

超临界萃取茺蔚子脂肪油的工艺研究

高文义*, 李银清, 陶贵斌
(长春中医药大学, 长春 130117)

[摘要] 目的: 优选茺蔚子脂肪油最佳提取工艺条件。方法: 采用超临界流体萃取法, 正交实验考察了 4 因素, 包括萃取压力、萃取温度、浸泡时间、萃取时间, 3 水平对其得量的影响。结果: 茺蔚子脂肪油的最佳工艺条件为萃取压力 50 MPa, 45 °C, 浸泡 30 min, 提取 20 min。结论: 通过验证实验, 表明所选的工艺条件可行。其中不饱和脂肪酸, 质量分数高达 86.31%。

[关键词] 茺蔚子; 脂肪油; 正交实验; 提取工艺

[中图分类号] R 283.6 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)06-0020-03

Extraction Process of Fatty Oil from Fructus Leonuri by Supercritical Fluid

GAO Wen-yi*, LI Yin-qing, TAO Gui-bin
(Changchun University of Chinese Medicine, Changchun 130117, China)

[Abstract] **Objective:** To study and optimize the extracting technology of the volatile oil from motherwort fruit. **Method:** Orthogonal test was used for studying the effect of four extracting factors (extracting pressure, extraction temperature, soaking time, extraction time) and three levels on the fatty oil's volume by supercritical fluid extraction. **Result:** The optimum extraction condition of the oil from motherwort fruit was: 50 MPa of extracting pressure, 45 degrees, soaking thirty minutes and extracting twenty minutes. **Conclusion:** The process is scientific and useful for the studying of new drug with fatty oil. The unsaturated fatty acid in the oil was 86.31%.

[Key words] motherwort fruit; fatty oil; orthogonal test; extracting technology

茺蔚子为唇形科植物益母草 *Leonurus japonicus* Houtt. 的干燥成熟果实。茺蔚子中含有大量的脂肪油, 其主要成分^[1]为: 亚油酸, 亚麻酸, 油酸, 棕榈酸, 硬脂酸等, 主要为人体所需的不饱和脂肪酸。γ-亚麻酸是人体重要的必须脂肪酸, 是前列腺素噁白三烯等自体调节物质的前体。临床研究发现 γ-亚麻酸具有降低血脂及抑制血小板聚集、抑制血栓素 A₂ 合成、抗溃疡的作用等^[3]。可见, 茺蔚子油作为一种食用油将具有很高的营养价值和科学价值。因此, 其种子和种子油具有较高的营养价值和医疗保健功

效, 具有较大开发利用的价值。

现阶段对于茺蔚子药材脂肪油成分的提取方法还并不完善, 没有可靠的科学依据证明提取工艺的可靠性, 科学性。因此, 急需寻找一种方便, 快速且利于工业化生产的提取方法。作者对不同提取方法进行了研究, 其中以超临界流体萃取法提取率高、提取时间短, 本文通过正交试验筛选得出超临界流体萃取法提取脂肪油的最佳工艺。

1 材料

超临界流体萃取仪, 美国环球公司; GC-MS-QP2010 气相-质谱联用仪, 日本岛津公司; 电子天平, 瑞士梅特勒-托利多。茺蔚子购于吉林省宏检药业有限公司。试剂均为分析纯。

2 方法和结果

2.1 正交实验 通过预实验, 确定了茺蔚子油超临界萃取的 4 个主要影响因素, 萃取的压力(A), 萃取温度(B), 浸泡时间(C), 一定流量下的萃取时间(D)。

[收稿日期] 20100110(001)

[基金项目] 吉林省教育厅资助项目(吉教科合字[2005]第 53 号)

[通讯作者] *高文义, 副教授, 主要从事药物分析研究, Tel: (0431) 86172115, Fax: (0431) 86172106, E-mail: cgaowenyi@163.com

表 1 因素水平表 $L_9(3)^4$

水平	A 萃取的压力 /MPa	B 萃取温度 /°C	C 浸泡时间 /min	D 萃取时间 /min
1	30	25	10	20
2	40	35	30	40
3	50	45	50	60

取粉碎后得茺蔚子 100 g, 分别按 $L_9(3)^4$ 正交表进行实验, 并准确读取每小时挥发油体积。平行实验 3 次, 取其平均值。结果及直观分析见表 2。

表 2 茺蔚子油超临界提取工艺优选直观分析表

No.	A	B	C	D	挥发油得量/mL
1	1	1	1	1	5.375 7
2	1	2	2	2	6.535
3	1	3	3	3	8.289 6
4	2	1	2	3	9.157 4
5	2	2	3	1	12.894 6
6	2	3	1	2	10.665 4
7	3	1	3	2	14.078
8	3	2	1	3	10.103 5
9	3	3	2	1	23.617
K_1	6.733	9.537	8.715	13.962	
K_2	10.906	9.844	13.103	10.426	
K_3	15.933	14.191	11.754	9.184	
R	9.200	4.654	4.388	4.778	

由结果可知, 最佳萃取条件为压力 50 MPa, 45°C, 浸泡时间 30 min, 提取 20 min。即 $A_3B_3C_2D_1$ 。在一定条件下, 随着压力的增加, 茺蔚子油的收率逐渐增加; 提取温度越高油得率增加, 提取时间延长, 油的得率下降。

2.2 茺蔚子中脂肪油成分分析

2.2.1 茺蔚子油的皂化 精密称取茺蔚子油 5 g, 加 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KOH-MeOH 25 mL, 在 60°C 下恒温搅拌 15 min 至完全皂化。将皂化液转移至分液漏斗中, 加 20% HCl 酸化调节 pH 1~2, 边加边振摇, 静置分层, 分去醇水层, 加水洗涤 3~4 次至中性, 加入石油醚 20 mL 振摇提取脂肪油, 分取石油醚液置烧杯中, 加入无水硫酸钠脱水至完全澄清, 过滤, 滤液回收石油醚, 得精制茺蔚子油 3.422 6 g。

2.2.2 茺蔚子油的甲酯化 精密称取 2 g 精制茺蔚子油, 加入 2% 硫酸甲醇溶液 40 mL, 60°C 水浴回流处理 2 h, 加水稀释并回收甲醇, 酸水层用石油醚振摇提取, 合并石油醚提取液, 水洗至中性后用无水硫酸钠脱水, 过滤回收石油醚, 即得甲酯化产物

1. 191 8 g。

2.2.3 测定条件 GCMS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪, 载气流速 $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 程序升温 170°C, 持续 3.5 min; 170~196°C, $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$; 196~197.5°C, $0.54 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 持续 4 min; 197.5~199.5°C, $1 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$, 持续 3 min; 199.5~235.0°C, $20 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$; 235.0~250°C, $5 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 。色谱柱 DB-5MS(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm)。质谱检测器, EI; 70 eV。

2.2.4 结果 采用气相-质谱联用系统, 共鉴别出茺蔚子脂肪油中含有 18 种化合物。分子式(相对分子质量)、相对含量、色谱保留时间及质谱最强峰见表 3。

表 3 茺蔚子中脂肪油成分 nuri

峰号	分子式	色谱保留 时间/min	相对分子 质量	质量分数 /%	最强 碎片峰
1	$\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_2$	3.958	238	0.05	74
2	$\text{C}_{15}\text{H}_{30}\text{O}_2$	6.133	242	0.08	74
3	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$	8.933	268	0.03	55
4	$\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{O}_2$	9.052	268	0.27	55
5	$\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$	9.467	270	9.35	74
6	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	14.417	294	40.58	67
7	$\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_2$	14.667	296	24.80	55
8	$\text{C}_{19}\text{H}_{36}\text{O}_2$	14.853	296	1.03	55
9	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	15.575	294	16.03	80
10	$\text{C}_{19}\text{H}_{38}\text{O}_2$	15.683	298	3.10	74
11	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	16.223	294	0.08	80
12	$\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$	20.000	292	0.04	79
13	$\text{C}_{19}\text{H}_{32}\text{O}_2$	20.075	292	0.05	79
14	$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_2$	20.223	322	0.09	67
15	$\text{C}_{21}\text{H}_{40}\text{O}_2$	20.300	324	2.41	55
16	$\text{C}_{19}\text{H}_{34}\text{O}_2$	20.658	294	0.45	150
17	$\text{C}_{21}\text{H}_{42}\text{O}_2$	20.792	326	1.19	74
18	$\text{C}_{21}\text{H}_{38}\text{O}_2$	20.986	322	0.37	67

3 讨论

超临界流体萃取法制备的茺蔚子脂肪油颜色和含量都优于溶剂提取法, 而且用超临界流体萃取法得到脂肪油经 GC-MS 联用技术检测后发现其中含有大量的不饱和脂肪酸, 质量分数高达 86.31%, 特别是不饱和脂肪酸中含有亚麻酸, 亚油酸及花生烯酸。研究表明, 这几种物质都是人体必须的脂肪酸, 其含量作为评价油脂营养的重要指标, 其中亚油酸质量分数达 40.58%。测试后结果显示, 茺蔚子油中的不饱和脂肪酸的含量也要比溶剂提取法。

(下转第 25 页)

112.254 4 mg, 因此 50% 乙醇洗脱 HPD-600 树脂, 原儿茶醛转移率为 43.99%; 95% 乙醇洗脱 HPD-600 树脂, 咖啡酸的转移率为 47.72%; 95% 乙醇洗脱 AB-8, 迷迭香酸的转移率为 66.01%。可见本试验得出的洗脱条件对迷迭香酸的吸附及解吸附效果较佳, 对于原儿茶醛和咖啡酸的富集效果欠佳, 这可能与咖啡酸具一定酸性, 原儿茶醛结构上有多个酚羟基, 而本实验未考察 pH 对吸附效果的影响有关。

4.4 吸附行为的探讨 根据相似相容原理, 极性较强的树脂适用于在弱极性溶剂中吸附极性较大的物质, 极性弱的树脂适合用于在强极性溶剂中吸附极性小的物质。泽兰中的酚酸类成分多为咖啡酸及其衍生物, 极性较强, 因此, 极性树脂是较好的选择。原儿茶醛和咖啡酸极性相对较强, 极性树脂 HPD-600 对它们的富集具有优势。从这两个成分在 HPLC 的色谱行为来看, 原儿茶醛的极性大于咖啡酸, 因此它被较低浓度乙醇洗脱下来。迷迭香酸极性比前两者弱, 因而使用弱极性 AB-8 较为理想。另外, 吸附质的分子大小和树脂孔径对吸附也有很大影响。迷迭香酸为咖啡酸的二聚体, 分子质量相对较大, 而 AB-8 的孔径大于 HPD-600, 因此 AB-8 对分子量相对较大的迷迭香酸的富集效果更佳, 与本

实验结果一致。大孔吸附树脂对中药成分的吸附性能和多种因素有关, 包括被分离成分的性质——极性、分子大小, 上样溶剂性质——溶剂对成分的溶解性、溶剂 pH, 上样溶液浓度, 吸附流速, 洗脱剂性质——洗脱剂种类、洗脱剂的 pH、洗脱流速等^[5]。本实验仅以产物纯度为指标筛选了树脂类型和洗脱溶剂, 在以后的研究中, 还将针对以上各因素, 优化工艺, 以提高其得率, 获取有效部位。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 一部. 北京: 化学工业出版社, 2005: 157.
- [2] 聂波. 泽兰及地笋活性成分的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2006: 7.
- [3] 聂波, 刘勇, 石晋丽, 等. 高效液相色谱法同时测定泽兰中咖啡酸和迷迭香酸[J]. 精细化工, 2009, 26(3): 258.
- [4] 何玲玲, 王新. 脱蛋白工艺对苦丁茶冬青叶多糖提取率的影响[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(23): 6302, 6334.
- [5] 刘斌, 石任兵, 余超. 影响大孔吸附树脂吸附分离中草药化学成分的因素[J]. 中草药, 2002, 33(5): 475.

[责任编辑 全燕]

(上接第 21 页)

超临界流体萃取法使用的媒体主要是 CO₂, 是廉价且无污染的, 而且此法大大缩短提取时间, 且能降低溶剂的残留量, 所以超临界流体技术是值得推广应用的提取、分离方法。

[参考文献]

- [1] 吴纯洁, 蒲旭峰, 张朝燕. 气相色谱法测定安产乳剂中亚油酸和蓖麻酸的含量[J]. 中成药, 2006, 24(6): 456.
- [2] 林文群, 陈宏靖, 陈忠. 茺蔚子化学成分的研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学学报), 2001, 17(2): 84.
- [3] 徐欣, 王远程, 杨峰, 等. 香椿籽油的制取精炼及品质分析[J]. 中国粮油学报, 1994, 9(3): 38.

- [4] 鲁建江, 王莉, 陈宏伟, 等. 佩兰中挥发油的微波提取法[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(9): 774.
- [5] 刘晓冬, 阎雪, 卫永第, 等. 苍术挥发油成分的分析[J]. 分析测试学报, 1998, 17(3): 56.
- [6] Franz Muller, John Lee. A Convenient Method to Prepare Labile FMN Derivatives[J]. Molecules, 2001, 6: 825.
- [7] 安伟建. 中药益母草有效成分提取和测定方法的研究[J]. 天津药学, 2003, 6(3): 68.
- [8] 王威, 闫喜英, 李振宝, 等. 紫苏子中亚麻酸的气相色谱法测定[J]. 药物分析杂志, 2000, 20(5): 316.
- [9] 周景春, 孟冬娅, 石富成, 等. 大豆油、水分和铁对大豆磷脂酸值和碘值的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2001, 22(2): 90.

[责任编辑 全燕]