

类成分的量,提示该复方配伍的合理性之一在于提高了有效成分的量。配伍后游离和结合型蒽醌的量变化比较复杂,其原因有待进一步研究阐述。

References:

- [1] Li Y, Xu X. Determination of baicalin, rhein and berberine in Yiqing Capsule by HPLC [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 2005, 27(2): 155-157.
- [2] Fu X J, Zhu C W, Wang X G. Determination of dissociation emodin and chrysophanol in Xiedusan by RP-HPLC [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志), 2002, 37(4): 304-306.
- [3] Wang K, Tong Y Y. The analysis of anthraquinones in *Polygonum multiflorum* by HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 1996, 16(4): 219-222.
- [4] Li X R, Tong Y, Ma Z S, et al. Study on qualitative and quantitative methods for Yinhuang Liangxiao Granule [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 39(5): 426-428.
- [5] Bao W F, Yang S, Dong E, et al. Simultaneous determination of the contents of rhein, emodin and chrysophanol in Weitongxin Granules by HPLC [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2003, 20(2): 124-126.
- [6] Xie H, Ma Y M, Wang T M, et al. Pharmacokinetics of rhein in Taohe Chengqi Decoction and rhubarb in rabbits [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2005, 21(2): 1-3.
- [7] Zhang J R, Zhang G P, Wu L S, et al. Pharmacodynamic study on the sediments that produced by matching of herbs in Xiexintang [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2004, 10(5): 27-30.
- [8] Xu X, Dong X W, Mao P. Precipitation reaction between berberine and rheinic acid by capillary electrophoresis [J]. *Acta Pharm Sin* (药理学学报), 2003, 38(10): 779-782.

山柰的超临界 CO₂ 萃取工艺研究

刘文龙¹, 贺福元¹, 张喜利², 刘平安¹, 穆书平², 李荣东¹

(1. 湖南中医药大学药学院, 湖南 长沙 410004; 2. 湖南九芝堂制药有限公司, 湖南 长沙 410007)

摘要:目的 优化山柰的超临界 CO₂ 萃取工艺。方法 通过正交试验, 采用气相色谱法测定其中苯甲醛的量, 采用极差、方差对试验数据进行分析。结果 最佳工艺为萃取温度 55 ℃、萃取压力 20 MPa、分离压力 9 MPa, 在分离釜 I 中收集主要提取物。结论 萃取温度、分离压力对山柰的超临界 CO₂ 萃取工艺有显著性影响。

关键词:山柰; 超临界 CO₂ 萃取; 正交试验

中图分类号: R286.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)09-1330-03

Technologic optimization of *Kaempferia galanga* by supercritical CO₂ extraction

LIU Wen-long¹, HE Fu-yuan¹, ZHANG Xi-li², LIU Ping-an¹, MU Shu-ping², LI Rong-dong¹

(1. School of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410004, China;

2. Jiuzhitang Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410007, China)

Abstract; Objective To optimize the extracting process for *Kaempferia galanga* by supercritical CO₂ extraction. **Methods** GC was used to determine the contents of benzaldehyde. Orthogonal design was used to optimize supercritical CO₂ extraction process. Range and variance analysis were used to deal with the test data. **Results** The optimum process was established as following: the extracting technique was dealt with under 20 MPa as extracting pressure; 55 ℃ as extracting temperature and 9 MPa as separating pressure. The main extracts were collected in separated kettle I. **Conclusion** The extracting temperature and separating pressure would make remarkably effects on CO₂ extracting results of *K. galanga*.

Key words: *Kaempferia galanga* L.; supercritical CO₂ extraction; orthogonal test

山柰为姜科植物山柰 *Kaempferia galanga* L. 的干燥根茎, 性温, 味辛, 有行气温中、消食、止痛等功效, 对于胸膈胀满、脘腹冷痛, 饮食不消等均有作用^[1]。山柰含 2% 的挥发油, 油中的化学成分主要有对-甲氧基桂皮酸乙酯、桂皮酸乙酯、龙脑、苧烯、对-

甲氧基苏合香烯等。天然苯甲醛类小分子芳香化合物与其抗癌活性密切相关, 可能是其芳环结构阻止了癌细胞蛋白质的合成^[2]。因此本实验采用正交试验设计, 以超临界 CO₂ 萃取工艺对山柰中脂溶物质进行提取研究, 并采用毛细管气相色谱测定其中的

收稿日期: 2006-10-20

基金项目: 湖南省中医药管理局中医药科研基金资助项目(204128)

作者简介: 刘文龙(1977-), 男, 湖南邵阳人, 讲师, 中药药剂学硕士, 主要从事分析、药物分析的教学工作, 中药药剂的科研工作, 研究方向为中药新工艺、新剂型、新技术, 共发表论文 10 余篇。Tel: (0731)5552623 E-mail: dragon5240@126.com

苯甲醛的量,以极差、方差分析对实验数据进行分析 and 拟合,优化提取工艺。

1 仪器与材料

SP-6890 气相色谱仪(山东鲁南瑞红化工仪器有限公司);N-3000 工作站(浙江大学);FC130/B 锤式粉碎机(上海中药机械厂);HL-(5+1)L/50 MPa-I AQ 型超临界流体 CO₂ 萃取装置(杭州华黎泵业有限公司)。

山奈购于湖南省药材有限责任公司,由本校中药鉴定教研室鉴定为姜科植物山奈 *K. galanga* L. 的干燥根茎;CO₂(体积分数为 99.95%);苯甲醛对照品为色谱纯,质量分数为 99.94%;乙醇和其他各试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 因素水平的确定:采用正交试验设计,以萃取温度(A)、萃取压力(B)和分离压力(C)为试验因素^[3],各自取 3 个水平,因素与水平见表 1。

表 1 因素与水平
Table 1 Factors and levels

水平	因素		
	A/℃	B/MPa	C/MPa
1	35	20	7
2	45	25	8
3	55	30	9

2.2 苯甲醛的 GC 法测定

2.2.1 色谱条件^[4]:色谱柱为 SE-30 石英毛细管(30 m×0.32 mm×0.5 μm,中国科学院兰州化学物理研究所);柱室温度为 130 ℃;汽化室和 FID 检测器温度为 160 ℃;柱前压 0.05 MPa,尾吹 0.04 MPa;分流比为 1:100;程序升温:130 ℃保持 5 min,以 2 ℃/min 升至 160 ℃,保持 10 min。在此色谱条件下,分别取苯甲醛对照品溶液和供试品溶液各 1 μL 进样测定,结果见图 1。可知,山奈挥发油中苯甲醛峰的保留时间为 9.789 min,与其他成分完全分离,且没有任何干扰。

2.2.2 对照品溶液的制备:取苯甲醛的对照品 25 mg,精密称定,置于 1 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并加至刻度,摇匀。吸取 0.1 mL 置于 5 mL 量瓶中,用无水乙醇溶解并加至刻度,摇匀,即得 0.500 2 mg/mL 苯甲醛对照品溶液。

2.2.3 供试品溶液的制备:将 3 个萃取釜中的产物合并,取约 1 g 置于 5 mL 量瓶中,用乙醇溶解并加至刻度,摇匀即得。

2.2.4 线性关系的考察:分别取苯甲醛对照品溶液 0.2、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0 mL,用乙醇定容至 10

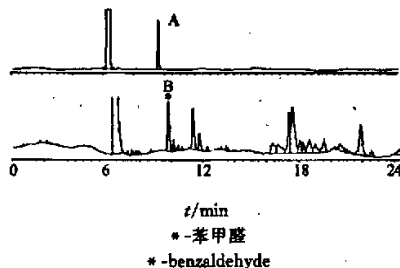


图 1 苯甲醛对照品(A)和山奈总挥发油(B)的气相色谱图

Fig. 1 GC Chromatograms of benzaldehyde reference substance (A) and total volatile oil in *K. galanga* (B)

mL,取 1 μL 进样测定峰面积。以峰面积为纵坐标,质量浓度为横坐标,绘制标准曲线,并进行线性回归分析,得到线性回归方程 $Y = 5\,919.1 X + 3\,000.6$, $r = 0.999\,4$,线性范围为 0.01~0.4 mg/mL。

2.2.5 精密度试验:取苯甲醛对照品溶液 0.2 μL 进样测定峰面积,以保留时间和峰面积计算得 RSD 分别为 0.12% 和 1.57%。

2.2.6 稳定性试验:取供试品溶液 1 μL,分别在 0、2、4、8、16、24 h 进样测定苯甲醛峰面积,计算得其 RSD 为 1.85%。

2.2.7 重现性试验:取萃取物共 5 份,制备供试品溶液,进样测定苯甲醛峰面积,计算苯甲醛的质量分数,得其 RSD 为 2.31%。

2.2.8 回收率试验:取同一批样品 6 份,适量(其中含苯甲醛 2.25、12.51、20.18 μg),加入苯甲醛对照品 1.81、12.5、24.2 μg,制备供试品溶液,进样测定,按线性回归方程计算,得苯甲醛的平均方法回收率为 100.3%,RSD 为 1.488%。

2.2.9 测定:取供试品溶液适量,用乙醇定容至 100 mL,吸取 1 mL,定容至 5 mL。吸取 0.1 μL 进样测定,采用线性回归方程计算苯甲醛的质量分数。

2.3 正交试验设计和结果:每次称取山奈约 400 g,精密称定,粉碎后置于萃取釜中,按选定的正交表安排试验。收集分离釜 I、II、III 中的提取物,称定质量。合并分离釜 I、II、III 得总提取物,苯甲醛的质量分数测定结果见表 2。

对总提取物以全概率计分法^[4]进行方差分析,结果见表 3。 $P(\text{苯甲醛}) : P(\text{提取物总量}) = 0.5 :$

0.5,全概率计算公式是 $P(B_i) = \sum_{j=1}^k P(A_j)P(B_i/A_j)$, $P(B_i/A_j) = X_{ij} / \sum_{i=1}^n X_{ij}$, $i = 1, 2, \dots, n$, $j = 1, 2, \dots, k$ 。

表2 $L_9(3^4)$ 正交试验设计与结果
Table 2 Design and results of $L_9(3^4)$ orthogonal test

试验号	A	B	C	D (空白)	苯甲醛/ (mg·g ⁻¹)	提取物质量/mg				全概率
						分离釜 I	分离釜 I	分离釜 II	总量	
1	1	1	1	1	0.057 64	14.05	20.46	15.45	49.96	0.384 4
					0.054 32	13.01	21.39	13.47	47.87	0.367 0
2	1	2	2	2	0.051 20	12.75	29.10	5.23	47.08	0.349 4
					0.049 06	1.98	38.99	5.28	46.24	0.342 2
3	1	3	3	3	0.010 53	9.60	12.91	4.08	26.58	0.121 9
					0.010 47	5.69	16.11	3.18	24.97	0.118 0
4	2	1	2	3	0.018 20	4.40	51.15	2.80	58.35	0.247 3
					0.020 32	3.41	53.27	2.88	59.56	0.262 0
5	2	2	3	1	0.015 91	1.55	27.28	5.05	33.88	0.165 5
					0.020 51	1.85	27.07	6.05	34.97	0.189 6
6	2	3	1	2	0.043 52	8.50	31.58	9.40	49.48	0.325 0
					0.043 13	27.00	15.05	8.42	50.47	0.330 0
7	3	1	3	2	0.010 98	1.35	3.67	7.20	12.22	0.081 2
					0.007 94	5.37	1.21	6.87	13.45	0.073 2
8	3	2	1	3	0.014 67	2.42	7.52	14.88	24.82	0.133 6
					0.014 11	6.48	5.38	11.88	23.74	0.129 5
9	3	3	2	1	0.021 02	11.60	22.10	1.90	35.60	0.191 6
					0.019 99	10.60	21.18	2.92	34.70	0.186 6
全	K_1	1.685	1.417	1.671	1.487					
概	K_2	1.520	1.310	1.579	1.501					
率	K_3	0.796	1.273	0.749	1.012					
	R	0.889	0.144	0.922	0.489					

表3 全概率方差分析结果

Table 3 Analysis of variance in complete probability

方差来源	立均差平方和	自由度	MS	F 值	显著性
总变异	0.188 80				
A	0.074 53	2	0.037 27	15.530 0	$P < 0.05$
B	0.001 86	2	9.32×10^{-4}	0.388 3	
C	0.085 97	2	0.429 9	17.910 0	$P < 0.05$
D(误差)	0.025 78	11	0.002 4		

$$F_{0.05}(2,10) = 4.10$$

以全概率为指标得到的最优工艺为 $A_3B_1C_3$, 说明萃取温度、分离压力对其影响较大。通过对分离釜之间进行两两 Q 检验, 得出差异来源于分离釜 I, 说明山柰提取物主要分布于分离釜 I 中。综上所述, 以全概率为指标确定山柰的超临界 CO_2 萃取工艺条件为 $A_3B_1C_3$, 即采取温度 55℃, 萃取压力 20 MPa, 分离压力 9 MPa, 主要从分离釜 I 中收集山柰提取物。

2.4 验证试验: 按照优选工艺条件安排 5 次试验, 结果山柰中挥发油的提取率为 $(5 \pm 0.3)\%$, 苯甲醛的质量分数为 $(0.05 \pm 0.003) \text{ mg/g}$, 其结果均较为稳定, 说明该工艺可行。

3 讨论

传统的提取挥发油方法主要是水蒸气蒸馏法、有机溶剂浸提法和压榨法, 其中以水蒸气蒸馏法最为常用。传统的提取方法不仅收率低, 而且由于芳香

性成分的大量损失和某些成分的分解变化而使最终产品质量较差。尽管挥发油所含化学成分因其来源不同而颇不一致, 但因其沸点较低, 相对分子质量不大, 在超临界 CO_2 中有良好的溶解性能, 大多数都可用纯 CO_2 直接萃取得到, 所需的操作温度一般较低, 避免了其中有效成分的破坏与分解, 产品质量好, 而且提取速度快, 收率也较传统方法高得多。

在操作超临界 CO_2 萃取仪器时, CO_2 的注入速度不宜过快, 以免其结冰堵塞管道, 而且冷凝器的温度不能太低。同时 3 个分离釜的压力不能降得太快。收集提取物时不能用玻璃器皿, 应采用塑料的或金属的收集器。

References:

- [1] Wu R, Wu J S, Fang H J, et al. Studies on the constituents of essential oil from *Kaempferia galanga* L. and *K. marginata* download [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1994, 17(10): 27.
- [2] Wang Z, Lin L. Analysis of nutritive and pharmaceutical ingredients from the branch, leaf and fruit of fig [J]. *Food Sci* (食品科学), 2002, 23(9): 135.
- [3] Wan Y Q, Xie M Y. Determination of organophosphorous pesticide residues in traditional Chinese medicines by capillary gas chromatography [J]. *J Anal Sci* (分析科学学报), 2005, 21(3): 286.
- [4] Ni Y X, Peng T W, Zeng L. Study on preparing process of carbonized *Flos Sophorae* by multi-index test breakdown formula evaluation [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 1995, 26(6): 359.