

第五节 超临界流体萃取技术及其在食品和天然产物开发中的应用



溶剂萃取法

- 超临界流体萃取

超临界流体萃取



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

超临界流体萃取

- 超临界流体 (supercritical fluid, SCF) 对脂肪酸、植物碱、醚类、酮类、甘油酯等具有特殊的溶解作用，因此可用于这类物质的萃取分离。利用超临界流体为萃取剂的萃取操作称为超临界流体萃取 (SCF extraction).



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

- 超临界流体具有溶解许多物质的能力，这是100年前早就知道的事，但是直到50年代美国的Todd和
- Elgin才从理论上提出将超临界流体用于萃取分离的可能性，60年代以后，联邦德国继续对这方面的工作进行深入的研究，并于1963年首次申请了专利。近20年来超临界萃取技术已经发展成为一项新的化工分离技术，并被用于石油、医药、食品、香料中许多特定组分的分离。对于萃取有很高经济价值的小规模生产，超临界萃取由于存



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

超临界流体萃取

- 超临界流体萃取它是利用超临界条件下的流体作为萃取剂，从液体或固体中萃取出特定成分，以达到某种分离目的的技术。所谓超临界流体 (SCF) 即处于临界温度、临界压力以上的流体。在临界温度、压力以上，无论压力多高，流体都不能液化但流体的密度随压力增高而增加。



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

超临界流体萃取

- 超临界流体：当一种流体处于其临界点的温度和压力之下，则称之为超临界流体。
- 特点：

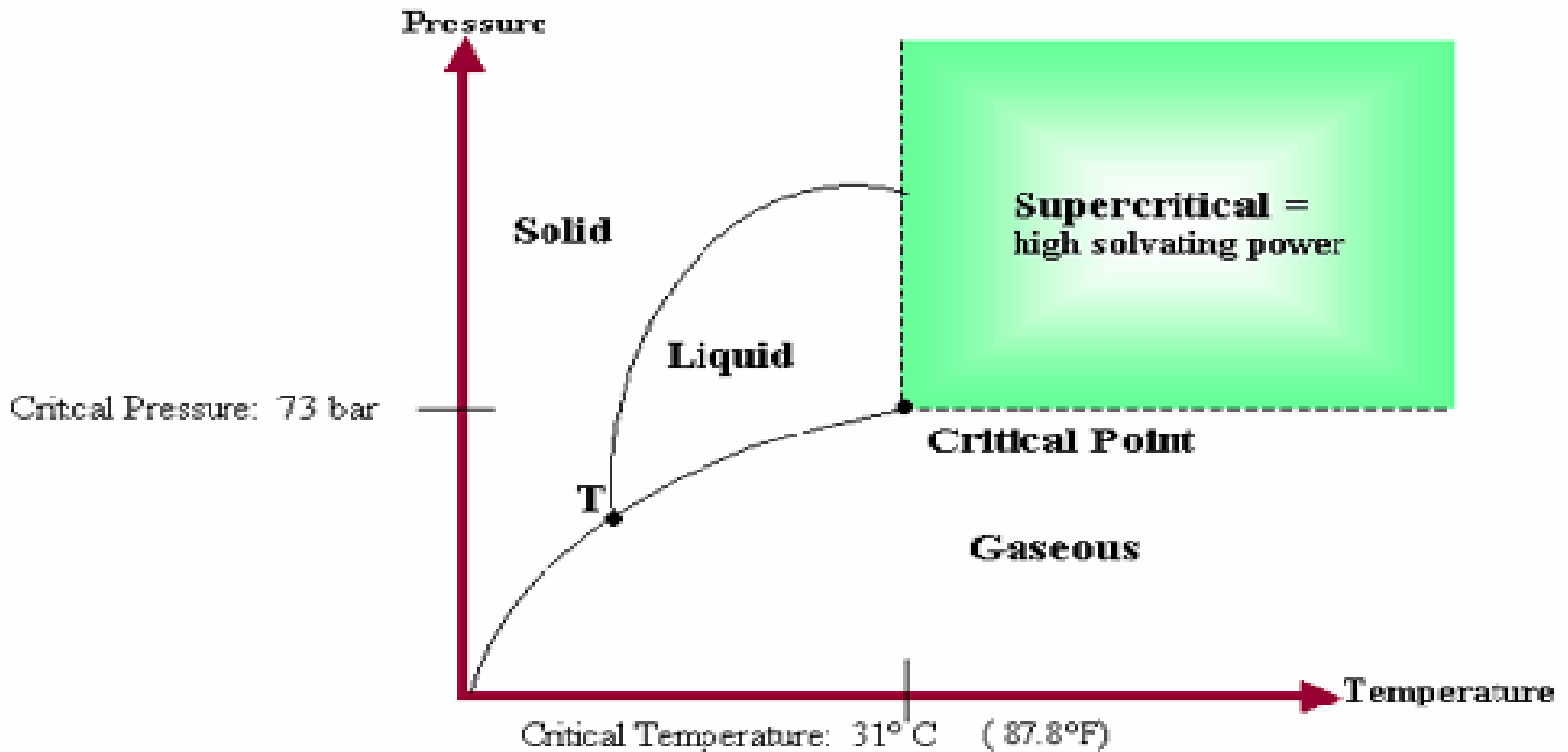
密度接近液体	萃取能力强
粘度接近气体	传质性能好



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

Phase Diagram:



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

超临界流体萃取的基本思想

- 利用超临界流体的特殊性质，使其在超临界状态下，与待分离的物料接触，萃取出目的产物，然后通过降压或升温的方法，使萃取物得到分离。

— 常用萃取剂

- 极性萃取剂：乙醇、甲醇、水（难）
- 非极性萃取剂：二氧化碳（易）



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取 超临界二氧化碳萃取

■ 临界点:

$T_c=31.26^{\circ}\text{C}$ 、 $P_c=7.2\text{MPa}$

优点:

- 临界条件温和
- 产品分离简单
- 无毒、无害
- 不燃
- 无腐蚀性
- 价格便宜

缺点:

设备投资大



溶剂萃取法

- 超临界流体萃取
- 超临界流体的应用
 - 咖啡因萃取
 - 植物油：胚芽油、玉米油、 γ 亚麻酸
 - 天然香料：杏仁油、柠檬油
 - 啤酒花
 - 尼古丁



溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

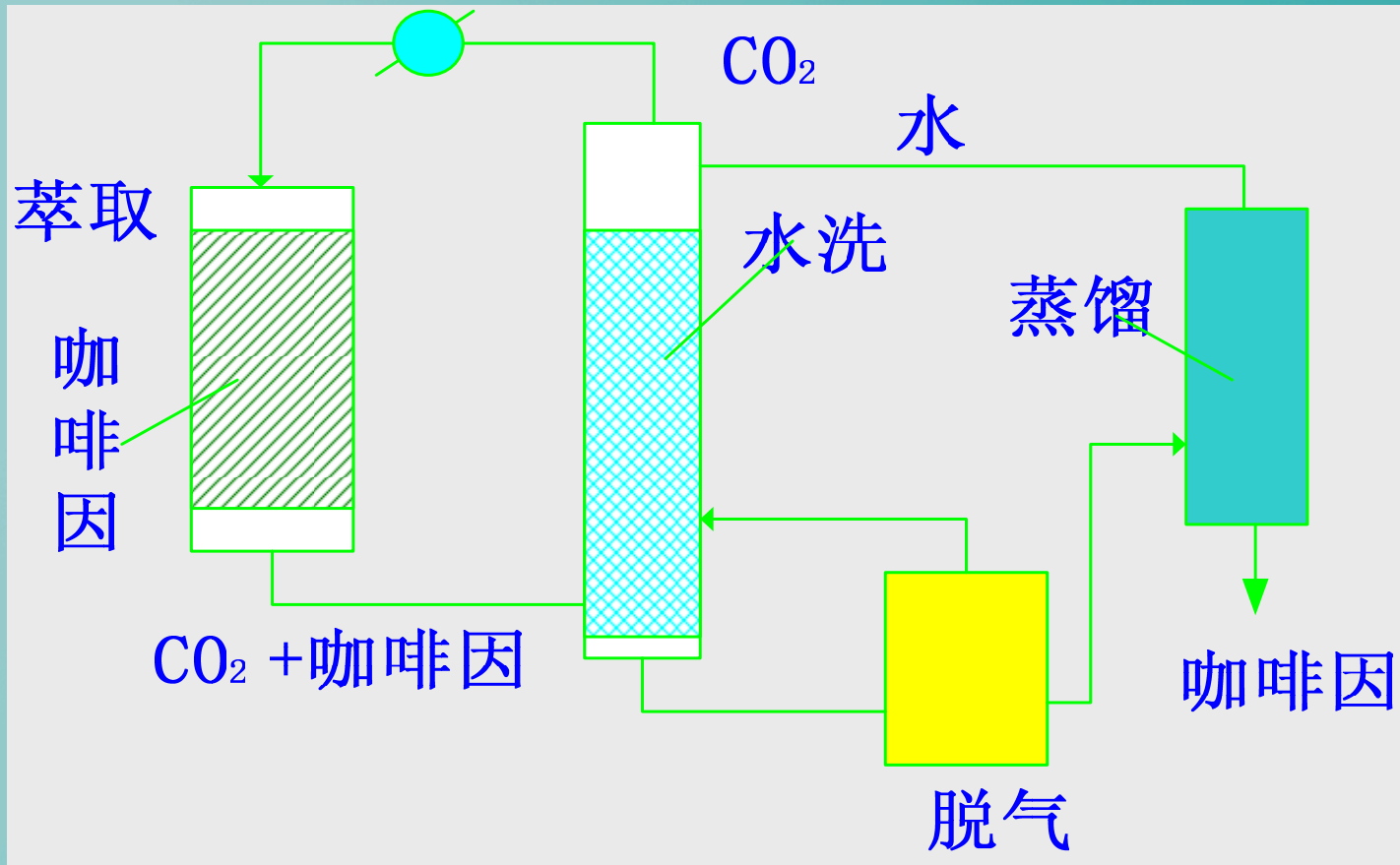


大型超临界流体萃取装置

溶剂萃取法

■ 超临界流体萃取

咖啡因超临界萃取流程



溶剂萃取法

- 液膜萃取

液膜萃取



溶剂萃取法

■ 液膜萃取

液膜萃取

由于固体膜存在选择性低和通量小的缺点，人们试图用改变固体高分子膜的状态，使穿过膜的扩散系数增大、膜的厚度减小，从而使透过速度跃增，并再现生物膜的高度选择性迁移。这样，在60年代中期诞生了一种新的膜分离技术—液膜萃取法(Liquid membrane extraction)，又称液膜分离法(Liquid membrane separation)，这是一种以液膜为分离介质、以浓度差为推动力的膜分离操作。它



溶剂萃取法

■ 液膜萃取

液膜的定义和组成

- 液膜是悬浮在液体中很薄的一层乳液微粒。它能把两个组成不同而又互溶的溶液隔开，并通过渗透现象起到分离作用。
- 乳液微粒通常是由溶剂（水和有机溶剂）、表面活性剂和添加剂制成的。溶剂构成膜基体；表面活性剂起乳化作用，它含有亲水基和疏水基，可以促进液膜传质速度并提高其选择性；添加剂用于控制膜的稳定性和渗透性。通常将含有被分离组分的料液作连续相，称为外相；接受被分离组分的流体，称内相；处于两者之间的成膜的流体称为膜相，三者组成液膜分离体系。



溶剂萃取法

■ 液膜萃取 液膜的种类

- 液膜根据其结构可分为多种，但具有实际应用价值的主要有三种：
 - ①乳状液膜
 - ②支撑液膜
 - ③流动液膜

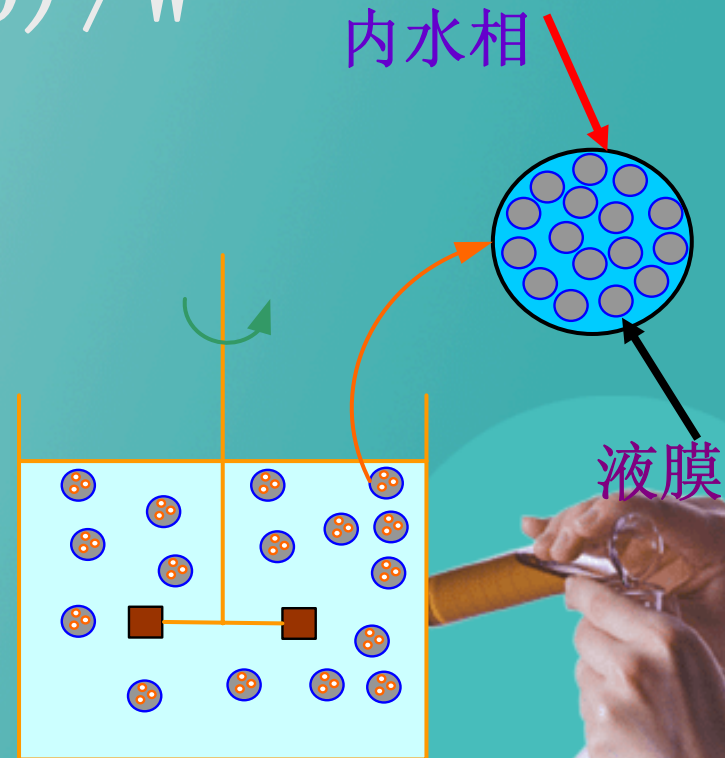


溶剂萃取法

■ 液膜萃取

① (W/O)/W

乳状液膜 (emulsion liquid membrane, ELM) 是 N. N. Li 发明专利中使用的液膜。乳状液膜根据成膜流体的不同, 分为 (W/O)/W 和 (O/W)/O 两种。在生物分离中主要应用 (W/O)/W



(W/O)/W型乳液液膜

溶剂萃取法

- 液膜萃取(W/O)/W型乳状液膜的形成
- 向加入表面活性剂和添加剂的油中加入水溶液，进行高速搅拌或超声波处理，制成(W/O)油包水型乳化液，再将该乳化液分散到第二个水相（通常为待分离的料液）进行第二次乳化即可制成(W/O)/W型乳状液膜，此时第二个水相为连续相。

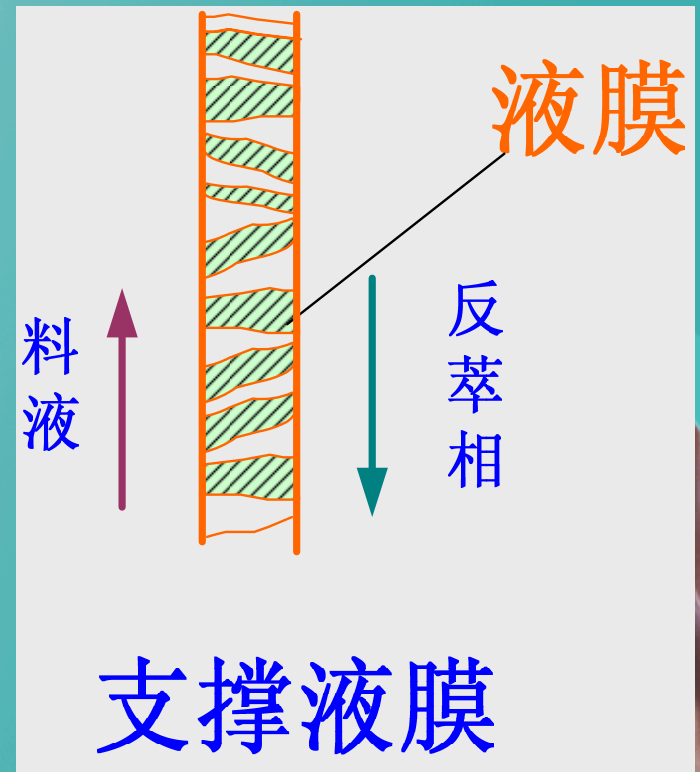


溶剂萃取法

液膜萃取

② 支撑液膜

- 支撑液膜是将多孔高分子固体膜浸在膜溶剂(如有机溶剂中)使膜溶剂充满膜的孔隙形成的液膜。
- 支撑液膜分隔料液相和反萃相，实现渗透溶质的选择性萃取回收和除去。当液膜为油相时，常用的多孔膜为利用聚四氟乙烯、聚乙炔和聚

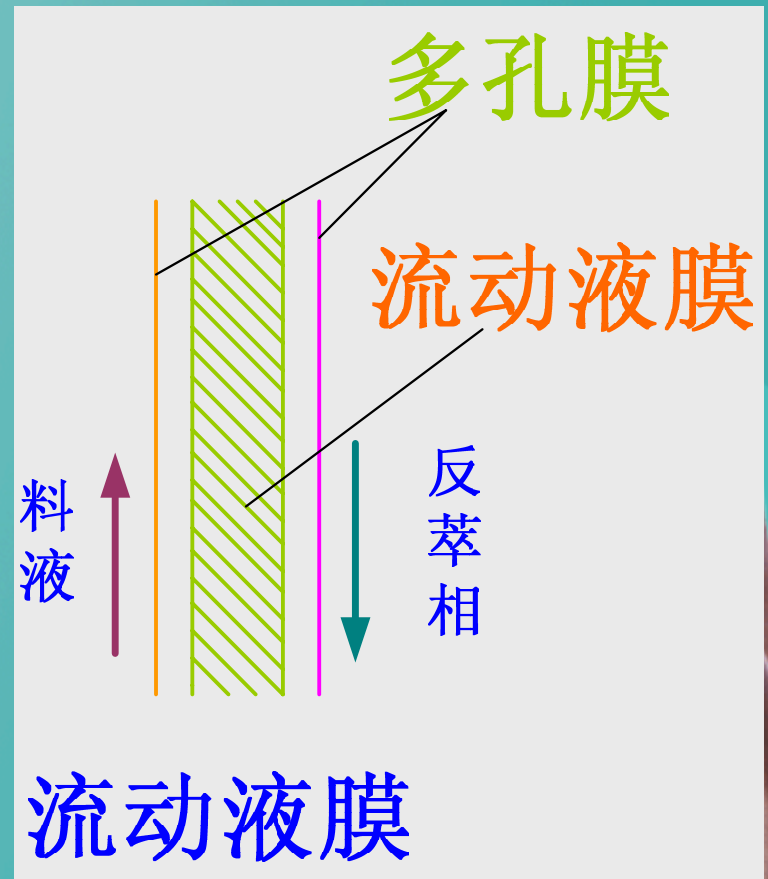


溶剂萃取法

液膜萃取

③流动液膜

- 流动液膜也是一种支撑液膜，是为了弥补上述支撑液膜的膜相容易流失的缺点而提出的，其结构如图，液膜相可循环流动，因此在操作过程中即使有所损失也很容易补充，不必停止萃取操作进行液膜再生。液膜相的强制流动或降



溶剂萃取法

■ 液膜萃取

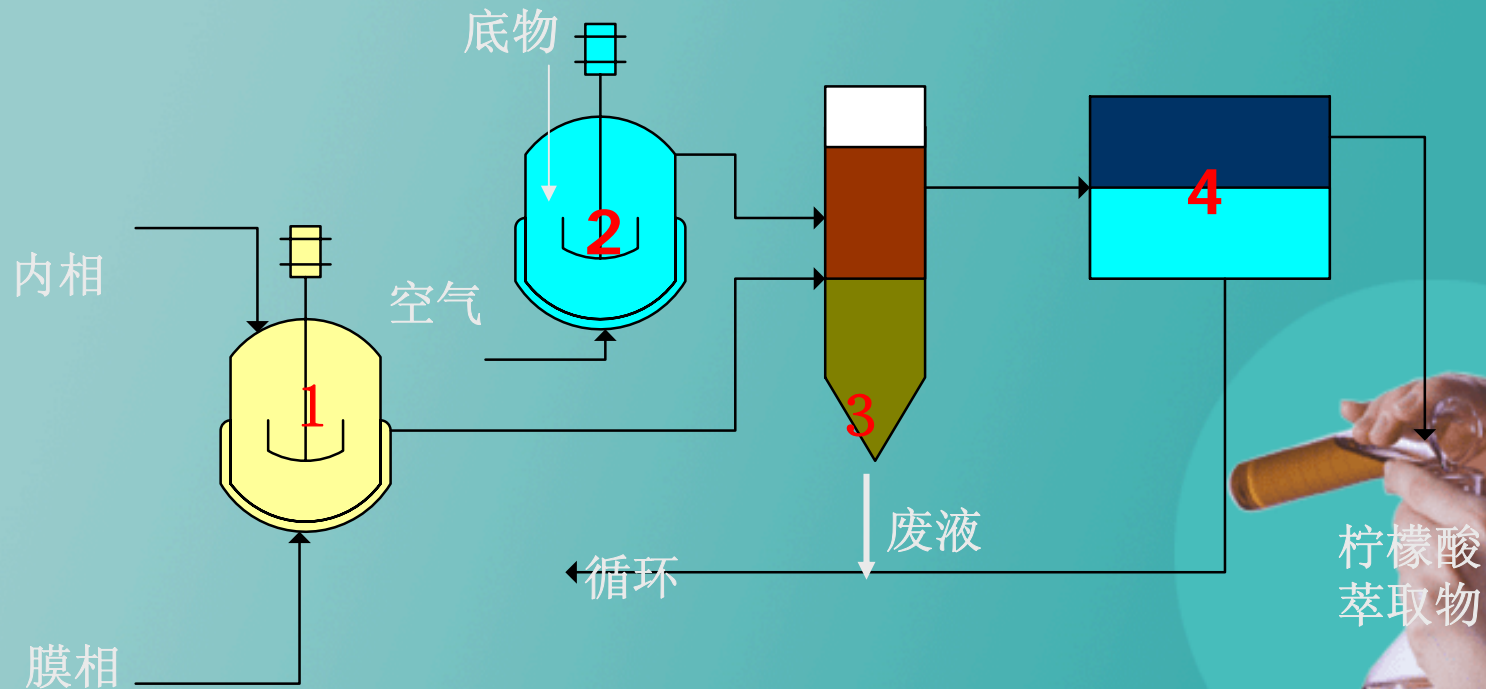
液膜分离技术的应用

- 液膜分离技术由于其良好的选择性和定向性，分离效率又高，而且能达到浓缩、净化和分离的目的，因此，广泛用于化工、食品、制药、环保、湿法冶金、气体分离和生物制品等工业中。近年来液膜分离技术在发酵液产物分离领域中也引起了人们的关注，进行了较为广泛的研究和开发工作。



溶剂萃取法

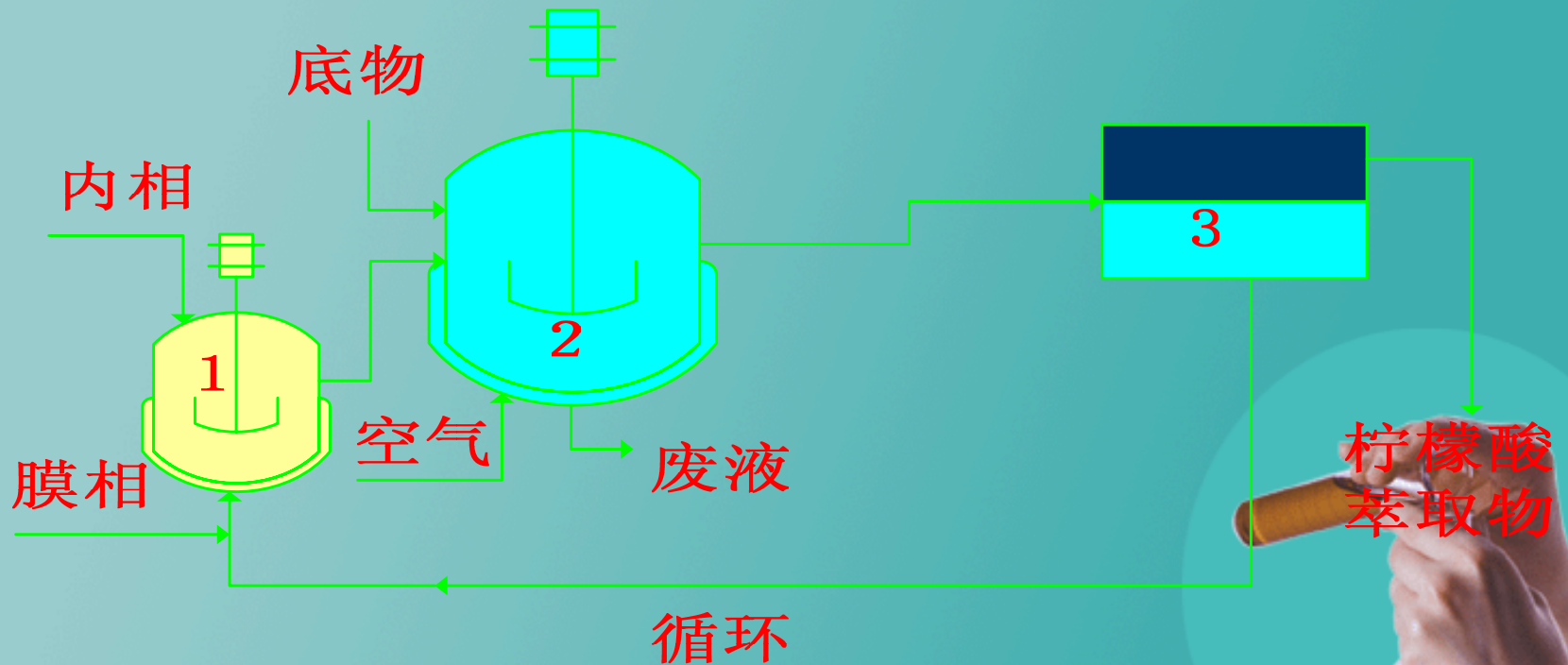
液膜萃取 液膜分离分批萃取柠檬酸



1 — 乳液装置 2 — 发酵罐 3 — 混合-分离装置 4 — 破乳装置

溶剂萃取法

液膜萃取连续分离柠檬酸



1 一 乳化装置

2 一 发酵-分离装置

3 一 破乳装置

溶剂萃取法

- 微波辅助萃取

微波辅助萃取
(microwave—assisted
extraction, MAE)



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取

微波萃取

- 微波萃取又称微波辅助提取，是指使用适合的溶剂在微波反应器中从天然药用植物、矿物、动物组织中提取各种化学成分的技术和方法



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取

微波辅助萃取

- 微波和传统的溶剂提取法相结合的一种萃取方法，利用不同结构的化合物吸收微波能力的差异，使得细胞内的某些成分被微波选择性加热，导致细胞结构发生变化，从而提高有效成分的溶出程度和速度。20世纪70年代，普通家用微波炉首次走进实验室；80年代，首次发表了微波用于植物提取的文献；90年代商业化的MAP (microwave—assisted extraction process)
- 开始应用于中药有效成分的提取；



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取

基本原理

- 加热微波是一种频率在300MHz ~ 300kHz的电磁波(波长1mm ~ 1m), 具有直线性、吸收性、穿透性和非电离性, 频率为915MHz ~ 2450MHz。加热原理是通过离子传导和偶极子转动而直接作用于分子。**离子传导**是离子在电磁场中的电泳移动形成电流, 介质对离子流的阻碍而产生热效应。**偶极子转动**是偶极子在电场中依照电场的极性重新定向排列, 当外加电场方向改变时重排随之变化, 这一过程造成极性分子运动和相互摩擦, 使极性分子获得能量并以热的形式



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取

微波萃取机理

- 微波作用包括：使细胞内水分汽化；使一些蛋白质和酶失活；提高溶剂的活性。一方面微波使细胞内的一些极性分子成为激发态，或者使极性分子变性，细胞结构不再“正常”，或者极性分子释放能量回到基态，所释放的能量传递给其他物质分子，加速其热运动，缩短萃取组分的分子由物料内部扩散到溶剂界面的时间，从而提高萃取速率；另一方面微波不仅加热溶剂，而且提高溶剂的活性，使其更多地溶解有效成分，并高效率



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取在应用中应注意的几个问题

- ① 微波对不同的植物细胞或组织有不同的作用，对细胞内产物的释放也有一定的选择性。因此应根据产物的特性及其在细胞内所处的位置的不同，选择不同的处理方式。
- ② 微波提取仅适用于对热稳定的产物，如生物碱、黄酮、苷类等，而对于热敏感的物质如蛋白质、多肽等，微波加热能导致这些成分的变性、甚至失活。



溶剂萃取法

微波辅助萃取

微波提取

在应用中应注意的几个问题

- ③ 由微波加热原理可知，微波提取要求被处理的物料具有良好的吸水性，否则细胞难以吸收足够的微波能将自身击破，使其内容物难以释放出来。
- ④ 微波提取对有效成分含量提高的报道较多，但对有效成分的药理作用和药物疗效有无影响，尚需作进一步研究。
- ⑤ 微波萃取技术在中药中的应用，大多在实验室中进行，工业化生产还不太普及，但微波萃取技术的工程放大问题已受到重视，这将推动微波萃取技术在工业化的应用。



溶剂萃取法

■ 微波辅助萃取 思考题：

1. 多级逆流萃取计算公式的推导
2. 了解反胶束萃取、液膜萃取、超临界萃取的原理和流程。
3. 了解微波萃取机理
4. 微波提取在应用中应注意的几个问题



I 用超临界法从青蒿中萃取青蒿素

一. 实验原理

(一) 超临界萃取的基本原理

1. 什么是超临界流体萃取技术？

以超临界流体作萃取剂，利用它对溶质具有特异增加的溶解能力的特性，将其从液体或固体中萃取到超临界流体中，然后通过降压或升温析出产物的分离过程。

2. 什么是超临界流体？

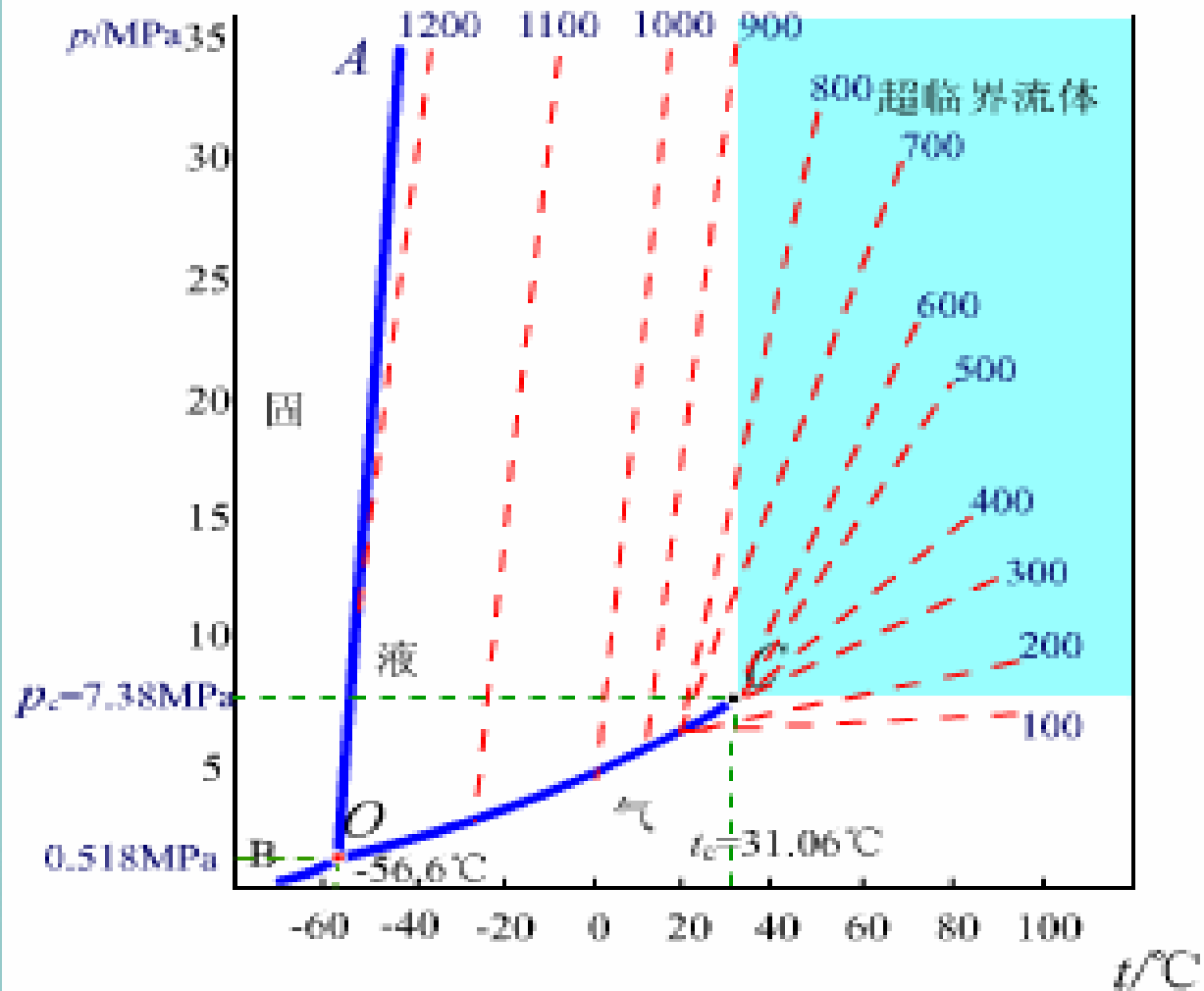
超临界流体是处于特定的超临界温度和压力下的流体。

任何物质均具有特有的临界温度 T_c 和临界压力 P_c ；

在 $T > T_c$ 、 $P > P_c$ 条件下存在的物质称为超临界流体；

它们处于既非液体也非气体的超临界状态，是介于气体和液体之间的一种特殊的聚集状态。





CO₂的 P-T-ρ 图



超临界流体与气体和液体的物性比较

	密度 g/mL	黏度 g/(cm•s)	扩散系数 cm ² /s
气体 (101.3KPa, 15~30°C)	$(0.6\sim 2)\times 10^{-3}$	$(1\sim 3)\times 10^{-4}$	0.1~0.4
超临界流体 (T _c , P _c)	0.2~0.5	$(1\sim 3)\times 10^{-4}$	0.7×10^{-3}
液体 (15~30°C)	0.6~1.6	$(0.2\sim 3)\times 10^{-2}$	$(0.2\sim 3)\times 10^{-5}$



3. 超临界流体的特性

超临界流体的密度比普通气体大数百倍，近似于液体。

黏度比液体小，接近于气体。

扩散系数比液体大。

∴ 超临界流体既具有液体溶解度大的性质，又具有气体易扩散、传质速度高的优点。



4. 超临界流体的溶解性能

由相图可见：临界区附近，密度线聚集于临界点周围，故流体密度随压力和温度的变化十分敏感，导致溶解度相应地变化。溶质的溶解度与流体密度大致成正比。

∴ 改变压力或温度 → 改变流体密度 → 改变溶质溶解度

超临界压力 ↑ 流体密度 ↑ 溶质溶解度 ↑ → 萃取

超临界压力 ↓ 流体密度 ↓ 溶质溶解度 ↓ → 产物解析
(或升高温度)



例:

超临界流体 CO_2 温度 $T=37^\circ\text{C}$ (临界温度 $T_c=31.06^\circ\text{C}$) 时,
压力从 7.2MPa 上升到 10.3MPa ($P_c=7.39\text{MPa}$) \longrightarrow 密度
增加 2.8 倍 \longrightarrow 溶质的溶解度 \uparrow 达到萃取目的;
降低压力或升高温度 \longrightarrow 密度降低 \longrightarrow 溶质的溶解度 \downarrow
产物解析出来。



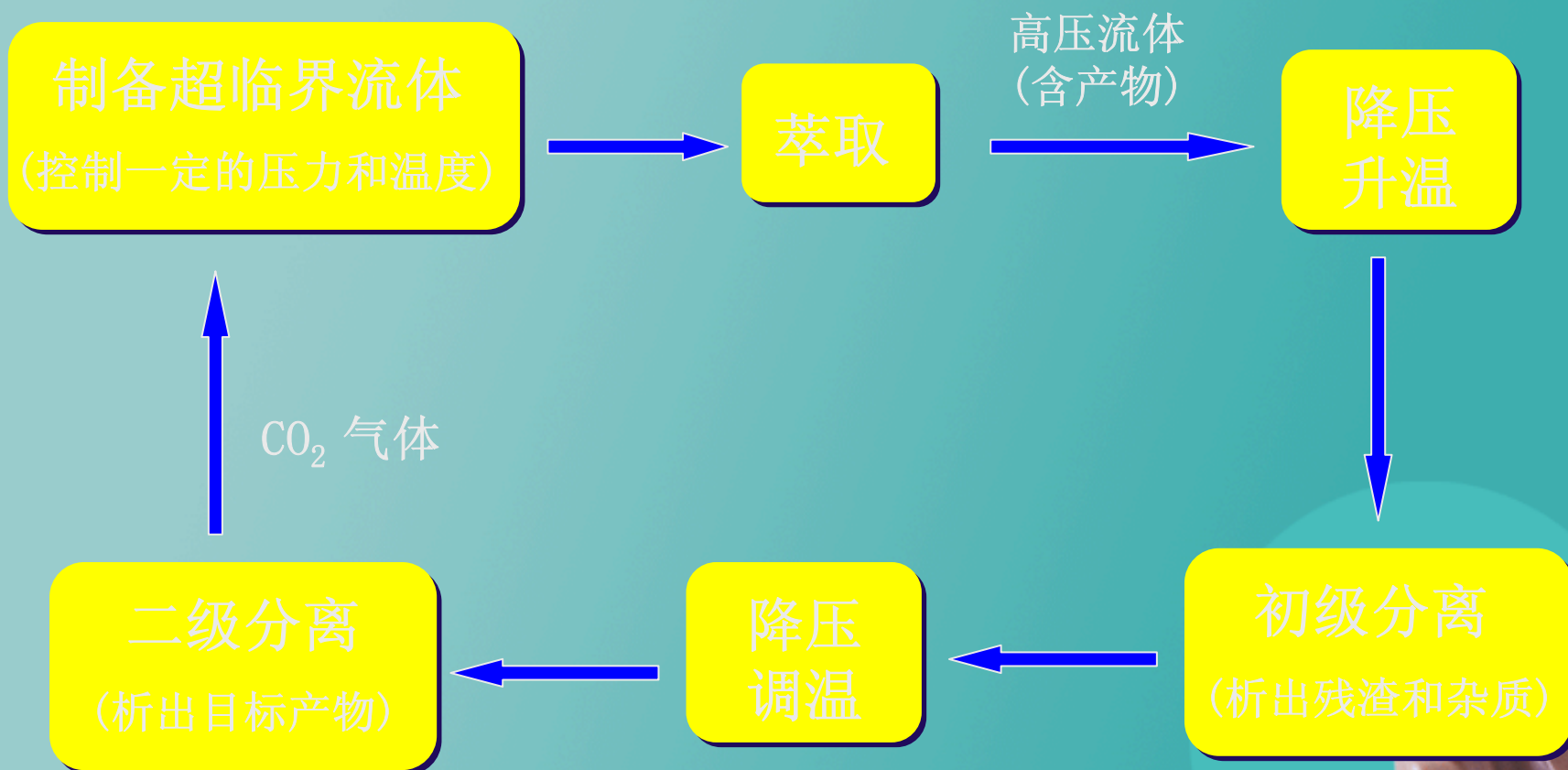
常用的超临界萃取剂:

乙烷、丙烷、丁烷、戊烷、乙烯、氨气、 CO_2 、 SO_2

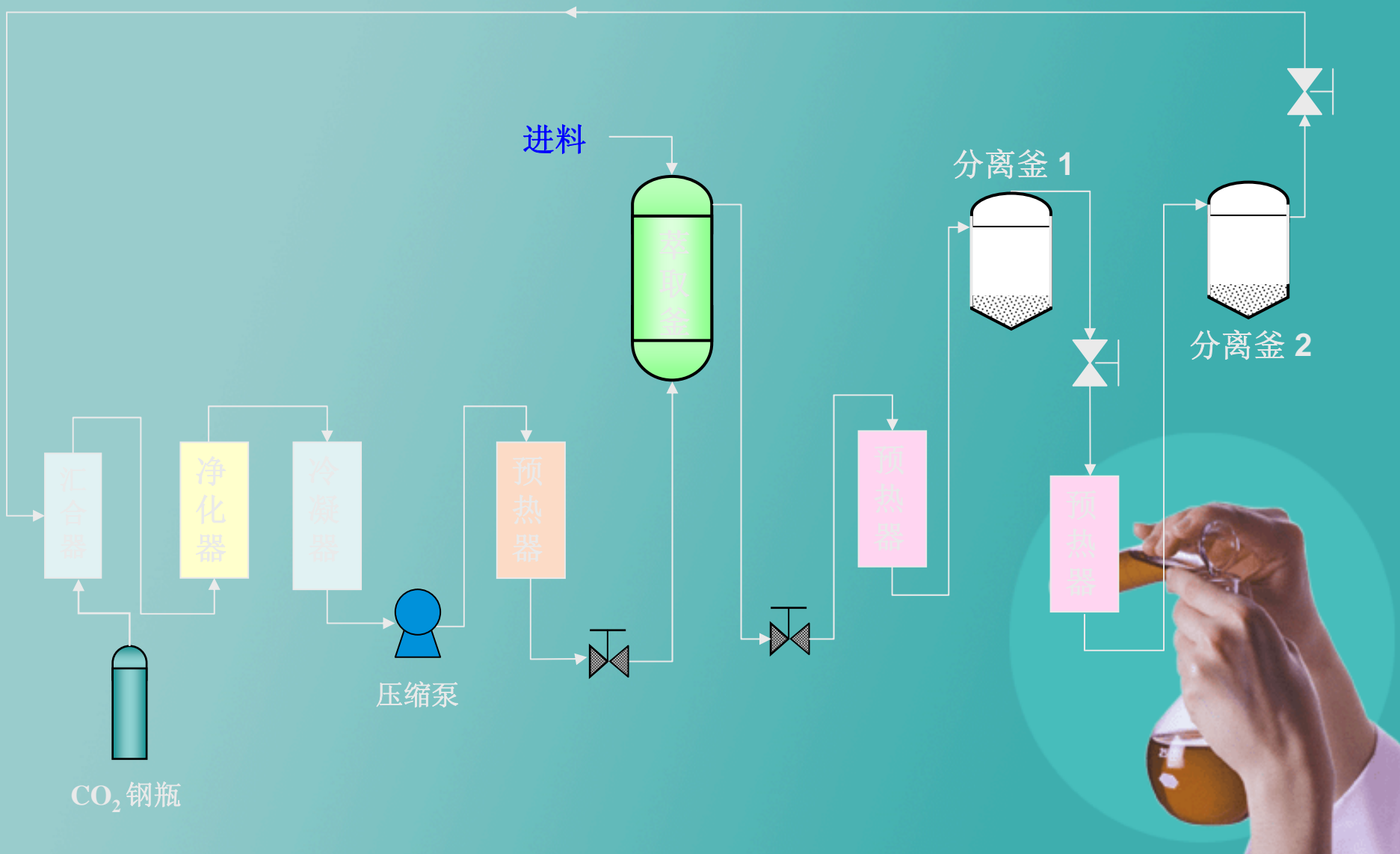
CO_2 应用最广, 优点:

1. 它的临界点较低: $T_c = 31.06^\circ\text{C}$, $P_c = 7.38\text{MPa}$, 特别是临界温度接近常温, 可防止热敏性物质的氧化和降解;
2. 临界密度 ($0.448\text{g}/\text{cm}^3$) 是超临界溶剂中最高的, 故萃取能力强, 提取率高;
3. 无毒、稳定性好、不易燃、价廉、易于回收。

(二) 超临界流体萃取的基本操作



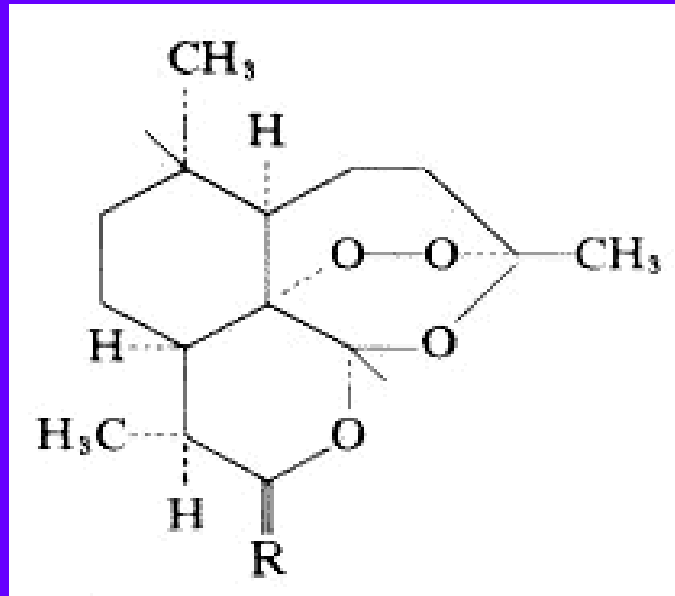
超临界流体萃取的流程简图



(三) 青蒿素的理化性质

青蒿素 (Artemisinin, QHS) 分子式及分子量:

$C_{15}H_{22}O_5$ 282.14。



青蒿素 R=0;
蒿甲醚 R=OCH₃;
双氢青蒿素 R=OH

物理性状：

无色针状结晶，味苦，熔点 $156-157^{\circ}\text{C}$ ，
比旋度 $[\alpha]_{17\text{D}} +66.3^{\circ}\text{C}$ ($C=1.64$ ，氯仿)。

来源和用途：

由黄花蒿(又名青蒿)中分离而得。

为一种抗疟药物，具有高效、低毒、速效等特点，
主要作用于疟原虫的红内期。目前，该药物在疟疾
发病率很高的东南亚地区得到广泛的应用。

(四) 超临界萃取青蒿素的优点

1. 利用超临界CO₂流体萃取，萃取温度低，并有惰性气体保护，防止了青蒿素的氧化和破坏。
2. 萃取和分离合二为一，提高了生产效率和节约了能耗。
3. 提取过程中免除了传统方法中的有机溶剂，成品中没有有机溶剂残留，保持了萃取物的全天然性。
4. 整个过程不产生“三废”，不会对环境造成污染。



二. 操作方法

(一) 青蒿粉末的制备:

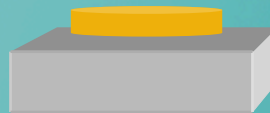
青蒿原料



粉碎机

* 间歇运作，
防止电机过热

青蒿粉末



电子台称

称取____g



装入
萃取釜

* 装量约为 80%



（二）开机前准备

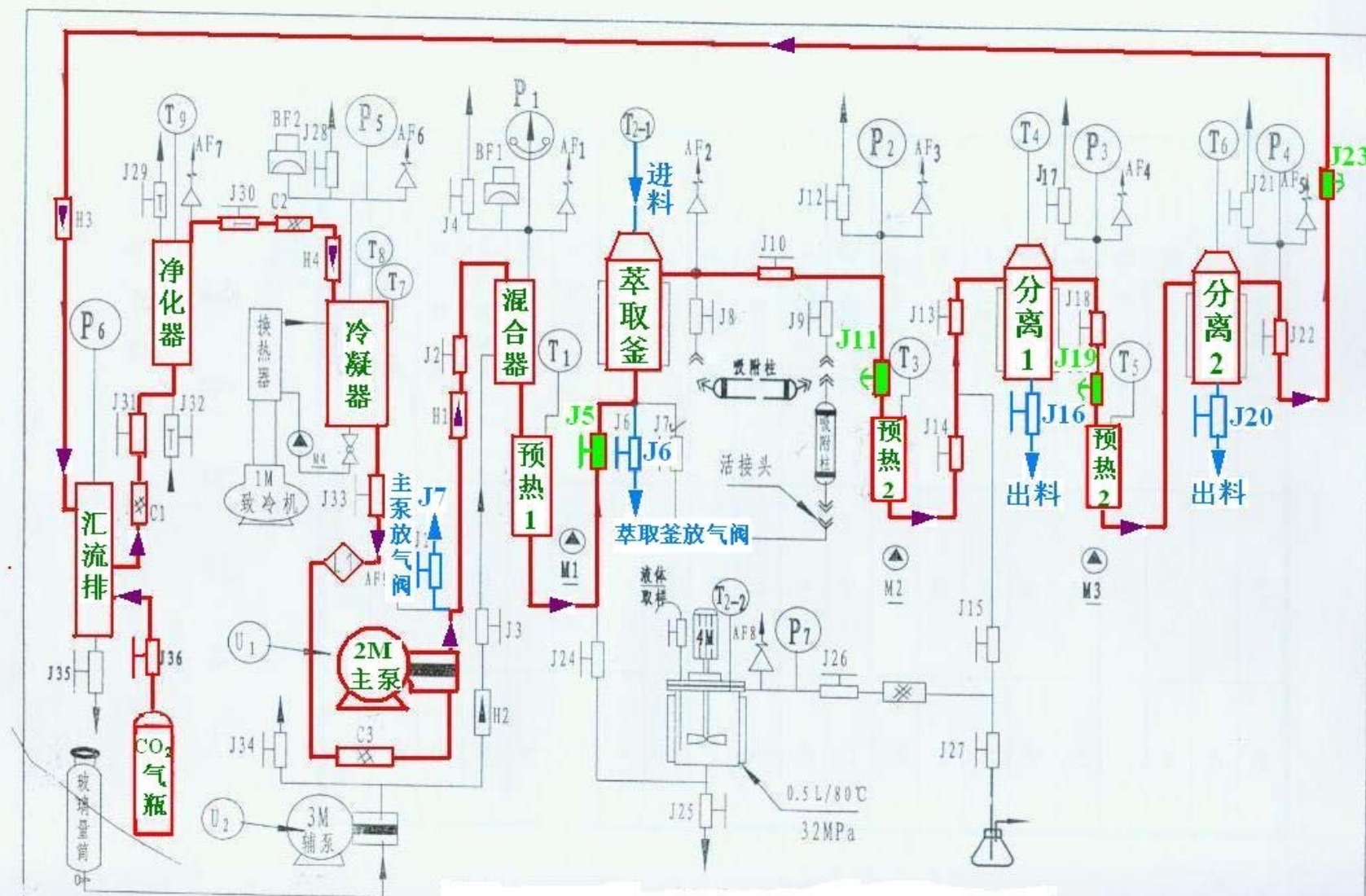
1. 检查超临界流体萃取装置的各设备、管线、阀门、仪表是否完好；
2. 检查换热器水位、主泵、副泵油的位置；
3. 检查管道及阀门：将J5、J11、J19、J23及将各放气阀关紧。

阀门J5和J11 控制萃取釜压力；

阀门J19 控制分离釜1压力；

阀门J23 控制分离釜2压力；

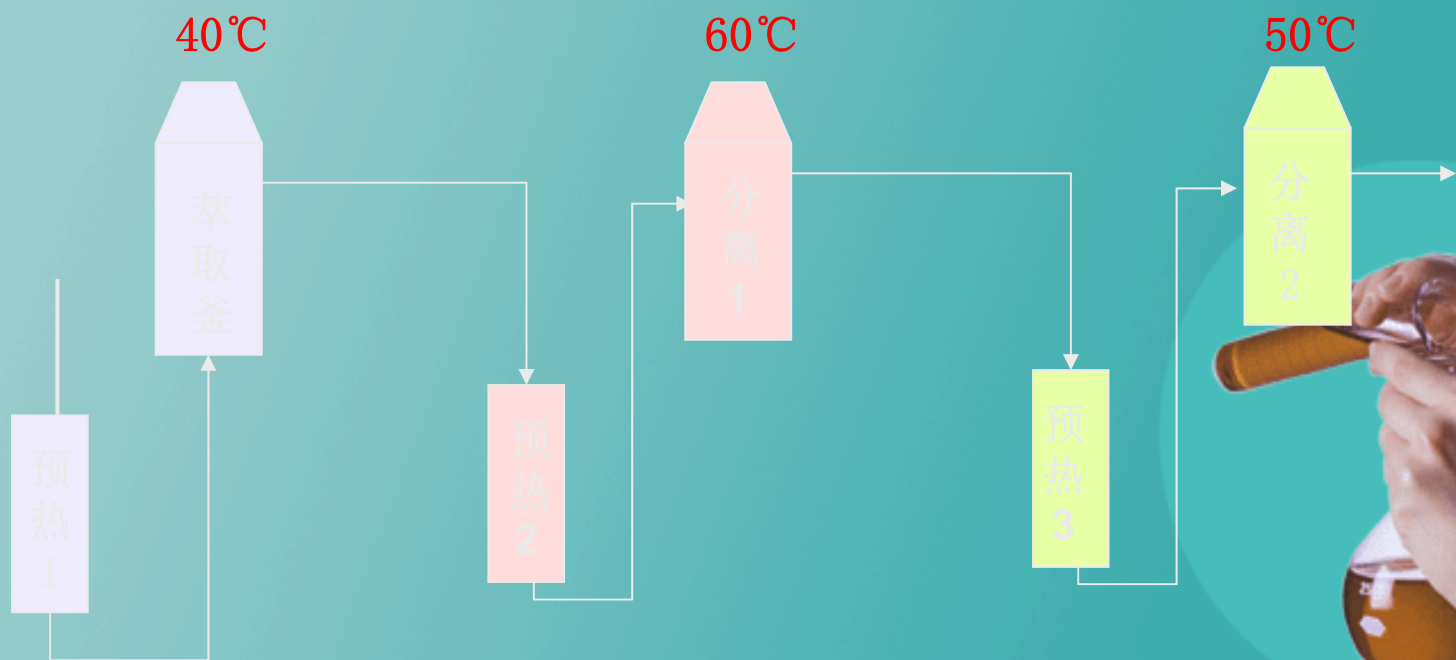
超临界萃取设备流程图



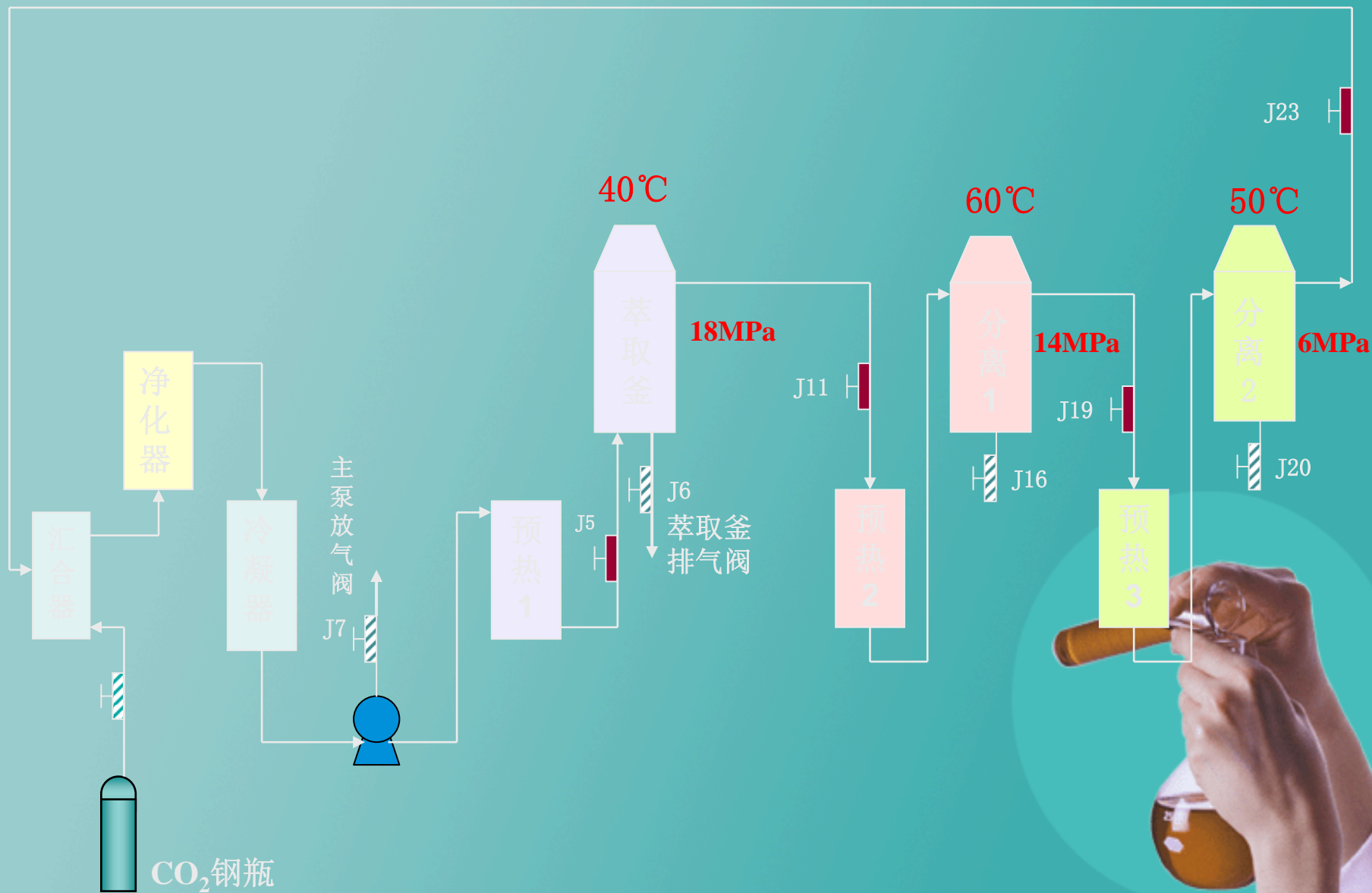
(三) 系统预热

打开：电源开关
各预热开关
制冷机开关

设置预热温度：
萃取釜 40℃
分离器1 60℃
分离器2 50℃
预热至设定温度后开机



(四) 开机和萃取操作



(五) 停机

关闭主泵开关
预热开关
冷凝器开关
各电源开关

打开 CO₂钢瓶和
J11、J19、J23阀，
使气体回流至钢瓶

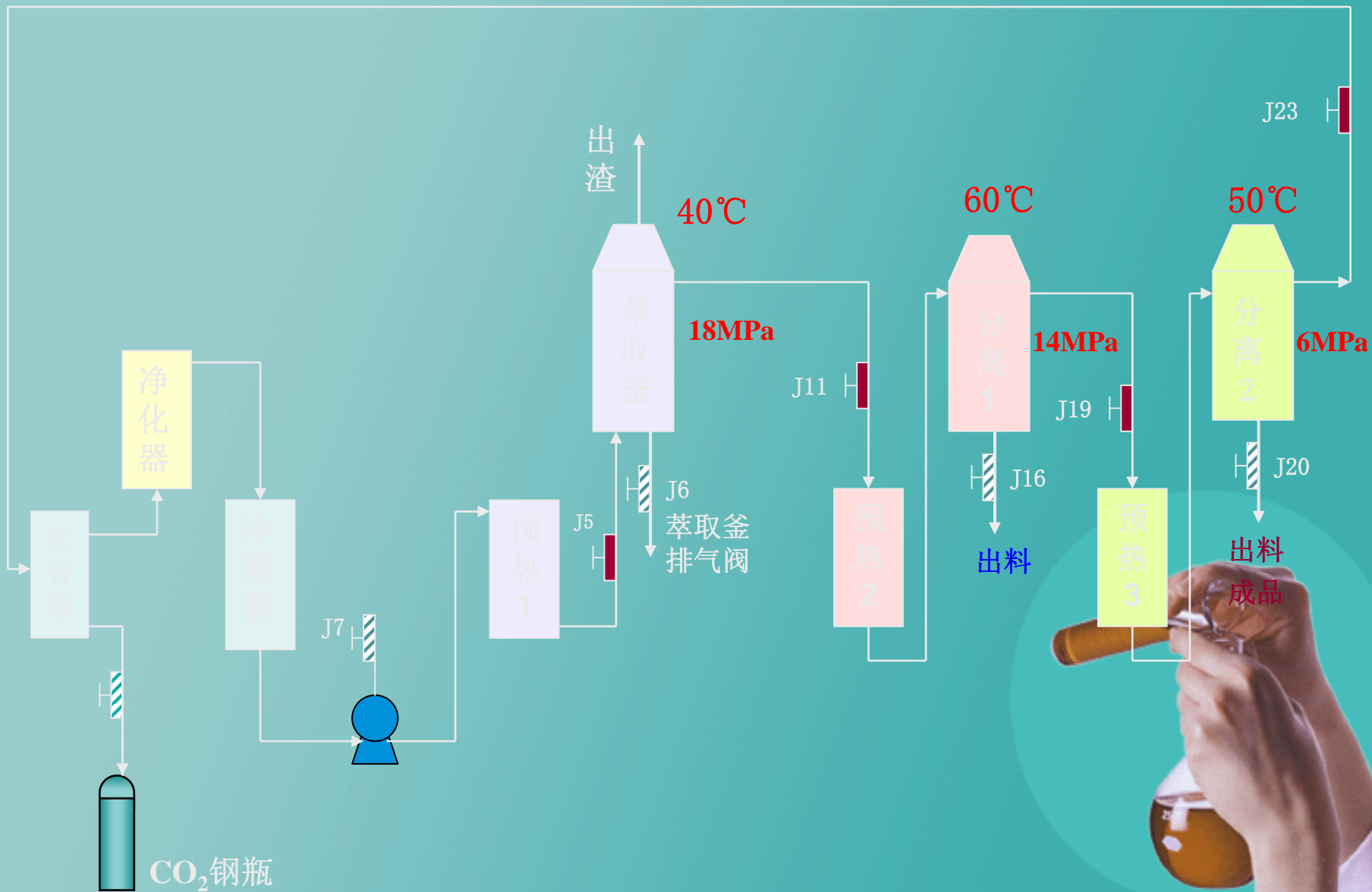
关闭CO₂钢瓶
J5、J11
J19、J23

打开萃取釜放
气阀J6放气

取出萃取釜，倒残渣
放出分离釜2的成品



停机操作



II 高效液相色谱法 (HPLC)

检测青蒿素含量

一. 实验原理

HPLC原理：利用样品分子在固定相（填料柱）和流动相之间相互作用力大小不同而实现分离。
高压可提高溶质组分移动速度。

	作用力		移动速度	保留时间
	固定相	流动相		
A组分	大	小	慢	长
B组分	小	大	快	短

按溶质组分与固定相之间的作用机理分类：

- ① 吸附分配作用：反相、正相和疏水性色谱；
- ② 电荷作用：不同类型的离子交换色谱；
- ③ 空间排阻作用：凝胶过滤和凝胶渗透色谱；
- ④ 生物特异性作用：亲和色谱。



反相高效液相色谱（RP-HPLC）机理：
利用溶质组分与固定相间疏水作用力不同而分离。

流动相 —— 极性溶剂

酸性、低离子强度水溶液，加入一定比例的能与水互溶的有机改性剂，如乙腈、甲醇、异丙醇等有机溶剂；

固定相 —— 非极性填料

孔径30纳米以上的烷基键合硅胶填料：

短链烷基（如C4、C8和苯基）；长链烷基（如C18、C22）
烷基的链越长，固定相的疏水性越强，流动相中加入与水互溶的有机溶剂，以提高洗脱速度。

流动相 —— 极性溶剂； 固定相 —— 非极性填料

	组分性质	作用力		移动速度	保留时间
		固定相	流动相		
A组分	非极性 强	大	小	慢	长
B组分	非极性 弱	小	大	快	短

青蒿素 $\xrightarrow{\text{碱性溶液}}$ 定量生成 $\alpha \cdot \beta$ — 不饱和酮酸盐
 $\xrightarrow{\text{酸化}}$ 稳定的化合物，在260nm处有吸收峰，
可用高效液相色谱紫外法检测。

二. 操作方法

(一) 溶液配制

1. 0.2% NaOH溶液 500ml:

称取1.00g NaOH $\xrightarrow{\text{去离子水 溶解}}$ 500ml;

2. 0.08 mol/L醋酸溶液:

吸取冰醋酸2.30ml $\xrightarrow{\text{去离子水}}$ 500ml

3. 0.01mol/L Na_2HPO_4 - NaH_2PO_4 pH7.0缓冲液 (流动相):

称取 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 固体1.79g $\xrightarrow{\text{蒸馏水}}$ 500ml

称取 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 固体0.68g $\xrightarrow{\text{蒸馏水}}$ 500ml \rightarrow 混合, 调pH7.0

4. 1.00mg/ml 青蒿素标准液:

精确称取50.0mg青蒿素标准品 $\xrightarrow{\text{无水乙醇}}$ 50ml (容量瓶)

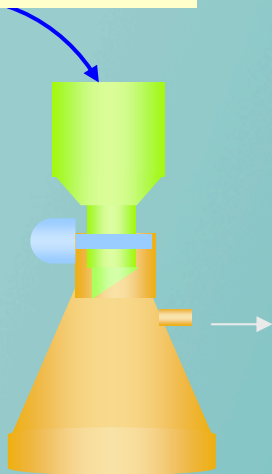
5. 样品液:

分别精确称取青蒿素粗品50、100、150mg于10ml具塞试管中 $\xrightarrow{\text{无水乙醇5ml}}$

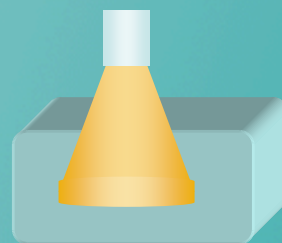
超声波振荡促溶 \rightarrow 转移至10ml容量瓶中 $\xrightarrow{\text{无水乙醇}}$ 10ml

流动相处理:

pH7.0磷酸缓冲液



微滤器 (膜孔 $0.22\ \mu\text{m}$)



超声波振荡器
脱气15 min



HPLC



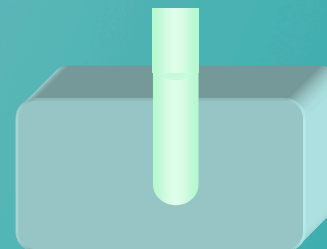
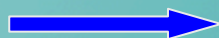
进样液制备:

样品液 (标准液)
1.00ml

0.2% NaOH溶液
4.00ml

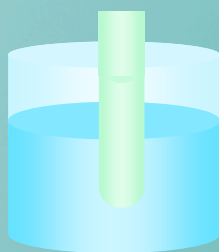


10ml具塞试管



45°C水浴 反应30min

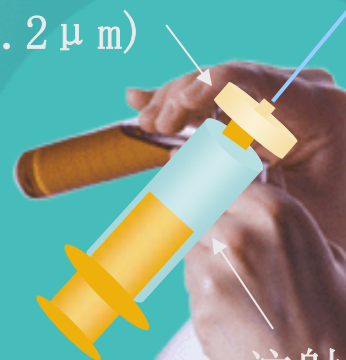
0.08 mol/L 醋酸
5.00ml



冷水浴冷却至室温



针头微滤器
(0.2 μ m)



注射器

吸进样液1ml

(二) 操作条件

色谱柱: C_{18} 反相高效液相色谱柱;

流动相:

0.01mol/L $Na_2HPO_4-NaH_2PO_4$, pH7.0缓冲液:甲醇 = 55:45

波长: 260 nm;

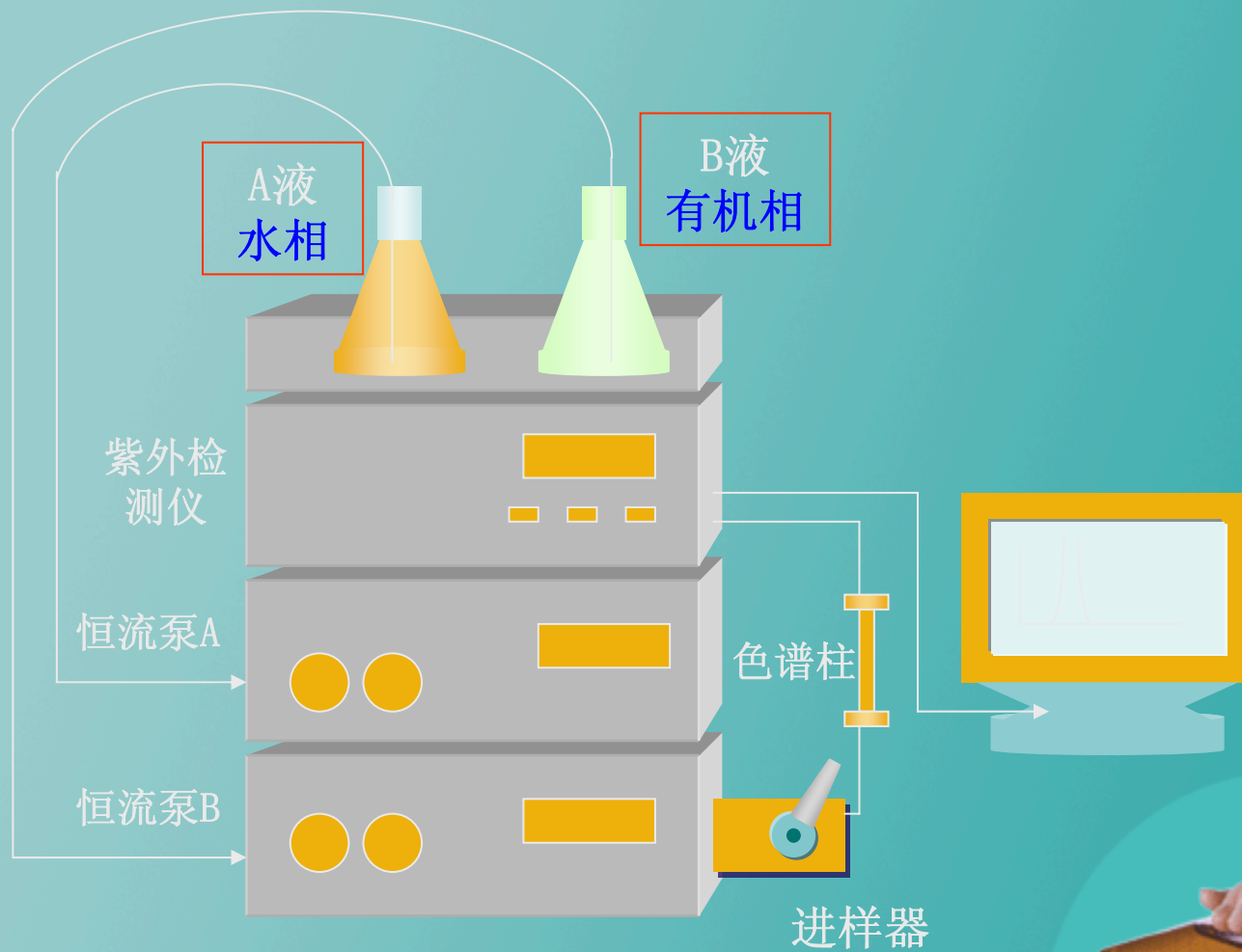
流速: 0.8 ml/min;

柱压: 30 MPa

进样量: 20 μ l

停止时间: 30 min





LC-100 液相色谱仪

液相色谱仪的启动顺序：

打开排空阀，抽出流动相，排除空气

打开高压泵和检测器的电源开关，检测器自动开始自检

启动电脑；插入U盘，软件自动初始化；设置波长。

先通入流动相冲洗管路系统，基线走直后，进样 $20\mu\text{l}$

设置自动停止时间、各项屏显参数、文件名及保存路径。

设置总流量、A和B两液的比例、泵压、启动泵。



外标法处理实验数据：

已知样校正法（单点校正法）：配制一个与被测组分浓度相近的标准液，在完全相同的条件下进样，由下式计算样品组分的浓度：

$$\frac{C_{\text{标}}}{C_{\text{测}}} = \frac{A_{\text{标}}}{A_{\text{测}}} \Rightarrow C_{\text{测}} = A_{\text{测}} \frac{C_{\text{标}}}{A_{\text{标}}}$$



仪器的清洗

* 进样完毕后，必须将管路、泵和进样阀冲洗干净。

流动相为缓冲液的水相（A泵）清洗方法：

用100%净水冲洗 45min
除去缓冲液



甲醇/水（90:10）的混
合液清洗 40 min



用HPLC级甲醇冲洗泵
和进样阀 30min

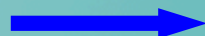


色谱柱存放时，柱内应
充满HPLC级甲醇或乙腈

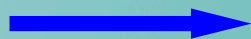


仪器关闭顺序：

按下“泵停止”按钮
按下氙灯“关”按钮



退出电脑工作站软件



关闭高压恒流泵和紫外
检测器的电源开关。



注意事项



1. 超临界萃取压力较高，请注意安全，未经许可，不得擅自乱动阀门、开关；
2. 使用超临界萃取设备必须先熟悉流程，严格按操作规程操作；
3. 分析操作中，每次加入溶液后必须立即摇匀；
4. HPLC进样操作时，注射器吸液后应先倒置，排出空气；
5. 必须待基线走直后，才能进样。



实验数据汇总：

标准样_____ mg 标准液浓度_____ mg/ml； 粗品样_____ mg

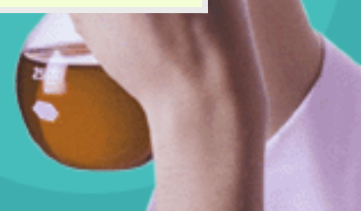
样品编号	1#	2#	3#	4#	5#	6#	标样
称重 mg							
峰面积（微伏·秒）							
谱图QAS含量 mg/ml							
QAS总量 mg							
粗品中QAS含量 mg/mg							

*注：QAS代表青蒿素



日程安排：

	实验内容
第一天	讲课→了解设备、粉碎青蒿、预热设备→超临界萃取。
第二天	HPLC分析样品含量 分三组 第一组 粗品50mg： 1#、 2# 第二组 粗品100mg： 3#、 4# 第三组 粗品150mg： 5#、 6# 标准样 标准品50mg： 0#
第三天	整理实验报告，交报告。



Thanks !

