

文章编号: 1007- 2985(2009) 05- 0093- 03

超临界 CO₂ 流体萃取南方红豆杉针叶中的紫杉醇*

彭清忠^{1,2}, 石进校^{1,2}, 易浪波^{1,2}, 彭清静^{1,2}

(1. 吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 2. 植物资源保护
与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000)

摘要: 采用超临界 CO₂ 萃取法从南方红豆杉针叶中提取分离紫杉醇, 重点考察了萃取条件对紫杉醇提取率的影响。结果表明: 用含水 10% ~ 15% 的乙醇为夹带剂, 且夹带剂与 CO₂ 流体的体积比为 0.12 时为最佳萃取溶剂; 萃取压力 30 MPa, 萃取温度 50 °C, 时间 2 h 为最佳萃取条件。最佳条件下萃取率可达 93% 以上。

关键词: 紫杉醇; 南方红豆杉; 超临界 CO₂ 流体萃取

中图分类号: S791.49

文献标识码: B

紫杉醇(taxol)是一种具有抗癌活性的二萜类化合物,是继阿霉素和顺铂后最热门的抗癌新药,被认为是近 20 多年来天然抗癌药物领域的重大发现^[1]。目前,紫杉醇主要从天然和栽培红豆杉的树皮直接提取获得。由于红豆杉生长十分缓慢,红豆杉资源极其匮乏,且采集树皮容易导致红豆杉死亡,从而阻碍了紫杉醇的广泛应用。为此,通过其他途径生产紫杉醇到受人们广泛重视,如全化学合成法^[2]、细胞培养法^[3]和微生物发酵法^[4]等,但都因为各种各样的问题,远未达到商业化生产的要求。

红豆杉的针叶中有较高含量的紫杉醇^[5-6],且针叶量大,可再生性强,是提取紫杉醇的理想原料之一。目前采用的常规溶剂萃取法浸提紫杉醇存在效率低、工艺复杂、易引起环境污染等问题。超临界 CO₂ 有较大的扩散能力、很强的溶解能力和较高的选择性,且操作简便,生产周期短,无废渣溶剂残留,能最大程度保持各组分的原有特性等优点。笔者以南方红豆杉针叶为原料,采用超临界 CO₂ 萃取紫杉醇,考察了萃取溶剂、压力、温度和时间等萃取影响因素,确定了最佳工艺条件,为其工业化生产提供参考。

1 材料与方 法

1.1 原料、试剂与设备

南方红豆杉针叶,9 月份采集,阴干后粉碎并过 20 目筛。二氧化碳,纯度 99.9%,购于长沙特种气体厂;紫杉醇标准品购于 Sigma 公司;其余试剂均为分析纯。超临界 CO₂ 装置为江苏华安超临界萃取有限公司生产的 HA121-50-01 型,最高萃取压力为 50 MPa,萃取缸容积为 1 L;高效液相色谱仪为日本岛津 LC-20A 型;紫外检测器 SPD-20AV。

1.2 实验方法

每次称取红豆杉针叶粉末 200 g,装入料筒后放入萃取缸,在设定的温度与压力下,用超临界 CO₂ 萃取。根据要求加入不同的夹带剂或不加夹带剂,一定时间后从设定压力为 6.5 MPa 的分离器中收集萃取液,并准确计量其体积。取样用高效液相色谱检测紫杉醇的含量,计算提取率。当不加夹带剂时,每次达到规定时间后停止萃取,然后用 200 mL 无水乙醇分 3 次洗涤分离器,收集所得液体,用同样的方法计算紫杉醇提取率。

HPLC 条件: 色谱柱,phenomenex C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-水(体积比 53:47); 流速 0.8 mL/min,柱温 30 °C; 进样量 10 μL; 紫外检测波长 228 nm。

2 结果与讨论

2.1 夹带剂的选择

萃取温度为 50 °C,超临界 CO₂ 的流量为 20 L/h,萃取压力为 30 MPa,夹带剂与超临界 CO₂ 的体积流量比为 0.12。不

* 收稿日期: 2009-07-28

基金项目: 湖南省教育厅青年基金资助项目(03B031)

作者简介: 彭清忠(1970-),男,湖南慈利人,吉首大学生物资源与环境科学学院副教授,博士,主要从事生物资源利用与开发研究。

同夹带剂不同时间下紫杉醇萃取率如表 1 所示.

表 1 夹带剂对萃取率的影响

Tab. 1 Influence of Cosolvent on the Extraction Rate of Taxol

%

夹带剂	萃取时间/h					
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
无夹带剂	12.7	14.3	14.5	14.5	14.5	14.5
无水丙酮	33.3	57.9	71.6	80.3	84.8	86.1
无水乙醇	36.8	67.0	82.4	86.9	89.2	90.3
无水甲醇	38.3	69.7	85.5	89.3	91.7	91.8
含 10% 水的丙酮	44.5	77.9	87.9	90.0	91.4	91.5
含 10% 水的乙醇	51.3	85.7	92.4	93.6	93.7	93.8
含 10% 水的甲醇	53.5	87.8	93.0	93.6	93.8	93.8

由表 1 可知: 萃取溶剂 CO_2 中不加夹带剂时初始阶段有少量紫杉醇被提取出来, 1h 后紫杉醇的量几乎不再增加. 这是因为紫杉醇的分子量较大且有一定的极性, 以氢键等化学键结合在细胞壁上, 不易被纯 CO_2 所萃取. 而初始阶段一些被超临界 CO_2 萃取出的弱极性物质以及未完全去掉的水份同时起到了夹带剂的作用, 故能将少量紫杉醇随同萃取出来. 开始时萃取液为淡绿色, 说明亦有少量叶绿素被提取出来. 后期颜色变得很浅, 而残渣尚为绿色, 说明没有夹带剂时叶绿素不能被萃取出. 少量叶绿素的存在, 同样因为其他物质起到夹带剂的作用, 这与 Tena 等的研究结果相吻合^[7].

由表 1 还可知: 随着夹带剂极性的增加, 萃取效果增强. 加入含水夹带剂不仅可提高萃取率, 同时还可缩短萃取时间. 考虑到用含水乙醇和含水甲醇为夹带剂时结果差别不大, 而乙醇价格低廉、毒性更小, 故选用含水乙醇为夹带剂较好. 由于萃取时间达 2 h 后萃取率几乎不变, 所以确定最佳萃取时间为 2 h.

2.2 萃取压力的影响

超临界 CO_2 萃取时, 萃取压力是影响提取率和产品质量的主要因素. 在萃取温度为 $50\text{ }^\circ\text{C}$, 萃取时间为 2 h, 分离器压力为 6.5 MPa 时, 不同萃取压力下的提取率如图 1 所示. 由图 1 可知, 提取率随萃取压力提高而增大, 但当萃取压力达到 30 MPa 以后, 再提高压力提取率增加甚少. 因为提高萃取压力, 可使超临界状态的 CO_2 密度增大, 从而增加被萃取物在 CO_2 中的溶解能力. 但压力越高, 能耗也相应越大, 且原料粉末可能被压实甚至结块, 阻碍传质的进行, 降低紫杉醇的提取量. 结合提取率和能量消耗两方面考虑, 萃取压力控制在 30 MPa 左右为宜.

2.3 萃取温度的影响

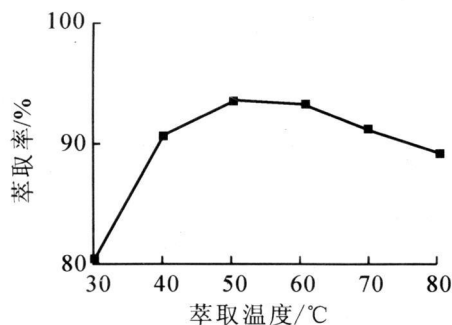


图 2 萃取温度对萃取率的影响

Fig. 2 Influence of Extraction Temperature on the Extraction Rate

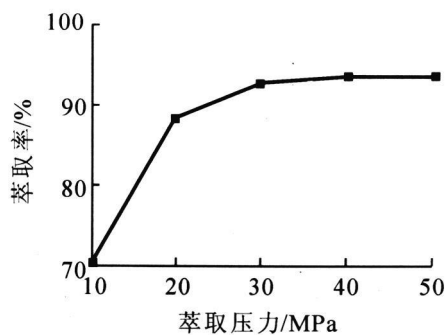


图 1 萃取压力对萃取率的影响

Fig. 1 Influence of Extraction Pressure on the Extraction Rate

萃取温度对超临界 CO_2 萃取过程有双重影响. 温度升高使体系中分子运动加剧, 可增加进溶剂和原料的传质, 同时也使 CO_2 流体的密度减小, 溶解能力下降. 本实验萃取温度对萃取率的影响如图 2 所示. 由图 2 可知: 在 30~ $80\text{ }^\circ\text{C}$ 间随着温度的升高萃取率先迅速升高, 到 50~ $60\text{ }^\circ\text{C}$ 后萃取率达最大, 然后随温度升高而缓慢下降. 考虑到紫杉醇属热敏性物质, 在高温下易分解, 且萃取温度升高会使能耗增高, 因此选择最适温度为 $50\text{ }^\circ\text{C}$.

2.4 夹带剂中水含量对萃取率的影响

如图 3 所示, 当夹带剂中不加水时, 2 h 内的萃取率仅 86.9%. 加入水后萃取率迅速升高, 当水的质量分数达 10% 时萃取率高达 93.6%. 然后, 萃取率随水含量增加的变化不

大. 水的加入, 可使夹带剂的极性进一步增大, 因而可提高萃取率. 但水的含量不宜太大, 因为超临界流体对水的溶解度有限, 过多的水会造成累积而影响萃取操作. 所以, 夹带剂中水的质量分数以 10% ~ 15% 为佳.

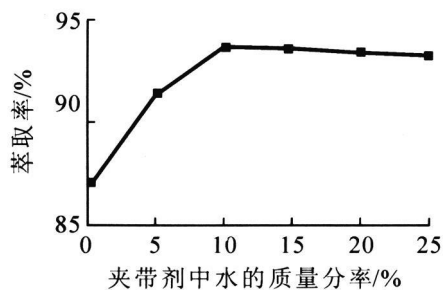


图3 夹带剂中水含量对萃取率的影响

Fig. 3 Influence of the Water Content of Cosolvent on the Extraction Rate

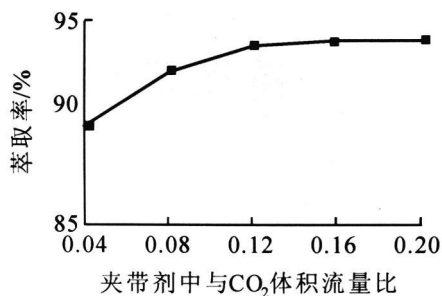


图4 夹带剂与超临界 CO₂ 体积流量比对萃取率的影响

Fig. 4 Influence of the Volumetric Ratio of Cosolvent to Supercritical Fluid on the Extraction Rate

2.5 夹带剂与超临界 CO₂ 的体积流量比对萃取率的影响

由图4可见, 随着夹带剂与超临界 CO₂ 体积流量比的增加, 萃取率有所增加, 但当达到 0.12 以后, 萃取率增加不大. 增加夹带剂的量会使萃取液的量变大, 从而增加后续操作的负担, 故确定混合夹带剂与 CO₂ 的最佳体积比为 0.12: 1.

3 结语

本研究首次考察混合溶剂夹带剂萃取紫杉醇, 发现混合溶剂夹带剂比纯溶剂夹带剂萃取效果好, 而不用夹带剂时不能萃取出紫杉醇. 采用乙醇与水混合、且含水量 10% ~ 15% 的混合溶剂为萃取夹带剂, 该混合夹带剂与 CO₂ 流体的体积比为 0.12: 1, 萃取压力、温度和时间分别为 30 MPa、50 °C 和 2 h 时, 紫杉醇萃取率最高.

参考文献:

- [1] MAHBOOBI S, SELLMER A, BECKERS T. Development of Tubulin Inhibitors as Antimitotic Agents for Cancer Therapy [J]. *Studies in Natural Products Chemistry*, 2006, 33 (13): 719- 750.
- [2] DANISHEFSKY S J, MASTERS J J, YOUNG W B, et al. Total Synthesis of Baccatin III and Taxol [J]. *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118 (12): 2 843- 2 859.
- [3] 王俊丽, 刘海英, 杨林, 等. 红豆杉组织培养及其产物紫杉醇研究进展 [J]. *生物技术*, 2007, 17(3): 89- 92.
- [4] 赵凯, 平文祥, 周东坡. 内生真菌发酵生产紫杉醇的研究现状与展望 [J]. *微生物学报*, 2008, 48(3): 403- 407.
- [5] 张凤梅. 野生东北红豆杉不同部位和不同生长季节叶中紫杉醇含量测定 [J]. *首都医药*, 2008(18): 52- 53.
- [6] 王昌伟, 全川, 李文建, 等. 遮光对南方红豆杉生长及紫杉醇含量的影响 [J]. *生态学杂志*, 2008, 27(8): 1 269- 1 273.
- [7] TENA M T, VALCARCEL M, HIDALGO PJ, et al. Supercritical Fluid Extraction of Natural Antioxidants from Rosemary: Comparison with Liquid Solvent Sonication [J]. *Anal. Chem.*, 1997, 69 (3): 52- 526.

Supercritical CO₂ Fluid Extraction of Taxol from Needles of *Taxus Chinensis* var. *Mairei*

PENG Qing-zhong^{1,2}, SHI Jir-xiao^{1,2}, YI Lang-bo^{1,2}, PENG Qing-jing^{1,2}

(1. College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, Hunan China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, Jishou 416000, Hunan China)

Abstract: Supercritical CO₂ fluid extraction technology was used to extract taxol from the needles of *Taxus chinensis* var. *Mairei*. The result shows that the best cosolvent is ethanol with 10% ~ 15% water content and the best volumetric ratio of cosolvent to supercritical fluid is 0.12, and the best process conditions are extraction pressure 30 MPa, temperature 50 °C, and time 2 h. Under the optimal conditions, the extraction rate of taxol surpassed 93%.

Key words: Taxol; *Taxus chinensis* var. *Mairei*; supercritical CO₂ fluid extraction

(责任编辑 易必武)