 Box-Behnken 响应面法对其提取工艺进行优化实测当归挥发油提取率与预测值基本一致。通过对当归挥发油的提取工艺进行响应面优化,可得到当归挥发油的最佳提取工艺,所得结果收率高、重复性好,对其进行了提取动力学方程的拟合,得到了相应的提取动力学方程,揭示了当归挥发油的得率与时间的关系,2 个模型组的回归效果均较好,均可揭示其提取内在过程。为该有效部位进一步的工业化应用提供了相应的依据。

3.3 不同当归挥发油部位的成分分析 对不同挥发油部位的成分研究发现,当归挥发油、轻油、重油与乳化芳香水之间的成分差异较大。其中轻油跟重油的成分基本一致,乳化芳香水成分与当归挥发油、轻油、重油均有较大的区别。在当归乳化芳香水中 1-苯基-1-戊酮和 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚含量较高,其中 4-乙烯基-2-甲氧基苯酚的相对质量分数为当归挥发油、轻油、重油的 38.6, 19.9, 41.7 倍。前期研究发现乳化芳香水的 Zeta 电位为 -80 mV,这也从侧面证明了当归乳化芳香水的稳定性较好,很难将其进行油水分离,因此导致当归挥发油收油率不高。

当归挥发油在提取过程中存在易乳化、分离困难等问题,因此在工业提取中收率很低(提取率不足 0.2%)。本文从挥发油提取工艺优化的角度出发,改进了传统的挥发油提取器,同时对当归挥发油提取工艺进行了优化,对其提取动力学过程进行模型拟合,为其工业提取提供了依据。同时针对提取过程中存在的乳化问题,对其所得的乳化芳香水的成分进行了鉴定,发现各成分之间存在一定的差异性,可以为产生乳化的机制探讨提供一定依据。

[参考文献]

[1] 李曦,张丽宏,王晓晓,等. 当归化学成分及药理作用

研究进展[J]. 中药材,2013,36(6):1023-1028.

- [2] 华永丽. 当归挥发油干预大鼠 LPS 炎症模型的相关代谢物及代谢通路分析[D]. 兰州: 甘肃农业大学,2014.
- [3] 杜俊蓉,白波,余彦,等. 当归挥发油研究新进展[J]. 中国中药杂志,2005,30(18):1400-1405.
- [4] 刘辉琳,唐明林,安莲英,等. 中草药化学成分提取新技术[J]. 广州化学,2003,28(2):59-64.
- [5] 陈燕军,冯青然. 常用精制方法在纯化中药制剂中的应用[J]. 中国实验方剂学杂志,2003,9(3):56-60.
- [6] 郑春生,姚宝书,李梅. 当归挥发油提取工艺的研究[J]. 天津轻工业学院学报,2001(1):32-34.
- [7] LI Q H, Caili F. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein[J]. Food Chem, 2005, 92(4): 701-706.
- [8] 张小飞,万娜,詹娟娟,等. Box-Behnken 响应面法优化江西产薄荷挥发油提取工艺及其动力学研究[J]. 辽宁中医药大学学报,2016,18(5):65-69.
- [9] 唐文文,李国琴,晋小军. 不同干燥方法对当归挥发油成分的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2014,20(3):9-12.
- [10] 张小飞,果秋婷. Box-Behnken 响应面法优化微波提取刺五加多糖工艺[J]. 中国药师,2015,18(9):1502-1505.
- [11] 李景恩,聂少平,邵灯寅,等. 江香薷挥发油提取率与提取时间的动力学关系[J]. 食品与生物技术学报,2014,33(3):308-314.
- [12] 韩泳平,向永臣,王曙宾,等. 挥发油提取过程动力学数学模型研究[J]. 中成药,2001,23(1):11-13.
- [13] 肖炳坤,杨建云,黄荣清,等. 贯叶金丝桃挥发油成分的 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(11):64-67.
- [14] 张庆,茹庆国,林红梅,等. 当归挥发油分子蒸馏馏分 GC-MS 分析及抗氧化研究[J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(2):82-87.
- [15] 曹桂萍,郭立玮. 50 味常用中药挥发油的理化性质研究[J]. 化工时刊,2009,23(3):23-29.

[责任编辑 刘德文]