

尤莉艳, 杨 婷, 姜 辉, 等. 杜香挥发油提取工艺研究及成分 GC-MS 分析[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(10): 180-182.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.046

# 杜香挥发油提取工艺研究及成分 GC-MS 分析

尤莉艳<sup>1,2</sup>, 杨 婷<sup>1</sup>, 姜 辉<sup>1</sup>, 马朝红<sup>1</sup>

(1. 吉林农业科技学院长白山动植物利用与保护吉林省高校重点实验室, 吉林吉林 132101; 2. 吉林农业科技学院文理学院, 吉林吉林 132101)

**摘要:**为优化杜香挥发油提取工艺, 探究杜香挥发油的成分, 揭示其生产和利用价值, 以便保护和利用杜香资源, 为杜香的深加工提供依据。采用超声波法从杜香中提取挥发油, 以挥发油提取率为指标, 用正交试验  $L_9(3^4)$  对杜香挥发油的超声提取工艺进行优化, 得到最佳工艺为乙醇浓度 50%, 提取温度 75 ℃, 料液比 1 g : 25 mL, 提取时间 15 min, 经验证杜香挥发油的平均提取率为 8.49%。用气相色谱-质谱联用 (gas chromatography-mass spectrometer, 简称 GC-MS) 技术对所提取的杜香挥发油进行成分鉴定, 共分离鉴定出 27 种化学成分, 占挥发油总含量的 72.70%。超声提取所得杜香挥发油的主要成分为萜类、芳香烃、烯烃、醇、酮和酯类化合物, 应用超声提取法从杜香中提取挥发油简单易行, 可操作性强。

**关键词:**杜香; 挥发油; 超声提取; 正交试验; 气相色谱-质谱联用技术

**中图分类号:** R284.2; O657.63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)10-0180-03

细叶杜香 (*Ledum palustre* L. var. *angustum* E. Busch), 别称喇叭茶, 是杜鹃花科杜香属常绿小灌木。我国野生杜香资源丰富, 主要分布于我国大小兴安岭、内蒙古和长白山地区。文献报道杜香属植物含有丰富的挥发油、黄酮类和萜类等化合物<sup>[1-2]</sup>。杜香的枝、叶、花和果实均可提取出芳香挥发油, 其中花、果出油率较高。杜香挥发油成分的功效已被运用于日常生活、医疗、香料生产等领域, 如杜香挥发油可以扩张血管、降低血压、镇咳平喘、治疗胃溃疡和月经不调, 同时在杀菌、祛除脚气和治疗皮肤瘙痒等方面也有显著的治疗效果<sup>[1-3]</sup>。

目前, 提取天然产物的方法主要有水蒸汽蒸馏法、超声波提取法、超临界  $\text{CO}_2$  萃取法等。超声波独具的极端物理特性及其产生的强烈振动可促使植物组织破壁或变形, 使有效成份提取得更充分, 可以提高细胞破碎度和有效成分的提取率。据文献报道, 杜香花蕾中含挥发油 15%~20%<sup>[4-5]</sup>, 而目前生产上杜香挥发油的茎和叶提取率不高<sup>[6-7]</sup>, 且关于提取工艺优化的研究较少。因此, 本研究设计以杜香挥发油提取率为评价指标的正交试验, 对杜香枝叶挥发油的提取工艺进行优选, 并用气相色谱-质谱联用 (gas chromatography-mass spectrometer, 简称 GC-MS) 分析技术对提取的杜香挥发油进行了成分鉴定, 以期充分利用杜香资源提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 原材料 采自黑龙江省塔河林业局, 经吉林农业科技学院校内从事药用植物研究的孙仓教授鉴定为杜鹃花科杜香

属植物细叶杜香。

1.1.2 主要试剂 无水乙醇 (A. R.), 由天津市大茂化学试剂厂生产。

1.1.3 主要仪器 GC-MS 色谱仪 (型号为 QP2010 Ultra), 购自日本岛津公司; 电子分析天平 (型号为 ME203E), 购自梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司; 数控超声波清洗器 (型号为 KQ-100DE), 购自昆山市超声仪器有限公司; 数显恒温水浴锅 (型号为 HH-12), 购自上海况胜实业发展有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱 (型号为 DHG-9030), 购自上海一恒科学仪器有限公司; 粉碎机 (型号为 HK200), 购自广州华凯机电设备有限公司; 标准分样筛 (型号为 304), 购自浙江省绍兴市上虞区华丰五金仪器有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 杜香挥发油的提取 取用的材料为新鲜的杜香茎和叶, 将杜香的茎用剪刀剪成 3 cm 左右装入烧杯中, 然后反复用自来水清洗, 直到洁净为止, 再用蒸馏水清洗, 置于 60 ℃ 烘箱中烘干, 然后用粉碎机粉碎, 过 80 目筛。

杜香挥发油提取率 = 杜香挥发油质量 / 杜香粗粉质量 × 100%。

#### 1.2.2 杜香挥发油提取的单因子试验

1.2.2.1 提取溶剂浓度的筛选 精确称量研磨后的杜香粉末 5 g, 共 5 份, 设定超声时间为 15 min, 超声功率为 50 kHz, 超声温度为 60 ℃, 料液比为 1 g : 15 mL, 分别用 30%、40%、50%、60%、70% 乙醇提取杜香挥发油, 通过比较挥发油的提取率, 确定合适的乙醇浓度。

1.2.2.2 提取温度的筛选 精确称量研磨后的杜香粉末 5 g, 共 5 份, 设定超声时间为 15 min, 超声功率为 50 kHz, 料液比为 1 g : 15 mL, 乙醇浓度为 50%, 设定提取温度分别为 30、45、60、75、90 ℃, 通过比较挥发油的提取率, 确定合适的提取温度。

1.2.2.3 料液比的筛选 精确称量研磨后的杜香粉末 5 g, 共 5 份, 设定超声功率为 50 kHz, 超声温度为 60 ℃, 超声时间为 15 min, 乙醇浓度为 50%, 将料液比分别设定为 1 : 10、

收稿日期: 2016-12-05

基金项目: 长白山动植物资源利用与保护吉林省高校重点实验室项目 (编号: 吉农院合字[2014]第 S018 号); 吉林农业科技学院博士启动基金 (编号: 吉农院合字[2012]第 302 号)。

作者简介: 尤莉艳 (1981—), 女, 吉林吉林人, 博士, 讲师, 从事天然产物研究。Tel: (0432)63509527; E-mail: yly5466@163.com。

1:15、1:20、1:25、1:30(g:mL),通过比较挥发油的提取率,确定合适的料液比。

1.2.2.4 提取时间的筛选 精确称量研磨后的杜香粉末 5 g,共 5 份,设定超声功率为 50 kHz,超声温度为 60 ℃,料液比为 1 g:15 mL,乙醇浓度为 50%,分别超声提取 5、10、15、20、25 min,通过比较挥发油的提取率,确定合适的超声时间。

1.2.3 杜香挥发油提取的正交试验 选取乙醇浓度、超声温度、料液比、超声时间等 4 个因素,每个因素 3 个水平,采用  $L_9(3^4)$  表进行正交试验,对超声提取杜香挥发油的条件进行优化。 $L_9(3^4)$  正交试验的因素与水平设计见表 1。

表 1  $L_9(3^4)$  正交试验因素与水平

因素	A:乙醇浓度 (%)	B:提取温度 (℃)	C:料液比 (g:mL)	D:提取时间 (min)
1	40	45	1:15	10
2	50	60	1:20	15
3	60	75	1:25	20

1.2.4 杜香挥发油的成分分析 采用气相色谱-质谱联用技术对超声波法提取的杜香挥发油成分进行分析。

1.2.4.1 气相色谱条件 色谱柱型号为 Rxi-5MS (30.00 m×0.25 mm×0.25 μm),进样口温度为 300 ℃;载气为高纯氮(99.999%);柱流速为 1 mL/min;程序升温,初始温度为 60 ℃,保持 5 min,然后以 5 ℃/min 的速度升至 300 ℃,保持 5 min;进样模式为分流进样,分流比为 100:1。

1.2.4.2 质谱条件 离子源为电子轰击(EI)源,离子源温度为 230 ℃,传输线温度为 300 ℃;扫描范围为 35~500 m/z。利用 NIST11.LIB 标准质谱库计算机检索,结合有关文献进行分析。

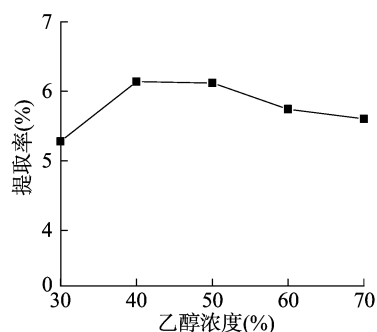


图1 乙醇浓度对杜香挥发油提取率的影响

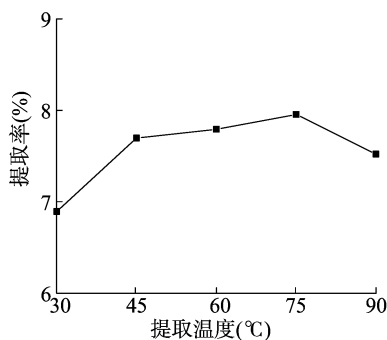


图2 提取温度对杜香挥发油提取率的影响

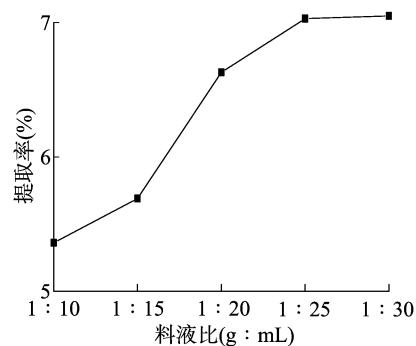


图3 料液比对杜香挥发油提取率的影响

2.1.4 提取时间对杜香挥发油提取率的影响 由图4可知,超声时间从 5 min 延长到 25 min,提取率提高,且当超声时间为 25 min 时,提取率最高,说明适当延长提取时间,有利于杜香挥发油的溶出,进而提高提取率。考虑到超声时间为 15~25 min 时,提取率无明显差异,因此为节约时间和能源,缩短提取周期,选择 10、15、20 min 的超声时间进行正交试验。

## 2.2 杜香挥发油提取的正交试验

由表 2 可知,各因素对杜香提取率的影响程度表现为乙醇浓度>提取温度>提取时间>料液比,其中乙醇浓度为主要因素,提取温度和提取时间次之,料液比的影响最小,根据正交试验结果和极差分析最佳提取工艺,二者最佳工艺条件不吻合,所以,将正交试验条件( $A_2B_3C_1D_2$ )和极差分析条件( $A_2B_3C_3D_2$ )进行比较,结果见表 3,按照极差分析得到的工

## 2 结果与分析

### 2.1 杜香挥发油提取的单因素试验

2.1.1 乙醇浓度对杜香挥发油提取率的影响 由图 1 可知,乙醇浓度从 30% 增大到 70%,杜香挥发油提取率随着乙醇浓度的增大呈先增加后减小的趋势。其中,乙醇浓度从 30% 增大到 40% 时,提取率上升趋势明显,乙醇浓度从 40% 增大到 50%,提取率变化不明显。乙醇浓度从 50% 增大至 70%,提取率明显下降。由于乙醇浓度的增大会使一些醇溶性色素、亲脂性强的成分及杂质的溶出量增加,且溶剂浓度增加可引起提取成本增加,因此选用浓度 40%、50%、60% 的乙醇进行正交试验。

2.1.2 提取温度对杜香挥发油提取率的影响 由图 2 可知,温度较低时,杜香挥发油提取率较低,其原因可能是低温不利于超声波的空化作用。提取温度从 30 ℃ 升高到 75 ℃,杜香挥发油的提取率呈明显上升趋势,且当提取温度为 75 ℃ 时,提取率达到最大值。超声温度从 75 ℃ 升高到 90 ℃,杜香挥发油提取率随着温度的升高明显降低,其原因可能是高温条件下杜香挥发油的稳定性差,杜香挥发油发生分解,导致提取率降低。因此,选用 45、60、75 ℃ 的超声温度进行正交试验。

2.1.3 料液比对杜香挥发油提取率的影响 由图 3 可知,杜香的提取率随着料液比的增大而增加,所以料液比的增大有利于杜香挥发油提取率的提高。当料液比达到 1 g:30 mL 时,提取率达到最大值。料液比从 1 g:25 mL 增大到 1 g:30 mL,杜香挥发油提取率的增加趋势不明显,考虑到节约溶剂,避免不必要的浪费和污染,选用 1:15、1:20、1:25 (g:mL) 的料液比进行正交试验。

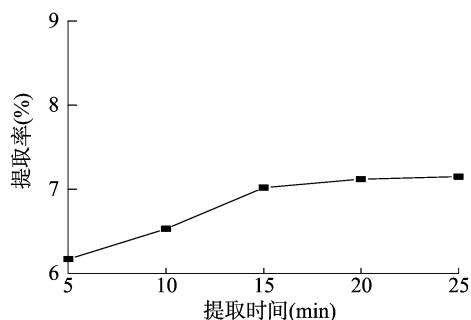


图4 提取时间对杜香挥发油提取率的影响

艺条件的提取率均高于按照正交试验的最高提取率。因此,超声提取杜香挥发油的最佳工艺条件为  $A_2B_3C_3D_2$ ,即乙醇浓

表 2 杜香挥发油提取正交试验结果与分析

试验号	乙醇浓度	提取温度	料液比	提取时间	提取率 (%)
1	1	1	1	1	6.28
2	1	2	2	2	6.53
3	1	3	3	3	7.11
4	2	1	2	3	7.41
5	2	2	3	1	7.22
6	2	3	1	2	8.39
7	3	1	3	2	7.60
8	3	2	1	3	7.03
9	3	3	2	1	7.43
$k_1$	6.64	7.10	7.23	6.98	
$k_2$	7.67	6.93	7.12	7.50	
$k_3$	7.35	7.64	7.31	7.18	
$R$	1.03	0.71	0.19	0.52	

表 3 杜香挥发油提取验证试验结果

样品号	提取率 (%)			$RSD$ (%)
	重复 I	重复 II	平均	
$A_2B_3C_1D_2$	8.31	8.28	8.36	0.35
$A_2B_3C_3D_2$	8.52	8.54	8.41	0.63

注: $RSD$  表示相对平均偏差。

度 50%, 提取温度 75 ℃, 料液比 1 g : 25 mL, 超声时间 15 min。此外, 为验证最佳工艺条件, 在  $A_2B_3C_3D_2$  条件下进行验证试验, 杜香挥发油的平均提取率为 8.49%。

2.3 杜香挥发油的成分分析

对杜香挥发油提取物进行 GC-MS 分析, 由图 5 可知, 由超声提取法得到 50 多个峰, 从中鉴定出 27 种化合物, 占总峰面积的 72.70%, 所鉴定的化合物相似度均  $\geq 90\%$ , 对于相似度较低或者检索结果不符合出峰及质谱断裂规律的物质, 未进行分析和讨论。鉴定出的杜香挥发油主要成分及其相对含量见表 4。结果表明, 杜香挥发油的主要成分有萜类、芳香烃、烯烃、醇、酮和酯类化合物, 其中含量较高的化合物有桃金娘烯醛、甲基异丙基苯、4-萜烯醇、枯茗醛、枯茗醇、 $\beta$ -水芹烯、 $\gamma$ -松油烯等。

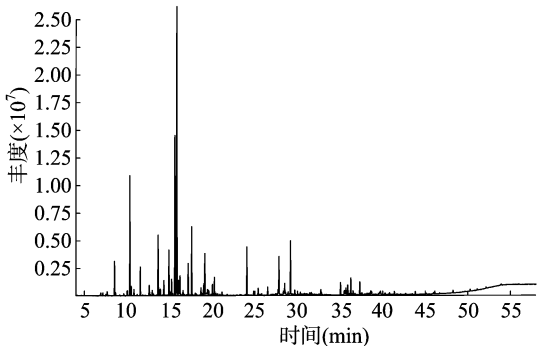


图 5 超声提取杜香挥发油的总离子流

3 结论

在超声波法提取杜香挥发油的试验中, 选用溶剂浓度、提取温度、料液比和提取时间作为考察因素进行正交试验。结果表明, 影响杜香挥发油提取率的主要因素为溶剂浓度, 其次

表 4 杜香挥发油的化学成分分析结果

序号	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量 (%)
1	桉烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.23
2	$\alpha$ -蒎烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.52
3	$\beta$ -蒎烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.44
4	$\beta$ -水芹烯	$C_{10}H_{16}$	136	2.50
5	月桂烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.04
6	$\alpha$ -水芹烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.11
7	4-萜烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.29
8	甲基异丙基苯	$C_{10}H_{16}$	136	7.19
9	罗勒烯	$C_{10}H_{16}$	136	0.07
10	$\gamma$ -松油烯	$C_{10}H_{16}$	136	4.83
11	芳樟醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.48
12	壬醛	$C_9H_{18}O$	142	0.11
13	水芹醛	$C_7H_{14}O$	114	0.46
14	(-)-反式-松香芹醇	$C_{10}H_{16}O$	152	0.22
15	外-2-莰醇	$C_{10}H_{18}O$	154	1.08
16	4-萜烯醇	$C_{10}H_{18}O$	154	10.73
17	桃金娘烯醛	$C_{10}H_{14}O$	150	24.56
18	松油醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.92
19	3-异丙基苯酚	$C_9H_{12}O$	136	2.12
20	枯茗醛	$C_{10}H_{12}O$	148	4.51
21	$\beta$ -柠檬醇	$C_{10}H_{18}O$	154	0.25
22	枯茗醇	$C_{10}H_{14}O$	150	2.85
23	香芹酚	$C_{10}H_{14}O$	150	0.77
24	香树烯	$C_{15}H_{14}$	204	3.11
25	菖蒲酮	$C_{15}H_{24}O$	220	0.91
26	$\beta$ -紫罗兰酮	$C_{13}H_{20}O$	192	3.07
27	邻苯二甲酸二异丁酯	$C_{16}H_{22}O_4$	278	0.33

是提取温度和提取时间, 料液比影响最小。确定最佳提取工艺条件为  $A_2B_3C_3D_2$ , 即乙醇浓度 50%, 提取温度 75 ℃, 料液比 1 g : 25 mL, 提取时间 15 min, 经试验证明, 利用此方法提取杜香挥发油的平均提取率可达到 8.49%。此外, 通过 GC-MS 分析杜香挥发油的成分发现, 其主要成分为萜类、芳香烃、烯烃、醇、酮和酯类化合物等, 其中含量较高的化合物有桃金娘烯醛、甲基异丙基苯、4-萜烯醇、枯茗醛、枯茗醇、 $\beta$ -水芹烯、 $\gamma$ -松油烯等。

参考文献:

[1] 黄莹, 张德志. 细叶杜香挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 现代食品与药品杂志, 2007, 17(3): 45-47.  
[2] 姜玮. 长白山杜香挥发油抑菌活性成分提取及抑菌机理研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.  
[3] 陈其秀, 王晓琴, 陈其和, 等. 狭叶杜香挥发油提取方法的研究[J]. 内蒙古医学院学报, 2006, 28(5): 414-416.  
[4] 路博琼, 罗书勤, 张力平. 超临界  $CO_2$  萃取杜香挥发油工艺优化及成分分析[J]. 现代农业科技, 2014(6): 173-174, 178.  
[5] 赵明, 陈丽杰, 裴世春, 等. 细叶杜香化学成分研究(I)[J]. 中草药, 2014, 45(11): 1532-1535.  
[6] 罗天宇, 柳华锋, 史维翔, 等. 紫苏叶挥发性成分的提取及分析[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 316-318.  
[7] 马承慧, 陈美佳, 王群, 等. 超声波辅助提取杜香精油的工艺研究及成分分析[J]. 林业科技, 2014, 39(4): 26-28.