

文章编号:1673-1689(2006)06-0087-06

中药栀子超临界萃取物的挥发性成分研究

张家骥¹, 钱华丽¹, 王利平², 徐瑞珍³, 陶文沂¹

(1. 江南大学 工业生物技术教育部重点实验室, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 分析测试中心, 江苏 无锡 214036; 3. 无锡山禾药业股份有限公司, 江苏 无锡 214062)

摘要: 研究了栀子萃取的最佳工艺条件及其挥发油中的化学成分。以 $L_9(3^4)$ 正交设计对超临界萃取条件进行优化, GC-MS 联用技术对挥发性成分进行定性及半定量分析。结果显示: 55 °C, 35 MPa, 120 min 的萃取条件下挥发性成分的收率最高, 超临界萃取产物的主要成分为亚油酸, 棕榈酸, 反, 反-2, 4-癸二烯醛, 而传统水蒸汽蒸馏工艺下主要成分为反, 反-2, 4-癸二烯醛。与水蒸汽蒸馏工艺相比较, 超临界流体萃取工艺具有萃取率高, 生产周期短的优点。

关键词: 栀子; 挥发性成分; 超临界流体萃取; 水蒸汽蒸馏

中图分类号: Q 949.781.1; R 284.1

文献标识码: A

Study on Volatile Compounds from *Gardenia jasminoides* Ellis by Supercritical Fluid Extraction

ZHANG Jia-li¹, QIAN Hua-li¹, WANG Li-ping², XU Rui-zhen³, TAO Wen-yi¹

(1. Key Laboratory of Industrial Biotechnology, Ministry of Education, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Testing & Analysis Center, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 3. Wuxi Shanhe Pharmaceutical Co., Ltd., Wuxi 214062, China)

Abstract: To study the optimum parameters and components on volatile oil from *Gardenia jasminoides* Ellis. The supercritical fluid extraction for the volatile oils in *Gardenia jasminoides* Ellis were studied by orthogonal test, and the analysis of the volatile compounds obtained from the SFE oil and the steam-distilled oil by the gas chromatography-mass spectrometry method was done. The SFE oils consist of linoleic acid, palmitic acid and *trans,trans*-2,4-decadienal, but the main content of the SD oils was *trans,trans*-2,4-decadienal. The optimum conditions were found: extraction temperature 55 °C, extraction pressure 35 MPa, extraction time 120 minutes. Compared with that of steam distillation, a high extraction yield and short processing period was achieved by using supercritical carbon dioxide extraction.

Key words: *Gardenia jasminoides* Ellis; volatile compounds; supercritical fluid extraction; steam distillation

栀子是茜草科(Rubiaceae) 栀子属(*Gardenia*) 植物山栀(*Gardenia jasminoides* Ellis)的果实, 味

收稿日期: 2005-12-18; 修回日期: 2006-03-15.

基金项目: 无锡市“十五”科技计划项目(CG20010006).

作者简介: 张家骥(1962-), 女, 江苏宝应人, 副教授, 工学博士.

苦,性寒,归心、肝、肺、胃三焦经。具有泻火除烦、清热利湿、凉血解毒、消肿止痛的功效。临床用于急性黄疸型肝炎、止血、扭挫伤等疾病。现代研究表明^[1],其化学成分包括黄酮类(梔子素类)、环烯醚酮类(梔子甙类)、三萜类(梔子花酸类)、有机酸酯类(绿原酸、藏红花酸类)等,在果实和茎叶花中还含有挥发油、多糖等成分。据报道^[2],梔子果实中共含有约85种挥发性成分,其中萜类20种、醛类22种、酮类9种、脂肪酸6种。现代药理研究证明^[3],梔子挥发油有治疗带状疱疹的作用。

药材中挥发性成分的提取可以采用传统的有机溶剂萃取、水蒸汽蒸馏(Steam Distillation,SD)和压榨法,随着超临界流体萃取(Supercritical Fluid Extraction,SFE)技术的不断发展,其中在草药提取中的应用逐渐增多。李小兵^[4]等曾报道了采用SFE技术对梔子亲脂性成分的提取,提取物经GC-MS鉴定共鉴定出19种化合物,其中有4种化合物系首次从梔子药材中发现。对于梔子果实采用SFE-CO₂法和SD法提取挥发性成分的化合物种类及含量的差异目前尚未见报道。作者分别用SFE-CO₂法和SD法从梔子果实中提取挥发性成分,采用气相色谱-质谱(Gas Chromatography-Mass Spectrometry,GC-MS)联用技术对所含化合物种类进行分析鉴定,内标法测定各成分相对含量,并将两者进行比较,以挥发性成分的得率为评价指标,得出最佳萃取工艺参数。

1 材料与仪器

HA221-50-06型超临界萃取装置:南通市华安超临界萃取有限公司提供;Finnigan Trace MS气相色谱-质谱联用仪:美国Finnigan公司提供;粉碎机:上海淀久中药机械制造有限公司提供;挥发油提取器:上海玻璃仪器厂提供;调温加热器:上海电理仪器厂提供;FA1004型电子天平:上海精科天平仪器厂提供;AB204-N型分析天平:Mettler-Toledo公司提供;

梔子(*Gardenia jasminoides* Ellis):无锡山禾药业集团提供,经北京中医药大学鉴定;CO₂:纯度99%,无锡长城气体公司提供;正十五烷:色谱纯,进口分装;无水乙醚、无水硫酸钠和正己烷:分析纯,国药集团化学试剂有限公司提供。

2 实验方法

2.1 梔子挥发性成分的提取

2.1.1 SFE-CO₂提取

万方数据

过20目筛,称取350g装入1L超临界萃取釜中,对影响萃取效果的萃取温度、压力及时间等3个主要因素进行考察,每个因素各取3个水平,以挥发性成分的收率为评价指标进行L₉(3⁴)正交试验。

2.1.2 SD提取 称取350g过20目筛的梔子药粉,加10倍量蒸馏水,按《中国药典》^[5]中挥发油测定法提取16h(提取条件经正交实验优化),经无水乙醚萃取及无水硫酸钠脱水后,最终得到黄色挥发油0.1225g,提油率为0.035%。

2.2 GC-MS分析

2.2.1 内标溶液的制备 精密称取正十五烷溶液0.0500g,正己烷溶解定容,配成0.1g/L的溶液。

2.2.2 供试品溶液的制备 将透明油状萃取物用无水乙醚溶解后,于10mL容量瓶中加入正十五烷内标液(0.1g/L),无水硫酸钠脱水,即得。

2.2.3 气相色谱条件 色谱柱为DB-5MS(30m×0.25mm×0.25μm);载气为高纯氮;体积流量0.8mL/min;进样量1.0μL(乙醚溶液);分流比10:1;气化温度为250℃;升温程序:起始温度60℃,以10℃/min升温至140℃后以4℃/min升温至220℃,再以8℃/min升温至250℃。

2.2.4 质谱条件 接口温度250℃;离子源温度200℃;电离方式EI⁺;电子能量70eV;扫描质量范围33~450。

2.2.5 定性半定量分析 取供试品溶液1μL,进气相色谱-质谱联用仪进行分析,通过仪器数据库检索(检索谱库为Willey6和NIST98),结合相关梔子挥发油的化学组分报导,对匹配度大于800的化合物进行了鉴定并通过内标法计算各组分的相对质量分数。

3 实验结果

3.1 正交实验结果

表1结果表明,以挥发油得率为考察指标时,萃取压力B对挥发性成分收率的影响最大,温度A的影响其次,时间C的影响相对较小。其较好水平组合为A₂B₃C₁,即温度55℃,压力35MPa,时间为120min。方差分析结果(表2)表明,萃取压力对挥发性成分的总得率有着显著的影响。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验设计方案及结果
Tab.1 $L_9(3^4)$ Orthogonal Test and Results

实验号	萃取温度 A/℃	萃取压力 B/MPa	萃取时间 C/min	空列 D	提油率/ (g/hg)
1	1(45)	1(15)	1(120)	1	0.413 1
2	1(45)	2(25)	2(180)	2	4.390 8
3	1(45)	3(35)	3(240)	3	4.119 1
4	2(55)	1(15)	2(180)	3	0.756 8
5	2(55)	2(25)	3(240)	1	4.148 0
6	2(55)	3(35)	1(120)	2	5.056 3
7	3(65)	1(15)	3(240)	2	1.061 7
8	3(65)	2(25)	1(120)	3	4.469 1
9	3(65)	3(35)	2(240)	1	3.909 4
K_1	8.923 0	2.231 6	9.938 5	8.470 5	
K_2	9.961 1	13.007 9	9.057 0	10.508 8	
K_3	9.440 2	13.084 8	9.328 8	9.345 0	
R	1.038 1	10.853 2	0.881 5	2.038 3	
优水平	A_2	B_3	C_1		
主次因素			$B>A>C$		
最优组合			$A_2B_3C_1$		

表 2 方差分析
Tab.2 Analysis of Variance

方差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值	P	显著性
A	0.197 3	2	0.089 6	0.26	>0.05	
B	25.990 0	2	12.996 0	37.30	<0.05	*
C	0.135 5	2	0.067 7	0.19	>0.05	
D(误差)	0.696 8	2	0.348 4			
注: $F_{0.05}(2,2)=19.00$						

3.2 SFE-CO₂与 SD 工艺的比较

对两种工艺条件下所得产品的外观性状、收率、提取时间等方面进行了比较,结果见表 3。

表 3 栀子挥发油 SFE 法与 SD 法工艺比较

Tab.3 Compare of volatile oil from *Gardenia jasminoides* Ellis by SFE and SD

方法	外观性状	收率/%	提取时间/h	香味
SD	淡黄色 固态	0.035	16	刺鼻
SFE-CO ₂	黄褐色 油状	5.056	2	柔和

3.3 挥发油化学成分及相对质量分数

分别对 SFE-CO₂工艺及 SD 工艺下的挥发性进行 GC-MS 分析,图 1 和图 2 为两种工艺条件下的重构总离子流图,表 4 为定性及半定量结果。

表 4 栀子挥发油化学成分及相对相对质量分数
Tab.4 Chemical constituents and relative content of volatile oil from *Gardenia jasminoides* Ellis

序号	化合物	相对质量分数/(mg/kg)(以药材质量计)									
		1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]	SD
1	Toluene 甲苯	-	5.428	5.114	3.086	6.114	6.571	4.571	6.086	3.686	2.743
2	2-methylheptane2-甲基庚烷	-	3.571	3.771	-	4.000	4.657	2.800	.628	2.486	-
3	trans-1, 2-dimethylcyclohexane 反-1,2-二甲基环己烷	-	-	-	-	2.457	2.886	2.257	3.086	1.714	-
4	n-Hexanal 正己醛	2.343	7.771	14.40	53.14	15.63	13.71	5.028	13.26	13.28	1.314
5	o-xylene 邻二甲苯	-	0.086	0.086	-	0.114	0.200	-	0.143	-	0.057
6	2-heptenal,[Z]-[Z]-2-庚烯醛	0.286	1.028	2.257	0.343	3.114	2.914	0.743	1.800	2.543	0.143
7	Hexanoic acid 己酸	-	1.314	1.571	0.571	1.771	1.743	0.943	1.800	1.914	-
8	Furan,2-pentyl- 2-戊基呋喃	-	-	-	-	0.228	0.200	-	-	0.114	0.428
9	trans, trans-2, 4-heptadienal 反, 反-2,4-庚二烯醛	-	-	-	-	-	0.228	-	0.228	0.143	-
10	2,6-octadiene, 2,6-dimethyl-2,6- 二甲基-2,6-辛二烯	-	-	0.257	-	0.343	0.343	0.428	-	0.343	-
11	3-cyclohexen-1-one,3,5,5-trime- thyl-异佛尔酮	0.114	1.143	1.314	0.343	1.314	1.400	0.714	1.428	1.457	0.943
12	2-octenal,[E]-[E]-2-辛烯醛	-	0.171	1.143	0.143	1.000	0.543	0.200	0.886	0.571	0.514

续表 4

序号	化合物	相对质量分数/(mg/kg)(以药材质量计)									
		1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]	SD
13	Nonanal 壬醛	2.343	1.114	1.057	0.371	1.371	0.971	0.371	1.228	1.228	0.371
14	trans-2-nonenal 反-2-壬烯醛	-	-	0.600	-	0.600	0.514	-	-	0.457	-
15	trans-4-nonenal 反-4-壬烯醛	-	0.543	0.971	-	1.200	1.200	-	1.143	0.114	-
16	Octanoic acid 辛酸	-	0.314	0.628	-	1.000	0.771	0.314	0.286	0.428	-
17	Safranal 藏花醛	-	0.086	-	-	-	0.057	-	-	-	0.228
18	2,4-nonadienal 2,4-壬二烯醛	-	-	0.171	-	0.286	-	-	0.143	0.286	0.171
19	Eucarvone 优葛缕酮	0.800	4.971	3.200	0.857	3.886	4.771	2.943	4.114	3.514	1.428
20	trans-2-decenal 反-2-癸烯醛	-	0.657	1.486	0.257	2.143	1.971	0.714	1.371	3.943	0.943
21	trans, trans-2, 4-decadienal 反, 反-2,4-癸二烯醛	0.914	12.37	54.63	7.057	61.48	49.71	7.714	46.97	50.77	56.66
22	Elemene 槐香烯	0.657	3.714	5.486	0.200	1.400	1.324	0.714	0.886	0.686	1.428
23	Selinene 蛇床烯	-	-	0.286	-	-	-	-	-	-	0.971
24	Neocurdione 新莪二酮	1.600	2.743	0.714	-	-	-	-	0.171	-	0.571
25	Curdione 莪二酮	28.37	39.20	6.314	2.857	25.17	8.800	5.543	4.486	6.000	1.628
26	Germacrone 吉马酮	4.171	5.714	1.543	0.028	2.886	1.286	0.743	0.571	0.143	0.686
27	Myristic acid 豆蔻酸	-	-	1.514	0.371	1.686	1.800	2.228	1.514	2.114	0.257
28	Methyl palmitate 棕榈酸甲酯	-	1.628	0.828	0.400	1.057	1.943	1.371	0.857	1.143	2.371
29	Palmitic acid 棕榈酸	-	58.80	187.9	29.88	187.4	182.2	212.4	167.9	205.5	4.600
30	Ethyl palmitate 棕榈酸乙酯	-	1.143	1.143	0.286	1.286	1.000	-	-	1.428	0.428
31	Linoleic acid, methyl ester 亚油酸甲酯	1.200	3.571	3.371	63.80	4.228	1.000	5.028	4.143	5.657	1.886
32	Oleic acid, methyl ester 油酸甲酯	0.771	2.600	2.886	0.571	3.571	6.828	3.800	3.086	5.257	1.571
33	Ethyl linoleate 亚油酸乙酯	-	-	0.028	0.571	-	-	-	-	-	0.314
34	Oleic acid[Z], ethyl ester 油酸乙酯	-	-	0.800	-	-	-	-	-	-	0.257
35	2-methyl octane 2-甲基辛烷	-	-	0.543	-	-	-	0.657	1.200	0.600	-
36	3-methyl octane 3-甲基辛烷	-	0.200	0.400	-	0.428	1.028	0.428	0.343	0.171	-
37	4-methyl octane 4-甲基辛烷	-	-	-	-	1.314	1.400	-	0.886	-	-
38	Nonane 壬烷	-	0.543	0.714	-	1.428	1.343	0.457	0.886	0.600	-
39	Linoleic acid 亚油酸	5.257	112.6	582.6	-	668.8	726.6	542.6	520.8	757.7	-
40	Farnesol 麝子油醇	-	-	1.714	-	3.000	1.000	-	1.143	1.486	-
41	4, 8, 12, 16-tetramethylheptadecan-4-olide	0.457	-	3.543	1.428	-	4.114	3.057	-	4.714	-
42	1-naphthylamine, n-phenyl- n-苯基-1-萘胺	3.686	3.257	3.114	1.743	7.400	2.400	5.543	2.228	3.000	-
43	Dimethoxydurene 二甲氧基杜烯	-	2.286	2.486	-	-	-	-	4.114	2.971	-
44	Benzoic acid, 2, 4, 6-trimethyl-, methyl ester 2,4,6-三甲基-苯甲酸甲酯	-	-	-	-	0.029	-	-	-	0.057	-
45	6-hydroxy-4-heptenoic acid 6-羟基-4-庚烯酸	-	1.31	1.143	-	1.400	1.486	1.086	1.143	-	-

续表 4

序号	化合物	相对质量分数/(mg/kg)(以药材质量计)									
		1 [#]	2 [#]	3 [#]	4 [#]	5 [#]	6 [#]	7 [#]	8 [#]	9 [#]	SD
46	Heptane,2,6-dimethyl- 2,6-二甲 基庚烷	-	1.000	1.228	-	1.314	1.486	-	-	-	-
47	Heptane,2,5-dimethyl-2,5-二甲 基庚烷	-	1.428	0.628	-	0.914	1.000	-	-	-	-
48	Furfural 糠醛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.057
49	1,3-cyclopentadiene,5,5-dimeth- yl-ethyl-5,5-二甲基-乙基-1,3-环 戊二烯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.114
50	Heptanal 庚醛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.057
51	2-carene 2-萜烯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.057
52	3,3,5,5-tetramethylcyclopent- enone3,3,5,5-四甲基环戊烯酮	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.428
53	Benzene,1,2,4-trimethyl-1,2,4- 三甲苯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.114
54	1,1,3-trimethyl-2-cyclohex- anone1,1,3-三甲基-2-环己酮	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.171
55	Linalool oxide 芳樟醇氧化物	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.086
56	Linalool 芳樟醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.143
57	Benzaldehyde,2,5-dimethyl-2,5- 二甲基苯甲醛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.114
58	L-terpineol 萜品醇	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.228
59	2-undecenal 2-十一烯醛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.828
60	Nonenal 壬烯醛	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.743

注:1[#]~9[#]样分别与超临界萃取实验过程中的编号相对应,SD为水蒸汽蒸馏工艺提取所得样品。“-”表示样品中未检测到该物质。

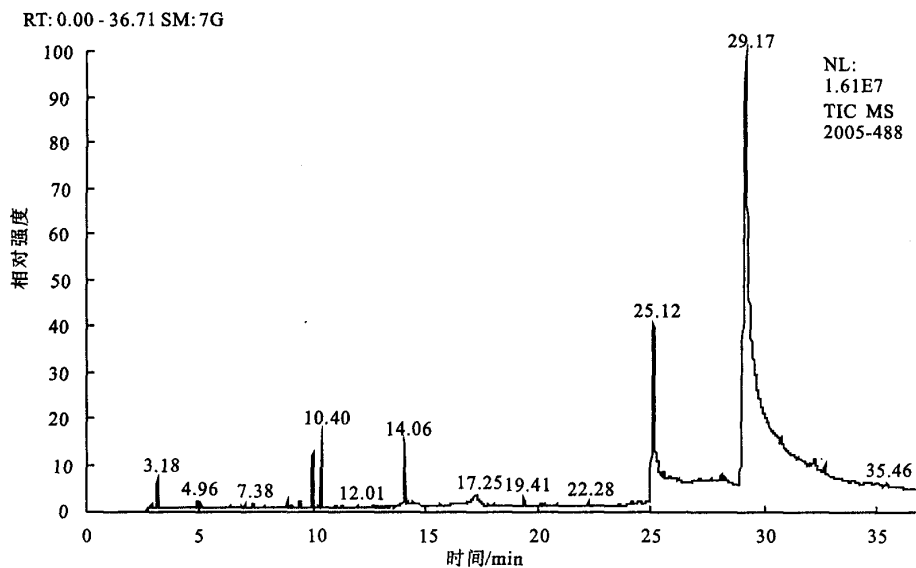


图 1 超临界萃取工艺挥发性成分重构总离子流图
Fig.1 Reconstructed ion chromatogram of volatile components by SFE

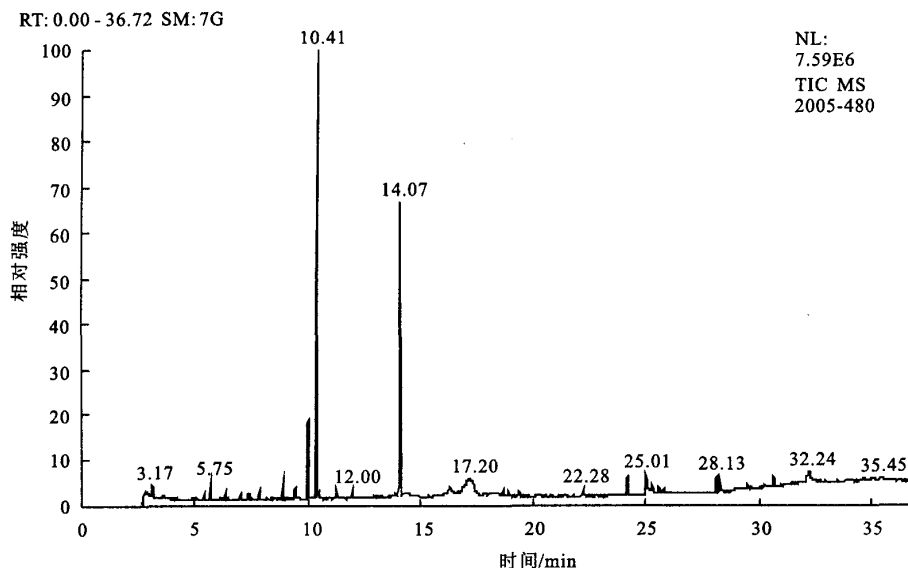


图2 水蒸汽蒸馏工艺挥发性成分重构总离子流图

Fig. 2 Reconstructed ion chromatogram of volatile components by SD

4 讨论

1) 压力是超临界二氧化碳萃取中最重要的操作参数之一,当温度一定时,随着萃取压力的升高,超临界二氧化碳流体的密度和极性增加,使得其溶解能力也增加,萃取率会相应提高。此外,从表1的极差分析可以看出:在25 MPa与35 MPa的条件下提油率之间并不存在着很大的差异性,而过高的压力不仅对设备和操作提出更高的要求,生产成本也会相应增加,从经济和安全角度考虑,萃取压力可选取25 MPa。

2) 实验结果表明,SFE- CO_2 工艺与SD工艺相比具有萃取能力强,效率高(挥发性成分的收率提高145倍),提取时间短(提取时间仅为SD工艺的1/8)的优点,有利于提高产品收率和资源的利用率。此外,SFE- CO_2 工艺得到的挥发油不仅具有较好的色泽且颜色均一,油体清澈,香气自然,这主要是由于较低的操作温度条件下大量保存了热敏性及易氧化成分,保存了有效成分的天然品质。

3) 不同工艺条件下所得终产品的物理性质发

生了一定变化,从SD工艺条件下的凝固状变为SFE- CO_2 工艺下的液体状,GC-MS的分析结果表明,SFE- CO_2 工艺下得到脂肪酸类物质成分的质量分数特别高,主要为亚油酸(726.571 mg/kg(以药材质量计)和棕榈酸(182.171 mg/kg),而SD法得到的主要物质为反,反-2,4-癸二烯醛(56.657 mg/kg),且比SFE- CO_2 的提取率(49.714 mg/kg)要高出14%。

4) 从鉴定出的化合物种类,各个化合物的相对质量分数和总提取率均可看出,SFE- CO_2 与SD两者在含量上有较明显的差异。这是因为在SFE- CO_2 萃取时,SFE- CO_2 流体相对接近液体的密度和相对接近气体的粘度使它具有较高的溶解度和较好的流动性,介于液体与气体之间的扩散系数使其对所萃取的物质组织具有较好的渗透性,从而能将栀子中所含的各种组分有效地提取出来。传统的水蒸汽提取挥发油时,有些物质由于其相对分子质量大,沸点高,挥发性小而难于提出,再加上高温使某些化合物分解而破坏,无法提出原有的天然化合物。

参考文献:

- [1] 李葆华. 栀子的研究概况[J]. 时珍国医国药, 2004, 15(6): 370-371.
- [2] 吉力, 徐植灵, 潘炯光. 栀子果实挥发油的GC-MS分析[J]. 中国药学杂志, 1993, 28(7): 398-400.
- [3] 李有田, 王颖斌, 张宏贵. 疱疹止痛灵的临床与主药栀子的化学成分研究[J]. 长春中医学院学报, 1999, 15(3): 40-41.
- [4] 李小兵, 张丽玲. 栀子超临界 CO_2 萃取物的GC-MS分析[J]. 中药材, 2003, 26(11): 794.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.

(责任编辑: 朱明)