

超临界 CO₂ 流体萃取博落回总生物碱的研究蔡建国^{1*}, 张 涛¹, 陈 岚²

(1. 华东理工大学化学工程研究所, 上海 200237; 2. 上海理工大学医疗器械学院, 上海 200093)

摘要:目的 从博落回中提取生物碱, 为博落回生物碱的提取、纯化提供方法和依据。方法 采用超临界 CO₂ 结合使用甲醇、乙醇、丙酮作为夹带剂和 Na₂CO₃ 碱化处理原料研究对生物碱提取率及提取物中总生物碱的影响。通过元素分析, 计算提取生物碱的平均相对分子质量, 获得各种提取条件下对生物碱分子的提取能力。结果 在 318.15 K、35 MPa 条件下, 相对于单纯使用超临界 CO₂ 萃取, 使用甲醇作为夹带剂和 Na₂CO₃ 碱化剂可使生物碱的提取率从 0.043 6% 提高到 0.201 9%, 提取物中生物碱的质量分数从 12.5% 提高到 20.03%, 提取生物碱的平均相对分子质量从 334.63 提高到 400.03。**结论** 超临界 CO₂ 中夹带甲醇或乙醇可以提高对生物碱的提取能力, 丙酮的影响很小; 碱化处理原料, 可以使超临界 CO₂ 及其夹带剂提取更大相对分子质量的生物碱物质。

关键词: 博落回; 生物碱; 超临界二氧化碳流体; 夹带剂

中图分类号: R286.02

文献标识码: B

文章编号: 0253-2670(2006)06-0852-03

Total alkaloid extract from *Macleaya cordata* using supercritical CO₂ fluid extractionCAI Jian-guo¹, ZHANG Tao¹, CHEN Lan²

(1. Research Institute of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China; 2. College of Medical Instrument, Shanghai University for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Key words: *Macleaya cordata* (Willd.) R. Brown; alkaloid; supercritical CO₂ fluid extraction; entrainer

超临界 CO₂ 作为溶剂用于萃取, 具有价廉、易得、安全和环境友好等特点, 可用于天然植物有效成分如挥发油、萜类化合物等的提取分离^[1,2]。相对于传统的水蒸气蒸馏和有机溶剂萃取, 超临界 CO₂ 萃取可在近常温的条件下操作, 能够防止热敏性成分的分解或降解, 提高产品的收率和天然资源的利用率, 得到的萃取物质易于进一步分离纯化。CO₂ 是一种非极性溶剂, 而生物碱大都具有比较强的极性, 相对分子质量也比较大, 这些都增加了超临界流体萃取分离生物碱的难度。为此, 在考虑超临界 CO₂ 萃取生物碱时, 除考虑温度、压力等常见因素外, 夹带剂和碱化剂的使用对于萃取过程有重要影响。

博落回 *Macleaya cordata* (Willd.) R. Brown 系罂粟科植物, 具有清热解毒、杀虫止痒的功效, 主要有效成分为生物碱^[3,4], 其中的血根碱和白屈菜红碱具有抗菌、抗炎、抗病毒、抗肿瘤、杀虫和镇痛等作用, 药理作用明显^[5]。博落回生物碱的传统提取方法是溶剂提取法, 存在提取时间长, 效率不高, 且提取物成分复杂, 进一步纯化困难的缺点^[6]。

本实验采用超临界 CO₂ 结合夹带剂和碱化剂

萃取博落回总生物碱, 考察了不同实验条件对总生物碱提取率及其对提取物中生物碱的影响, 测定了总生物碱的元素组成和平均相对分子质量, 为博落回生物碱的提取和纯化提供依据。

1 仪器与方法

博落回植物茎部组织, 购自上海市药材公司, 产地为安徽省。原料用 HC-250 型家用食品粉碎机粉碎至 20 目以下。血根碱对照品(质量分数 > 99%, 瑞士 Fluka 公司)。CO₂ 为工业级瓶装气(质量分数 > 98.5%, 上海市吴泾化工厂)。

日本岛津 UV3000 双波长双光束紫外分光光度仪; 元素分析采用德国 Elementar Vario EL III 元素分析仪; 夹带剂通过 LC-6A HPLC 定量柱泵(北京东方科学仪器厂)注入系统。

实验装置采用瑞士 NOVA 公司生产的超临界萃取装置, 采用隔膜式压缩机增压。萃取器容积为 200 mL, 直径 40 mm; 分离器容积 200 mL, 直径 40 mm。萃取器和分离器都用夹套水加热。当使用夹带剂时, 用夹带剂泵按一定的比例动态加入。萃取时, CO₂ 的流速为 2 L/min, 萃取时间 120 min。在分离

收稿日期: 2005-10-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20276017)

作者简介: 张 涛(1981—), 男, 河北石家庄人, 现在中国科学院成都有机化学研究所读博士。E-mail: mo01103@sohu.com

* 通讯作者 蔡建国 E-mail: jgc@ecust.edu.cn

器中收集萃取物并称重质量,精确称取一定量提取物配成溶液,然后在 278 nm 处测定其吸光度^[7],对照标准曲线获得产品中生物碱的质量分数。按下式定义提取物提取率和总生物碱提取率。

$$\text{提取物提取率} = \frac{\text{提取物质量}}{\text{原料质量}} \times 100\%$$

$$\text{总生物碱提取率} = \frac{\text{提取的总生物碱质量}}{\text{原料质量}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 温度和压力对生物碱提取的影响:当单纯使用超临界 CO₂ 作为萃取溶剂时,影响分离效果的主要因素为温度和压力,因为超临界流体溶解溶质的能力同其密度直接相关,而温度和压力又直接影响了流体的密度。压力和温度对总生物碱提取率的影响见图 1。可以看出,在温度为 308.15 K 时,总生物碱提取率随压力的增加变化很小,而在 313.15 K 和 318.15 K 时,当压力从 15.0 MPa 到 25.0 MPa 时,总生物碱提取率增加比较快,在压力超过 25.0 MPa 后,总生物碱提取率增加的趋势变缓。

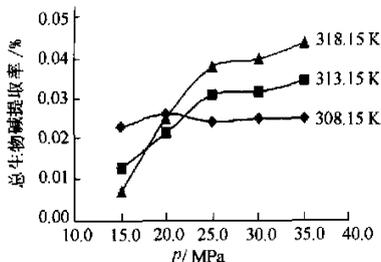


图 1 博落回总生物碱提取率与温度和压力的关系

Fig. 1 Relationship between temperature and pressure and rate of total alkaloids in *M. cordata*

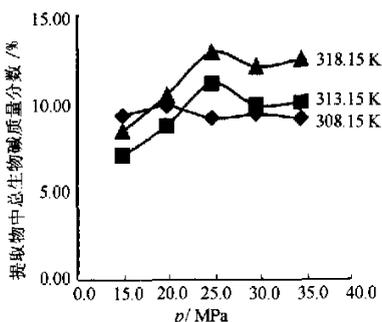


图 2 提取物中博落回总生物碱的质量分数与温度和压力的关系

Fig. 2 Relationship between temperature and pressure and total alkaloids in *M. cordata* extract

萃取物中生物碱的质量分数与压力和温度之间的关系见图 2。可以看出,萃取物中生物碱的质量分数随着压力的增加,出现先增加后下降的趋势,如在

313.15 K 和 318.15 K,当压力大于 25 MPa 后,萃取物中生物碱的质量分数出现下降,说明此时虽然萃取率增加,但增加的可能是相对分子质量比较大的树脂等成分,使萃取物中生物碱的质量分数下降。

2.2 夹带剂对萃取生物碱的影响:超临界流体对物质的溶解与溶质的极性、蒸汽压和相对分子质量密切相关。由于二氧化碳为非极性溶剂,故对非极性的或极性较低的溶质如酯、醚、内酯和含氧化合物等有较好的溶解能力。生物碱具有一定的极性,二氧化碳中夹带少量极性溶剂,可以通过极性溶剂分子对溶质分子的作用,改善其对生物碱的提取能力。温度 318.15 K、压力 35.0 MPa 的条件下,采用动态加入甲醇、乙醇和丙酮作为夹带剂时对总生物碱的提取率和提取物中生物碱的质量分数的研究结果见图 3,4。

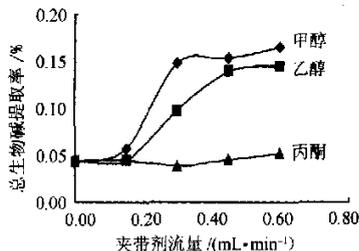


图 3 不同夹带剂对于博落回总生物碱提取率的影响

Fig. 3 Effect of various entrainers on extracting rate of total alkaloids in *M. cordata*

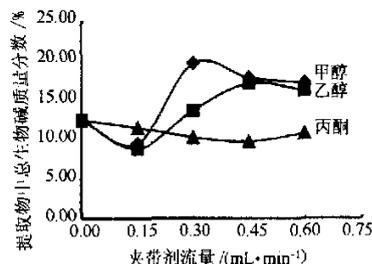


图 4 不同夹带剂对提取物中博落回总生物碱质量分数的影响

Fig. 4 Effect of various entrainers on total alkaloids in extract of *M. cordata*

由图 3 可以看出,总生物碱的提取率随夹带剂甲醇、乙醇的流量增加而增加,当夹带剂的流量增加到 0.45 mL/min 后,提取率的增加减缓。对比图 1 和图 3 可以看出,在 318.15 K、35 MPa 条件下,使用夹带剂时总生物碱的提取率可以从 0.043 6% 增加到 0.147 3%,增加 3.4 倍。

从图 4 的结果可以看出,当使用夹带剂甲醇和乙醇时,提取物中总生物碱的质量分数与夹带剂流量之间的关系曲线类似于“S”型,这是因为在夹带

剂加入后,除了增加生物碱的溶解能力外,其他组分的溶解能力也有所增加。在曲线的开始阶段和后期,由于提取物中其他成分的增加大于生物碱的增加量,使得提取物中总生物碱的质量分数相对降低。相比图 2 的结果,当使用夹带剂时,提取物中总生物碱的质量分数可以从 12.5% 提高到近 20%。

从图 3 和图 4 可以看出,相对于甲醇和乙醇夹带剂,丙酮对总生物碱的提取率和提取物中生物碱质量分数的影响都不明显,这可能是由于甲醇和乙醇能够与生物碱分子形成氢键的缘故。

2.3 使用碱化剂和夹带剂的影响:生物碱在植物中常以盐的形式存在,这使得其在超临界 CO₂ 中的溶解度下降。使用碱化剂处理原料,可以使原来与酸结合的生物碱盐转变成游离态,减小生物碱同植物组织的连系程度,从而提高萃取效率。

按照博落回原料质量 37.2 g 的 7% 称取一定量的 Na₂CO₃,溶于适量水中,配制成溶液,将溶液和博落回原料充分混合,浸渍 12 h,烘干后使用。使用甲醇为夹带剂,并且用氨水调节甲醇的 pH 9~10,以保证弱酸性的甲醇不会影响碱化剂的效果。夹带剂的流量为 0.3 mL/min,实验温度为 318.15 K,实验压力为 35.0 MPa。结果得到提取物 0.366 g,其中总生物碱的质量分数为 2.003 mg/g,提取物提取率为 1.008%,总生物碱提取率为 20.19%。对照图 1 和图 3 可看出,用碱化剂后,超临界 CO₂ 的提取能力进一步提高,总生物碱的提取率可以达到 20.19%,提取物中总生物碱的质量分数达 2.003%。

2.4 总生物碱的元素分析:由实验结果可以知道,夹带剂和碱化剂对于超临界 CO₂ 萃取博落回生物碱有明显的影 响,由于博落回植物中所含有的各种生物碱分子中含有而且只含有一个氮原子^[4~6],故通过对提取生物碱的元素分析,可以确定平均相对分子质量,由此反映出夹带剂和碱化剂对超临界 CO₂ 萃取能力的影响。

单纯的超临界 CO₂ 萃取时,温度 318.15 K,压力 35.0 MPa;超临界 CO₂ 中动态加入甲醇做夹带剂时,流量为 0.3 mL/min,温度 318.15 K,压力 35.0 MPa;Na₂CO₃ 碱化处理博落回原料,超临界 CO₂ 中动态加入甲醇做夹带剂,流量 0.3 mL/min,温度 318.15 K,压力 35.0 MPa。

将以上实验所得的博落回提取物,分别加入适

量 1 mol/L 盐酸水溶液,使博落回生物碱在加热的条件下溶解,滤过去除杂质得到澄清的橘黄色溶液,用氨水调节其 pH 9~10,使溶液中生物碱析出,静置 48 h,使悬浮颗粒充分沉淀,滤过后干燥,得到精制的黄褐色博落回总生物碱。

对上述条件下得到的博落回总生物碱进行元素分析,再依据氮元素的量,计算总生物碱的平均相对分子质量,元素分析和相对分子质量计算结果见表 1。

表 1 不同条件下博落回总生物碱的元素分析及平均相对分子质量

Table 1 Element analysis and average molecular weight of total alkaloids in *M. cordata* in various conditions

实验条件	N/%	C/%	H/%	O/%	平均相对分子质量
萃取	4.18	59.19	5.50	31.12	334.63
加夹带剂	4.10	67.70	5.54	22.67	341.57
碱化处理	3.51	67.58	5.81	23.10	400.23

可见单纯的超临界 CO₂ 萃取,得到的总生物碱的平均相对分子质量为 334.63;使用了甲醇作为夹带剂,总生物碱的平均相对分子质量增加到 341.57,这说明极性夹带剂的存在,提高了流体溶解大相对分子质量物质的能力,提取物中相对分子质量较大的生物碱所占的比例有所增加。当使用极性夹带剂和碱化剂的时候,不仅生物碱的提取率增加,而且其平均相对分子质量达到了 400.23,进一步表明碱化剂的使用,可以使生物碱盐游离成生物碱,从而使超临界 CO₂ 萃取更多的大分子生物碱。

References:

- [1] Huen L, Hi H W, Ho Y, et al. Extraction of indole alkaloids from *Catharanthus roseus* by using supercritical carbon dioxide [J]. *Biotechnol Tech*, 1992, 6 (2): 127-130.
- [2] Vandana V, Teja A. Supercritical extraction and HPLC analysis of taxol from *Taxus brevifolia* using nitrous oxide and nitron oxide + ethanol mixtures [J]. *Fluid Phase Equilibm*, 1996, 1169 (1): 162-169.
- [3] Yang J, Wang J, Liu X S, et al. Experimental studies on pharmacodynamic effects of *Macleaya cordata* [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1999, 22 (2): 82-84.
- [4] Hu Z B, Xu G, Feng S C, et al. Medicinal effects research of *Macleaya cordata* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1979, 14 (9): 535-540.
- [5] He Z, Du F L. The medically effective components of *Eomecon chionantha* [J]. *Chin Wild Plant Resour* (中国野生植物资源), 1998, 17 (3): 12-15.
- [6] Sun L Y, Wei X H, Wei Y, et al. Extraction of total alkaloids from *Macleaya cordata* [J]. *Chin J Anal* (药物分析杂志), 2003, (23): 15-18.
- [7] Lin P, Zhao S. UV-Spectrophotometer determination of total alkaloids extracted from *Macleaya cordata* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1989, 14 (3): 39-40.