

SFE-2型超临界CO₂流体萃取仪实用技术与方法

王 骏 周金池 徐 芳 吕兆林

(北京林业大学分析测试中心)

摘要: SFE-2型超临界CO₂流体萃取仪具有萃取样品量少,提取精度高等特点。本文以侧柏叶为实验材料,系统研究了该设备的实用技术。结果发现:当样品量较少且样品中萃取物含量很低时,回收方法对萃取物中化合物的种类和含量影响较大,低沸点化合物主要存在于接收液中,高沸点化合物存在于管路回收液里,二者合并才是完整的提取液。为充分发挥该设备高效的萃取功能,实验同时探讨了如何解决该设备管路易堵的问题,并且建立了管路清洗的方法。

关键词: 超临界CO₂流体萃取仪; 高效的萃取功能; 接收液; 管路回收液

中图分类号: R284.2; R285.5; S718.43 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2012)06-0160-05

WANG Jun; ZHOU Jin-chi; XU Fang; LÜ Zhao-lin. **Practical technique and method of supercritical fluid carbon dioxide extraction (SFE-2)**. *Journal of Beijing Forestry University* (2012) 34(6) 160-164 [Ch, 19 ref.] Analytical and Testing Center, Beijing Forestry University, 100083, P. R. China.

Supercritical fluid carbon dioxide extraction (SFE-2) can effectively extract compounds with less sample usage. In this paper, the practical technique was researched systematically with *Platycladus orientalis* leaves as the material. The results showed that the recycling method had greater influence on the variety and content of compounds of the material when the material was rare and the content of the extracted compounds was low. The low boiling point compounds mainly existed in receiving liquid and the high ones existed in recycling liquid from the pipeline. Combining receiving liquid with recycling liquid was the total extracted liquid. Also the paper studies how to solve the blockage on the pipeline and establish the cleaning methods of the pipeline for realizing the effective extraction efficiency of the equipment.

Key words supercritical fluid carbon dioxide extraction; effective extraction efficiency; receiving liquid; recycling liquid from pipeline

超临界CO₂流体萃取是当今应用比较广泛的新颖提取技术,具有其独特的萃取性能,可根据实验的需要,通过改变温度和压力来调节CO₂的密度,获得不同的溶解能力从而得到所需的物质,其优点是可以在常温下提取,不破坏化合物的原本性^[1]。超临界CO₂萃取技术广泛应用于食品、医药、化妆品、香料等领域^[2-11]。当今在林业研究和林业产业化领域也得到了广泛的应用,如:为研究植物生长特性,对植物根、茎、叶内化合物的萃取分析;为防治病虫害,从植物中提取天然虫害引诱剂等^[12-13]。以科研实验为重点,以少量样品进行萃取分析是该仪器的特点,SFE-2型超临界CO₂流体萃取仪2009年国内购

进40余台,2011年购进200余台。近几年在国内科研领域应用迅速扩大,主要以农业、林业、医药等科研院所使用^[14-16]。国外应用此仪器进行的科研工作也很普遍^[17-19]。在林业研究领域中以萃取少量样品进行分析是科研工作的重要组成部分,发现和解决萃取样品中出现的重要问题是保证实验数据准确的关键。

本研究应用SFE-2型超临界CO₂流体萃取仪,用10 mL体积的萃取釜,以侧柏(*Platycladus orientalis*)叶为实验材料,以获取较完全萃取物为实验目的,摸索了SFE-2超临界CO₂流体萃取适宜的回收方法。同时选择了多种植物样品进行对比实验,发现了共同的规律。SFE-2型超临界CO₂流体

收稿日期:2011-10-06

基金项目:“十一五”国家科技支撑计划课题(2006BDA19B08)、国家自然科学基金项目(30500349)。

第一作者:王骏,工程师。主要研究方向:天然产物提取。电话:010-62338171 Email: wangj@bjfu.edu.cn 地址:100083北京市清华东路35号北京林业大学154信箱。

本刊网址: <http://journal.bjfu.edu.cn>

萃取仪能萃取含量很低的化合物,提取含量很低的萃取物,回收方法对回收化合物含量有着重要的影响。

论文以 10 mL 萃取釜为研究重点,因该体积的萃取釜适合对少量样品进行精确萃取,且对多数不同种类样品的提取物可达到分析仪器检测限。分析植物的叶、芽、根、茎等实验材料是科学研究实验的重要组成部分。有些科学研究植物材料数量较少,因此样品的采集也有限。野外采集植物样品种类较多,不易携带,所以萃取样品用量少,有利于科学研究材料的采集运送,减少萃取时间和节省实验材料。研究了不同回收方法对化合物种类和含量影响的规律。为了减少萃取不同样品的干扰,论述了该仪器管路清洗方法。

1 材料与方法

1.1 材料

侧柏鲜叶采自鹫峰国家森林公园,存于 4 °C 冰箱备用。无水乙醇:分析纯试剂,北京化工厂。CO₂ 购自北京京城气体公司,纯度 99.999%。

1.2 分析仪器

气相色谱仪型号:岛津 GC-2010(日本 Shimadzu 公司);气质连用仪型号:Clarus 600 GC-MS(美国 PE 公司);超临界 CO₂ 萃取仪型号:SFE-2 型(美国 ASI 公司)。

1.3 方法

1.3.1 萃取样品方法

取鲜侧柏叶,剪切成 0.3 cm 小段,准确称 1.5 g 放入 10 mL 萃取釜内,将萃取釜固定在加热箱内,连接好萃取釜接口,关好箱门。设定萃取温度为 35 °C,萃取釜温度达到设定值后,调节压力设定值为 25 MPa。待温度和压力达到设定值后开始计时进行静态萃取,此时萃取釜出气口在关闭状态,时间为 30 min。静态萃取时间达到后进行动态萃取同时进行回收。回收瓶内加 5 mL 无水乙醇用于回收提取物,针型出气口深入到无水乙醇液内。打开出气阀门,用微调阀门调节流速,此时进行动态回收。气动泵自动保持萃取釜内压力为设定值范围,动态萃取时间 40 min,CO₂ 气体流速为 700 mL/min。

1.3.2 接收液与管路回收液的制取

接收液的制取:萃取完成后,关闭进气阀门,待萃取釜内压力降到常压后,取下回收瓶,瓶内萃取物为接收液。

管路回收液的制取:打开加热箱门,旋下萃取釜出口连接的管路,接上专用接口,用针管抽取 5 mL 无水乙醇连接到接口处,同时打开出气阀和收集微

调阀拧到最大值,另选取一瓶进行回收。推动针管让溶剂进入管路内,溶解管路内萃取物进行回收,管路内溶剂全部冲洗到回收瓶为管路回收液。

1.3.3 仪器分析条件

GC 气相色谱条件:色谱柱为 Rtx-5(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);进样量 1 μL,分流比 10:1;FID 检测器温度 280 °C,进样口温度 260 °C;程序升温过程为初温 150 °C,保持 1 min,以 10 °C/min 升至 250 °C,再以 20 °C/min 升至 280 °C,保持 15 min。

GC-MS 气质联用仪分析条件:色谱柱 Elite-5(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm);分流比 5:1;进样量 0.8 μL。程序升温过程为柱初温 60 °C 保持 2 min,以 10 °C/min 升至 180 °C;然后以 7 °C/min 升至 280 °C 保持 10 min。进样口温度 260 °C,MS 接口温度 260 °C,离子源温度 220 °C,电子能量 70 eV,溶剂延迟时间 3 min,全扫描范围 *m/z* 50 ~ 500,检索数据来源于 NIST08 谱库,面积归一化法计算含量。

1.3.4 回收率的测定方法

将接收液与管路回收液分别进行检测,以面积归一化法计算含量确定回收率。回收率是 2 种回收方法检测化合物含量的百分数。

1.4 SFE-2 型超临界 CO₂ 流体萃取仪的特点与清洗方法

1.4.1 设备的技术特点

该仪器可平行萃取 2 个体积相同或不同的样品,萃取温度范围:室温至 240 °C,温度显示精度 ±1 °C,温度控制通过微机处理器来完成。萃取釜最高工作压力 68 MPa,萃取釜体积从 5 ~ 1 000 mL 有多种选择。夹带剂添加泵压力 68 MPa,流速从 0.01 ~ 10 mL/min,工作原理见图 1。

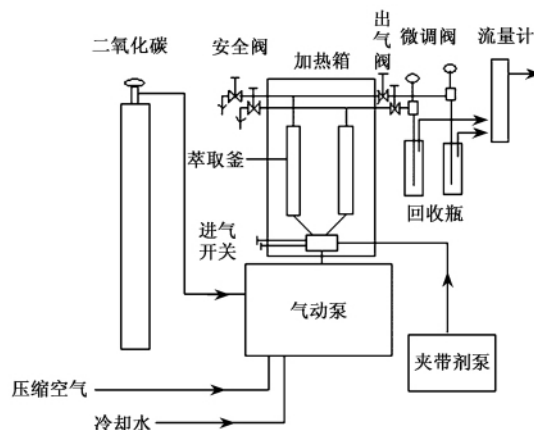


图 1 超临界萃取流程

Fig. 1 Flowchart of supercritical carbon dioxide fluid extraction

1.4.2 管路清洗

在萃取植物样品时,仪器管路经常出现堵塞现

象,这对实验工作的正常进行有很大的影响。之所以发生这种现象,是因为样品的提取物中有很多精油、糖类、胶质类物质。由于仪器管路很细,在萃取釜两端封堵接口又有金属过滤网膜。提取实验完成后,如不进行清洗,这些提取物存留在管路内干燥后就会堵塞管路。最应注意的是萃取釜两端接口金属过滤网膜,很容易被堵塞,尤其是下次实验间隔较长,管路堵塞后很难疏通。解决的办法是实验完成后用溶剂清洗管路。

清洗管路方法:1) 溶剂清洗。用专用接口代替釜盖出口位置与管路连接,用针管吸取5~10 mL 溶剂,连接到管路专用接口,将出气阀和收集微调阀打开,要拧到最大值,这样有利于溶剂的流动,用针管将溶剂推入管路内进行清洗。2) 对管路进行吹洗。取专用连接管路代替萃取釜,连接气路进口和出口,关闭收集微调阀门,打开进气阀(此时 CO₂ 压力仪器指示值为 5~7 MPa),再打开收集微调阀门,流速约 3~5 L/min,时间为 10~20 s。3) 安全阀处残留物冲洗。关闭收集微调阀门,打开安全阀门,排气 3~5 s 后关闭阀门,箱内管路清洗完成。

对萃取釜进出接口的清洗,这项清洗工作很重要。清洗过程:1) 将萃取釜 2 个釜盖旋下,分别进

行清洗。2) 将旋下的釜盖一端与进气口连接,按要求连接牢固,为安全需要最好将釜盖放在加热箱内关好箱门。3) 打开进气开关阀门(此时 CO₂ 压力仪器指示值为 5~7 MPa),用瓶内 CO₂ 气体压力将釜盖接口内的金属过滤网膜冲洗干净。冲洗时间约 5~10 s,冲洗完成后关闭进气开关阀门,取下接口即可。通过以上操作程序,保证了管路的清洁,清洁标准以仪器检测不到化合物为准,确保下一个萃取样品不被干扰,提高了实验的准确性。

2 讨论

2.1 回收方法对回收率影响的研究

用 GC-MS 气质连用仪进行检测鉴定。为了实验的准确性,以 GC 气相色谱对多次重复萃取的样品进行检测分析。重复检测的图谱结果是一样的,接收液通过 GC 检测,见图 2,检测到保留时间在 2.5~7.0 min 之间的化合物较多,而 7 min 以上保留时间段化合物种类及含量都很少。管路回收液通过 GC 检测,见图 3,保留时间在 2.5~7.0 min 之间的化合物含量很少,而保留时间 7 min 以上化合物含量很高,表明高沸点化合物多数都存留在管路中。

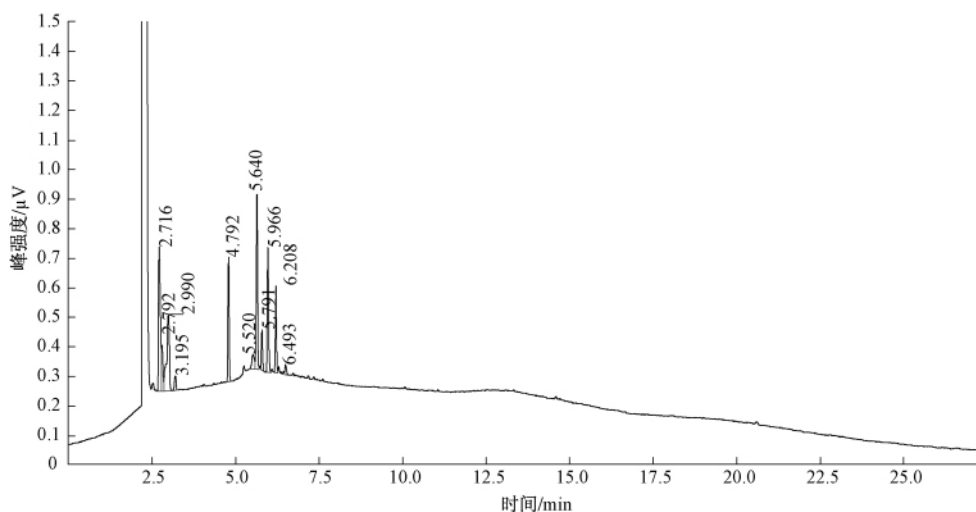


图2 接收液 GC 图谱

Fig. 2 GC Chromatogram of receiving liquid

SFE-2 型超临界 CO₂ 流体萃取仪回收萃取物的方式,是通过微调阀将超临界 CO₂ 在出口处直接减压到常压条件进行回收,由于超临界 CO₂ 在管路内压力很大,要得到适当的 CO₂ 气体流速,微调阀开的很微小。提取的化合物分子量较大时,其粘性也较大,提取物随高压 CO₂ 通过微调阀直接降到常压状态进行回收,此时表现出只有低沸点化合物随减压的 CO₂ 排出,高沸点的化合物多数都滞留在管路内。10 mL 萃取釜装样量较少,样品中萃取物含量很低,

管路中滞留效应产生的存留量与萃取物量相当,所以高沸点化合物基本存在于管路回收液中。实验通过 GC-MS 对提取物进行了定性研究,选择分子量从低到高的有代表性的萜烯、 α -蒎烯、乙酸松油脂、柏木醇、桃柞酚、角鲨烯为重点,对接收液与管路回收液化合物进行检测,结果见表 1。

表 1 数据表明,化合物在接收液及管路回收液中种类和含量差异很大,低沸点化合物容易接收,在接收液中含量较高,高沸点的化合物易残存在管路

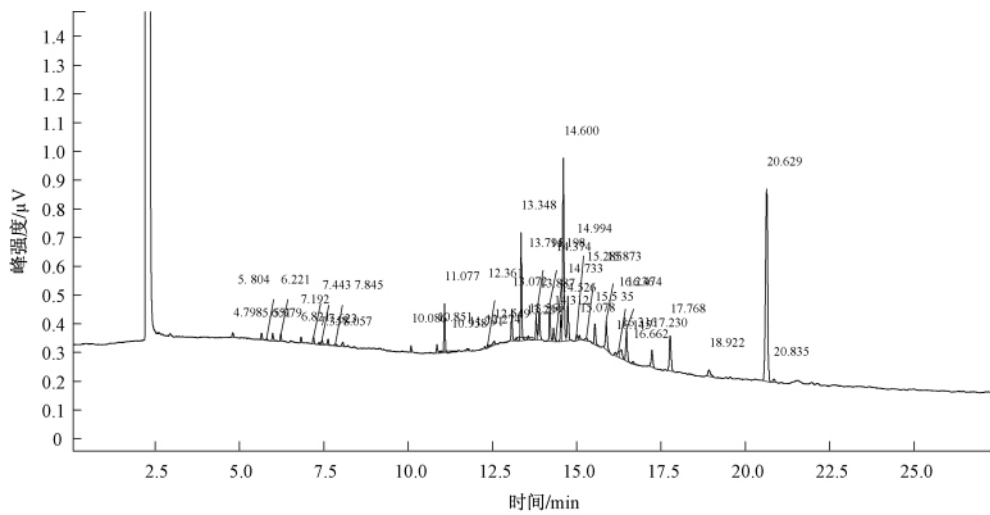


图 3 管路回收液 GC 图谱

Fig. 3 GC Chromatogram of recycling liquid from the pipeline

表 1 接收液与管路回收液化合物种类及含

Tab. 1 Variety and content of compounds in receiving liquid and recycling liquid from the pipeline

化合物	分子质量	接收液组分含量	管路回收液组分含量
萜烯	136.23	20.63	0
α-蒎烯	136.24	5.32	0
乙酸松油脂	196.29	11.74	0.38
柏木醇	222.37	16.37	0.68
桃柛酚	286.45	0	0.37
角鲨烯	410.72	0	0.44

内,即在管路回收液中较多。随着分子量的不同,萃取物在接收液与管路回收液中含量也随之变化,因此在萃取实验完成后,要将接收液和冲洗管路得到的管路回收液混合,作为最终的提取液,这样才能得到较完全的提取物信息。冲洗回收管路中的提取物用 10 mL 溶剂即可。如果要求实验精确,可增加溶剂使用量。

2.2 不同植物材料萃取回收率的比较

用同样方法萃取了不同的植物样品材料。结果显示:接收液与管路回收液中萃取物的含量与前面侧柏叶回收方法检测的谱图有同样趋势。实验样品选择了油松 (*Pinus tabuliformis*)、橡树 (*Quercus palustris*)、银杏 (*Ginkgo biloba*) 的针和叶,通过 GC-MS 质谱仪检测。油松(图 4、5)、橡树(图 6、7)、银杏(图 8、9) 萃取物检测的谱图与前面侧柏叶检测的

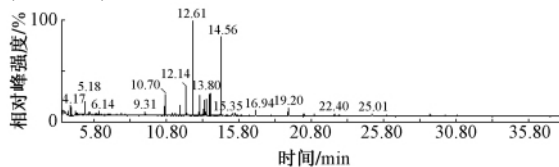


图 4 油松接收液 GC-MS 总离子流图

Fig. 4 Total ion chromatogram (TLC) of Chinese pine receiving liquid in GC-MS

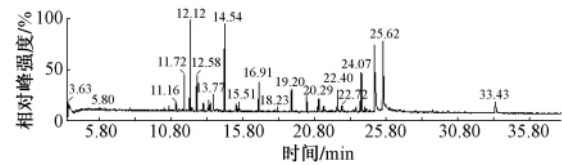


图 5 油松管路回收液 GC-MS 总离子流图

Fig. 5 Total ion chromatogram (TLC) of Chinese pine pipeline liquid in GC-MS

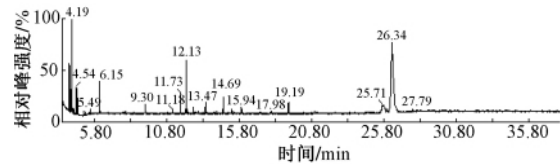


图 6 橡树接收液 GC-MS 总离子流图

Fig. 6 Total ion chromatogram (TLC) of oak receiving liquid in GC-MS

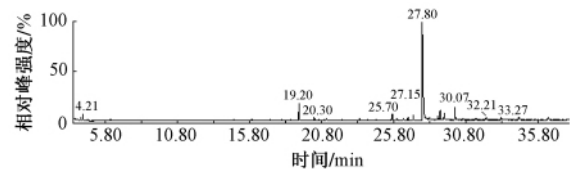


图 7 橡树管路回收液 GC-MS 总离子流图

Fig. 7 Total ion chromatogram (TLC) of oak pipeline liquid in GC-MS

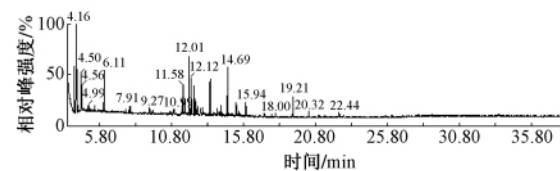


图 8 银杏接收液 GC-MS 总离子流图

Fig. 8 Total ion chromatogram (TLC) of ginkgo receiving liquid in GC-MS

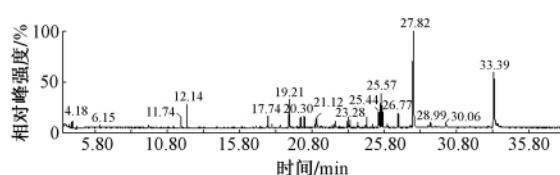


图9 银杏管路回收液 GC-MS 总离子流图

Fig.9 Total ion chromatogram (TIC) of ginkgo pipeline liquid in GC-MS

谱图对比特点是相同的,接收液中沸点低、出峰时间短的化合物含量高,管路回收液中沸点高、出峰时间长的化合物含量高。表明不同植物样品的萃取物,在接收液与管路回收液中,检测的化合物谱图都表现出同样的规律,这些规律与植物样品种类关系不大。谱图中直观显示化合物在接收液与管路回收液中含量的变化。在接收液中也含有少量较高沸点和分子量较大的化合物,管路回收液中也含有少量沸点低和分子量较小的化合物,只是含量较少。所以萃取不同的植物样品,为保证实验的准确性,应用以上回收方法进行操作。

3 结 论

1) 低沸点化合物主要存在于接收液中,高沸点化合物存在于冲洗管路的回收液里,为获取完全的萃取物,需分别收集接收液及管路回收液,二者合并才是最终的提取物。

2) 研究过程中同时探讨了如何解决管路易堵的问题及清洗管路的技巧等,管路冲洗溶剂可选用甲醇、乙醇、乙酸乙酯等,实验完成后即清洗,这是必须的程序。最好不萃取粘性较大的植物样品或水解后产生黏糊状的样品,大蒜(*Allium sativum*)一类样品对管路的堵塞最为明显因这些样品容易堵塞萃取釜内出气口处的过滤膜。

3) 该设备配有多种体积的萃取釜,萃取过程中发现,当萃取物含量较低时,不管选择哪种体积的萃取釜,管路存留物都明显影响实验的准确性。 CO_2 流速的大小和回收时间对回收化合物含量也有影响,流速慢回收时间短滞留管路的化合物较多,流速快回收时间长滞留管路内化合物较少。堵塞管路的形式有多种,如:样品的种类,样品粉碎细度,萃取釜的大小,夹带剂的类别与用量等都对堵塞现象产生影响,对于以上几个方面的问题应在以后的实验中进行研究。

参 考 文 献

[1] 程健,申文忠,刘以红. 天然产物超临界 CO_2 萃取[M]. 北京:中国石化出版社,2009: 10-16 22-24.

[2] 陈曦. 超临界 CO_2 流体夹带丙酮萃取甜瓜籽油的研究[J]. 北京农业职业学院学报,2009(3): 33-36.

[3] 许远,吴彦,谈凯. 利用 CO_2 超临界装置萃取小麦胚芽油的研究[J]. 安庆师范学院学报:自然科学版,2009(2): 63-65.

[4] 袁丽环,魏学智. 榛子叶片营养成分的研究[J]. 中国野生植物资源,2009(1): 48-49.

[5] 鞠建明,黄一平,钱士辉,等. 不同树龄银杏叶在不同季节中总银杏酸的动态变化规律[J]. 中国中药杂志,2009(7): 817-819.

[6] 莫彬彬,连宾,万固存,等. 超临界 CO_2 分步萃取花椒香气和麻味物质的初步研究[J]. 食品科学,2009,30(8): 201-203.

[7] 于泓鹏,吴克刚,吴彤锐,等. 丁香精油的超临界 CO_2 和溶剂回流萃取及其 GC-MS 分析[J]. 食品与发酵工业,2009,35(1): 145-148.

[8] 余启荣,晏利芝,谭湘湘. HPLC 法测定银杏叶提取物中总黄酮醇苷的含量[J]. 首都师范大学学报:自然科学版,2009,30(2): 32-34.

[9] 张邦建,王海峰. 超临界 CO_2 萃取发酵法生产的番茄红素工艺的研究[J]. 广西轻工业,2009(3): 12-14.

[10] 邓书平,牟淑杰. 超临界 CO_2 流体萃取葡萄籽油的优化工艺[J]. 贵州农业科学,2009,37(3): 133-134.

[11] 张怡,陈鑫,林旭,等. 超临界 CO_2 萃取柚籽精油工艺条件的优化[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2009,38(2): 202-205.

[12] 孙月琴,骆有庆,金幼菊. 侧柏挥发性物质对双条杉天牛引诱作用的初步研究[M]//吴孔明,陈晓峰. 昆虫学研究进展. 北京:中国科学技术出版社,2000: 220-224.

[13] 孔祥波,张真,王鸿斌,等. 侧柏挥发性化学成分的鉴定及其对双条杉天牛的触角电位反应[J]. 林业科学研究,2005,18(3): 260-266.

[14] 常忆凌,刘本. 超临界流体萃取六味地黄丸中的丹皮酚[J]. 中国中药杂志,2006,31(8): 653-655.

[15] 张庆平. 苦参总黄酮超临界 CO_2 萃取及其抑菌作用的研究. 海峡药学,2009,21(7): 46-48.

[16] 卢立琼,戴纯辉. CO_2 超临界萃取法提取南方红豆杉中紫杉醇的工艺研究[J]. 浙江中医杂志,2010,45(10): 772-773.

[17] ORIO L, ALEXANDRU L, CRAVOTTO G, et al. UAE, MAE, SFE- CO_2 and classical methods for the extraction of *Mitragyna speciosa* leaves [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2012, 19(3): 591-595.

[18] AN X H, WU S D, ZHANG Z F, et al. Enhanced strength-ductility synergy in nanostructured Cu and Cu-Al alloys processed by high-pressure torsion and subsequent annealing [J]. *Scripta Materialia*, 2012, 66(5): 227-230.

[19] ALMEIDA P P, MEZZOMO N, FERREIRA S R S. Extraction of *Mentha spicata* L. volatile compounds: Evaluation of process parameters and extract composition [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2012, 5(2): 548-559.

(责任编辑 赵 勃)