

黔产宽叶缬草根挥发油提取工艺优选及其 化学成分 GC-MS 分析

覃容贵*, 周镁, 龙庆德, 范菊娣, 秦拴梅
(贵阳医学院药学院, 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 确定黔产宽叶缬草根挥发油的最佳提取工艺, 分析其化学成分。方法: 用水蒸气蒸馏法提取缬草根挥发油, 以挥发油提取率为指标, 考察蒸馏时间、液料比、浸泡时间及粉碎度等影响因素, 采用单因素试验和正交试验法优选宽叶缬草根挥发油提取工艺。采用 GC-MS 分析挥发油中化学成分。结果: 宽叶缬草根挥发油最佳提取工艺为粉碎度为 10~20 目, 料液比 1:10, 蒸馏时间 5 h, 浸泡时间 4 h; 此工艺条件下, 挥发油提取率达 5.74%。缬草油中共鉴定出 25 种化学成分, 以萜烯类化合物为主, 分别含有烯、醇、酮、酯、醚类化合物, 其中乙酸冰片酯、香树烯和坎烯占主导地位, 其相对质量分数分别为 37.94%, 18.52%, 10.26%。结论: 该优选工艺稳定可行, 可为缬草根挥发油工业化提取提供实验依据。

[关键词] 黔产宽叶缬草; 挥发油; 提取工艺; GC-MS

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)14-0062-04

Optimization of Extraction Technology for Volatile Oil from Roots of *Valeriana officinalis* in Guizhou Province and GC-MS Analysis of Its Chemical Composition

QIN Rong-gui*, ZHOU Mei, LONG Qing-de, FAN Ju-di, QIN Shuan-mei
(College of Pharmacy, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, China)

[Abstract] **Objective:** To determine optimum extraction process of volatile oil from roots of *Valeriana officinalis* in Guizhou province and analyze its chemical composition. **Method:** Volatile oil from roots of *V. officinalis* was extracted by steam distillation method, distillation time, solid-liquid ratio, soaking time, degree of smash and other factors were investigated with extraction ratio of volatile oil as index, extraction technology of volatile oil from roots of *V. officinalis* was optimized by single test and orthogonal test. Chemical composition of volatile oil was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Result:** Optimal extraction process of volatile oil was as follows: grinding degree 10-20 mesh, solid-liquid ratio 1:10, soaking time 4 h, distillation time 5 h; Under these optimized extraction conditions, yield of volatile oil was 5.74%. 25 kinds of chemical composition were identified from volatile oil, there was terpene compounds mainly, and it contained olefin, alcohol, ketone, ester, ether compounds, respectively. Bornyl acetate, incense tree by and hom-ene took dominant position, their relative mass fraction were 37.94%, 18.52%, 10.26%. **Conclusion:** This optimized technology was stable and feasible, it could be provide scientific basis for industrialized extraction of volatile oil from *V. officinalis* produce.

[Key words] *Valeriana officinalis* in Guizhou province; volatile oil; extraction technology; GC-MS

宽叶缬草具有安心神、祛风湿、行气血、止痛之 功效, 主治心神不安、心悸失眠、风湿痹痛、脘腹胀

[收稿日期] 20120110(001)

[基金项目] 贵州省中药攻关项目(黔科合 ZY[2011]3008); 贵州省高层次人才项目(TZJF-2010-053)

[通讯作者] * 覃容贵, 副教授, 博士, 从事中药资源及药理研究, Tel: 18984114150, E-mail: qinronggui@hotmail.com

痛、跌打损伤等症^[1-2]。近年来缬草提取物及制剂在国际市场上十分走俏,在我国各地开始大规模栽培缬草。贵州省野生缬草产地气候温和、土地肥沃、山阴多潮湿,具有得天独厚的区域优势和自然条件,是缬草生长的理想地理环境。贵州山区栽培的宽叶缬草主要用于提取挥发油,以供出口。目前缬草油提取主要采用土法提炼,工艺粗糙原始,出油率低(约2%)且品质不高,因而价格相对较低。本试验采用单因素试验和正交试验法,以挥发油提取率为指标,优化宽叶缬草根挥发油提取工艺,并分析其化学成分,为缬草根挥发油工业化生产提供依据。

1 材料

缬草药材(采自贵州省剑河县观么乡宽叶缬草基地,经贵阳医学院药学院龙庆德副教授鉴定为败酱科缬草属植物宽叶缬草 *Valeriana officinalis* L. var. *latifolia* Miq 的根),经流水漂洗干净,自然晾干,备用。

CQ10004 型挥发油测定器(重庆拓新玻璃厂),98-1-B 型电子调温电热套(天津市泰斯特仪器有限公司),FA2004 型电子分析天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司),Hewlett Packard 6890-5973 型气相色谱-质谱-计算机联用仪(美国惠普公司)。

2 方法与结果

2.1 挥发油的提取 采用水蒸气蒸馏法。精密称取一定粉碎度的宽叶缬草根粉末 25 g,置于 500 mL 圆底烧瓶中,按 2010 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法甲法^[3]。

$$\text{挥发油提取率} = \frac{\text{宽叶缬草根挥发油体积}}{\text{宽叶缬草根质量}} \times 100\%。$$

2.2 单因素试验

2.2.1 料液比考察 精密称取 5 份过 20 目筛的宽叶缬草根粉末,每份 25 g,按 2.1 项下方法提取,分别考察料液比 1:8,1:9,1:10,1:11,1:12 蒸 5 h,未浸泡条件下进行蒸馏提取,计算挥发油提取率。结果分别为 2.01%,3.23%,3.64%,3.25%,2.87%。即挥发油提取率在料液比 1:10 时最高。可能因为挥发油通过水介质慢慢浸出,随蒸气而挥发蒸出,当加水量太少,产生的蒸气量少,提取速度慢,且药材不能被完全浸透,容易发生糊化现象,反之则蒸气量大,易引起暴沸现象,挥发油得率降低^[4],且料液比越高,物料不容易糊化。故选择料液比 1:10。

2.2.2 蒸馏时间考察 精密称取 5 份过 20 目筛的宽叶缬草粉末,每份 25 g,按 2.1 项下方法提取,料液比 1:10,不浸泡,分别蒸馏 5,6,7,8,9 h。结果挥

发油提取率分别为 4.0%,3.2%,2.4%,2.8%,2.4%。故选择蒸馏时间 5 h。

2.2.3 粉碎度考察 精密称取 5 份粉碎度分别为粗粉(仅剪碎),0~10,10~20,20~30,30 目的宽叶缬草根粉末,每份 25 g,按 2.1 项下方法提取 5 h,料液比 1:10,不浸泡,计算挥发油提取率。结果分别为 3.2%,3.4%,4.0%,3.6%,3.1%。粉碎度达到 20~30 目时,提取率反而下降,可能是因为粉碎度过高,挥发油损失越大^[5],且粉末越细,在提取过程中糊化越严重。故选择 10~20 目为最佳粉碎度。

2.2.4 浸泡时间考察 精密称取 5 份过 20 目筛的宽叶缬草根粉末,每份 25 g,按 2.1 项下方法提取 5 h,料液比 1:10,提取前分别浸泡 0,1,2,3,4 h,计算挥发油的提取率。结果挥发油提取率分别为 3.2%,3.6%,4.4%,6.0%,4.67%。可能因为浸泡 3 h 已使宽叶缬草根粉末充分溶胀,组织间间隙增大,有利于细胞内外液体流动,从而使挥发油容易逸出^[5]。故选择浸泡 3 h。

2.3 正交试验 精密称取 9 份宽叶缬草根粉末,每份 25 g,根据单因素试验结果,选择料液比、蒸馏时间、粉碎度、浸泡时间 4 个因素按 $L_9(3^4)$ 正交设计表进行试验。因素水平表见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 宽叶缬草根挥发油提取工艺正交试验因素水平

水平	A 蒸馏时间 /h	B 料液比	C 浸泡时间 /h	D 粉碎度 /目
1	4	1:9	2	0~10
2	5	1:10	3	10~20
3	6	1:11	4	20~30

表 2 宽叶缬草根挥发油提取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	挥发油 提取率/%
1	1	1	1	1	0.73
2	1	2	2	2	2.80
3	1	3	3	3	2.87
4	2	1	2	3	3.47
5	2	2	3	1	5.67
6	2	3	1	2	4.07
7	3	1	3	2	2.73
8	3	2	1	3	2.87
9	3	3	2	1	2.20
K_1	2.133	2.310	2.557	2.867	
K_2	4.407	3.780	2.823	3.200	
K_3	2.600	3.047	3.757	3.070	
R	2.270	1.470	1.200	0.333	

表 3 方差分析

方差来源	SS	f	F	P
A	8.623	2	51.024	<0.05
B	3.241	2	19.178	<0.05
C	2.382	2	14.095	
D(误差)	0.169	2		

注: $F_{0.05}(2,2) = 19.00$ 。

由表 2 极差结果可知,对挥发油提取率影响的主次因素顺序为 $A > B > C > D$,即蒸馏时间 > 料液比 > 浸泡时间 > 粉碎度,通过直观分析,挥发油提取率最佳工艺水平为 $A_2B_2C_3D_2$ 。以极值最小的 D 因素为误差列进行方差分析^[6],结果可知因素 A, B 对挥发油提取率影响显著,因素 C, D 影响不明显。综合考虑单因素试验结果及生产实际,最终确定宽叶缬草根挥发油最佳提取工艺为粉碎度 10~20 目,料液比 1:10,蒸馏时间 5 h,浸泡时间 4 h。

2.4 验证试验 精密称取 3 份宽叶缬草粉末,按最佳提取条件下进行 3 次重复试验,每份 25 g。结果挥发油提取率分别为 5.71%、5.73%、5.74%。说

明该优选工艺稳定可行。

2.5 GC-MS 分析

2.5.1 气相色谱条件 DB-5 弹性石英毛细管柱 (0.25 mm × 30 m, 0.25 μm),载气 He,流速 1 mL·min⁻¹,分流比 20:1,进样口温度 230 °C,炉温 250 °C。柱温箱升温程序 40 °C,保持 5 min,以 2 °C·min⁻¹速率升至 100 °C,保持 3 min,以 3 °C·min⁻¹速率升至 250 °C,保持 5 min。

2.5.2 质谱条件 传输线温度 250 °C, EI 电离源 (70 eV),扫描范围 33~450 amu,连接杆温度 280 °C。

2.5.3 采集数据分析 经 NIST98 和 Wiley 谱库对所采集数据的各物质进行检索,结合相关分析软件核对标准质谱图,确定缬草挥发油组分的结构,按峰面积归一化法求得各成分相对质量分数。缬草油中共鉴定出 25 种化学成分,以萜烯类化合物为主,分别含有烯、醇、酮、酯、醚类化合物,其中乙酸冰片酯、香树烯和坎烯占主导地位,其相对质量分数分别为 37.94%、18.52%、10.26%。结果见图 1,表 4。

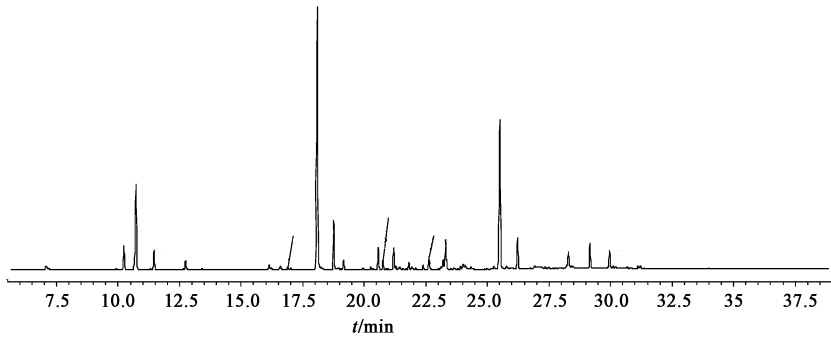


图 1 宽叶缬草根挥发油 GC-MS

表 4 宽叶缬草根挥发油的化学成分及相对含量

No.	保留时间/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	7.083	2-ethoxypropane	C ₅ H ₁₂ O	88	0.63
2	10.236	α-pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.58
3	10.725	camphene	C ₁₀ H ₁₆	136	10.26
4	11.461	β-pinene	C ₁₀ H ₁₆	136	2.07
5	12.742	D-limonene	C ₁₀ H ₁₆	136	0.76
6	16.133	borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.38
7	16.583	myrtenol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	0.48
8	16.900	3-methoxy-p-cymene	C ₁₁ H ₁₆ O	164	0.28
9	17.017	benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-	C ₁₁ H ₁₆ O	164	0.14
10	18.098	boranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	37.94
11	18.758	(-)-myrtenyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	178	4.62

续表 4

No.	保留时间/min	化合物名称	分子式	相对分子质量	相对含量/%
12	19.161	<i>p</i> -menth-1-en-8-ol, acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	196	0.87
13	20.570	caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	204	2.34
14	20.759	1H-cyclopropa[a] naphthalene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-1,1,7,7a-tetramethyl-	C ₁₅ H ₂₄	204	0.95
15	21.198	-bicyclo[4.1.0]heptane, 7-bicyclo[4.1.0]hept-7-ylidene-	C ₁₄ H ₂₀	188	2.15
16	21.807	β cernacrene B	C ₁₅ H ₂₄	204	0.65
17	22.391	ledol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.41
18	22.619	3(10)-caren-4-ol	C ₁₀ H ₁₆ O	152	1.28
19	23.199	1H-cycloprop[e] azulene-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-1Ar,4aR,7S,7aR,7bR-,	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.76
20	23.299	bis(cyclopentane), 2, 2'-acetoxo)-, 1-rel-2-(trans)-2'-(cis)-1'- (trans)-	C ₁₄ H ₂₂ O ₄	254	3.28
21	25.512	1H-cycloprop[e] azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-	C ₁₅ H ₂₄	204	18.52
22	26.223	<i>Z</i> - α -trans-bergamotol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	3.06
23	28.287	pregn-5-en-20-one, 3-hydroxy-	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316	1.44
24	29.171	bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene-	C ₁₅ H ₂₄	204	2.31
25	29.960	-11-isopropylidene-tricyclo[4.3.1.1(2,5)]undecan-10-ol 11-	C ₁₄ H ₂₂ O	206	1.84

3 讨论

试验过程中发现,缬草粉末最好临用时制备,粉末放置几天后,挥发油提取率会降低很多,原因可能是挥发油在室温条件下部分挥发溢出,从而影响提取率。采用电热套进行加热,提取回流速度不宜过快,否则挥发油与水不易完全分离,出现浑浊现象,影响测定结果的准确性。故需缓缓加热至沸腾,之后保持微沸状态即可。

初步对同一地区不同海拔高度土地所产宽叶缬草根含挥发油量进行考察,结果发现生长在高海拔地带的宽叶缬草根中挥发油含量较高,说明生长环境对挥发油含量的影响较大,其内在规律还有待进一步研究证实。

[参考文献]

- [1] 段雪云,方颖,周颖,等.缬草属植物综合研究概况[J].中国药师,2008,11(7):793.
- [2] 周颖,方颖,刘焱文.缬草研究进展[J].湖北中医杂志,2008,30(10):61.
- [3] 中国药典.一部[S].2010:附录57.
- [4] 袁曦,洪清,林功舟.正交试验优选鬼针草挥发油提取工艺[J].中国医院药学杂志,2011,31(9):733.
- [5] 何华,李先宽,徐保利.五味子种子挥发油提取工艺优选[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(17):26.
- [6] 鲁争,鲁玉,左杰,等.艾叶挥发油提取工艺研究[J].时珍国医国药,2011,22(2):389.

[责任编辑 全燕]