

表 2  $L_9(3^4)$ 正交设计表

试验号	A	B	C	指标 (组分个数)
1	1	1	1	4
2	1	2	2	3
3	1	3	3	2
4	2	1	2	5
5	2	2	3	4
6	2	3	1	4
7	3	1	3	8
8	3	2	1	6
9	3	3	2	5

2.2.3 优化展开剂的应用: 取按文献方法<sup>[6]</sup>制备的1份苦豆子提取物, 采用优化的展开剂展开, 结果见图 1-C

### 3 讨论

优化试验时, 展开前饱和 10 min, 展距 8 cm, 约 20 min, 8种主要生物碱即能达到分离。

优化展开剂分离苦豆子提取物时, 由于涉及到量及高效薄层板精密度, 因此只分离出 6种已知生物碱, 同时出现 5个其他成分的斑点, 具体原因有待进一步研究

参考文献:

- [1] 仲仁山. 苦豆子的研究及其应用 [M]. 银川: 宁夏人民出版社, 1983.
- [2] 刘从盛, 刘文英, 盛龙生. 毛细管气相色谱法测定苦参及其制剂中苦参碱的含量 [J]. 中草药, 1993, 24(8): 405-406.
- [3] 齐宗韶, 王忠效, 韩静. 高效薄层扫描法测定苦豆籽中生物碱含量 [J]. 中草药, 1989, 20(11): 15-16.
- [4] 孙毓庆. 薄层扫描法及其在药物分析中的应用 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1990.
- [5] Joseph L. Glajch. Optimization of solvent strength and selectivity for reversed-phase liquid chromatography using an interactive mixture design statistical technique [J]. J Chromatogr, 1980, 199-57.
- [6] 秦学功, 元英进. 苦豆子种子中生物碱的冷浸提取实验研究 [J]. 中草药, 2001(7): 604-606.

## 超临界 $CO_2$ 萃取当归中藁本内酯工艺条件研究

黄宝华, 张焜, 周晓辉\*, 彭兰乔\*

(广东工业大学轻工化工学院, 广东 广州 510090)

当归 *Angelica Sinensis* (Oliv.) Diels 为伞形科植物, 有补血活血, 调经止痛等功效, 被誉为“妇科要药, 血中圣药”, 用于心血管系统、消化系统、内分泌系统和免疫系统等疾病的治疗。其提取物中含有多种易挥发的物质, 目前已知其挥发油成分有 38 种<sup>[1]</sup>, 而含量较高的为藁本内酯是主要活性成分之一, 具有解痉止痛、平喘等作用<sup>[2]</sup>。本实验采用超临界流体萃取法 (SFE) 对藁本内酯 (ligustilide) 的提取条件进行了正交试验研究。

### 1 仪器与药品

美国 ISCO 100DX, 100D 注射泵, SFX2-10M 超临界萃取器, 北分-Varian SP-3400 气相色谱仪, HP6890 GC/HP 5973 MSD 气质联用仪。

当归头片购自广州市药材公司, 产地甘肃。藁本内酯对照品: 参照文献<sup>[2]</sup>从当归中索氏提取, 经硅胶柱多次层析分离纯化, 经 GC/MS 鉴定。无水乙醇、石油醚等溶剂均为分析纯, 气相色谱定量内标物正十八烷为色谱纯。

### 2 方法与结果

2.1 提取方法: 准确称量已在 40℃ 干燥并粉碎的当归粉 (20~40 目) 0.5 g 于萃取仓中, 设定萃取温度、压力, 设定限流管温度 90℃。待系统达到设定萃取温度, 打开  $CO_2$  钢瓶总阀, 系统压力平衡时, 开始萃取, 同时记下起始  $CO_2$  消耗量, 当达到预定值时, 停止萃取。产品以盛有无水乙醇的 5 mL 具塞刻度试管吸收, 萃取结束后以无水乙醇定容至 5 mL, 摇匀, GC/MS 定性, GC 定量测定藁本内酯的含量。

2.2 正交试验法: 为了找到超临界  $CO_2$  萃取当归中藁本内酯的较佳工艺条件, 我们选用不同萃取温度、压力、 $CO_2$  消耗量作为考察因素, 每个因素各取 3 个水平 (表 1), 采用  $L_9(3^4)$  正交表进行试验, 以藁本内酯的收率为考察指标, 结果见表 2 进行统计学处理, 方差分析见表 3。

从表 2, 3 可知, 各因素对萃取效果影响大小次序为萃取温度 (A) > 压力 (B) >  $CO_2$  消耗量 (C)。表 3 结果表明 A 因素各水平间差异具有显著性。 $CO_2$  消耗量在所考察范围内影响很小。各因素最佳水平组合为  $A_2 B_3 C_3$ 。

\* 收稿日期: 2001-09-16

作者简介: 黄宝华, (1963-), 女, 福建南安人, 副教授, 硕士, 1984 年获北京大学化学系学士学位, 1989 年, 获暨南大学化学系色谱分析专业硕士学位, 主要从事分析化学、天然产物提取等的研究。Tel 020-37626613 E-mail huangbaoh@163.com

\* 本校实验研究中心

表 1 正交试验因素水平

水平	因素		
	萃取温度 (°C)	萃取压力 (M Pa)	CO <sub>2</sub> 消耗量 (mL)
	A	B	C
1	35	30	10
2	40	35	15
3	45	40	20

表 2 正交设计方案和实验结果

试验号	A	B	C	藁本内酯量 (mg)	收率 (%)
1	1	1	1	0.969	0.194
2	1	2	2	1.17	0.233
3	1	3	3	1.11	0.222
4	2	1	2	1.35	0.270
5	2	2	3	1.70	0.340
6	2	3	1	1.66	0.333
7	3	1	3	1.16	0.232
8	3	2	1	1.29	0.258
9	3	3	2	1.38	0.276
K <sub>1</sub>	0.216	0.232	0.262		
K <sub>2</sub>	0.314	0.277	0.260		
K <sub>3</sub>	0.255	0.277	0.265		
R	0.098	0.045	0.003		

表 3 方差分析表

方差来源	差平方和	自由度	方差	F 值	P
A	0.0146	2	0.0073	21.74	<0.05
B	0.0040	2	0.0020	6.03	
C	0.00004	2	0.00002	0.06	
误差	0.0007	2	0.0003		
总和	0.0193	8			

$F_{0.05}(2, 2) = 19.00, F_{0.01}(2, 2) = 99.00$

2.3 单因素试验: 经过反复试验, 发现结果 CO<sub>2</sub> 消耗量  $\geq 30$  mL 时, C 因素对萃取结果有明显影响, 原 C 因素的水平设置过低, 故我们再用单因素试验法考察 CO<sub>2</sub> 消耗量的影响。固定温度 40°C, 压力 35 M Pa, 改变 CO<sub>2</sub> 消耗量, 进行比较 (见表 4)。

表 4 CO<sub>2</sub> 消耗量影响

试验号	CO <sub>2</sub> 消耗量 (mL)	藁本内酯量 (mg)	收率 (%)
1	30	1.77	0.354
2	35	1.98	0.396
3	40	2.33	0.466
4	45	2.13	0.426
5	50	2.11	0.422
6	60	2.02	0.404
7	80	1.57	0.313

可见随着 CO<sub>2</sub> 消耗量的增大, 收率逐渐增加, 在 40 mL 达到最大值, > 40 mL 收率反而下降。这可能是由于 CO<sub>2</sub> 消耗量的增加使藁本内酯与溶剂形成气溶胶随 CO<sub>2</sub> 气化挥发损失。因此, 我们在不同的 CO<sub>2</sub> 消耗量条件下, 采用冰水浴收集产品与室温收集进行比较实验 (表 5)。

表 5 室温收集与冰水浴收集结果比较

试验号	CO <sub>2</sub> 消耗量 (mL)	室温收集收率 (%)	冰水浴收集收率 (%)
1	40	1.10	1.24
2	50	0.980	1.34
3	60	0.956	1.37
4	70	0.799	1.35
5	80	0.610	1.32

表 5 结果表明, CO<sub>2</sub> 消耗量在 40~ 80 mL 范围内, 冰水浴收集的收率明显高于室温收集  $\geq 50$  mL 收率基本稳定, 60 mL 时有最大收率。

### 3 小结与讨论

3.1 根据以上实验, 可确定当归中藁本内酯的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺条件: 萃取温度 40°C, 萃取压力 35 M Pa, CO<sub>2</sub> 消耗量 60 mL, 冰水浴收集产品。

3.2 萃取温度与收集温度对收率有显著影响。当温度升高, 超临界流体的密度下降, 使萃取力降低, 而温度升高会使样品的组分更易挥发, 对萃取有利, 因而应选择合适的萃取温度, 使萃取处于最佳状态。冰水浴收集产品与室温收集相比, 可提高当归中藁本内酯的收率, 即低温收集可减少藁本内酯随 CO<sub>2</sub> 气化而挥发损失。

3.3 藁本内酯极性低, 正己烷对其溶解度高于乙醇, 吸收率更高, 但收集过程中, 随着 CO<sub>2</sub> 气化, 正己烷挥发较快, 须时时添加, 消耗量较大, 本实验采用乙醇吸收产品。

3.4 在萃取过程中, 我们常常遇到带加热套的限流管的堵塞问题, 估计是当归中的部分粘性物质被同时萃取出来所致, 故须定期清洗。采用较低投料量更有利于萃取的正常进行。限流管温度 90°C 与 60°C 相比较不易堵塞。过低 CO<sub>2</sub> 流量也易使限流管堵塞。考虑以上堵塞问题, 暂时没有采用文献报道的固液收集法<sup>[3]</sup>。

3.5 实验过程中测得不同批次的当归中藁本内酯含量差别较大, 这与生药的产地、加工和贮藏有关, 故投料时应把好原料质量关。

致谢: 广东省测试分析研究所吴惠勤、张桂英对本项研究给予热情帮助, 以此谨表谢忱。

#### 参考文献:

- [1] 李菁, 葛发欢, 黄晓芬, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取当归挥发油的研究 [J]. 中药材, 1996, 19(4): 187-189.
- [2] 陶静仪, 阮于平, 梅其炳, 等. 当归成分藁本内酯平喘作用的实验研究 [J]. 药学报, 1984, 19(8): 561-565.
- [3] 吴广通, 石力夫, 胡晋红, 等. 超临界流体萃取法测定川芎中藁本内酯含量的研究 [J]. 药学报, 1998, 33(6): 457-460.