

罗勒挥发油超临界CO₂萃取及GC-MS分析

周荣, 王艳, 任吉君, 周小梅

(佛山科学技术学院 园艺系, 广东 佛山 528231)

摘要: 采用超临界CO₂萃取技术, 利用正交设计, 对影响罗勒挥发油萃取工艺参数(萃取压力、萃取温度、萃取时间)以及挥发油成分进行了研究。结果表明, 罗勒挥发油超临界CO₂萃取工艺参数的最佳组合是: 萃取压力为12 MPa, 萃取温度为45 °C, 萃取时间为2 h, 萃取率达0.761%。所获得的挥发油呈黄色半透明状, 具芳香味。采用GC-MS对挥发油进行分析, 共鉴定出30种化合物, 主要成分为萜类物质, 占总量的96.64%。相对含量最高的是芳樟醇, 占69.83%, 其次分别是(+)-表-双环倍半水芹烯(6.73%)和1,8-桉叶油素(5.01%)。

关键词: 罗勒; 挥发油; 超临界CO₂萃取; 气相色谱-质谱法

中图分类号: O658.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)05-0585-04

Extraction of volatile oil from *Ocimum basilicum* L. by supercritical CO₂ and GC-MS analysis of the extract

ZHOU Rong, WANG Yan, REN Ji-jun, ZHOU Xiao-mei

(Department of Horticulture, Foshan University, Foshan, Guangdong 528231, China)

Abstract: The supercritical CO₂ extraction technology was used to extract volatile oil from *Ocimum basilicum* L. The technical conditions affecting the extraction (pressure, temperature and time) were optimized by using orthogonal design, and the constituents of the volatile oil were studied by analyzing GC/MS. The results showed that the optimal conditions were, using 12 MPa of pressure, at 45 °C temperature and extracted for 2 h. Under this conditions, the extraction ratio was 0.761%. GC/MS analysis identified 30 compounds in the volatile oil. The main chemical component was terpenoids, which accounted for 96.64% of the total volatile oil. The relative content of the highest was linalool, containing 69.83%, followed by the (+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene (6.73%) and 1,8-Cineole (5.01%).

Key words: *Ocimum basilicum* L.; volatile oil; supercritical CO₂ extraction; gas chromatography-mass spectrometer

罗勒(*Ocimum basilicum* L.)全株具有强烈的芳香气味, 其挥发油具有收紧、改善阻塞皮肤, 刺激雌性激素分泌, 平衡油脂分泌等作用, 被广泛应用于医学、农业、食品、化妆品等领域^[1]。

目前, 对罗勒挥发油的提取主要采用水蒸汽蒸馏法^[2-10], 笔者开展了对佛山大叶罗勒挥发油超临界CO₂萃取^[11-13]的研究, 并用气相色谱-质谱法分析挥

发油成分, 期望为罗勒挥发油的开发提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

大叶罗勒, 引自俄罗斯。2008年4月6日播种于佛山科学技术学院园艺基地, 10月采收罗勒叶片, 洗净后在45 °C下烘干, 粉碎, 密封备用。

收稿日期: 2010-03-05

基金项目: 广东省农业攻关项目(2007B020712003)

作者简介: 周荣(1966—), 女, 云南昭通人, 硕士, 副教授, 从事园艺植物资源研究, zrfysyl@163.com

1.2 主要仪器和试剂

SC 500 mL超临界CO₂萃取仪(德阳四创科技有限公司)、Finnigan voyager型气相色谱-质谱联用仪(美国Finnigan公司)、CO₂(食品级)。

1.3 挥发油超临界CO₂萃取

参照刘莹等^[11]筛选的参数(萃取压力 16 MPa、温度 45 °C、萃取时间 2 h)进行正交设计L₉(3⁴)(表 1)。A:萃取压力;B:萃取温度;C:萃取时间。设 3 次重复。

超临界CO₂萃取工艺:原料称重(70 g)→装料→超临界CO₂萃取→挥发油称重→冷藏。

萃取率=(平均萃取量/罗勒粉末干重)×100%。利用 DPS5.0 统计软件进行方差分析,差异显著性测验采用 LSR 方法。

1.4 罗勒挥发油 GC-MS 分析

色谱条件。色谱柱:DBX5 弹性石英毛细管柱(25 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度 220 °C;进样方式:不分流进样;进样量 0.5 μL;载气:高纯氮气,恒流流速 4.0 mL/min;升温程序:初始温度 40 °C,保持 3 min,以 10 °C/min 升至 100 °C,再以 5 °C/min 升至 180 °C,之后以 10 °C/min 升至 260 °C,保持 2 min;接口温度 230 °C。

质谱条件。电子轰击(EI)离子源;电子能量 70 eV;离子源温度 200 °C;发射电流 80 μA;倍增电压 330 V;质量扫描范围(质荷比)33~450。各分离组分利用计算机中质谱图库(NIST 和 LIBTX)进行检索,并参考相关文献[2~12]进行核对,确认其化学结构和化学成分;依据总离子流色谱图中的色谱峰面积,按峰面积归一化法计算各化合物的相对百分含量。

2 结果与分析

2.1 罗勒挥发油超临界CO₂萃取结果

由表 1 可知,A 因素(萃取压力)对萃取量影响最大,其次是 B 因素(萃取温度),而萃取时间对萃取量的影响最小。从 *k* 值的表现可知,较低的萃取压力有利于提高萃取量,而比较适合的萃取温度和萃取时间分别为 45 °C 和 2 h。

表 1 L₉(3⁴) 正交设计试验结果
Table 1 Results of L₉(3⁴) orthogonal design test

处理	A	B	C	萃取量/g	萃取率/%
1	12	35	1	0.371abc	0.530
2	12	45	2	0.533a	0.761
3	12	55	3	0.446ab	0.637
4	16	35	3	0.170abc	0.242
5	16	45	1	0.239abc	0.341
6	16	55	2	0.126bc	0.180
7	20	35	2	0.046c	0.066
8	20	45	3	0.071c	0.101
9	20	55	1	0.061c	0.086
<i>k</i> ₁	0.450	0.196	0.223		
<i>k</i> ₂	0.178	0.281	0.235		
<i>k</i> ₃	0.059	0.211	0.229		
<i>R</i>	0.391	0.085	0.012		

经方差分析得知,处理 2(12 MPa、45 °C、2 h)、处理 3(12 MPa、55 °C、3 h)、处理 1(12 MPa、35 °C、1 h)、处理 5(16 MPa、45 °C、1 h)、处理 4(16 MPa、35 °C、3 h)萃取量无显著差异,但它们同其余处理的差异达到显著水平。综合萃取压力、萃取温度和萃取时间对萃取量的影响,确定处理 2 为最优组合,即萃取压力 12 MPa,萃取温度 45 °C,萃取时间 2 h,罗勒挥发油的萃取量可达 0.533 g,萃取率可达 0.761%。所得挥发油呈黄色半透明状,具有浓烈的清香气味。

2.2 罗勒挥发油 GC-MS 分析结果

对处理 2 的罗勒挥发油进行 GC-MS 测定,得到罗勒挥发油总离子流色谱图(图 1)。鉴定的各成分以及相对含量见表 2。

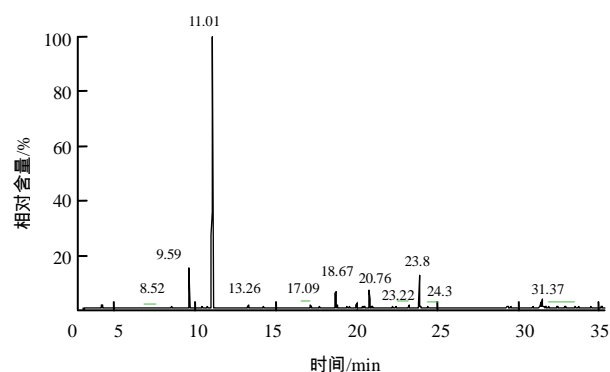


图 1 罗勒挥发油总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of the extracted essential oil of *Ocimum basilicum* L.

表 2 罗勒挥发油的化学成分

Table 2 Chemical constituents of the essential oil of *Ocimum basilicum* L.

编号	保留时间/min	化合物	分子式	相对分子质量	相对含量/%
1	8.52	β-蒎烯(L-β-pinene)	C ₁₀ H ₁₆	136	0.16
2	9.59	1,8-桉叶油素(1,8-cineole)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	5.01
3	10.39	反式-氧化芳樟醇(linalool oxide trans)	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.17
4	10.73	反式-氧化芳樟醇(linalool oxide trans)	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	170	0.21
5	11.01	芳樟醇(linalool)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	69.83
6	13.26	α-松油醇(α-terpineol)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.67
7	14.44	香叶醇(geraniol)	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.15
8	17.09	3-烯丙基-6-甲氧基苯酚(3-allyl-6-methoxyphenol)	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	164	0.85
9	17.34	胡椒烯(copaene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.14
10	17.56	β-波旁烯(β-bourbonene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.14
11	17.65	β-榄香烯(β-elemene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.36
12	18.15	丁香酚甲醚(eugenol methyl ether)	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.17
13	18.48	β-石竹烯(β-caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.15
14	18.67	α-香柠檬烯(α-bergamotene)	C ₁₅ H ₂₄	204	2.86
15	18.76	α-愈创木烯(α-guaiene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.44
16	19.36	α-石竹烯(α-caryophyllene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.30
17	19.51	(+)表-双环倍半水芹烯((+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.31
18	19.98	β-蒎烯(β-cubebene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.93
19	20.42	δ-愈创木烯(δ-guaiene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.42
20	20.76	γ-杜松烯(γ-cadinene)	C ₁₅ H ₂₄	204	3.32
21	20.95	菴烯(calamenene)	C ₁₅ H ₂₄	204	0.51
22	22.20	杜松脑(juniper camphor)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.16
23	22.40	斯巴醇(spathulenol)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.32
24	23.22	蒎烯(β-cubanol)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.61
25	23.88	(+)表-双环倍半水芹烯((+)-Epi-bicyclosesquiphellandrene)	C ₁₅ H ₂₄	204	6.42
26	29.50	棕榈酸乙酯(ethyl palmitate)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.25
27	30.85	反式植醇(trans-Phytol)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	0.17
28	31.37	亚油酸乙酯(ethyl linoleate)	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	1.21
29	31.45	亚麻酸乙酯(linolenic acid,ethyl ester)	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	0.96
30	31.84	植醇(phytol)	C ₂₀ H ₄₀ O	296	0.17

由表 2 可知, 已鉴定的成分占总峰面积的 97.37%, 分析表明, 罗勒挥发油的主要化学成分是萜类物质, 占总挥发油的 96.64%, 其中单萜类 7 种, 占总组分的 76.2%; 倍半萜类 16 种, 占总组分的 17.39%; 二萜类 2 种, 占总组分的 0.34%; 酯类有 3 种, 占总组分的 2.42%; 芳香族醚类化合物有 2 种, 占总组分的 1.02%。相对含量最高的是芳樟醇, 占总挥发油的 69.83%, 其他含量较高的成分依

次是(+)表-双环倍半水芹烯(6.73%)、1,8-桉叶油素(5.01%)、γ-杜松烯(3.32%)、α-香柠檬烯(2.86%)、亚油酸乙酯(1.21%)、亚麻酸乙酯(0.96%)、β-蒎烯(0.93%)。

3 讨论

正交试验结果表明, 影响超临界 CO₂ 萃取挥发油量的重要性大小依次为萃取压力、萃取温度、萃

取时间. 超临界CO₂萃取罗勒挥发油最佳萃取条件为: 萃取压力 12 MPa, 萃取温度 45 °C, 萃取时间 2 h, 所得挥发油呈黄色半透明状, 具有浓烈的清香气味, 萃取率高达 0.761%, 与刘莹等^[11]的结果相近, 而与张文成等^[12]的结果差异较大.

采用 GC-MS 分析罗勒挥发油成分, 共鉴定出 30 种化合物. 挥发油的主要化学成分是萜类物质, 占总挥发油的 96.64%. 其中相对含量最高的是芳樟醇, 含量超过 5% 的依次有(+)-表-双环倍半水芹、1,8-桉叶油素.

现有资料显示, 采用不同方法萃取罗勒挥发油, 成分差异很大. 同样采用水蒸汽蒸馏法, 李建文等^[2]、帕丽达等^[3]、兰瑞芳等^[4]鉴定出罗勒挥发油主要成分为芳樟醇, 而卢汝梅等^[5]鉴定出罗勒挥发油主要成分为对烯丙基苯甲醚, 汪涛等^[6]则鉴定出的主要成分为 1,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇, 胡西旦·格拉吉丁等^[7]鉴定出的主要成分为 α -萜品油烯, 徐洪霞等^[8]鉴定出的主要成分为甲基黑胡椒酚, 何道航等^[9]鉴定出的主要成分为龙蒿脑. 宋述芹等^[10]采用固相微萃取技术鉴定出罗勒挥发油的主要成分为龙蒿脑, 而张文成等^[12]采用超临界CO₂萃取技术鉴定罗勒挥发油主要成分为甲基黑胡椒酚. 因此推断原料的产地、品种、萃取方法、干燥方式的不同, 罗勒挥发油的化学成分会有差异.

参考文献:

- [1] 米仁沙·牙库甫, 衣不拉音·司马义. 罗勒化学成分和药理作用研究进展[J]. 新疆中医药, 2007, 25(4): 119-121.
- [2] 李建文, 陈贵林, 何洪巨. GC-MS 法测定罗勒中芳香成分[J]. 现代仪器, 2003(2): 19-20.
- [3] 帕丽达, 米仁沙, 丛媛媛, 等. 新疆罗勒挥发油的化学成分研究[J]. 中草药, 2006, 37(3): 352.
- [4] 兰瑞芳, 冯珊. 闽产罗勒油化学成分的研究[J]. 海峡药学, 2001, 13(1): 51-52.
- [5] 卢汝梅, 李耀华. 桂产罗勒挥发油化学成分的分析[J]. 广西植物, 2006, 26(4): 456-458.
- [6] 汪涛, 崔书亚, 胡晓黎, 等. 罗勒挥发油成分研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(8): 740-742.
- [7] 胡西旦·格拉吉丁. 气相色谱-质谱法分析罗勒中挥发油的化学成分[J]. 光谱实验室, 2008, 25(2): 127-131.
- [8] 徐洪霞, 潘见, 杨毅, 等. 疏毛罗勒挥发油化学成分的研究[J]. 香料香精化妆品, 2004(3): 5-8.
- [9] 何道航, 庞义, 李广宏, 等. 粤产紫罗勒精油的化学成分研究[J]. 广西植物, 2005, 25(1): 90-92.
- [10] 宋述芹, 谷茂, 陈飞鹏, 等. 固相微萃取气质联用分析罗勒花和叶的挥发性成分[J]. 质谱学报, 2008, 29(2): 110-114.
- [11] 刘莹, 薛宝玉, 尚明. 超临界CO₂萃取罗勒挥发油的工艺参数研究[J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2004, 20(2): 38-40.
- [12] 张文成, 宋宗庆, 李春保. 疏毛罗勒挥发油超临界流体萃取的研究[J]. 农产品加工, 2006(10): 81-83.

责任编辑: 罗慧敏

英文编辑: 胡东平