

超临界流体萃取技术在中药挥发油提取中的应用[△]

范群红^{1*}, 刘芳¹, 周丹², 刘松青^{1#} (1. 第三军医大学附属西南医院药剂科, 重庆 400038; 2. 重庆医科大学药学院, 重庆 400010)

中图分类号 R284.2; R282.71 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)31-2964-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.31.31

摘要 目的: 为超临界流体萃取(SFE)技术在中药挥发油提取中的广泛应用提供参考。方法: 采用文献综述法, 阐述近年来国内外应用SFE技术在中药挥发油提取领域的研究进展。结果: SFE技术已广泛应用于中药挥发油提取, 包括单味中药材中挥发油的提取及化学成分的研究和复方挥发油提取中; SFE技术在提取中药挥发油与水蒸气蒸馏法比较, 提取的组分及其含量有一定区别。结论: SFE技术是一种环境友好、提取物生物稳定性和化学稳定性好的提取技术。

关键词 超临界流体萃取技术; 中药; 挥发油; 提取

挥发油(Volatile oil)又称为精油(Essential oil), 是一类具有芳香气味的油状液体的总称。挥发油主要含有萜类化合物、芳香族化合物、脂肪族化合物等, 是中药中具有广泛生物活性的一类重要的有效成分, 是制药、日用化工、食品工业的重要原料。

超临界流体萃取(SFE)是利用超临界状态下的流体作为萃取溶剂, 从液体或固体物料中萃取出某种或某些组分的一种新型分离技术。目前, 该技术已广泛应用到中药成分的提取等领域, 故本文就该技术近年在中药挥发油提取中的应用进行综述。

1 SFE技术概述^[1]

1.1 SFE原理

超临界流体(SCF)是指物质的一种特殊存在状态。当温度和压力达到某一点时, 物质气液两相的相界面消失, 成为均相体系, 在这个体系中存在的流体就是SCF。SCF的密度接近于液体, 而溶质在溶剂中的溶解度一般与溶剂的密度成正比, 因而SCF具有与液体溶剂相当的萃取能力。SCF的黏度和扩散系数与气体相近, 因而SCF具有气体的低黏度和高渗透能力, 故在萃取过程中的传质能力远大于液体溶剂的传质能力。SFE在临界点附近操作, 此时温度和压力的微小变化将引起流体溶解能力的显著变化。利用这一性质, 可在较高压力下, 使溶质溶解于SCF中, 然后通过降压或升温的办法来降低流体的密度, 从而使溶解的溶质因溶解度下降而析出, 溶质和溶剂分离, 达到萃取的目的(目前使用的SCF是二氧化碳)。

1.2 夹带剂

超临界CO₂(SC-CO₂)的溶解能力具有选择性, 一般对低分子、低极性、亲脂性、低沸点的成分, 如挥发油、烃、酯、内酯、醚、环氧化物等表现出优异的溶解性。对具有极性基团羟基、羧基的化合物, 极性基团愈多, 就愈难萃取, 故多元醇、多元酸及多羟基的芳香物质均难溶于SC-CO₂。对于分子质量高的化合物, 其分子质量越高, 越难萃取, 分子质量超过500的高分子化合物几乎不溶。因此, 对于分子质量较高和极性基团

较多的中药的有效成分的萃取, 就需向有效成分和SC-CO₂组成的二元体系中加入第3组分来改变原来有效成分的溶解度, 在SFE技术的研究中, 通常将具有改变溶质溶解度的第3组分称为夹带剂。一般来说, 具有很好溶解性能的溶剂, 也往往是最好的夹带剂, 如甲醇、乙醇、丙酮、乙酸乙酯。

1.3 SFE技术的特点

与传统提取方法相比, 利用SFE技术提取中药有效成分具有以下独特的优点: (1)操作温度低: 特别适用于对热敏感性、容易被氧化分解、破坏的成分的提取与分离。(2)选择性强, 提取完全: 在高压、密闭、惰性环境中, 可选择性提取有效成分, 提取物纯度高、收率高。(3)CO₂无毒、安全、环保: 能循环使用, 萃取产品无溶剂残留。(4)萃取工艺简单: 生产周期短、效率高。

2 SFE技术在中药挥发油提取中的应用

2.1 单味中药材中挥发油的提取

曹立军等^[2]通过单因素试验和正交试验研究SC-CO₂萃取人参挥发油, 考察了萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂流量对挥发油得率的影响, 确定了最佳工艺条件。所得人参挥发油(粗油)的得率为0.880%, 远远高于传统索氏提取法的人参挥发油得率。

2.2 单味中药材中挥发油的提取及化学成分的联合研究

在采用SFE技术提取单味中药材中挥发油时, 常利用气相色谱-质谱联用等方法, 对挥发油中化学成分进行研究。热增才旦等^[3]采用SC-CO₂流体萃取藏药毕淋精油, 并用气相色谱-质谱联用法分离鉴定精油化学成分。结果显示, 毕淋精油得率为9.7%, 共分离得到59个色谱峰, 鉴定出52种成分, 主要成分是胡椒碱(19.24%)、毕澄茄烯(10.62%)等, 初步阐明了其辛味的主要物质基础。该作者还采用SC-CO₂流体萃取藏药甘扎嘎日精油, 并用气相色谱-质谱联用法分离鉴定精油化学成分^[4]。结果显示, 甘扎嘎日精油得率为3.08%, 共分离得到47个色谱峰, 鉴定出40种成分, 主要成分是四十四烷(30.63%)、三十六烷(20.15%)、二十八烷(16.27%)等。SFE技术在中药挥发油中的提取应用实例见表1。

2.3 SFE技术与水蒸气蒸馏法对单味中药材中挥发油提取的比较研究

水蒸气蒸馏法是最常见的挥发油连续提取方法, 具有操作简便、效率较高等优点, 在挥发油生产中应用广泛。在现有

[△] 基金项目: 重庆市科委应用开发项目(No.cstc2014yyk-fA110023); 第三军医大学科技成果转化基金资助项目(No.2013XZH06)

* 药师。研究方向: 中药学。电话: 023-68765993

通信作者: 主任医师, 博士研究生导师。研究方向: 医院药学。

E-mail: songqingliu@hotmail.com

表1 SFE技术在中药挥发油中的提取应用实例

药材名称	拉丁学名	挥发油提取率, %	主要成分	参考文献
香樟叶	<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) Presl.	10.20		[5]
香茅	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf	2.25		[6]
密花香薷	<i>Elsholtzia densa</i> Benth	1.55		[7]
乳香	<i>Boswellia carterii</i> Birdwood	11.10		[8]
石楠叶	<i>Photinia serrulata</i> Lindl.	1.32	芳樟醇(21.80%), 冰片(16.82%)	[9]
温莪术	<i>Curcuma aromatica</i> Salisb.		β -榄香烯	[10]
紫灵芝	<i>Ganoderma sinense</i> Zhao, Xu et Zhang	1.47	(E)-十八碳-9-烯酸(23.03%), (E)-十八碳-9-烯酸甲酯(18.74%)	[11]
菱角、菱仁	<i>Trapa bicornis</i> Osbeck	5.96, 0.23	亚油酸, 棕榈酸	[12]
海柳	<i>Antipathes japonica</i> Brook		磷酸三乙酯, 丁羟甲苯	[13]
岷当归	<i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels	2.80	藜本内酯(48.29%), 丁烯基甾内酯(2.93%), 二氢香豆素(6.67%)	[14]
山奈	<i>Kaempferia glanga</i> L.	5.15	正十五烷(31.71%), 肉桂酸乙酯(12.69%)	[15]
益智	<i>Alpinia oxyphylla</i> Miq	3.65	聚伞花烃, 香橙烯	[16]
梔子根	<i>Gardenia jasminoides</i> Ellis	3.76	正十六酸(16.47%), 邻二甲苯(10.57%)	[17]
孜然	<i>Cuminum cyminum</i> L.	13.56	枯茗醛(28.43%), β -蒎烯(8.23%)	[18]
大头陈	<i>Adenosma indianum</i> (Lour.) Merr.	1.88	6,7-二甲氧基-2,2-二甲苯-2H-1-苯并吡喃(19.99%), 香豆素(6.56%)	[19]
广莪术	<i>Curcuma kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang		α -姜黄烯, α -姜烯,	[20]
太子参	<i>Pseudostellaria heterophylla</i> (Miq.) Pax et Pax et Hoffm.		亚油酸乙酯(28.70%), <i>n</i> -十六酸(23.12%)	[21]
黑松松塔	<i>Pinus thunbergii</i> Parl.	0.15	β -蒎烯(8.86%), 石竹烯(7.29%)	[22]
山银花	<i>Lonicera macranthodes</i> Hand.-Mazz.	0.71	四十一烷醇(20.8%), 棕榈酸(14.1%)	[23]
缬草	<i>Valeriana officinalis</i> L.	2.34	乙酸龙脑酯(17.04%), 龙脑(3.76%)	[24]
降香	<i>Dalbergia odorifera</i> T. Chen	1.12	橙花叔醇(14.95%), 2-丙烯酸3-(4-甲氧基)-乙酯(14.53%)	[25]
野菊花	<i>Chrysanthemum indicum</i> L.	4.81	苯并环庚三烯(3.63%), α -石竹烯(2.18%)	[26]
广陈皮	<i>Citrus reticulata</i> 'Chachi'	5.05	棕榈酸(70.30%), 2-甲胺基-苯甲酸甲酯(16.27%)	[27]
山桔叶	<i>Glycosmis citrifolia</i> (Willd.) Lindl.		苯乙酯(49.54%)	[28]

文献中,有大量的文献对SFE技术与水蒸气蒸馏法对单味中药材中挥发油提取进行了研究,比较了挥发油的提取率、挥发油化学成分的种类、含量的差异等。

舒俊生等^[29]比较了水蒸气蒸馏法和SFE技术制备款冬花精油的成分。结果显示,水蒸气蒸馏法精油产率为0.13%,产物为淡黄色的油状液体,能完全溶解于乙醇和二氯甲烷,其香气主要为甜香和花香,略带蒸煮气息;SFE技术精油产率达到1%以上,为膏状物质,其香气主要为甜香、花香和清香,略带蜡质气息。SFE技术制备的精油能完全溶解在二氯甲烷中,当溶剂为无水乙醇时,有部分白色粉末不能完全溶解。气相色谱-质谱联用法检测结果显示,水蒸气蒸馏法得到的精油的主要成分有 β -没药烯(16.83%)、香松烯氧化物(12.13%)、十八碳三烯(6.45%)、十一烯(6.30%)和环十一烯(4.53%)等;SFE技术制备的精油,其主要成分有款冬花酮(13.94%)、香松烯氧化物(11.97%)、 β -没药烯(4.37%)、十八碳三烯(4.19%)和金丝桃苷(3.40%)等。两种不同制备方法获得精油所含化学成分比较,水蒸气蒸馏法精油中所含的化学成分大多为分子质量较小的挥发性物质,而SFE技术制备精油中除了含有挥发性物质外,还含有款冬花中部分分子质量较大的成分;小分子特征物质如 β -没药烯、斯巴醇、香松烯氧化物等,在两种精油中均占有较大的比例,但在水蒸气蒸馏法提取精油中含量更高;部分分子质量较大的款冬花特征物质,如款冬酮、款冬二醇等,只在SFE技术制备精油中含有。可见,在对款冬花精油的提取过程中,水蒸气蒸馏法更多针对小分子质量的挥发性成分,而SFE技术除了提取出部分小分子质量化合物外,对中等分子质量的化学成分也有一定的提取效果,这也是SFE技术制备精油产率高于水蒸气蒸馏法精油的原因。此外,SFE技术制备精油中还含有较多的高级烷烃,因此使其不能完全溶解于无水乙醇中。

在SFE技术与水蒸气蒸馏法提取挥发油的对比研究中,SFE技术对挥发油的提取率一般较水蒸气蒸馏法高;在挥发油化学成分的数量上,SFE技术较水蒸气蒸馏法要多,而且化学成分的种类也有较大区别。

2.4 SFE技术提取挥发油的工艺优化

在对应用SFE技术提取挥发油的工艺进行优化时,常用的优化方法是正交试验法,通常以挥发油提取率为指标,考察萃取压力、萃取温度、粉碎度及萃取时间等因素。金建忠^[30]通过单因素试验和正交试验法研究SC-CO₂萃取紫苏叶挥发油,考察了萃取压力、萃取温度、萃取时间及CO₂流量对挥发油得率的影响,并采用气相色谱-质谱联用法分析挥发油的化学成分。结果表明,SFE技术对紫苏叶挥发油得率影响程度由大至小的顺序为:CO₂流量>萃取温度>萃取时间>萃取压力;最佳条件为:压力20 MPa、温度35℃、流量10 kg/h、时间150 min。该条件下,挥发油的得率达3.2%,从中鉴定出16个化合物,其中洋芹醚含量最高,达42.43%。

另外,还有采用效应面法^[31]和人工神经网络^[32]对SFE技术提取挥发油的工艺进行优化的报道。

2.5 SFE技术在方剂挥发油提取中的应用

刘慧等^[33]采用SC-CO₂对藏药甘毕二汤的精油化学成分进行研究,甘毕二汤为藏药最简单的复方之一,由甘扎嘎日和毕毕林两味药组成。结果表明,精油得率为5.9%;采用气相色谱-质谱联用法共分离得到48个色谱峰,鉴定出43种成分,主要成分有:桉叶油二烯-5,11(13)-内酯-8,12、胡椒碱、 α -蛇麻烯、榄香醇、反式石竹烯等,其中桉叶油二烯-5,11(13)-内酯-8,12和胡椒碱的相对含量之和占精油含量的39.40%。与单味药甘扎嘎日和毕毕林相同,甘毕二汤含有的主要药效物质为胡椒碱、反式石竹烯和榄香醇。但是,在甘毕二汤中检测到的成分桉叶油二烯5,11(13)-内酯-8,12、氢化肉桂酸等成分

在单味药甘扎嘎日和毕毕林的精油成分中却未发现。

王绪颖等^[34]以藁本内酯、桂皮醛、木香烯内酯和去氢木香内酯的含量为化学指标,对痛经宝颗粒中当归、肉桂、木香挥发油的 SFE 技术进行了优选,并采用小鼠痛经模型、大鼠子宫痉挛模型比较了工艺改进前后制剂的药效。结果表明,当归单独提取,肉桂、木香联合提取挥发油的方法都以 SFE 技术较佳,工艺改进后制剂的解痉作用与原制剂比较明显增强。

3 结语

SFE 技术作为一种环境友好、提取物生物稳定性和化学稳定性好的提取技术,在中药挥发油的提取中占有十分重要的地位,已经逐渐从试验研究进入生产领域。但是,在实际应用过程中,特别是在实际生产过程中,尚需要从生产技术参数、挥发油化学成分类别、含量、药理效果等方面进行综合研究,以保障产品安全、有效、可控。

参考文献

[1] 梁磊,彭瑞光.超临界流体萃取技术在中草药提取中的应用[J].亚太传统医药,2013,9(10):61.

[2] 曹立军,徐涛,赵花,等.超临界 CO₂ 萃取人参挥发油工艺的研究[J].人参研究,2012,24(3):8.

[3] 热增才旦,刘斌,董芳,等.藏药毕毕林二氧化碳超临界流体萃取精油化学成分研究[J].北京中医药大学学报,2011,34(10):694.

[4] 热增才旦,刘斌,刘慧,等.藏药甘扎嘎日二氧化碳超临界流体萃取精油化学成分[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(20):73.

[5] 秦国正,丁家鹏,窦德宇,等.超临界萃取香樟叶精油的工艺研究[J].皖南医学院学报,2011,30(5):362.

[6] 王勇,李海龙,张俊清,等.海南香茅油超临界 CO₂ 萃取条件的优化和筛选[J].海南医学院学报,2010,16(3):282.

[7] 康淑荷.密花香薷超临界萃取研究[J].中成药,2012,34(5):955.

[8] 郭志军,胡凯莉,奉建芳.乳香挥发油的超临界 CO₂ 萃取工艺研究[J].上海中医药杂志,2011,45(3):75.

[9] 周玉,任孝敏,吴雨真,等.超临界 CO₂ 流体萃取石楠叶挥发油化学成分的研究[J].农产品加工:学刊,2011(6):71.

[10] 吴长岩,孙萍,鞠建峰.超临界 CO₂ 流体萃取温莪术挥发油中 β -榄香烯的工艺研究[J].山东中医药大学学报,2010,34(5):459.

[11] 吴建国,王宏雨,吴岩斌,等.超临界流体萃取紫芝挥发油成分的 GC-MS 分析[J].福建农业学报,2012,27(8):909.

[12] 李静,许维国,牛凤兰.超临界提取菱角与菱仁挥发性成分及其比较研究[J].中国中药杂志,2011,36(13):1725.

[13] 白雪婷,陈一村,陈伟洲,等.海柳挥发性成分的分析[J].癌变·畸变·突变,2011,23(3):199.

[14] 樊秦,李应东,赵磊,等.岷当归挥发油提取方法及其化学成分研究[J].中国现代应用药学,2012,29(4):333.

[15] 刘本国,赵旭娜,许克勇,等.沙姜超临界二氧化碳提取物的鉴定及其 DPPH 自由基清除能力[J].粮油加工,2010,41(4):103.

[16] 李泽友,王勇,张俊清.益智提取物的制备工艺及质量控制方法研究[J].中国热带医学,2010,10(4):504.

[17] 王斌,杨彬,穆鑫.栀子根挥发油的成分分析[J].化学与生

物工程,2011,28(8):84.

[18] 胡雪芳,戴蕴青,李淑燕,等.孜然精油成分分析及超临界萃取联合分子蒸馏纯化效果研究[J].食品科学,2010,31(6):230.

[19] 吴怀恩,梁臣艳,李耀华,等.不同方法提取大头陈挥发油的气质联用成分分析[J].药物分析杂志,2010,30(10):1941.

[20] 佟磊,史克莉.不同提取方法对莪术挥发油成分的影响[J].湖北中医学院学报,2010,12(6):35.

[21] 林文津,徐榕青,张亚敏.超临界 CO₂ 萃取与水蒸气蒸馏法提取太子参挥发油化学成分气质联用研究[J].药物分析杂志,2011,31(7):1300.

[22] 梁洁,孙正伊,朱小勇,等.超临界 CO₂ 流体萃取法与水蒸气蒸馏法提取黑松塔挥发油化学成分的研究[J].医药导报,2013,32(4):510.

[23] 唐丽君,周日宝,刘笑蓉,等.超临界 CO₂ 流体萃取法与水蒸气蒸馏法提取灰毡毛忍冬中挥发油的 GC-MS 比较研究[J].湖南中医药大学学报,2010,30(9):109.

[24] 方颖,丁菲,邬兰,等.超临界二氧化碳萃取法与水蒸气蒸馏法提取缬草油的化学成分比较[J].医药导报,2012,31(9):1116.

[25] 宋伟峰,廖美金,罗淑媛.超临界二氧化碳萃取及水蒸气蒸馏法提取降香挥发油及其 GC-MS 分析[J].中药材,2011,34(11):1725.

[26] 陈保华,李胜华,王冰.对野菊花不同提取方法所得提取物化学成分的比较研究[J].中成药,2010,32(11):1999.

[27] 廖金花,叶勇树,杨宜婷,等.广陈皮的超临界流体萃取和水蒸气蒸馏挥发油的比较分析[J].中国药房,2011,22(43):4079.

[28] 马雯芳,朱小勇,蔡毅,等.水蒸气蒸馏法与超临界二氧化碳萃取法提取山桔叶挥发油成分分析[J].中国医院药学杂志,2013,33(15):1144.

[29] 舒俊生,黄兰,牛勇,等.同时蒸馏萃取法和超临界提取法制备款冬花精油成分的研究[J].现代食品科技,2013,29(3):591.

[30] 金建忠.超临界 CO₂ 萃取紫苏叶挥发油及其成分分析[J].药物分析杂志,2011,31(5):826.

[31] Ensieh G, Farhad R, Nahid M. Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L.[J]. *Leaves Food Chemistry*, 2011, 126:1449.

[32] Mostafa K, Mansour G, Mohammad S. Application of artificial neural in predicting the extraction yield of essential oils of *Diplotaenia cachrydifolia* by supercritical fluid extraction[J]. *J Supercrit Fluid*, 2012, 69:91.

[33] 刘慧,热增才旦,刘斌,等.藏药甘毕二汤二氧化碳超临界流体萃取精油化学成分研究[J].药物分析杂志,2013,33(2):246.

[34] 王绪颖,陈彦,张振海,等.化学与药理学指标相结合改进痛经宝颗粒中挥发油提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):15.

(收稿日期:2014-01-21 修回日期:2014-05-19)