

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取在天然产物提取中的应用

倪志伟<sup>1</sup>, 李军玲<sup>2</sup> (1.聊城大学生命科学学院, 山东聊城 252059; 2.中国科学院昆明植物研究所, 植物化学与西部植物资源持续利用国家重点实验室, 云南昆明 650204)

**摘要** 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取作为一项新发展起来的分离技术, 近年来受到越来越多的关注。分析了目前该项技术在天然产物分离中的优越性, 探讨了其不断发展的应用领域, 并展望了该技术的发展趋势。

**关键词** 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 天然产物; 优越性; 趋势

**中图分类号** O659 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)14-05715-02

Application of Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction in Natural Products Separation

NI Zhi-wei et al (School of Life Sciences, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252059)

**Abstract** The continuous development of application fields of supercritical CO<sub>2</sub> extraction was discussed based on its advantages in natural products separation. The development trend of this technology was forecasted.

**Key words** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction; Natural product; Advantages; Trend

超临界流体(Supercritical Fluid)是指超临界温度和临界压力状态下的高密度流体。超临界流体具有气体和液体的双重特性, 其粘度与气体相似, 但扩散系数比液体大得多, 其密度和液体相近。1869年, Andrews首先发现临界现象, 此后各种研究工作陆续开展起来。1879年, Haney和Hogarth测量了固体在超临界流体中的溶解度; 1937年, Michaels等准确地测量了CO<sub>2</sub>近临界点的状态。超临界流体萃取技术(Supercritical Fluid Extraction, 简称SFE)是近30年来发展起来的新的分离技术。超临界流体萃取分离过程是利用超临界流体的溶解能力与其密度的关系, 即利用压力和温度对超临界流体溶解能力的影响而进行的。当气体处于超临界状态时, 其性质介于液体和气体之间的单一相态, 具有和液体相近的密度, 粘度虽高于气体但明显低于液体, 扩散系数为液体的10~100倍, 因此对物料有较好的渗透性和较强的溶解能力, 能够将物料中某些成分提取出来。超临界萃取的实际操作范围可以通过调节压力或温度, 改变溶剂密度从而改变溶剂萃取能力的操作条件。

可作为超临界流体的物质很多, 如二氧化碳、一氧化亚氮、六氟化硫、乙烷、甲醇、氨和水等。但用超临界萃取方法提取天然产物时, 一般用CO<sub>2</sub>作萃取剂。这是因为: CO<sub>2</sub>临界温度(T<sub>c</sub>=31.06℃)是超临界溶剂临界点最接近室温的, 所以CO<sub>2</sub>萃取可在接近室温下完成整个分离操作; 临界压力(P<sub>c</sub>=7.39MPa)适中; 同时, CO<sub>2</sub>的临界密度(ρ=0.448g/cm<sup>3</sup>)是常用超临界溶剂中最高的, 因而对有机物溶解能力强、选择性好; 另外, CO<sub>2</sub>廉价易得、无毒、惰性、易于分离, 而且不会产生任何新的“三废”物质, 有利于环境保护<sup>[1-3]</sup>。

如果在纯CO<sub>2</sub>气体中加入少量的、可与之混溶的、挥发性介于被分离物质与超临界组分之间的夹带剂, 可对溶质在CO<sub>2</sub>流体中的溶解度和选择性产生显著影响, 从而影响萃取过程。

## 1 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取技术的优越性<sup>[4-10]</sup>

**1.1 工艺简单, 操作方便, 物料、能耗小** 如青蒿素的超临界CO<sub>2</sub>萃取的提取率比传统工业生产中的溶剂法(汽油和稀乙醇)提高11%~59%。

**作者简介** 倪志伟(1976-), 男, 山东荣成人, 硕士, 助教, 从事化学生物学的教学与研究工作。

**收稿日期** 2008-03-07

**1.2 萃取能力强, 提取率高** CO<sub>2</sub>-SFE技术的萃取能力取决于温度和压力的控制, 以达到选择性地对中药中多种成分的提取和分离, 这样可相对减少杂质, 增加有效成分的提取率, 优于传统方法。

**1.3 提取时间快, 生产周期短** 超临界流体CO<sub>2</sub>从萃取到分离一步完成, 一般提取10min左右便有成分析出, 2~4h便可完全提取。同时, 它不需要进行过滤、浓缩等处理步骤, 即使加入夹带剂也可直接进样分析或只作简单处理, 所以大大地缩短时间。

**1.4 有效成分不易破坏, 较易发现新成分** 超临界流体CO<sub>2</sub>临界温度低, 操作温度低, 能更好地保存有效成分不被破坏。尤其适合对热敏感性强、容易氧化分解的成分的提取。

**1.5 中成药、中药材成分分析简便快速, 准确度高** 中药成分复杂, 干扰太多, 难以准确测定。用SFE发展起来的超临界流体色谱法(SFC)或CO<sub>2</sub>-SFE技术与GC、TR、MS、IC等联用为中成药和中药材成分分析提供了新的途径和方法。

**1.6 其他方面** CO<sub>2</sub>作为超临界流体优于其他的超临界流体, 代替了传统方法中的有毒溶剂, 同时具有灭菌作用, 有利于保证和提高产品质量, 而且用超临界CO<sub>2</sub>提取, 操作参数(温度和压力)容易控制, 有利于提高有效成分的提取率和保证产品质量的稳定。

## 2 应用现状

**2.1 提取挥发油类和挥发性成分** 挥发油类成分分子量较小, 具有亲脂性和低沸点, 采用超临界CO<sub>2</sub>萃取易得到, 且操作温度低, 可大量保存热不稳定及易氧化的成分。

利用超临界CO<sub>2</sub>萃取藏药波棱瓜种子油, 结果发现, 其主要含有各类不饱和脂肪酸, 其中亚麻酸、亚油酸、油酸的相对含量分别为12.271%、20.149%和52.282%<sup>[11]</sup>。我国核桃产量居世界首位, 采用超临界CO<sub>2</sub>流体萃取技术可以生产出天然活性成分高、品质优良、具有保健功能的食用核桃油<sup>[12]</sup>。利用GC-MS对鸢尾超临界CO<sub>2</sub>萃取产物的化学成分进行分析, 鉴定了鸢尾超临界CO<sub>2</sub>萃取产物中的18种成分, 其中主要成分是十四酸、十六酸和9-十八烯酸<sup>[13]</sup>。应用超临界CO<sub>2</sub>萃取柑桔籽油, 经GC/MS联用技术方法分离鉴定出9种脂肪酸, 其中亚油酸占44.10%, 油酸占24.10%, 不饱和脂肪酸达73.41%<sup>[14]</sup>。超临界CO<sub>2</sub>萃取茵草灵芝孢子油中三萜

类物质,提取率为24.82%;三萜类物质含量为30.25%;菌草灵芝孢子油主要以甘油三酯形式存在,共检出15种脂肪酸,不饱和脂肪酸占61.15%<sup>[19]</sup>。蛇床子具有燥湿、祛风、杀虫等功效,有效成分是以蛇床子素为主的香豆素及挥发油类,用超临界CO<sub>2</sub>提取,收率比常规提取方法提高近1倍,生产周期大大缩短,质量稳定,不仅保持了传统中医的用药效果,而且减少了提取过程中的污染问题<sup>[16]</sup>。超临界CO<sub>2</sub>提取姜黄油,其收油率是水蒸气法的1.4倍,生产周期只是旧工艺的1/3。对所得的姜黄油进行GC/MS分离鉴定,其化学物质主要由姜黄酮等26个成分组成,目前已用于生产<sup>[17]</sup>。

**2.2 提取生物碱类** 生物碱是自然界中广泛存在的一类天然含氮有机化合物,有比较特殊而显著的生理活性,是许多药用植物的有效成分,如从罂粟中提取的吗啡具有强烈的镇痛作用,麻黄中的麻黄碱具有平喘作用。超临界CO<sub>2</sub>流体萃取百合中的秋水仙碱,较溶剂法更为快速、简便、准确,可用于秋水仙碱原料、制剂及其他植物中秋水仙碱含量的测定<sup>[18]</sup>。采用超临界CO<sub>2</sub>萃取法萃取延胡索中有效成分延胡索乙素,结果表明:提取的固含物较少,有效成分含量高,延胡索乙素提取率高达89.30%,且该法操作简便、快速,具有低温操作、耗能低、无有机溶剂残留等优点<sup>[19]</sup>。

**2.3 提取黄酮类化合物** 超临界流体方法萃取银杏叶有效成分银杏黄酮和内酯,质量高于国际公认的标准<sup>[20-21]</sup>。超临界CO<sub>2</sub>萃取技术萃取杜仲叶总黄酮,采用紫外分光光度法对萃取物中的总黄酮进行定量分析,在优化工艺条件后(45℃、2.5h、30MPa,夹带剂用量为3.5ml/g),黄酮提取率为73.26%,产品纯度为19.82%<sup>[22]</sup>。丹参是一味常用中草药,其脂溶性有效成分之一为丹参酮,用超临界CO<sub>2</sub>萃取法提取,可以减少丹参酮的降解,提取率比传统的醇提工艺大大提高,达90%以上,不仅含量高,而且可以直接用于制剂生产,综合评价高于醇提工艺<sup>[23-25]</sup>。

**2.4 提取香豆素和木脂素** 香豆素苷和木脂素因其极性大而无法有效提取,极性较强者可加入夹带剂以增加溶解度。蛇床子为伞形科植物蛇床(*Cnidium monnieri*)的果实,中医上主要用于妇科炎症的治疗。采用超临界CO<sub>2</sub>提取,工艺上表现出有效成分收率高、提取时间短、质量稳定容易控制、保持中药的医疗效果等优越性<sup>[26]</sup>。此外,川芎中川芎内酯、茵陈蒿中滨蒿内酯、桑白皮中桑白素、五味子中五味子甲素等都可以采用SFE萃取分离。

**2.5 提取醌类及其衍生物** 超临界CO<sub>2</sub>萃取技术萃取新疆紫草中的紫草素及其衍生物,不仅产品色泽好,产率高,无氧化现象,还可提取出一些新成分<sup>[27]</sup>。超临界流体萃取大黄中的5种有效蒽醌类物质(大黄酚、大黄素、芦荟大黄素、大黄酸和大黄素甲醚),在最优条件下,大黄游离蒽醌的萃取率达1.15%<sup>[28]</sup>。何首乌为蓼科植物的块根,蒽醌类是其重要的活性成分,采用超临界CO<sub>2</sub>萃取法提取,以甲醇为夹带剂,结合反相高效液相色谱法进行分离测定。结果表明,超临界CO<sub>2</sub>萃取法比超声波法提取时间短,提取效率高,后处理简单。

醌类及其衍生物极性较大,在应用SFE时一般压力较大,需要加入适当的夹带剂。

**2.6 提取萜类成分** 紫杉醇是短叶红豆杉树皮中的具有抗癌活性的二萜类化合物,采用含夹带剂的超临界CO<sub>2</sub>萃

取法对紫杉醇进行萃取,萃取效果比传统工艺方法提高1.29倍<sup>[29]</sup>。青蒿素是来自菊科植物黄花蒿(*Artemisia annua*)的一种倍半萜内酯类成分,是我国唯一得到国际承认的抗疟新药。超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺比传统法(如汽油法)优越,萃取率在95%以上,萃取物纯度在10%以上<sup>[30-31]</sup>。

**2.7 提取皂苷及多糖** 用超临界CO<sub>2</sub>萃取法从藏药雪灵芝中提取出了总皂苷和多糖类成分,已用于治疗肺热、咳嗽和高血压等常见疾病<sup>[15]</sup>。

### 3 应用前景展望

目前国际上超临界流体技术的研究和应用方兴未艾,德国、日本和美国在医药、化工、食品、轻工、环保等方面的研究成果不断问世。日本处于研究和应用的领先地位,已成功研制出超临界色谱分析仪,超临界流体技术应用的领域更为广泛,除了天然产物的提取、有机合成外,还可应用于环境保护、材料加工、油漆印染、纳米制药、生物技术和医学等。目前工业化的大型SFE设备已达到5000~10000L的规模。国际上为得到纯度较高的高附加值产品,对超临界CO<sub>2</sub>逆流萃取和分馏萃取的研究越来越多。超临界流体萃取的研究重点已转移到对超临界条件下的反应研究,特别是超临界CO<sub>2</sub>条件下的各类反应研究。有关超临界流体技术的基础理论研究不断取得进展,成为其逐步得到广泛应用的有力保障。

超临界CO<sub>2</sub>萃取技术对于中药现代化至关重要。应从单纯的中间原料提取转向兼顾复方中药新药的开发利用,或对现行生产的名优中成药工艺进行改进或二次开发;要加强分析型超临界流体萃取或超临界流体色谱在中药分析中的应用,不断改革传统的分析方法;超临界流体结晶技术及其超细颗粒的制备可用于中药新剂型的开发,应加强在中药制剂中的应用,以推动中药制剂的现代化进程。

但是超临界流体CO<sub>2</sub>萃取技术也有其不足之处:超临界CO<sub>2</sub>萃取较适合亲脂性、分子量较小的物质的萃取,对于极性大、分子量大的物质的萃取,要加夹带剂或在很高的压力下进行,这就给工业化生产带来一定的难度,且设备一次性投资较大。另外,SFE技术的基础研究还很薄弱,要发展SFE技术,必须对其局限性予以重视,加强和完善对超临界状态物质的基础研究,使其真正为人类服务<sup>[32-33]</sup>。

### 参考文献

- [1] 孟舒献,温晓娜,冯亚青.超临界CO<sub>2</sub>萃取技术在提取中草药有效成分中的应用[J].广东药学院学报,2004,20(6):663-664.
- [2] 朱自强.超临界流体萃取技术原理和应用[M].北京:化学工业出版社,2000.
- [3] 黄炳生,黄国稠,汪德福.超临界流体萃取技术在中药中应用的优越性[J].基层中药杂志,2001,15(6):49-51.
- [4] 陈岚,满瑞林.超临界萃取技术及其应用研究[J].现代食品科技,2006,22(1):199-202.
- [5] SARRADE S,GUIZARD C,RIOS G M. New applications of supercritical fluids and supercritical fluids processes in separation [J]. Separation and Purification Technology,2003(32):57-63.
- [6] HAUTHAL W H. Advances with supercritical fluids [J]. Chemosphre, 2001(43):123-135.
- [7] MARR R,GAMSE T. Use of supercritical fluids for different processes including new developments—a review [J]. Chemical Engineering and Processing,2000(39):19-28.
- [8] 丁一刚,霍旭明.超临界流体的技术与应用[J].医药工程设计,2002,23(4):3-6.
- [9] 郝常明,黄雪菊.浅谈超临界流体萃取技术及其应用[J].医药工程设计 (下转第5719页)

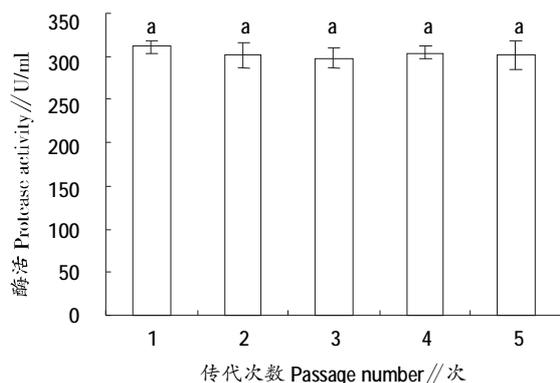


图 1 Zkud202-4 传代 5 次的蛋白酶生产性能比较

Fig. 1 Comparison of protease production activities of Zkud202-4 five generations

来,短小芽孢杆菌 ZK202 属于中等嗜盐菌。该菌在碱性环境中生长良好,产酶量高,当培养基 pH 值上升到 11.0 以上时仍能生长,属嗜碱性菌。

该试验先采用紫外诱变处理菌种,然后从中筛选出 1 株正突变菌株进行 DES 化学诱变剂处理,在试验过程中,紫外线诱变后的正突变菌株的酶活是 142.00 U/ml,是出发菌株酶活的 1.75 倍,再经过 DES 诱变处理后酶活提高到了 321.00 U/ml,说明 2 步诱变酶活都有提高,最终突变菌株的酶活力呈现 2 种诱变的叠加效果。在后期试验中,笔者采用 UV+DES 复合诱变,诱变效果不是很理想,其酶活没有显著提高,可能是由于野生菌株对诱变剂具有选择性。陈向东等用钴 60 对其实验室筛选获得的产碱性蛋白酶菌株地衣芽孢杆菌 C<sub>6</sub> 进行诱变处理,使菌株产酶量大幅度提高<sup>[9]</sup>。由此可见,选择合适的诱变剂和诱变方法,能够提高菌株产酶性能。关于

(上接第 5716 页)

计,2003,24(2):1-4.

[10] 廖劲松,郭勇. 超临界流体萃取的应用技术研究[J]. 食品科技, 2002(12):12-15.

[11] 王洪伦,周昌范,索有瑞. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取波棱瓜种子油及脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J]. 分析测试技术与仪器, 2006, 12(1):42-46.

[12] 李晓娟,杜俊民,郝利平,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取技术提取核桃油的研究[J]. 农业工程学报, 2001, 17(6):135-138.

[13] 郭涛,陈钧. 鸢尾根茎超临界 CO<sub>2</sub> 萃取产物的成分研究[J]. 兰州理工大学学报, 2005, 31(3):80-81.

[14] 罗喜荣,蒋翠兰,罗小美,等. 柑桔籽油中脂肪酸的 GC/MS 分析[J]. 数理医药学杂志, 2006, 19(6):640-641.

[15] 王杉,周科勤,范青生,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取菌草灵芝孢子油中三萜类物质和脂肪酸的测定[J]. 食品与机械, 2006, 22(1):74-76.

[16] 弥宏,曲莉莉,任玉林. 超临界萃取蛇床子中香豆素类化合物的工艺优选及成分分离的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(14):1080-1082.

[17] 汤卫东,朱海涛. CO<sub>2</sub> 超临界萃取姜黄油树脂的研究[J]. 粮油加工与食品机械, 2004(6):42-46.

[18] 李新社,王志兴. 溶剂提取和超临界流体萃取百合中的秋水仙碱[J]. 中南大学学报:自然科学版, 2004, 35(2):244-248.

[19] 苏乐群,黄欣,张学顺,等. 均匀设计法优化延胡索生物碱的超临界流体萃取工艺[J]. 中国医院药学杂志, 2005, 25(11):1020-1022.

[20] 何扩,李玉峰,张秀媛,等. 超临界流体萃取银杏叶黄酮类物质的研究[J]. 山西食品工业, 2005(4):2-5.

[21] 孙婷. 超临界 CO<sub>2</sub> 法萃取银杏叶黄酮及其含量测定的研究[J]. 中国食品学报, 2005, 5(3):126-129.

[22] 李秋红,罗莉萍,叶文峰. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取杜仲叶总黄酮的研究[J]. 食品科学, 2006(12):536-538.

[23] 宋启煌,姚煜东,林惠崇,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 从丹参中萃取丹参酮 II A 的研究[J]. 精细化工, 2004, 21(1):125-129.

钴 60 对短小芽孢杆菌 ZK202 的诱变情况尚在进一步研究之中。

#### 参考文献

- [1] ROSE A H. Economic microbiology [M]. London: Academic Press, 1980:51-72.
- [2] 冯清平,薛林贵. 复合诱变原生质体选育耐热碱性蛋白酶高产菌[J]. 微生物学报, 1996, 36(6):453-459.
- [3] 唐兵,周林峰,陈向东,等. 嗜热脂肪芽孢杆菌高温蛋白酶的产生条件及酶学性质[J]. 微生物学报, 2000, 40(2):188-192.
- [4] SAEKI K, HITOMI J, OKUDA M, et al. A novel species of alkaliphilic bacillus that produces an oxidatively stable alkaline serine protease [J]. Extremophiles, 2002, 6(1):65-72.
- [5] 薛林贵. 我国碱性蛋白酶的应用及研究进展[J]. 微生物学通报, 1997, 24(6):370-371.
- [6] 邱秀宝,袁影,戴宏,等. 嗜碱性芽孢杆菌碱性蛋白酶的研究: II. 诱变株选育及产酶条件[J]. 微生物学报, 1990, 30(2):129-133.
- [7] 潘延云,张贺迎,周艳芬. 原生质体融合构建高产碱性蛋白酶工程菌[J]. 应用与环境生物学报, 2002, 8(4):422-426.
- [8] 张树政. 酶制剂工业[M]. 北京: 科学出版社, 1984:387-449.
- [9] 伍欣,张晓昱,武龙. 产碱性蛋白酶嗜碱芽孢杆菌的筛选及其研究[J]. 微生物学杂志, 2005, 25(2):40-44.
- [10] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001:40-75.
- [11] 周德庆. 微生物学实验手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1983:14-30.
- [12] 王振军,刘玉霞,刘新涛,等. 用 16S rDNA 序列分析方法鉴定 4 个拮抗细菌[J]. 河南农业科学, 2006(5):59-61.
- [13] 刘小宇,许强芝,杨好,等. 菌株 F12-11-1-2 的 16S rDNA 序列分析及其生理生化性质研究[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1):36-38.
- [14] 王艳,李大平,刘世贵. 紫外线和硫酸二乙酯诱变五株亚硝化单胞菌的硝化活力比较[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2003, 40(1):181-183.
- [15] 徐毅,周培瑾. 嗜盐古菌的系统发育分析[J]. 微生物学报, 1996, 36(2):79-86.
- [16] 陈向东,彭珍荣,沈萍. 碱性蛋白酶高产菌株的选育[J]. 武汉大学学报, 2003, 49(6):761-764.
- [24] 李岷,赵红梅. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取丹参的研究[J]. 兵团医药, 2006(4):61-63.
- [25] 杨林,钟志成. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取丹参素的工艺研究[J]. 华西药学杂志, 2004, 19(6):446-447.
- [26] 张晓霞,周卯星,张高勇,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取与乙酸乙酯提取蛇床子化学成分的对比如[J]. 精细化工, 2006, 23(12):1216-1220.
- [27] 梁晓红,谢明勇,施玉峰. 紫草色素超临界萃取与有机溶剂萃取之比较[J]. 食品科学, 2004, 25(3):130-132.
- [28] 未作君,林立,倪晋仁,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取大黄游离蒽醌的研究[J]. 高校化学工程学报, 2006, 20(2):197-202.
- [29] 刘莉,徐新刚,陈飞龙,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取云南红杉枝叶中紫杉醇的研究[J]. 中成药, 2006, 28(4):480-482.
- [30] 黄晓芬,李菁,陈列,等. 黄花蒿中青蒿素的超临界 CO<sub>2</sub> 流体提取工艺研究[J]. 中国医药工业杂志, 2000, 31(6):250-253.
- [31] 钱国平,杨亦文,吴彩娟,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 从黄花蒿中提取青蒿素的研究[J]. 化工进展, 2005, 24(3):286-302.
- [32] 周丽莉,礼彤,王立红,等. 超临界流体技术在纳米药物制剂中的应用[J]. 中国药剂学杂志, 2005, 3(6):342-344.
- [33] 赵玲琳. 超临界流体萃取新型分离技术的优势与应用[J]. 皖西学院学报, 2002, 18(2):111-120.
- [34] 谢国秀,黄康,吴小波,等. 蜂花粉 CO<sub>2</sub> 超临界萃取研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(4):1303-1304.
- [35] 陆国东,张洪磊,张立明,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取南瓜籽油的工艺研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6):1794-1799.
- [36] 宋曙辉,唐晓伟,王文琪,等. 超临界流体技术去除番茄红素油树脂中的有机溶剂残留研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(12):3665-3666.
- [37] 薄尔琳,于基成,曹远银. 超临界流体萃取技术在农药残留分析中的应用[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15):3743-3744, 3746.
- [38] 张伟. 超临界萃取技术在类胡萝卜素提取中的应用[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(13):3773-3774, 3788.