

超临界 CO₂ 萃取法与水蒸气蒸馏法提取黄连木嫩叶挥发油及 GC-MS 分析

李云耀, 陈林, 孟英才, 谭洋, 肖水平, 易刚强*, 裴刚
(湖南中医药大学药学院, 湖南长沙 410208)

〔摘要〕 **目的** 对超临界 CO₂ 流体萃取法和水蒸气蒸馏法提取黄连木嫩叶挥发油的化学成分进行比较分析。**方法** 用超临界 CO₂ 流体萃取法和水蒸气蒸馏法提取黄连木嫩叶挥发油, 对其化学成分采用 GC-MS 分析。**结果** 超临界 CO₂ 流体萃取法与水蒸气蒸馏法得到的挥发油成分具有一定差异, 分别鉴定出 18 种和 24 种化学组分。其中 8 种为相同的主要挥发油成分, 如 β-月桂烯、D-柠檬烯、1-碘代-十六烷等。**结论** 两种方法提取的黄连木嫩叶挥发油成分种类存在一定差异, 但是主要挥发油成分的提取效果相当, 综合考虑需要组分可以选择合适的提取方法。

〔关键词〕 黄连木; 超临界 CO₂ 流体萃取法; 水蒸气蒸馏法; 挥发油; GC-MS 法

〔中图分类号〕R284.1 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.03.007

GC-MS Analysis of Volatile Oil Extracted from Tender Leaf of *Pistacia chinensis* Bunge with Supercritical CO₂ Extraction and Steam Distillation

LI Yunyao, CHEN Lin, MENG Yingcai, TAN Yang, YI Gangqiang*, PEI Gang

(School of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To make a comparative analysis of volatile oil constituents extracted from tender leaf of *Pistacia chinensis* Bunge with supercritical CO₂ extraction and steam distillation. **Methods** The supercritical CO₂ extraction and steam distillation methods were used to extract the volatile oil from tender leaf of *Pistacia chinensis* Bunge and their constituents were determined by GC-MS. **Results** The constituents extracted by supercritical CO₂ extracts and steam distillation showed obvious difference, 18 and 24 kinds of volatile oil were determined, respectively. The result concluded 8 kinds of main volatile oil, such as β-myrcene, D-Limonene, 1-Iodohexadecane. **Conclusion** The methods showed similar results on extracting of main constituents from tender leaf of *Pistacia chinensis* Bunge, but also existing some differences on the kinds of volatile oil. So we can take the best extraction method into consideration obeying our needs.

〔Keywords〕 pistacia; supercritical CO₂ extraction; steam distillation; volatile oil; GC-MS method

黄连木 (*Pistacia chinensis* Bunge) 是漆树科黄连木属的落叶乔木, 又名黄连树、黄楝木、黄楝树。黄连木属植物拥有 9 个种和 1 个变种, 在我国有中国黄连木和清香木两种, 地理分布广泛, 占我国国土面积 44% 左右, 如河北、山东、广东、广西、四川和云南等地方均有生长, 主要集中在低山丘陵

和平原地方^[1]。黄连木具有多种利用价值, 包括观赏、绿化、材用、能源和药用等方面。如黄连木春季嫩叶和秋季叶片呈红色, 具有很好的美化效果, 是优良的绿化树种^[2]。黄连木种子含油率在 30~40%。在化石能源日渐匮乏的情况下, 黄连木已经成为重要的能源植物之一^[3]。黄连木含有丰富的油

〔收稿日期〕2015-09-30

〔基金项目〕2011 年湖南省大学生研究性学习和创新性实验计划项目; 湖南省科技厅科研项目(2012FJ4286)。

〔作者简介〕李云耀, 男, 硕士, 实验师, 主要从事中药新药开发研究。

〔通讯作者〕* 易刚强, 男, 副教授, 硕士研究生导师, E-mail: yigangqiang2005@yahoo.com.cn。

酸和亚油酸是营养丰富的食用油,并且可以用来治疗冠心病和高血压。黄连木树叶挥发油中含有烯萜类和酚类成分,具有清热解毒、抗癌和抗肿瘤的功効^[4]。为了充分利用资源丰富的黄连木,本文通过超临界 CO₂ 流体萃取法和水蒸气蒸馏法提取黄连木嫩叶中的挥发油,通过 GC-MS 进行化学成分比较分析,对黄连木嫩叶的开发利用提供科学的实验依据。

1 实验材料与仪器

1.1 材料

黄连木嫩叶采自于湖南浦发园林苗木场。由湖南中医药大学药学院中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定为中国黄连木 *Pistacia chinensis* Bunge 的新鲜嫩叶。

1.2 仪器

超临界高压萃取罐 (SFT-100 xw,USA),GC-MS solution 色谱工作站 (安捷伦,7890/5975 C-GC/MSD)和美国 NIST 质谱检索数据库。

2 方法

2.1 超临界 CO₂ 萃取法

取黄连木新鲜嫩叶 200 g 投入萃取釜中,置于高压萃取罐中,通入 CO₂ 并加压至 500 Psi,提取温度为 40 °C,每次提取 80 min,共提取 3 次,得到淡黄色油状物 1.9 g。

2.2 水蒸气蒸馏法

取黄连木新鲜嫩叶 200 g,参照 2010 版《中华人民共和国药典》一部附录 XD 挥发油测定法甲法进行样品制备,得到挥发油 0.5 mL。

2.3 GC-MS 分析法

分别取适量超临界 CO₂ 萃取法和水蒸气蒸馏法得到的样品,用正己烷稀释,并过 0.45 μm 微孔滤膜,进样量为 1 μL。GC-MS 分析条件:HP-5 MS 石英毛细管柱 (30 m×0.25 mm,0.25 μm),气体流速为 1 mL/min,进样口温度 250 °C,初始柱温 50 °C,保持 2 min,以 10 °C/min 的速率升温至 260 °C,保持 5 min。载气为高纯氦气。质谱仪参数:电离能量 70 eV,离子源温度 230 °C,扫描范围 30~550 m/z。

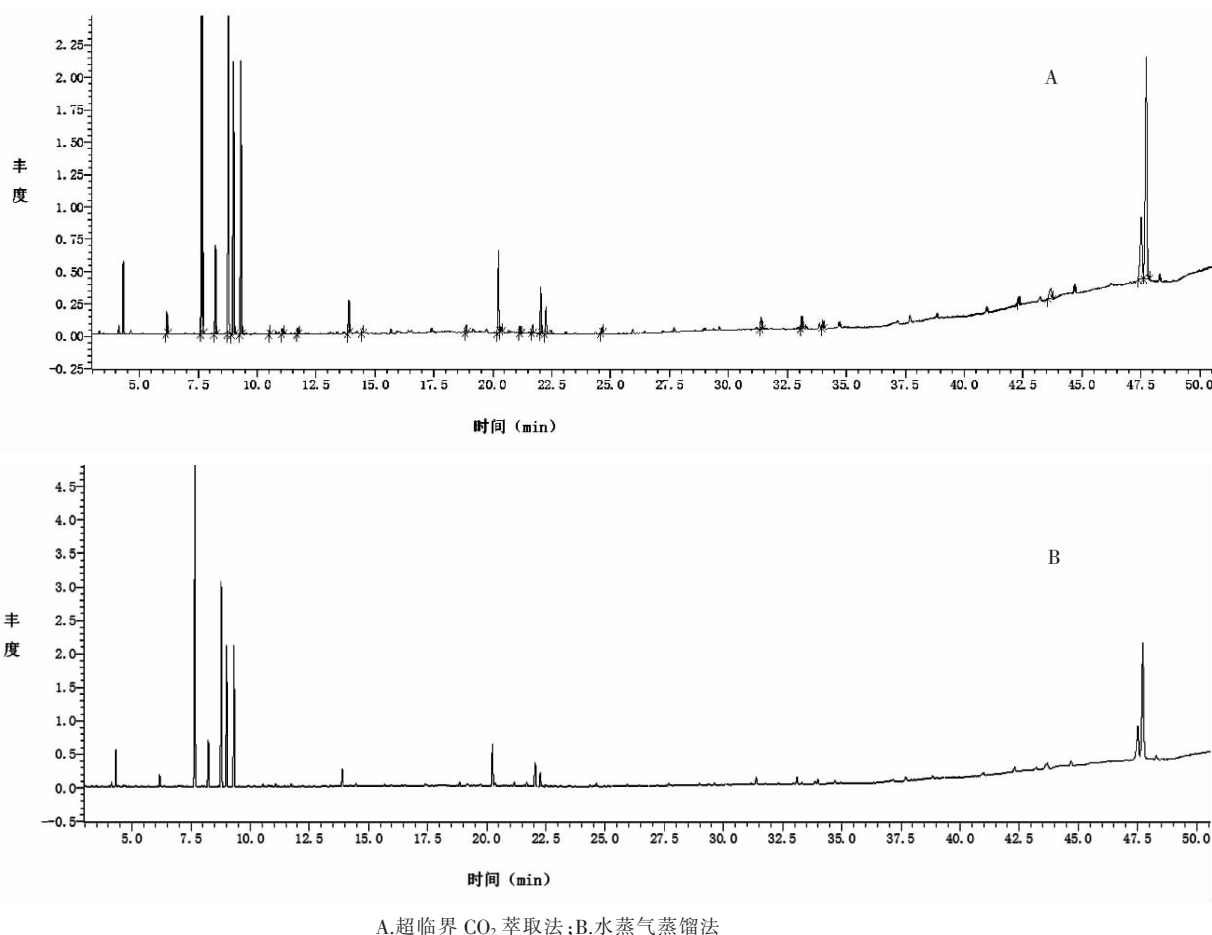


图1 黄连木嫩叶挥发油总离子流图

3 结果与讨论

黄连木嫩叶中存在许多的挥发油,通过GC-MS分析,从总离子流图中可以看到两种不同方法提取黄连木嫩叶中挥发油的化学成分存在差异。两种方法分别鉴定出18种和24种化学成分,占挥发油总相对

峰面积75.99%和90.85%。其中挥发油主要有 α -侧柏烯、 α -蒎烯、 β -月桂烯、3-萜烯、D-柠檬烯、顺式- β -罗勒烯、反式- β -罗勒烯、石竹烯、 α -蛇床烯、 β -蛇床烯、 β -红没药烯等。不同的提取方法及鉴定结果见表1。

表1 黄连木嫩叶挥发油的化学成分分析结果

序号	保留时间/min	化合物名称	相对峰面积(%)	
			超临界CO ₂ 流体萃取物	水蒸气蒸馏法提取物
1	6.175	α -侧柏烯	0.36	-
2	6.175	α -蒎烯	-	0.73
3	7.670	β -月桂烯	11.32	24.22
4	8.227	3-萜烯	1.20	3.09
5	8.766	D-柠檬烯	9.04	14.34
6	8.993	反式- β -罗勒烯	5.60	9.31
7	9.304	顺式- β -罗勒烯	6.11	9.65
8	10.531	(+)-4-萜烯	-	0.18
9	11.064	β -芳樟醇	-	0.18
10	11.725	6-亚异丙基-1-甲基-双环[3.1.0]己烷	-	0.22
11	13.892	α -松油醇	-	1.33
12	14.463	Artemiseole	-	0.20
13	18.851	依兰烯	-	0.30
14	20.238	石竹烯	3.32	3.41
15	20.334	2-亚异丙基-3-亚甲基-3,5-正烷	-	0.21
16	21.161	α -石竹烯	-	0.28
17	21.686	2-异丙烯基-4 α ,8-二甲基-1,2,3,4,4 α ,5,6,7-八氢萘	-	0.31
18	22.040	β -蛇床烯	1.81	1.97
19	22.256	2,3,4,4 α ,5,6-六氢-1,4 α -二甲基-7-(1-甲基乙基)-萘	0.89	-
20	22.575	α -蛇床烯	-	1.14
21	24.615	石竹烯氧化物	-	0.20
22	28.312	2-苯甲酰胺基-3-苯基-丙酸丙酯	0.84	-
23	31.388	1,3,5-三(三甲硅氧基)苯	-	0.57
24	33.113	(E,E,E)-3,7,11,15-四甲基-1,3,6,10,14-十六碳五烯	-	0.60
25	33.833	棕榈酸	3.80	-
26	33.995	β -红没药烯	-	0.41
27	34.039	二十二烷酸乙酯	0.36	-
28	37.863	反式植醇	12.71	-
29	38.326	1,9-壬二醇	0.81	-
30	38.549	1,2,4 α ,5,6,7,8,8 α -八氢-4 α -甲基-2-萘胺	0.22	-
31	43.675	弥罗松酚	-	1.05
32	47.043	1-碘代-十六烷	1.30	-
33	47.724	3-十五烷基-苯酚	11.89	17.13
34	48.662	乙基己基邻苯二甲酸酯	4.41	-
总计			75.99	90.85

两种不同的挥发油提取方法提取的挥发油均为淡黄色油状,具有特殊的香味。从化学成分差异上来看,超临界CO₂萃取法能得到 α -侧柏烯、2,3,4,4 α ,

5,6-六氢-1,4 α -二甲基-7-(1-甲基乙基)-萘、2-苯甲酰胺基-3-苯基-丙酸丙酯、棕榈酸、二十二烷酸乙酯、反式植醇、1,9-壬二醇、1,2,4 α , (下转第46页)

流。输卵管积水对妊娠的影响:(1)有害因子直接杀死精子和胚胎;(2)积液冲刷逆流宫腔影响胚胎择址着床;(3)积液溢流宫腔阻隔胚胎着床。阴式B超输卵管积水特点:显示窄条状液暗区,如少量积液在月经11~14 d易被发现,在月经9~14 d逐渐增多,如抽液则3 d内迅速复原。调治方法:避孕治疗3~6个月,予以中药内服及中药外治,再考虑进入试管周期。调治体会:中药内服,谨记清热解毒勿用过寒凉之品,冰络塞流。因障碍多因逐年积累而致,故辨证治疗时务必注意酌配使用益气化痰之品。且可选用白芷-皂角刺、赤小豆-薏苡仁、冬瓜皮-大腹皮、土茯苓-土贝母等利水渗湿,消积之品。中药外治时,宜选用中药辛温发散之品外敷少腹,可至内服药之不能速达病所;不主张中药保留灌肠,浓缩高渗之液无吸收之效,肛门操作反有盆腔感染之虞。不主张手术开窗造口放水、或结扎、或钳夹输卵管。手术虽解卵管之水塞,但增输卵管之窄,又损伞端之摄,伤巢血供,致试管卵巢低反应发生率增加。建议输卵管栓塞后试管进周,但栓塞物有无毒害作用,会不会反流,影响着床;栓塞时有无损伤宫腔及宫角的可能,此有待临床研究进一步证实。调治策略:经期1~

6 d,用药原则为清热解毒,凉而勿寒,常用药物为金银花、鸡冠花、珍珠草、凤尾草、大青叶等;月经周期7~14 d,用药原则宜散脉络,通而勿过,治疗药物为木槿花、月季花、三七花、人参花、玳玳花等^[4]。

3 疗效标准

治愈:2年内受孕者。好转:虽未受孕,但与不孕相关的症状、体征和实验室检查有所改善者。未愈:症状、体征和实验室检查均无改善者^[5]。

参考文献:

- [1] 林洁,谈珍瑜,熊桀,等.尤昭玲教授对体外受精-胚胎移植中医辅助治疗的构思与实践[J].湖南中医药大学学报,2010,30(9):11-13.
- [2] 尤昭玲,王若光,谭珍瑜,等.体外受精-胚胎移植中医辅助方案的构建[J].湖南中医药大学学报,2009,29(5):3-5.
- [3] 熊桀,尤昭玲.尤昭玲教授对体外受精-胚胎移植术失败病症的中医临床经验举隅[J].湖南中医药大学学报,2011,31(9):51-53.
- [4] 王春荣,尤昭玲.尤昭玲教授对辅助生殖技术中医饮食疗法的实践与经验[J].湖南中医药大学学报,2011,31(8):11-12.
- [5] 国家中医药管理局.中医病证诊断疗效标准[M].南京:南京大学出版社:252.

(本文编辑 贺慧娥)

(上接第26页) 5,6,7,8,8 α -八氢-4 α -甲基-2-萘胺、乙基己基邻苯二甲酸酯等。相反,水蒸气蒸馏法能够得到 α -蒎烯、(+)-4-萜烯、 β -芳樟醇、6-亚异丙基-1-甲基-双环[3.1.0]己烷、 α -松油醇、依兰烯、2-亚异丙基-3-亚甲基-3,5-正烷、 α -石竹烯、2-异丙烯基-4 α ,8-二甲基-1,2,3,4,4 α ,5,6,7-八氢萘、 α -蛇床烯、石竹烯氧化物、(E,E,E)-3,7,11,15-四甲基-1,3,6,10,14-十六碳、 β -红没药烯、弥罗松酚等。相比之下,超临界CO₂萃取法得到的挥发油有较多的芳烃类化合物和长链脂肪酸,这些有机化合物可作为工业原料加以利用。水蒸气蒸馏法提取的挥发油含有较多的萜类。萜类使挥发油具有浓郁的香味、杀菌、消肿和止痛的功效。两种提取方法,在化学成分上的差异,能够让我们从需求的角度,科学合理地选择黄连木挥发油提取方法。

据文献报道,黄连木挥发油具有抑菌、杀菌、消炎和抗肿瘤等作用^[5-6]。黄连木果实、树皮等部位已

有利用,对黄连木嫩叶的利用还未见研究报道,本研究提供了黄连木嫩叶的化学成分及超临界CO₂萃取法和水蒸气蒸馏法对其挥发油的提取,有望充分地开发利用黄连木。

参考文献:

- [1] 段劼,陈婧,马履一,等.木本油料树种中国黄连木研究进展[J].中国农业大学学报,2012,17(6):171-177.
- [2] 李旭新,刘炳响,郭智涛,等.NaCl胁迫下黄连木叶片光合特性及快速叶绿素荧光诱导动力学曲线的变化[J].应用生态学报,2013,24(9):2479-2484.
- [3] 杨贺,王敏,潘娜,等.黄连木的栽培管理技术及综合利用价值[J].安徽农业科学,2014,42(36):12962-12963.
- [4] 邹菊英,陈胜瑛,刘蓓蓓,等.黄连木的化学成分及药理作用研究进展[J].中南药学,2011,9(11):851-853.
- [5] 郭丽敏,郭兴凤,崔和平.黄连木中活性成分的研究进展[J].粮食与食品工业,2014,21(2):39-42.
- [6] 宋双红,陈康健,王喆.黄连木果油制备生物柴油的应用研究[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2013,41(6):63-67.

(本文编辑 苏维)