

五彩阿魏挥发油提取工艺优选

魏洁¹, 罗茜¹, 雷林洁¹, 滕亮^{2,3*}, 于富生⁴, 王长虹^{3*}

- (1. 新疆医科大学 药学院, 乌鲁木齐 830011;
2. 新疆医科大学 第一附属医院, 乌鲁木齐 830054;
3. 上海中医药大学 中药研究所, 中药标准化教育部重点实验室, 上海 201203;
4. 新疆华圣元医药科技有限公司, 乌鲁木齐 830011)

[摘要] 目的:优选五彩阿魏挥发油的水蒸气提取工艺并对其挥发油化学成分进行分析。方法:以挥发油提取率为指标,采用 $U_7(7^2)$ 均匀试验优选五彩阿魏挥发油水蒸气蒸馏工艺。运用 GC 考察提取时间对挥发油化学稳定性的影响,色谱条件为载气高纯氮气,载气流量 $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 $0.5\text{ }\mu\text{L}$,分流比 50:1,总流量 $54.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样口温度 $250\text{ }^\circ\text{C}$,检测器温度 $250\text{ }^\circ\text{C}$ 。升温程序为起始温度 $60\text{ }^\circ\text{C}$,保持 2 min;以 $4\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 $80\text{ }^\circ\text{C}$,保持 5 min;以 $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 $180\text{ }^\circ\text{C}$,保持 5 min;以 $4\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 $200\text{ }^\circ\text{C}$,保持 2 min。结合 GC 和色谱图相似度评价确定五彩阿魏挥发油提取工艺。结果:五彩阿魏挥发油中大部分化学成分对热较稳定。最佳提取工艺为加 6.5 倍量水提取 4 h;挥发油提取率 8.32%。结论:优选的提取工艺稳定、合理、可行,可保证五彩阿魏挥发油中各化学成分的稳定性。

[关键词] 阿魏;五彩阿魏;挥发油;均匀试验;相似度评价

[中图分类号] R283.6;R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)05-0050-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfxj.2015050050

Optimization of Extraction Process of Volatile Oil from *Ferula assafoetida* WEI Jie¹, LUO Xi¹, LEI Lin-jie¹, TENG Liang^{2,3*}, YU Fu-sheng⁴, WANG Chang-hong^{3*} (1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China; 2. First Teaching Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China; 3. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicine, Ministry of Education, Institute of Chinese Materia Medica, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China; 4. Xinjiang Huashengyuan Medicine Technology Co. Ltd., Urumqi 830011, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction process of volatile oil from *Ferula assafoetida* by steam distillation and analyze chemical compositions in volatile oil. **Method:** With extraction rate of volatile oil as index, conditions for extraction of volatile oil from *F. assafoetida* were optimized by uniform design. Effect of extraction time on chemical compositions in volatile oil were investigated by GC, conditions were as following: high purity nitrogen as carrier gas, flow rate of carrier gas $1\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, injection volume of $0.5\text{ }\mu\text{L}$, split ratio of 50:1, total flow of $54.0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, inlet temperature of $250\text{ }^\circ\text{C}$, detector temperature of $250\text{ }^\circ\text{C}$. Temperature-rising program was as following: the initial temperature of $60\text{ }^\circ\text{C}$, kept for 2 min, then temperature rise to $80\text{ }^\circ\text{C}$ with heating rate of $4\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, kept for 5 min, temperature rise to $180\text{ }^\circ\text{C}$ with heating rate of $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, kept for 5 min, temperature rise to $200\text{ }^\circ\text{C}$ with heating rate was $4\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, kept 2 min. Extraction process of volatile oil from *F. assafoetida* was determined by GC and chromatogram similarity. **Result:** Some compounds in volatile oil were unstable thermally. Optimum extraction process of volatile oil from *F. assafoetida* was as following: added

[收稿日期] 20140617(016)

[基金项目] 新疆维吾尔自治区科技型中小企业技术创新基金项目(201253165);国家科技部科技型中小企业技术创新基金项目(12C26216507308);新疆医科大学第八期大学生创新项目(CX2013017);乌鲁木齐市科学技术计划项目(Y111310035)

[第一作者] 魏洁,学士,从事中药民族药新药研究,Tel:15899157461,E-mail:358799076@qq.com

[通讯作者] *滕亮,博士,教授,从事中药民族药新药研究,Tel:0991-4362483,E-mail:tl750212@126.com;

*王长虹,博士,研究员,从事中药新制剂与体内过程研究,Tel:021-51322511,E-mail:wehcxm@hotmail.com

6. 5 times amount of water and extracted 4 hours. Average extraction rate of volatile oil was 8. 32% . **Conclusion:** This optimized extraction process of volatile oil is reproducible, reasonable and practicable, it can guarantee stability of compositions in volatile oil from *F. assafoetida*.

[**Key words**] Ferulae Resina; *Ferula assafoetida*; volatile oil; uniform test; similarity evaluation

阿魏为伞形科阿魏属植物的总称,主产于新疆^[1],维吾尔族民间常用于治疗胃病,被收载于《中国药典》2010 年版,味苦,性辛、温,归脾、胃经,具有消积、散痞、杀虫之功效^[2]。《唐本草》记载阿魏商品多数由球粒凝聚而成大小不等的块状,外表暗黄色或黑棕色,贮藏日久则变为红棕色,新的破折面为乳白色或浅黄棕色,或红棕色交错,通称为五彩阿魏。阿魏的化学成分主要包括挥发油、树脂、树胶、多糖等^[3-4],其中挥发油因具有抗溃疡、抗过敏等药理作用^[5-7]而成为学者研究重点。由于开荒造田、筑路、引水灌溉等原因,使得维持阿魏生长的自然流向雪水水源被破坏、断流,导致阿魏生长面积大幅度缩小,已无商品药材可提供。鉴于新疆阿魏与阜康阿魏已濒临灭绝,寻找新疆阿魏与阜康阿魏的替代药材已迫在眉睫。前期试验研究发现五彩阿魏挥发油具有与阿魏挥发油相当的抗溃疡活性,故本实验拟对五彩阿魏挥发油的提取工艺进行研究,为阿魏的替代药材研究提供参考。

1 材料

GC-2010 Plus 型气相色谱仪(日本岛津),BS110S 型 1/10 万电子天平(北京赛多利斯天平有限公司),DRT-SX 型智能恒温电热套(郑州长城科工贸有限公司)。五彩阿魏购于安徽亳州蕪城区丰水源刘庄,批号 20120508,经新疆华圣元医药科技有限公司于富生主任药师鉴定为五彩阿魏 *Ferula assafoetida* 根的树脂;试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 挥发油提取工艺考察^[8-9] 在预试验基础上,以挥发油提取率为指标,选择提取时间、加水量为考察因素,将五彩阿魏树脂于 -18 ℃ 冷冻 24 h,粉碎成粗粉,分别称取五彩阿魏粗粉 7 份,每份 50. 0 g,按 $U_7(7^2)$ 试验安排加入不同量溶剂,按 2010 年版《中国药典》(一部)附录 XD 挥发油测定方法甲法提取不同时间,收集挥发油,计算挥发油提取率,试验安排及结果见表 1。将试验结果采用均匀设计回归分析及优化系统进行处理,得回归方程 $Y = 6. 190 + 0. 651X_1 + 0. 044X_2 - 0. 050X_1^2 - 0. 001X_2^2 - 0. 004X_1X_2$,回归方程显著性 $F = 8\ 892. 83$,复相关系数(R^2) 1. 000。确定最佳提取工艺条件为 $X_1 =$

6. 46 h, $X_2 = 6. 58$ 倍,理论最大预测值 8. 36% ,预测区间 8. 34% ~ 8. 37% 。

表 1 五彩阿魏挥发油提取工艺 $U_7(7^2)$ 均匀试验分析
Table 1 Uniform design for extraction process of volatile oil from *Ferula assafoetida*

No.	X_1 提取时间/h	X_2 加水量/倍	挥发油提取率/%
1	1	6	6. 98
2	2	12	7. 53
3	3	4	7. 80
4	4	10	8. 13
5	5	2	8. 23
6	6	8	8. 36
7	7	14	8. 24

2.2 验证试验 称取 3 份五彩阿魏,每份 40 g,加 6. 5 倍量水提取 6. 5 h,冷却,收集挥发油,计算提取率平均值 8. 33% ,RSD 0. 9% ,说明优选的提取工艺稳定可行。五彩阿魏挥发油按 2010 年版《中国药典》(一部)附录 VIIA 相对密度测定法中比重瓶法进行测定,结果平均相对密度 $0. 955\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,RSD 0. 1% 。

2.3 挥发油化学组成考察

2.3.1 气相色谱条件 RtX-5 毛细管柱(30 m × 0. 25 mm × 0. 25 μm),载气高纯氮气,载气流量 $1\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量 0. 5 μL,分流比 50: 1,总流量 $54. 0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样口温度 250 ℃,检测器温度 250 ℃。升温程序为起始温度 60 ℃,保持 2 min;以 $4\text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 80 ℃,保持 5 min;以 $10\text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 180 ℃,保持 5 min;以 $4\text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 的速率程序升温至 200 ℃,保持 2 min。

2.3.2 提取率-时间曲线的绘制 称取五彩阿魏 8 份,每份 50 g,分别加 6. 5 倍量水提取 1,2,3,4,5,6,7,8 h,冷却,收集挥发油,计算提取率,绘制提取率-时间曲线,见图 1。不同时间点收集的挥发油采用无水硫酸钠干燥,精密量取各挥发油样品 3 mL 置 10 mL 量瓶中,加丙酮定容至刻度,得供试品溶液。量取各供试品溶液 0. 1 μL,按 2. 3. 1 项下方法测定,不同提取时间挥发油 GC 见图 2,3。

以提取 1 h 的挥发油色谱为参比,采用 Excel 2003 软件计算不同提取时间挥发油的色谱行为,计算其与提取 1 h 挥发油色谱行为的相似性,结果相似度分别为 0.974, 0.952, 0.931, 0.964, 0.950, 0.948,1.000,见表 2。结果表明阿魏挥发油 GC 中成分 2,3,8 为对热稳定的挥发性成分,成分 1,4,5,6,7,9,10 为对热较稳定的挥发性成分,而成分 11,12 为对热不稳定的挥发性成分,结合图 1 可确定五彩阿魏挥发油水蒸气蒸馏提取条件为加 6.5 倍量水提取 4 h。

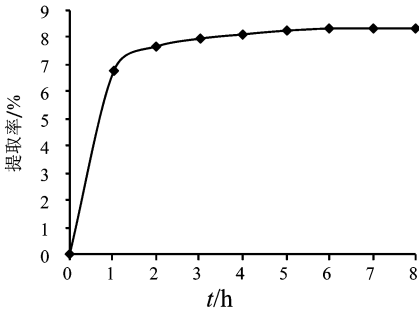


图 1 五彩阿魏挥发油提取率-时间曲线

Fig. 1 Extracting rate-time curve of volatile oil from *Ferula assafoetida*

表 2 不同提取时间五彩阿魏挥发油化学成分 GC 相似度评价

Table 2 Similarity evaluation of GC of volatile oil from *Ferula assafoetida* at different times

No.	t_R/min	峰面积							
		1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h
1	7.558	859 341	681 317	617 555	579 380	567 845	541 605	518 629	508 645
2	8.983	99 087	78 541	70 251	66 038	63 748	60 955	58 610	64 883
3	9.365	85 127	67 200	60 135	56 941	55 223	52 436	50 718	54 118
4	10.011	243 125	193 006	171 571	160 919	155 061	149 076	144 071	141 377
5	11.031	269 769	216 430	187 844	180 727	173 648	168 481	162 977	155 720
6	11.331	1 448 815	1 163 643	1 027 387	969 710	929 870	895 028	861 774	842 327
7	11.758	433 856	351 474	313 273	296 578	287 922	277 850	269 706	264 795
8	16.417	123 224	116 779	105 698	103 734	96 356	97 313	93 429	97 433
9	16.694	2 384 405	2 332 501	2 202 107	2 122 141	2 047 304	1 990 099	1 927 194	1 924 586
10	16.928	2 847 713	2 892 646	2 752 703	2 673 300	2 569 674	2 504 526	2 415 544	2 419 162
11	23.293	25 945	44 716	92 521	131 317	194 985	205 591	313 817	313 918
12	26.646	80 293	335 503	619 138	852 399	1 016 881	640 596	733 384	733 586

2.3.3 验证试验 提取时间对五彩阿魏挥发油化学组成的影响研究表明,提取时间 > 4 h 后挥发油化学组分的含量减少,提示挥发油提取时间宜 ≤ 4 h。称取五彩阿魏 3 份,每份 40 g,按该工艺进行验证试验,结果挥发油平均提取率 8.32%, RSD

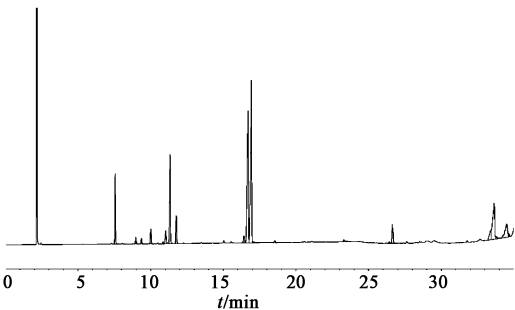
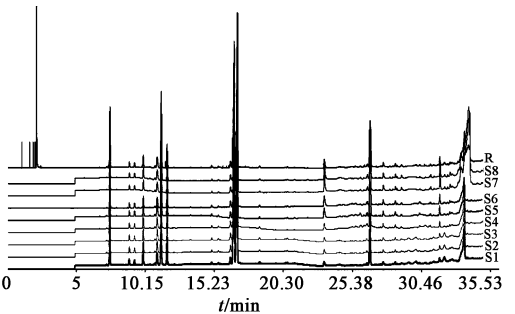


图 2 五彩阿魏提取 1 h 挥发油 GC

Fig. 2 GC of volatile oil from *Ferula assafoetida* at 1 h



R. 对照谱;S1 ~ S8. 提取 1 ~ 8 h 样品

图 3 不同提取时间五彩阿魏挥发油 GC

Fig. 3 GC of volatile oil from *Ferula assafoetida* at different times

0.4%,说明该提取工艺稳定可行。

3 讨论

均匀试验结果表明提取时间与加水量对挥发油提取率均有影响,且前者的影响更为明显。此外,这 2 个因素间存在负交互作用。预试验发现加水量不

宜过大,否则挥发油会过多溶散在水中,而不利于挥发油的收集。根据不同提取时间五彩阿魏挥发油 GC 及其化学成分色谱相似度评价可知,提取时间不同,挥发油种类无变化。由表 2 可知,成分 11,12 随着提取时间的延长,组分含量发生明显变化,其他化学成分含量相对较稳定。表明挥发油中某些成分可能对热不稳定,提示在提取过程中,若需将对热不稳定成分最大程度的提取出来,必须严格控制提取温度和提取时间。优选的 2 个提取工艺中挥发油提取率分别为 8.33% 和 8.32%,表明提取时间为 4 h 时,五彩阿魏挥发油的提取率和提取 6.5 h 时很接近,结合表 2 可知,提取 4 h 时挥发油中各化学成分含量均较高,表明工艺提取 4 h 不仅可确保五彩阿魏挥发油提取完全,还可保证挥发油中各组分的稳定性。

[参考文献]

[1] 单人骅,余孟兰. 中国植物志. 第 55 卷[M]. 北京:科学出版社,1992:85-117.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:176.

[3] 赵保胜,桂海水,朱寅获,等. 阿魏化学成分、药理作用及毒性研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(17):279-281.

[4] 江苏新医学院. 中药大辞典. 上册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1993:1186-1188.

[5] 盛萍,王飒,苗莉娟,等. 不同方法提取的多伞阿魏挥发油化学成分及其体外抗胃癌活性比较[J]. 中成药,2013,35(11):2442-2448.

[6] 李晓瑾,姜林,帕丽达,等. 新疆阿魏抗溃疡作用组分筛选研究[J]. 中国现代中药,2007,9(10):8-10.

[7] 宋东伟,赵文军,吴雪萍,等. 阿魏属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中成药,2005,27(3):329-332.

[8] 雷林洁,滕亮,赵欣,等. 多伞阿魏挥发油提取工艺及化学成分研究[J]. 中成药,2013,35(6):1251-1256.

[9] 贾永艳,周红敏,贾永,等. 均匀试验设计法优选产妇康颗粒提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(7):32-34.

[责任编辑 刘德文]

《中国实验方剂学杂志》声明

本刊最近发现有一些诈骗类网站使用类似本刊网站的域名,冒用本刊名义,骗取高额审稿费及版面费。现本刊郑重声明:本刊不会以任何名义收取任何审稿费,http://www. syfjxzz. com 为本刊唯一域名。对于假冒本刊名义、侵犯本刊权利的不法行为,本刊将通过法律程序进行维权。