

补骨脂的超临界 CO₂ 萃取工艺优选

余淑珍^{1*}, 贾媛², 王慧惠³, 刘志辉³

(1. 江苏省中西医结合医院, 南京 210028; 2. 南京中医药大学, 南京 210028;
3. 江苏省中医院, 南京 210028)

[摘要] 目的: 对补骨脂的超临界 CO₂ 流体萃取工艺条件进行优化。方法: 选取萃取温度、萃取压力、萃取时间为考察因素, 以补骨脂素和异补骨脂素萃取率为指标, 采用单因素考察及正交试验对补骨脂萃取工艺进行优选。结果: 优选的工艺条件为 1.5 倍量 95% 乙醇为夹带剂, 萃取温度 65 °C, 萃取压力 20 MPa, 萃取时间 2 h。结论: 优选的超临界 CO₂ 流体萃取工艺合理, 可行。

[关键词] 补骨脂; 补骨脂素; 异补骨脂素; 超临界 CO₂ 流体萃取; 高效液相色谱法

[中图分类号] R283.6 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2012)10-0044-03

Optimization of Technology for *Psoralea corylifolia* by Supercritical CO₂ Fluid Extraction

YU Shu-zhen^{1*}, JIA Yuan², WANG Hui-hui³, LIU Zhi-hui³

(1. Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing 210028, China;
2. Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210028, China;
3. Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology condition of *Psoralea corylifolia* by supercritical CO₂ fluid extraction. **Method:** Single factor test and orthogonal test were used to optimize extraction technology of *P. corylifolia* with extraction ratio of psoralent and isopsoralent as indexes, extraction temperature, extraction pressure and extraction time were taken as factors. **Result:** Optimum extraction conditions were as follows: 1.5 times the amount of 95% ethanol as entrainer, extraction temperature was 65 °C, extraction pressure was 20 MPa, extraction time was 2 h. **Conclusion:** This optimized technology of supercritical CO₂ extraction was reasonable and feasible.

[Key words] *Psoralea corylifolia*; psoralent; isopsoralent; supercritical CO₂ fluid extraction; HPLC

补骨脂为豆科植物补骨脂的成熟果实, 性温、味辛, 具有温肾助阳、纳气、止泻之功效, 主治肾阳不

[收稿日期] 20111125(008)

[基金项目] 江苏省高校优势学科建设工程项目

[通讯作者] * 余淑珍, 主管药师, 从事医院制剂及制剂工艺研究, Tel: 025-85608675, E-mail: yuhuanwang1@163.com

- [2] 司有奇, 陆龙辉. 中国水族医药宝典[M]. 贵阳: 贵州民族出版社, 2007: 318.
- [3] 田庚元, 冯宇澄, 林颖. 植物多糖的研究进展[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(7): 441.
- [4] 申利红, 王建森, 李雅, 等. 植物多糖的研究及应用进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(2): 349.
- [5] 黄佳利, 张红梅, 徐秀泉. 正交设计法优化野菊花多糖的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(18): 30.
- [6] 马雪萍, 马秀敏, 丁剑冰, 等. 神香草总多糖的提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学, 2011, 28(5): 437.
- [7] 张晓莉, 李玉婷, 王亚贤, 等. 红花多糖的提取与含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 19.
- [8] 陈燕忠, 符吴燕, 谢清春. 灰兜巴粗多糖的提取及含量测定[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 79.

[责任编辑 仝燕]

足、阳痿遗精、遗尿尿频等^[1]。其主要成分有香豆素类、黄酮类和单萜类等,香豆素类主要含有补骨脂素和异补骨脂素等^[2]。补骨脂的提取方法目前应用较多的为浸提法^[3],也有报道采用超临界 CO₂ 流体萃取法^[4]。超临界流体萃取技术能减少热敏性成分破坏、无污染等优势。本试验以补骨脂素和异补骨脂素转移率为指标,采用单因素试验和正交试验同时考察超临界 CO₂ 萃取的最佳工艺条件。

1 材料

HA221-50-06 型超临界 CO₂ 萃取装置(萃取釜 5 L & 1 L,分离釜 1 L,南通市华安超临界萃取有限公司),1100 型高效液相色谱仪(美国 Agilent),BP-211D 型电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

补骨脂购于江苏省医药公司,经鉴定为豆科植物补骨脂 *Psoralea corylifolia* L. 的干燥成熟果实。补骨脂素、异补骨脂素对照品(中国药品生物制品检定所,批号分别为 110739-200814, 110738-200309),甲醇为色谱纯,水为超纯水,其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 补骨脂有效成分的提取 称取粉碎后补骨脂饮片 50 g 投入萃取釜中,分别对萃取釜、分离釜 I、II 进行加热,使分离釜 I 温度保持 40 ℃,分离釜 II 温度保持 35 ℃,分离釜 I、II 压力均为(5 ± 0.5) 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 单因素试验 以补骨脂素和异补骨脂素转移率为考察指标,选取乙醇为夹带剂。分别研究夹带剂、夹带剂体积、夹带剂浓度、萃取压力、萃取温度对转移率的影响。

2.2.1 夹带剂加入的影响 固定萃取时间 2 h,萃取温度 65 ℃,萃取压力 20 MPa,夹带剂为 1 倍量 95% 乙醇,比较不加夹带剂、动态夹带剂及静态夹带剂对补骨脂素和异补骨脂素转移率的影响,结果转移率分别为补骨脂素 12.53%, 18.41%, 75.49%; 异补骨脂素 25.77%, 32.26%, 67.4%。由结果可知,静态夹带剂的加入效果最好。

2.2.2 萃取压力考察 选择静态 95% 乙醇夹带剂,固定夹带剂体积为 1 倍量,萃取温度 65 ℃,考察萃取压力分别为 15, 20, 25, 30 MPa 时对补骨脂素和异补骨脂素转移率的影响,结果分别为补骨脂素 32.72%, 32.82%, 31.95%, 24.41%; 异补骨脂素 44.37%, 60.37%, 48.36%, 40.23%。故确定 20 MPa 为最佳萃取压力。

2.2.3 萃取温度的影响 选择静态 95% 乙醇夹带剂,固定萃取压力为 20 MPa,考察 45, 55, 65, 75 ℃ 等不同萃取温度对转移率的影响,结果补骨脂素和异补骨脂素转移率分别 34.81%, 45.13%, 35.82%, 16.47%; 46.88%, 53.04%, 60.37%, 21.23%。故确定萃取温度为 65 ℃。

2.2.4 夹带剂体积考察 选择静态 95% 乙醇夹带剂,固定萃取压力 20 MPa、萃取温度 65 ℃,考察不同夹带剂体积对转移率的影响,结果补骨脂素和异补骨脂素转移率分别为 22.29%, 35.82%, 63.37%, 20.32%; 38.45%, 60.37%, 56.51%, 37.80%。故确定夹带剂体积为 1.5 倍量。

2.2.5 夹带剂浓度考察 固定萃取压力为 20 MPa,萃取温度 65 ℃,夹带剂体积为 1.5 倍量,考察不同夹带剂浓度对转移率的影响,结果补骨脂素和异补骨脂素转移率分别 27.80%, 35.94%, 35.82%, 76.49%; 44.62%, 40.82%, 60.37%, 67.40%。故确定无水乙醇效果最佳。

2.3 正交试验设计 单因素试验分别夹带剂加入类型、体积、浓度,萃取压力,萃取温度进行考察,根据单因素试验结果以无水乙醇为静态夹带剂,以萃取温度、萃取压力、萃取时间为考察因素,因素水平见表 1。

表 1 补骨脂超临界 CO₂ 流体萃取工艺正交试验因素水平

水平	A 萃取压力/MPa	B 萃取温度/℃	C 萃取时间/h
1	15	55	1
2	20	65	1.5
3	25	75	2

2.4 补骨脂素及异补骨脂素的测定^[1]

2.4.1 色谱条件 Sunfire C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-水(45:55),流速 1 mL·min⁻¹,检测波长 254 nm,柱温 30 ℃。

2.4.2 标准曲线的绘制 精密称取补骨脂素、异补骨脂素对照品适量,加甲醇分别稀释成质量浓度为 17.46, 18.75 mg·L⁻¹ 的对照品溶液。分别进样 3, 6, 10, 15, 20, 25, 30 μL,以进样量为横坐标,峰面积为纵坐标,得方程分别为 $Y = 76.169X + 25.519$ ($r = 0.9998$), $Y = 73.783X + 1.664$ ($r = 0.9999$)。结果表明补骨脂素和异补骨脂素分别在 5.24 ~ 52.37 μg, 5.63 ~ 56.23 μg 与峰面积线性关系良好。

2.4.3 样品测定 超临界萃取得到的提取物,加乙醇溶解并定容,经 0.45 μm 微孔滤膜滤过,精密称取 1 μL 进样,计算补骨脂素和异补骨脂素转移率。

2.5 正交试验数据分析 每次称取补骨脂 50 g, 粉碎, 精密称定, 加入夹带剂, 静置, 置于萃取釜中, 按选定正交表安排试验。收集分离釜 I、II 中的提取物, 合并得总提取物, 以不同萃取条件下萃取所得补骨脂素及异补骨脂素的转移率为评价指标评价不同萃取方法, 结果见表 2, 方差分析见表 3。

表 2 补骨脂超临界 CO₂ 流体萃取工艺正交试验安排

No.	A	B	C	D	补骨脂素 转移率/%	异补骨脂素 转移率/%	综合 评分
1	1	1	1	1	38.56	41.94	0.40
2	1	2	2	2	57.60	54.23	0.56
3	1	3	3	3	49.41	57.80	0.54
4	2	1	2	3	62.52	64.83	0.64
5	2	2	3	1	73.26	67.20	0.70
6	2	3	1	2	39.25	58.03	0.49
7	3	1	3	2	41.70	56.78	0.49
8	3	2	1	3	33.78	34.70	0.34
9	3	3	2	1	61.65	40.78	0.51
K ₁	1.50	1.53	1.23	1.62			
K ₂	1.83	1.60	1.71	1.54			
K ₃	1.35	1.53	1.73	1.52			
R	0.16	0.02	0.17	0.03			

注: 综合评分为补骨脂素及异补骨脂素转移率的平均值。

表 3 超临界 CO₂ 萃取工艺综合评分方差分析

方差来源	SS	f	MS	F	P
A	0.040	2	0.020	20.978	<0.05
B	0.001	2	0.001	0.586	>0.05
C	0.053	2	0.027	27.887	<0.05
D(误差)	0.002	2	0.001		

注: $F_{0.05}(2, 2) = 19.00$ 。

由以上结果可知, 各因素对试验影响依次为 $C > A > B$, 且萃取压力和萃取时间对补骨脂和异补

骨脂转移率具有显著性影响, 萃取温度无显著性影响。综合方差分析与极差分析可知, 超临界 CO₂ 萃取补骨脂的最佳工艺条件为 A₂B₂C₃。

2.6 验证试验 取补骨脂 50 g, 按优选工艺条件平行进行 3 次验证试验。结果补骨脂素转移率分别为 75.45%, 74.78%, 75.12%, 异补骨脂素的转移率分别为 70.13%, 68.41%, 69.85%, 提取物得率分别为 72.79%, 71.60%, 72.49%。证明所优选的萃取工艺条件稳定可靠。

3 讨论

本文采用超临界 CO₂ 流体萃取技术对补骨脂中香豆素类成分进行提取, 弥补了传统水蒸气蒸馏、溶剂提取等方法的缺点。在预试验中对补骨脂饮片粉碎粒度进行考察, 结果发现粗粉已达到试验目的, 粒度太小反而不好萃取且损失多, 故选择补骨脂粉碎度为粗粉。单因素考察萃取温度对效率的影响时发现, 温度低于 45 °C 补骨脂萃取较困难, 萃取结束后会有黏液不能萃取完全; 温度过高后, 萃取率反而降低。故选择 45, 55, 65, 75 °C 等进行考察。考察压力对萃取效率影响时发现, 压力增大, 有利于提高萃取率。但过大则会由于 CO₂ 传质性变差导致萃取效率降低。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[M]. 2010:174.
- [2] 罗建华. 补骨脂的提取及应用[J]. 医药化工, 2008(11):27.
- [3] 郭江宁, 吴侯, 翁新楚, 等. 补骨脂中活性成分的提取分离与抗癌实验研究[J]. 中药材, 2003, 26(3):185.
- [4] 黄芳, 黄晓芬, 梁卫萍, 等. 超临界 CO₂ 流体从补骨脂中提取分离补骨脂素、异补骨脂素及脂肪油的工艺研究[J]. 中药材, 2000, 23(5):266.

[责任编辑 仝燕]