

# 楝树杀虫成分苦楝素的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取

王宏涛, 洪燕珍, 赵凯歌, 苏玉忠, 李 军  
(厦门大学 化学化工学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 苦楝素是楝科植物中制备植物源农药的主要杀虫成分。针对不同种源楝树的皮、叶及果实, 采用溶剂浸提法提取筛选苦楝素含量较高的种源作为实验原料, 采用乙醇提取, 考察液固质量比、提取时间和提取次数等参数对苦楝素提取率的影响。当液固质量比为 25: 1, 提取时间为 4 h 提取次数为 3 次时, 苦楝素的提取率达 18%。进一步采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取考察压力、温度、萃取时间、原料粒径和夹带剂等参数对苦楝素萃取率的影响, 当温度为 40 °C、压力为 20 MPa 时间为 2.0 h 原料粒径为 40 目、夹带剂乙醇质量为 CO<sub>2</sub> 质量的 12.5% 时, 苦楝素的萃取率达 43.5%。在对萃取液结晶纯化中成功分离得到质量分数达 98% 的苦楝素。

**关键词:** 楝科植物; 苦楝素; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 结晶

**中图分类号:** TQ 453.3      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1005-9954(2011)01-0001-05

## Extraction of insecticidal toosendanin from meliaceae by supercritical CO<sub>2</sub>

WANG Hong-tao, HONG Yan-zhen, ZHAO Kai-ge, SU Yu-zhong, LI Jun

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China)

**Abstract** Toosendanin is the main insecticidal component of meliaceae plants for producing botanical insecticides. The extraction of toosendanin from the paks, leaves and fruits of the various meliaceae plants was studied by using ethanol and the part of the meliaceae plants with the maximal mass fraction of toosendanin was selected as experimental materials. The effects of the mass ratio of liquid to solid, extraction time, and extraction times on the yield of toosendanin were investigated by using ethanol extraction method. The yield of toosendanin is up to 18% at the mass ratio of liquid to solid of 25:1, extraction time of 4 h and extracting 3 times. The effects of pressure, temperature, extraction time, and the particle size of materials and the dosage of modifiers on the yield of toosendanin were investigated by means of supercritical CO<sub>2</sub> extraction. The yield of toosendanin is up to 43.5% when ethanol is used as modifier with its mass 12.5% of CO<sub>2</sub> mass at temperature 40 °C, pressure 20 MPa, extraction time 2 h and material particle size 40 mesh. The toosendanin crystal with mass fraction 98% was separated from the extracts by using crystallization method.

**Key words** meliaceae plants; toosendanin; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; crystallization

楝树的皮、叶及果实中均含有四环三萜类杀虫成分苦楝素<sup>[1-11]</sup>, 苦楝素的质量分数随种源变化。苦楝素的提取方法主要包括水提、有机溶剂浸提、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取以及超声波或微波辅助提取等<sup>[12-14]</sup>。顾静文等<sup>[15]</sup>、刘立鼎等<sup>[16]</sup>分别采用水提和有机溶剂提取了苦楝果实中包括苦楝素在内的多种萜类杀虫成分; 唐英等<sup>[17-18]</sup>、赵淑英等<sup>[19]</sup>采用超声波和微波辅助溶剂提取, 获得苦楝素的最高提取率为 1.24%; 姜萍等<sup>[20]</sup>分别采用超声波和微波辅助有机溶剂提取、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取, 最高萃取率为 0.85%; 杜爱玲等<sup>[21]</sup>采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取苦楝皮, 最高萃取率达 4.24%。

本研究采用溶剂浸提筛选苦楝素质量分数较高的种源作为实验原料, 分别研究有机溶剂提取及超临界 CO<sub>2</sub> 萃取过程参数对苦楝素萃取率的影响, 并进一步纯化及分析鉴定苦楝素萃取液。

### 1 实验

#### 1.1 材料

楝树原料, 福建省龙岩市林业种苗站; CO<sub>2</sub>, 质量分数 ≥ 98%, 厦门市同安空气分离和特气制造厂; 苦楝素标准品, 质量分数 ≥ 98%, 上海君创生物科技有限公司; 其他试剂, 均为分析纯, 国药集团化学试

剂有限公司。

### 1.2 种源筛选

室温下乙醇搅拌浸提楝树原料(40目),重复3次,合并滤液减压蒸馏,采用HPLC定量分析所得浓缩液,筛选苦楝素质量分数较高的种源作为溶剂提取及超临界CO<sub>2</sub>萃取的实验原料。

### 1.3 有机溶剂提取

按上述溶剂浸提步骤考察液固质量比、提取时间和提取次数对苦楝素提取率的影响,确定最佳工艺条件。

### 1.4 超临界CO<sub>2</sub>萃取

自行设计制造的超临界CO<sub>2</sub>萃取装置流程图1所示。CO<sub>2</sub>经过滤冷却通过柱塞泵送入装有原料的萃取器,同时由柱塞泵打入夹带剂。萃取物经减压在收集器由乙醇接收,所得萃取液分别采用GCMS和HPLC定性定量分析。萃取压力和温度分别由背压阀和控温仪调节,CO<sub>2</sub>流量由湿式流量计测量。实验考察温度、压力、时间、原料粒径和夹带剂等对苦楝素萃取率的影响,确定最佳工艺条件。

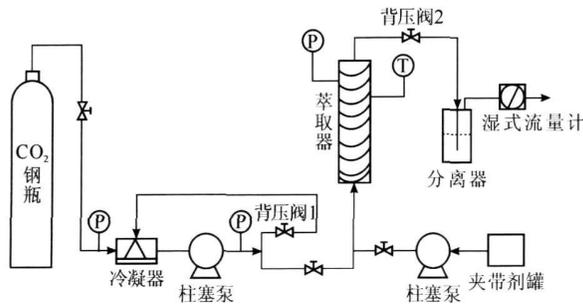


图 1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置流程

Fig 1 Schematic diagram of supercritical CO<sub>2</sub> extraction

### 1.5 结晶纯化

减压蒸馏萃取液回收乙醇,剩余浓缩液自然冷却晶体,过滤洗涤得白色苦楝素晶体。

### 1.6 分析及计算方法

GC/MS条件:溶剂为甲醇;离子源电压 3.5 kV;离子源电流 8.5 μA;鞘气 30 mL;毛细管电压 14 V;毛细管温度 170 °C;流动相甲醇 0.2 mL/min;离子源为电喷雾 ESI。

HPLC条件:色谱柱 Agilent HC-C18 柱温为 30 °C,工作波长 215 nm,流动相甲醇/水的淋洗梯度在 20 min 内体积分数 40%—100%,流速 1 mL/min,进样量 20 L。

用下式计算苦楝素的萃取率:

$$r = \frac{\rho V}{m_T} \quad (1)$$

式中:  $r$  为萃取率;  $\rho$  为萃取液中苦楝素质量浓度, mg/mL;  $V$  为萃取液体积, mL;  $m_T$  为原料中苦楝素质量, mg

## 2 结果与讨论

### 2.1 原料筛选

选择各省(包括福建苦楝及川楝)种源百余株,实验筛选出各省优良种源 8 个及福建省内 6 个,由于季节原因未采集到各省种源果实,具体见表 1。由表 1 可知,苦楝中苦楝素质量分数多高于川楝,且果实质量分数最高,叶质量分数最小。据此筛选出质量分数较高的福建寿宁苦楝果实作为实验原料。

表 1 不同种源苦楝素质量分数

Table 1 Mass fraction of tosendanin of meliaceae in various provenance in china

苦楝种源	$w$ (苦楝素) /%		苦楝种源	$w$ (苦楝素) /%			川楝种源	$w$ (苦楝素) /%		
	树皮	树叶		树皮	树叶	果实		树皮	树叶	果实
四川绵阳	0.10	0.09	福建三元	0.24	0.25	0.64	福建三明	0.13	0.44	0.25
浙江金华	0.32	-	福建武平	0.41	0.38	0.87	福建宁德	0.29	0.24	0.37
云南保山	0.21	0.09	福建沙县	0.32	0.21	0.76	福建泉州	0.22	0.20	0.28
海南昌江	0.59	0.37	福建寿宁	0.46	0.22	0.92	福建寿宁	0.35	0.16	0.47
广西龙泉	0.60	0.14	福建福安	0.54	0.26	0.48	福建武平	0.21	-	0.31
湖南浏阳	0.29	0.18	福建霞浦	0.33	0.30	0.64	福建福安	0.47	0.26	0.35
福建龙岩	0.46	0.36								
江西庐山	-	0.15								

### 2.2 有机溶剂提取

#### 2.2.1 提取时间的影响

当液固质量比为 20:1,提取次数为 3 次时,实

验结果如图 2 所示。苦楝素的提取率随萃取时间而增大,4 h 前增幅较大,但 4 h 后变化不大,考虑提取效率选择 4 h 为最佳萃取时间。

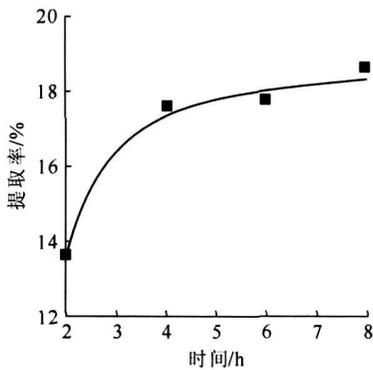


图 2 提取时间对苦楝素提取率的影响

Fig 2 Effect of extraction time on yield of bosendanin

### 2.2.2 液固质量比的影响

当提取时间为 4 h, 提取次数为 3 次时, 实验结果如图 3 所示。苦楝素的提取率随溶剂的用量增加而增大。当液固质量比在 25:1 以下时, 提取率升高显著; 而当液固质量比大于 25:1 后, 提取率几乎不再增大, 且乙醇消耗量较大, 因此确定 25:1 为最佳液固质量比。

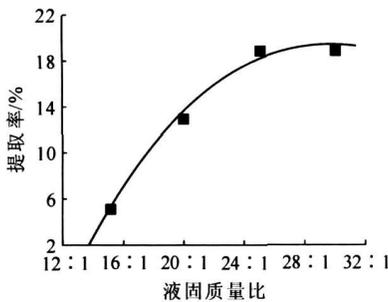


图 3 液固质量比对提取率的影响

Fig 3 Effect of mass ratio of liquid to solid on yield of bosendanin

### 2.2.3 提取次数的影响

当液固质量比为 20:1, 提取时间为 3 h 时, 实验结果如图 4 所示。苦楝素的提取率随提取次数增加而增加。在 3 次以下时, 提取率增加显著; 而超过 3 次后, 提取率增加缓慢, 且增大过程的复杂性, 因此确定最佳提取次数为 3 次。

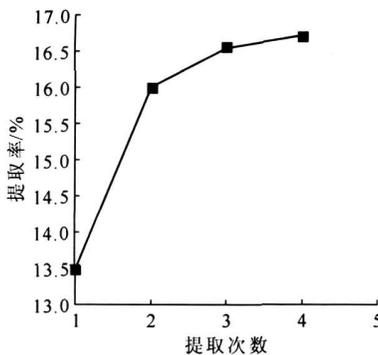


图 4 提取次数对提取率的影响

Fig 4 Effect of extraction times on yield of bosendanin

## 2.3 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取

### 2.3.1 萃取时间的影响

图 5 为萃取时间对苦楝素萃取率的影响。在萃取 1.0 h 内, 苦楝素的萃取率增加缓慢, 主要是由于原料颗粒致密, 溶质苦楝素传质较差; 当达到 2.0 h 萃取率显著提高, 是由于超临界 CO<sub>2</sub> 对原料的溶胀作用, 使传质效果得到改善; 当超过 2.0 h 原料中苦楝素几近萃取完全, 萃取率增长变缓, 且能耗及 CO<sub>2</sub> 消耗将无谓增大。因此确定最佳萃取时间为 2.0 h 较合适。

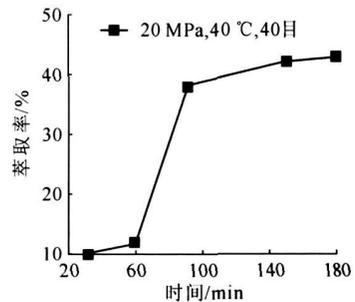


图 5 萃取时间对苦楝素萃取率的影响

Fig 5 Effect of extraction time on yield of toosendanin

### 2.3.2 萃取温度的影响

图 6 为萃取温度对苦楝素萃取率的影响。苦楝素的萃取率随温度升高而提高。由于溶解度是溶质挥发度的函数, 提高温度可增大溶质的溶解度, 从而提高萃取效率。从萃取物的 GC/MS 分析结果可知: 高温下所得萃取物中多种杂质成分的质量分数增大更为显著, 苦楝素的萃取选择性下降, 从而增加了后续苦楝素精制纯化的难度。因此, 萃取温度不宜过高, 选择萃取温度 40 °C 较为适宜。

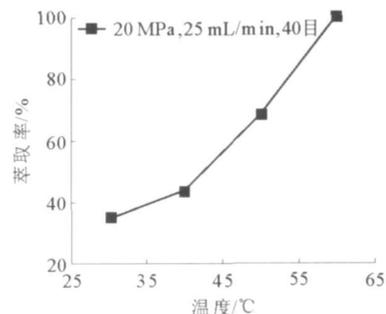


图 6 萃取温度对苦楝素萃取率的影响

Fig 6 Effect of extraction temperature on yield of toosendanin

### 2.3.3 萃取压力的影响

图 7 为萃取压力对苦楝素萃取率的影响。苦楝素的萃取率随压力升高而提高。由于超临界 CO<sub>2</sub>

的压力增加使其密度增大, 溶质在其中的溶解度将增大, 从而提高萃取效率。但高压下动力消耗提高, 同时对设备的要求越高。因此, 综合考虑选择压强为 20MPa较为适合。

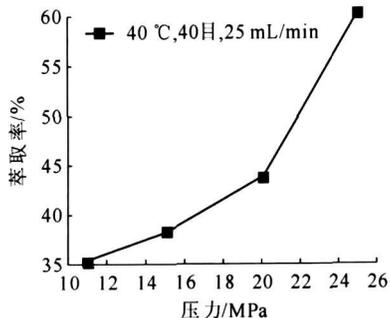


图 7 萃取压力对苦楝素萃取率的影响

Fig 7 Effect of extraction pressure on yield of toosendanin

### 2 3 4 原料粒径的影响

图 8为原料颗粒的粒径对苦楝素萃取率的影响。苦楝素的萃取率随原料粒径减小缓慢提高。由于粒径越小比表面积越大, 且从传质动力学考虑溶质传质路径变短, 萃取速率将加快。但过细的颗粒度易发生颗粒团聚及沟流等现象而削弱传质, 使萃取率难于提高。因此, 选择原料粒径为 40目较为适宜。

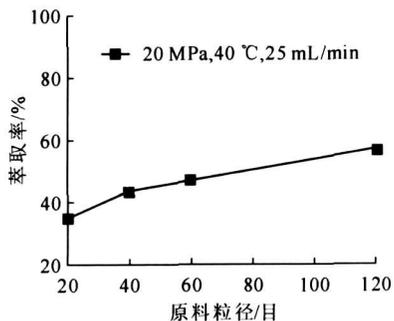


图 8 原料粒径对苦楝素萃取率的影响

Fig 8 Effect of feed particle size on yield of toosendanin

### 2 3 5 夹带剂质量比的影响

图 9为夹带剂乙醇质量比(与 CO<sub>2</sub> 质量比)对苦楝素萃取率的影响。苦楝素的萃取率随夹带剂乙醇质量比的增加而增大。由于乙醇质量比的增加增大了溶质的溶解度, 但乙醇过多易降低超临界 CO<sub>2</sub> 的密度, 使溶质的溶解度相应降低。从萃取物的 GC/MS分析结果可知: 乙醇过多也增大多种杂质成分的溶解度, 从而增加了后续苦楝素精制纯化的难度。因此, 综合考虑选择夹带剂乙醇的质量比低于 20% 较为适合。

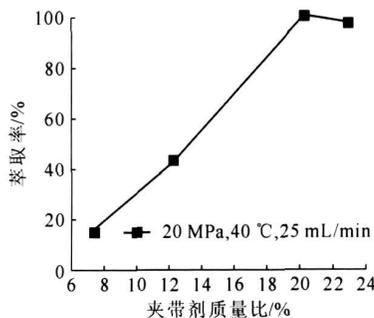


图 9 夹带剂质量比对苦楝素萃取率的影响

Fig 9 Effect of mass ratio of modifier to carbon dioxide on yield of toosendanin

## 2 4 苦楝素的结晶纯化

对所得萃取液经减压蒸馏、冷却、过滤、洗涤后得白色晶体, 经定性分析并与文献比较, 确定该晶体为苦楝素<sup>[22]</sup>。采用 HPLC对所得苦楝素晶体定量分析, 如图 10所示。苦楝素标准品有 2个互变异构体苦楝素和异苦楝素<sup>[23]</sup>, 实验所得晶体为苦楝素, 质量分数为 98%。

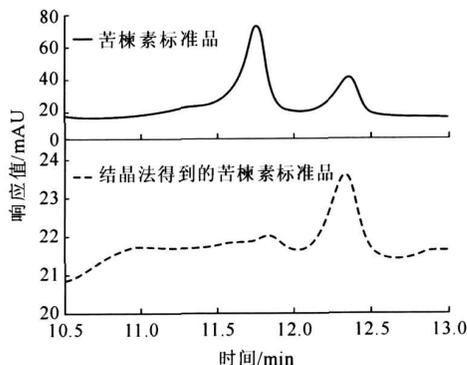


图 10 苦楝素晶体的 HPLC 谱图

Fig 10 HPLC chromatogram of toosendanin in crystal

## 3 结论

采用溶剂浸提对不同楝树种源所含苦楝素进行提取筛选, 苦楝中苦楝素质量分数多高于川楝, 果实质量分数最高, 叶质量分数最少, 福建寿宁苦楝果实质量分数最高, 以此为实验原料研究有机溶剂提取及超临界 CO<sub>2</sub> 萃取各参数对苦楝素萃取效果的影响。溶剂提取的最佳条件: 液固质量比 25: 1 提取时间 4 h 提取次数 3次, 苦楝素的提取率为 18%。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的最佳条件: 温度 40℃, 压力 20MPa 时间 20 h, 原料粒径 40目, 夹带剂乙醇质量为 CO<sub>2</sub> 质量的 12%, 苦楝素的萃取率为 43%。在对萃取液结晶纯化中成功地分离得到质量分数达 98% 的苦楝素晶体。

志谢: 本研究所用楝树种源原料由福建省龙岩市林业种苗站采集提供, 谨致谢忱。

## 参考文献:

- [ 1 ] 汪文陆, 赵善欢. 苦楝果实中化学成分进一步研究及生物活性测定 [ J ]. 华南农业大学学报, 1993 14 ( 3 ): 64-69.
- [ 2 ] 顾静文, 刘立鼎. 苦楝果实活性物质研究 [ J ]. 天然产物研究与开发, 1996 8 ( 4 ): 10-15
- [ 3 ] 钟炽昌, 谢晶曦, 陈淑凤, 等. 川楝素的化学结构 [ J ]. 化学学报, 1975 3 ( 1 ): 35-47.
- [ 4 ] 张兴, 赵善欢. 楝科植物对几种害虫的拒食和忌避作用 [ J ]. 华南农学院学报, 1983 4 ( 3 ): 1-7
- [ 5 ] 赵善欢, 曹毅, 彭中建, 等. 应用天然植物产品川楝素防治菜青虫试验 [ J ]. 植物保护学报, 1985, 2 ( 2 ): 125-132
- [ 6 ] 张兴, 张民力, 赵善欢. 楝属川楝素含量与生物活性的关系 [ J ]. 华南农业大学学报, 1988 9 ( 4 ): 21-30
- [ 7 ] 刘嘉宝, 李玉媛. 苦楝杀虫剂乳油配方试验 [ J ]. 林业科技开发, 1991 ( 1 ): 43-44
- [ 8 ] 赵博光, 李小平, 陈小平. 苦楝果提取物对桑天牛产卵率及卵孵化率的影响 [ J ]. 植物保护学报, 2002, 26 ( 1 ): 41-44
- [ 9 ] 谷艳芳, 郑合助. 苦楝种核提取物对棉铃虫发育和繁殖的影响 [ J ]. 河南农业大学学报, 1998, 32 ( 4 ): 403-405
- [ 10 ] MULLS M S A ctivity and biological effects of neem products of against arthropods of medical and veterinary importance [ J ]. JAm Mosq Control Assoc, 1999 15 ( 2 ): 133-152
- [ 11 ] P ÑA PEREZ M, D ÉCUEZ FERNANDEZ L, ABREU GU RADO OA, et al Molluscicidal activity of paraiso (*Melia azadirach L*) (*Meliaceae*) on *Lymnaea cubensis* host snail of fascioliasis [ J ]. Rev Saude Publica, 1998, 32 ( 3 ): 262-266
- [ 12 ] 赵善欢, 黄丙球, 胡美英. 几种楝科植物种核油对褐稻虱的拒食作用试验 [ J ]. 昆虫学报, 1983 26 ( 1 ): 1-9
- [ 13 ] 郝乃斌, 戈巧英. 中国植物源杀虫剂的研制与应用 [ J ]. 植物学通报, 1999, 16 ( 5 ): 495-503
- [ 14 ] 操海群, 岳永德, 花日茂, 等. 植物源农药研究进展 [ J ]. 安徽农业大学学报, 2000 27 ( 1 ): 40-44
- [ 15 ] 顾静文, 刘立鼎, 肖亿良, 等. 苦楝果实植物杀虫剂的开发研究 [ J ]. 江西科学, 1995 13 ( 3 ): 142-148
- [ 16 ] 刘立鼎, 顾静文, 吴欣荣, 等. 苦楝果实的生物活性成分 [ J ]. 江西科学, 1996, 14 ( 2 ): 114-118
- [ 17 ] 唐英, 郭惠, 胡德斌, 等. 超声波提取川楝素的方法研究 [ J ]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2004, 30 ( 2 ): 714-717.
- [ 18 ] 唐英, 刘思曼, 胡伟, 等. 微波辅助提取川楝素的方法研究 [ J ]. 四川大学学报: 自然科学版, 2005, 42 ( 1 ): 150-152
- [ 19 ] 赵淑英, 宋湛谦, 慕卫, 等. 印楝素和苦楝素对植物病原菌的抑制作用 [ J ]. 林业实用技术, 2004 ( 9 ): 28-29
- [ 20 ] 姜萍, 叶汉玲, 安鑫南. 苦楝提取物的提取及其抑菌活性的研究 [ J ]. 林产化学及工业, 2004 24 ( 4 ): 24-27
- [ 21 ] 杜爱玲, 孙公平, 王威强, 等. 超临界二氧化碳萃取苦楝皮中有效成分的初步研究 [ J ]. 林产化学与工业, 2006, 26 ( 2 ): 61-64
- [ 22 ] 洪燕珍, 王宏涛, 李军, 等. 苦楝果实中杀虫活性成分——苦楝素的分离及鉴定 [ J ]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2007, 46 ( 3 ): 365-368
- [ 23 ] 舒国欣, 梁晓天. 关于川楝素化学结构的修正 [ J ]. 化学学报, 1980 38 ( 2 ): 196-198

## 版 权 声 明

为适应我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,《化学工程》期刊已加入《中国知网 CNKI 系列期刊数据库》《中国核心期刊(遴选)数据库》(万方数据——数字化期刊群)、《中文科技期刊数据库》《中国科学引文数据库》《中国学术期刊文摘(中文版)》美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘》俄罗斯《文摘杂志》《日本科学技术振兴机构中国文献数据库》荷兰 Scopus、波兰《哥白尼索引》美国《乌利希期刊指南》等数据库。凡本刊发表的论文,将同时通过本刊加入的数据库进行网络出版或提供信息服务,稿件一经刊登,将在本刊稿酬中一次性支付著作权使用报酬(即包括印刷版、光盘版和网络版等各种使用方式的报酬)。如作者不同意论文被上述数据库收录,请向本刊提出书面说明,本刊将作适当处理。

《化学工程》编辑部