

超临界流体萃取在皂苷类成分提取中的应用^Δ

徐先祥*(华侨大学分子药理学研究所,福建泉州 362021)

中图分类号 R931.6;R284.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)03-0273-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.03.29

摘要 目的:为超临界流体应用于皂苷类成分的提取分离提供理论依据。方法:查阅近十年相关文献,对超临界流体萃取的原理和在提取皂苷类成分方面的应用进行综述。结果与结论:超临界流体萃取已用于多种皂苷类成分的提取,并取得了满意的效果。随着对这一技术研究的不断深入,其在皂苷类成分的研究中将发挥更大的作用。

关键词 超临界流体萃取;皂苷;夹带剂;表面活性剂

皂苷是以三萜或甾体为苷元的糖苷类化合物,广泛分布于自然界,是天然产物研究中的重要领域。传统溶剂提取皂苷存在周期长、溶剂残留、环境污染、不适合大规模工业生产等缺陷。超临界流体萃取(supercritical fluid extraction)具有低温操作、快速、萃取物质无溶剂残留、对环境无污染的特点,在皂苷等中药有效成分提取分离中有独特优势和良好前景^[1]。

1 超临界流体萃取原理

超临界流体是指处于临界温度和临界压力以上,物理性质介于气体与液体之间的流体。超临界流体既有与气体相当的高渗透能力和低黏度,又有与液体相近的密度和对许多物质优良的溶解能力。通过改变压力、温度和超临界流体的密度能达到选择性提取各种类型化合物的目的^[2]。在可作为超临界流体的物质中,CO₂因其临界温度低、临界压力小,且无色、无味、无毒、化学惰性、价廉等特点,应用最为广泛^[3]。超临界流体萃取具有独特的优越性:超临界流体具有极高的扩散系数和较强的溶解能力,有利于快速萃取和分离;超临界流体萃取技术在较低温度下萃取,可有效防止热敏性和化学不稳定成分的高温分解和氧化;萃取的产品纯度高,尤其适用于中药的提取和浓缩;只通过改变温度和压力就可达到溶质和溶剂的分离,操作简便;节省能源,不会对操作者造成毒害或对环境造成污染。因此,超临界流体萃取技术被认为是绿色的、可持续发展的提取方法^[4]。

2 夹带剂和表面活性剂

CO₂是一种非极性溶剂,较适合亲脂性、分子量较小的物质的超临界萃取。皂苷作为分子和极性较大的天然产物,应用超临界CO₂萃取需要改变温度、压力等条件以及应用夹带剂(改性剂)进行。夹带剂是在纯的超临界流体中加入的一种少量的、可以与之混溶的、挥发性介于被分离组分与超临界组分之间的物质。夹带剂可以是某一种物质(如乙醇、水),也可以是两种或多种物质的混合物,它可影响溶质在超临界流体中的溶解度和选择性。超临界CO₂萃取中引入夹带剂,可以提高CO₂选择性溶解其他物质的能力,被萃取溶质的化学性质与其化学性质越接近,其溶解能力越强。加入夹带剂后,混合溶剂的临界点相应改变,如能更接近萃取温度,则可增加溶解度

对温度、压力的敏感程度^[5]。皂苷作为极性成分,超临界CO₂萃取往往选择含有乙醇的混合溶剂作为夹带剂。使用合适的表面活性剂在CO₂中形成胶束或微乳液,能够增大皂苷等极性、亲水类物质的溶解度。目前超临界CO₂萃取中应用的表面活性剂为含氟和含硅类表面活性剂,而不是传统的表面活性剂,但含氟和含硅类表面活性剂价格昂贵,故寻找和合成低成本、低毒性的表面活性剂正在进一步研究中。此外,CO₂中加入中等链长度的醇不仅可作为助溶剂,提高表面活性剂的溶解度,还有利于微乳液的形成^[6]。

3 皂苷的超临界萃取

3.1 以无水乙醇为夹带剂

以无水乙醇为夹带剂,苦瓜皂苷的最佳超临界CO₂萃取条件为萃取压力25.5 MPa,温度42.5℃,夹带剂用量180 mL,萃取时间为3 h,采用一级分离,分离温度为35℃^[7]。

超临界CO₂萃取巴西人参,选用无水乙醇为夹带剂,加入量为10%时,萃取效果最佳,如再增加夹带剂的量,萃取率反而下降^[8]。

由于使用无水乙醇成本高,且样品本身往往含有水分,其作用相当于夹带剂,因此在实际生产中多使用含水乙醇作为夹带剂。

3.2 以含水乙醇为夹带剂

黄芪皂苷用超临界CO₂萃取法提取时,以甲醇和95%乙醇作为夹带剂提取效果较好,黄芪皂苷得率较高^[9]。超临界CO₂萃取法提取黄芪甲苷方法稳定,提取率高,工艺可行,最优工艺条件:萃取压力40 MPa,温度45℃,萃取时间2 h,夹带剂为95%乙醇,夹带剂用量4 ml/g,CO₂流量10 kg/h^[10]。蒙英等^[11]对95%乙醇、30%乙醇和丙酮作为夹带剂进行比较,结果用95%乙醇作夹带剂时黄芪皂苷含量最高。

人参稀有皂苷有极性较小的特点,采用超临界CO₂萃取技术提取的最佳条件:压力35 MPa,温度50℃,夹带剂为70%乙醇,夹带剂用量为1.7 ml/g。用高效液相色谱-电喷雾质谱联用法分析其萃取产物,发现其提取效率与超声法接近^[12]。

三七总皂苷采用超临界CO₂萃取法提取可避免传统提取工艺下由于温度高、提取时间长而使某些成分含量降低或发生变化这一缺点,使组分最大限度地保持了原样。较佳萃取条件:萃取压力为35 MPa,温度为55℃,萃取时间为4 h,95%乙醇作夹带剂,CO₂流量为25 kg/h^[13]。

柴胡皂苷在传统提取工艺下因受热时间长,其含量会降低或损失,而应用超临界CO₂萃取法提取,柴胡皂苷损失减

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30600821);福建省杰出青年基金培育计划专项项目(No.JB-SJ1012);华侨大学科研基金资助项目(No.10HZR28);泉州市科技计划项目(No.2011Z8)

* 副研究员,博士。研究方向:中药新药研制与开发。电话:0595-22692300。E-mail: xuxianxiang@163.com

少。夹带剂是柴胡皂苷超临界CO₂萃取最重要的影响因素,加入乙醇等夹带剂,并升高压力和温度,才能提取出柴胡皂苷。通过比较不同浓度的乙醇、乙酸乙酯和甲醇,发现95%乙醇作为夹带剂时总提取物收率最高,但薄层色谱检测出它只能提出柴胡皂苷a、d,提取不出柴胡皂苷c,而60%或70%乙醇能提取出柴胡皂苷a、c、d,因此从收率和皂苷种类等方面考虑,采用60%乙醇作为夹带剂^[14]。正交试验优选超临界CO₂萃取三岛柴胡中皂苷的工艺为35 MPa、45 ℃、80%乙醇萃取3.0 h^[15]。

超临界CO₂萃取瓜蒌中皂苷的最佳工艺:萃取压力为29.8 MPa,萃取温度为54 ℃,夹带剂为55%乙醇,用量为0.043 5 ml/g,此条件下瓜蒌皂苷质量分数为4.13%^[16]。

薯蓣皂苷元是合成甾体激素类药物的重要起始原料药,生产上主要用汽油法提取,但这一方法最突出的问题是产品收率太低,具有易燃、易爆的危险等。以药用酒精作夹带剂,超临界CO₂从黄山药中萃取薯蓣皂苷元方法与汽油法相比具有收率高、用时短等优势,且两种方法成本相差不大^[17]。菝葜的超临界CO₂萃取物中薯蓣皂苷元的质量分数最高可达1.96%,较《中国药典》常规酸水解法(0.02%)和传统氯仿萃取法(最高1.16%)显著提高^[18]。超临界CO₂萃取穿山龙中薯蓣皂苷元的最佳工艺:萃取压力为35.0 MPa,萃取温度为45 ℃,95%乙醇为夹带剂,夹带剂用量为3%,萃取时间3.0 h,CO₂流速为2 L/min^[19]。超临界CO₂萃取黄姜中薯蓣皂苷元的最佳工艺条件:95%乙醇作夹带剂,萃取时间为3 h,萃取压力为20 MPa,萃取温度为60 ℃,解析温度为50 ℃;各工艺参数对萃取效果的影响排序为:萃取时间>萃取温度>萃取压力>解析温度。最佳工艺条件下得率可达19.35%,高于汽油法(15.6%),且产品溶剂残留少、熔点高^[20]。

传统的剑麻总皂苷提取方法为醇提法,采用超临界CO₂萃取工艺:萃取温度为45 ℃,萃取压力为35 MPa,用95%乙醇作夹带剂且用量为20%,萃取时间为120 min,剑麻中总皂苷萃取率可达到1.74%,比索氏抽提法高(0.96%)^[21]。

以超临界CO₂萃取两头尖(竹节香附)皂苷,最佳条件:萃取压力为30 MPa,萃取温度为50 ℃,萃取时间为1.5 h,夹带剂为95%乙醇,夹带剂用量为20%,其中萃取压力对萃取影响最大^[22]。

超临界CO₂萃取油茶皂苷的最佳条件:压力为25 MPa,温度为50 ℃,65%乙醇为夹带剂,CO₂流量为25~30 L/h,萃取时间为3 h。在此条件下油茶皂苷的收率为15.23%,纯度达78.65%。与乙醇浸提法比较,超临界CO₂萃取的皂苷纯度比乙醇浸提法高54%,且工艺简单^[23]。

雪灵芝总皂苷的萃取中,加不同极性夹带剂(不同体积分数的乙醇)的梯度超临界CO₂萃取与传统溶剂萃取工艺比较,总皂苷粗品收率可提高18.9倍。不加夹带剂的超临界CO₂萃取,即使萃取压力高达30 MPa,雪灵芝中总皂苷及多糖等成分基本上萃取不出来,只能得到微量的低极性的叶绿素脂状物^[24]。

3.3 夹带剂中加入表面活性剂

桔梗总皂苷的超临界CO₂萃取工艺:萃取温度为40 ℃,萃取压力为35 MPa,萃取时间为2 h,夹带剂为95%乙醇,与药材投料量比例为1:1(V/W)。在95%乙醇中加入表面活性剂吐温80或司盘80可提高桔梗总皂苷的得率^[25]。

表面活性剂和助表面活性剂的加入均可显著提高超临界CO₂萃取人参中皂苷的萃取率,其改善效果与它们的种类和加

入量有关。在司盘80、吐温80、聚乙二醇辛基苯基醚(TX-10)和二辛酯琥珀酸磺酸钠(AOT)4种表面活性剂中,以AOT的改善效果最好,其次是TX-10和吐温80,司盘80最差。在3种助表面活性剂对AOT/超临界CO₂反相微乳萃取人参皂苷的改善效果方面,以乙醇效果最好,其次是正戊醇,正丁醇效果最差。在萃取压力为32 MPa、萃取温度为45 ℃、萃取时间为4 h和CO₂流量为2.5 L/h的条件下,人参皂苷的萃取率达15.9%,是未加表面活性剂和助表面活性剂的13.3倍^[26]。当萃取温度为55 ℃、萃取时间为3 h、加水量为36 ml/100 g、萃取压力为30 MPa和AOT添加量为0.000 6 mol/g时,人参皂苷的得率为0.757%^[27]。

在萃取过程中用表面活性剂(AOT浓度为0.05~0.09 mol/L)和水引入到CO₂中,形成反相微乳体系,能提高对三七总皂苷的萃取能力^[28]。

以物质的量比为4:1、浓度为0.05 mol/L的AOT/辛基酚聚氧乙烯醚(OP-10)为复合表面活性剂,对海星皂苷在超临界CO₂萃取中具有较好的选择性增溶作用,海星皂苷的萃取率为2.40%,提取物中海星皂苷质量分数为58.99%,分别是使用乙醇助溶剂的4.08、2.18倍^[29]。以浓度为0.075 mol/L的AOT/TX-10组成复合表面活性剂的正丁醇/乙醇/水多元溶液为助溶剂,在萃取压力为30 MPa、萃取温度60.85 ℃、萃取时间为2 h、采取两级分离、分离器(1)的温度为55.85 ℃、压力为15 MPa、分离器(2)的温度为65.85 ℃、压力为5 MPa的条件下,海星皂苷的萃取率为1.33%,萃取物中海星皂苷质量分数为59.01%,溶血指数为19 231。与85%乙醇萃取比较,超临界CO₂萃取海星皂苷的萃取率提高了1.2倍,质量分数提高了2.0倍,溶血指数提高了1.5倍,所萃取的海星皂苷具有显著的细胞毒性,充分体现了超临界CO₂萃取的“绿色”特性^[30]。

3.4 其他夹带剂

以甲醇和二甲基亚砜为夹带剂,采用超临界CO₂萃取西洋参中的皂苷可提高萃取率;与甲醇萃取法比较,超临界CO₂萃取可提取出90%的总皂苷^[31]。

4 讨论

由于CO₂的非极性和低分子质量特点,使得超临界CO₂萃取本身具有先天的局限性。夹带剂能大大拓宽CO₂在超临界萃取上的极性范围,夹带剂的正确选择和应用对萃取效果影响甚大。皂苷类成分极性较大,其超临界萃取对夹带剂具有明显的依赖性。但目前夹带剂的使用尚缺乏足够的理论指导,对于夹带剂的加入量和加入方式等,在实际使用中还主要靠试验摸索。此外,萃取中引入夹带剂可能会有一些不良后果,如整个生产工艺增加了夹带剂回收过程以及有可能会造成产品的污染^[32]。复方是传统中药临床应用最主要的形式,国内已有人尝试用超临界流体萃取技术对中药复方进行提取,其有效成分高度浓缩,杂质少,外观颜色较好,批间重复性较好,提取的有效部位具有传统中医所要求的药效,说明中药复方的研究与开发也可以应用此技术^[33]。皂苷类成分作为众多常用中药的物质基础,是中药复方中不可忽略的重要组成部分。因此,进一步加强其有关基础研究和应用研究,灵活运用预萃取和分级萃取等方式,兼顾单味、复方中药和低、中、高各极性有效成分,对于促进超临界萃取技术在中药的应用和发展具有重要意义。

参考文献

[1] 李焕杰.中药提取分离技术的进展[J].中国药房,2007,18

- (18):1 429.
- [2] Hauthal WH. Advances with supercritical fluids[J]. *Chemosphere*, 2001, 43(1): 123.
- [3] Sahena F, Zaidul SMI, Jinap S, *et al.* Application of supercritical CO₂ in lipid extraction: a review [J]. *J Food Eng*, 2009, 95(2): 240.
- [4] Ramsey E, Sum QB, Zhang ZQ, *et al.* Green sustainable processes using supercritical fluid carbon dioxide[J]. *J Environ Sci*, 2009, 21(6): 720.
- [5] 王洋, 杨静, 黄雪松. 夹带剂在超临界 CO₂ 萃取天然产物中的应用[J]. *食品研究与开发*, 2007, 28(11): 162.
- [6] 李双, 王家喜. 超临界二氧化碳用表面活性剂的研究进展[J]. *化学世界*, 2007, 48(8): 496.
- [7] 张中伟, 谢明勇, 王远兴, 等. 超临界 CO₂ 提取苦瓜有效成分的研究[J]. *食品科学*, 2010, 31(6): 137.
- [8] 宋启煌, 白研, 周家华, 等. 巴西人参提取皂苷的工艺研究[J]. *广州化工*, 2000, 28(4): 94.
- [9] 阎巧娟, 韩鲁佳, 江正强, 等. 黄芪皂苷的提取分离方法[J]. *中国农业大学学报*, 2000, 5(6): 61.
- [10] 孙海燕, 关溯, 黄民. 黄芪甲苷的提取新工艺研究[J]. *中药材*, 2005, 28(8): 705.
- [11] 蒙英, 赵旭壮, 李明元. 超临界 CO₂ 萃取黄芪皂苷的工艺研究[J]. *食品与发酵科技*, 2011, 47(4): 42.
- [12] 张乐, 宋凤瑞, 王琦, 等. 人参中稀有皂苷超临界二氧化碳提取[J]. *应用化学*, 2010, 27(12): 1 483.
- [13] 李毛全, 夏伦祝, 章俊如, 等. 超临界 CO₂ 萃取三七中挥发油及皂苷的工艺研究[J]. *安徽医药*, 2009, 13(3): 261.
- [14] 葛发欢, 李莹, 谢健鸣, 等. 超临界 CO₂ 从柴胡中萃取挥发油及其皂苷的研究[J]. *中国中药杂志*, 2000, 25(3): 149.
- [15] Sun Y, Wei L, Wang J, *et al.* Optimization of supercritical fluid extraction of saikosaponins from *Bupleurum falcatum* with orthogonal array design[J]. *J Sep Sci*, 2010, 33(8): 1 161.
- [16] 盛桂华, 周泉城. 超临界 CO₂ 萃取瓜蒌皂苷研究 [J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(9): 56.
- [17] 葛发欢, 史庆龙, 林香仙, 等. 超临界 CO₂ 从黄山药中萃取薯蓣皂素的工艺研究[J]. *中草药*, 2000, 31(3): 181.
- [18] 华小黎, 陈东生. 菝葜超临界 CO₂ 萃取物中薯蓣皂苷元的含量测定[J]. *中药材*, 2006, 29(4): 339.
- [19] 王俊, 杨克迪, 陈均. 超临界 CO₂ 萃取穿山龙中薯蓣皂苷元的研究[J]. *中国药学杂志*, 2003, 38(8): 580.
- [20] 李辉, 倪晋仁, 张歆, 等. 超临界 CO₂ 提取黄姜中薯蓣皂苷元[J]. *精细化工*, 2008, 25(11): 1 079.
- [21] 邓楚津, 聂芳红. 超临界 CO₂ 萃取剑麻中总皂苷的工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2008, 29(2): 41.
- [22] 马晓红, 姚向阳, 韩凤梅, 等. 超临界 CO₂ 萃取两头尖皂苷研究[J]. *湖北大学学报: 自然科学版*, 2003, 25(2): 156.
- [23] 吕晓玲, 李肇奖. CO₂ 超临界萃取油茶皂苷的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2005, 31(1): 23.
- [24] 廖周坤, 姜继祖, 王化远, 等. 超临界 CO₂ 萃取藏药雪灵芝中总皂苷及多糖的研究 [J]. *中草药*, 1998, 29(9): 601.
- [25] 吴彦, 魏和平, 陈红梅, 等. 超临界 CO₂ 萃取桔梗总皂苷的工艺研究[J]. *中国医药工业杂志*, 2010, 41(2): 103.
- [26] 罗登林, 罗磊, 刘建学, 等. 表面活性剂对超临界 CO₂ 萃取人参中皂苷的影响[J]. *农业工程学报*, 2009, 25(增 1): 204.
- [27] 李超, 王卫东, 郑义, 等. 超临界 CO₂ 反相微乳萃取人参皂苷的研究[J]. *食品科学*, 2009, 30(14): 41.
- [28] 雷羽. 超临界 CO₂ 反相微乳萃取三七总皂苷的研究[J]. *江西化工*, 2008(6): 105.
- [29] 文震, 党志, 宗敏华, 等. 琥珀酸二辛酯磺酸钠对海星皂苷在超临界 CO₂ 中的增溶作用 [J]. *日用化学工业*, 2006, 6(3): 148.
- [30] 文震, 党志, 宗敏华, 等. 超临界 CO₂ 萃取海星皂苷[J]. *精细化工*, 2006, 23(7): 657.
- [31] Wood JA, Bernards MA, Wan WK, *et al.* Extraction of ginsenosides from North American ginseng using modified supercritical carbon dioxide [J]. *J Supercrit Fluid*, 2006, 39(1): 40.
- [32] 郝砚杉, 夏晓晖, 靳冉, 等. 夹带剂对超临界 CO₂ 萃取中草药成分的作用分析[J]. *中国中药杂志*, 2009, 34(11): 1 460.
- [33] 费陈忠, 薛飞群, 刘咏海. 中药复方 TF-103 超临界 CO₂ 萃取工艺研究[J]. *中兽医医药杂志*, 2009, 28(3): 9.

(收稿日期: 2012-02-10 修回日期: 2012-04-09)

卫生部副部长黄洁夫出席第四届健康快车管委会第 11 次会议

本刊讯 2012年12月17日,第四届健康快车管委会第11次会议在北京召开。卫生部副部长、健康快车管委会主任委员黄洁夫和健康快车创会主席方黄吉雯出席了会议并讲话。黄洁夫在讲话中充分肯定了健康快车1年来的工作,并指出在发展中要加强对健康快车工作的监管,保证健康快车医疗质量。黄洁夫提出健康快车在15年发展的基础上要抓住机遇,

与外交部合作,做好工作,扩大在国际上的影响力。

会议总结了健康快车2012年度的工作,并通过了2013年工作计划及预算。2013年,4列火车将前往河南、山西、甘肃、福建等10个省的10个地区开展手术,并在部分白内障治疗中心开展糖尿病视网膜病变防治工作试点。会议还商议了2013年发车仪式、慈善晚会等事项。