

超临界 CO₂ 萃取结合水蒸气蒸馏法 提取柴胡挥发油的工艺优选

谭承佳¹, 马家骅^{2*}, 杨占国^{2,3}, 郭芳芳², 杨亚琼², 索志荣², 杨兴旺³

(1. 绵阳师范学院, 四川 绵阳 621000; 2. 西南科技大学, 四川 绵阳 621010;
3. 四川德培源中药科技开发有限公司, 四川 绵阳 621000)

[摘要] 目的: 优选超临界 CO₂ 萃取联合水蒸气蒸馏法提取柴胡挥发油的工艺条件。方法: 以挥发油得率为指标, 采用正交试验与单因素试验考察萃取釜与分离釜的温度、压力等因素对柴胡挥发油提取工艺的影响, 采用 GC-MS 分析不同方法提取的柴胡挥发油中成分差异性。结果: 最佳工艺条件为 CO₂ 流速约 20 kg·h⁻¹, 萃取釜压力 20 MPa, 温度 35 °C, 分离釜 I 压力 12 MPa, 温度 40 °C, 分离釜 II 压力 6 MPa, 温度 25 °C。水蒸气蒸馏法、超临界萃取联合水蒸气蒸馏法提取挥发油的得率分别为 0.07%, 1.4%, 化学成分基本一致。结论: 优选的提取工艺简单可行, 可显著提高柴胡挥发油的得率。

[关键词] 超临界 CO₂ 萃取法; 水蒸气蒸馏法; 挥发油; 柴胡; 气相色谱-质谱联用仪

[中图分类号] R283.6; R284.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0032-03

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130032

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20140513.1452.002.html>

[网络出版时间] 2014-05-13 14:52

Optimization of Extraction Process for Volatile Oil from Bupleuri Radix by Supercritical CO₂ Fluid Extraction Combined Steam Distillation

TAN Cheng-jia¹, MA Jia-hua^{2*}, YANG Zhan-guo^{2,3}, GUO Fang-fang²,
YANG Ya-qiong², SUO Zhi-rong², YANG Xing-wang³

(1. Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China; 2. Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 3. Sichuan De Pei Yuan Traditional Chinese Medicine Science & Technology Development Co. Ltd, Mianyang 621000, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize process conditions of volatile oil from Bupleuri Radix by supercritical CO₂ fluid extraction combined steam distillation. **Method:** Extraction process was optimized by single factor tests and orthogonal design by taking yield of volatile oil as index, some factors were investigated such as temperature, time and pressure of extraction and separation kettle, GC-MS was adopted to identify difference of chemical components in volatile oil by different methods. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: CO₂ velocity about 20 kg·h⁻¹, pressures of extraction kettle, separation kettle I and II were 20, 12 and 6 MPa, temperatures were 35, 40 and 25 °C, respectively. Compared with steam distillation (0.07%), yield of volatile oil with combination increased by 20 times and chemical components were similar to each other. **Conclusion:** This optimized process was simple and feasible, which could significantly improve yield of volatile oil from Bupleuri Radix.

[Key words] supercritical CO₂ fluid extraction; steam distillation; volatile oil; Bupleuri Radix; GC-MS

[收稿日期] 20131103(009)

[基金项目] 四川省中小企业创新基金项目(12CX00602121);绵阳市中小企业创新基金项目(11MLSC005)

[第一作者] 谭承佳, 在读博士, 讲师, 从事中药新制剂与天然产物开发研究, Tel:0816-6089531, E-mail: meditanjia@126.com

[通讯作者] * 马家骅, 博士, 副教授, 从事中药药剂学研究, Tel:0816-6089531, E-mail: jiahuama@163.com

挥发油为柴胡的主要有效组分^[1],具有较好的解表、退热作用和一定的抗炎、抗惊厥作用。传统采用水蒸气蒸馏法^[2]提取柴胡挥发油,该法操作简单,但耗时长、提取效率低;而超临界 CO₂ 萃取技术具有出油率高、环保等优势,已被用于提取柴胡挥发油^[3-4],但仅从挥发油成分检测的角度报道了该技术的先进性与可行性,缺少从实际药品生产的角度综合考虑超临界产物投料的可行性。前期研究发现,柴胡超临界产物中含有挥发油、黄酮类、酚类等成分,直接选择超临界产物投料进行制剂,可能会改变原剂型的物质基础,故有必要采用适宜方法对柴胡超临界产物进行纯化。本实验联合超临界萃取技术与水蒸气蒸馏法提取柴胡挥发油,通过 GC-MS 定性鉴别挥发油成分,并与单纯采用水蒸气蒸馏法进行比较,为保证柴胡精油成分的一致性提供参考。

1 材料

BP211D 型电子天平(德国赛多利斯公司),HL-CS-2L/50-II A 型 CO₂ 超临界萃取装置(杭州华黎泵业有限公司),Trace DSQ 型单四极杆气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo-Finnigan 公司,Xcalibur 质谱数据分析系统,NIST 标准系列谱库,AS3000 型自动进样器)。柴胡药材由四川德培源中药科技开发有限公司提供,经四川农业大学陈兴福教授鉴定为伞形科植物柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 的干燥根,试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 超临界萃取工艺优选

2.1.1 萃取釜的工艺参数^[3-4] 预试验确定 CO₂ 流速约 20 kg·h⁻¹,分离釜 I 和 II 的压力分别为 10,6 MPa,温度依次为 40,30 ℃。选择温度、时间、压力为考察因素,按 L₉(3⁴) 正交表进行试验,将粉碎好的柴胡干粉(过 20 目筛)加入萃取釜中进行超临界萃取,从分离釜出口处收集萃取物,加水蒸馏,至挥发油体积不再增加为止,计算挥发油萃取率,因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 柴胡挥发油超临界萃取工艺正交试验因素水平

水平	A 萃取釜温度/℃	B 时间/h	C 压力/MPa
1	35	1.0	15
2	45	1.5	20
3	55	2.0	25

由直观分析可知,各因素对柴胡挥发油超临界萃取工艺的影响顺序为 B > C > A。方差分析表明因素 B 具有显著性影响,其他因素则无显著性影

表 2 柴胡挥发油超临界萃取工艺正交试验安排及直观分析

No.	A	B	C	D(空白)	挥发油 收率/%
1	1	1	1	1	0.855
2	1	2	2	2	1.305
3	1	3	3	3	1.464
4	2	1	2	3	0.815
5	2	2	3	1	1.514
6	2	3	1	2	1.437
7	3	1	3	2	0.762
8	3	2	1	3	1.121
9	3	3	2	1	1.385
K ₁	1.208	0.831	1.121	1.251	
K ₂	1.239	1.313	1.168	1.171	
K ₃	1.109	1.414	1.267	1.133	
R	0.130	0.582	0.146	0.118	

表 3 挥发油收率方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.027 5	2	0.013 7	1.262 3	>0.05
B	0.580 8	2	0.290 4	26.638 5	<0.05
C	0.033 3	2	0.016 6	1.525 2	>0.05
D(误差)	0.021 8	2	0.010 9		

注: F_{0.05}(2,2) = 19。

响,确定最佳工艺条件为 A₁B₂C₂,即压力 20 MPa,温度 35 ℃,提取时间 1.5 h。

2.1.2 分离釜工艺优选 在最佳萃取釜参数的基础上,固定分离釜 II 的压力 6 MPa,温度 30 ℃,采用单因素试验考察分离釜 I 的温度和压力对提取效果的影响,固定压力 10 MPa,当温度为 35,40,45 ℃ 时,挥发油收率分别为 1.124%,1.368%,0.914%;固定温度 40 ℃,压力为 8,10,12 MPa 时,挥发油收率分别为 0.653%,1.447%,1.511%,故确定分离釜 I 温度 40 ℃,压力 12 MPa。在上述最佳工艺条件下,采用单因素试验考察分离釜 II 的温度和压力对提取效果的影响,固定压力 6 MPa,当温度为 25,30,35 ℃ 时,挥发油收率分别为 1.460%,1.351%,1.425%,确定分离釜 II 温度 25 ℃;固定温度 25 ℃,发现分离釜 II 压力为 4 MPa 时,整个体系的 CO₂ 流量非常低,难以循环,当压力达 8 MPa 时,分离釜 II 有干冰,且挥发油收率低,当压力达 6 MPa 时,设备运行正常,且挥发油收率高,故确定分离釜 II 压力 6 MPa。

2.1.3 水蒸气蒸馏法参数的确定 将超临界产物加水溶解,采用水蒸气蒸馏法提取柴胡精油,通过预试验考察加水量与提取时间,结果显示当固液比 1:50 和蒸馏时间 2 h 时,基本可将挥发油提取完全。

2.1.4 验证试验 按最优工艺条件进行 3 次验证试验,结果柴胡挥发油得率分别为 1.463%, 1.387%, 1.442%, 表明该工艺稳定可行。

2.2 提取方式比较

2.2.1 挥发油的制备 取柴胡干粉适量,分别采用水蒸气蒸馏法、超临界萃取结合水蒸气蒸馏法的提取挥发油,结果出油率分别约 0.07%, 1.4%。

2.2.2 挥发油的 GC-MS 分析^[5-7] 取不同方法提取的挥发油适量,顶空进样条件为顶空瓶温度 90 °C,进样针温度 60 °C,取样前样品振摇 1 min,进样量 1 mL;GC 分离条件为采用 Agilent DB-5 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 弱极性石英毛细管柱,以 He 为载气,流速 1.0 mL·min⁻¹,恒流方式,进样口温度 250 °C,传输线温度 220 °C;以质谱检测仪为检测器,采用程序升温的方式进行分析(初始温度 30 °C,保持 3 min,以 5 °C·min⁻¹ 升温至 130 °C,保持 9 min,以 10 °C·min⁻¹ 升温至 230 °C,保持 3 min,总分析时间 45 min),质谱检测仪条件为电子轰击 (EI) 离子源,电子能量 70 eV,离子源温度 200 °C,质量扫描范围 *m/z* 15 ~ 600,结果见图 1,说明两者所得挥发油成分接近,主要成分基本一致。

3 讨论

与水蒸气蒸馏法比较,采用超临界萃取结合水蒸气蒸馏法提取的挥发油中主要成分基本不变,但挥发油得率提高了 20 倍,提取时间从 20 h 缩减至 5 h,具有降低能耗、减少溶剂用量及废渣产生等优势,说明该联用方法提取柴胡挥发油切实可行。

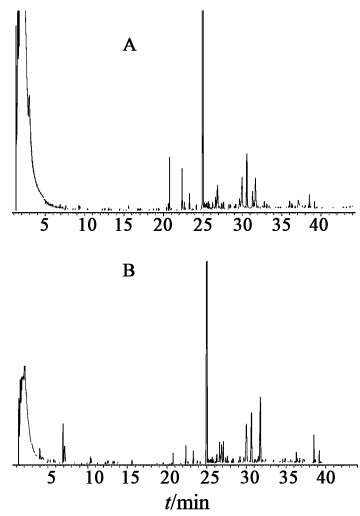


图 1 超临界萃取结合水蒸气蒸馏法 (A) 与水蒸气蒸馏法 (B) 的柴胡挥发油 GC-MS

[参考文献]

- [1] 薛燕,白金叶. 柴胡解热成分的比较研究[J]. 中药药理与临床, 2003, 19(1): 11.
- [2] 李秀琴,孙秀燕,陈晓辉,等. 正交试验法研究柴胡挥发油的提取工艺[J]. 中草药, 2008, 39(2): 215.
- [3] 李秀琴,孙秀燕,何仲贵,等. 柴胡挥发油提取方法的研究[J]. 中国药学杂志, 2004, 39(2): 103.
- [4] 葛发欢,李莹,谢健鸣,等. 超临界 CO₂ 从柴胡中萃取挥发油及其皂甙的研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(3): 149.
- [5] 刘群,葛发欢. 柴胡挥发油化学成分分析[J]. 中药材, 2003, 26(9): 641.
- [6] 谢东浩,王团结,欧阳臻,等. 不同采收期的江苏春柴胡挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 现代中药研究与实践, 2008, 22(6): 48.
- [7] 孙宗喜,吕晓慧,徐桂花,等. 甘肃产柴胡挥发油化学成分 GC-MS 分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(9): 75.

[责任编辑 刘德文]