超临界二氧化碳萃取楮实子油化学成分的研究

袁 晓, 袁 萍

(中国科学院武汉植物园, 湖北 武汉 430074)

楮实子为桑科植物构树 *Broussonetia papyrifera* (L.) Vent. 的干燥成熟果实, 分布在我国华北、西北、华东、中南、西南及辽宁^[1]。具有补肾清肝、明目、利尿的功效, 临床上用于治疗腰膝酸软、虚劳骨蒸、头晕目昏, 目生膜、水肿胀满, 还可以治疗顽癣、神经性皮炎、湿疹等皮肤病。《名医别录》载为上品: 甘、寒, 无毒。古本草多记载楮实子为补益药, 功用大补益, 久服不饥、不老, 轻身^[2]。现代研究也表明其具有抗老年痴呆或延缓老年痴呆、改善认知功能的作用, 另外, 由楮实子等组成的中药制剂肝舒胶囊对慢性丙型肝炎有效, 对丙氨酸转氨酶有明显改善。对治疗黄疸型肝炎有特殊疗效。楮实子能治疗肾病, 用黄芪伍用楮实子等治疗慢性肾功能衰竭兼水肿者及泌尿系结石也都有一定的效果。楮实子也可用来治疗眼科疾病、女性不孕及男性不育症等。展望应用前景, 楮实子不仅具有开发治疗老年性疾病新药的潜力, 还可以制成美容保健类的产品^[3-5]。

楮实子油传统提取及分离法即用石油醚等有机溶剂提取经粉碎过筛楮实子果实, 用石油醚冷浸法或渗漉法, 将冷浸或渗漉出的溶液抽滤, 浓缩并回收溶剂即得棕色楮实子油。由于油脂中含有其他包括色素的杂质, 还需要精制。还得将提取物加到硅胶柱上, 分别用不同极性的溶剂如石油醚、乙醚、丙酮等冲洗柱子, 回收溶剂而得到精品。以上这些方法存在着工艺复杂、周期长、提取率较低、选择性差、有效成分易破坏、生产效率低等缺点。超临界 CO₂ (SFE-CO₂) 流体萃取技术作为一种新型分离技术, 就是利用超临界条件下的气体作萃取剂, 从液体或固体中萃取出某些成分并进行分离的技术。作为一种高新技术, 近年来在高附加值天然产物的分离提纯中的应用日益受到重视。用该技术分离提纯产物中的有效成分具有分离温度低、可以有效防止天然产物中热敏组分的分解、没有溶剂残留、溶剂无毒无味无害、保持了天然产物原有的自然风味等优势。此外利

用 SFE-CO₂ 萃取能力易调节的特性, 通过改变 CO₂ 的萃取能力, 可望达到较高的提取效率。

本实验研制了一种优质楮实子油及高纯度的不饱和脂肪酸的提取方法。油脂的质量比传统的提取方法好, 所含不饱和脂肪酸的量较传统的提取分离方法高, 为楮实子油更广泛地用于医药、食品、化妆品等行业提供一种较先进的技术方法。

1 材料与方 法

1.1 材料: 由湖北省药材公司提供经晒干后的楮实子果实, 经鉴定为楮实子 *B. papyrifera* (L.) Vent. 的果实。

1.2 方 法

1.2.1 仪器与条件: 仪器采用江苏省南通华安公司生产的 HA221-40-11-C 型萃取装置。经对萃取压力、温度和时间 3 因素 3 水平正交试验, 获得最佳萃取条件: 温度为 40 ℃、压力为 30 MPa、时间为 2 h。法国 Sartoriou 普及型 pH 计, 德国 Opton11250 型折光仪, 法国 Acclab 型电子天平。

气相色谱仪分析条件: 美国 HP 公司 6890A 气相色谱仪。SE-30 弹性石英毛细管柱, 柱长 30 m, 内径 0.25 mm, 检测器 FID, 温度 50~290 ℃, 升温速率 4 ℃/min, 柱前压 5 kPa, 分流比 30:1, 载气为高纯氮气。

气相色谱/质谱联用仪: 美国 HP 公司 HP6890A 气相色谱/HP5973MSD 色质联用仪。色谱条件: SE-30 弹性石英毛细管柱, 柱前压 5 kPa, 柱长 30 m, 内径 0.25 mm, 初始温度 50 ℃, 升温速率 6 ℃/min, 终止温度 290 ℃, 质谱条件: 电子能量 70 eV, 离子源温度 230 ℃, 扫描范围 35~650 amu, 扫描时间 1.30 s, 分辨率 1 000。WILEY 质谱数据库^[6,7]。

1.2.2 超临界 CO₂ 提取: 将楮实子果实干燥后粉碎, 过 10~20 目筛, 投入到超临界萃取釜中, 对萃取釜、解析釜 1、解析釜 2、分离柱、储存罐分别进行加

收稿日期: 2005-03-29

基金项目: 中国科学院武汉植物园知识创新工程所长基金资助(02035109)

作者简介: 袁 晓(1962-), 男, 副研究员, 博士在读, 长期从事天然产物研究和新药开发。

Tel: (027)87510032 E-mail: myuan33@hotmail.com

热或冷却,当分别达到所需温度时,打开 CO₂ 气体瓶,通过压缩泵对前3种设备进行加压,当分别达到所需压力时,开始循环萃取,并调节 CO₂ 的流量为 26~27.5 L/h,保持恒温恒压 1.5~2 h 后,从解析釜 1、解析釜 2 出料口出料,得浅黄色油状液体。

1.2.3 溶剂法提取:取干果碾碎后过 20 目筛,用 1:10 的石油醚浸泡 4 h 后超声 30 min,滤过,滤渣重复超声 3 次,回收滤过后的溶剂即得。楮实子油质量检验方法:相对密度的测定、折光率的测定、干燥失重的测定参照《中国药典》附录 K-N 脂肪与脂肪油检验法^[8]。

1.2.4 对照品和样品溶液的制备:精密称取亚油酸 40 mg,置 10 mL 具塞刻度试管中,加三氟化硼甲醇溶液 1 mL,在 60 °C 水浴中酯化 5 min,放冷,精密加入正己烷 2 mL,振摇,分层后取上层液为对照品。准确吸取楮实子油 0.5 mL,置 25 mL 容量瓶中,加入乙醚-正己烷(2:1)2.5 mL、甲醇 2.5 mL、0.8

mol/L KOH 甲醇溶液 0.5 mL,摇匀,静置 10 min,加蒸馏水至刻度,取上层脂肪酸甲酯,经无水硫酸钠干燥,即可进样分析^[9]。

1.2.5 标准曲线的制作:分别取对照品进样 1、1.5、2、2.5、3 μL 进行测定,以峰面积 Y 与进样量中对照品的量 X 进行回归分析。回归方程 $Y = 2\,498\,651 X + 917\,231$, $r = 0.999\,6$ 。

1.2.6 精密度、重现性、稳定性、回收率试验、均按“国家标准/动植物油脂脂肪酸甲酯气相色谱分析”(T17377-1998)操作。

1.2.7 样品的测定:测定 3 批由湖北省药材公司在不同的时间提供的楮实子果实。

2 结果

2.1 用不同提取方法提取楮实子油的得率及技术指标:见表 1。

2.2 楮实子油的化学成分及其量的分析:见表 2。

3 讨论

表 1 楮实子油得率、物理性状和常数

Table 1 Yield, physical properties, and constants of *Fructus Broussonetiae* oil

样 品	得率/%	色 状	气 味	折光指数 (20 °C)	相对密度 (20 °C)	干燥失重	亚油酸质量 分数/%	pH (29.5 °C)
溶剂提取楮实子油	27.238 1	深黄色液体	浓油香	1.453 17	0.901 1	≤10%	50.6	5.53~5.61
超临界 CO ₂ 提取楮实子油	29.331 2	浅黄色液体	浓油香	1.456 77	0.939 3	≤10%	51.7	5.28~6.09

表 2 楮实子油的化学成分分析

Table 2 Analysis on chemical constituents of *Fructus Broussonetiae* oil

峰号	化 合 物	质量分数/%	峰号	化 合 物	质量分数/%
1	2-庚烯醛	0.086	28	9,12-十八碳二烯酸甲酯	0.243
2	十一烷	0.026	29	十七烷酸甲酯	0.362
3	辛酸甲酯	0.076	30	10,13-十八碳二烯酸	63.982
5	反式-2-癸烯醛	0.012	31	9-十八烯酸甲酯	3.505
6	2,4-癸二烯醛	0.049	32	十八烷酸甲酯	4.263
7	methyl 8-oxooctanoate	0.005	33	9,12-十八碳二烯酸甲酯	0.107
9	cycloisositivene	0.023	34	亚油酸乙酯	0.308
10	香附烯	0.406	35	11,13-二烯二十酸甲酯	0.221
12	反式-石竹烯	0.073	36	2-辛基-环丙烷辛酸甲酯	0.076
13	α-佛手柑油烯	0.022	37	十九烷酸甲酯	0.046
14	顺-β-金合欢烯	0.186	43	11-二十烷酸甲酯	0.728
16	β-金合欢烯	0.057	44	二十烷酸甲酯	0.261
17	β-没药烯	0.109	50	二十一烷酸甲酯	0.038
19	肉豆蔻酸甲酯	0.314	51	环-维生素 E	0.080
22	十五烷酸甲酯	0.085	52	二十五烷	0.056
24	棕榈烯酸甲酯	0.442	53	山俞酸甲酯	0.088
25	棕榈酸甲酯	20.914	59	环-维生素 E	0.033
26	甲基-2-辛基环丙烯-1-庚酯	0.035	60	藻甾醇	0.063
27	棕榈酸乙酯	0.043			

3.1 CO₂ 超临界萃取楮实子油的其他影响因素除了压力、温度、时间外,CO₂ 的流量和原料的粒度大小也是较为主要的因素。CO₂ 流量的不同会影响到最终的 CO₂ 用量,而用量的不同萃取物的得率和成分也会有所差异。但是 CO₂ 的流量的影响因素很

多,不仅取决于所用 CO₂ 气体的质量,而且与生产季节、设备的具体状况等因素有关,以目前国产设备的状况而言很难做到 CO₂ 流量的准确控制,所以在实验中采用了 CO₂ 的钢瓶外加一个恒温控温器,并让流量确定在一个范围之内。

3.2 采用 CO₂ 超临界萃取技术提取楮实子油,其得率较高,可以达到 29%,而传统的溶剂萃取法收率仅为 27%。而且超临界 CO₂ 萃取比常规技术得到的楮实子油在品质上有了很大改善,透明,色泽较浅。采用 CO₂ 进行超临界萃取,操作温度低,不会影响挥发油中的热敏性物质的天然活性,得到的楮实子油香气更接近于天然香味,没有有机溶剂残留。超临界萃取技术操作简单、自动化程度高、各种指标易于准确控制,完成一个操作周期需 2 h,而常规方法操作麻烦,各种指标难于准确控制,完成一个萃取过程需 10 h 左右。

用气相色谱外标法测定楮实子油的亚油酸质量分数部分技术指标未见报道,与气相色谱-质谱联用仪作对照,其绝对质量分数比相对质量分数低 17 个百分点,下一步将把楮实子油用于调血脂试验,为把楮实子油开发成为治疗心血管疾病的药提供可靠的数据^[10,11]。

在我国楮实野生资源丰富,且果实含油高,得油率达到 28% 以上。油脂中有丰富的不饱和脂肪酸,其含亚油酸达 50% 以上,药材市场购买价格比较低,具有较强的市场开发潜力。

致谢:中国科学院武汉植物园黄宏文博士的支持和指导。

References:

[1] Zheng H Z, Dong Z H, Yu J. *Modern Research and Application of Chinese Materia Medica* (中药现代研究与应用) [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1999.

[2] Tao H J. *Transactions of Famous Physicians* (名医别录) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1986.

[3] Li Y Y, Yang Q M. Study on antiaging of Chinese medicinal pharmaceuticals with nourishing qi and reinforcing kidney [J]. *J Tradit Chin Med* (中医杂志), 1991, 32(8): 45-46.

[4] Zhang Z X, Dai R, Yang R, et al. Effects of seeds of *Broussonetia papyrifera* on LPO, SOD, and lipoproteins in Alzheimer's disease [J]. *Pharm J Chin PLA* (解放军药学报), 1999, 15(4): 5-7.

[5] Dai X M, Zhang Z Y, Fu Z X, et al. *Fructus Broussonetiae's* promoting effects on study and memory of mice [J]. *Pharm Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 1997, 13(5): 27-29.

[6] Jemmings W. *Qualitative Analysis of Flavor Capillary Gas Chromatography* [M]. New York: N. Y. Academic Press, 1980.

[7] Heller S R, Milnc Q W. *A NIH/EPA/MASS spectral data base* [M]. New York: US Government Printing Office, 1978.

[8] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.

[9] Lan H X, Zhao X H. Comparison of several methylated methods of fat acids [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997, 28(10): 72-73.

[10] Wan K Y, Ke Z G, Huang D S, et al. Fatty oil composition of *Celastrus angulatus* seed oil [J]. *Chin Lipa* (中国油脂), 2003, 28(11): 53-54.

[11] Yuan P, Zhang Y H, Wang G L, et al. A study on the chemical constituents of essential oil of an endemic and rare plant *Psilopogonum sinense* Hemsl. in China [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), 1999, 17(2): 184-186.

滇桂艾纳香挥发油化学成分的 GC-MS 分析

王治平, 孟祥平, 樊化, 李久香, 王一飞*

(暨南大学生物医药研究开发基地, 广东 广州 510632)

滇桂艾纳香来源于菊科植物滇桂艾纳香 *Blumea riparia* (Bl.) DC. 的干燥全草, 为壮族民间草药, 主要产于云南东南部和广西西南部。具有活血、止血、利水作用。用于经期提前、产后血崩、产后浮肿、不孕症、阴疮等^[1]。滇桂艾纳香化学成分的研究未见有文献报道。本实验采用 GC-MS 技术, 分析滇桂艾纳香挥发油化学成分。

1 仪器与材料

美国菲尼根 TRACE GC-MS 联用仪, DB-5 石英毛细管柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 滇桂艾纳

香药材购自广西壮族自治区药材公司, 经 TLC 试验, 结果与滇桂艾纳香对照药材 (广西壮族自治区药品检验所提供) 图谱一致, 鉴定为菊科植物滇桂艾纳香 *B. riparia* (Bl.) DC. 的干燥全草。按《中国药典》2000 年版一部附录 XD 方法提取挥发油, 得率为 0.13%。挥发油以乙醚稀释 5 倍, 为供试品溶液。

2 方法与结果

2.1 气相色谱条件: 载气为氦 (He), 分流比 20:1, 柱内体积流量 1.2 mL/min, 进样口温度 260 °C, 进样量 1 μL, 程序升温 75 °C (3 min) $\xrightarrow{8\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}}$ 150 °C

收稿日期: 2004-10-21

基金项目: 广东省科技计划项目 (2002A301030206)

作者简介: 王治平 (1965-), 男, 湖北省天门市人, 助理研究员, 主要从事新药药学研究工作。 Tel: (020)85220504-312

* 通讯作者 王一飞