

李艳清, 高文超, 王 蓉, 等. 川芎挥发油提取及 GC-MS 分析[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(8): 276-278.

川芎挥发油提取及 GC-MS 分析

李艳清¹, 高文超², 王 蓉¹, 邹时英¹, 于海莲¹

(1. 四川理工学院材料与化学工程学院, 四川自贡 643000; 2. 曲阜师范大学生命科学学院, 山东曲阜 273165)

摘要: 川芎中挥发油提取工艺的优化, 并对挥发油中化学成分进行分离鉴定。采用单因素及正交试验法优化提取工艺, 并以 GC-MS 为检测手段。结果表明, 最佳工艺条件为粒度 80 目, 浸泡时间 8 h, 料液比 1 g : 10 mL, 蒸馏时间 14 h。在最佳工艺条件下挥发油的提取率可达 0.955%。经 GC-MS 分析, 共分离出 31 种组分, 其中藁本内酯为川芎挥发油的主要化学成分。

关键词: 川芎; 挥发油; 提取工艺; 气相色谱-质谱; 化学成分

中图分类号: O657.63; R284.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0276-03

中药川芎是伞形科植物川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 的干燥根茎, 被喻为“血中之气药”, 具有活血行气、祛风止痛的功效。挥发油是川芎中重要的活性成分, 研究表明, 川芎挥发油具有改善微循环, 降低血压, 增加脑血流量及镇痛, 调节心血管功能, 抗凝血及平喘等作用^[1-3]。本研究采用水蒸气蒸馏法提取川芎挥发油, 并采用 GC-MS 对川芎挥发油的主要成分进行了鉴定, 为川芎的进一步开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

川芎, 购于成都同仁堂。

1.2 仪器与试剂

仪器: Agilent 6890N-5979B 气相色谱质谱联用仪; CP114 电子天平 (上海奥豪斯仪器有限公司生产); 98-1-B 500 mL 电子调温电热套, 天津市泰斯特仪器有限公司生产; RT-20 中药粉碎机, 北京环亚天元机械技术有限公司生产。

试剂: 无水硫酸钠分析纯, 成都市科龙化工试剂厂生产; 无水乙醇分析纯 99.7%, 成都科龙化工试剂厂生产; 甲醇 (色谱纯), 天津市光复精细化工研究所生产。

1.3 试验方法

1.3.1 提取方法 参照中国药典 2010 版的《挥发油测定法》^[4] 进行挥发油提取。以挥发油提取量为考察指标, 按正交试验设计。取经分样筛选的川芎粉末装入挥发油提取器装置, 加入一定量的水, 浸泡 2 h, 缓慢加热至沸, 保持微沸回流提取一定时间, 放置冷却 1 h, 读取挥发油量。

1.3.2 GC-MS 测定条件 色谱柱: 石英毛细管柱 DB-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 柱温为 50 ℃, 保持 2 min, 以 5 ℃/min 升温至 240 ℃ 并保持 10 min; 载气 He; 分流比 30 : 1; 柱前压 52.5 kPa; 进样口温度: 260 ℃; 离子源温度 200 ℃; 电离电压 70 eV; 扫描质量范围 30 ~ 400 AMU; 扫描方式为 EI 源; 扫描间隔 0.5 s。

2 结果与分析

2.1 川芎挥发油单因素提取工艺条件

2.1.1 粒度对挥发油提取量的影响 药品川芎采用粉碎机粉碎, 分别过 20、40、60、80、100 目分样筛, 取 40 g 加入 12 倍蒸馏水, 浸泡时间 2 h, 蒸馏提取 4 h, 考察药品粒度对挥发油提取的影响, 结果见图 1。根据扩散定律, 药材粉碎度愈细, 浸出效果愈好, 成分得率愈高^[5]。由图 1 可看出, 川芎挥发油提取量随着粉碎度的增加而增大, 但粉碎度达到 80 目以上时, 挥发油提取量减少, 这可能是由于过细的粉末加水加热时成糊状, 容易引起焦化 and 暴沸现象, 使提取量减少^[6], 因此选择 80 目的粉碎度为宜。

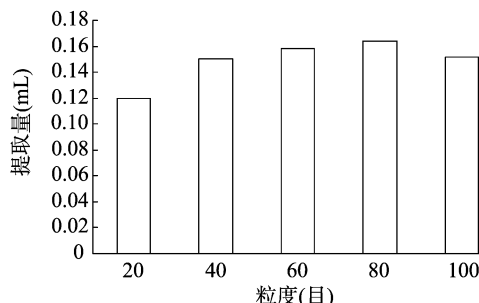


图1 粒度对挥发油提取量的影响

2.1.2 料液比对挥发油提取量的影响 药品川芎采用粉碎机粉碎, 过 40 目分样筛, 取 40 g, 料液比 (g : mL) 分别是 1 : 6、1 : 8、1 : 10、1 : 12, 浸泡时间 2 h, 蒸馏提取 4 h, 考察料液比对挥发油提取的影响, 结果见图 2。

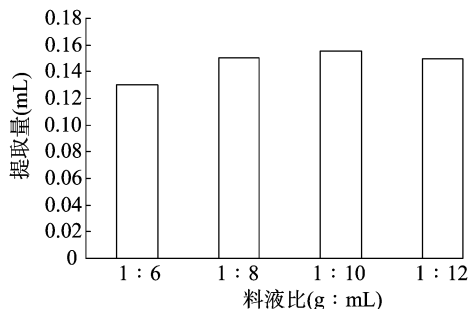


图2 料液比对挥发油提取量的影响

收稿日期: 2013-11-27

基金项目: 四川理工学院科研基金 (编号: 2010XJKYL013)。

作者简介: 李艳清 (1982—), 女, 天津人, 硕士, 实验师, 主要从事分析检测方法的研究。E-mail: pinklover@126.com。

由图 2 可知,随着料液比的增加,川芎挥发油提取量先增加后减少,在料液比 1 g : 10 mL 时,川芎挥发油提取量最高,可能是因为水分过少不能充分浸润川芎,提取不充分,加水过多则导致溶液稀释并易沸,影响提取效果,故选择料液比 1 g : 10 mL 为最佳状态。

2.1.3 浸泡时间对提取量的影响 药品川芎采用粉碎机粉碎,过 40 目分样筛,取 40 g,加入 12 倍蒸馏水,浸泡时间为 0、2、4、6、8 h,蒸馏提取 4 h,考察浸泡时间对挥发油提取的影响,结果见图 3。

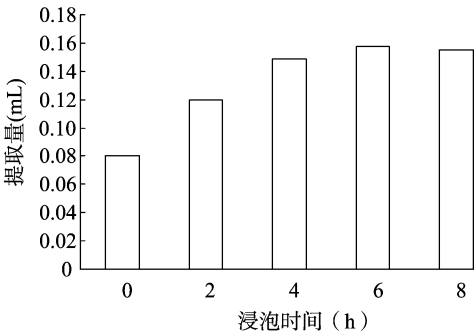


图3 浸泡时间对挥发油产量的影响

由图 3 可知,川芎挥发油提取量随着浸泡时间的增加而增大,在 6 h 达到最大值。理论认为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^[7]。认为川芎浸泡 6 h 组织已经充分膨胀,本着工业生产节约时间原则,浸泡时间选择 6 h。

2.1.4 蒸馏时间对挥发油提取量的影响 药品川芎采用粉碎机粉碎,过 40 目分样筛,取 40 g,加入 12 倍蒸馏水,浸泡时间为 4 h,蒸馏提取 4、6、8、10、12、14 h,考察浸泡时间对挥发油提取的影响,结果见图 4。由图 4 可看出,随着蒸馏时间的增加,挥发油蒸馏量呈现上升趋势,随着蒸馏时间的继续,蒸馏出来的挥发油量增加缓慢。这可能由于随时间推移,料液中油类组分减少的缘故,因此,川芎挥发油蒸馏量减少。在生产过程中本着节约时间的原则,选定蒸馏时间为 12 h。

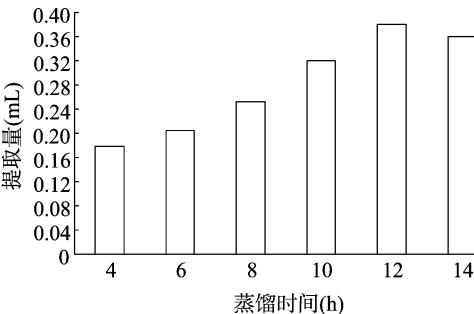


图4 蒸馏时间对挥发油提取量的影响

2.2 正交试验

2.2.1 正交试验优化川芎挥发油提取工艺 为考察各因素之间的相互影响,根据单因素试验结果,以挥发油提取量为评定指标,以粒度、料液比、浸泡时间、蒸馏时间为考察因素,每个因素 3 个水平,采用 $L_9(3^4)$ 正交表进行试验,正交因素水平见表 1,正交试验结果见表 2,正交试验方差分析结果见表 3。

表 1 川芎挥发油提取工艺因素水平

水平	因素			
	A :粒度 (目)	B:浸泡时间 (h)	C:料液比 (g : mL)	D:蒸馏时间 (h)
1	60	4	1 : 8	10
2	80	6	1 : 10	12
3	100	8	1 : 12	14

表 2 川芎挥发油提取工艺正交试验结果

试验号	A:粒数	B:浸泡 时间	C:料液比	D:蒸馏 时间	提取量 (mL)
1	1	1	1	1	0.213
2	1	2	2	2	0.295
3	1	3	3	3	0.342
4	2	1	2	3	0.364
5	2	2	3	1	0.262
6	2	3	1	2	0.322
7	3	1	3	2	0.308
8	3	2	1	3	0.304
9	3	3	2	1	0.293
k_1	0.283	0.285	0.280	0.256	
k_2	0.316	0.287	0.317	0.308	
k_3	0.302	0.319	0.304	0.337	
R	0.033	0.032	0.037	0.081	

表 3 川芎挥发油正交试验方差分析

方差来源	离差平方和	均方	自由度	F 值	P 值
A	0.005	0.002	2	48.475	<0.000 1
B	0.005	0.002	2	50.143	<0.000 1
C	0.007	0.003	2	65.953	<0.000 1
D	0.030	0.015	2	302.806	<0.000 1

由极差分析可知,各因素对试验结果的影响程度依次为 $D > C > A > B$,即蒸馏时间 > 料液比 > 粒度 > 浸泡时间。由方差分析可知,A、B、C、D 4 个因素的影响均具有非常显著性的意义($P < 0.01$)。最优水平为 $A_2B_3C_2D_3$,即粒度 80 目,浸泡时间 8 h,料液比 1 g : 10 mL,蒸馏时间 14 h。

2.2.2 验证试验 为进一步验证正交试验结果的可靠性与重现性,按最佳工艺条件进行 3 次平行试验,挥发油提取量分别为 0.381、0.385、0.380 mL,平均提取量为 0.382 mL,在该条件下挥发油提取率为 0.955%。

2.3 川芎挥发油 GC-MS 分析

2.3.1 川芎挥发油总离子图 对提取的川芎挥发油样本进行 GC-MS 分析,总离子流图见图 5。

2.3.2 川芎挥发油化学成分分析 经气-质联用仪计算机的 NIST 库自动检索,得出挥发油的化学成分,结果见表 4。

通过 GC-MS 分析,鉴定出川芎挥发油中主要物质为萜本内酯,与相关文献报道结果^[8-10]一致。萜本内酯的含量是评价当归、川芎等常用中药材及其制剂的重要依据之一;在川芎挥发油中,少量的萜烯类化合物具有较强的香气和生理活性,如 α -芹子烯、 β -芹子烯、 β -水芹烯、 γ -萜品烯、蒎烯、 γ -松油烯、 β -侧柏烯、苯乙烯、 α -柠檬烯等,由于大多数萜烯类物质有随水蒸气蒸发的性质,所以在挥发油中最为丰富,

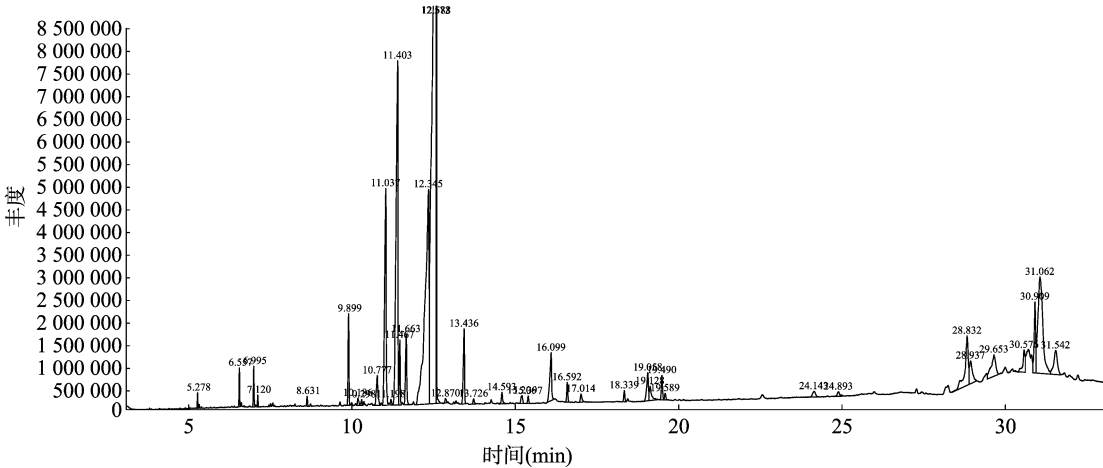


图5 川芎挥发油的总离子流色谱

表 4 川芎挥发油化学成分组成

时间 (min)	化合物名称	分子式	相对分子质量
5.278	β-水芹烯	C ₁₀ H ₆	126
6.995	蒎烯	C ₁₀ H ₆	126
7.120	α-蒎品烯	C ₁₀ H ₆	126
8.631	香叶烯	C ₁₀ H ₆	126
9.899	γ-蒎品烯	C ₁₀ H ₆	126
10.777	α-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	136
11.198	苯乙烯	C ₁₀ H ₁₂	132
11.403	β-侧柏烯	C ₁₀ H ₁₆	136
11.467	苯甲醇	C ₇ H ₈ O	108
12.346	γ-松油烯	C ₁₀ H ₁₈ O	154
12.588	α-蒎品醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154
12.870	3-乙基-4-甲基-戊醇	C ₈ H ₁₈ O	130
13.436	α-松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	154
14.593	丁苯基甲酮	C ₁₁ H ₁₄ O	162
15.206	丁烯基酞内酯	C ₁₂ H ₁₂ O ₂	188
15.397	黄樟醚	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162
16.099	对-丁香酚	C ₁₀ H ₁₀ O ₂	162
16.592	1-甲氧基-4-(1-丙烯基)苯	C ₁₀ H ₁₂ O	148
17.014	苯正戊酮	C ₁₁ H ₁₄ O	162
18.339	橙花醇乙酯	C ₁₂ H ₂₀ C ₂	196
19.128	十五烷	C ₁₅ H ₃₂	212
19.490	β-芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	204
19.589	α-芹子烯	C ₁₅ H ₂₄	204
24.143	Z-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190
24.893	E-藁本内酯	C ₁₂ H ₁₄ O ₂	190
28.832	甲基丁香酚	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178
28.937	棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256
29.653	棕榈酸乙酯	C ₁₆ H ₃₆ O ₂	260
30.909	十六酸乙酯	C ₁₈ H ₃₈ O	270
31.062	亚油酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280
31.542	油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310

蒎烯类化合物含量少但对人体却能起到很多的作用,如杀菌、消炎、抗病毒、解热、止咳、祛痛、止痒、降血压、抗肿瘤、祛痰

等等。

3 结论

本研究通过单因素试验对川芎挥发油的提取工艺进行研究,考察了粒度、浸泡时间、料液比和蒸馏时间 4 个因素对挥发油提取量的影响,确定了 4 个因素的 3 个水平进行正交优化试验,确定了粒度 80 目,浸泡时间 8 h,料液比 1 g : 10 mL,蒸馏时间 14 h 的最佳提取工艺条件。通过 GC-MS 分析,鉴定出川芎挥发油中主要物质为藁本内酯,川芎挥发油水溶液室温条件下保存不稳定,且挥发油中的活性成分藁本内酯对光、温度十分敏感。川芎水提液的 pH 值随时间变化呈下降趋势。在贮存川芎水提液过程中建议调节 pH 值为 5,采用低温避光保存,确保制剂的质量和临床疗效。

参考文献:

[1]侯大平,张巍,康天济.论川芎药性与临床应用[J].中医药学报,1996(1):44-45.
[2]陈友鸿,莫尚志,李洁仪,等.川芎挥发油成分研究[J].中药材,2004,27(8):580-582.
[3]谢秀琼,詹珂,尹蓉莉,等.川芎挥发油的研究进展[J].时珍国医国药,2007,18(6):1508-1510.
[4]国家药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,2010.
[5]张兆旺.中药药剂学[M].北京:中国中医药出版社,2003:971.
[6]陈有根,王汉章,黄敏,等.关于《中国药典》挥发油测定方法的商榷[J].时珍国医国药,1998,9(4):60.
[7]郑勇,张志兰.正交试验法优选豆蔻挥发油提取工艺[J].时珍国医国药,2006,17(4):596.
[8]陈友鸿,莫尚志,李洁仪,等.川芎挥发油成分研究[J].中药材,2004,27(8):580-582.
[9]原永芳,周践,郑晓梅,等.超临界流体 CO₂ 萃取川芎挥发油化学成分的研究[J].中国药学杂志,2000,35(2):84-87.
[10]阮琴,张颖,胡晓燕,等.不同制备方法对川芎挥发油化学成分的影响[J].中国中药杂志,2003,28(6):572-574.