

炮姜超临界 CO₂ 萃取 6-姜酚的工艺研究

郑伟然^{1,2}, 陶永华^{1,2}, 苗宏伟^{1,2}, 景 娇^{1,2}, 赵宾江^{1,2}, 宋 娟^{1,2}, 萧 伟^{1,2*}

1. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

2. 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 通过 HPLC 法测定 6-姜酚量的变化, 比较炮姜超临界 CO₂ 萃取 (SFE-CO₂) 与醇回流提取工艺的区别。方法 炮姜药材分别经 SFE-CO₂ 及醇回流提取, SFE-CO₂ 萃取条件为压力 30 MPa、温度 50 ℃、时间 2 h; 醇回流法为 70%乙醇提取 2 次, 每次 2 h, HPLC 法测定提取前后炮姜药材中 6-姜酚的量。结果 经 SFE-CO₂ 萃取后萃取物中 6-姜酚达 9.53%, 转移率 73.4%, 较醇回流法高 32%。结论 SFE-CO₂ 萃取法较醇回流法适合炮姜中 6-姜酚成分的提取。

关键词: 超临界 CO₂ 萃取 (SFE-CO₂); 炮姜; 6-姜酚; 提取工艺; HPLC

中图分类号: R284.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)10-2023-03

Extraction of 6-shogaol from processing ginger by SFE-CO₂

ZHENG Wei-ran^{1,2}, TAO Yong-hua^{1,2}, MIAO Hong-wei^{1,2}, JING Jiao^{1,2}, ZHAO Bin-jiang^{1,2}, SONG Juan^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

2. State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China

Key words: supercritical carbon dioxide fluid (SFE-CO₂); processing ginger; 6-shogaol; extraction process; HPLC

炮姜为姜科植物姜 *Zingiber officinale* Rosc. 的干燥根茎的炮制品。其制法取净干姜, 照烫法用沙烫至鼓起, 表面呈棕褐色。本品可温经止血, 温中止痛。用于阳虚失血, 吐衄崩漏, 脾胃虚寒, 腹痛吐泻^[1]。炮姜中含有挥发油, 主要成分为 6-姜酚、姜烯、水芹烯、茨烯、柠檬醛等多种萜类及苯基链烷基化合物^[2-5]。6-姜酚等成分易受热破坏, 传统的溶剂提取工艺成分转移率偏低, 且存在有机溶剂残留的问题。超临界 CO₂ 流体萃取 (SFE-CO₂) 生产工艺能够很好地解决上述问题, 由于生产过程均在较低的温度下进行, 损失较小, 同时不存在溶剂残留。本实验以 6-姜酚转移率为指标, 对炮姜 SFE-CO₂ 法、乙醇回流法提取工艺进行了对比研究, 为确定炮姜脂溶性成分提取工艺提供依据。

1 仪器与材料

HA221—40—13 型超临界萃取设备 (华安超临界萃取有限公司), Waters 高效液相色谱仪 (美国 Waters 公司), 包括 Waters 515 泵、Waters 2487 紫

外-可见检测器、Rheodyne 进样器、中国科学院大连化学物理研究所 WDL-95 色谱工作站。炮姜 (批号 Y20090501、Y20090502) 均由江苏康缘药业股份有限公司采购部购得, 产地山东省郯城地区, 经陶永华工程师按《中国药典》2010 年版一部正文 14 页炮姜项下相关规定检验, 结果符合规定。6-姜酚对照品 (质量分数 98%, 天津一方科技有限公司)。CO₂ (连云港众意公司食品级二氧化碳, 质量分数为 99.99%)。甲醇、三氟乙酸均为色谱纯, 水为重蒸馏水, 其余试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 6-姜酚的测定

炮姜根茎中含有挥发性的精油和非挥发性的姜辣素物质, 而姜辣素则呈现出生姜的辛辣风味, 也是炮姜中主要药理活性成分, 其主要成分为 6-姜酚, 故选用 6-姜酚为其指标性成分。

2.1.1 色谱条件 色谱柱为 Phenomenex Luna C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为甲醇-0.1%三

收稿日期: 2011-01-11

基金项目: 科技部重大新药创制中药治疗心脑血管疾病有效成分组 (群) 的创新药物孵化基地项目 (2011ZX09401-097)

作者简介: 郑伟然 (1975—), 高级工程师, 主要研究方向为中药新药的研究与开发。Tel: (0518)85521930 E-mail: zwr3105@gmail.com

*通讯作者 萧 伟 Tel: (0518)85521956 E-mail: wzzh-nj@tom.com

氟乙酸溶液(67:33),体积流量1 mL/min,检测波长218 nm,进样量10 μ L。色谱图见图1。

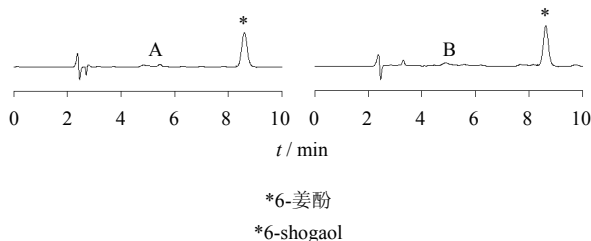


图1 6-姜酚对照品(A)和炮姜提取物(B)的HPLC色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of 6-shogaol reference substance (A) and extract of processing ginger (B)

2.1.2 对照品溶液的制备 取6-姜酚约15 mg,精密称定,置100 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,得150.2 μ g/mL 6-姜酚对照品储备液。

2.1.3 供试品溶液的制备 取炮姜提取物约0.25 g,精密称定,加入70%甲醇40 mL,超声处理(功率1 200 W,频率50 Hz)30 min,定容至50 mL量瓶中,摇匀,即得。

2.1.4 线性关系考察 精密量取6-姜酚对照品溶液1.0 mL,置500 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,分别精密量取稀释后的对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 mL,分别置10 mL量瓶中,加甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,制成30.04、60.08、90.12、120.16、150.20、180.24 μ g/mL对照品溶液;分别精密吸取上述不同质量浓度的对照品溶液各10 μ L,按“2.1.1”项色谱条件测定峰面积。以峰面积分值为纵坐标,6-姜酚的质量浓度为横坐标进行线性回归,得回归方程 $Y=3.4577X$, $r=0.9999$,表明6-姜酚在30.04~180.24 μ g/mL线性关系良好。

2.1.5 精密度试验 取批号Y20090501炮姜提取物制备的供试品溶液,重复进样5次,测定峰面积,计算得6-姜酚峰面积的RSD为0.8%。

2.1.6 稳定性试验 取批号Y20090501炮姜提取物供试品溶液,分别在0、2、4、6、8、12 h各进样1次,结果供试品溶液峰面积的RSD为1.86%,表明供试品溶液在12 h内稳定。

2.1.7 重现性试验 取批号Y20090501炮姜提取物6份,每份0.25 g,精密称定,置50 mL量瓶中,按炮姜提取物处理方法制备供试品溶液,吸取上述供试品溶液测定峰面积,计算得6-姜酚质量分数的

RSD为1.0%。

2.1.8 加样回收率试验 取批号Y20090501炮姜提取物6份,每份0.25 g,精密称定,置50 mL量瓶中,分别加入150.2 μ g/mL 6-姜酚对照品溶液1 mL,按炮姜提取物处理方法进行处理,吸取上述6份供试品溶液各10 μ L,注入液相色谱仪,测定峰面积,计算加样回收率。结果6-姜酚平均回收率为100.8%,RSD为1.56%。

2.2 SFE-CO₂萃取炮姜工艺优化实验设计

2.2.1 萃取压力对炮姜出油率的影响 萃取压力是影响萃取过程的重要参数之一。一定条件下,萃取压力的大小直接决定了溶质在超临界CO₂中的溶解度^[6]。萃取压力高,超临界CO₂密度大,其溶解能力强,溶质溶解度大,即炮姜油在超临界CO₂的溶解度增加,所以出油率也随之增加。但当萃取压力增大到一定程度时,炮姜油在超临界CO₂的溶解度增加速度趋于缓慢,出油率增幅也很小。因此,需通过单因素试验确定萃取压力。

取炮姜(批号Y20090501)在粉碎度为20目^[7]、萃取温度50 $^{\circ}$ C、质量流量在50~70 kg/h、萃取时间2 h的条件下,探讨不同萃取压力(20、25、30、35 MPa)对炮姜出油率的影响,结果出油率分别为3.31%、3.64%、3.92%、4.10%。可知压力由20 MPa逐渐增加至30 MPa时,随着萃取压力的增大,出油率增加明显。当萃取压力超过30 MPa时炮姜油溶解在CO₂流体中,出油率变化平缓,这是由于炮姜油的溶解几乎接近饱和。因此,较佳的萃取压力为30 MPa。

出油率=挥发油总质量/炮姜总质量

2.2.2 萃取温度对炮姜出油率的影响 萃取温度不仅影响炮姜的出油率,还会影响炮姜油的活性成分。萃取压力较高时,CO₂的密度较大,升温引起的CO₂密度的降幅不大,但可使溶质的蒸气压增大,因而超临界CO₂可溶解更多的炮姜油,即出油率也随温度的升高而增加;萃取压力较低时,升温虽可使炮姜油的传质能力增加,但CO₂的溶解能力却显著下降,总的效果将导致超临界CO₂相中炮姜油的量减少,因此,出油率会随温度的升高而下降。萃取温度与萃取压力关系密切,需根据萃取压力确定较佳的萃取温度^[8-9]。

在恒定萃取压力30 MPa和萃取时间2 h的条件下,探讨不同的萃取温度(40、45、50、55 $^{\circ}$ C)对炮姜出油率的影响,结果出油率分别为3.72%、

3.79%、3.90%、3.96%。可知当萃取压力为 30 MPa 时,随着萃取温度的升高,出油率逐渐增加;考虑到温度过高会增加能耗,还会破坏炮姜油中的活性成分,因此萃取压力为 30 MPa 时,较佳的萃取温度为 50 ℃。

2.2.3 SFE-CO₂ 萃取条件的确定^[10-11] 取炮姜粉碎成粗粉,过 20 目筛,萃取压力 30 MPa、萃取温度 50 ℃。萃取时间 2 h,分离 I 压力 4.0 MPa,分离 II 压力 4.0 MPa,质量流量在 50~70 kg/h。

2.3 SFE-CO₂ 萃取炮姜工艺验证

取炮姜(批号 Y20090502)粉碎成粗粉,过 20 目,提取过程中控制萃取压力为 30 MPa,萃取温度为 50 ℃,萃取时间为 2 h,分离 I 压力 4.0 MPa,分离 II 压力 4.0 MPa,质量流量在 50~70 kg/h。结果见表 1。

转移率=药材中 6-姜酚总质量/挥发油中 6-姜酚总质量

表 1 SFE-CO₂ 萃取炮姜验证试验结果

Table 1 Validation of extract to processing ginger by SFE-CO₂

样 品	6-姜酚/%	转移率/%
炮姜药材	0.28	—
SFE-CO ₂ 法提取挥发油	6.81	66.5
SFE-CO ₂ 法提取后药材	0.04	—

2.4 醇回流提取方法

取炮姜粉碎成粗粉,过 20 目筛,根据文献方法^[12-13]及预试验,确定提取工艺为提取 2 次,每次用 6 倍量 70%乙醇,回流提取 2 h,滤过,合并滤液,回收乙醇,真空干燥,即得。

2.5 提取结果比较

通过对实验结果的对比,两种不同提取方法在药材提取后,药渣中 6-姜酚的量都很低,可确定基本提取完全。6-姜酚的量及转移率结果比较见表 2。通过炮姜不同提取方法的比较,就 6-姜酚而言,用 SFE-CO₂ 萃取法比乙醇回流法的提取率高约 32%。SFE-CO₂ 萃取工艺简便,有效成分不易被破坏,萃取物质量分数更高。

3 讨论

本实验采用超临界萃取法萃取炮姜,相对乙醇回流法,可以保持药材的原有成分的生物活性和特有香气,又能高效充分地提取挥发油和 6-姜酚,且

表 2 SFE-CO₂ 萃取法与乙醇回流法提取结果

Table 2 Results by SFE-CO₂ and alcohol reflux methods

样品名称	6-姜酚/%	转移率/%
炮姜药材	0.30	—
SFE-CO ₂ 法提取挥发油	7.53	73.4
乙醇提取浸膏	2.54	41.0
SFE-CO ₂ 法提取后药材	0.07	—
乙醇提取后药材	0.12	—

提取物纯净无溶剂残留。因此为较为理想的炮姜脂溶性成分的提取方法。

用 SFE-CO₂ 法低温提取炮姜中挥发油类成分,有效成分不易破坏,提取物的纯度高,以液态 CO₂ 为溶媒,常温能除尽提取溶剂,无任何残留,安全性能较为理想。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 卢传坚, 欧 明, 王宁生. 姜的化学成分分析研究概述 [J]. 中药新药与临床药理, 2003, 5(3): 215-217.
- [3] 石宇华, 刘友平. 干姜质量标准及干姜、炮姜和姜炭的化学成分比较研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- [4] 陈盐生, 林玉莲. 干姜与炮姜挥发油成分比较 [J]. 南京中医药大学学报, 1999, 15(6): 378.
- [5] 黄雪松, 汪建民, 王兆升. 干姜、姜皮、炮姜中辣味成分的 HPLC 测定 [J]. 中草药, 1999, 30(6): 423-425.
- [6] 王新刚, 胡小军, 李安生. 超临界二氧化碳萃取猕猴桃籽油的研究 [J]. 食品与机械, 2003(4): 11-12.
- [7] 李加兴, 李敏莉, 陈双平, 等. 超临界 CO₂ 萃取生姜油工艺优化研究 [J]. 食品科学, 2008, 29(10): 231-234.
- [8] 张德权, 胡晓丹. 食品超临界 CO₂ 流体加工技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [9] 杨 明, 余德顺, 田弋夫, 等. 超临界 CO₂ 萃取与水蒸气蒸馏提取姜油的 GC-MS 分析 [J]. 贵州化工, 2011, 36(3): 34-37.
- [10] 陈 艳, 何 苒, 曾 明, 等. 正交设计优化超临界 CO₂ 萃取姜油工艺 [J]. 中国药师, 2009, 12(9): 1196-1197.
- [11] 金敬宏, 孙晓明, 张卫明, 等. 生姜的超临界 CO₂ 提取分离工艺的研究 [J]. 中国野生植物资源, 2003, 22(5): 15-17.
- [12] 熊 华, 马 力. 不同方法提取生姜有效成分的检测 [J]. 中国调味品, 2011, 36(4): 81-83.
- [13] 李 翔, 王 敏, 郭丽红, 等. 正交设计用于干姜中 6-姜酚提取优化的研究 [J]. 华北国防医药, 2010, 22(6): 525-527.