

· 短篇论著 ·

更年期安颗粒 CO₂ 超临界流体萃取工艺与水蒸气蒸馏提取工艺的比较研究

肖花艳 易延遼

【摘要】 目的 对更年期安颗粒处方中当归、白术、香附、砂仁等四味药材(简称“A”)采用 CO₂ 超临界流体萃取(SFE-CO₂)工艺与蒸馏提取工艺进行了比较研究。方法 应用高效液相色谱(HPLC)法测定 A 提取物中的阿魏酸、 α -香附酮含量。以阿魏酸提取量、 α -香附酮提取量为考查指标,对 A 采用 SFE-CO₂ 工艺与蒸馏提取工艺进行了比较研究,考查了两种工艺对提取量的影响。结果 方法学考查结果:阿魏酸在 0.050~0.800 μg 范围内具有良好的线性关系,回归方程: $Y = 4130.8X + 4.9042$, $R^2 = 0.9999$; α -香附酮在 9.92~79.36 μg 范围内具有良好的线性关系,标准曲线回归方程为: $Y = 273.34X + 26.116$, $R^2 = 0.9999$;阿魏酸等极性较大的成分,蒸馏提取工艺难以提取出,而 SFE-CO₂ 工艺可以很好的提取; α -香附酮极性较小的成分可以通过两种工艺提取,但两种工艺提取的化学成分含量差异有统计学意义($P < 0.01$),SFE-CO₂ 工艺提取量明显高于水蒸气蒸馏提取工艺。结论 本实验为四味药材的 SFE-CO₂ 工艺和水蒸气蒸馏提取工艺的选择提供了实验依据。

【关键词】 色谱法,超临界液相; 水蒸气蒸馏工艺; 更年期安颗粒

更年期安颗粒剂由当归、白术、香附、砂仁等药材组成,功能为滋肾养肝、补中益气、镇静安神,用于更年期综合征,如潮热汗出、眩晕、耳鸣、失眠、烦躁不安等,亦适用于体虚无力、神经衰弱、精神抑郁者。更年期安颗粒处方中当归、白术、香附、砂仁等四味药材(以下简称“A”)均含有挥发性成分^[1-2],可以采用传统的水蒸气蒸馏法提取,也可以采用现代工艺——CO₂ 超临界流体萃取(SFE-CO₂)工艺提取,为此,对 SFE-CO₂ 工艺和水蒸气蒸馏工艺进行了比较研究。

一、材料与方

1. 材料:药材饮片(均购自广东省饮片厂);甲醇为色谱纯(Fisher,MS1622-001),水为重蒸水,石油醚(30~60 $^{\circ}\text{C}$,分析纯,洛阳市化学试剂厂,20090902);无水 Na₂SO₄(分析纯,广州化学试剂厂,20090812)。其他试剂均为分析纯。

2. 仪器:Agilent 1100 高效液相色谱仪,C18(Kromasil 250 \times 4.6 mm,100-5)色谱柱,Agilent 数据处理软件;分析天平(1 g,上海第二天平仪器厂);电子天平(0.001 g,德国 Sartorius BP110S)。

3. 方法:按处方称取当归 50 g、白术 112.5 g、香附 50 g、砂仁 12.5 g,共 6 份,其中 3 份按蒸馏提取工艺提取,即:加 5 倍水,不浸泡,蒸馏提取 5 h,收集提取液,测定阿魏酸、 α -香附酮含量,分别计算提取量。另 3 份按 SFE-CO₂ 提取工艺:萃取压力 25~30 MPa,萃取温度 40~45 $^{\circ}\text{C}$,CO₂ 流量 10~12 L/h,萃取时间 1 h,收集提取液,测定阿魏酸、 α -香附酮含量。

(1)阿魏酸提取量测定:参照《中国药典》2010 年版一部当归项下含量测定方法操作^[3]及有关文献报道^[4-6]。

色谱条件与系统适用性试验:填充剂:十八烷基硅烷键合硅胶;流动相:乙腈-0.085% 磷酸水溶液(19:81);检测波长:316 nm。理论塔板数按阿魏酸峰计算应不低于 5000。

对照品溶液的制备:精密称取阿魏酸对照品 10 mg,置 10 ml 容量瓶中,加 70% 甲醇使溶解并稀释至刻度,摇匀;精密量取 1 ml,置 50 ml 容量瓶中,加 70% 甲醇至刻度,摇匀,即得(每 1 ml 中含阿魏酸 20 μg)。

线性关系考查:精密吸取浓度为 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的阿魏酸对照品溶液 2.5、5、10、20、40 μl ,注入液相色谱仪,测定其峰面积,计算积分值,以浓度为横坐标,峰面积积分为纵坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备:量取提取液,定容至 200 ml,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 5 μl ,注入液相色谱仪,测定,计算提取量。

(2) α -香附酮提取量测定:参照有关文献 α -香附酮含量测定方法^[2,7-8]。

色谱条件与系统适用性试验:填充剂:十八烷基硅烷键合硅胶;流动相:甲醇-水(70:30);检测波长:254 nm;理论塔板数:按 α -香附酮峰计算应不低于 1500。

对照品溶液的制备:精密称取 α -香附酮对照品 99.2 mg,置 25 ml 容量瓶中,加甲醇溶解,稀释至刻度,摇匀即得(每 1 ml 中含 α -香附酮 3.968 mg)。

线性关系考查:精密吸取浓度为 3.968 mg/ml 的 α -香附酮对照品溶液 2.5、5、10、15、20 μl 注入液相色谱仪,测定其峰面

积,计算积分值,以浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,绘制标准曲线。

供试品溶液的制备:量取提取液定容至 200 ml,摇匀,用微孔滤膜(0.45 μm)滤过,取续滤液,即得。

测定法:分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μl,注入液相色谱仪,测定,计算提取量。

二、结果

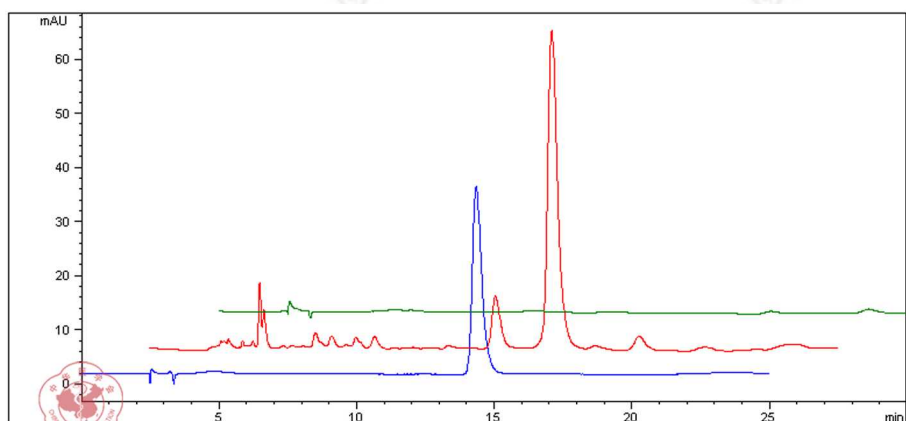
1. 方法学考查结果:阿魏酸在 0.050 ~ 0.800 μg 范围内具有良好的线性关系,回归方程: $Y = 4130.8X + 4.9042, R^2 = 0.9999$; α-香附酮在 9.92 ~ 79.36 μg 范围内具有良好的线性关系,标准曲线回归方程为: $Y = 273.34X + 26.116, R^2 = 0.9999$ 。

2. 两种工艺比较(表 1,图 1):阿魏酸采用蒸馏提取工艺难以提取出,而 SFE-CO₂ 工艺可以很好的提取;α-香附酮可以通过两种工艺提取,但两种工艺提取量差异有统计学意义($P < 0.01$),SFE-CO₂ 工艺提取量明显高于水蒸气蒸馏提取工艺。

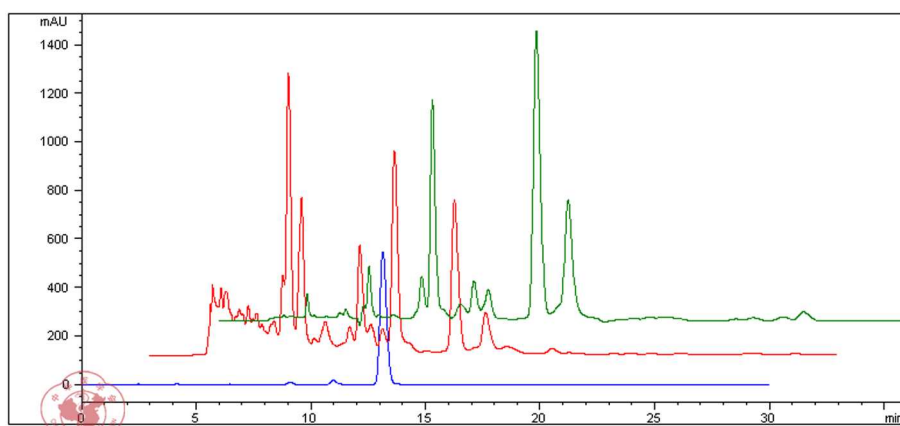
表 1 SFE-CO₂ 工艺与蒸馏提取工艺提取量的比较结果(μg)

组别	阿魏酸				α-香附酮			
	1	2	3	均值($\bar{x} \pm s$)	1	2	3	均值($\bar{x} \pm s$)
SFE-CO ₂ 工艺	18.40	18.70	18.61	18.57 ± 0.15	344.4	342.3	356.4	347.7 ± 7.6
蒸馏提取工艺	0	0	0	0	228.6	229.7	237.1	231.8 ± 4.6
P 值	<0.01				<0.01			

注:两种工艺间比较采用 t 检验



自下至上: 1. 阿魏酸HPLC色谱 2. SFE-CO₂提取物HPLC色谱 3. 水蒸气蒸馏提取物HPLC色谱



自下至上: 1. α-香附酮HPLC色谱 2. 水蒸气蒸馏提取物HPLC色谱 3. SFE-CO₂提取物HPLC色谱

图1 SFE-CO₂与水蒸气蒸馏提取工艺HPLC色谱图比较

三、讨论

当归、白术、香附、砂仁四味药材中^[1-2],当归含有丁烯基苯酐(butylidens phthalide)、藁本内酯(ligustilide)等中性油,苯酚(phenol)、愈创木酚(guaiacol)等酚性油,邻苯二甲酸酐(phthalic anhydride)、壬二酸(azelaic acid)等酸性油;白术含苍术醇(atractylol)、苍术酮(atractylon)等多种挥发油,含量达 1.4%;香附含有 α-香附酮(α-cyperone)、β-香附酮(β-cyperone)等多种挥发性成分;砂仁含有乙酸龙脑酯(Bornyl acetate)、樟脑(camphor)、α-蒎烯(α-pinene)等挥发性成分。因此这些药味挥发油含量都

比较高,工艺研究中需要进行挥发油的提取。

超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction, SFE)是20世纪70代末80年代初发展起来的一项新型的物理萃取技术,国外已广泛用于食品工业、化工、环保等领域。SFE是当今世界上先进的提取和分离技术之一,引起全世界科研人员极大的关注和重视^[9]。当归、白术、香附、砂仁四味药中主要含有挥发性成分和以阿魏酸为代表的小分子有机酸等,可以采用传统的水蒸气蒸馏工艺,也可采用SFE-CO₂工艺进行提取。阿魏酸等极性较大的成分采用蒸馏提取工艺难以提取出,而采用SFE-CO₂工艺可以很好地提取; α -香附酮极性较小的成分可以通过两种工艺提取,但两种工艺有统计学差异($P < 0.01$),SFE-CO₂工艺提取转移率明显高于蒸馏提取工艺。作为一种新兴技术,SFE-CO₂不可避免地面临着基础研究薄弱以及设备压力高、投资大等困难,同时,目前的设备不适应大批量工业化生产,维修、生产成本大,限制了SFE-CO₂技术的推广应用。目前SFE-CO₂技术缺少系统深入的研究,尤其是SFE-CO₂提取复方制剂时,成分间的相互影响,以及什么工艺条件下能提取出何种成分等都有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 王浴生,邓文龙,薛春生,主编. 中药药理与应用. 北京:人民卫生出版社,1998:70.
- [2] 郑虎占,董泽宏,余靖. 中药现代研究与应用. 北京:学苑出版社,1997.
- [3] 中国药典委员会,主编. 中国药典. 北京:中国医药科技出版社,2010:124.
- [4] 黄艳萍,黄勇红. 当归调经片的薄层鉴别和阿魏酸的测定. 中国实验方剂学杂志,2010,16:119-121.
- [5] 张爱玲. 当归补血益气胶囊中阿魏酸测定方法的研究. 安徽医药,2010,14:770-771.
- [6] 贺亚玲,车晓彦,姜卫东. 高效液相色谱法测定当归配方颗粒中阿魏酸含量. 中国药业,2006,15:39.
- [7] 王浩浩,沈黎. 高效液相色谱法测定妇科十味片中 α -香附酮的含量. 海峡药学,2010,22:59-60.
- [8] 陈艳红,吴秋云,蔡佳仲. 17批不同产地香附中有效成分的含量测定. 临床医学工程,2010,17:41-42.
- [9] 赵宁,宋明丽. 超临界流体萃取技术在中药研究中的应用及展望. 辽宁医药,2008,23:23-26.

(收稿日期:2011-04-02)

(本文编辑:吴莹)

肖花艳,易延彦. 更年安颗粒CO₂超临界流体萃取工艺与水蒸气蒸馏提取工艺的比较研究[J/CD]. 中华临床医师杂志:电子版,2011,5(14):4261-4263.