

· 专论与综述 ·

超临界萃取生物碱研究进展

肖观秀, 吕惠生, 张敏华^X

(天津大学石油化工技术开发中心 绿色化学合成与转化教育部重点实验室, 天津 300072)

摘 要: 作为提取生物碱的新技术, 超临界萃取是很有前景的。首先简要介绍了超临界流体的特点和超临界萃取的优点, 然后在传质分析的基础上, 总结出决定萃取过程难易的关键因素, 即生物碱在溶剂中的溶解度、待萃组份与母体间的相互作用力, 进而提出了优化工艺条件、提高生物碱萃取率的方法, 如改变萃取压力和温度、使用夹带剂、加入碱化剂进行预处理等。最后总结了超临界萃取生物碱的研究成果, 并提出了今后的发展方向。

关键词: 超临界萃取; 生物碱; 二氧化碳; 萃取率

中图分类号: R 284 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)12-1421-03

Advances in extraction of alkaloids by supercritical fluid extraction

XIAO Guan-xiu, LÜ Hui-sheng, ZHANG Min-hua

(Key Laboratory of Green Chemical Technology, Petrochemical Engineering Research and Development Center, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Key words: supercritical fluid extraction (SFE); alkaloids; carbon dioxide; extraction efficiency

生物碱是自然界中广泛存在的一类天然含氮有机化合物, 大多具有较复杂的氮杂环结构, 并有比较特殊而显著的生理活性。生物碱是许多药用植物的有效成分, 如从罂粟中分得的吗啡具有强烈的镇痛作用, 罂粟碱具有松弛平滑肌作用; 麻黄中的麻黄碱具有平喘作用。传统的生物碱的提取方法有冷浸法、索氏提取法和热回流法, 这些提取方法步骤多、排污量大, 并且消耗大量的酸或碱性溶剂。用超临界 CO₂ (SF-CO₂) 提取生物碱不仅能够有效的提取含量低的成分, 而且能够选择性地提取目标产物, 对环境无污染, 是一个非常环保的化学过程。利用超临界 CO₂ 从植物体中提取生物碱开发新药, 有着潜在的应用前景。

1 超临界流体与超临界萃取

超临界流体 (supercritical fluid, SF) 具有特殊的理化特性: 黏度为普通流体的 1% ~ 10%; 扩散系数约为普通液体的 10 ~ 100 倍; 密度比常压气体大 100 ~ 1 000 倍^[1]。因而超临界流体既有液体溶解能力大的特点, 又有气体易于扩散和运动的特性, 传质速率大大高于液相过程。

超临界流体的溶解能力与密度有着密切的关系^[1]。在一定的温度下, 超临界流体的溶解度随压力的增加而增加; 但溶解度随温度变化存在一“反相区”; 当压力增加到一定程度时, 就会脱离反相区, 此时溶解度随温度升高而增加。特别是在临界点附近, 温度或压力的微小变化都有可能导导致溶质溶解度发生几个数量级的突变。因此将超临界流体与待分离的物质接触, 控制体系的压力和温度变化使其选择萃取其中的

某些组份, 然后通过调节温度和压力变化, 降低超临界流体的密度, 实现与所提取物质的分离。

超临界萃取 (supercritical fluid extraction, SFE) 与传统的萃取技术相比, 具有以下优势^[2]: (1) 超临界流体的密度接近液体, 溶解能力强, 萃取率高; (2) 通过调节温度和压力, 可以实现被萃取物质与溶剂的彻底分离, 产品中无溶剂残留, 适用于食品和药物的提取; (3) 溶剂的溶解能力可以通过调节温度和压力控制, 工艺简单、省时省力; (4) 可以在低温下进行, 尤其适用于热敏物质的提取; (5) CO₂ 无毒、价廉、临界温度低, 是应用最为广泛的溶剂。

2 萃取传质过程分析

Pawliaszyn 基于吸附—解吸机制描述了痕量待萃组份在超临界萃取时的传质过程: (1) 待萃组份从与母体的结合位置脱附; (2) 待萃组份经母体扩散到母体—超临界流体界面; (3) 待萃组份溶解到超临界流体中; (4) 溶解了的待萃组份经多孔母体扩散到流动着的超临界流体主体中完成萃取。哪一步为控制步骤取决于母体、待萃组份、超临界流体本身的特性以及母体、待萃组份、超临界流体间作用力的类型和大小。

生物碱在 SF-CO₂ 中的溶解度对其萃取过程有关键的影响。Anne 等^[3] 研究了从苦柯叶中用 SF-CO₂ 萃取可卡因, 在 20 MPa、40 °C, CO₂-MeOH-H₂O (90:99:1) 的条件下以不同的流速、粒度做苦柯叶的萃取动力学, 结果显示可卡因的萃取主要由溶解步骤控制, 而不是脱附控制。Young 等^[4] 进行的 SF-CO₂ 萃取天仙子胺的研究也发现从母体中萃取

X 收稿日期: 2004-03-05

作者简介: 肖观秀 (1981—), 女, 江西崇义县人, 在读硕士, 主要从事超临界流体方面的研究。

Tel: (022) 27406119 E-mail: twinstar08@eyou.com

天仙子胺与从游离态的化合物中萃取, 萃取率相差无几, 吻合的很好。但对有些生物碱而言, SF-CO_2 (SF-CO_2 /夹带剂) 能否有效克服 SF-CO_2 从母体中萃取生物碱——母体间作用力比生物碱在 SF-CO_2 中的溶解度还要重要。为了成功地利用 SF-CO_2 萃取出生物碱, 除了考虑生物碱在 SF-CO_2 中的溶解度以外, 还需认真研究母体的物理化学性质以及生物碱、母体间的作用力。Janet 等^[9]进行了从人头发中用 SF-CO_2 萃取可卡因的研究, 通过与 SF-CO_2 萃取游离态可卡因比较, 发现可卡因从母体中的脱附是整个萃取过程的控制步骤。Mchugh 用 SF-CO_2 脱除咖啡豆中的咖啡因, 萃取出来的咖啡因的浓度比其溶解度小几个数量级, 几乎不可检测, 也是一个脱附控制的过程。

3 提高萃取率的方法

基于传质分析, 可知从母体中萃取待萃组份, 需了解待萃组份在溶剂中的溶解度、待萃组份与母体间的作用力、待萃组份从母体进入溶剂的扩散速率。Tehrani 用萃取三角形 (图 1) 展示了待萃组份、母体和溶剂之间的关系。这些关系共同控制 SFE 过程, 要综合考虑影响萃取效率的各种因素, 寻找最优的工艺条件。

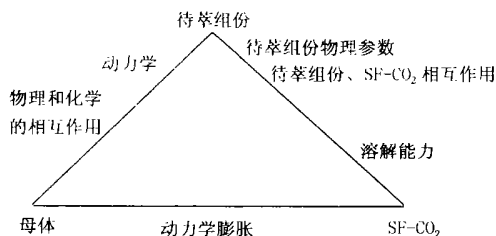


图 1 SFE 三角关系图

Fig. 1 Triangle relationship of SFE

待萃组份在超临界流体中的可溶性, 并不能保证该物质可从某一特定基体中被有效地萃取出来, 样品母体复杂的物理化学特性, 可能对待萃组份的提取起到意想不到的阻碍作用。在植物体内, 几乎所有的生物碱都有极性, 且绝大多数以盐的形式存在, 母体对生物碱的束缚作用常常是萃取过程中的首要障碍。为克服母体对生物碱的束缚作用, 增强生物碱在 SF-CO_2 中的溶解能力, 提高生物碱的萃取率, 可以采用以下措施。

3.1 适当提高萃取压力: 压力的变化能显著提高 SF 溶解能力。根据萃取压力的大小, 可将 SFE 分为 3 类^[6]: 1) 高压区的全萃取。在超临界流体中, 压力越高, 流体的密度越大, 萃取能力也越强, 但对杂质的萃取量也随之增大。2) 低压临界区仅能提取易溶解的成分, 或除去有害成分。3) 中压区的选择萃取。在高压、低压之间, 可根据待萃组份与杂质的性质差异, 选择适宜的压力进行有效萃取。单纯提高压力并不能保证获得高萃取率, 因为当压力增加到一定程度后, 超临界流体密度随压力变化缓慢, 相应的溶解能力增加也缓慢。如 CO_2 在 37 °C 下, 压力由 10 MPa 增加到 15 MPa, 其密度仅增加 15% 左右。采用 SF-CO_2 萃取生物碱, 单纯提高压力难以大幅度的提高萃取率, 并且高压设备在工业上实现起来也相对困难。

3.2 选取适当的萃取温度: 温度对萃取效果的影响较为复杂, 温度通过影响生物碱的饱和蒸汽压、 SF-CO_2 的密度以及流体相中分子间相互作用来影响生物碱在 SF-CO_2 中的溶解度。当温度升高时, 生物碱的饱和蒸汽压增加, SF-CO_2 的密度降低, 流体间的相互作用增强。在不同的压力范围, 这几个因素所起的作用不同。在低压区, 温度对 SF-CO_2 密度的影响起主要作用, 生物碱溶解度随温度升高而下降, 此阶段称为“温度的负效应阶段”; 在高压区, 温度对饱和蒸汽压和分子间相互作用的影响居主导地位, 温度上升, 生物碱溶解度增大, 此阶段称为“温度正效应阶段”。对于不同组份, 温度效应的范围是不同的。同时, 生物碱是热敏性物质, 过高的萃取温度会降低其生理活性。因此在萃取生物碱的过程中要综合考虑各种因素, 选取最佳的萃取温度。

3.3 增大 SF-CO_2 流量: 在 SFE 中, SF-CO_2 流量一定时, 萃取时间越长, 收率越高。萃取开始时, 由于 SF-CO_2 与生物碱尚未达到良好的接触, 收率较低。随着萃取时间的延长, 传质速率达到一定程度, 萃取速率逐渐增大。萃取速率达到最大值后, 生物碱组份减少, 传质推动力降低, 萃取速率随之降低。 SF-CO_2 的流量主要影响萃取时间。收率一定时, SF-CO_2 流量越大, SF-CO_2 与生物碱间的热阻力越小, 萃取速度越大, 所需要的萃取时间越短。但增大 SF-CO_2 流量也会使回收负荷增大, 因此还要考虑经济因素的影响。Anne^[3]研究了从苦柯中萃取可卡因, 当粒度分布在 150~170 μm 时, 不同 SF-CO_2 流量对收率的影响, 结果发现, 当体积流量为 1 mL/min 时, 可卡因萃取速率相当低, 萃取 90% 的可卡因约需 40 min; 当体积流量增至 2 mL/min 时, 可卡因的萃取速率明显上升, 萃取 90% 的可卡因只需 5 min。

3.4 加入合适的夹带剂: SF-CO_2 能与众多极性溶剂混溶, 常见的有甲醇、乙醇、丙酮、苯、氯仿等。在 SF-CO_2 中加入合适的夹带剂, 使生物碱与夹带剂间形成特定的 Lewis 酸-碱作用力 (如氢键、络合作用), 降低解吸时的活化势垒, 从而克服母体对生物碱的束缚, 增强 SF-CO_2 对生物碱的溶解度和选择性。夹带剂的加入方式有 2 种, 当母体束缚效应是主要影响因素时, 加入夹带剂的目的是破坏生物碱和母体之间的相互作用, 常采用静态法加入^[7]; 当生物碱在 SF-CO_2 中的溶解度为主要影响因素时, 加入夹带剂的目的是增加生物碱在 SF-CO_2 中的溶解度, 常采用动态法加入^[8]。对于不同的生物碱, 结合其在超临界萃取中的主要影响因素, 采用不同的夹带剂加入方法 (静态法、动态法、静态法和动态法联合使用) 进行萃取。

3.5 加入碱性剂进行预处理: 由于生物碱易与酸结合成盐类, 使之在 SF-CO_2 流体中的溶解度降低, 从而降低萃取效率, 延长萃取时间, 提高萃取成本。加入碱化剂碱化, 使之转化为游离态生物碱, 更易于萃取。常用的碱化剂有氨水、氢氧化钙、二乙胺。其中氨水和二乙胺碱性较强, 呈液态, 易与 SF-CO_2 流体混合, 碱化效果好。Young 等用纯的 SF-CO_2 几乎萃取不出东莨菪碱, 当加入 10% 甲醇作夹带剂时, 萃取率为 0.15 mg/mL; 再加入二乙胺作碱化剂, 萃取率升至 1.5 mg/mL。

3.6 增加母体表面积或提高母体孔度:母体的物理形态也对萃取效率有着重要影响。母体的颗粒小,生物碱分布在母体表面,到达 SF-CO₂ 流体相要穿过的内扩散路径变短,萃取过程迅速、完全。但也应该注意避免小于 50 Lm 的粒度,因为这可能在萃取池中形成紧密层,导致 SF-CO₂ 的直接穿过,而不能充分与母体接触,而且太小的颗粒在加压过程中可能从萃取池中机械喷出。研磨时,有些物质会因发热而挥发,通常加入干冰或液氯抑制挥发。母体孔度的提高,促进了母体膨胀,使提取更有效、更快速。当 SF-CO₂ 具有足够的溶解能力时,可通过研碎样品增加母体表面积或提高母体孔度来提高萃取速率。

4 研究成果和发展方向

超临界萃取技术在生物碱的提取分离方面具有低温、快

速、收率高、产品质量好、成本低等特点,特别是对一些资源少、疗效好、剂量小及附加值高的产品极为适用。SF-CO₂ 已经成功的萃取了许多生物碱,如表 1 所示。但 SFE 比较适合萃取脂溶性、相对分子质量小的物质,对极性大、相对分子质量较大的生物碱要加入夹带剂和碱化剂,而夹带剂和碱化剂的使用尚缺乏足够的理论指导,其作用机制、动力学模型有待进行深入的探讨,需建立较为普遍的模式,为工艺条件的优化和过程的放大研究提供理论依据。另外,为了加快有效成分的提取、分离、分析、纯化,SFE 可与其他先进的分析技术如 GC、IR、MS、HPLC 等进行在线或离线联用,提高药物分析的高效性和实用性,为中草药的质量控制提供较好的方法和质量保证,从而拓宽超临界萃取技术在中药领域中的应用范围,促进中药的现代化。

表 1 超临界萃取生物碱研究成果

Table 1 Result of alkaloid extraction by SFE

萃取的生物碱	萃取体系	温度/	压力/ MPa	检测方法	文献
马兰中的靛玉兰	SF-CO ₂ + 氯仿	100	34. 5	微孔 HPLC	9
延胡索乙素	SF-CO ₂ + 苯(含氢氧化钙)	50. 0	42. 0	HPLC	10
洋金花中的东莨菪碱	SF-CO ₂ + 甲醇(含氨水)	40. 0	34. 9	HPLC	11
光姑子中的秋水仙碱	SF-CO ₂ + 乙醇	45. 0	10. 0	HPLC	12
马钱子中的土的宁	SF-CO ₂ + 丙酮(含氨水)	110	34. 5	HPLC	13
小檗碱和掌叶防己碱	SF-CO ₂ + 甲醇(含 DSS)	60. 0	20. 0	IP-SFE 和 IP-SF 联用	14
白屈菜中的白屈菜碱	SF-CO ₂ + 丙二醇+ 水	38. 0	25. 0	SFE 和薄层色谱	15
古柯叶中的可卡因	SF-CO ₂ + 甲醇+ 水	40. 0	20. 0	GC-FID,GC-MS	5
人体头发中的可卡因	SF-CO ₂ + TEA+ 水	110	40. 5	GC-MS	
天仙子胺和东莨菪碱	SF-CO ₂ + 甲醇+ 二乙基氨	60. 0	34. 0	GC-FID	
单猪屎豆碱	SF-CO ₂ + 乙醇	35. 0	10. 3	SFE 和离子交换柱联用	16
辣椒碱	SF-CO ₂ + 乙醇+ 水	50. 0	15. 0	SFC	17
紫杉醇	SF-CO ₂ + 乙醇	34. 3	33. 1	HPLC	18

References:

[1] Zhu Z Q. Supercritical Fluid Extraction Technology—Principle and Application (超临界流体萃取技术—原理与应用) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.

[2] Xiao J P, Fan C Z. Progress in research of supercritical fluid technology [J]. Prog Chem (化工进展), 2001, 13(2): 94-101.

[3] Anne B, Philippe C. Experimental design in supercritical fluid extraction of cocaine from coca leaves [J]. Biochem Biophys Methods, 2000, 43: 353-366.

[4] Young H C, Young W C. Strategies for supercritical fluid extraction of hyoscyamine and scopolamine salts using basified modifiers [J]. J Chromatogr A, 1999, 863: 47-55.

[5] Morrison J F. Matrix and modifier effects in the supercritical fluid extraction of cocaine and benzoylecgonine from human hair [J]. Anal Chem, 1998, 70: 163-172.

[6] Wei Y, Liu X W, Zhang X D, et al. Supercritical fluid extraction and its application in medicine industry [J]. Chem Ind Eng (化学工业与工程), 2002, 19(5): 401-404.

[7] Collins M B. Supercritical CO₂ extraction of caffeine from guarana [J]. J Supercrit Fluids, 1996, 9(3): 185-191.

[8] Raynor M M. Application of a dynamic extraction model to the SFE of the limonoid cedrelone from Cedrela toona [J]. J Chromatogr Sci, 1996, 34(7): 320-325.

[9] Li L, Chen Z Q, Li X L. Application of supercritical fluid extraction in quality control of Chinese medicinal materials [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1995, 30(2): 133-137.

[10] Yuan Y F, Li X L. Analysis of dl-tetrahydropalmatine in Corydalis yanhusuo W. T. Wang by supercritical fluid extraction and HPLC [J]. Acta Pharm Sin (药学报), 1996, 31(4): 282-286.

[11] Bian J, Cai D G. Extracting scopolamine from datura metel by CO₂ supercritical fluid extraction [J]. Chin Pharm J (中国药杂志), 1996, 31(10): 588-590.

[12] Jiang J Z, Ye K L. Studies on supercritical CO₂ fluid extraction of colchicines from Guangguzi (Iphigenia indica) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1997, 28(3): 147-149.

[13] Bian J, Cai D G. Study on extraction of strychnine from Strychnos piersiana A. W. Hill by SFE-CO₂ [J]. Chin J Pharm (中国医药工业杂志), 1997, 28: 5-8.

[14] Suto K, Kakinma S. Determination of berberine and Phellodendri cortex using ion-pair supercritical fluid chromatography on-line coupled with ion-pair supercritical fluid extraction by on-column tapping [J]. J Chromatogr A, 1997, 786: 371-376.

[15] Then M, Szentmihalyi K. Effect of sample handing on alkaloid and mineral content of aqueous extracts of greater celandine [J]. J Chromatogr A, 2000, 889: 69-74.

[16] Schaeffer S T. Supercritical fluid isolation of moncrotonalene from croalaria spectabilis using ion-exchange resins [J]. Ind Eng Chem Res, 1989, 28: 1017-1020.

[17] Duarte C. Phase equilibrium for capsaicin/water/ethanol/supercritical carbon oxide [J]. J Super Fluids, 2002, 22: 87-92.

[18] Vandana V, Teja A S, Zalkow L H. Supercritical extraction and HPLC analysis of taxol from Taxus brevifolia using nitrous oxide and nitrous oxide/ethanol mixture [J]. Fluid Phase Equilibria, 1996, 116: 162-169.