

超临界 CO₂ 萃取藏药雪灵芝中总皂苷及多糖的研究[△]

华西医科大学药学院(成都 610041)
四川省机械研究设计院

廖周坤* 姜继祖 王化远 叶亚润 周学福** 曾广平
杨儒逵 辛复泰

摘要 用超临界 CO₂ 萃取装置,试验了以藏药雪灵芝中萃取总皂苷粗品及多糖的 3 种萃取工艺。其中,加不同极性夹带剂的梯度超临界 CO₂ 萃取与传统溶剂萃取工艺相比,总皂苷粗品和多糖收率可分别提高至 18.9 倍和 1.62 倍。

关键词 超临界 CO₂ 萃取 夹带剂 雪灵芝 皂苷 多糖

超临界 CO₂ 萃取(CO₂-SFE)的应用研究非常活跃^[1,2]。CO₂-SF 在一般工业高压的条件下极性极低,仅能萃取亲脂性强的低极性分子^[3,4]。为了扩大其应用范围,在较低萃取压力下,使用不同极性夹带剂的 CO₂-SFE 的开发更有价值。

雪灵芝,为高原野生植物,系石竹科蚤缀属植物 *Arenaria kansuensis* var. *ovatipetala* Tsui,分布在海拔 4 000 m~5 000 m 的高山草甸和石缝中,含生物碱、皂苷、氨基酸、香豆素、糖和少量黄酮苷等,以全草入药,性味甘寒,主治肺热咳嗽,高血压等症^[5]。我们用自己设计研制的 CO₂-SFE 试验装置,在 10 MPa 萃取压力下,用不同浓度的乙醇作夹带剂,对藏药雪灵芝进行了总皂苷粗品及多糖的萃取试验,与传统溶剂萃取工艺比较,取得了显著的效果。

1 仪器和试剂

CO₂-SFE 试验装置系自行设计研制(已于 1995 年 12 月经四川省科委组织鉴定),萃取器容量 300 mL,操作压力可达 30 MPa;一、二级分离容量均为 350 mL,操作压力可达 5 MPa,萃取及一级分离操作温度可达 90℃。试验用 CO₂ 为食品级,纯度大于 99.5%;药材雪灵芝为西藏产品;萃取用夹带剂 E₆~E₄ 分别为以一般去离子水配制的浓度(%)分别为 0、10、50、70、94%的医用乙醇。正丁醇及石油醚均为化学纯。多糖分析仪器为

722 型分光光度计,测定波长为 490 nm。

2 实验方法

用同批雪灵芝药粉(<10 目)进行了以下 4 种萃取方法的对比试验。①传统溶剂萃取工艺:每批投料雪灵芝药粉 300 g,依次用 10、8、6 倍量的水煎煮 3 次,每次煮沸 40 min,合并 3 次滤液,减压浓缩至约 100 mL~300 mL。然后用正丁醇(水饱和)约 1 000 mL 振摇萃取 3 次以上,至正丁醇层无皂苷反应。合并正丁醇萃取液,减压浓缩后,浸膏于 70℃干燥至恒重,得总皂苷粗品。合并水层溶液,浓缩至 1 mL 相当 1g 雪灵芝。精密吸取一定体积浓缩液,拌入少量色谱用硅胶置于索氏提取器中,用 80%乙醇回流提取 6 h,取出滤纸筒,挥尽醇液。用水煮沸提取 3 次,每次 30 min,过滤,合并水提液,置于 500 mL 量瓶中定容。吸取 5 mL 置于 25 mL 量瓶中定容(供试液)。以下按苯酚-硫酸法测定多糖含量^[6]:吸取供试液 2 mL,加 5%苯酚试剂 1.2 mL,混匀,迅速加入浓硫酸 6 mL,混匀。室温放置 5 min,然后置于 100℃恒温水浴加热 15 min,取出后立即放入冷水冷至室温。加水 2 mL,苯酚试剂 1.2 mL,浓硫酸 6 mL。配制试液作空白。在 490 nm 波长处测定吸收度。同时以葡萄糖标准液平行对比测定。以下式计算收率:

$$\text{总皂苷粗品收率}\% = \frac{\text{正丁醇提取物浸膏重量}}{\text{雪灵芝药粉投料重量}}$$

* Address: Liao Zhoukun, College of Pharmacy, West China University of Medical Sciences, Chengdu

** 华西医科大学药学院 1995 届毕业生

△ 四川省科委应用基础研究基金资助项目

$$\text{多糖收率}\% = \frac{\text{处理后的水层溶液中的多糖重量}}{\text{雪灵芝药粉投料重量}}$$

②不加夹带剂的 CO₂-SFE 工艺:以萃取压力为 20、30 MPa 各进行了 3 次试验,均采用恒温降压法分离。设定条件:第一分离器中使用 95%乙醇 100 mL 作为分离洗脱剂,压力为 4 MPa,萃取及分离温度均为 45℃;第二分离器降至常温、常压,萃取时间 9 h,CO₂ 流量为 0.28 Nm³/h,雪灵芝药粉投料量每批为 95 g。分别收集各洗脱液,浓缩成浸膏后,先用石油醚分离,除去叶绿素等脂状物,然后再按①的方法分离总皂苷粗品及多糖。

③加不同极性夹带剂的 CO₂-SFE 工艺:分别用夹带剂 E₁、E₂、E₃ 各做了 3 次试验。设定条件:萃取压力 10 MPa;第一分离器采用恒温降压分离法,分离压力为 3 MPa,萃取及分离温度均为 45℃;第二分离器降至常温、常压。CO₂ 流量为 0.22 Nm³/h,夹带剂流量为 145 mL/h,萃取时间为 7.1 h,投料量每批为 84 g。分别收集各萃取液,减压浓缩,按①的方法分离总皂苷粗品及多糖。

④用不同夹带剂进行梯度 CO₂-SFE 工艺:为了提高总皂苷及多糖提取物的纯度,在③试验结果的基础上,每批雪灵芝药粉投料后,按夹带剂极性由小到大的顺序(E₄→E₃→E₀)进行了 3 级梯度萃取,共投料 3 批,设定条件:萃取及分离的压力、温度和夹带剂流量与③相同;CO₂ 流量为 0.28 Nm³/h,萃取时间为 6.4 h,投料量每批为 92 g。分别收集各萃取液,减压浓缩,按①的方法分离总皂苷粗品及多糖,E₄ 浓缩液先用石油醚分离低极性的叶绿素脂状物。

3 结果与讨论

以上 4 种萃取方法的试验结果见表 1。

3.1 不加夹带剂的 CO₂-SFE,即使萃取压力高达 30 MPa,对雪灵芝中有一定极性的皂苷及高极性多糖等成分基本上萃取不出来,只能得到微量低极性的叶绿素脂状物。

3.2 加不同夹带剂的非梯度 CO₂-SFE,在相同的操作条件下,随着夹带剂极性的增大(E₁>E₂>E₃),萃取物中多糖的收率由

0.53%~0.85%逐渐增大,而总皂苷粗品(尚含有低极性叶绿素脂状物)收率由 3.45%至 1.23%逐渐降低,符合极性相似相溶的规律。

表 1 试验结果

试验方法	收率(%)		
	总皂苷粗品	多糖	叶绿素
①	1.03	1.27	未分离
②-20 MPa	微量	微量	微量
-30 MPa	微量	微量	微量
③-E ₁	1.226	0.85	未分离
-E ₂	1.991	0.66	
-E ₃	3.449	0.53	
④-E ₄	0.466	0.0458	1.64
-E ₃	1.653	0.756	
-E ₀	0.336	1.26	

3.3 在梯度 CO₂-SFE 中,第一级萃取所得的 E₄ 萃取液通过石油醚处理可知,其萃取物主要是低极性叶绿素脂状物(76.2%),从而提高了第二、三级萃取所得总皂苷粗品及多糖的纯度。此梯度萃取所得总皂苷粗品的总收率达 2.46%,为传统萃取工艺(0.13%)的 18.9 倍,而多糖总收率达 2.06%,为传统萃取工艺的(1.27%)的 1.62 倍。

加一定夹带剂的 CO₂-SFE 的高效率,在于混有夹带剂的超临界 CO₂ 流体在药材中的扩散速度、扩散深度及其与溶质分子间的范德华力,与传统萃取溶剂相比大为改观。并且在加夹带剂的 CO₂-SFE 中,夹带剂极性可灵活调节,选择性较好。因此,但仅使用 CO₂-SFE 这种方法一步完成植物药的单体分离,一般是不可能的。但它有可能创造一般溶剂达不到的萃取条件,大幅度改善所欲提取成分的收率。这对贵重药材成分的提取,很有工业化开发价值。

参考文献

- 高德霖. 化工进展, 1985; (3): 24
- 夏开元, 等. 中国药学杂志, 1992; 27(8): 489
- 徐海军, 等. 化学工程, 1991; 19(2): 58
- 彭洪, 等. 中国医药工业杂志, 1995; 26(11): 519
- 青海省生物研究所, 等. 青藏高原药物图鉴. 第 1 分册. 西宁: 青海人民出版社, 1972; 380
- 李好枝, 等. 中草药, 1994; 25(4): 185

(1997-09-08 收稿)