

# 正交试验优选白芷超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺

林 景\*(海南省皮肤病医院,海口 570206)

中图分类号 R284.2;R283 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)31-2927-02

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.31.16

**摘要** 目的:优选白芷超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺。方法:以欧前胡素、异欧前胡素萃取率为评价指标,以萃取温度、萃取压力、萃取时间、CO<sub>2</sub>流速为考察因素,采用正交试验优选萃取工艺。结果:优选的工艺为萃取温度40℃,萃取压力30 MPa,CO<sub>2</sub>流速25 L/h,萃取时间3 h。结论:所选工艺合理、可行,可用于白芷的超临界CO<sub>2</sub>萃取。

**关键词** 超临界CO<sub>2</sub>萃取;白芷;欧前胡素;异欧前胡素;正交试验

## Optimization of Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction Technology from Angelicae Dahuricae Radix by Orthogonal Test LIN Jing(Hainan Provincial Hospital of Skin Disease, Haikou 570206, China)

**ABSTRACT** OBJECTIVE: To optimize supercritical CO<sub>2</sub> extraction of Angelicae Dahuricae Radix. METHODS: The extraction technology of Angelicae Dahuricae Radix was optimized with the extraction rate of isoimperatorin and imperatorin as evaluation index using extraction temperature, extraction pressure, CO<sub>2</sub> flow rate and extracting time as investigation index. RESULTS: The optimal conditions were as follows: extraction temperature of 40℃, extraction pressure of 30 MPa, CO<sub>2</sub> flow rate of 25 L/h and extracting time of 3 h. CONCLUSIONS: Optimal technology is reasonable and feasible, and it can be used for the supercritical CO<sub>2</sub> extraction of Angelicae Dahuricae Radix.

**KEY WORDS** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction; Angelicae Dahuricae Radix; Imperatorin; Isoimperatorin; Orthogonal test

白芷是伞形科植物白芷或杭白芷的干燥根,其性温,味辛,归胃、大肠、肺经,具有散风除湿、通窍止痛、消肿排脓的功效,主治感冒头疼、眉棱骨痛、鼻塞、鼻渊、牙痛、白带异常、疮疡肿痛等症<sup>[1-2]</sup>。白芷是中药复方中的常用药,其药效物质基础是香豆素类化合物(coumarins),其中最主要的成分是欧前胡素(imperatorin)、氧化前胡素(oxypeudandin)和异欧前胡素(isoimperatorin)。研究表明,白芷提取物中总香豆素的含量越高,其疗效也越好<sup>[3]</sup>,因此白芷提取物中总香豆素的含量可作为白芷提取工艺的评价指标。笔者以欧前胡素和异欧前胡素(化学结构见图1)为指标性成分,采用正交试验对白芷的超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺进行优选。

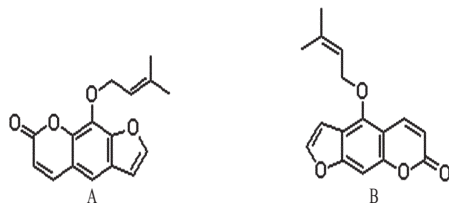


图1 化学结构式

A. 欧前胡素; B. 异欧前胡素

Fig 1 Chemical structure

A. imperatorin; B. isoimperatorin

## 1 材料

### 1.1 仪器

HA220-50-06型超临界萃取装置(南通市华安超临界萃取有限公司);P680A高效液相色谱仪(美国Dionex公司);AS 256-S型电子天平(瑞士梅特勒-托利多公司);UV-2450紫外-

可见分光光度计(日本岛津公司)。

### 1.2 药材

白芷药材购自广州市同健医药连锁有限公司,由广州中医药大学中药学院舒顺利制药工程师鉴定为真品。

### 1.3 试剂

欧前胡素、异欧前胡素对照品(浙江省食品药品检验所,批号分别为102-051186201、102-008);磷酸二氢钾(批号:20101202-1)、甲醇均购于广州化学制剂厂;水为超纯水。

## 2 方法与结果

### 2.1 香豆素的含量测定<sup>[4-6]</sup>

2.1.1 色谱条件 色谱柱:Lichrospher-C<sub>18</sub>(250 mm×4.6 mm, 5 μm);流动相:甲醇(A)-水(B),梯度洗脱(0~5 min, V<sub>A</sub>:V<sub>B</sub>=80:20;6~7 min, V<sub>A</sub>:V<sub>B</sub>=68:32;8~12 min, V<sub>A</sub>:V<sub>B</sub>=68:32);流速:0.9 ml/min;检测波长:247 nm;柱温:25℃;进样量:20 μl。

2.1.2 标准曲线的制备 精密称取欧前胡素对照品5 mg和异欧前胡素对照品3 mg,分别置50 ml量瓶中,加65%乙腈水溶液(乙腈-水=65:35, V/V)溶解并稀释至刻度,摇匀,分别吸取上述溶液0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 ml,置10 ml量瓶中,加65%乙腈水溶液配制系列浓度的溶液。分别精密吸取2种对照品溶液各20 μl,注入液相色谱仪,记录峰面积积分值。分别以欧前胡素和异欧前胡素的质量浓度(c, μg/ml)为横坐标,峰面积积分值(A)为纵坐标,绘制标准曲线,得欧前胡素、异欧前胡素的回归方程分别为A=2.37×10<sup>5</sup>c+19 641、A=2.14×10<sup>5</sup>c+496(r均为0.999 9, n均为6)。结果表明,欧前胡素、异欧前胡素质量浓度分别在5.0~50.0、3.0~30.0 μg/ml范围内与各自峰面积积分值呈良好的线性关系。

### 2.2 正交试验优选超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺

2.2.1 试验设计 笔者在预试验的基础上发现,萃取温度、萃取压力、萃取时间和CO<sub>2</sub>流速对萃取率均有显著的影响。因

\* 主管药师。研究方向:医院制剂。电话:0898-66744041。E-mail:13876300091@163.com

此,选择萃取温度(A)、萃取压力(B)、萃取时间(C)、CO<sub>2</sub>流速(D)为考察因素,每个因素选取3个水平,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表进行试验。因素与水平见表1。

表1 因素与水平

Tab 1 Factors and levels

水平	因素			
	A, °C	B, MPa	C, h	D, L/h
1	40	20	1	15
2	50	25	2	20
3	60	30	3	25

2.2.2 试验方法和结果 取试验药材300 g,共9份,粉碎至40目,装入萃取器中,按试验安排用超临界CO<sub>2</sub>萃取法萃取,照“2.1”项下方法测定欧前胡素、异欧前胡素质量浓度,并按下式计算欧前胡素、异欧前胡素萃取率<sup>[7-8]</sup>:萃取率=(G<sub>1</sub>X<sub>1</sub>-G<sub>2</sub>X<sub>2</sub>)/G<sub>1</sub>X<sub>1</sub>×100%(式中,G<sub>1</sub>为原料质量,G<sub>2</sub>为提油后残留物质量,X<sub>1</sub>为原料中欧前胡素或异欧前胡素的质量浓度,X<sub>2</sub>为残留物中欧前胡素或异欧前胡素的质量浓度),并将二者的萃取率总和作为极差分析的指标,用二者的萃取率分别进行方差分析。正交试验结果见表2;方差分析结果见表3。

表2 正交试验结果

Tab 2 Results of orthogonal test

试验号	因素				萃取率, %	
	A	B	C	D	异欧前胡素	欧前胡素
1	1	1	1	1	0.34	0.23
2	1	2	2	2	0.46	0.30
3	1	3	3	3	1.02	0.75
4	2	1	2	3	0.28	0.21
5	2	2	3	1	0.39	0.27
6	2	3	1	2	0.72	0.47
7	3	1	3	2	0.39	0.27
8	3	2	1	3	0.33	0.22
9	3	3	2	1	0.32	0.47
K <sub>1</sub>	3.10	1.72	2.31	2.02		
K <sub>2</sub>	2.34	1.97	2.04	2.61		
K <sub>3</sub>	2.00	3.75	2.98	2.81		
K <sub>11</sub>	1.03	0.57	0.77	0.67		
K <sub>12</sub>	0.78	0.66	0.68	0.87		
K <sub>13</sub>	0.67	1.25	0.99	0.94		
R	0.36	0.68	0.31	0.27		

表3 方差分析结果

Tab 3 Analysis of variance

成分	方差来源	离差平方和	自由度	均方	F	P
异欧前胡素	A	0.032	2	0.016	32	<0.05
	B	0.482	2	0.241	482	<0.05
	C	0.028	2	0.014	28	<0.05
	D	0.001	2	0.0005	1.0	
	total	0.543	8	0.2715		
欧前胡素	A	0.023	2	0.0115	2.87	
	B	0.197	2	0.0985	24.62	<0.05
	C	0.026	2	0.013	3.25	
	D	0.008	2	0.004	1.0	
	total	0.254	8	0.127		

注: F<sub>0.05</sub>(2,8)=4.46

note: F<sub>0.05</sub>(2,8)=4.46

由表2、表3可知,各因素对指标成分萃取率的影响主次顺

序为B>A>C>D,且萃取压力对欧前胡素、异欧前胡素的萃取率有显著性影响(P<0.05),萃取温度和萃取时间对异欧前胡素提取率有显著性影响(P<0.05)。最佳工艺为A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>,即萃取温度40 °C,萃取压力30 MPa,萃取时间3 h,CO<sub>2</sub>流速25 L/h。

### 2.3 工艺验证试验

取试验药材300 g,共3份,按上述优选的工艺进行萃取,并计算欧前胡素和异欧前胡素的萃取率。结果,欧前胡素和异欧前胡素的平均萃取率分别为1.24%和2.09%,RSD分别为1.02%和0.97%(n均为3),表明所选工艺合理、可行,可用于白芷的超临界CO<sub>2</sub>萃取。

### 3 讨论

超临界CO<sub>2</sub>萃取的温度对分离效果有较大的影响,温度升高可使CO<sub>2</sub>的密度减小,降低其溶解能力,但升温的同时会增加体系中溶质的扩散速率和解离速率,而且如果温度过高会破坏欧前胡素和异欧前胡素的活性。当升高萃取温度引起的被萃取物质挥发能力的提高不足以弥补超临界CO<sub>2</sub>溶解能力的下降时,总体效果是提取率下降,这会影响到欧前胡素和异欧前胡素在提取液中的含量,因此选择最佳萃取温度为40 °C。

试验表明,萃取压力对欧前胡素和异欧前胡素的提取率影响最大。压力偏小时,CO<sub>2</sub>的密度较小,萃取能力不高,萃取率受影响;压力过大,CO<sub>2</sub>的密度偏大,使其渗透进入药材的能力受到影响,不能保证把所有的挥发油提取出来,而且萃取压力过大还会造成不必要的浪费。延长萃取时间在一定程度上可以得到较高的萃取率,但超过一定时间,将增加能耗,挥发油收率亦增加不大。

采用超临界CO<sub>2</sub>萃取法从白芷中萃取香豆素与传统的提取方法相比,收率可提高2倍,生产周期可大大缩短,在挥发油提取分离方面已显示出强大的优势。

### 参考文献

- [1] 李永超,宋杨,齐云.白芷的药理作用研究进展[J].国外医药:植物药分册,2007,22(4):161.
- [2] 崔秋兵,张艺,兰莎.白芷镇痛作用物质基础研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):102.
- [3] 黄玉伟,陈晓辉,霍艳双,等.白芷提取物欧前胡素在大鼠体内的药代动力学[J].沈阳药科大学学报,2008,25(3):215.
- [4] 胡华杰,楼招欢,吕圭源,等.HPLC测定不同产地白芷饮片中欧前胡素和异欧前胡素的含量[J].浙江中医药大学学报,2010,34(3):418.
- [5] 王连国,王欣,孟宪杰,等.高效液相色谱法测定白芷中欧前胡素和异欧前胡素含量[J].现代中西医结合杂志,2011,20(22):2816.
- [6] 张利,马逾英,蒋桂华,等.白芷新型饮片中总香豆素和欧前胡素的含量测定[J].时珍国医国药,2011,22(1):80.
- [7] 马晴,黄震.超临界CO<sub>2</sub>萃取西瓜籽油的研究[J].中国油脂,2009,34(9):10.
- [8] 钟华,蒲彪,胡旭.超临界CO<sub>2</sub>萃取疯树籽油工艺的响应优化[J].中国粮油学报,2011,26(5):47.

(收稿日期:2013-05-12 修回日期:2013-06-14)