

## 超声提取柴胡挥发油工艺及其 GC-MS 分析

张博文,叶耀辉\*,史毅,陈文彬,郑红梅,龚千锋  
(江西中医药大学,江西 南昌 330004)

**摘要** 目的:采用响应面法优选超声提取柴胡挥发油的工艺,并研究柴胡挥发油成分。方法:采用 Box-Behnken 响应面法设计试验,运用 3 因素 3 水平,以柴胡挥发油的得率为响应指标,考察液料比、提取温度、超声时间对得率的影响;对超声提取的挥发油进行 GC-MS 分析,采用峰面积归一化法,确定各成分的相对含量并进行鉴定。结果:最佳工艺为:料液比 1:16、提取温度 51 ℃、超声时间 26 min,经验证此条件下的挥发油得率为 14.77%,与理论值 14.85% 相比差别不大,表明此法较为准确;采用 GC-MS 分析所得到的挥发油成分中,共鉴定出 46 种化合物,占总挥发油组分的 96.84%。其中相对含量较高的成分为 1,2-二甲基环戊烷、甲基环己烷、庚烷等,其中甲基环己烷为含量最高成分。结论:响应面法用于超声提取柴胡挥发油工艺的优选准确、可靠;超声法能较好的应用于柴胡挥发油的提取。

**关键词** 响应面法;超声提取;柴胡;挥发油;GC-MS 分析

中图分类号:R283.6 文献标识码:A 文章编号:1001-4454(2018)03-0665-05

DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2018.03.034

### The Technology and GC-MS Analysis of Ultrasonic Extraction of Volatile Oil from *Bupleurum chinense*

ZHANG Bo-wen, YE Yao-hui, SHI Yi, CHEN Wen-bin, ZHENG Hong-mei, GONG Qian-feng  
(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

**Abstract** Objective: To optimize the extraction process of volatile oil from *Bupleurum chinense* by response surface method (RSM) and to study the components of volatile oil from *Bupleurum chinense*. Methods: The Box-Behnken response surface method was used to design the test. three factors and three levels were used, the yield of volatile oil of *Bupleurum chinense* was as the corresponding index, the effects of liquid to material ratio, extraction temperature and ultrasonic time on the yield were investigated. The volatile oil extracted by ultrasound was analyzed by GC-MS, and the relative content of each component was determined by peak area normalization method. Results: The optimum processes were that the ratio of material to liquid was 1:16, the extraction temperature was 51 ℃ and ultrasonic time was 26 min, the yield of volatile oil under this condition was 14.77%, there was not very different compared with the theoretical value of 14.85%, which indicating that this method was more accurate; on the constituents of volatile oil from GC-MS analysis, 46 compounds were identified, accounting for 96.84% of the total volatile oil. Among them, the relatively higher contents were 1,2-dimethyl cyclopentane, methyl cyclohexane, heptane, etc., of which methyl cyclohexane was the highest content. Conclusion: The response surface method is accurate and reliable to optimize the ultrasonic extraction of volatile oil from *Bupleurum chinense*, and the ultrasonic method can be better used to extract the volatile oil of *Bupleurum chinense*.

**Key words** Response surface method; Ultrasonic extraction; *Bupleurum chinense* DC.; Volatile oil; GC-MS analysis

柴胡为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 或狭叶柴胡 *Bupleurum scorzoniferolium* Willd. 的干燥根,按性状不同有“北柴胡”与“南柴胡”之分,味苦、辛,性微寒,具有疏散退热、疏肝解郁、升举阳气之功效,主治感冒发热、寒热往来、胸胁胀痛、月经不调、子宫脱垂、脱肛等<sup>[1]</sup>。主要化学成分有皂苷类、挥发油类、黄酮类等,其中挥发油是其发挥解热、抗炎作用的主要成分<sup>[2,3]</sup>。目前对其挥发油的提取研究报道颇多,提取方法主要有药典法、水蒸气蒸馏法、溶剂提取法、超临界二氧化碳萃取法等<sup>[4,5]</sup>。本研究首次采用响应面法优选超声提取柴胡挥发油的

工艺,并采用 GC-MS 法对挥发油成分进行分析,对柴胡挥发油的研究具有一定的意义。

#### 1 仪器与材料

1.1 仪器 Agilent 7890A-5975C 型气质联用仪(美国 Agilent 公司);SQP 型万分之一电子天平(赛多利斯科学仪器(北京)有限公司);KQ3200DB 型数控超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司)。

1.2 材料 柴胡药材(批号:20151012)购于陕西省宝鸡市陈仓区种植基地,经笔者龚千锋教授鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的根;石油醚(60~90 ℃,分析纯,西陇科学股份有限公司);

收稿日期:2017-11-09

基金项目:江西省卫生计生委中医药科研课题基金项目(2016A017)

作者简介:张博文(1991-),男,在读硕士研究生,专业方向:中药资源开发与利用;E-mail:1161936943@qq.com。

\*通讯作者:叶耀辉, Tel: 0791-87118716, E-mail: yeyahui791@qq.com。

无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(西陇科学股份有限公司,分析纯);其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

2.1 超声辅助提取 精密称取柴胡药材约 3 g,置于 250 mL 锥形瓶中,按试验设计方案加入一定体积的石油醚,按一定的超声功率和一定的提取温度,超声辅助提取一定时间后,加入约 3 g 的无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,过滤,蒸发浓缩后称重。

2.2 Box-Behnken 试验设计 按照 Box-Behnken 试验设计基本原理,在单因素试验结果的基础上,优化选取料液比、提取温度及超声时间 3 个影响因素,从挥发油得率为指标,采用 3 因素 3 水平的响应曲面分析方法进行试验,因素水平表见表 1。共 15 个试验点,其中 12 个分析因点,3 个中心点。

表 1 因素水平表

因素	水平		
	-1	0	1
A 料液比/(g/mL)	1:10	1:15	1:20
B 提取温度/℃	40	50	60
C 超声时间/min	20	25	30

## 2.3 GC-MS 分析

2.3.1 GC 条件:色谱柱 DB-5(30 m×250 μm×0.25 μm);进样口温度 250 ℃,升温程序为初始温度 40 ℃,保持 2 min,以 10 ℃/min 速率升至 250 ℃,保持 5 min,再以 20 ℃/min 速率升至 280 ℃,保持 1 min;载气 He;流速 1.0 mL/min;分流比 40:1;进样速 1.0 μL。去除溶剂峰。

2.3.2 MS 条件:EI 离子源,正离子模式采集数据,离子源温度 230 ℃,四级杆温度 150 ℃,传输线温度 280 ℃,电子能量 70 eV,质量扫描范围 *m/z* 50~550 全扫描。

## 3 结果与分析

### 3.1 Box-Behnken 试验设计

3.1.1 模型拟合与显著性分析:运用 Design-Ex-

表 3 回归模型方差分析结果

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	6.37	9	0.71	52.60	0.0002	***
A	0.57	1	0.57	42.14	0.0013	**
B	0.26	1	0.26	18.99	0.0073	**
C	0.28	1	0.28	20.90	0.0060	**
AB	0.073	1	0.073	5.42	0.0674	
AC	0.016	1	0.016	1.16	0.3305	
BC	0.038	1	0.038	2.83	0.1536	
A <sup>2</sup>	2.31	1	2.31	171.58	<0.0001	***
B <sup>2</sup>	2.34	1	2.34	173.76	<0.0001	***

pert. V8.0.6 软件对表 2 中数据进行回归分析,以挥发油得率 *Y* 为响应值,料液比(A)、提取温度(B)、超声时间(C)为自变量,得到拟合方程  $Y = 14.81 + 0.27A + 0.18B + 0.19C - 0.13AB - 0.063AC - 0.098BC - 0.79A^2 - 0.80B^2 - 0.58C^2$ 。

对该模型进行方差分析及显著性检验,结果见表 3。模型得到的方程  $F = 52.60, P = 0.0002 < 0.001$ ,表明该模型极显著。因素 A、B、C、A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>、C<sup>2</sup> 的  $P < 0.01$  或  $P < 0.001$ ,表明其对挥发油得率的差异影响较显著或极显著,而因素 AB、AC、BC 的  $P > 0.05$ ,均表现其对挥发油得率的差异影响不显著,表明其对柴胡挥发油得率的线性交互作用较小。模型的失拟项  $P = 0.6960 > 0.05$ ,不显著,相关系数  $R^2 = 0.9895$ ,校正决定系数  $R^2_{Adj} = 0.9707$ ,信噪比  $S/N = 22.874$ ,远大于 4,表明模型可靠,以上数据均表明该回归方程的拟合度与可信度较高,试验误差较小,试验设计合理,该模型可用于超声辅助提取柴胡挥发油工艺结果的分析与预测。

表 2 Box-Behnken 试验设计与结果

No.	A 料液比	B 提取温度	C 超声时间	Y 挥发油得率/%
1	0	-1	-1	13.02
2	-1	0	-1	12.87
3	-1	-1	0	12.63
4	0	0	0	14.95
5	1	1	0	13.54
6	0	-1	1	13.47
7	1	0	1	13.87
8	0	1	1	13.64
9	0	0	0	14.68
10	-1	1	0	13.25
11	1	0	-1	13.50
12	1	-1	0	13.46
13	0	0	0	14.79
14	0	1	-1	13.58
15	-1	0	1	13.49

续表 3

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
$C^2$	1.26	1	1.26	93.36	0.0002	***
残差	0.067	5	0.013			
失拟项	0.030	3	0.010	0.55	0.6960	
纯误差	0.037	2	0.018			
总和	6.44	14				

注: \*\*  $P < 0.01$  表示差异较显著; \*\*\*  $P < 0.001$  表示差异极显著

3.1.2 响应面分析与优化: 根据回归方程绘制响应曲面图,考察料液比、提取温度、超声时间各因素两两之间交互作用对响应值的影响。如图 1 所示,三维空间曲面直观显示了各因素之间的交互作用。随着因素 A、B、C 取值的增大,响应值挥发油得率相应增大,但当响应值达到最大后,随着各因素继续增大,响应值随即下降,在曲面中将出现最高点。

比较图 1 并结合表 3 中数据可知:模型的一次项 A、B、C 较显著;交互项均不显著;二次项  $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$  极显著。由此可知各因素对挥发油得率的影响并非简单的线性关系。

运用 Design-Expert V8.0.6 软件求解回归方程,以挥发油得率为响应指标,得到的最佳工艺参数为:料液比为 1:15.77,提取温度为 50.91 °C,超声时间为 25.73 min,得率为 14.85%。为利于具体实验操作,调整最佳工艺参数为:料液比 1:16,提取温度为 51 °C,超声时间为 26 min。

3.1.3 验证试验:采用上述调整后的最佳工艺进行 3 次平行验证试验,得到挥发油的平均得率为 14.77% (RSD = 1.06%),与理论预测值 14.85% 相比无显著性差异。故 Box-Behnken 响应面法应用于柴胡挥发油提取工艺的考察准确可靠。

3.2 柴胡挥发油成分 GC-MS 分析 采用调整后的最佳提取工艺提取柴胡挥发油适量,按“2.3”项下 GC-MS 条件进行气质分析,所得分离组分与 NIST11.L 质谱库中数据匹配及人工谱图解析,确定化合物名称,并应用色谱峰面积归一化法计算各挥发油成分的相对质量分数,结果见表 4。

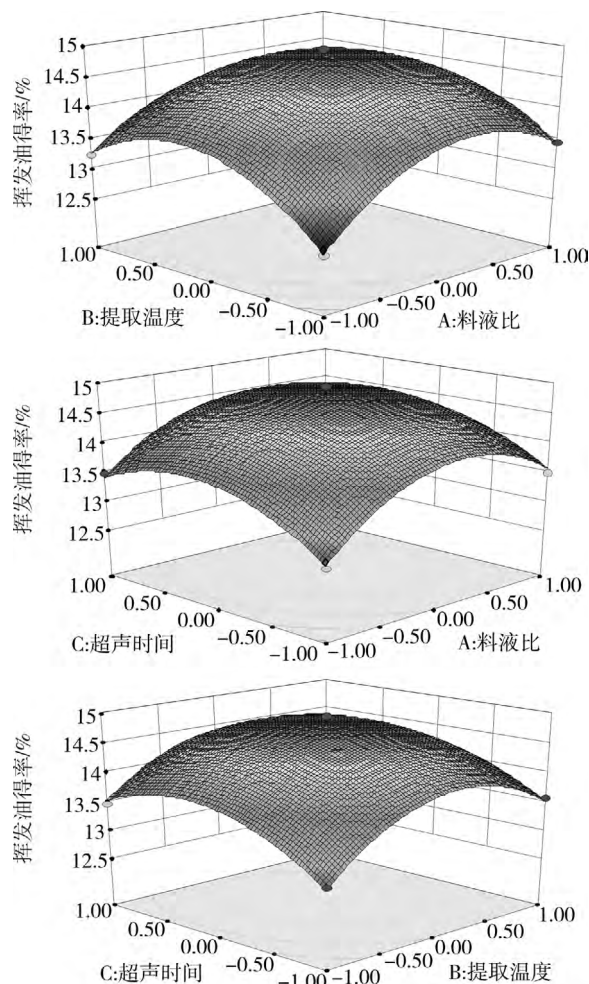


图 1 各因素交互作用对柴胡挥发油得率影响的响应曲面图

表 4 柴胡挥发油的 GC-MS 分析

No.	$t_R$ /min	化合物	分子式	相对质量分数 /%
1	3.15	1,2-二甲基环戊烷 1,2-dimethyl cyclopentane	$C_7H_{14}$	6.45
2	3.27	庚烷 heptane	$C_7H_{16}$	24.80
3	3.43	丙酸乙酯 propanoic acid ethyl ester	$C_5H_{10}O_2$	0.20
4	3.46	乙酸正丙酯 n-propyl acetate	$C_5H_{12}O_2$	0.07
5	3.59	甲基环己烷 methyl cyclohexane	$C_7H_{14}$	27.72
6	3.66	2,5-二甲基己烷 2,5-dimethyl hexane	$C_8H_{18}$	0.04
7	3.73	乙基环戊烷 ethyl cyclopentane	$C_7H_{14}$	2.09

续表 4

No.	$t_R$ / min	化合物	分子式	相对质量分数 / %
8	3.81	(1. $\alpha$ 2. $\beta$ 4. $\alpha$ ) -1,2,4-三甲基环戊烷 (1. alpha. 2. beta. 4. alpha.) -1,2,4-trimethyl cyclopentane	$C_8H_{16}$	0.12
9	3.93	(1. $\alpha$ 2. $\alpha$ 3. $\beta$ ) -1,2,3-三甲基环戊烷 (1. alpha. 2. alpha. 3. beta.) -1,2,3-trimethyl cyclopentane	$C_8H_{16}$	0.08
10	4.26	甲苯 toluene	$C_7H_8$	0.18
11	4.82	己醛 hexanal	$C_6H_{12}O$	0.08
12	8.32	2,2,4,6-五甲基庚烷 2,2,4,6-pentamethyl heptane	$C_{12}H_{26}$	0.02
13	8.37	己酸 hexanoic acid	$C_6H_{12}O_2$	0.11
14	8.47	癸烷 decane	$C_{10}H_{22}$	0.06
15	9.10	十九烷 nonadecane	$C_{19}H_{40}$	0.02
16	10.18	3-亚甲基戊烷 3-methylene pentane	$C_6H_{12}$	0.05
17	11.78	十二烷 dodecane	$C_{12}H_{26}$	0.12
18	12.53	苯丙腈 benzenepropanenitrile	$C_9H_9N$	0.07
19	13.42	邻苯二甲酸酐 phthalic anhydride	$C_{14}H_{10}O_2$	0.04
20	13.45	十二甲基环己硅氧烷 dodecamethyl cyclohexasiloxane	$C_{12}H_{36}O_6Si_6$	0.01
21	14.66	十四烷 tetradecane	$C_{14}H_{30}$	0.07
22	14.92	1,11-十二碳二烯 1,11-dodecadiene	$C_{12}H_{20}$	0.38
23	15.77	环癸烷 cyclodecane	$C_{10}H_{18}$	0.14
24	15.90	十四甲基环庚硅氧烷 tetradecamethyl cycloheptasiloxane	$C_{14}H_{42}O_7Si_7$	0.17
25	16.56	高香草酸 homovanillic acid	$C_9H_{10}O_4$	0.07
26	17.21	三十一烷 hentriacontane	$C_{31}H_{64}$	0.03
27	17.46	4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenol	$C_{14}H_{22}O$	0.04
28	17.54	1,12-十三碳二烯 1,12-tridecadiene	$C_{13}H_{24}$	0.23
29	18.72	对叔丁基苯酚 <i>p</i> -tert-butyl phenol	$C_{10}H_{14}O$	0.07
30	19.06	<i>N</i> -(3-甲基苯基)-乙酰胺 <i>N</i> -(3-methylphenyl)-acetamide	$C_9H_{11}NO$	0.08
31	19.15	4-(1,1,3,3-四甲基丁基)-苯酚 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenol	$C_{14}H_{22}O$	0.09
32	19.78	十八烷基环壬基硅氧烷 octadecamethyl cyclononasiloxane	$C_{18}H_{54}O_9Si_9$	0.05
33	20.21	1-十八烯 1-octadecene	$C_{18}H_{36}$	0.05
34	20.67	5-羟基-7-甲氧基-2-甲基-4 <i>H</i> -1-苯并吡喃-4-酮 5-hydroxy-7-methoxy-2-methyl-4 <i>H</i> -1-benzopyran-4-one	$C_{11}H_{12}O_4$	0.12
35	20.84	棕榈酸甲酯 hexadecanoic acid methyl ester	$C_{17}H_{34}O_2$	0.05
36	21.14	9-十六碳烯酸 9-hexadecenoic acid	$C_{16}H_{30}O_2$	0.11
37	21.21	棕榈酸 palmitoleic acid	$C_{16}H_{32}O_2$	1.00
38	21.31	邻苯二甲酸二丁酯 dibutyl phthalate	$C_{16}H_{22}O_4$	12.04
39	21.52	十八烷酸 octadecanoic acid	$C_{18}H_{36}O_2$	0.38
40	22.54	8,11-十八碳二烯酸甲酯 8,11-octadecadienoic acid methylester	$C_{19}H_{34}O_2$	0.10
41	22.58	11-十八碳烯酸甲酯 11-octadecenoic acid methyl ester	$C_{19}H_{36}O_2$	0.05
42	23.01	( <i>Z,Z</i> )-9,12-十八碳二烯酸 ( <i>Z,Z</i> )-9,12-octadecadienoic acid	$C_{18}H_{32}O_2$	15.38
43	23.16	油酸 oleic acid	$C_{18}H_{34}O_2$	3.61
44	24.03	2-辛基环丙辛酸 2-octyl cyclopropanoic acid	$C_{19}H_{36}O_2$	0.04
45	24.89	( <i>Z,Z</i> )-8,10-十六碳二烯-1-醇 ( <i>Z,Z</i> )-8,10-hexadecadien-1-ol	$C_{16}H_{30}O$	0.07
46	25.80	二-(2-乙基己基)-己二酸酯 hexanedioic acid bis(2-ethylhexyl) ester	$C_{22}H_{42}O_4$	0.09

4 讨论

4.1 与传统的正交试验设计方法相比,响应面设计法具有高精密度、较少的试验周期和次数、回归方程准确、预测性好、较好地研究因素的交互作用等优

势。本研究运用响应面法考察料液比、提取温度、超声时间对柴胡挥发油得率的影响,以挥发油得率为响应值,得各因素与响应值的回归方程,进而求解方程,得最佳的工艺为:料液比 1:16,提取温度为 51

℃, 超声时间为 26 min。所得的实验结果准确可靠, 具有一定的实用价值。

4.2 从柴胡挥发油成分中共分离出 80 个峰, 鉴定了其中 46 种化合物, 占总挥发油组分的 96.84%。所得到的挥发油成分大多为芳香族类化合物, 与文献<sup>[6]</sup>报道基本吻合。其中相对含量较高(≥1.0%)的成分分别为: 1,2-二甲基环戊烷(6.45%)、庚烷(24.8%)、甲基环己烷(27.72%)、乙基环戊烷(2.09%)、棕榈酸(1.00%)、邻苯二甲酸二丁酯(12.04%)、(Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸(15.38%)、油酸(3.61%)等, 主要为烷烃、酯类及脂肪酸类等物质, 与文献<sup>[4,5]</sup>报道中采用其他方法提取的挥发油成分差别较大。而甲基环己烷为本次超声提取柴胡挥发油中含量最高成分。而已酸为柴胡发挥解热作用的有效成分之一<sup>[7]</sup>, 与其他文献<sup>[4,5]</sup>报道的己酸含量相比, 本次提取量偏少, 可能与超声处理并未完全破坏柴胡细胞结构, 导致药效成分未完全溶出有关, 但出于对操作难易程度、方便快捷、时间等因素综合的考虑, 尚不能判定该法好坏, 但此法首

次用于柴胡挥发油成分的提取, 对挥发油成分的研究具有一定的创新意义。

#### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S].一部.北京: 中国医药科技出版社, 2015: 280-281.
- [2] 陈长勋主编. 中药药理学[M].上海: 上海科学技术出版社, 2006: 39-40.
- [3] 薛燕. 柴胡的解热作用药效学研究[J]. 中医药学刊, 2003, 21(11): 1897, 1959.
- [4] 施铮, 陈仁寿, 陈勇. 不同方法提取的柴胡挥发油化学成分比较[J]. 南京中医药大学报, 2015, 31(6): 576-578.
- [5] 李秀琴, 孙秀燕, 何仲贵, 等. 柴胡挥发油提取方法的研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(2): 30-32.
- [6] 孟繁娜, 郭楠. GC-MS 测定黑柴胡和银州柴胡挥发油成分的比较研究[J]. 医药前沿, 2013, 3(13): 194-195.
- [7] 湖北省医药工业研究所, 广西壮族自治区医药研究所. 北柴胡挥发油解热抗炎化学成分的研究[J]. 药学通报, 1982, 17(4): 10-13.