

制备姬松茸多糖制品做进一步评估,将试验获得的多糖制品用 SeparoesCL-4B 凝胶过滤法检测,结果微滤截留液、 8×10^4 超滤截留液、 1×10^4 超滤截留液和反渗透浓缩液的主要洗脱峰值处平均相对分子质量分别为 5.553×10^5 、 2.342×10^5 、 5.46×10^4 、 8.6×10^3 。由测得的平均相对分子质量来看,多糖制品的相对分子质量分级较为理想。这再次证实了膜用于多糖的分级纯化是可行的。

3 结论

研究表明,采用微滤串联不同截留相对分子质量的超滤对姬松茸多糖分级纯化,工艺简单可行、多糖得率高、产品纯度好。实验粗略确定的相对分子质量 $> 3 \times 10^5$ 、 $3 \times 10^5 \sim 8 \times 10^4$ 、 $8 \times 10^4 \sim 1 \times 10^4$ 和 $< 1 \times 10^4$ 4 个级别的多糖质量分布比例约为 5 : 1 : 3 : 1。获得的多糖制品质量分数高于 70%,多糖总回收率高达 80.54%,两者均高于传统的提纯工艺。

试验确定操作条件为:室温,操作压力 0.08 ~

0.1 MPa,微滤多糖质量浓度最高可浓缩至 45 g/L,而截留相对分子质量 8×10^4 和 1×10^4 的超滤最高质量浓度分别浓缩至 35 g/L 和 25 g/L 左右。建议实际生活中采用微滤与 1×10^4 截留相对分子质量超滤串联工艺进行分级纯化。

References:

- [1] Huan L N. *Agaricus blazei* Murrill and medicine function [J]. *Edible Fungi Jiangsu* (江苏食用菌), 1994, 15 (4): 30-31.
- [2] Tan Z J, Xie D P. Research advancements of polysaccharides [J]. *Food Sci Tech* (食品科技), 2002, (3): 10-12.
- [3] Fang J H, Gu S M, Zhou G H, et al. Analysis on polysaccharides of *Agaricus blazei* Murril [J]. *Food Sci* (食品科学), 2004, 25 (7): 142-144.
- [4] Xu Z L. *Water Treatment Membrane Technology* (水处理膜技术) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2001.
- [5] Deng L, Wang Y. Solute adsorption as an important source of foul in ultrafiltration [J]. *Proce Separa* (过程与分离), 1997 (4): 13-17.
- [6] Yang M, Zhou X L, Si Q Q. Studies on the extraction methods of polysaccharides from *Agaricus blazei* [J]. *J Fujian Teachers Univ, Nat Sci* (福建师范大学学报:自然科学版), 1998, 14 (1): 85-89.

超临界流体萃取广西莪术挥发油中 β -榄香烯

吴琳华, 杜 霞, 刘红梅

(哈尔滨医科大学附属第二医院 药学部, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:目的 采用超临界流体萃取广西莪术挥发油中的 β -榄香烯。方法 采用正交试验设计对萃取条件进行了优化。结果 确定了最佳萃取条件:萃取压力为 25 MPa、萃取温度 60 $^{\circ}$ C、 CO_2 流量 8 L/h、萃取时间 90 min;并用 GC/MS 测定了各试验条件下 β -榄香烯。结论 与水蒸汽蒸馏法相比较,超临界萃取法具有萃取率高、耗时少等优点。

关键词:广西莪术; β -榄香烯; 超临界流体萃取; 气相色谱-质谱法

中图分类号: R284.6; R286.02 **文献标识码:** B **文章编号:** 0253-2670(2006)03-0368-03

β -Elemene from volatile oil of *Curcuma kwangsiensis* by supercritical fluid extraction

WU Lin-hua, DU Xia, LIU Hong-mei

(Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

Key words: *Curcuma kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang; β -elemene; supercritical fluid extraction; GC/MS spectrometry

莪术是姜科植物蓬莪术 *Curcuma phaeocaulis* Valeton、广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 和温郁金 *C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling 的干燥根茎。从莪术根茎中提取的莪术油及其单体 β -榄香烯均为良好的抗肿瘤药物,不仅能

直接作用于肿瘤细胞核中的 DNA,起抑制或杀伤肿瘤的作用,而且能提高肿瘤细胞的免疫原性,增强机体对其的杀伤活性^[1,2]。莪术挥发油的提取方式基本是采用传统方法水蒸气蒸馏法。文献报道了采用超临界萃取技术对蓬莪术挥发性成分进行研究,结果

收稿日期:2005-05-18

作者简介:吴琳华(1958-),女,吉林扶余人,博士,教授,硕士生导师,1982年毕业于黑龙江商学院制药工程系,1997年获哈尔滨医科大学药理学硕士学位,2004年获黑龙江中医药大学中药学博士学位,研究方向为药物新剂型与新制剂。

Tel: (0451) 86605581 Fax: (0451) 86665559 E-mail: wlh@pharm-hrbmush.com

发现与索氏萃取、水蒸气蒸馏法相比,萃取能力更强,效率更高^[1]。本实验采用超临界萃取广西莪术挥发油中的 β -榄香烯,正交试验设计筛选出最佳萃取条件。

1 仪器与材料

GM32-1 型超临界 CO₂ 萃取装置(大连光明设计研究院),GC 6890N-MSD5973N 气相-质谱联用仪(Agilent),广西莪术切片(购于哈尔滨市药材公司,经黑龙江中医药大学药学院孙海峰教授鉴定为广西莪术干燥块茎),CO₂(体积分数 99.9%)。

2 方法与结果

2.1 超临界流体萃取法:将粉碎过 30 目筛的广西莪术粉末 250 g,投入萃取釜中,对分离釜进行加热,储罐进行冷却。当温度达到所设定的温度时,打开高压泵对萃取釜,分离釜进行加压,当压力分别达到选定的萃取压力时,开始循环萃取,调节主泵使 CO₂ 流速至选定值,待系统稳定后萃取开始计时,收集产物。经过预试验选定 4 因素 3 水平正交表进行试验。萃取压力(A)、萃取温度(B)、CO₂ 流量(C)和萃取时间(D)为主要因素。3 水平做正交设计,以莪术油的提取率(收集到的总挥发油的质量与投料量之比,即出油率)和莪术油中 β -榄香烯的质量分数为优化依据,选择最佳萃取条件。因素水平安排见表 1。

表 1 因素水平

Table 1 Factors and levels

水平	A / MPa	B / °C	C / (L · h ⁻¹)	D / min
1	12	40	5	60
2	18	50	8	90
3	25	60	12	120

2.2 挥发油的测定^[4]:对超临界正交试验萃取所得的挥发油采用 GC/MS 进行分析,得到总离子流图,见图 1。

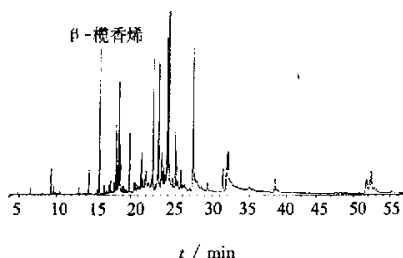


图 1 广西莪术挥发油总色谱图

Fig. 1 Total chromatogram of volatile oil of *C. kwangsiensis*

2.2.1 气相色谱条件:HP-5MS 色谱柱(30 m × 0.25 mm, 0.25 μm),初始温度 100 °C,然后以 10 °C/min 升温至 220 °C,进样口温度 250 °C,载气为

高纯氮(质量分数 > 99.999%),载气体积流量 1 mL/min,进样量 1 μL,不分流进样。质谱条件:电离方式为电子轰击(EI),离子源温度 200 °C,四极杆温度 150 °C,溶剂延迟 5 min,扫描范围 45~600 amu。

2.2.2 β -榄香烯的测定:精密称取 β -榄香烯对照品 100 mg 于 10 mL 量瓶,无水乙醇稀释至刻度,作为母液。精密量取母液 1 mL 置 100 mL 量瓶,无水乙醇稀释至刻度,作为储备液。精密量取对照品储备液 0.6 mL 置 10 mL 量瓶中,无水乙醇稀释至刻度,待用。

2.2.3 供试品溶液的配制:精密称取莪术油样品 100 mg 置 10 mL 量瓶中,无水乙醇稀释至刻度。精密吸取 5 mL 置 10 mL 量瓶中,无水乙醇稀释至刻度,待用。

2.2.4 测定:分别吸取对照品溶液及供试品溶液 1 μL,注入色谱仪,测定峰面积,以标准曲线法(A = 1 E+06 C-89 437, r=0.999 0)计算即得。

2.3 结果

2.3.1 正交试验结果见表 2。

表 2 正交试验结果

Table 2 Results of orthogonal test

实验号	A	B	C	D	出油率/%	β -榄香烯/%
1	1	1	1	1	2.88	0.011 8
2	1	2	2	2	1.52	0.023 1
3	1	3	3	3	1.52	0.020 7
4	2	1	2	3	1.96	0.024 3
5	2	2	3	1	0.96	0.009 4
6	2	3	1	2	1.28	0.015 1
7	3	1	3	2	1.76	0.018 0
8	3	2	1	3	2.08	0.023 3
9	3	3	2	1	1.84	0.023 7
出油率						
K ₁	5.92	6.6	6.24	5.68		
K ₂	4.2	4.56	5.32	4.56		
K ₃	5.68	4.64	4.24	5.56		
k ₁	1.97	2.2	2.08	1.89		
k ₂	1.4	1.52	1.77	1.52		
k ₃	1.89	1.55	1.41	1.85		
R	0.5	0.65	0.67	0.37		
β -榄香烯						
K ₁	0.480 6	1.017 8	1.049 5	0.911 2		
K ₂	1.160 2	0.968 6	1.175 7	1.204 4		
K ₃	1.469 1	1.123 5	0.884 7	0.994 3		
k ₁	0.160 2	0.339 3	0.349 8	0.303 7		
k ₂	0.386 7	0.322 9	0.391 9	0.401 5		
k ₃	0.489 7	0.374 5	0.294 9	0.331 4		
R	0.329 5	0.051 6	0.097 0	0.097 8		

以出油率为指标时,A₁B₁C₁D₁为最佳值,即萃取压力为 12 MPa、萃取温度 40 °C、CO₂流量 5 L/h、萃取时间 60 min。各因素水平下对出油率的影响不大。

分析的结果来看 A₃B₃C₂D₂为最佳值。可以看出

因素 A 为较显著因素。所以萃取压力应选择 25 MPa 最佳,其他 3 个因素影响不大。综合各因素考虑以极差为准,超临界萃取莪术挥发油中的 β-榄香烯的最佳萃取条件为 A₃B₃C₂D₂,即最佳萃取条件为萃取压力 25 MPa、萃取温度 60 ℃、CO₂ 流量 8 L/h、萃取时间 90 min。

按此条件验证 3 次,并将其与常规水蒸气蒸馏相比较,结果见表 3。

表 3 β-榄香烯的最佳萃取条件验证
Table 3 Verification of optimum extraction condition of β-elemene

方法	β-榄香烯/%
超临界萃取	0.027 1
水蒸气蒸馏	0.012 9

验证试验结果证明在最佳萃取工艺条件下 β-榄香烯萃取率相对最高,是常规水蒸气蒸馏的两倍。

3 讨论

3.1 通过以上实验分析发现与传统的水蒸气蒸馏法相比,超临界萃取中药挥发油有以下优势:萃取速度快,没有残留的有机溶剂,同时可以节省大量的有机溶剂,特别适合于那些对热不稳定物质的萃取。

3.2 本实验对一般超临界萃取的影响因素温度、压力、时间以及二氧化碳流量进行考察并筛选出最佳提取条件。其中考察了两个指标,出油率和 β-榄香烯。出油率在各因素水平下并没有显著差异,因此 β-榄香烯是主要指标。萃取是一个动态过程,随着萃取时间的增加,挥发油萃取率也会相应的增大。但是萃取是会饱和的,并非时间越长越好,有一个最佳值。一般认为温度对萃取率的影响比较复杂,一方面,温

度升高二氧化碳流体密度下降,导致流体溶解能力下降;另一方面,温度升高溶剂蒸汽压增大,二氧化碳流体的黏度减小,这又有利于萃取^[5]。二氧化碳的流速也并非越大萃取效果越好,而有一个较佳值,这与本实验的结果一致。水蒸气蒸馏过程为高温低压,而超临界二氧化碳萃取过程为高压低温。这样可以提高有效成分的提取率,本实验结果也证实了这点。
3.3 对于极性较大或相对分子质量较大的物质的萃取,要加入夹带剂。但夹带剂的加入给后处理过程带来很多不便,尤其不适合大规模的工业化生产。β-榄香烯的相对分子质量是 204,本人在预实验中考察了 95%乙醇作为夹带剂对提取效率的影响。加入夹带剂后,β-榄香烯的提取效率有所增加,但差异不显著。因此,有必要对夹带剂的种类以及剂量做进一步的探讨。

References:

[1] Wu W Z, Liu K D, Tang X L, et al. Preliminary study on the antitumor immuno-protective mechanism of β-elemene [J]. *Chin J Oncol* (中华肿瘤杂志), 1999, 21 (6): 405.

[2] Gao S Q, Zhu C L. Study on optimum extraction process for volatile oil in *Rhizoma Curcumae* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2000, 11 (10): 878.

[3] Chen S L, You J, Wang G J. Extraction of essential oil from *Curcuma phaeocalis* by supercritical fluid extraction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2000, 31 (12): 902.

[4] Zhou X, Li Z W, Wang D P, et al. Study on constituents in *Curcuma phaeocalis* extract by supercritical fluid extraction [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2004, 35 (11): 1223.

[5] Yan Y Z, Tong S Q, Chen G. Study on volatile oil from *Radix Curcuma Wenyujin* by supercritical fluid extraction [J]. *Bull Sci Teh* (科技通报), 2004, 20 (4): 355.

显微颗粒图像分析仪测试黄芪微粉粒度的研究

杨 瑛, 杨永华, 温俊达, 彭小花, 蔡光先

(湖南省中医药研究院, 湖南 长沙 410006)

摘要:目的 建立黄芪微粉的粒度测定方法。方法 采用 Winner99 显微颗粒图像分析仪对黄芪微粉的粒度进行测定。结果 黄芪微粉粒度内控指标宜为 1~75 μm。结论 采用 Winner99 显微颗粒图像分析仪测定黄芪微粉的粒度,方法基本可行。

关键词:黄芪微粉;粒度;显微颗粒图像分析仪

中图分类号:R286.02

文献标识码:B

文章编号:0253-2670(2006)03-0370-04

收稿日期:2005-06-02

基金项目:国家科技攻关计划课题“单味中药超微饮片的质量标准规范化研究”(2001BA701A43)

作者简介:杨 瑛(1965--),女,湖南人,副研究员,学士,研究方向为中药新药制剂与质量标准研究。