

GC 测定艾纳香叶中左旋龙脑、异龙脑、樟脑的不同预处理方法比较

王远辉¹, 赵丹丹¹, 王洪新², 邹纯礼³

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001) (2. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122)

(3. 贵州艾源生态药业开发有限公司, 贵州罗甸 550100)

摘要: 比较了水蒸气蒸馏 (HDSE)、同时蒸馏萃取 (SDE)、溶剂浸提 (SE)、超声辅助提取 (UAE)、微波辅助提取 (MAE) 和超声-微波协同萃取 (UMAE) 作为预处理方法提取艾纳香叶中左旋龙脑、异龙脑和樟脑的效率, 并联合气相色谱 (GC) 对三种化合物进行测定, 通过方法学验证评价各方法的准确性和精密性。结果显示, UMAE 是最快速的预处理方法, 处理时间仅 30 s。方法学验证显示六种预处理方法联合 GC 测定的精密性都满足要求, RSD 小于 3%。仅测定左旋龙脑时, 六种预处理方法联合 GC 的准确性都达标(回收率 86%~100%);若同时测定三种化合物时, 仅 HDSE-GC 符合规定(回收率 100%~105%)。利用 HDSE-GC 和 UMAE-GC 测定采收期内艾纳香叶, 发现 10 月中旬至次年 1 月中旬的艾纳香叶中左旋龙脑含量较高, 适合作为左旋龙脑的生产原料。为快速分析艾纳香叶的左旋龙脑含量及选择最佳采收期提供可靠准确的数据支撑。

关键词: 气相色谱; 预处理; 分析; 品质控制; 提取; 艾纳香

文章编号: 1673-9078(2014)6-250-256

Comparison of Different Pretreatments for GC Determination of L-Borneol, Isoborneol, and Camphor Contents in *Blumea balsamifera* (L.) DC. Leaves

WANG Yuan-hui¹, ZHAO Dan-dan¹, WANG Hong-xin², ZOU Chun-li³

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China) (2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China) (3. Guizhou Ai Yuan Eco-Pharmaceutical Development Co., Ltd, Luodian 550100, China)

Abstract: The efficiencies of hydrodistillation-solvent extraction (HDSE), simultaneous distillation and extraction (SDE), solvent extraction (SE), ultrasonic assisted extraction (UAE), microwave assisted extraction (MAE), and simultaneous ultrasonic-microwave assisted extraction (UMAE) in the extraction of L-borneol, isoborneol, and camphor from leaves of *Blumea balsamifera* (L.) DC. were compared. Three compounds in leaves were determined by GC with six pretreatments, respectively. UMAE was the most rapid pretreatment method (extraction time 30 s). The precisions of six pretreatments all met the standard, with RSDs of less than 3%. GC combined with six pretreating was accurate in the determination of L-borneol (recoveries 86%~100%). However, HDSE-GC was the only method for detecting all three compounds (recoveries 100%~105%). The leaves of *B. balsamifera* from harvest period were determined by HDSE-GC and UMAE-GC, and it was found that L-borneol contents in leaves harvested from mid-October to next mid-January were high, suitable for raw material in L-borneol production. The study provides an accurate and reliable pretreatment method for the rapid analysis of L-borneol in *B. balsamifera* leaves and the best harvest period of leaves.

Key words: gas chromatography; sampling; analysis; quality control; extraction; *Blumea balsamifera* (L.) DC.

收稿日期: 2014-02-01

基金项目: 国家科技型中小企业技术创新基金项目 (11026215205838); 贵州省科技型中小企业技术创新基金项目 (黔科合字[2011]5002 号)

作者简介: 王远辉 (1983-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品加工与品质控制

艾纳香 (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) 属于菊科植物, 在我国贵州和广西等地是著名的苗药和壮药, 同时也有用作香料和少数民族特色食物调味料。在东南亚, 艾纳香叶作为烟草和茶的天然调味料、洗漱品调香料使用、以及作蔬菜食用^[1]。《中国药典》(2010

版)定义艾纳香提取的天然左旋龙脑产品名称为艾片,左旋龙脑含量需大于 85%,同时可含有樟脑(含量<10%)和异龙脑(含量<5%)^[2]。天然左旋龙脑常被用于中成药、高档香料及食品调香添加剂中。生产艾片时,艾纳香叶中左旋龙脑的含量需要准确监测,含量较低的原料叶不适宜作为生产原料,否则会降低生产效率。同时,艾片中杂质樟脑和异龙脑在艾纳香叶的含量同样需要掌握,以评估其对艾片质量的危害程度。不同产地艾纳香的左旋龙脑含量差异情况已有报道,国家质量技术监督总局批准对罗甸艾纳香实施地理标志产品保护^[3-4]。但是,在采收季内罗甸艾纳香的左旋龙脑含量变化规律未见报道。为监测整个采收季节中左旋龙脑、樟脑和异龙脑的含量变化情况,需要准确可靠且快速的左旋龙脑测定方法。

根据已有文献^[2-4],三者的测定选用气相色谱(GC)较合适。但是测定前期提取艾纳香叶中目标化合物的预处理方法有多种选择。在众多预处理方法中,水蒸气蒸馏和同时蒸馏萃取是提取挥发物的常用方法,但是耗时(2~6 h)^[5];同样,溶剂浸提和索氏提取也较费时(3~10 h)^[3];微波辅助提取和超声辅助提取克服耗时的缺点,超声-微波协同萃取更是结合超声空化效应和微波高能的优势,能够快速可靠的处理样品^[6-7];近20年,用于痕量挥发物提取的顶空固相微萃取发展迅速,但是耗时相对较多(30~60 min)^[8];超临界流体萃取是出色的提取技术,但是高昂的设备和维护成本不适合用于常规分析。本文比较水蒸气蒸馏、同时蒸馏萃取、溶剂浸提、超声辅助提取、微波辅助提取、超声-微波协同萃取六种预处理方法的效果,并进行方法学验证,最终选择准确、可靠、快速的预处理方法应用于GC测定。此外,使用筛选出的最佳预处理方法测定不同采收时间艾纳香叶中左旋龙脑、樟脑和异龙脑含量,观察三者在整个采收季的变化规律,为选择最佳的采收时间提供依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

艾纳香叶,从2011年9月15日至2012年3月30日采集14个样品,以半个月为间隔,按采收时间顺序编号1~14号,采样地贵州罗甸县(北纬25°21'14",东经106°28'38",海拔670 m)。样叶在室内(室温10℃)晾干,粉碎至40~80目;对照品左旋龙脑(纯度>97%)和异龙脑(纯度>95%),购自Sigma-Aldrich公司;樟脑(纯度>96%)、萘(纯度>99.5%)和所用试剂(均为分析纯),购自国药集团化学试剂有限公司。

超声-微波协同萃取仪CW-2000型,上海新拓分析仪器科技有限公司;超声波清洗仪DL360型,上海之信仪器有限公司;AR224CN电子天平,奥豪斯(上海)仪器有限公司;GC-2010气相色谱仪(FID检测器),AOC-20i自动进样装置,GC-Solution工作站(日本岛津)。

1.2 试验方法

1.2.1 水蒸气蒸馏-溶剂萃取(HDSE)

称取不同质量1号艾纳香叶(9月15日收获)于2 L圆底烧瓶中,加入1 L蒸馏水,电热套(1000 W)加热进行共水蒸馏,蒸馏过程中持续加入蒸馏水以补充馏出液,以500 mL馏出液为单位进行收集,收集后用等体积无水乙醚萃取1 h,然后分液收集乙醚,再加入无水硫酸钠干燥,将萃取用乙醚在水浴50℃下回收溶剂,最终收得粗提物。考察不同料水比(1:10~1:60)对粗提物得率的影响,确定最佳料水比。之后考察收集不同体积馏出液(100~1000 mL)对左旋龙脑得率的影响,确定最佳馏出液体积。此时,使用乙酸乙酯代替无水乙醚作为溶剂,直接萃取馏出液中的有机物,萃取液定容后进行GC测定。以上试验平行6次。

左旋龙脑得率按下式计算:

左旋龙脑得率(%)=测得叶中左旋龙脑质量/艾纳香叶质量(干基)

1.2.2 同时蒸馏萃取(SDE)

根据HDSE实验优化得到的料水比,称取适量1号艾纳香叶于2 L圆底烧瓶中,加入1 L蒸馏水,电热套加热(与2.3.1项保持相同加热强度);在另一500 mL烧瓶中加入不同体积的无水乙醚(40~200 mL),水浴加热50℃,接上同时蒸馏萃取装置,蒸馏20 min,结束后取下乙醚相烧瓶,加无水硫酸钠干燥。通过水浴加热50℃回收乙醚,最终获得粗提物,以粗提物得率为依据确定最佳的溶剂体积。之后考察不同蒸馏时间(10~60 min)对左旋龙脑得率的影响,将粗提物溶于乙酸乙酯,定容,进行GC测定,确定最佳提取时间。以上试验平行6次。

1.2.3 溶剂浸提(SE)

1号艾纳香叶(1 g)和10 mL乙酸乙酯加入三角烧瓶中,加塞,在水浴加热中震荡,提取结束后过滤,在25 mL容量瓶中定容,进行GC测定。考察不同温度(30~70℃)和时间(1~60 min)对左旋龙脑得率的影响,确定最佳提取条件。以上试验平行6次。

1.2.4 超声辅助提取(UAE)

1号艾纳香叶(1 g)和10 mL乙酸乙酯加入三角

烧瓶中, 接上冷凝管, 在超声仪中进行超声处理, 提取结束后过滤, 在 25 mL 容量瓶中定容, 进行 GC 测定。考察不同温度 (30~70 °C) 和时间 (5~30 min) 对左旋龙脑得率的影响, 确定最佳提取条件。以上试验平行 6 次。

1.2.5 微波辅助提取 (MAE)

1 号艾纳香叶 (1 g) 和 10 mL 乙酸乙酯加入圆底烧瓶中, 接上冷凝管, 在微波装置中进行处理, 提取结束后过滤, 在 25 mL 容量瓶中定容, 进行 GC 测定。考察不同微波功率 (100~400 W) 和时间 (30~360 s) 对左旋龙脑得率的影响, 确定最佳提取条件。以上试验平行 6 次。

1.2.6 超声-微波协同萃取 (UMAE)

1 号艾纳香叶 (1 g) 和 10 mL 乙酸乙酯加入圆底烧瓶中, 接上冷凝管, 在超声-微波协同装置中进行处理, 超声功率固定 50 W, 提取结束后过滤, 在 25 mL 容量瓶中定容, 进行 GC 测定。考察不同微波功率 (100~400 W) 和时间 (30~360 s) 对左旋龙脑得率的影响, 确定最佳提取条件。以上试验平行 6 次。

1.2.7 色谱条件

色谱柱为 CP-WAX 毛细管柱 (30 m×0.32 mm×0.5 μm, PEG-20M); 升温程序: 80 °C (5 min), 升温速率 10 °C/min, 至 220 °C (5 min); 载气为高纯氮气, 体积流量 3.0 mL/min, 氢气体积流量 47 mL/min, 空气体积流量 400 mL/min; 分流比 1:8; 检测器温度 250 °C; 进样口温度 250 °C; 进样量 1 μL。

1.2.8 内标溶液、对照品及供试品的制备

混合对照品储备液: 分别精密称量左旋龙脑、异龙脑、樟脑对照品适量, 以乙酸乙酯溶解定容, 制成左旋龙脑、异龙脑、樟脑质量浓度分别为 10.2、10.0、10.1 mg/mL 的混合液, 作为对照品储备液。内标溶液: 精密称取萘 1.000 6 g, 用乙酸乙酯溶解并定容, 浓度为 10.0 mg/mL, 作为内标溶液。选择 1 号艾纳香叶作为供试品。

1.2.9 方法学验证

在六个预处理方法中, 每个方法联合 GC-FID 的测定都进行方法学验证, 验证参照《中国药典》(2010 版) 二部附录 XIX A 设计^[2]。GC 系统分离左旋龙脑、樟脑、异龙脑和内标萘的理论塔板数根据各自的保留时间计算。GC 系统的工作曲线 (线性范围): 取混合对照品储备液 0.05、0.125、0.25、0.5、0.75、1.0、2.0、3.0、4.0 mL, 分别置 5 mL 容量瓶中, 加入 1 mL 内标溶液, 加乙酸乙酯定容, 摇匀, 分别进样测定。以各对照品与内标物峰面积的比值为横坐标 (X), 对照品与内标物质量浓度的比值为纵坐标 (Y) 进行线性回

归, 得到三个化合物的线性范围和相关系数 r。GC 系统检出限: 使用线性关系考察时配置的樟脑、异龙脑、左旋龙脑质量浓度均为 0.10 mg/mL 的储备液, 以 10 倍为梯度稀释, 然后测定各梯度溶液, 考察本 GC 系统中对照品的检出限。精密度: 考察每个预处理方法应用于测定的精密度, 在供试品中加入混合对照品储备液后进行处理后并测定, 连续进行 8 次, 以各对照品与内标物的峰面积比 RSD 为指标考察对三个被测化合物测定的精密度。重复性: 取供试品 5 份, 分别利用 6 种预处理方法对样品进行处理再测定三个化合物的含量, 平行 6 次, 以 RSD 作为指标考察评价三个被测化合物测定的重复性。稳定性: 分别于 0、1、2、4、8、12、16、24 h 对供试品溶液进行测定, 以 RSD 作为考察指标。加标回收率试验: 考察六个预处理方法的回收率, 每个方法都需要精密称定供试品 9 份, 3 份为 1 组, 每组分别精密添加对照品, 对照品添加量为供试品中已知含量的 50%、100%、150% 三个水平, 每个水平平行 3 份, 再使用预处理方法对供试品进行处理并使用 GC 测定, 每个预处理方法都以加标回收率和 RSD 作为考察指标。

1.2.10 不同采收时间的艾纳香叶的测定

从上述六个预处理方法中选取最佳预处理方法, 在其最佳提取条件下, 对采收期内收获的 14 个艾纳香叶样品进行处理, 再进行 GC 测定, 并观察采收期内艾纳香叶中左旋龙脑、樟脑、异龙脑的含量变化情况。

1.2.11 数据统计

数据均以 (平均值±标准偏差) 表示, 显著性差异采用 SPSS 16.0 进行单因素分析 (ANOVA), 以 $p < 0.05$ 确定差异是否有统计学意义。左旋龙脑、樟脑、异龙脑含量的计算是在扣除原料叶中水分含量后根据干物质计算。

2 结果与讨论

2.1 六种预处理方法优化结果

首先, 根据《中国药典》记载的艾片测定方法^[2]和夏稷子等^[3]的研究结果, 我们选用乙酸乙酯作为萃取溶剂, 并用于 GC 系统。通过六种预处理方法提取 1 号艾纳香叶中左旋龙脑、樟脑、异龙脑, 并使用 GC 测定。图 1a 是混合对照品的 GC 图, 说明此 GC 系统可充分分离三被测物和内标; 图 1b 是 1 号艾纳香叶提取物的 GC 图, 经过计算发现在艾纳香叶中三种化合物的含量差异巨大, 左旋龙脑含量约为樟脑的十倍, 约为异龙脑的百倍, 因此评价提取效果时, 以左旋龙脑得率为评价指标确定最佳提取条件。

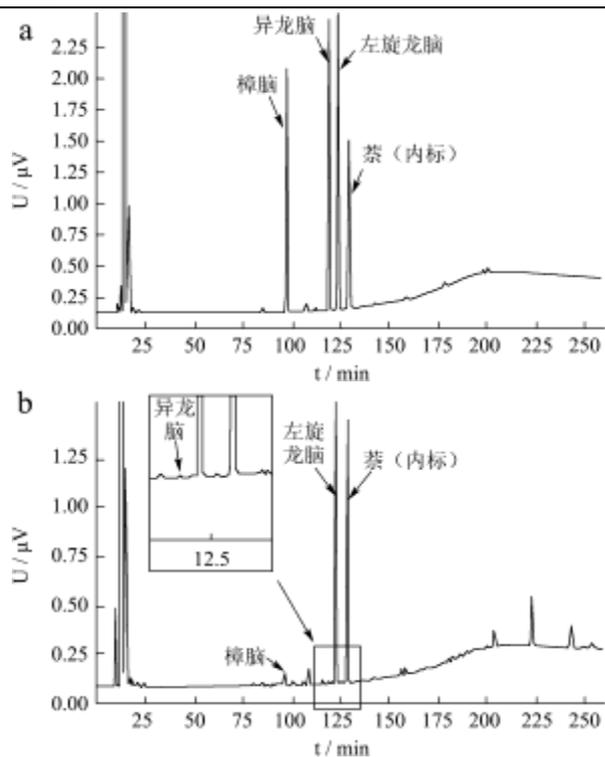


图1 混合对照品 (a) 与 1 号艾纳香叶 (b) 的 GC 图

Fig.1 GC chromatograms of standard mixture and No. 1 leaves sample

对六种预处理方法的提取条件分别进行了优化, 结果见表 1。在水蒸气蒸馏-溶剂萃取法 (HDSE) 处理时, 确定最佳料水比 1:50 和馏出液体积 300 mL, 左旋龙脑得率达到最大值 0.65%, 这个过程耗时约 30 min。蒸馏后溶剂萃取时需要消耗 300 mL 乙酸乙酯, 溶剂用量和时间消耗过多。与其他方法比较后发现 HDSE 各项指标较差, 唯独左旋龙脑得率远高于其他方法, 这可能是由于使用乙酸乙酯萃取馏出液后, 直接定容进行 GC 测定, 最大限度的保留了提取物。为克服溶剂消耗量大的缺点, 前辈学者设计了同时蒸馏萃取 (SDE) 装置^[9]。本论文探索了 SDE 的最佳提取条件, 即溶剂用量为 60 mL、提取时间 30 min, 左旋龙脑得率为 0.59%。SDE 较 HDSE 的溶剂消耗明显减少, 但得率也有所降低 (下降 9%), 损失可能出现在萃取后挥发溶剂的过程中, 这是其作为预处理方法的缺陷。

由于左旋龙脑等三个目标化合物都是有机物质, 易溶于有机溶剂, 因此可用溶剂浸提法 (SE) 提取。首先考察溶剂浸提的效果, 提取温度 60 °C 和提取时间 15 min 为最佳, 此时左旋龙脑得率为 0.57%。浸提法存在效率低的缺点, 超声辅助提取技术 (UAE) 因其高效的促进传质能力已应用于工业化生产中^[10], 本文研究了 UAE 的最佳提取条件, 即提取温度 60 °C、提取时间 15 min, 左旋龙脑得率为 0.59%。比较超声辅

助法与浸提法后, 发现两方法的提取温度同为 60 °C, 此现象与乙酸乙酯的物理属性紧密相关, 乙酸乙酯沸点为 77 °C。从 20 °C 开始, 随着温度的升高目标化合物溶解量增加, 而乙酸乙酯的挥发量也增加; 当低于 60 °C 时, 乙酸乙酯挥发不明显, 化合物溶出持续增加, 而高于 60 °C 时, 接近乙酸乙酯的沸点, 其挥发量增加明显, 使料液比降低, 导致提取速率下降。而且两方法的提取时间都为 15 min, 耗时较短。这可能是由于两者都属浸提, 溶剂浸提是在摇床上进行, 使目标化合物以较快速度溶出; 而超声辅助提取则利用超声波的空化效应增加传质速率, 这个过程效果与震荡相似。从另一侧面反映出左旋龙脑在艾纳香叶中与植物细胞结合并不紧密, 以单体形式存在可能性较大, 因此提取难度并不大。随着微波技术的发展, 微波的热效应作用明显, 微波辅助提取技术 (MAE) 也被应用于植物药用成分的提取^[11]。本文考察 MAE 的提取效果, 最佳提取条件是微波功率 400 W、提取时间 60 s, 左旋龙脑得率达到最大值 0.56%。超声波的空化效应和微波的热效应都具有增加传质速率的作用, 最明显的优势是缩短提取时间。MAE 大大降低时间和能量消耗, 说明微波的高能热效应更易使目标化合物溶出, 其效果远远好于超声波作用。

超声-微波协同萃取技术 (UMAE) 结合了两者的优势, 被学者越来越多研究与应用, 逐渐被应用于天然产物、功能组分的提取。本文探索 UMAE 的最佳提取条件, 超声波功率固定为 50 W、微波功率 100 W、提取时间 30 s, 左旋龙脑得率为 0.57%。与 MAE 相比, 功率从 400 W 降到 100 W, 而耗时从 60 s 降到 30 s, 两参数的明显降低得益于超声波的协同作用。也表明超声-微波协同萃取法可明显降低能量和时间消耗, 充分发挥两者的优势。虽然四种溶剂提取方法的能量、时间、溶剂消耗都较蒸馏法降低, 但是得率也降低较多, 约为 HDSE 的 86%~91%, 这样的损失可能是由于在提取后用滤纸过滤分离原料和提取液时造成, 提取物吸附在滤纸或容器内壁。以快速测定为目标, UMAE 的耗时仅为 30 s, 是六种预处理方法中最快的。Ye、Dong、Deng 等^[6-8]研究了提取野菊花中龙脑的方法, 结果显示水蒸气蒸馏耗时 6 h, 微波辅助提取耗时 4 min, 超声辅助提取耗时 15 min, 微波辅助-顶空固相微萃取耗时 20 min, 加压热水-顶空固相微萃取耗时 20 min。夏稷子等^[9]研究了 3 种提取方法对提取艾纳香中左旋龙脑的效果, 溶剂回流提取和索氏提取耗时 3 h, 而超声提取耗时 30 min。与前辈研究结果比较, 本文中使用的 MAE 和 UMAE 两种方法都提高了艾纳香叶的预处理速度, 可作为快速分析的预处理方法。

但是,仍需要对六种预处理方法联合 GC 进行方法学验证,以评价预处理方法联合 GC 后的准确性和精密性。

表 1 不同预处理方法的比较

Table 1 Comparison of different pretreatment methods

方法	料液比/(g:mL)	原料用量/g	用水量/mL	溶剂用量/mL	耗时	功率/W	左旋龙脑得率/%
HDSE	1:50	20.0	1000	300	约 30 min	1000	0.65±0.01 ^a
SDE	1:50	20.0	1000	60	30 min	1000	0.59±0.01 ^b
SE	1:10	1.0	0	10	15 min	1000	0.57±0.01 ^c
UAE	1:10	1.0	0	10	15 min	360	0.59±0.01 ^b
MAE	1:10	1.0	0	10	60 s	400	0.56±0.01 ^c
UMAE	1:10	1.0	0	10	30 s	超声 50W 微波 100W	0.57±0.01 ^c

注:不同字母(a~c)表示不同预处理方法的左旋龙脑得率从高到低的显著性差异(p<0.05)。

2.2 方法学验证

表 2 六种预处理方法的方法学验证

Table 2 Method validations of six pretreatments

方法	精密度 RSD/%	重复性 RSD/%	稳定性 RSD/%	回收率 /%
左旋龙脑				
HDSE	1.88	1.09	1.27	100.03/2.61
SDE	2.11	1.33	1.48	94.16/1.92
SE	1.68	1.11	1.29	89.93/3.19
UAE	1.79	1.31	1.39	88.37/5.38
MAE	1.91	1.39	1.50	86.96/2.79
UMAE	1.59	1.31	1.42	87.36/4.13
樟脑				
HDSE	1.34	1.22	1.36	104.75/14.22
SDE	1.51	1.29	1.32	73.35/9.68
SE	1.93	1.13	1.19	76.78/16.13
UAE	1.29	1.14	1.52	80.13/10.32
MAE	1.63	1.01	1.39	85.37/13.72
UMAE	1.68	1.31	1.32	78.28/11.26
异龙脑				
HDSE	1.81	2.42	1.63	100.16/3.30
SDE	1.52	2.28	1.37	89.74/3.66
SE	1.58	2.61	1.57	61.42/4.53
UAE	1.93	2.67	1.29	75.38/11.19
MAE	1.28	2.33	1.48	65.98/5.61
UMAE	1.41	2.52	1.29	60.28/5.30

各预处理方法作为测定的一部分,对其进行方法学验证是必须的。首先考察 GC 系统的分离能力、工作曲线、检出限。从图 1a 可知各物质的保留时间均在 13 min 内,樟脑、异龙脑、左旋龙脑和内标物萘的分离度均大于 2,四者的理论塔板数分别为 145439、

209324、291836 和 365948,远远大于《中国药典》的规定值 3000^[2]。三个待测化合物在此 GC 系统的工作曲线,以各对照品与内标物峰面积的比值为横坐标(X),对照品与内标物质量浓度的比值为纵坐标(Y),回归方程为:左旋龙脑, $Y=1.2493 X+0.0402$, $r=0.9994$; 异龙脑, $Y=1.2095 X+0.0379$, $r=0.9996$; 樟脑, $Y=1.3232 X+0.0389$, $r=0.9993$; 线性范围分别为左旋龙脑 0.10~8.16 mg/mL、异龙脑 0.10~7.98 mg/mL、樟脑 0.10~8.08 mg/mL。混合对照品储备液以 10 倍为梯度稀释并测定,发现左旋龙脑、异龙脑、樟脑的检出限都为 0.10 μg/mL。

六种预处理方法的精密度、重复性、稳定性和回收率被考察,结果见表 2。六种预处理方法的精密度、重复性和稳定性的 RSD 指标都小于 3%,说明这些方法的精密性都满足测定的需要。而各方法的回收率差异较大,根据《中国药典》要求^[2],回收率在 80%~120%之间是可接受的。仅测定左旋龙脑时,六种预处理方法都满足测定需要;若同时测定三个化合物时,仅有 HDSE-GC 满足测定的需要,回收率为 100%~105%。综合比较,UMAE-GC 是测定艾纳香叶中左旋龙脑的最快速方法,而 HDSE-GC 是最适合同时测定艾纳香中左旋龙脑、樟脑和异龙脑的方法。因此,在测定 14 个采收期内收获的艾纳香叶时,分别应用 HDSE 和 UMAE 两种方法提取艾纳香叶中的左旋龙脑、樟脑和异龙脑,并进行 GC 测定,观察采收期内三者含量的变化情况。

2.3 采收期内艾纳香叶测定

根据药农的经验,艾纳香叶在每年的冬季采收较合适。江兴龙等^[2]研究了 10 月至 12 月收获的艾纳香中艾粉含量的变化,发现 10 月份艾纳香中艾粉含量最高,但并未精确测定其左旋龙脑含量,更不了解其变

化规律。因此，我们设计的取样时间跨越秋、冬、春三季，从9月至次年3月，间隔为半个月，可获得更详细的数据。利用上文筛选出的 HDSE 和 UMAE 处理艾纳香叶，并测定其中左旋龙脑、樟脑和异龙脑的含量，观察其变化规律，结果见图 2。

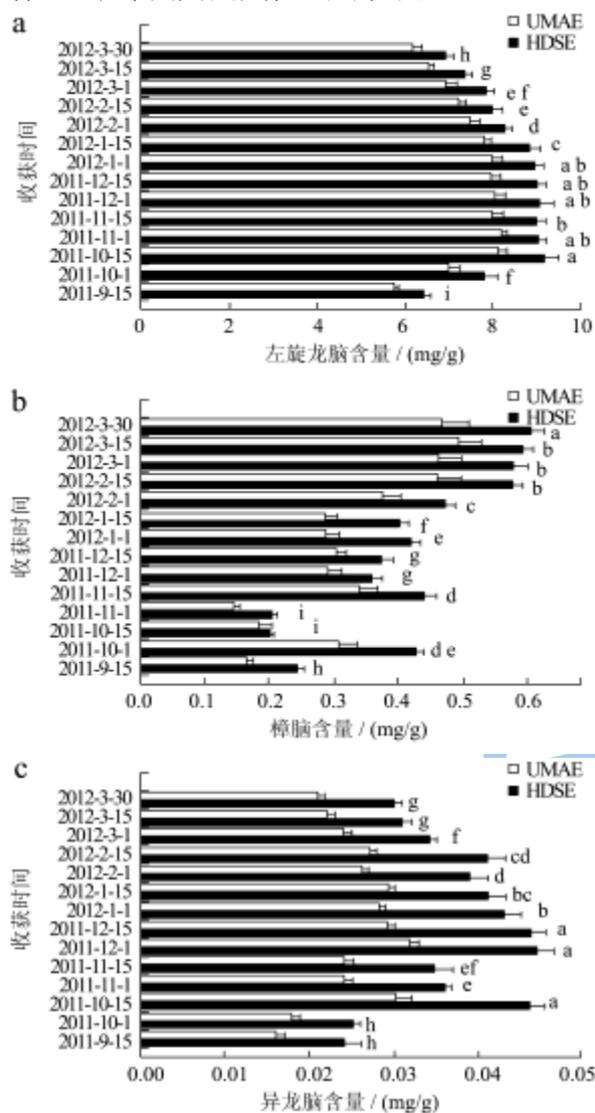


图 2 在采收期内左旋龙脑 (a)、樟脑 (b)、异龙脑 (c) 的含量变化

Fig.2 Variations of L-borneol (a), camphor (b), and isoborneol (c) contents in harvest period

从图 2a 可知，从 10 月 15 日至次年 1 月 15 日采收的艾纳香叶中左旋龙脑含量较高（约 9 mg/g），可以认为这个时期内收获的艾纳香叶最适合作为生产左旋龙脑的原料。这段时期也是一年中温度较低的时段，左旋龙脑是挥发性化合物，低温使其挥发速率和氧化速率降低，因此左旋龙脑在叶中保存较多，所以这段时期左旋龙脑含量较高。从图 2c 发现异龙脑的变化规律与左旋龙脑相似，因两者是异构体，有相似的物理属性，所以表现也基本一致。从图 2b 发现樟脑从 9

月至次年 3 月逐渐升高，虽然樟脑具挥发性，但其表现与左旋龙脑差异巨大。这可能是由于左旋龙脑和异龙脑会慢慢被氧化成樟脑，而氧化速率可能大于樟脑自身的挥发速率，使叶片中积累的樟脑量逐渐增加。樟脑和异龙脑是影响艾片质量的杂质，若大量存在于原料叶中势必给合格艾片的制备带来困难。但是两者在叶中的含量较低，只有左旋龙脑的十分之一或百分之一，所带来的负面影响有限。

3 结论

比较六种预处理方法对艾纳香叶中左旋龙脑的提取效果，发现 HDSE 因其中间环节少，得率最高。比较各项消耗量，发现 UMAE 是最节能最快速的方法。经方法学验证，六种方法的精密度的验证都是可接受的，但回收率差异较大。若同时测定三个目标化合物，只有 HDSE-GC 的回收率满足需要（100%~105%）；若只测定左旋龙脑含量，UMAЕ-GC 回收率为 87%，可实现快速分析的目标。利用 HDSE-GC 和 UMAЕ-GC 测定整个采收期的艾纳香叶，发现 10 月 15 日至次年 1 月 15 日采收的艾纳香叶中左旋龙脑含量较高，较适合作为艾片的生产原料。本文的研究内容为快速分析艾纳香叶的左旋龙脑含量及选择最适采收期提供可靠准确的数据支撑，为制备左旋龙脑及开发食品调味料提供参考。

参考文献

- [1] Sakee U, Maneerat S, Cushnie T T P, et al. Antimicrobial activity of *Blumea balsamifera* (Lin.) DC. extracts and essential Oil [J]. Natural Products Research, 2011, 25: 1848-1856
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of The People's Republic of China [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2010
- [3] 夏稷子, 彭金咏, 赵智, 等. 气相色谱法测定艾纳香中左旋龙脑的研究[J]. 中成药, 2011, 33(12): 2188-2189
XIA Ji-zing, BENG Jin-yong, ZHAO Zhi, et al. Study of determination of L-borneol in *Blumea balsamifera* (L.) DC. by GC [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2011, 33(12): 2188-2189
- [4] 夏稷子, 赵智, 邓言欢, 等. 黔产艾纳香药材质量研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2244-2245
XIA Ji-zing, ZHAO Zhi, DENG Yan-huan, et al. Study on quality of *Blumea balsamifera* (L.) DC. from Guizhou

- province [J]. Lishizhen Medicine and Material Medica Research, 2012, 23(9): 2244-2245
- [5] 盛金凤,姜元欣,刘小玲.熏制即食罗非鱼片加工过程中的挥发性成分分析[J].现代食品科技,2013,29(12):3038-3045
SHENG Jin-feng, JIANG Yuan-xin, LIU Xiao-ling. Analysis of volatile compounds in the processing of instant smoked tilapia [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(12): 3038-3045
- [6] Ye Q, Deng C H. Determination of camphor and borneol in *Flos Chrysanthemi Indici* by UAE and GC-FID [J]. Journal of Chromatographic Science, 2009, 47: 287-290
- [7] Ye Q, Deng C H. Determination of camphor and borneol in traditional Chinese medicines by microwave-assisted extraction and Gas chromatography with flame ionization detector [J]. Analytical Letters, 2008, 41: 2387-2401
- [8] Dong L, Wang J Y, Deng C H, Shen X Z. Gas chromatography-Mass spectrometry following pressurized hot water extraction and solid-phase microextraction for quantification of eucalyptol, camphor, and borneol in *Chrysanthemum* flowers [J]. Journal of Separation Science, 2007, 30: 86-89
- [9] Valero E, Sanz J, Martinez-Castro I. Direct thermal desorption in the analysis of cheese volatiles by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry: comparison with simultaneous distillation-extraction and dynamic headspace [J]. Journal of Chromatographic Science, 2001, 39: 222-228
- [10] Djozan D, Jouyban A, Norouzi J. Ultrasonic assisted SPME coupled with GC and GC-MS using pencil lead as a fiber for monitoring the organic volatile impurities of ceftazidime [J]. Journal of Chromatographic Science, 2008, 46: 680-685
- [11] Ghasenzadeh-Mohammadi V, Mohammadi A, Hashemi M, et al. Microwave-assisted extraction and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish [J]. Journal of Chromatograph A, 2012, 1237: 30-36
- [12] 江兴龙,潘俊锋,司健,等.贵州艾纳香产地采收提取艾粉技术研究[J].生物质化学工程,2006,40(1):17-20
JIANG Xing-long, PAN Jun-feng, SI Jian, et al. The *Blumea balsamifera* powder: Technical research of reaping and abstracting in plantation area [J]. Biomass Chemical Engineering, 2006, 40: 17-20