

超临界 CO₂ 流体萃取桂枝的工艺研究岳红坤¹, 王娟¹, 睦晓哲¹, 张兰桐^{2*}

(1. 石家庄学院化工学院, 河北 石家庄 050035; 2. 河北医科大学药学院, 河北 石家庄 050015)

摘要:目的 对超临界 CO₂ 流体萃取桂枝的工艺条件进行优化。方法 选取萃取温度、萃取压力、萃取时间为因素,以挥发油萃取率为指标,采用正交试验对萃取方法进行优选。结果 最佳工艺条件为 40 °C, 25 MPa, 萃取 4 h。

结论 超临界 CO₂ 流体萃取桂枝挥发油工艺合理,可行。

关键词:桂枝;挥发油;桂皮醛;超临界 CO₂ 流体萃取;高效液相色谱

桂枝为樟科植物桂枝 *Cinnamomum cassia* Presl 的干燥嫩枝,主产于广东、广西及云南省。春、夏二季采收,除去叶,晒干或切片晒干,生用。辛、甘,温,归心、肺、膀胱经,发汗解肌,温通经脉,助阳化气。其主要有效物质之一是挥发油,油中主要含桂皮醛。另外尚含有酚类、有机酸、多糖、苷类、香豆精及鞣质等^[1]。桂枝的挥发油提取方法目前报道较多的有超临界 CO₂ 萃取法^[2] 与水蒸气蒸馏法^[3]。为了确定桂枝挥发油的最优提取工艺路线和条件,本实验以桂皮醛的质量分数和挥发油得率为指标,采用正交试验考察出超临界 CO₂ 萃取的最佳工艺条件。

1 仪器及药品

LC-10A Tvp 高效液相色谱仪(LC-10A Tvp 二元泵, DGU-14A 脱气机, SPD-10AVvp 检测器, SIL-10Advp 自动进样器, CLASS-VP 化学色谱工作站), FA2004N 电子天平(上海精密科学仪器有限公司), HA121-50-02 超临界萃取仪(江苏南通华安超临界萃取有限公司), SW100 高速万能粉碎机。

乙腈(色谱纯), 甲醇(色谱纯) 其他试剂均为分析纯, 双蒸水, 微孔滤膜(0.45 μm); 桂枝(由石家庄市糖尿病医院提供, 经鉴定符合《中国药典》2005 年版桂枝药材项下规定, 鉴定人: 蔡明来), 桂皮醛对照品(中国药品生物制品检定所, 批号 111710-200513)

2 方法与结果

2.1 桂枝挥发油的提取: 称取粉碎后桂枝药材 100 g 投入萃取釜中, 分别对萃取釜、分离釜、进行加热, 使分离釜 温度保持 40 °C, 萃取釜 温度保持 45 °C, 分离釜、压力均为 4~4.5 MPa。当温度

达到要求时开启 CO₂ 钢瓶, 通过加压泵对系统加压, 进行提取。

2.2 超临界 CO₂ 萃取单因素影响考察: 以 2 和 4 h 挥发油萃取率为考察目标, 分别研究了萃取压力、萃取温度、分离温度、粒径对萃取率的影响。

2.2.1 萃取压力的影响: 固定萃取温度、分离温度及物料粒径, 改变萃取压力, 考察萃取压力对挥发油萃取率的影响, 结果见表 1。

表 1 不同萃取压力对萃取率的影响

Table 1 Effects of different extracting pressures on yield

萃取压力/MPa	2 h 萃取率/ %	4 h 萃取率/ %
15	1.1	1.3
20	0.5	1.4
25	2.0	3.5
30	1.0	2.1
35	0.9	1.5

2.2.2 萃取温度的影响: 以萃取压力中萃取率最高的压力 25 MPa 为萃取压力, 固定分离温度及物料粒径, 考察不同萃取温度对挥发油萃取率的影响, 结果见表 2。

表 2 不同萃取温度对萃取率的影响

Table 2 Effect of different extracting temperatures on yield

萃取温度/°C	2 h 萃取率/ %	4 h 萃取率/ %
35	1.2	2.2
40	2.0	3.5
45	1.2	1.8

2.2.3 分离温度的影响: 固定萃取压力为 25 MPa, 萃取温度为 40 °C, 物料粒径为 18 目, 改变分离温度, 考察不同分离温度对挥发油萃取率的影响, 结果见表 3。

2.2.4 粒径的影响: 固定萃取压力为 25 MPa, 萃取温度为 40 °C, 分离温度为 45 °C, 改变物料粒径, 考

* 收稿日期: 2009-04-24

作者简介: 岳红坤(1970—), 女, 河北省石家庄市人, 石家庄学院讲师, 硕士, 从事药物制剂学的教学、科研工作, 已发表论文 10 余篇。
Tel: (0311) 85961845 E-mail: yuehongkuna@163.com

察不同粒径对萃取率的影响,结果见表 4。

表 3 不同分离温度对萃取率的影响

Table 3 Effects of different separating temperatures on yield

分离温度/	2 h 萃取率/ %	4 h 萃取率/ %
40	2.1	2.5
45	2.0	3.5
50	1.1	1.9

表 4 不同粒径对萃取率的影响

Table 4 Effect of different particle diameters on yield

粒径/目	2 h 萃取率/ %	4 h 萃取率/ %
未粉碎	0.2	0.3
12	1.0	1.2
18	2.0	3.5

2.3 因素水平的确定:单因素试验分别考察了萃取温度、萃取压力、分离温度、分离压力、药材粒径的影响,其中以萃取温度、萃取压力、分离温度对挥发油萃取率的影响最大,因此选择以上 3 个因素作为考察因素,因素水平见表 5。

表 5 因素与水平

Table 5 Factors and levels

水平	因素		
	A 萃取压力/ MPa	B 萃取温度/	C 分离温度/
1	15	35	40
2	25	40	45
3	35	45	50

2.4 桂皮醛的测定^[4,5]

2.4.1 色谱条件:大连伊里特色谱柱;流动相:乙腈-水(35:65),体积流量:1.0 mL/min;检测波长:290 nm;柱温:25。

2.4.2 标准曲线的绘制:精密称取桂皮醛对照品 2.5 mg,加甲醇制成 0.25 μg/mL 的溶液,作为对照品溶液。分别吸取 2、4、6、8 μL 进样,测定峰面积值。以桂皮醛质量为横坐标,峰面积值为纵坐标,计算得回归方程 $Y = 6.0333 \times 10^6 X + 0.4573 \times 10^6$, $r = 0.9998$ 。结果表明桂皮醛在 0.5249 ~ 2.0994 μg 与峰面积呈良好的线性关系。

2.4.3 测定:超临界萃取得到的提取物,用甲醇溶解并定容,经微孔滤膜滤过,精密吸取 2 μL 进样,计算桂皮醛的质量分数。

2.5 正交试验设计与结果^[3]:桂枝中主要的有效成分之一为挥发油,而挥发油中最重要的有效成分为桂皮醛。采用超临界流体萃取得到的桂枝挥发油的质量(Y_1)与高效液相色谱法测得的挥发油中的桂皮醛的质量分数(Y_2)的乘积,即不同萃取条件下萃取所得桂皮醛的质量为评价指标评价各个不同萃取方法的优劣,结果见表 6。

各因素对实验影响依次为 $A > C > B$,根据正交

试验结果,得到最佳工艺条件 $A_2B_1C_1$,即萃取压力 25 MPa,萃取温度 35,分离温度 40,萃取时间 1 h,而分离压力一般控制在较小的程度,约为 4.5 MPa。

表 6 正交试验结果

Table 6 Results of orthogonal test

试验号	A	B	C	Y_1	Y_2	综合得分 ($Y_1 Y_2$)
1	15(1)	35(1)	40(1)	2.6513	51.74	1.3718
2	15(1)	40(2)	45(2)	1.4336	58.41	0.8374
3	15(1)	45(3)	50(3)	1.3916	44.49	0.6192
4	25(2)	35(1)	45(2)	2.2455	43.57	0.9784
5	25(2)	40(2)	50(3)	1.8717	40.61	0.7600
6	25(2)	45(3)	40(1)	2.4433	38.08	0.9304
7	35(3)	35(1)	50(3)	0.7588	43.86	0.3328
8	35(3)	40(2)	40(1)	1.6819	33.95	0.5711
9	35(3)	45(3)	45(2)	1.1528	36.03	0.4153
K_1	1.4566	2.6830	2.8733	—	—	—
K_2	2.6688	2.1685	2.2311	—	—	—
K_3	1.3192	1.9649	1.7150	—	—	—
R	0.4499	0.2394	0.3861	—	—	—

2.6 桂枝挥发油提取法的比较:将桂枝药材粉碎成细粉,过 18 目筛,60 下干燥 4 h,精密称取桂枝药材 50 g,置挥发油提取器中,加 300 mL 蒸馏水,浸泡 2 h,用电热套加热,回流 8 h,计算萃取率,结果采用水蒸气蒸馏法所得挥发油的最大萃取率为 0.2322%^[3]。超临界萃取法最佳工艺条件为萃取压力 25 MPa,萃取温度 40,分离压力 4.5 MPa,分离温度 40,粒径 18 目,萃取时间 4 h,挥发油萃取率为 3.5%。表明超临界提取法较挥发油提取法所用时间短,萃取率高。

3 讨论

根据理论分析,升高温度,使分子运动加剧,增加了物质的传质系数,提高被萃取物质的挥发度和扩散系数,有利于萃取;增加萃取压力,可以改变超临界流体 CO_2 密度,从而提高其溶解性能;延长萃取时间在一定程度上可以得到较高的出油率但超过一定时间,将增加能耗,挥发油收率亦无太大增加。本实验结果与理论相一致。

本实验曾采用水蒸气蒸馏法制备桂枝挥发油,结果桂皮醛质量分数为 8.5 mg/g($n=3$)。对比数据可知,超临界 CO_2 萃取法优于水蒸气蒸馏法。利用超临界(CO_2)流体做溶剂进行萃取,以其低温萃取和惰性保护气体的特点,防止了敏感性物质的氧化和逸散;且生产周期短,在生产过程中不使用任何有机溶剂,所以萃取物中不含有有机溶剂,保证了萃取物的全天然性。因此超临界 CO_2 萃取法是提取桂

枝挥发油较好的方法。

参考文献:

- [1] 高学敏. 中药学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.
[2] 李卫民,金波,冯毅凡. 中药现代化与超临界流体萃取技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002.

- [3] 霍祥宇,刘方亮,韩朝绘. 正交试验法优选桂枝挥发油的提取工艺[J]. 齐鲁药事,2004,23(08):41-42.
[4] 中国药典[S]. 一部. 2005.
[5] 罗晋萍,田晨,李小民. HPLC 测定桂枝中桂皮醛的含量[J]. 中国中药杂志,2000,25(9):544-545.

姜黄药材及其饮片的 HPLC 指纹图谱比较研究

李敏,田蜜,唐艳萍,齐景梁,谭鄂丽*

(成都中医药大学,四川成都 610075)

摘要:目的 采用 HPLC 法建立并比较姜黄药材及其饮片的 HPLC 指纹图谱。方法 用 HPLC 法,色谱柱为 Welchrom C₁₈ 柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相为乙腈-水,梯度洗脱;体积流量:0.8 mL/min,柱温 25℃;检测波长:270 nm。结果 分别建立了姜黄药材及其饮片的 HPLC 指纹图谱共有模式,并进行了相似度比较。结论 姜黄中各成分均得到了较好的分离,可作为姜黄药材和饮片的专属性指纹图谱;姜黄药材和姜黄饮片的色谱图存在区别,说明炮制对姜黄药材的成分有一定影响。

关键词:姜黄;药材;炮制品;指纹图谱;HPLC

姜黄为姜科植物姜黄 *Curcuma longa* L. 的干燥根茎,具有破血行气,通经止痛之功效,用于胸胁刺痛,闭经,风湿肩臂疼痛,跌扑肿痛^[1]。姜黄为常用传统中药,四川自古为其道地产区,主产于犍为、沐川等地。姜黄主要生物活性成分为姜黄素类和挥发油,其中姜黄素具有重要的经济价值和广泛的药理作用,染色力强且无任何不良作用,广泛用于食品、化妆品行业,是公认的 7 大天然色素之一^[2]。姜黄药材经净制后得到姜黄饮片。本实验根据指纹图谱技术要求,采用 HPLC 法建立姜黄药材及其饮片的指纹图谱,可作为其内在质量控制的评价方法,并比较了姜黄在炮制前后的成分变化,为临床用药的安全可靠有效提供依据。

1 仪器与试剂

Varian 高效液相色谱仪。

去甲氧基姜黄素(质量分数为 98%)、双去甲氧基姜黄素(质量分数为 98%)对照品由成都思科华生物技术有限公司提供,姜黄素(批号 110823-200603)吉马酮(批号 111665-200401)对照品由中国药品生物制品检定所提供,乙腈为色谱纯,用水为重蒸水,其余试剂均为分析纯。

样品来源见表 1、2。药材样品经笔者鉴定均为姜科植物姜黄 *C. longa* L. 的干燥根茎。

表 1 姜黄药材样品的来源

Table 1 Origin samples of Rhizoma Curcumae Longae

编号	产地、来源	采收、购买时间
1	四川省崇州市三江镇宋桥村	2007-12-23
2	四川省崇州市三江镇三桥村	2007-12-23
3	四川省双流县金桥镇舟渡村	2008-01-23
4	四川省乐山市沐川县大楠片区	2007-12-28
5	四川省乐山市犍为县榨鼓乡观塘村四组	2007-12-28
6	四川省乐山市犍为县铁炉乡兴隆村五组	2007-12-28
7	四川省新津县花桥镇焦严村三组	2008-01-02
8	四川省双流县金桥镇金河村	2008-01-02
9	四川省乐山市犍为县榨鼓乡观塘村四组 (当地称为日本姜黄)	2007. 12. 28
10	四川省双流县金桥镇舟渡村(多年生)	2008-01-23
11	缅甸	2008-06
12	四川省双流县	2008-06
13	四川省乐山市	2008-06

2 方法与结果^[3,4]

2.1 色谱条件:Welchrom C₁₈ 色谱柱(250 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈(A)-水(B),梯度洗脱(0~15 min 乙腈比例为 48%~51%;15~27 min 乙腈比例为 51%~52%;27~30 min 乙腈比例为 52%~72%;30~60 min 乙腈比例为 72%~76%;60~62 min 乙腈比例为 76%~78%;62~65 min 乙腈比例为 78%~100%;65~85 min 乙腈比例为 100%);检测波长:270 nm;体积流量:0.8 mL/min;柱温:25℃。

* 收稿日期:2009-05-12

作者简介:李敏,女,四川省成都市人,教授、硕士生导师,长期从事中药材品种质量评价和中药材 GAP 研究。

Tel:13980038316 E-mail:028limin@163.com