

超临界流体萃取红芝三萜化合物

马礼金¹ 姚汝华¹ 黄自然²

(1 华南理工大学轻工食品学院, 广州 510641; 2 华南农业大学蚕桑系)

摘要 采用超临界流体设备, 以 CO₂ 为萃取剂, 从野生红芝子实体中萃取灵芝三萜化合物. 分析了 CO₂ 密度、温度、时间及改性剂(甲醇)对红芝三萜化合物萃取的影响.

关键词 超临界流体萃取; 红芝; 三萜化合物

中图分类号 R284.2

超临界流体萃取(supercritical fluid extraction)是近几年发展较快的一种新的提取和分离技术. 超临界流体有气、液两重性的特点(既有与液体溶剂相当的萃取能力, 又有优良的传质效果), 与传统的分离方法相比具有许多独特的优点, 尤其适用于提取和精制难挥发性、热敏性的天然物质, 在医药、食品、香料等领域受到广泛关注. 同时 CO₂ 的临界参数低(临界压力 7.374 MPa、临界温度 31.1 °C)、无毒无害、价廉易得, 被广泛用作超临界流体萃取剂(汪朝晖等, 1996).

灵芝(*Ganoderma*)在我国已有悠久的药用历史, 始载于《神农本草经》, 近年来对灵芝的临床疗效(如用于治疗慢性气管炎、慢性肝炎、冠心病、神经衰弱、白细胞减少症等)和药理方面作了许多研究(余竞光等, 1979). 灵芝三萜化合物是 1982 年 Kubota 等从红芝[*Ganoderma lucidum* (*F_R*) Karst] 子实体中分离(Kubota et al, 1982). 由于它们大多含有共轭体系, 故紫外吸收波长和强度很有规律. 凡在 C₁₁位存在羰基的化合物都存在 $\Delta^{8(9)}$ 双键, 这类化合物(III类)的紫外吸收 $\lambda_{\max}$ 在 254 nm, Log ϵ 在 3.8~4.1 之间; C₁₁位没有羰基的化合物大多存在 $\Delta^{7(8)}\Delta^{9(11)}$ 共轭双键, 这类化合物(II类)紫外吸收 $\lambda_{\max}$ 在 244 nm 附近, Log ϵ 在 3.7~4.7 之间; 既没有 α,β 不饱和酮, 又没有共轭双键的化合物(I类)的紫外吸收只表现为简单双键的最大吸收, $\lambda_{\max}$ 在 210 nm, Log ϵ 在 4.2 左右(陈若芸等, 1990). 传统的提取这几类化合物的方法是用氯仿等浸提, 所需要的时间长, 又会留下有毒物, 效果不理想. 本文根据灵芝三萜化合物的结构特点, 采用超临界流体萃取方法提取红芝子实体中的三萜化合物, 并对影响的因素作了分析.

1 材料和仪器

(1) 红芝子实体购自福建三明市真菌研究所, 并经过鉴定. 选用优质的子实体, 粉碎, 每次实验取 150 mg.

(2) 超临界设备为 Hewlett—Packard Model 7680T SFE2, 计算机控制, 美国惠普公司出品. CO₂ 纯度大于 99.5%. 紫外检测仪为岛津 UV—2000.

2 实验方法

根据灵芝三萜化合物结构的特征,采用紫外检测仪分别测定萃取产物在 210 nm(I 类)、244 nm(II类)、254 nm(III类)处的紫外吸收值判断萃取产物中 3 类(I、II、III)三萜化合物含量的变化.每次萃取的吹扫体积为 7 mL,萃取产物定容 1 mL.

2.1 CO₂ 密度的影响

设定萃取温度为 55 ℃,每次萃取时间为 10 min,平衡时间为 3 min,CO₂ 流速为 3.5 mL/min,CO₂ 密度分别为 0.35、0.50、0.65、0.80、0.89 g/mL.

2.2 萃取时间的影响

定萃取温度为 50 ℃,平衡时间为 3 min,CO₂ 流速为 3.5 mL/min,CO₂ 密度为 0.90 g/mL,萃取时间分别为 5、10、20、40、60 min.

2.3 萃取温度的影响

设定平衡时间为 3 min,萃取时间为 10 min,CO₂ 流速为 3.5 mL/min,CO₂ 密度为 0.84 g/mL,萃取温度分别为 30、40、50、60、70 ℃.

2.4 改性剂的影响

设定萃取温度为 55 ℃,萃取时间为 10 min,平衡时间为 3 min,CO₂ 流速为 3.5 mL/min,φ(甲醇)=10%,萃取剂[CO₂+φ(甲醇)=10%]密度分别为 0.40、0.80、0.95 g/mL(*t*=40 ℃).

3 结果

3.1 CO₂ 密度的影响

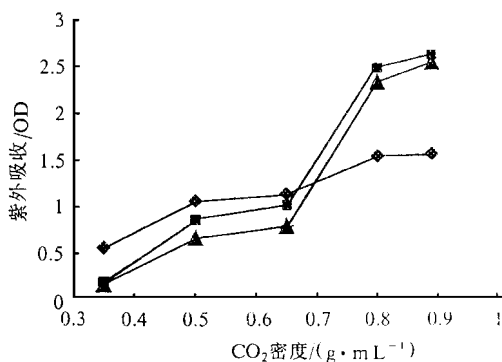
在 55 ℃,相同的萃取时间(10 min),平衡时间(3 min),相同的 CO₂ 流速(3.5 mL/min)的条件下,CO₂ 密度对萃取红芝子实体 3 类三萜化合物的影响如图 1 所示.从图中可见,CO₂ 密度对 3 类三萜化合物的影响是不同的,其中 I 类三萜化合物在 CO₂ 密度较低的情况下就被大量萃取出;II、III类三萜化合物在 CO₂ 密度较高的情况下才被大量萃取出.不过,总的来看,3 类三萜化合物均随 CO₂ 密度增高,萃取产物增加.CO₂ 密度达到 0.80 g/mL 左右,3 类三萜化合物大部分被萃取出.

3.2 萃取时间的影响

在 50 ℃,相同的平衡时间(3 min),相同的 CO₂ 流速(3.5 mL/min),CO₂ 密度为 0.90 g/mL 的条件下,萃取时间的影响见图 2.在本文设定的条件下,I 类三萜化合物在 5 min 的萃取时间下就基本上被萃取出,II、III类三萜化合物则在 10 min 的萃取时间内被萃取出.

3.3 萃取温度的影响

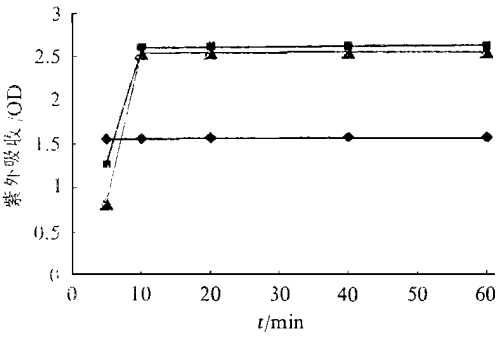
在相同的平衡时间(3 min),相同的 CO₂ 流速(3.5 mL/min),CO₂ 密度为 0.84 g/mL,萃取时间为 10 min 的条件下,萃取温度的影响见图 3.从图中可以看出,在萃取温度为 30 ℃时



◆ I 类, 210 nm; ■ II 类, 244 nm; ▲ III 类, 254 nm

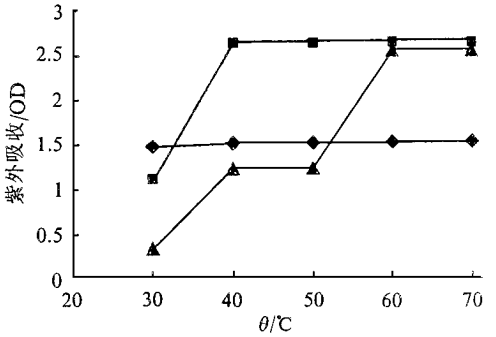
图 1 CO₂ 密度对萃取效果的影响

I 类三萜化合物就基本上被萃取出, II 类三萜化合物在 40 °C 基本上被萃取出, III 类三萜化合物则在 60 °C 基本上被萃取出。



◆ I 类: 210 nm; ■ II 类: 244 nm; ▲ III 类: 254 nm

图 2 萃取时间对萃取效果的影响

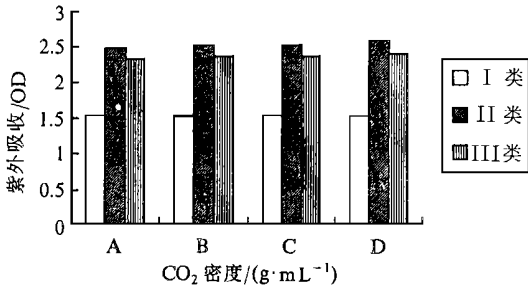


◆ I 类: 210 nm; ■ II 类: 244 nm; ▲ III 类: 254 nm

图 3 萃取温度对萃取效果的影响

3.4 改性剂甲醇的影响

在萃取温度为 55 °C, 萃取时间为 10 min, 平衡时间(3 min), CO₂ 流速(3.5 mL/min) 相同的条件下, 添加 φ(甲醇)=10%, 萃取剂[CO₂+φ(甲醇)=10%] 密度的影响见图 4. 与 3.1 中的相比, 萃取I、II、II类三萜化合物在萃取剂[CO₂+φ(甲醇)=10%] 的密度较低(0.40 g/mL)的情况下就基本上被萃取出。



A: CO₂, 密度 0.80 g/mL; B: CO₂+φ(甲醇)=10%, 密度 0.40 g/mL; C: CO₂+φ(甲醇)=10%, 密度 0.80 g/mL; D: CO₂+φ(甲醇)=10%, 密度 0.95 g/mL (T=40 °C). 萃取的其他条件相同. I 类: 210 nm; II 类: 244 nm; III 类: 254 nm

图 4 改性剂对萃取效果的影响

4 讨论

超临界流体萃取是近来发展较快的一种新的提取和分离技术. 超临界流体的萃取能力取决于流体的密度. 从本文来看, 流体密度对红芝的三萜化合物的萃取的影响是不相同的, 3 类三萜化合物基本上被萃取出所需的 CO₂ 密度较高(0.80 g/mL). 在这种情况下, 萃取的压力也很高, 但添加改性剂(甲醇)可解决这一问题. 从文中的结果看, 添加 φ(甲醇)=10%, 在萃取剂密度为 0.40 g/mL, 其他条件不变的情况下就能达到目的, 即 3 类三萜化合物基本上被全部萃取出. 可见添加 φ(甲醇)=10%, 大大降低萃取剂的密度, 也降低了萃取压力. 温度对萃取的影响较小. 在 50 °C 以下, 三萜化合物的萃取效果不理想, 影响也不相同, 在 50 ~60 °C 萃取的效果较好. 与传统的方法相比, 本方法提取的时间大大缩短, 在 10 min 的萃取时间内就可较好地萃取出产物. 另外, 根据 Kane 等(1993)的实验结果, 本文设定的吹扫体积为 7 mL, 平衡时间为 3 min, 流体流速为 3.5 mL/min 比较理想. 综合来看, 在温度为 55 °C, 添加 φ(甲醇)=10%, 萃取剂[CO₂+φ(甲醇)=10%] 密度为 0.40 g/mL(不添加体积分数为 10% 甲醇, CO₂ 密度为 0.80 g/mL), 平衡时间为 3 min, 流体流速为 3.5 mL/min 是从红芝子实体超临界

流体萃取三萜化合物的较好的工艺条件.

参 考 文 献

- 汪朝晖, 徐南平, 时 钧. 1996. 超临界流体萃取技术在医药工业中的应用, (1) 药用成分提取及药品分析. 化工进展, (2): 32 ~ 35
- 余竞光, 翟云凤. 1979. 薄盖灵芝化学成分的研究. 药学学报, 14(6): 374 ~ 377
- 陈若芸, 于德泉. 1990. 灵芝三萜化学成分研究进展. 药学学报, 25(12): 940 ~ 953
- Kubota T, Asaka Y, Miura I. 1982. Structures of ganoderic acid A and B, two new lanostane type bitter triterpenes from *Ganoderma Lucidum* (Fr[°]) Karst. Helvetica Chimica Acta 65: 611 ~ 619
- Kane M, Dean J R, Hitchen S M. 1993. Experimental design approach for supercritical fluid extraction. Analytical Chimica Acta 271: 83 ~ 90

SUPERCritical FLUID EXTRACTION OF TRITERPINES FROM *Ganoderma lucidum*

Ma Lijin¹ Yao Ruhua¹ Huang Ziran²

(¹ College of Light Industry and Food, South China Univ. of Technology, Guangzhou, 510641;

² Dept. of Sericulture, South China Agric. Univ.)

Abstract

Triterpenes were extracted from sporophores of *Ganoderma lucidum* (Fr[°]) Karst by using supercritical fluid CO₂. Some variables (time, temperature, density of supercritical fluid, adding 10% MeOH to supercritical fluid) were considered. The results indicated that the density of the supercritical fluid had the greatest effect on the extraction. Adding 10% MeOH to the supercritical CO₂ could reduce the density of supercritical fluid required for effective extraction.

Key words supercritical fluid extraction; *Ganoderma lucidum*; triterpene

【责任编辑 李 玲】