

枫香叶挥发油提取工艺及成分分析



LIU Ya-min

刘亚敏¹, 刘玉民¹, 李鹏霞², 郭莹³, 马明¹

(1. 西南大学资源环境学院, 重庆 400716; 2. 江苏省农业科学院农产品加工研究所;
江苏省农产品加工中心, 江苏 南京 210014; 3. 吉林省广播电视研究所, 吉林 长春 130041)

摘 要: 以挥发油的出油量为考查指标, 采用正交设计筛选粉碎度、浸泡时间、提取时间的最佳组合方式优化枫香叶挥发油的提取工艺。采用 GC-MS 法对挥发油进行成分分析。结果表明枫香叶挥发油提取的最佳工艺组合为打浆、不浸泡、蒸馏提取 6 h。从挥发油中共分离出 51 个色谱峰, 鉴定出 47 个化合物, 检出率为 98.11%; 其中萜类化合物 30 个, 占挥发油总量的 82.28%; 脂肪族成分为 14 个, 占挥发油总量的 14.01%; 芳香族成分为 3 个, 占挥发油总量的 1.82%。挥发油中主要成分为: β -蒎烯 (21.18%)、 α -蒎烯 (20.70%)、(E)-2-己烯醛 (7.64%)、柠檬烯 (7.59%)、 β -石竹烯 (6.08%) 等。

关键词: 枫香叶; 提取工艺; 挥发油; 成分分析

中图分类号: TQ351.014; R284.1

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2009)04-0077-05

Extraction Process and Component Analysis of Volatile Oil from *Liquidambar formosana* Leaves

LIU Ya-min¹, LIU Yu-min¹, LI Peng-xia², GUO Ying³, MA Ming¹

(1. College of Resource and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China;
2. Institute of Agri-products Process, JAAS; Jiangsu Agri-products Process Center, Nanjing 210014, China;
3. Broadcasting and Television Institute, Changchun 130041, China)

Abstract: To optimize the extraction process of volatile oil in *Liquidambar formosana*, and analyze the components of volatile oil, orthogonal experiment was conducted using volume of volatile oil as index and granularity of leaf, soaking time and extracting time as affecting factors. The oil was analyzed by GC-MS. The experiment results indicated that the optimum extraction technology condition is the following: beating without soaking and extracting for 6 h. Chemical components were analyzed by GC-MS, 51 peaks were separated and 47 compounds which accounted for 98.11% of crude volatile oil were identified. The result shows, that among 47 compounds, 30 compounds are terpenes, 14 compounds are aliphatics and 3 compounds are aromatics. The major constituents were β -pinene (21.18%), α -pinene (20.70%), and (E)-2-hexenal (7.64%), limonene (7.59%), β -caryophyllene (6.08%), etc.

Key words: *Liquidambar formosana* leaves; extraction process; volatile oil; component analysis

枫香 (*Liquidambar formosana* Hance), 又名枫树、三角枫, 为金缕梅科枫香属的代表植物, 主要分布于秦岭、淮河以南至珠江流域, 台湾、海南、四川、西藏等省区^[1]。其叶、树皮、果序和树脂均有药用价值, 可辟瘴却疔, 明目除湿, 有舒经活络、活血解毒、止痛生肌的药理作用, 用于月经不调、水肿胀满、小便不利、腰痛、四肢痛、皮肤疥癣、胃肠炎、顽癣等疾病的治疗^[2-3]。枫香的成熟果序路路通中的路路通酸具有抗炎镇痛作用^[4]; 枫香提取物可用于防止皮肤由于暴露于紫外线而导致的炎症^[5]; 叶可用于口腔疾病的治疗, 具有止血、止痛及抗菌的功效^[6]; 枫香脂及其挥发油有抗血栓作用^[7], 其叶的挥发性成分对大肠杆菌、白葡萄球菌、枯草芽孢杆菌及酵母菌均有较好的抑制作用^[8]。目前, 对枫香的研究多集中于栽培方面, 关于挥发油的研究较少, 本研究采用正交设计方法对枫香叶挥发油提取工艺进行了优

收稿日期: 2008-07-01

基金项目: 国家“十五”科技攻关计划资助 (2004BA604A05)

作者简介: 刘亚敏 (1976-), 女, 河北石家庄人, 讲师, 硕士, 主要从事天然产物化学研究; E-mail: yaminliu0511@163.com。

化;并采用 GC-MS 联用技术将所得挥发油进行了成分分析,以期为进一步合理开发枫香资源提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

材料:枫香叶于2007年4月采自西南大学树木园,经西南大学资源环境学院林学教研室刘玉民讲师鉴定为金缕梅科枫香属枫香(*Liquidambar formosana* Hance)。

仪器与试剂:HP6890/5973GC/MSD型气相色谱-质谱联用仪,美国惠普公司;乙醚分析纯。

1.2 枫香叶挥发油提取方法及试验设计

参考预试验结果,以挥发油出油量为指标,选择粉碎度(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)作为考察因素,各因素分3个水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验。准确称取枫香树叶100g用水蒸气蒸馏法^[9],按正交设计表设计方案提取挥发油,再用少量乙醚多次萃取出挥发油,少量无水硫酸钠干燥挥去乙醚后得淡黄色挥发油,记录出油量。

1.3 分析方法

气相色谱条件:色谱柱为HP-1,石英毛细管柱50m×0.25mm×0.25μm;载气为氦气;分流比50:1;体积流量1.4mL/min;进样口温度260℃,GC-MS界面温度280℃,程序升温50~280℃;进样量0.5μL。质谱条件:离子源为EI;离子源温度230℃,四极杆温度150℃;电子能量70eV;扫描范围20~450u(全扫描)。

2 结果与分析

2.1 提取工艺的优化

正交试验因素及结果表明(见表1),叶的粉碎度(A)对枫香叶挥发油的出油量有极显著的影响,随粉碎度的增大,出油速度、出油量有明显增加;提取时间(C)对挥发油出油量影响显著,试验发现6h内随提取时间的延长出油量增加明显,6h后油量基本不再增加;而浸泡时间(B)对挥发油的出油量影响不显著。各因素影响程度为A>C>B。

表1 不同提取条件对挥发油出油量的影响

Table 1 Effect of different extraction conditions on volatile oil yield

试验号 test No.	A 粉碎度 granularity	B 浸泡时间/h soaking time	C 蒸馏时间/h extracting time	出油量/mL ¹⁾ volume of volatile oil
1	整叶 whole leaf	0	4	0.10 d C
2	整叶 whole leaf	5	6	0.23 cd BC
3	整叶 whole leaf	10	8	0.29 c ABC
4	剪碎 cut	0	6	0.49 ab AB
5	剪碎 cut	5	8	0.51 ab AB
6	剪碎 cuted	10	4	0.37 bc ABC
7	打浆 beat	0	8	0.59 a A
8	打浆 beat	5	4	0.48 ab AB
9	打浆 beat	10	6	0.57 a AB
k_1	0.62	1.18	0.95	
k_2	1.37	1.22	1.29	
k_3	1.64	1.23	1.39	
R	0.2067	0.3933	0.3167	

1) 大写和小写字母分别表示1%和5%显著水平 Different capitals and small letters indicated that significant levels are 1% and 5%, respectively.

粉碎度(A)单因素多重比较确定最佳提取条件为打浆;提取时间(C)单因素多重比较发现C₂和C₃差异不显著,从节约成本和保证挥发油质量的角度考虑确定最佳的提取时间为C₂;浸泡对出油量影响

不大,可不进行浸泡处理。枫香叶挥发油提取的最佳工艺组合为 $A_3B_1C_2$,即将枫香叶打浆,不浸泡,蒸馏提取 6 h;与试验设计中最佳处理 $A_3B_1C_3$ (表 2)不完全吻合,主要是考虑单因子多重比较 C_2 与 C_3 差异不显著,且加热时间过长可能引起成分的化学分解,影响挥发油质量。

表 2 不同提取条件对挥发油出油量影响的方差分析

Table 2 Variance analysis for effect of different extraction conditions on volatile oil yield

变异来源 sources	离均差平方和 SS	自由度 df	均方 mean square	F	P
A	0.1862	2	0.0931	147	<0.01
B	0.0005	2	0.0002	0.3684	>0.05
C	0.0355	2	0.0177	28	0.01 < p < 0.05
误差 error	0.0013	2	0.0006		
总和 total	0.2234				

为验证上述正交试验结果,以优选出的提取方案 $A_3B_1C_2$ 做了 5 组平行实验,挥发油出油量分别为 5.6、5.7、5.7、5.8 和 5.7 mL;RSD 为 1.24%。可见,以此工艺组合不仅挥发油出油量较高,而且重现性好。

2.2 枫香叶挥发油化学成分分析

采用 GC-MS 联用技术,在上述条件下对枫香叶挥发油进行分离,得到挥发油的总离子流图。经计算机数据处理和 NIST-98, WILEY275 标准质谱图库检索,并按峰面积归一化法计算各组分的 GC 含量,结果见表 3。从枫香叶挥发油中共检测出 51 个色谱峰,初步鉴定了 47 个化合物,鉴定率为 98.11%。

表 3 水蒸气蒸馏法提取枫香叶挥发油化学成分分析结果

Table 3 Analysis results of the volatile oil from leaves of *L. formosana* by steam distillation

峰号 peak No.	保留时间/min retention time	化合物名称 compounds	分子式 molecular formula	M_r	GC 含量/% GC content
1	2.83	乙酸乙酯 acetic acid ethyl ester	$C_4H_8O_2$	88	0.14
2	3.15	1-戊烯-3-醇 1-pentene-3-ol	$C_5H_{10}O$	82	0.30
3	3.77	2-戊烯-1-醇 2-pentene-1-ol	$C_5H_{10}O$	82	0.33
4	4.00	己醛 n-hexanal	$C_6H_{12}O$	100	1.08
5	4.57	(E)-2-己烯醛 (E)-2-hexenal	$C_6H_{10}O$	98	7.64
6	4.70	叶醇 (Z)-3-hexen-1-ol	$C_6H_{12}O$	100	2.68
7	4.83	1-己醇 1-hexanol	$C_6H_{14}O$	102	0.62
8	5.84	α -侧柏烯 α -thujene	$C_{10}H_{16}$	136	0.50
9	6.01	α -蒎烯 α -pinene	$C_{10}H_{16}$	136	20.70
10	6.18	蒎烯 camphene	$C_{10}H_{16}$	136	0.39
11	6.68	β -蒎烯 β -pinene	$C_{10}H_{16}$	136	21.18
12	7.35	4-异丙基甲苯 4-isopropyl toluene	$C_{10}H_{14}$	134	1.24
13	7.55	柠檬烯 limonene	$C_{10}H_{16}$	136	7.59
14	7.83	(E)- β -罗勒烯 (E)- β -ocimene	$C_{10}H_{16}$	136	3.56
15	8.07	γ -蒎烯 γ -terpinene	$C_{10}H_{16}$	136	0.36
16	8.27	(Z)-氧化芳樟醇 (Z)-linalool oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	170	0.24
17	8.60	对甲基异丙烯基苯 p-methyl-isopropenyl benzene	$C_{10}H_{12}$	132	0.18
18	8.72	异蒎烯油烯 terpinolene	$C_{10}H_{16}$	136	0.91
19	8.86	L-芳樟醇 L-linalool	$C_{10}H_{18}O$	154	2.38
20	9.23	葑醇 fenchol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.40
21	9.81	(E)-松香芹醇 (E)-pinocarveol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.43
22	10.48	内龙脑 endo-borneol	$C_{10}H_{18}O$	154	0.13
23	10.83	4-蒎烯醇 4-terpineol	$C_{10}H_{18}O$	154	2.33
24	11.17	α -蒎烯醇 α -terpineol	$C_{10}H_{18}O$	154	4.59
25	11.29	桃金娘烯醇 myrtenol	$C_{10}H_{16}O$	152	0.32
27	12.87	香叶醇 geraniol	$C_{15}H_{24}O$	204	1.05
28	17.53	β -波旁老鹳草烯 β -bourbonene	$C_{15}H_{24}$	204	0.20

续表3

峰号 peak No.	保留时间/min retention time	化合物名称 compounds	分子式 molecular formula	M_r	GC 含量/% GC content
29	17.69	β -榄香烯 β -elemene	$C_{15}H_{24}$	204	0.27
30	18.62	β -石竹烯 β -caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	204	6.08
31	19.51	蛇麻烯 α -humulene	$C_{15}H_{24}$	204	0.17
32	20.25	大香叶烯 germacrene <i>D</i>	$C_{15}H_{24}$	204	0.58
34	21.35	δ -杜松油烯 δ -cadinene	$C_{15}H_{24}$	204	0.20
35	22.32	<i>d</i> -橙花叔醇 <i>d</i> -nerolidol	$C_{15}H_{26}O$	222	0.32
36	22.68	(-)-匙叶桉油烯醇 (-)-spathulenol	$C_{15}H_{24}O$	220	0.40
37	22.79	氧化石竹烯 caryophyllene oxide	$C_{15}H_{24}O$	220	0.97
38	24.06	γ -桉叶醇 γ -eudesmol	$C_{15}H_{26}O$	222	1.18
40	24.57	依兰油醇 muurolol	$C_{15}H_{26}O$	222	1.27
41	26.55	菲 phenanthrene	$C_{14}H_{10}$	178	0.40
42	27.69	6,10,14-三甲基-2-十五烷酮 6,10,14-trimethyl-2-pentadecanone	$C_{18}H_{36}O$	268	0.22
43	28.76	异植醇 isophytol	$C_{20}H_{40}O$	296	0.16
44	29.95	(<i>E</i>)-植醇 (<i>E</i>)-phytol	$C_{20}H_{40}O$	296	3.42
46	31.14	二十三烷 tricosane	$C_{23}H_{48}$	324	0.09
47	31.76	三十六烷 hexatriacontane	$C_{36}H_{74}$	506	0.10
48	32.09	1,2-环氧-1-乙烯基环十二烯 1,2-epoxy-1-vinylcyclododecene	$C_{14}H_{22}O$	206	0.30
49	32.44	二十烷 eicosane	$C_{20}H_{42}$	282	0.14
50	34.08	二十七烷 heptacosane	$C_{27}H_{56}$	380	0.14
51	36.37	二十九烷 nonacosane	$C_{29}H_{60}$	408	0.23

在已鉴定成分中萜类成分为30个,占挥发油总量的82.28%,其中单萜成分及其衍生物为17个,占挥发油总量的67.06%,倍半萜及其衍生物11个,占挥发油总量的11.64%,二萜为2个,占挥发油总量的3.58%;脂肪族成分为14个,占挥发油总量的14.01%;芳香族成分为3个,占挥发油总量的1.82%。

挥发油中含量在1%以上的成分有: β -蒎烯(21.18%)、 α -蒎烯(20.70%)、(*E*)-2-己烯醛(7.64%)、柠檬烯(7.59%)、 β -石竹烯(6.08%)、 α -萜品醇(4.59%)、(*E*)- β -罗勒烯(3.56%)、(*E*)-植醇(3.42%)、叶醇(2.68%)、*L*-芳樟醇(2.38%)、4-萜品醇(2.33%)、依兰油醇(1.27%)、4-异丙基甲苯(1.24%)、 γ -桉叶醇(1.18%)、己醛(1.08%)、香叶醇(1.05%)。

2.3 讨论

从理论上讲,粉碎度对挥发油提取的影响主要是由于粉碎度高颗粒小,可使植物材料在装填时更均匀,有利于蒸汽的均匀通过,利于挥发油随水蒸气馏出^[10],邓丽明等研究发现药材的粒径对抗病毒口服液挥发油提取量有显著影响^[11],李奉勤等在对檀香挥发油提取工艺研究中发现药材的细度是影响挥发油收率的关键^[12],王地等报道粉碎度对莪术挥发油的提取有极显著的影响^[13]。本研究发现枫香叶的粉碎度对挥发油的出油量有极显著的影响,随粉碎度的增加挥发油的出油量有明显增加。但也有研究认为,粉碎度增大会使植物材料表面积增大,导致材料的吸附能力增大,粉碎度增大反而会使挥发油提出率降低^[14-16]。作者认为,被提取物如为新鲜植物材料,并在提取时有足够加水量,随粉碎度的增加挥发油出油量会有显著增加;提取原料若为干燥材料,粉碎度过大,且加水量不足,粉碎度的增加不利于挥发油的提取;此结论还不尽完善有待进一步大量试验验证。

一些研究认为,浸泡可使组织细胞膨胀,细胞间隙大,加速细胞内外液态变换而有利于挥发油的提取^[15]。也有研究认为,挥发油提取中的升温过程相当于温浸可不进行浸泡处理^[17]。本实验发现浸泡对枫香叶挥发油提取影响不大,并考虑到夏季长时间浸泡易引起发霉变质故不进行浸泡处理。

提取时间对枫香叶挥发油的出油量有显著影响,在一定时间内随时间延长挥发油出油量明显增加。枫香叶挥发油中有大量的萜类化合物,加热时间过长可能引起成分的化学分解,影响挥发油质量。实际

生产中要考虑到挥发油充分馏出,也要考虑挥发油的质量来确定提取时间。

挥发油中的很多成分都具有医疗价值。如: α -蒎烯对白色念球菌有明显的抑菌和杀菌作用^[18], α -蒎烯和 β -蒎烯具明显的镇咳、祛痰和抗炎作用^[19];据大量文献报道,柠檬烯具有抗肿瘤活性并对多种细菌和真菌有较强的抗菌活性^[20-21],以 δ -柠檬烯为主要成分制成的复方柠檬烯胶囊,具有利胆溶石、理气开胃、消炎止痛的功效,可用于治疗胆结石、胆囊炎及胆道术后综合症等;芳樟醇具有防腐抗菌、抗病毒、镇静的作用^[19]; β -石竹烯具有平喘作用,是治疗老年慢性支气管炎的有效成分之一^[19]。其它一些微量成分也存在很好的抗菌活性,如 γ -萜品烯具有抗菌作用^[22],榄香烯具有镇痉、抗病毒、平喘、抗菌等活性^[23]。鉴于枫香叶挥发油在医药方面的巨大潜力,为开发和利用枫香资源,对枫香有待进行深入细致的研究。

3 结论

3.1 枫香叶挥发油提取的最佳工艺条件是:枫香叶打浆,不浸泡,蒸馏6 h。

3.2 本试验采用水蒸气蒸馏法提取枫香叶挥发油,通过GC-MS法进行成分分析鉴定出47个化合物,鉴定率为98.11%。主要成分为: β -蒎烯(21.18%)、 α -蒎烯(20.70%)、(E)-2-己烯醛(7.64%)、柠檬烯(7.59%)、 β -石竹烯(6.08%)、 α -萜品醇(4.59%)、(E)- β -罗勒烯(3.56%)、(E)-植醇(3.42%)、叶醇(2.68%)、L-芳樟醇(2.38%)、4-萜品醇(2.33%)、依兰油醇(1.27%)、4-异丙基甲苯(1.24%)、 γ -桉叶醇(1.18%)、己醛(1.08%)、香叶醇(1.05%)。

参考文献:

- [1] 火树华. 树木学[M]. 北京:中国林业出版社,1993:197-198.
- [2] 赵学敏. 本草纲目拾遗[M]. 北京:人民卫生出版社,1983:191-192.
- [3] 中国医学科学院陕西分院中医研究所. 陕西中药志[M]. 西安:陕西人民出版社,1962,1:513-514.
- [4] 刘婷,孙玉茹,秦彩玲,等. 路路通的抗炎镇痛作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2006,12(12):45-47.
- [5] 肖伟洪,周磊,扬春华. 江西四种野生金缕梅科植物对强紫外致小鼠皮肤光老化防护作用研究[J]. 江西化工,2004(2):112-114.
- [6] 段穆德. 枫香叶制剂在口腔外科应用的临床观察[J]. 口腔颌面外科杂志,1996,6(1):68-69.
- [7] 朱亮,郭济贤. 枫香脂及其挥发油抗血栓作用[J]. 中草药,1991,22(9):404-405.
- [8] 刘云国,马涛,张薇. 植物挥发性物质的抑菌作用[J]. 吉首大学学报:自然科学版,2004,25(2):39-42.
- [9] 国家药典委员会. 中国药典:一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005:136-137,附录:57-58.
- [10] 陈玉昆. 中药提取生产工艺学[M]. 沈阳:沈阳出版社,1992:277.
- [11] 邓丽明,林华庆,刘国宏,等. 抗病毒口服液挥发油提取工艺的研究[J]. 广东药学院学报,2007,23(2):119-120.
- [12] 李奉琴,范文成,史冬霞,等. 正交试验探讨檀香挥发油的最佳提取条件[J]. 中药材,2006,29(6):605-606.
- [13] 王地,关怀,于萍,等. 莪术细粉提取挥发油的工艺研究[J]. 时珍国医国药,2007,18(6):1437-1438.
- [14] 李奉勤,田志国,史冬霞,等. 正交试验探讨降香挥发油的最佳提取条件[J]. 中国实验方剂学杂志,2005,11(4):23.
- [15] 何文斐,李士敏,杨鑫骥,等. 正交实验探讨金银花挥发油的提取条件[J]. 中国中药杂志,2003,28(2):172.
- [16] 冯磊,尹光耀,敖宗华,等. 莪术挥发油的提取研究及临床意义[J]. 江苏医药杂志,2002,28(7):544.
- [17] 曹蕾,赵国虎,赵军,等. 正交实验优选青皮挥发油提取工艺[J]. 化学与生物工程,2007,24(4):58-61.
- [18] 夏忠弟,余俊龙. α -蒎烯对白色念珠菌生物合成的影响[J]. 中国现代医学杂志,2000,10(1):44-46.
- [19] 孙文基,绳金房. 天然活性成分简明手册[M]. 北京:中国医药科技出版社,1998.
- [20] 陈君,闻芝梅. 功能性食品的科学[M]. 北京:北京人民卫生出版社,2002.
- [21] 王伟江. 天然活性单萜——柠檬烯的研究进展[J]. 中国食品添加剂,2005(1):33-37.
- [22] CARSON C F, RILEY T V. Antimicrobial activity of the major components of the essential oil *Melaleuca alternifolia* [J]. J Appl Bacteriol, 1995, 74:264
- [23] 危英,张旭,危莉,等. 杏叶防风挥发油成分分析[J]. 贵阳中医学院学报,2005,27(4):56-57.