

地椒挥发油提取工艺及GC-MS成分分析

路立峰¹, 李赫宇², 张晓林¹, 胡高升^{3,*}

(1. 山东药品食品职业学院, 山东 威海 264210; 2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457;
3. 沈阳药科大学 中药学院, 辽宁 沈阳 110015)

摘要: 确定地椒挥发油的最佳提取工艺并对其进行成分分析。通过单因素试验, 确定了影响挥发油提取的4个因素; 选用 $L_9(3^4)$ 正交试验, 以挥发油得率为指标, 对影响挥发油收率的提取时间(A)、浸泡时间(B)、粉碎度(C)、加水量(D)4个因素进行提取工艺条件优选, 并按最佳提取工艺提取的挥发油进行气相色谱-质谱(GC-MS)分析。结果发现, 地椒挥发油的最佳提取工艺为药材粗粉加入10倍量的水、浸泡2h、提取4h, 并鉴定出了63种挥发性化学成分。

关键词: 地椒挥发油; 提取工艺; 气相色谱-质谱法(GC-MS)

Extraction Process of Volatile Oil from *Thymus quinquecostatus Celak* and Analysis of Chemical Components by GC-MS

LU Li-feng¹, LI He-yu², ZHANG Xiao-lin¹, HU Gao-sheng^{3,*}

(1. Shandong Drug and Food Vocational College, Weihai 264210, Shandong, China; 2. Tianjin Ubasichealth Nutrition Co., Ltd., Tianjin 300457, China; 3. College of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110015, Liaoning, China)

Abstract: To study the optimum extraction technology and the chemical constituents of volatile oil from *Thymus quinquecostatus Celak*. Single factor test method was used for studying the effects of four extracting factors. With the yield of volatile oil as index, orthogonal experimental design $L_9(3^4)$ was used for studying the effects of four extracting factors these were extracting time (A), soaking time (B), crushing degree (C) and the amount of water (D). Constituents of volatile oil extracted were identified by the application of GC-MS techniques. The optimal condition for the extraction of volatile oil from *Thymus quinquecostatus Celak* was: powdery medicinal materials, ten times water, soaked for 2 hours and extracting time at four hours. 63 kinds the chemical constituent of volatiles were identified.

Key words: volatile oil from *Thymus quinquecostatus Celak*; extraction process; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

地椒为唇形科(Labiatae)百里香属植物地椒 *Thymus quinquecostatus Celak*, 与植物百里香 *Thymus mongolicus ronn*、展毛地椒 *Thymus quinquecostatus Celak var przewalskii(kom.) ronn* 同属百里香属, 亲缘关系相近。地椒 *Thymus quinquecostatus Celak* 在国内广泛分

布于山东、辽宁、河北、河南、山西、江苏等省, 具有祛风解表, 通气止痛, 止咳降压的功效^[1]。临床主要用于治疗感冒、头痛、百日咳、湿疹瘙痒等病^[2]。其属植物中含有的挥发油亦可作化妆品、香皂的原料^[3], 同时地椒在民间有着悠久的药食两用的历史, 因此进一步开发地椒具有广阔的前景。为了指导生产和保证产品的收率, 本文选取地椒的挥发油得率为指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优选提取条件, 并采用气相色谱-质谱(GC-MS)分析技术鉴定挥发油中的化学成分, 以期地为地椒的生产和科研提供参考。

作者简介: 路立峰(1980—), 男(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 中药质量控制。

* 通信作者: 胡高升(1982—), 男(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 中药资源学。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

地椒采于山东威海与烟台交界处的岫岭山,经鉴定为唇形科百里香属植物地椒的地上部分,将药材除去杂质,阴凉处晾干,备用。

1.2 仪器与设备

LK-2000A 粉碎机:浙江彰诚机械设备有限公司;FA2004 型电子分析天平:上海舜宇恒平科学仪器有限公司;挥发油测定仪器、ZNHW 型电热套:上海互佳仪器设备有限公司;Agilent 7890 GC/5795 MS machine, 色谱柱:Agilent 19091s-433UIHP-5MS capillary column (30 m × 320 μm, 0.25 μm)。

1.3 方法

1.3.1 地椒挥发油的提取方法

精密称取地椒 100.0 g,参照《中国药典》2010 年版一部附录 XD 挥发油测定法,提取挥发油,精确读数计量,计算挥发油得率,以考察提取时间、浸泡时间、药材细度、加水量 4 个因素对地椒挥发油提取率的影响。

具体操作是:称取不同规格的地椒样品,置于挥发油提取器中,加入一定量的水浸泡一定时间,水蒸气蒸馏一定时间,收集淡黄色油状液体,加入无水硫酸钠脱水,读取挥发油的量,计算挥发油含量。

1.3.2 地椒挥发油的 GC-MS 分析色谱条件

对最佳工艺提取的地椒挥发油,运用 GC-MS 技术分析,获取总离子流图,将得到的数据运用 NIST10 标准数据库进行比对,峰面积比例计算方法为面积归一化法。

色谱柱:Agilent 19091s-433UIHP-5MS capillary column (30 m × 320 μm, 0.25 μm);升温程序:40 °C 保持 2 min, 5 °C/min 提高到 260 °C,维持 260 °C 1 min。载气(He)流速 1.2 mL/min,压力 2.4 kPa,进样量 1 μL;分流比:5:1。

1.3.3 地椒挥发油的 GC-MS 分析质谱条件

电子轰击离子源;电离模式为 EI⁺;电离能为 70 eV;离子源温度 °C;质荷比范围为 50~1 000。

2 结果与分析

2.1 地椒挥发油提取的单因素试验

2.1.1 加水量对挥发油提取率的影响

准确称取粉碎至一定程度的地椒样品 100 g,分别加入 4、6、8、10、12、14 倍量水,室温下浸泡 2 h 后,水蒸气蒸馏提取 3 h,称量并计算提取率。结果见图 1。

图 1 表明,加水量在 12 倍时,地椒挥发油的提取率为最高,但与 10 倍加水量提取率变化不大,故确

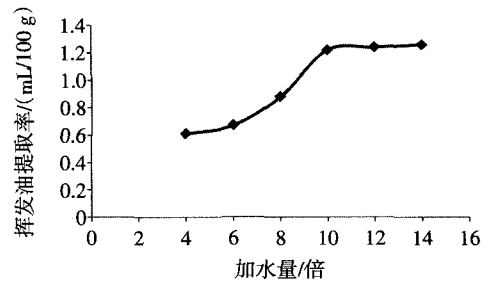


图 1 加水量对地椒挥发油提取率的影响

Fig.1 Effects of water amount on the extraction yield of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

定 8、10、12 倍为因素 A 的 3 个水平。

2.1.2 浸泡时间对挥发油提取率的影响

准确称取粉碎至一定程度的地椒样品 100 g,各加入 10 倍量水,分别浸泡 1、2、3、4、5、6、7 h,水蒸气蒸馏提取 6 h 后,收集挥发油,称重并计算提取率。结果见图 2。

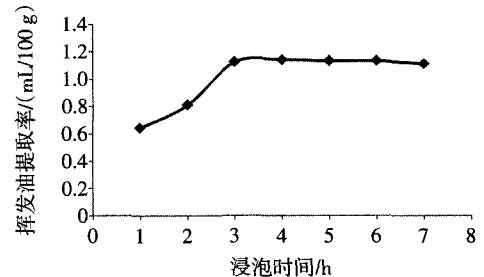


图 2 浸泡时间对地椒挥发油提取率的影响

Fig.2 Effects of soaking time on the extraction yield of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

图 2 显示地椒的最佳浸泡时间为 3、4 h 之后的提取率基本变化不大,故确定提取因素 B 的 3 个水平为 1、2、3 h。

2.1.3 蒸馏提取时间对挥发油提取率的影响

准确称取粉碎至一定程度的地椒样品 100 g,加 1 000 mL 水,浸泡 2 h,分别蒸馏提取 1、2、3、4、5、6、7 h,收集挥发油,称重,计算提取率。结果见图 3。

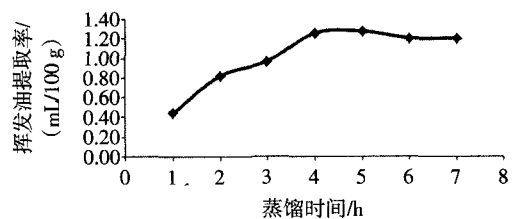


图 3 蒸馏时间对地椒挥发油提取率的影响

Fig.3 Effects of extracting time on the extraction yield of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

图 3 显示蒸馏提取 1 h~7 h,7 个梯度中 4 h 时地椒挥发油提取率最大,5 h 之后挥发油含量变化不大,

故设计蒸馏时间 C 的 3 个水平为 3、4、5 h。

2.1.4 药材粉碎度对挥发油提取率的影响

取不同粉碎度的地椒样品 100 g, 加 1 000 mL 水浸泡 2 h 后, 蒸馏提取, 保持微沸 6 h, 收集挥发油, 称重, 计算提取率。结果见图 4。

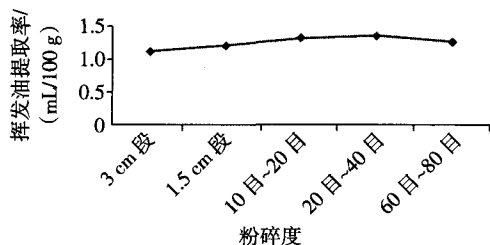


图 4 粉碎度对地椒挥发油提取率的影响

Fig.4 Effects of comminution granularity on the extraction yield of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

图 4 显示最佳粉碎度为 10 目~20 目, 确定粉碎度因素 D 的 3 个水平为 1.5 cm 段, 10 目~20 目, 20 目~40 目。

2.2 正交试验设计

2.2.1 因素水平的确定

根据影响挥发油的提取因素, 在预试验的基础上, 选取加水量(A)、浸泡时间(B)、提取时间(C)、粉碎度(D)作为考察因素, 每个因素设计 3 个水平, 以挥发油得率(mL/100 g)为考察指标, 设计 $L_9(3^4)$ 正交试验, 见表 1。

表 1 地椒挥发油提取工艺正交试验因素水平表

Table 1 The orthogonal factor table of extraciton process of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

水平	因素			
	A 加水量/倍	B 浸泡时间/h	C 提取时间/h	D 粉碎度
1	8	1	3	1.5 cm 段
2	10	2	4	10 目~20 目
3	12	3	5	20 目~40 目

2.2.2 正交试验

正交试验结果见表 2。

表 2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal array test

试验编号	因素				挥发油得率/(mL/100 g)
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	0.73
2	1	2	2	2	0.84
3	1	3	3	3	0.91
4	2	1	2	3	1.22
5	2	2	3	1	1.02

续表 2 正交试验结果

Continue table 2 The results of orthogonal array test

试验编号	因素				挥发油得率/(mL/100 g)
	A	B	C	D	
6	2	3	1	2	0.96
7	3	1	3	2	0.92
8	3	2	1	3	1.12
9	3	3	2	1	1.06
K_1	0.827	0.957	0.937	0.937	
K_2	1.067	0.993	1.040	0.907	
K_3	1.033	0.977	0.950	1.083	
R	0.240	0.036	0.103	0.176	

由表 2 直观分析可知 $R_1 > R_4 > R_3 > R_2$, 说明加水量是影响提取地椒挥发油的最主要因素, 其次是样品的粉碎度和提取时间, 而浸泡时间的影响则不明显, 即 A、B、C、D 4 个因素的影响依次是 $A > D > C > B$, 确定 $A_2 D_3 C_2 B_2$ 为最佳提取工艺, 即取粉碎至 20~40 目地椒样品, 加入 10 倍量水, 浸泡 2 h, 蒸馏提取 4 h。

2.2.3 方差分析

对表 2 的挥发油得率进行方差分析, 结果见表 3。

表 3 方差分析表

Table 3 The table of ariance analysis

因素	SS	f	S	F
A	0.101	2	2.295	4.460
B	0.002	2	0.045	4.460
C	0.019	2	0.432	4.460
D	0.054	2	1.227	4.460

2.2.4 验证试验

取地椒样品 3 份, 按确定的最佳工艺条件, 进行验证性试验, 3 次挥发油提取率分别是 1.23 %、1.21 %、1.23 %, 重复性良好, 说明工艺条件稳定可靠。

2.2.5 GC-MS 分析结果

地椒挥发油 GC-MS 分析图见图 5, 63 种组分成分见表 4。

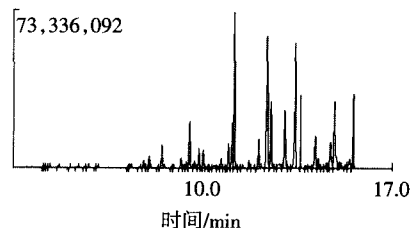


图 5 地椒挥发油 GC-MS 分析图

Fig.5 The GC-MS analysis diagram of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

表4 地椒挥发油成分分析结果

Table 4 The result of chemical component analysis of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

序号	保留时间/min	化合物	相对质量分数%	分子式
1	4.145	2-己酮	0.021	C ₆ H ₁₂ O
2	4.195	1-甲基-环戊醇	0.055	C ₆ H ₁₂ O
3	4.275	3-己醇	0.016	C ₆ H ₁₄ O
4	4.365	2,6,6-三甲基-1-庚烯	0.016	C ₁₀ H ₂₀
5	4.705	醋酸丁酯	0.110	C ₆ H ₁₂ O ₂
6	5.125	2,3,-二甲基-2-戊醇	0.012	C ₇ H ₁₆ O
7	5.430	3-甲基环戊醇	0.067	C ₆ H ₁₂ O
8	5.685	1,1,3-三甲基环戊烷	0.027	C ₈ H ₁₆
9	5.807	(Z)-4-己烯-1-醇	0.051	C ₆ H ₁₂ O
10	6.055	(E)-2-己烯-1-醇	0.013	C ₆ H ₁₂ O
11	6.165	1-己醇	0.078	C ₆ H ₁₄ O
12	7.270	2-丙醇,1-(1,3-二甲基丁氧基)	0.113	C ₉ H ₂₀ O
13	7.380	乙烯基三甲基硅烷	0.277	C ₃ H ₁₂ Si
14	7.725	三环[2.2.1.0(2,6)]庚烷,1,7,7 三甲基	0.061	C ₁₀ H ₁₆
15	7.910	2-乙氧基-3-甲基丁酸甲酯	0.545	C ₈ H ₁₆ O ₃
16	7.980	环丁烷羧氨,N-四氢呋喃	0.025	C ₁₂ H ₁₄ FNO
17	8.115	α-松油萜	0.799	C ₁₀ H ₁₆
18	8.375	戊酸,2-丙烯酯	0.015	C ₆ H ₁₄ O ₂
19	8.615	茨烯	1.780	C ₁₀ H ₁₆
20	8.885	1,2,6-己三醇	0.088	C ₆ H ₁₄ O ₃
21	8.945	1-乙基-3-甲基苯	0.014	C ₉ H ₁₂
22	9.265	3,3-二乙氧基-1-丙炔	0.858	C ₇ H ₁₂ O ₂
23	9.355	β-水芹烯	0.250	C ₁₀ H ₁₆
24	9.455	β-蒎烯	0.483	C ₁₀ H ₁₆
25	9.635	蘑菇醇	4.213	C ₈ H ₁₆ O
26	9.790	3-辛酮	0.513	C ₈ H ₁₆ O
27	9.925	β-蒎烯	1.444	C ₁₀ H ₁₆
28	9.975	1,2,3-三甲基苯	0.075	C ₉ H ₁₂
29	10.095	3-辛醇	1.442	C ₈ H ₁₈ O
30	10.200	2,3,3-三甲基-1-丁烯	0.120	C ₇ H ₁₄
31	10.255	2-羟甲基-1-正己醇	0.026	C ₈ H ₁₈ O ₂
32	10.350	N-Boc-苯胺	0.084	C ₁₁ H ₁₅ NO ₂
33	10.530	丙烯酸,4-羟基-3-己基酯	0.406	C ₉ H ₁₈ O ₃
34	10.635	新戊基乙酮	0.157	C ₇ H ₁₃ O
35	10.755	(+)-4-萜烯	0.741	C ₁₀ H ₁₆
36	10.845	溴代环庚烷	0.093	C ₇ H ₁₃ Br
37	10.895	环己烷,1,3-二甲基-,顺	0.088	C ₈ H ₁₆
38	11.010	邻伞花烃	2.004	C ₁₀ H ₁₄
39	11.125	D-香芹烯	4.116	C ₁₀ H ₁₆
40	11.285	桉树脑	13.104	C ₁₀ H ₁₈ O
41	11.405	β-反式-罗勒烯	0.149	C ₁₀ H ₁₆
42	11.505	2(3H)-呋喃酮,5-乙烯基-2-氢-5-甲基-	0.128	C ₇ H ₁₀ O ₂
43	11.795	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯	0.608	C ₁₀ H ₁₆
44	11.925	顺-2,6-二甲基-2,6-辛二烯	0.053	C ₁₀ H ₁₈
45	12.160	γ-松油烯	2.353	C ₁₀ H ₁₆
46	12.465	二环[3.1.0]己烷-2-醇,2-甲基-5-(1-甲基乙基)-,(1α,2β,5α)	13.684	C ₁₀ H ₁₈ O

续表4 地椒挥发油成分分析结果

Continue table 4 The result of chemical component analysis of volatile oil from *Thymus quinquecostatus* Celak

序号	保留时间/min	化合物	相对质量分数%	分子式
47	12.645	α -甲基- α -[4-甲基-3-戊烯基]环氧乙烷甲醇	11.721	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
48	12.735	环戊烷,1,1,3,4,-四甲基-,顺	0.101	C ₉ H ₁₈
49	12.920	1-壬烯-3-醇	0.829	C ₉ H ₁₈ O
50	13.135	5-乙烯基四氢- α , α ,5-三甲基-2-咪喃甲醇	0.211	C ₁₀ H ₁₈ O ₂
51	13.455	芳樟醇	11.474	C ₁₀ H ₁₈ O
52	14.055	葑醇	0.422	C ₁₀ H ₁₈ O
53	14.235	萜烯醇	6.410	C ₁₀ H ₁₈ O
54	14.365	α -樟脑烯醛	0.984	C ₁₀ H ₁₆ O
55	14.470	3,4-二甲基-3-环己烯-1-甲醛	0.181	C ₉ H ₁₄ O
56	14.615	顺-对-薄荷-2,8-二烯-1-醇	0.624	C ₁₀ H ₁₆ O
57	14.675	(+)-(E)-氧化柠檬烯	0.452	C ₁₀ H ₁₆ O
58	15.355	蒎酮	8.648	C ₁₀ H ₁₆ O
59	15.055	[1S-(1 α ,2 β ,5 α)]-4,6,6-三甲基二环[3.1.1]庚-3-烯-2-醇	0.085	C ₁₀ H ₁₆ O
60	15.145	对氟苯甲醚	0.232	C ₇ H ₇ FO
61	15.330	异龙脑	0.206	C ₁₀ H ₁₈ O
62	15.505	香芹蒎酮	1.448	C ₁₀ H ₁₄ O
63	15.605	合成右旋龙脑	4.595	C ₁₀ H ₁₄ O

3 结论与讨论

地椒挥发油中鉴定的63种成分中,含量超过1%的有:蒎烯(1.780%)、萜烯醇(4.213%)、 β -蒎烯(1.444%)、3-辛醇(1.442%)、邻伞花烃(2.004%)、D-香芹烯(4.116%)、桉树脑(13.104%)、 γ -松油烯(2.353%)、二环[3.1.0]己烷-2-醇,2-甲基-5-(1-甲基乙基)-,(1 α ,2 β ,5 α)(13.684%)、 α -甲基- α -[4-甲基-3-戊烯基]环氧乙烷甲醇(11.721%)、芳樟醇或沉香醇(11.474%)、4-萜烯醇(6.410%)、蒎酮(8.648%)、香芹蒎酮(1.448%)、合成右旋龙脑(4.595%),主要化学成分为:二环[3.1.0]己烷-2-醇,2-甲基-5-(1-甲基乙基)-,(1 α ,2 β ,5 α)(13.684%)、桉树脑(13.104%)、 α -甲基- α -[4-甲基-3-戊烯基]环氧乙烷甲醇(11.721%)、芳樟醇或沉香醇(11.474%)、蒎酮(8.648%)、4-萜烯醇(6.410%)、合成右旋龙脑(4.595%)、萜烯醇(4.213%),多为单萜及其衍生物。但与文献报道^[4-6]的挥发油成分及含量均有较大区别,究其原因,可能与地椒的生长环境、采收季节、加工方式以及提取处理方法有关。

本文通过对山东产地椒进行挥发油提取工艺优

化,并对按最佳提供工艺提取的挥发油进行GC-MS分析,结果表明,山东产地椒在桉树脑、芳樟醇、蒎酮等成分含量方面较突出。而芳樟醇目前除广泛应用于洗化用品、食用香精外,还具有明显的药理活性如镇静镇痛、抗焦虑、催眠、抗菌消炎、抗肿瘤;桉树脑和蒎酮对昆虫具有较好的驱避、熏蒸作用。因此,综合开发利用地椒,尤其是对地椒进行深层次的加工利用,具有广阔的开发前景。

参考文献:

- [1] 陈汉斌,郑亦津,李法曾.山东植物志[M].青岛:青岛出版社,1992:1058-1059
- [2] 国家中医药管理局中华本草编委会.中华本草[M].第7分册.上海:上海科学技术出版社,1999:234-235
- [3] 孙宝国.香精概论[M].北京:化学工业出版社,1996:58-59
- [4] 陈光英,袁艺,艾克蕙,等.地椒挥发油化学成分研究[J].药学报,2001,36(3):233-234
- [5] 陈建英,张可炜,程传格,等.五脉地椒挥发油化学成分的研究[J].中国药理学杂志,2001,36(1):16-18
- [6] 杨成俊,周伟庆,刘涛,等.烟台百里香挥发油的气相色谱-质谱联用分析[J].时珍国医国药,2011,22(4):931-933

收稿日期:2015-11-18