

## 不同采收期龙脑樟挥发油的得率及质量分析

熊科元<sup>1</sup>, 胡志文<sup>2</sup>, 邵峰<sup>1</sup>, 陈兰英<sup>1</sup>, 唐芳瑞<sup>1</sup>, 欧阳少林<sup>3,4</sup>, 刘荣华<sup>1\*</sup>

(1. 江西中医药大学, 南昌 330004; 2. 江西杏林白马药业有限公司, 南昌 330115;  
3. 吉安市林业科学研究所, 江西吉安 343000; 4. 江西林科龙脑科技股份有限公司, 江西吉安 343000)

**[摘要]** 目的: 比较不同采收期龙脑樟挥发油的得率及质量。方法: 采集不同生长年限、不同月份龙脑樟枝叶, 采取水蒸气蒸馏法提取挥发油, 计算挥发油得率, 利用 GC-MS 分析挥发油中主要类型成分, 采用气相色谱法测定其中右旋龙脑、异龙脑、樟脑的含量。结果: 与3年生长期样品相比, 生长期为2年的龙脑樟枝叶挥发油得率稍高, 且成分类型更少, 主成分右旋龙脑 GC-MS 峰面积占主要成分总峰面积的80%以上。2年期的龙脑樟叶中, 11月底采集的龙脑樟鲜叶挥发油得率最高(1.37%); 每个月份样品中右旋龙脑质量分数均>70%, 其中5月份样品中质量分数最高, 达87%; 樟脑的质量分数11月份最低, 仅0.32%; 但所有挥发油样品中均不含异龙脑。结论: 龙脑樟的最佳采收年限为2年, 最佳采收期为11月底至12月初。建立了一种准确、可靠、重复性好的可同时测定龙脑樟中3种挥发性成分的气相色谱法, 可为龙脑樟挥发油的质量评价提供实验依据。

**[关键词]** 龙脑樟; 挥发油; 右旋龙脑; 气相色谱法; 气相色谱-质谱联用技术; 樟脑; 天然冰片

**[中图分类号]** R22; R283; R282; R931; O657.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)20-0045-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20182113

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20180820.1319.001.html>

**[网络出版时间]** 2018-08-22 09:58

## Yield and Quality Analysis of Volatile Oil from Branches and Leaves of *Cinnamomum camphora* During Different Harvest Periods

XIONG Ke-yuan<sup>1</sup>, HU Zhi-wen<sup>2</sup>, SHAO Feng<sup>1</sup>, CHEN Lan-ying<sup>1</sup>, TANG Fang-rui<sup>1</sup>,  
OUYANG Shao-lin<sup>3,4</sup>, LIU Rong-hua<sup>1\*</sup>

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;  
2. Jinagxi Xinglin Baima Pharmaceutical Co. Ltd., Nanchang 330115, China;  
3. Ji'an of Institute Forestry Science, Ji'an 343000, China;  
4. Jiangxi Linke Borneol Science & Technology Co. Ltd., Ji'an 343000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the yield and quality of volatile oil extracted from branches and leaves of *Cinnamomum camphora* during different harvest periods. **Method:** Firstly, collected branches and leaves of *C. camphora* with different growth years and months. And volatile oil from them was extracted by steam distillation and yield of volatile oil was calculated. Then the main components in volatile oil were analyzed by GC-MS, and the contents of isborneol, borneol and camphor in volatile oil were separated and analyzed by GC. **Result:** The yield of volatile oil from branches and leaves of *C. camphora* with growth period of 2 years was slightly higher than 3 years, and had less component types. GC-MS peak area of borneol accounted for more than 80% of the total peak area of the main components. The yield of volatile oil from fresh leaves of *C. camphora* with growth period of 2 years was highest at the end of November, up to 1.37%, the content of borneol was higher than 70% in samples

**[收稿日期]** 20180613(011)

**[基金项目]** 国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAI04B04); 江西省教育厅科技项目(GJJ160856)

**[第一作者]** 熊科元, 硕士, 讲师, 从事中药资源研究, Tel: 0791-87118880, E-mail: 258561309@qq.com

**[通信作者]** \* 刘荣华, 博士, 教授, 从事中药质量评价与中药药效物质基础研究, Tel: 0791-87118992, E-mail: rhliu@163.com

at every month, which reached 87% in May, while the content of camphor was lowest in November, only 0.32%. However, there was almost no isborneol in all of the volatile oil samples. **Conclusion:** The best harvest time for *C. camphora* is 2 years, and the best harvest period was from the end of November to the beginning of December. In addition, a gas chromatography method, which is accurate, reliable and reproducible, can be used for the determination of three components at the same time, which can provide a basis for the quality evaluation of volatile oil in branches and leaves of *C. camphora*.

**[Key words]** *Cinnamomum camphora*; volatile oil; borneol; gas chromatography (GC); GC-mass spectrometry; camphor; natural borneol

天然冰片又称天然右旋龙脑、梅片,是一种名贵中药和高级香料,被历代皇宫列为“贡品”,可开窍醒神、清热止痛,用于治疗热病神昏、惊厥、中风痰厥、气郁暴厥、中恶昏迷、胸痹心痛、目赤、口疮、咽喉肿痛、耳道流脓<sup>[1]</sup>,在《名医别录》《海药本草》《新修本草》《本草纲目》等古代医著中均有记载。冰片的应用非常广泛,2015年版《中国药典》(一部)收录含冰片的中成药有160多种。冰片还可促进药物的体内代谢<sup>[2]</sup>。我国每年药用冰片消耗量达300~500吨,且需求量逐年增加。天然冰片的优势在于安全性高,部分中成药,尤其是眼部用药,例如四味珍珠层冰硼滴眼液、复方熊胆滴眼液、夏天无滴眼液、障翳散等,只能使用天然冰片。

龙脑樟是1980年代江西省吉安市林业科学研究所研究人员在吉安地区发现的樟科樟属植物樟 *Cinnamomum camphora* 中的一种新化学类型。其挥发油中含有大量的右旋龙脑(天然冰片)<sup>[3]</sup>。在此之前,我国未发现右旋龙脑资源,常年依靠进口,这一发现解决了我国天然冰片资源短缺问题,后经矮林化处理<sup>[4]</sup>,每年均可收割龙脑樟枝叶提取冰片。目前仅江西省吉安市种植面积就有近2万亩,年产冰片达60吨以上。然而本课题组前期研究发现,龙脑樟生长过程中化学成分种类及含量均不太稳定,会随生长时期的变化而变化,目前尚未见相关方面的详细报道,致使无法指导龙脑樟枝叶的采收,当地均习惯于每年冬季采收。本课题组利用吉安市林业科学研究所提供的种苗,在江西中医药大学植物园(神农园)进行种植,采集不同生长年限(2年和3年)龙脑樟新鲜枝叶测定挥发性含量的差异,以确定最佳采收年限;采集1年当中不同月份龙脑樟鲜叶测定挥发油含量的差异,确定最佳采收季节;同时对枝与叶中挥发油成分进行比较,为龙脑樟枝叶的合理采收与加工提供实验依据。

## 1 材料

7890A型气相色谱仪和6890N/5973型气相色

谱-质谱联用仪(美国安捷伦科技有限公司),SZ-93A型自动双重纯水蒸馏器(上海亚荣生化仪器厂),BSA323S型1/1万电子天平和Secura225D-1CN型1/10万电子天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司]。于2012年11月20日分别采收10棵种植于2010年(生长期2年)和10棵种植于2009年(生长期3年)的龙脑樟鲜枝叶,得不同生长年限龙脑樟枝叶,取其中的一半将鲜枝和鲜叶分离;于2013年1~12月每月下旬间(避免雨天)自己采集生长期为2年的龙脑樟鲜叶,得不同季节龙脑樟鲜叶;以上样品均经吉安市林业科学研究所欧阳少林副研究员鉴定为樟科植物樟 *Cinnamomum camphora* 的新鲜枝叶。右旋龙脑、异龙脑、樟脑对照品(中国食品药品检定研究院,批号分别为111688-200501,1512-200201,110747-201008,纯度均≥98.0%),水为自制双蒸水,试剂均为质谱级。

## 2 方法与结果

### 2.1 不同生长年限龙脑樟枝叶中挥发油得率的比较

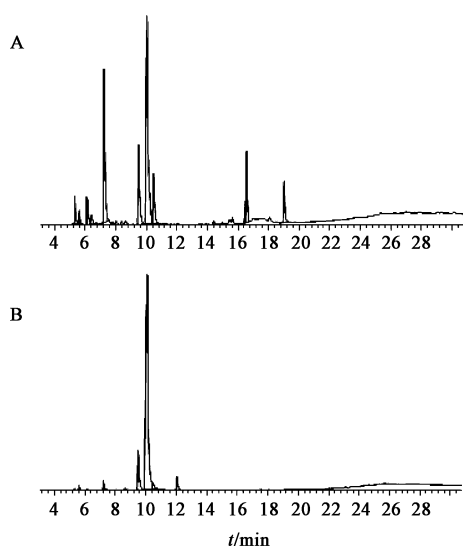
分别称取于2009年、2010年种植的龙脑樟新鲜枝叶200g,各3份,剁碎,置于10L圆底烧瓶中,加水4L,连接挥发油提取器,电热套加热,共水蒸馏至挥发油不再增加(约2h),收集挥发油并称重,计算得率,见表1。结果表明种植年限为2年的龙脑樟枝叶中挥发油的得率稍高于3年,但没有统计学差异。

表1 不同生长年限龙脑樟枝叶的挥发油得率比较

Table 1 Comparison of yield of volatile oil in branches and leaves of *Cinnamomum camphora* with different growing years

种植年份	No.	挥发油质量/g	挥发油得率/%
2009	1	1.77	0.89
	2	1.81	0.91
	3	2.06	1.03
2010	1	1.95	0.98
	2	2.03	1.02
	3	1.91	0.96

**2.2 不同生长年限龙脑樟枝叶挥发油中化学成分的比较** 分别取以上 2 种挥发油 1 mg 溶于 10 mL 丙酮中,作为供试品溶液进行 GC-MS 分析。GC-MS 条件为进样口温度 250 °C,载气为高纯度氦气,总流量 54.1 mL·min<sup>-1</sup>,流速 5.8 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 1 μL,分流比 50:1;程序升温 柱起始温度 60 °C,保持 2 min,以 8 °C·min<sup>-1</sup>的速率升至 250 °C,保持 5 min;电子轰击离子源(EI)分析,连接器温度 280 °C,扫描范围 *m/z* 33~500,各分离组分采用美国国家标准与技术研究院(NIST) 2.0L 质谱标准库进行检索与定性。结果发现 2009 年种植的龙脑樟成分较复杂,杂质成分较多,信噪比(S/N) > 10 的峰就有 12 个,主成分右旋龙脑峰面积仅为 12 个主要峰总峰面积的 38.82%;2010 年栽种的成分相对较少,S/N > 10 的峰仅 5 个,且其中右旋龙脑峰面积为 5 个主要峰总峰面积的 83.08%。结果见图 1 和表 2 3。



A. 2009 年种植; B. 2010 年种植

图 1 不同生长年限龙脑樟枝叶中挥发油的 GC-MS 色谱  
Fig. 1 GC-MS chromatograms of volatile oil from branches and leaves of *C. camphora* with different growing years

**2.3 龙脑樟鲜叶和鲜枝中挥发油得率比较** 分别称取种植于 2009 年和 2010 年的龙脑樟鲜叶和鲜枝各 3 份,每份 200 g,同 2.1 项下方法收集挥发油,称重并计算得率,见表 4。结果表明龙脑樟叶挥发油得率均高于枝,差异高达 3~5 倍。

**2.4 不同生长季节龙脑樟鲜叶中挥发油得率的比较** 取来自不同月份的龙脑樟鲜叶 500 g,各 3 份,置于 10 L 圆底烧瓶中,加水 4 L,同 2.1 项下方法收集挥发油,计算挥发油得率,见表 5。结果发现龙脑

表 2 2009 年种植的龙脑樟枝叶挥发油成分的 GC-MS 分析

Table 2 GC-MS analysis of chemical components in volatile oil from branches and leaves of *C. camphora* planted in 2009

No.	<i>t<sub>R</sub></i> /min	分子式	化合物	峰面积占比/%
1	5.32	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	(1 <i>R</i> )-(+) - $\alpha$ -蒎烯	2.31
2	5.61	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	蒎烯	1.19
3	6.09	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	3-亚甲基-6-(1-甲基乙基)环己烯	1.88
4	6.15	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	1-甲基-4-(1-甲基亚乙基)环己烯	2.76
5	6.41	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	$\beta$ -蒎烯	1.31
6	7.23	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	桉叶油醇	18.88
7	9.49	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	樟脑	11.40
8	10.04	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	龙脑	38.82
9	10.47	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	$\alpha$ -松油醇	6.95
10	16.47	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	榄香醇	1.69
11	16.57	C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O	橙花叔醇	8.16
12	19.02	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>6</sub>	乐杀螨	4.65

表 3 2010 年种植的龙脑樟枝叶挥发油成分的 GC-MS 分析

Table 3 GC-MS analysis of chemical components in volatile oil from branches and leaves of *C. camphora* planted in 2010

No.	<i>t<sub>R</sub></i> /min	分子式	化合物	峰面积占比/%
1	7.21	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	桉叶油醇	1.84
2	9.49	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	樟脑	10.23
3	10.10	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	龙脑	83.08
4	10.46	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	异龙脑	1.90
5	12.04	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	左旋乙酸冰片酯	2.95

樟鲜叶中挥发油得率随时间呈一定的变化规律,得率较低的季节主要是 1 月底至 3 月底,得率较高的季节主要是 7 月底至 11 月底。其中 11 月底采集的龙脑樟鲜叶中挥发油得率最高,达到 1.37%,但与 7~10 月份相比没有统计学差异,而与 1~3 月份相比具有显著差异。

**2.5 龙脑樟挥发油中主要化学成分的含量比较**

**2.5.1 色谱条件**<sup>[5-6]</sup> 交联聚乙二醇为固定相的弹性石英毛细管柱(0.32 mm×30 m  $\phi$ .5  $\mu$ m),进样口和检测器温度均为 220 °C,进样量 1 μL,分流比 15:1;初始柱温 120 °C,保持 3 min,以 8 °C·min<sup>-1</sup>升到 160 °C,保持 3 min。理论板数按右旋龙脑、异龙脑、樟脑峰计算均不低于 1 万。

**2.5.2 溶液的制备** 分别精密称定右旋龙脑、异龙

表 4 不同生长年限龙脑樟叶和枝中挥发油得率比较

Table 4 Comparison of yield of volatile oil in leaves and branches of *C. camphora* planted in 2009 and 2010

种植年份	部位	No.	挥发油质量/g	挥发油得率/%
2009	叶	1	2.82	1.41
		2	2.98	1.49
		3	2.71	1.36
	枝	1	0.63	0.32
		2	0.62	0.31
		3	0.57	0.28
2010	叶	1	2.94	1.47
		2	2.95	1.48
		3	2.90	1.45
	枝	1	0.83	0.42
		2	0.93	0.47
		3	0.95	0.48

表 5 不同采收月份龙脑樟鲜叶中挥发油的得率( $n=3$ )

Table 5 Yield of volatile oil from fresh leaves of *C. camphora* in different harvest months( $n=3$ )

样品编号	采集时间	挥发油质量/g	挥发油得率( $\bar{x} \pm s$ )/%
1	2013-01-27	4.51	0.90 ± 0.06
2	2013-02-27	4.09	0.82 ± 0.02
3	2013-03-28	3.46	0.69 ± 0.11
4	2013-04-26	6.05	1.21 ± 0.01
5	2013-05-27	5.80	1.16 ± 0.05
6	2013-06-30	5.81	1.16 ± 0.07
7	2013-07-26	6.45	1.29 ± 0.13
8	2013-08-27	6.41	1.28 ± 0.10
9	2013-09-29	6.42	1.28 ± 0.09
10	2013-10-27	6.52	1.30 ± 0.12
11	2013-11-28	6.86	1.37 ± 0.11
12	2013-12-28	5.65	1.13 ± 0.03

脑和樟脑对照品 52.6 25.1 31.8 mg,置同一 25 mL 量瓶中,加乙酸乙酯定容,制成质量浓度分别为 2.104 1.004 1.272 g·L<sup>-1</sup>的混合对照品溶液。取不同生长季节龙脑樟鲜叶挥发油供试品 20 mg 左右于 10 mL 量瓶中,加乙酸乙酯定容,得供试品溶液。

**2.5.3 线性关系考察** 精密量取混合对照品溶液 0.125 0.625 1.25 2.5 5,10 mL,分别置于 10 mL 量瓶中,加乙酸乙酯定容,得系列混合对照品溶液,按 2.5.1 项下色谱条件测定,以峰面积为纵坐标,进

样量为横坐标,绘制标准曲线,得樟脑、异龙脑和右旋龙脑回归方程分别为  $Y=1.092.1X+4.5992$  ( $r=0.9995$ )  $Y=1.122.7X+4.1147$  ( $r=0.9995$ )  $Y=1.102.4X+6.2116$  ( $r=0.9995$ ),线性范围依次为 0.015 9 ~ 1.272,0.012 55 ~ 1.004,0.026 3 ~ 2.104 g·L<sup>-1</sup>。

**2.5.4 精密度试验** 取同一混合对照品溶液 6 份,按 2.5.1 项下色谱条件进样,计算右旋龙脑、樟脑、异龙脑峰面积的 RSD 分别为 0.7% 0.8% 1.0%,表明仪器精密度良好。

**2.5.5 稳定性试验** 取同一份供试品溶液,分别在 0 2 4 8,12,18,24 h 按 2.5.1 项下色谱条件进样,记录峰面积,结果异龙脑均未检测到,而右旋龙脑和樟脑峰面积的 RSD 分别为 1.4% 和 1.7%。表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.5.6 重复性试验** 取同一供试品溶液 6 份,按 2.5.1 项下色谱条件进样,测定峰面积,结果发现供试品溶液中均未检测到异龙脑,右旋龙脑和樟脑的质量分数分别为 80.1% 和 7.3%,RSD 分别为 0.5% 和 0.7%。说明该方法重复性良好。

**2.5.7 加样回收试验** 由于所有挥发油中供试品中均未检测到异龙脑,故仅对右旋龙脑及樟脑 2 种成分进行加样回收试验考察,取已知指标成分含量的供试品 6 份,加入右旋龙脑、樟脑对照品,按 2.5.2 项下供试品溶液的制备方法制备,按 2.5.1 项下色谱条件测定,结果见表 6。

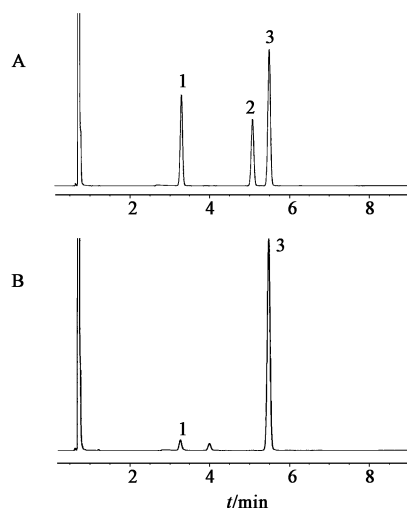
表 6 挥发油中右旋龙脑及樟脑含量测定的加样回收试验

Table 6 Recovery tests of borneol and camphor in volatile oil

成分	样品中量/mg	加入量/mg	测得量/mg	回收率/%	平均值/%	RSD/%
右旋龙脑	14.59	14.40	28.94	99.7	100.8	1.9
	14.63	14.42	29.27	101.5		
	14.48	14.41	28.74	99.0		
	14.39	14.39	28.66	99.2		
	14.76	14.28	29.28	101.7		
	14.43	14.28	29.28	104.0		
樟脑	0.618 0	0.627 3	1.264	103.0	101.5	1.6
	0.653 8	0.627 3	1.281	100.0		
	0.625 1	0.627 3	1.259	101.0		
	0.630 8	0.627 3	1.264	100.9		
	0.619 7	0.627 3	1.272	104.0		
	0.632 5	0.627 3	1.260	100.1		

**2.5.8 样品测定** 取不同生长季节龙脑樟鲜叶

挥发油的供试品溶液,按2.5.1项下色谱条件测定,见图2。依据各对照品标准曲线计算各指标成分的含量,见表7。结果表明各个月份均未检测到异龙脑;1~12月份龙脑樟挥发油中主要成分右旋龙脑的质量分数均>70%,且2~7月份挥发油中樟脑质量分数明显高于8~11月份;其中5月份样品挥发油中右旋龙脑含量最高。



A. 混合对照品; B. 供试品; 1. 樟脑; 2. 异龙脑; 3. 右旋龙脑

图2 龙脑樟叶挥发油的GC谱

Fig. 2 GC chromatograms of volatile oil in leaves of *C. camphora*

表7 龙脑樟叶挥发油中指标成分的含量测定(n=3)

Table 7 Determination of borneol and camphor in volatile oil from leaves of *C. camphora* (n=3)

月份	供试品质量/mg	右旋龙脑		樟脑	
		测得量/mg	质量分数/%	测得量/mg	质量分数/%
1	20.4	16.0	78.4	0.318	1.56
2	22.1	17.5	79.2	0.756	3.42
3	20.5	17.0	82.9	1.134	5.53
4	20.5	17.6	85.9	0.619	3.02
5	20.1	17.5	87.1	0.704	3.50
6	21.3	15.0	70.4	0.912	4.28
7	22.1	17.7	80.1	1.602	7.25
8	21.4	16.2	75.7	0.291	1.36
9	20.8	14.7	70.7	0.424	2.04
10	21.9	15.6	71.2	0.101	0.46
11	22.3	18.1	81.1	0.071	0.32
12	21.2	17.1	80.5	0.070	0.33

### 3 讨论

本研究通过分析不同生长期龙脑樟枝叶中挥发油成分的种类及含量的差异,结果发现,与生长期3年的植株相比,生长期2年的龙脑樟,虽然挥发油得率相近,但右旋龙脑在挥发油中含量明显增高,且杂质成分明显减少。说明2年生长期龙脑樟次生代谢产物更为单一,以右旋龙脑为主。本课题组前期对采自江西峡江县的龙脑樟枝叶挥发油进行GC-MS检测,结果表明右旋龙脑峰面积仅占总峰面积的67%<sup>[7]</sup>。根据本实验结果推测,2年生长期为最佳采收年限。此外,从龙脑樟鲜叶和枝挥发油得率结果来看,无论是3年生长期还是2年生长期,鲜叶挥发油得率高于枝中的3倍以上。

比较2年生长期不同采收季节的龙脑樟叶挥发油得率,发现10~11月采收的龙脑樟叶挥发油得率明显高于其他月份,尤其11月份挥发油得率最高。其原因可能是新叶长成后初生代谢速度减慢,而次生代谢占主导,次生代谢产物不断富集,达到最高值。从挥发油中不同成分的含量测定结果来看,不同采收期的龙脑樟叶挥发油中均不含异龙脑,右旋龙脑质量分数均>70%,樟脑质量分数均<8%。就目标成分右旋龙脑而言,实验结果缺乏规律性,可能与不同植株之间的差异性有关,该工作仍待今后继续研究。依据本实验结果,建议龙脑樟宜选择2年生长期,并于11月底至12月初采收较为合适。

#### [参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 146.
- [2] 吴淳, 周玉婷, 邓雪皎, 等. 天然冰片对大鼠口服尼莫地平药代动力学的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(12): 128-132.
- [3] 欧阳少林, 龙光远, 黄璐琦, 等. 天然冰片的新资源[J]. 江西林业科技, 2005(5): 38.
- [4] 龙光远, 彭招兰, 郭德选, 等. 龙脑樟矮林作业技术和效益分析[J]. 林业科技开发, 2000, 14(6): 30-31.
- [5] 黄惠琼, 胡睿恩. GC法同时测定狗皮膏中樟脑、异龙脑、龙脑的含量[J]. 中国药品标准, 2012, 13(6): 428-430.
- [6] 叶耀辉, 张博文, 郑红梅, 等. 顶空进样GC-MS分析柴胡不同炮制品的挥发性成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(18): 11-14.
- [7] 黄慧莲, 林涛, 熊梅, 等. 龙脑樟枝叶中挥发油化学成分GC-MS分析[J]. 世界中医药, 2012, 7(5): 453-455.

[责任编辑 刘德文]