

文章编号: 1003-9015(2011)05-0897-07

水蒸汽蒸馏法提取湿地松松针中挥发油和莽草酸的研究

谢济运^{1,2}, 陈小鹏¹, 李志荣¹, 陈芳¹, 粟本超¹

(1. 广西大学 化学化工学院, 广西 南宁 530004; 2. 柳州师范高等专科学校, 广西 柳州 545004)

摘要: 采用水蒸汽蒸馏法提取了湿地松松针中挥发油和莽草酸,用高效液相色谱仪测定提取物中莽草酸的含量。通过单因素实验和正交试验,确定水蒸汽蒸馏法提取莽草酸的最佳工艺条件是: 松针粒度为40目、料液比(W/V)为1:12、浸泡时间为6 h、提取时间为4 h, 莽草酸的得率为1.32%。利用气相色谱-质谱(GC/MS)联用技术对松针挥发油的化学成分进行分析,从湿地松松针挥发油中分离出133种化学成分,鉴定了其中的37种成分,占挥发油总离子流的88.33%。挥发油的主要成分有 β -蒎烯(15.08%)、大根香叶烯(14.31%)、 α -蒎烯(8.67%)、 β -石竹烯(9.82%)、3-蒎烯(5.49%)、 τ -依兰油醇(5.33%)、杜松烯(4.98%)、 α -杜松醇(3.77%)、 γ -榄香烯(3.47%)、 α -石竹烯(2.13%),湿地松松针水蒸汽蒸馏挥发油总得率为0.315%。该研究为深度开发松针药用资源提供了依据。

关键词: 湿地松针; 莽草酸; 高效液相色谱; 水蒸汽浸提法; 正交试验; 气相色谱-质谱

中图分类号: O658.3; S791.246; TQ91

文献标识码: A

Study on Extraction of the Volatile Oil and Shikimic Acid from *Pinus Elliottii* Engelm Needles by Steam Distillation

XIE Ji-yun^{1,2}, CHEN Xiao-peng¹, LI Zhi-rong¹, CHEN Fang¹, SU Ben-chao¹

(1. School of Chemistry & Chemical Engineering, Guangxi University, Nanning 530004, China;

2. Department of Chemistry & Life Science, Liuzhou Teacher College, Liuzhou 545004, China)

Abstract: The volatile oil and shikimic acid can be extracted from *pinus elliottii* engelm needles by means of steam distillation, and the content of shikimic acid can be determined by high performance liquid chromatography (HPLC). By the single-factor experiments and orthogonal test, the optimum extraction conditions were confirmed as follows: the granularity of *pinus elliottii* engelm is 40 mesh, solid-liquid ratio (W/V) is 1 : 12, the soaking time is 6 h and the extracting time is 4 h; under above extracting conditions, the extraction ratio of the shikimic acid is 1.32%. 133 chemical components were identified from the volatile oil extracted from the *pinus elliottii* engelm needles when it was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); of which 37 elements covering 88.33% of the total volatile oil ion current were identified. The principle components of the volatile oil are as follows: β -Pinene (15.08%), Germacrene (14.31%), α -Pinene (8.67%), β -Caryophyllene (9.82%), 3-Carene (5.49%), τ -Murolene (5.33%), Cadinene (4.98%), α -cadinol (3.77%), γ -Elemene (3.47%) and α -Caryophyllene (2.13%). The total oil productivity of the volatile oil of *pinus elliottii* engelm needles is 0.315%. This study could provide the base for deeper development of the pine needle medicinal resources.

Key words: *pinus elliottii* engelm; shikimic acid; high performance liquid chromatography; steam distillation; orthogonal test; gas chromatography-mass spectrum

1 引言

松树是我国亚热带南部潮湿地区分布最广、资源最大的树种。松针采集最为方便,用药历史悠久,

收稿日期: 2010-05-03; 修订日期: 2010-11-17。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20976031, 31060102); 广西自然科学基金资助项目(0991030); 广西研究和教育创新计划项目(2008105930817M46); 广西教育厅科学研究项目([2006]26)。

作者简介: 谢济运(1966-), 男, 广西柳州人, 柳州师范高等专科学校高级实验师, 广西大学在职硕士生。通讯联系人: 陈小鹏, E-mail: hilm@gxu.edu.cn

其最早入药记载于《名医别录》：“松叶，味苦温，主治风湿痹气，生毛发，安五脏，守中，不饥，延年。”现代研究表明，松针具有镇痛、抗炎、镇咳、祛痰、抗突变、降血脂、降血压、抑菌等作用^[1]，近年来医学临床上用来治疗感冒、咳嗽、腹痛肠炎、高血压、癌症等，其利用价值日益受到重视。

松针含有丰富的莽草酸^[2-4]。现代药理学研究证明，莽草酸具有镇痛和抑制血小板聚集作用^[5-8]，是抗癌药物中间体；它还是许多生物碱、芳胺酸、吲哚衍生物和手性药物合成的关键前体。莽草酸的最新应用是作为制造抗流感药物“达菲”的重要原料，该成分可以防止感冒病毒在人体细胞内成长。目前全世界的莽草酸主要来自中国产的八角茴香籽，对莽草酸的研究也主要集中在木兰科八角属植物上^[9-11]，对松针中莽草酸的提取研究较少^[3,8]。由于禽流感、猪流感的流行，导致达菲的供应量在全球非常紧缺，究其原因，主要是提取莽草酸的八角茴香籽资源无法满足市场需要，因而开发利用莽草酸的先决条件必须是多渠道解决莽草酸的来源问题。

松针中还含有丰富的精油，主要成分为萜烯、萜醇、醚、酮、酚和酚脂，其应用广泛，除用作香料和合成香料的原料外，还可用作树胶、树脂、油类、纤维素醚等溶剂，矿物质的浮选剂，酒精的变性剂，消泡剂，湿润剂，杀菌剂以及纺织品的加工等^[12]。松针精油的研究也越来越受到重视，精油组分及含量因树种以及生长环境的不同而有较大差异。以往所采用的主要是传统的水蒸汽蒸馏工艺提取^[13-16]，收集300~400 mL 馏出液中水相占绝大部分而少量的油相部分作为精油产品，由于馏出液较多，仅检测到含量高的化合物主要是单萜和倍半萜，而微溶于水相的挥发性组分检测不出。本文采用水蒸馏浸提法同时提取湿地松松针中挥发油和浸提物莽草酸，采用将油水预分离水相返回再蒸馏，最后收集的馏出液只有40~50 mL，由于馏出液总量减少，则微溶于水相的精油成分很少，因此对松针挥发油组分检测较全面，如 τ -依兰油醇(5.33%)、 α -杜松醇(3.77%)等含量较高。

2 实验部分

2.1 试验材料

湿地松松针采自广西生态工程职业技术学院林场，采集时间：2007年4月。将新鲜湿地松松针经去杂处理以后清水漂洗除去叶面灰尘并及时沥干水分，鼓风干燥，储存于广口瓶中备用。

2.2 仪器及试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦仪器公司)；1102 型气相色谱仪(上海分析仪器厂产品,配FID 检测器)；GC/MS-QP5050A 型气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司产品,配有 Nist 数据库)；JY10001 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)；FW80 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)；KDM 型调温电热套(山东振兴仪器厂)；TD 调温万用电炉(巩义英峪予华仪器厂)；远红外快速恒温干燥箱(上海跃进医疗器械厂)；水蒸汽蒸馏装置(自装)；减压水浴浓缩装置(自装)。

莽草酸对照品(四川维克奇生物科技有限公司，含量为98%)，正丁醇、磷酸、氢氧化钠均为分析纯。

2.3 挥发油及莽草酸的提取

准确称取一定量干湿地松样品，放入2000 mL 三颈瓶中，按比例加入蒸馏水浸泡一定的时间后，在自制的水蒸汽蒸馏装置中提取一定的时间，控制温度以控制馏出水速，保持3~4 滴·s⁻¹，在这过程中，用分液漏斗收集蒸馏出来的油和水，将水相倒回三颈瓶中循环蒸馏。油相为具有清香气息的微黄色油状液。提取结束后油水分离，油相用无水硫酸钠干燥，得油率0.315%；于0~5℃下保存，待分析。

提取结束后，将三颈瓶中的松针及溶液趁热减压过滤，冷却，再对滤液进行离心分离，分离后再减压过滤，合并提取液过滤，取滤液部分经石油醚萃取去脂和色素后真空浓缩成60~80 mL 浓缩液，冷却，将浓缩液倒入100 mL容量瓶中加入蒸馏水定容。

从容量瓶中移取2 mL 滤液放入50 mL 小烧杯中，再移取8 mL 蒸馏水将其稀释，然后对该溶液进行纯化，纯化步骤为：

(1) 在上述10 mL 溶液中加入等体积的水饱和正丁醇萃取四次；

(2) 取正丁醇相, 加入等体积的 5%NaOH 溶液萃取四次;

(3) 取水相, 滴加盐酸进行酸化, 调 pH 值至中性。将纯化后的溶液浓缩, 移到 25 mL 容量瓶中, 定容后待用。

取 5 mL 上述溶液, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液进样, 外标一点法测定含量, 并对测定结果进行 q 检验。检验结果表明各条件间无显著性差异, 样品供试液的制备采用上述步骤。取 5 mL 制备液, 以 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 滤液作为样品供试液。

2.4 莽草酸的测定

2.4.1 高效液相色谱条件

Agilent 1100 型高效液相色谱仪, DAD 检测器, 化学工作站。色谱柱: Alltima NH_2 (5 μm , 4.6 mm $\times$ 150 mm); 流动相: 乙腈-2% H_3PO_4 (90:10); 流速: 1 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 测定波长 213 nm, 带宽 16 nm; 参比波长 300 nm, 带宽 80 nm; 柱温: 30 $^\circ\text{C}$; 柱效以莽草酸计, 理论塔板数应不低于 5400。

2.4.2 标准曲线的绘制

精密称取 98% 的莽草酸对照品适量, 加蒸馏水溶解制成每 1 mL 含莽草酸约 0.3 mg 的溶液, 对照品溶液经 0.45 μm 孔径滤膜过滤后待用。

将配制好的莽草酸标样作为对照品溶液。精密吸取对照品溶液 1、2、4、6、8、10 μL 进样, 按 2.4.1 节色谱条件测定色谱峰峰面积, 莽草酸对照品在不同进样量时的峰面积如表 1 所示。

由表 1 可见, 莽草酸对照品的峰面积随着进样量的增加而增大。以色谱峰峰面积对对照品的进样量回归(包括原点), 可得回归方程为 $y = 71.372 + 805.95x$, $r = 0.9992$ 。其线性范围为 0.33~3.3 $\mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$, 可用外标一点法测定。

2.4.3 样品的测定

按 2.3 节样品液制备方法制备各样品供试液, 精密吸取样品供试液 5~15 μL , 莽草酸对照品溶液 10 μL , 分别进入高效液相色谱仪, 测定色谱峰峰面积, 从回归方程中算出莽草酸浓度, 并换算出湿地松松针干样中莽草酸的平均含量。

2.4.4 分析误差校验

精密度实验: RSD 为 0.863%($n = 6$), 表明具有较好的精密度; 待测液稳定性实验: RSD 为 0.851%($n = 6$), 结果表明样品供试品溶液在 24 h 内稳定; 操作过程稳定性实验: RSD 为 1.039%($n = 5$); 加样回收实验: $n = 5$, 平均回收率为 98.5%, RSD 为 0.85%。

2.5 挥发油的测定

2.5.1 气相色谱条件分析

对松针挥发油进行 GC/MS 分析前, 利用 1102 型气相色谱仪检验松针挥发油在 DB-5 毛细管柱上的分离效果, 同时探索松针挥发油的 GC 分析条件。

色谱柱: J&W DB-5 弹性石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm)^[17,18]; 升温程序: 60 $^\circ\text{C}$ (保持 1 min) $\xrightarrow{2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 80 $^\circ\text{C}$ $\xrightarrow{3^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 150 $^\circ\text{C}$ $\xrightarrow{6^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 250 $^\circ\text{C}$ (保持 15 min); 汽化室和检测器温度 250 $^\circ\text{C}$; 载气(N_2)流速 30 mL $\cdot\text{min}^{-1}$; 压力 50 kPa; 进样量 0.3 μL ; 分流比 50:1。

松针挥发油各组分的相对含量由色谱数据处理机根据色谱图按峰面积归一化法计算, 未进行响应因子校正。

2.5.2 气相色谱/质谱条件分析

色谱柱: J&W DB-5ms(30 m $\times$ 0.32 mm $\times$ 0.25 μm); 升温程序: 60 $^\circ\text{C}$ (保持 1 min) $\xrightarrow{2^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 80 $^\circ\text{C}$ $\xrightarrow{3^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 150 $^\circ\text{C}$ $\xrightarrow{6^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 260 $^\circ\text{C}$ (保持 5 min); 汽化室温度 270 $^\circ\text{C}$; 检测器温度 250 $^\circ\text{C}$; 载气(He)流速 30

表1 莽草酸对照品在不同进样量时的峰面积
Table 1 The peak area of shikimic acid reference substance in different quantities of sample

No.	1	2	3	4	5	6
Sample volume / μL	1	2	4	6	8	10
Areas of sample peak	837.85	1660.7	3291.0	5004.3	6640.3	8013.9

$\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; 压力 50 kPa; 进样量 0.3 μL ; 分流比 20:1。

质谱条件: 电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 倍增电压 1.2 kV; 质量扫描范围 $\text{m}\cdot\text{z}^{-1}$ 35~800; 扫描间隔 0.5 s。

按照峰面积归一化法计算各组分在挥发油中的相对百分含量^[14,15]。

2.5.3 挥发油的测定

根据 2.3 节方法提取挥发油, 按 2.5.1 节气相色谱条件分析及 2.5.2 节气相色谱/质谱条件分析测定挥发油的组成。

3 结果与分析

3.1 莽草酸提取的单因素实验

为了使正交实验在较好的因素水平中进行, 先进行单因素实验, 然后根据单因素实验选出各因素中比较好的水平进行正交实验。

3.1.1 料液比对莽草酸得率的影响

在松针粒度为 40 目, 浸泡时间为 6 h, 提取时间为 4 h 条件下, 分别进行料液比($\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)为 1:3、1:6、1:9、1:12、1:15 五个水平的实验, 研究料液比对莽草酸得率的影响, 结果如图 1 所示(图中横坐标中刻度 3 表示为料液比 1:3, 依次类推)。

由图 1 可见, 随着料液比的增大, 松针中莽草酸的得率也随着增大, 但在料液比达到 1:12 以后, 得率又开始下降。从料液比 1:12 以后, 得率增加不明显。其原因是料液比过小时, 水不能有效润湿样品, 不足以提取松针中的莽草酸, 而料液比过大时, 理应是能达到较好的提取效果, 但在后续的减压浓缩过程中会损失一定的松针的有效成分。因而, 选择料液比 1:12 为宜。

3.1.2 松针长度对莽草酸得率的影响

在料液比为 1:12, 浸泡时间为 6 h, 提取时间为 4 h 的条件下, 分别进行松针长度为未剪的松针、约 1 cm 长的松针、0.4~0.6 cm 长的松针、0.2~0.4 cm 长的松针、40 目左右的松针五个水平的实验, 研究松针长度对莽草酸得率的影响。结果如表 2 所示。

由表 2 可见, 松针长度越短, 松针的莽草酸的得率也就越大。其原因是松针越短, 松针细胞被破坏的程度越大, 其化学成分也就越容易被溶剂水浸提出来。由于松针经高速万能粉碎机粉碎后能达到最佳提取效果是毋庸置疑的, 而进一步粉碎难度加大, 因而选择松针粒度 40 目为宜。

由于松针经高速万能粉碎机粉碎后能达到最佳提取效果是毋庸置疑的, 而进一步粉碎难度加大, 因而选择松针粒度 40 目为宜。

3.1.3 提取时间对莽草酸得率的影响

在松针粒度为 40 目, 在料液比为 1:12, 浸泡时间为 6 h 的条件下分别进行提取时间为 1、2、3、4、5 h 五个水平的实验, 研究提取时间对莽草酸得率的影响。结果如图 2 所示。

由图 2 可见, 随着提取时间的延长, 松针的莽草酸的得率也逐渐增大。但提取时间在 4 h 以后, 得率又有所减少, 但减少的幅度不是很大。其原因是开始时提取时间很短, 松针中的化学成分与溶剂水还未达到溶解平衡的状态, 松针中有效成分得不到充分的溶解, 所以松针中莽草酸的得率偏低, 随着提取时间的延长, 松针中化学成分与水达到溶解平衡, 得到最佳提取效果, 如果提取时间超过 4 h, 提取出的杂质质量总是随提取时间增加而增加的, 给过滤和收集莽草酸带来困难, 处理时莽草酸有所损失而导致得率偏低。因而, 选择提取时间 4 h 为宜。

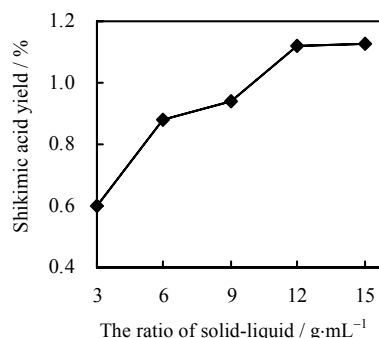


图 1 料液比对莽草酸得率的影响

Fig.1 The effect of different solid-liquid ratios on the shikimic acid extraction

表 2 松针长度对莽草酸得率的影响

Table 2 The effect on the shikimic acid extraction rate with different lengths of pine needle

No.	1	2	3	4	5
Length of pine needle / cm	20	1	0.4~0.6	0.2~0.4	0.05
Shikimic acid yield / %	0.79	0.86	0.95	0.98	1.11

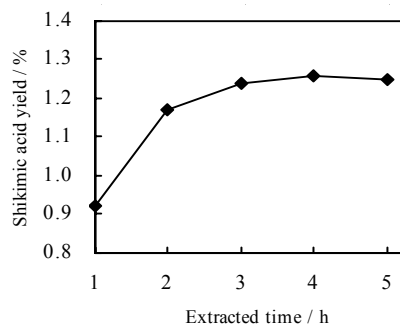


图 2 提取时间对莽草酸得率的影响

Fig.2 The effect of different times of extracted on the shikimic acid extraction rate

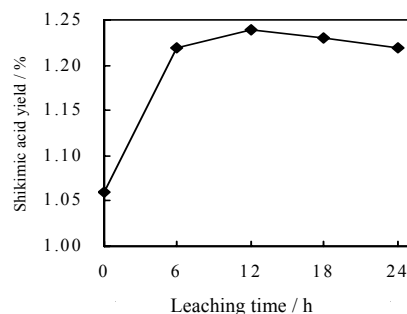


图 3 浸泡时间对莽草酸得率的影响

Fig.3 The effect of different soaking times on the shikimic acid extraction rate

3.1.4 浸泡时间对莽草酸得率的影响

在松针粒度为 40 目左右, 料液比为 1:12, 提取时间为 4 h 的条件下, 分别进行浸泡时间为 0、6、12、18、24 h 五个水平的实验, 研究浸泡时间对莽草酸得率的影响。结果如图 3 所示。

由图 3 可见, 随着浸泡时间的延长, 松针的莽草酸的得率也逐渐增大, 而增大的幅度不是很大。但在浸泡时间为 12 h 以后, 莽草酸的得率有所下降, 而其下降的趋势也很小。其原因用溶剂水浸泡松针, 这时水穿过固液界面, 生物膜, 渗透到松针细胞内, 使得松针中的化学成分及莽草酸溶入到溶剂中, 在松针细胞内外形成浓度差, 有利于松针化学成分的传质, 然而在料液比确定的情况下, 在一定的浸泡时间内, 松针细胞内外已达到浓度平衡, 如再延长浸泡时间, 其效果就不是很明显了。同时提取出的杂质量随浸泡时间增加而增加, 处理时莽草酸有所损失而导致得率偏低。因此, 选择浸泡时间 6 h 为宜。

3.2 莽草酸提取的正交试验

通过单因素条件的测定表明, 料液比、提取时间、浸泡时间等对湿地松松针中莽草酸得率均有影响。为了寻找适宜的工艺条件采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表, 对料液比、提取时间、浸泡时间进行研究。正交实验因素水平表如表 3 所示。莽草酸的得率实验结果见表 4。

由正交实验所得的最佳提取工艺条件: 松针粉碎至 40 目左右, 料液比 1:14, 提取时间 5 h, 浸泡时间 12 h。其中料液比 1:14, 提取时间 5 h, 浸泡时间 12 h 与前面单因素所确定的工艺条件不一致。其实, 在做料液比单因素实验时, 料液比 1:12 和 1:15 所得的莽草酸的提取率也很接近, 分别为 1.01% 和 0.98%, 而料液比 1:14 是其中间值, 很接近料液比 1:12 所得莽草酸的提取率; 在做提取时间单因素实验时, 提取时间 4 h 和 5 h 所得的莽草酸的提取率也是相差不大, 分别为 1.29% 和 1.26%; 在做浸泡时间单因素实验时, 浸泡时间 6 h 和 12 h 所得的莽草酸的提取率也是相

表 3 正交试验因素水平表

Table 3 Orthogonal experiment program

Level	Solute:solvent(A) / g·mL ⁻¹	Extracted time(B) / h	Soaking time(C) / h
1	1:12	5	12
2	1:10	4	18
3	1:14	3	6

表 4 正交试验结果

Table 4 The results of orthogonal experiment

Test No.	Factors				Shikimic acid yield / %
	A/g·mL ⁻¹	B / h	C / h		
1	1(1:12)	1	1(5)	1(12)	1.25
2	1	2	2(4)	2(18)	1.02
3	1	3	3(3)	3(6)	1.11
4	2(1:10)	1	2	3	1.13
5	2	2	3	1	1.07
6	2	3	1	2	1.01
7	3(1:14)	1	3	2	1.26
8	3	2	1	3	1.21
9	3	3	2	1	1.27
K ₁	3.38	3.64	3.47	3.59	
K ₂	3.21	3.30	3.42	3.29	
K ₃	3.74	3.39	3.44	3.45	
R	0.53	0.34	0.05	0.30	

差不大。若同时考虑电能、物质的用量和其它经济效益的情况下, 宜采用松针粉碎至 40 目左右、料液比为 1:12, 提取时间为 4 h, 浸泡时间为 6 h。

3.3 验证实验

为验证最终优化方案,重复进行2次试验,得率均稳定在1.32%左右,说明本试验所选择的工艺条件是适宜的。

3.4 挥发油的GC—MS分析

湿地松松针挥发油经GC-MS测定,并与NIST数据库检出的标准图谱进行对照,再结合相关文献^[14,20]进行人工核对,确认松针挥发油中的各个化学成分,而成分的定量采用峰面积归一法。松针挥发油分离出133个峰,其中37种化合物的含量和相似度较高,其含量占总离子流的88.33%,其余组分由于含量太低(小于0.3%)或相似度较差,不予讨论。鉴定出37种松针挥发油主要化学成分如表5所示。

由表5可知,湿地松松针挥发油的37种主要化学成分中,单萜化合物7种、倍半萜化合物10种、酯类化合物4种、醇类化合物13种、氧化物2种、酮类化合物1种,分别占挥发油总量的31.88%、39.13%、2.57%、13.23%、1.96%和0.01%,湿地松松针挥发油中含量高的单萜化合物是 α -蒎烯(8.67%)、 β -蒎烯(15.08%)和3-蒎烯(5.49%),含量高的倍半萜主要是 β -石竹烯(9.82%)、大根香叶烯-D(14.31%)、 γ -榄香烯(3.47%)和杜松烯(4.98%)。在鉴定出的醇类及酯类化合物中, α -杜松醇(3.77%)、 τ -依兰油醇(5.33%)和乙酸龙脑酯(1.14%)含量较高。

4 结 论

(1) 莽草酸是一种极性比较大的有机酸,本试验采用常规的常压水蒸汽蒸馏法从湿地松松针中提取莽草酸粗提液,利用水作为浸提剂的优点是浸提效率高、生产成本低、无毒性、对环境无污染,而且对生产设备要求比较低,在实际的工业生产常采用。通过单因素、正交实验,考察了各因素对莽草酸提取效果的影响,确定最佳工艺条件为:松针粒度40目左右,料液比1:12,提取时间4h,浸泡时间6h。重复验证实验莽草酸的得率均稳定在1.32%左右。

(2) 采用水蒸汽蒸馏法提取湿地松松针中莽草酸的同时在梨形漏斗收集得挥发油,不断地进行油水预分离,水相返回三颈瓶循环蒸馏,最后收集的馏出液只有40~50 mL,分离得到的挥发油组分较全面。如 τ -依兰油醇(5.33%)、 α -杜松醇(3.77%)等含量较高。挥发油得油率达到为0.315%。

表5 柳州湿地松松针挥发油的主要化学成分
Table 5 The main chemical components of volatile oils in leaves of *pinus elliottii engelm* from Liuzhou

Compound	Formula	Peak No.	Content / %	Similarity / %
α -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	2	8.67	95
Camphene	C ₁₀ H ₁₆	3	0.63	96
β -Pinene	C ₁₀ H ₁₆	4	15.08	97
β -Myrcene	C ₁₀ H ₁₆	5	0.91	94
α -Phellandrene	C ₁₀ H ₁₆	6	0.11	90
3-Carene	C ₁₀ H ₁₆	9	5.49	91
Terpinolene	C ₁₀ H ₁₆	14	0.99	96
β -Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	16	0.12	91
Fenchol	C ₁₀ H ₁₈ O	17	0.09	93
Pinocarveol	C ₁₀ H ₁₆ O	19	0.13	89
Camphor	C ₁₀ H ₁₆ O	20	0.01	93
α -Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	24	0.09	81
Borneol	C ₁₀ H ₁₈ O	25	0.10	92
1-Terpinen-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	27	0.12	88
α -Terpineol	C ₁₀ H ₁₈ O	29	1.98	94
Acetic acid linalool ester	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	34	0.88	92
Bornyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	39	1.14	92
Unknown	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	47	0.05	
Copaene	C ₁₅ H ₂₄	49	0.25	95
β -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	52	1.07	94
β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	55	9.82	93
4,11,11-Trimethyl-8-methylene-bi-cyclo[7.2.0]undec-4-ene	C ₁₅ H ₂₄	57	0.36	91
α -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	59	2.13	95
Germacrene D	C ₁₅ H ₂₄	61	14.31	88
γ -Elemene	C ₁₅ H ₂₄	64	3.47	90
α -Muurolene	C ₁₅ H ₂₄	65	0.84	90
7-Methyl-4-methylene-1-(1-methylethyl)-1, 2, 3, 4, 4a, 5, 6, 8a-octahydro naphthalene	C ₁₅ H ₂₄	68	1.90	95
Cadinene	C ₁₅ H ₂₄	69	4.98	88
Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	76	0.23	96
Isoaromadendrene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	77	1.18	85
Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	78	0.78	88
Cubenol	C ₁₅ H ₂₆ O	86	0.28	87
τ -Muurolol	C ₁₅ H ₂₆ O	87	5.33	90
α -Cadinol	C ₁₅ H ₂₆ O	89	3.77	94
cis-Lanceol	C ₁₅ H ₂₄ O	91	0.16	83
Farnesol	C ₁₅ H ₂₆ O	98	0.83	96
Phenylethyl ester benzoic acid	C ₁₅ H ₁₄ O ₂	103	0.43	95
Methyl abietate	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	126	0.12	87

参考文献:

- [1] LI Ping(李萍), LIU You-ping(刘友平). Research developing of pine needle(松针的研究进展) [J]. **Journal of Chengdu University of TCM**(成都中医药大学学报), 2001, 24(3): 49-50.
- [2] BI Yue-feng(毕跃峰), ZHENG Xiao-ke(郑晓珂), LIU Hong-min(刘宏敏), *et al.* Studies on chemical constituents from pine needles of *Pinus massoniana* Lamb(马尾松松针化学成分的研究) [J]. **Acta Pharm Sina**(药学学报), 2001, 36(11): 832-835.
- [3] CHEN Xiao-yi(陈骁熠), YUAN Li(袁利), WANG Min(王敏), *et al.* Analysis on the content of shikimic acid in masson pine, oriental arborvitae and star anise(马尾松、侧柏和八角茴香中的莽草酸含量分析) [J]. **Hubei Agricultural Sciences**(湖北农业科学), 2009, 48(5): 1238-1240.
- [4] WANG Hong(汪红), BIAN Qing-quan(边清泉). Determination of shikimic acid in *cedrus deodara* roxb.Gdon.by RP-HPLC(雪松叶中莽草酸的RP-HPLC测定) [J]. **Chinese Journal of Pharmaceuticals**(中国医药工业杂志), 2007, 38(11): 797-798.
- [5] LIN Jie(林洁), LAN Qi-xin(兰琪欣), WEI Ying-fang(韦应芳), *et al.* An experimental study of the extraction procedure of medicinal components from star anise and its analgesic function(八角茴香药用成分的提取及其镇痛作用的实验研究) [J]. **Journal of Youjiang Medical College for Nationalities**(右江民族医学院学报), 2008, 30(2): 195-196.
- [6] Kramer M, Bongaerts J, Bovenberg R, *et al.* Metabolic engineering for microbial production of shikimic acid [J]. **Metabolic Engineering**, 2003, (5): 277-283.
- [7] MA Yi(马怡), SUN Jian-ning(孙建宁), XU Qiu-ping(徐秋萍), *et al.* Inhibitory effects of shikimic acid on platelet aggregation and blood coagulation(莽草酸对血小板聚集和凝血的抑制作用) [J]. **Acta Pharmaceutica sinica**(药学学报), 2000, 35(1): 1-3.
- [8] CHEN Xiao-yi(陈骁熠), LIU Hong-jian(刘红健), WEI Lian(魏莲), *et al.* Separation and purification of shikimic acid in masson pine and determine the antiplatelet-aggregating activity(马尾松中莽草酸分离制备及其抗血小板凝集作用研究) [J]. **Food Research and Development**(食品研究与开发), 2009, 30(7): 55-58.
- [9] HE Xin-hua(何新华), LIU Ling(刘玲), LIU Xing-guo(刘兴国), *et al.* Research on the extraction and purification of shikimic acid from *Illicium verum* Hook. f.(八角茴香中莽草酸提取和纯化工艺的研究) [J]. **Nat Prod Res Dev**(天然产物研究与开发), 2008, 20(5): 914-917.
- [10] LIN Hai-lu(林海禄), ZHU Xia-ping(朱霞萍), PENG Xue-jiao(彭雪娇), *et al.* Extraction and characterization of shikimic acid from *Illicium verum* Hook. f.(八角茴香中莽草酸的微波提取及表征) [J]. **Food Science**(食品科学), 2008, 29(1): 121-123.
- [11] LU Jia-hui(逯家辉), WANG Di(王迪), GUO Wei-liang(郭伟良), *et al.* Optimization of the ultrasound assisted extraction of Shikimic Acid from *Illicium verum* Hook. f. using response surface methodology(响应面法优化八角茴香中莽草酸的超声波提取工艺研究) [J]. **Chemistry and Industry of Forest Products**(林产化学与工业), 2008, 28(1): 87-91.
- [12] SUN Bao-guo(孙宝国). **Daily Chemical industry Dictionary**(日用化工辞典) [M]. Beijing(北京): Chemical Industry Press(化学工业出版社), 2002.
- [13] WANG Ping(王平), KE Min(柯敏), WANG Miao-dong(王妙冬), *et al.* Microwave-Assisted extraction and composition analysis of essential oil from *Rhizoma Curcuma*(微波提取温术挥发油及其成分分析) [J]. **J Chem Eng of Chinese Univ**(高校化学工程学报), 2008, 22(2): 229-233.
- [14] LIU Li-heng(刘力恒), WANG Li-sheng(王立升), BAI Hai-qiang(白海强), *et al.* Extraction and determination of volatile constituents of leaves from *pinus elliottii* engelm needles grown in Guangxi(广西产湿地松松针挥发性成分的提取及分析) [J]. **Chinese Journal of Analysis Laboratory**(分析实验室), 2008, 27(10): 84-87.
- [15] CHEN Hong-mei(陈红梅), GUAN Yue-qing(管月清), SUN Ling-feng(孙凌峰). Studies on chemical constituents of volatile oil the from the needle of *pinus elliottii* engelm(湿地松针叶挥发油化学成分研究) [J]. **Natural Product Research and Development**(天然产物研究与开发), 2001, 13(3): 36-38.
- [16] LI Ping(李萍), LIU Wei-qi(刘伟琦). Analysis of essential oil components from leaves of *pinus massoniana* from sichuan by gas chromatography/mass spectrometry(四川不同产地马尾松针叶挥发油成分的气-质分析) [J]. **Journal of Chengdu University of TCM**(成都中医药大学学报), 2002, 25(2): 20-22.
- [17] WANG Lin-lin(王琳琳), SUN Wen-jing(孙文静), CHEN Xiao-peng(陈小鹏). Study on catalytic disproportionation of pine gum over Pd/C(Pd/C 上松脂催化歧化反应的研究) [J]. **J Chem Eng of Chinese Univ**(高校化学工程学报), 2007, 21(5): 784-789.
- [18] WANG Lin-lin(王琳琳), XU Xu(徐徐), CHEN Xiao-peng(陈小鹏). Catalytic isomerization-intermolecular hydrogen transfer of turpentine(松节油催化异构-分子间氢转移反应的研究) [J]. **J Chem Eng of Chinese Univ**(高校化学工程学报), 2008, 22(5): 809-815.
- [19] SHEN Chang-mao(申长茂), DUAN Wen-gui(段文贵), CEN Bo(岑波), *et al.* Comparison of chemical components of essential oils in needles of *Pinus massoniana* Lamb and *Pinus elliottii* Engelm from Guangxi(广西产马尾松与湿地松针叶精油化学成分的比较) [J]. **Chinese Journal of Chromatograph**(色谱), 2006, 26(6): 619-624.
- [20] HUI Rui-hua(回瑞华), HOU Dong-yan(侯冬岩), LIU Xiao-yuan(刘晓媛), *et al.* Analysis of volatile components from leaf twigs in *Biota Orientalis* with different extraction methods by gas chromatography-mass spectrometry(不同方法提取侧柏叶中挥发性成分的气相色谱-质谱分析) [J]. **Journal of Chinese Mass Spectrometry Society**(质谱学报), 2006, 27(4): 226-231.