

催化与分离提纯技术

基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系 提取分离青蒿素

陈川, 田云, 郭龙燕, 王娜*, 鲁红升*

(西南石油大学 化学化工学院, 四川 成都 610500)

摘要: 以脂肪酸 (FA) 对黄花蒿叶中青蒿素的超声辅助提取为外循环, 以聚醚胺 (D230) 的 CO₂ 开关为内循环, 构建一种基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系。采用单因素实验和正交实验考察了液固比 (mL : g, 即每克黄花蒿叶粉末加入脂肪酸体积, 下同)、超声时间、提取温度和提取时间对青蒿素提取量的影响。采用 SEM、FTIR 和 ¹HNMR 对其进行了表征, 探究了基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系提取分离青蒿素的机理。在以正庚酸 (C₇-FA) 为提取溶剂、液固比 (mL : g) 为 20 : 1、超声时间 1.00 h、提取温度 50 °C、提取时间 2.5 h 的最佳条件下, 青蒿素提取量为 4.37 mg/g。C₇-FA 与 D230/水溶液组成了具有 CO₂ 开关能力的双循环溶剂体系, 可快速分离青蒿素并实现溶剂的回收和循环利用, 第 4 次使用时青蒿素提取量为新鲜溶剂提取量的 78%。范德华力和氢键是提取中的主要分子间作用力。

关键词: 脂肪酸; 双循环; CO₂ 开关溶剂; 提取; 青蒿素; 分离技术

中图分类号: TQ460.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-5214 (2024) 12-2702-08

Extraction and separation of artemisinin by a dual-circulation CO₂-switchable solvent system based on fatty acids

CHEN Chuan, TIAN Yun, GUO Longyan, WANG Na*, LU Hongsheng*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest Petroleum University, Chengdu 610500, Sichuan, China)

Abstract: A dual-circulation CO₂-switchable solvent system based on fatty acids was constructed by ultrasound-assisted extraction of artemisinin from *Artemisia annua* leaves using fatty acids as external cycle, and CO₂ switching of polyether amine (D230) as internal cycle. The effects of liquid-solid ratio (mL : g, that is, the volume of fatty acids added per gram of *Artemisia annua* leaf powder, the same below), ultrasound time, extraction temperature and extraction time on the amount of artemisinin extracted were investigated by single-factor experiments and orthogonal experiments. The artemisinin extracted was characterized by SEM, FTIR and ¹HNMR, and its extraction and separation mechanism using a double-circulation CO₂-switching solvent system based on fatty acids was further analyzed. Under the optimal extraction conditions of *n*-heptanoic acid (C₇-FA) as extraction solvent, liquid-solid ratio (mL : g) 20 : 1, ultrasonication time 1.00 h, extraction temperature 50 °C, and extraction time 2.5 h, the amount of artemisinin extracted was 4.37 mg/g. C₇-FA and D230/water solution formed a double-circulation solvent system with CO₂-switchable ability, which could rapidly separate artemisinin and achieve solvent recovery and recycling, and the amount of artemisinin extracted in the fourth cycle was 78% of that extracted in fresh solvent. Van der Waals force and hydrogen bonds were the main intermolecular forces in extraction.

Key words: fatty acids; dual-circulation; CO₂-switchable solvents; extraction; artemisinin; separation technology

收稿日期: 2024-01-10; 定用日期: 2024-02-23; DOI: 10.13550/j.jxhg.20240036

基金项目: 四川省自然科学基金面上项目 (2022NSFSC0203)

作者简介: 陈川 (1997—), 男, 硕士生, E-mail: 1406465403@qq.com。联系人: 王娜 (1984—), 女, 高级实验师, E-mail: wangna@swpu.edu.cn; 鲁红升 (1979—), 男, 教授, E-mail: hshlu@163.com。

青蒿素是一种具有过氧桥结构的天然药物, 主要从黄花蒿叶中提取分离, 是世界卫生组织(WHO)推荐治疗疟疾的特效药^[1]。除了治疗疟疾外, 青蒿素还具有多种药理作用, 如抗氧化、抗肿瘤、抗纤维化以及调节机体免疫等^[2-3], 具有很高的药用价值。目前, 工业上主要采用石油醚和正己烷等有机溶剂从黄花蒿叶中提取青蒿素^[4]。然而, 这些有机溶剂存在高挥发性、高毒性等缺点, 并且提取过程溶剂用量大, 对人体健康和生态环境造成较大威胁。此外, 传统溶剂在回收时, 耗时长且能耗大, 回收成本高。因此, 有必要使用绿色可循环的溶剂体系用于提取青蒿素, 以减少溶剂消耗, 降低对人体和环境的危害。

开关溶剂是一类能够在外部环境刺激下可逆地改变自身性质的智能溶剂, 根据刺激来源不同, 开关溶剂可分为 pH 开关溶剂、温度开关溶剂以及 CO₂ 开关溶剂等^[5-7]。与普通溶剂相比, 开关溶剂具有可控性和可逆性, 通过简单的调制即可实现目标物质与溶剂的快速分离和回收, 被广泛应用于提取分离、固废清洗、分析样品前处理等领域^[8-10]。其中, CO₂ 开关溶剂由于气体来源绿色且广泛, 具有更加重要的现实意义和应用潜能。WANG 等^[11]利用 *N,N*-二甲基乙醇胺等 CO₂ 开关溶剂实现了对刺梨中不同极性植物活性成分的高效提取, 其中对苹果酸的提取量达到 25.29 mg/g。CHEN 等^[5]利用 *N,N*-二甲基环己胺等 CO₂ 开关溶剂从草本植物黄精中提取黄精多糖, 最大提取量可达 399.2 mg/g。郭源等^[9]基于 *N,N*-二甲基环己胺构建的 CO₂ 开关溶剂体系, 对大豆油的提取率高达 95%。这些工作为天然植物中活性成分的提取提供了高效简便的方法, 但是这些开关溶剂均含有小分子胺类化合物, 具有较高的生物毒性, 因此有必要开发更加绿色的开关溶剂体系。

本文拟利用低挥发性和低生物毒性的脂肪酸构建双循环 CO₂ 开关溶剂体系, 以脂肪酸 (FA) 超声辅助提取青蒿素为外循环, 以聚醚胺的 CO₂ 开关为内循环。通过单因素和正交实验优化液固比、超声时间、提取温度和提取时间。考察该溶剂体系与不同有机酸的提取量和循环提取青蒿素的性能, 结合表征技术探究其提取机理。以为绿色环保的开关溶剂体系开发和青蒿素循环提取提供参考。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

黄花蒿叶购自重庆秀山, 经清洗干燥、烘干、粉碎并过 80 目筛后使用。

青蒿素、正壬酸 (C₉-FA)、正癸酸 (C₁₀-FA)、

月桂酸 (C₁₂-FA)、10-十一烯酸 (10-UA)、3-环己基丙酸 (3-CA)、3-环己基甲酸 (3-CHA), 上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 聚醚胺 (D230, *M_w*=230)、正庚酸 (C₇-FA)、3-环己烯-1-甲酸 (3-C-1-CA), 上海麦克林生化科技股份有限公司; 大孔树脂 (D101) 和其他化学试剂, 成都科龙化工试剂厂。所有化学试剂均为分析纯且未经进一步处理, 实验过程使用自制超纯水。

LC-20AT 型高效液相色谱仪 (HPLC), 日本 Shimadzu 公司; WQF-520 型傅里叶变换红外光谱仪 (FTIR), 北京瑞利分析仪器有限公司; Avance III HD 400 MHz 型核磁共振波谱仪 (NMR), 瑞士 Bruker 公司; ZEISS EVO MA15 型扫描电子显微镜 (SEM), 卡尔蔡司显微图像有限公司; DS-307A 型电导率仪, 北京佑科仪器有限公司; PHS-3E 型 pH 计, 上海雷磁仪器有限公司。

1.2 实验方法

图 1 为双循环 CO₂ 开关体系提取和分离青蒿素的流程示意图。

青蒿素提取: 将 5 g 黄花蒿叶粉末和 100 mL 脂肪酸 (如正辛酸) 加入试剂瓶中, 超声提取 1 h, 然后在 50 °C 下搅拌提取 2.5 h, 最后过滤去除固体粉末得到脂肪酸提取液。

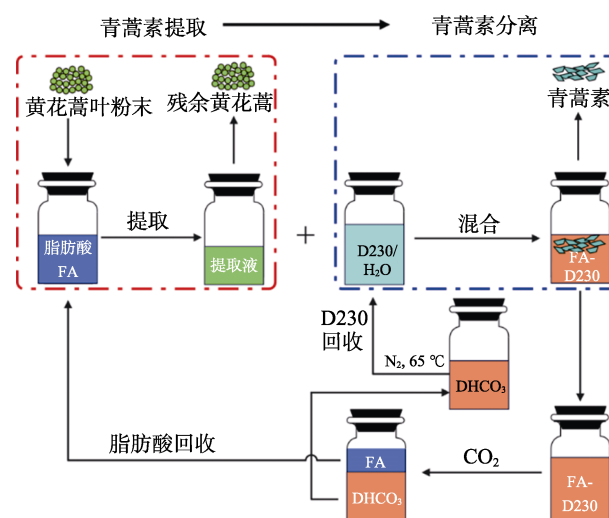


图 1 基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系对青蒿素提取和分离的流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of extraction and separation of artemisinin by a dual-circulation CO₂-switchable solvent system based on fatty acids

青蒿素分离: 在 20 mL 提取液中加入质量分数 4% 的 D230 水溶液 376 mL, 搅拌 0.5 h。疏水的脂肪酸提取液和 D230 水溶液反应生成亲水性脂肪酸-胺复合物 (FA-D230), 疏水的青蒿素在该溶液中析出, 经过滤收集的液体为 FA-D230 水溶液, 固体在 40 °C 下干燥 8 h, 得到青蒿素粉末。

溶剂循环：将回收的 FA-D230 水溶液通入 CO₂ 实现相分离，上层的脂肪酸直接循环用于青蒿素提取；下层的铵盐化合物 (DHCO₃) 在 65 °C 下通入 N₂，转化为 D230 水溶液，循环用于青蒿素分离。

为了比较，采用大孔树脂从脂肪酸提取液中分离青蒿素。将 2 g 大孔树脂加入 20 mL 脂肪酸提取液中，室温下以 150 r/min 吸附青蒿素 10 h。然后用 50 mL 甲醇以 150 r/min 振荡脱附 10 h，最后通过旋转蒸发仪将甲醇解吸液浓缩至 10 mL。

1.3 青蒿素的定量分析

参考中国药典^[12]并稍作修改，采用 HPLC-UV 法测定青蒿素的含量。色谱柱为 ODS-SP (5 μm×4.6 mm×250 mm)，流速 0.8 mL/min，柱温 30 °C。前 10 min，流动相为 V(乙腈)：V(水)=50：50，10~15 min 逐渐转换为 V(乙腈)：V(水)=40：60 后并在 15~30 min 保持不变。紫外检测波长为 210 nm，进样量为 10 μL，青蒿素保留时间为 20.59 min。通过配制质量浓度为 0.02~0.10 g/L 的青蒿素标准溶液 (以乙腈为溶剂)，记录样品在 210 nm 处青蒿素标准溶液的峰面积，绘制峰面积 (y)-青蒿素质量浓度 (x) 标准曲线，根据拟合方程 $y=632762x+7817.5$ ($R^2=0.9978$) 计算待测样品中青蒿素质量浓度。

1.4 结构表征

SEM 测试：将原料黄花蒿叶粉末和提取后残余黄花蒿在 50 °C 烘箱中烘干，喷金处理后，用 SEM 观察样品的微观结构。FTIR 测试：采用溴化钾压片法对青蒿素标准品、C₇-FA 以及不同质量浓度的青蒿素/C₇-FA 溶液的红外光谱进行测试，波数范围 4000~500 cm⁻¹。¹H NMR 测试：将 C₇-FA、青蒿素以及不同质量浓度的青蒿素/C₇-FA 溶解在氘代氯仿中进行测试。

1.5 影响因素的考察

1.5.1 单因素实验

考察液固比 (mL：g，即每克黄花蒿叶粉末加入脂肪酸的体积，下同)、超声时间、提取温度和提取时间对青蒿素提取量的影响。根据公式 (1) 计算青蒿素提取量 (mg/g)。

$$\text{青蒿素提取量} = \frac{m_1}{m} \quad (1)$$

式中： m_1 为提取后得到的青蒿素粉末中青蒿素的质量，mg； m 为黄花蒿叶粉末质量，g。

在超声时间 0.50 h、提取温度 50 °C、提取时间 2.5 h 的条件下，考察不同液固比 (5：1、10：1、15：1、20：1) 对青蒿素提取量的影响。在液固比为 15：1、提取温度 50 °C、提取时间 2.5 h 的条件下，考察不同超声时间 (0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 h) 对青蒿素提取量的影响。在液固比为 15：1、超声时间 1.00 h、提取时间 2.5 h 条件下，考察不同

提取温度 (30、40、50、60、70 °C) 对青蒿素提取量的影响。在液固比为 15：1、超声时间 1.00 h、提取温度 50 °C 条件下，考察不同提取时间 (0.5、1.5、2.5、3.5、4.5 h) 对青蒿素提取量的影响。

1.5.2 正交实验

根据单因素实验结果，以液固比 (A)、超声时间 (B)、提取温度 (C) 和提取时间 (D) 作为自变量，以青蒿素提取量为评价指标，根据正交实验原理，对 4 个因素分别设置 3 个水平，根据单因素考察结果中心点取值。

1.6 有机酸的影响考察

1.6.1 有机酸对提取量的影响

脂溶性有机酸的种类丰富，其对青蒿素提取量有重要影响。在经正交实验得到的最佳条件下，分别采用直链脂肪酸、单烯酸、环烷酸 3 类脂溶性有机酸对青蒿素进行提取。考察有机酸种类对青蒿素提取量的影响。

1.6.2 Hansen 溶解度参数

为了探究有机酸的影响，采用 Hansen 溶解度参数研究青蒿素与有机酸的分子间相互作用力。Hansen 溶解度参数认为，物质的溶解性与内聚能有联系，而内聚能来自于 3 种分子间作用力：色散力 (即范德华力， δ_d)、永久极性力 (δ_p) 以及氢键 (δ_h)。具有相似溶解度参数的物质具有更好的亲和力^[13]。因此，Hansen 溶解度参数常用于预测物质在给定溶剂中的溶解度，其主要计算式包括公式 (2)~(7)^[14]。

$$\delta = \sqrt{\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2} \quad (2)$$

$$\delta_d = \frac{\sum F_{di}}{V} \quad (3)$$

$$\delta_p = \frac{\sqrt{\sum F_{pi}^2}}{V} \quad (4)$$

$$\delta_h = \frac{\sqrt{\sum F_{hi}}}{V} \quad (5)$$

$$\Delta\bar{\delta} = \sqrt{(\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2} \quad (6)$$

$$\delta_v = \sqrt{\delta_d^2 + \delta_p^2} \quad (7)$$

式中： δ 为 Hildebrand 参数，MPa^{0.5}，代表 3 种分子间作用力的总贡献； F_d 、 F_p 和 F_h 分别为 δ_d 、 δ_p 和 δ_h 的贡献值，单位分别为 (MJ/m³)^{0.5}/mol、(MJ/m³)^{0.5}/mol、J/mol； i 代表不同物质； V 为分子的摩尔体积，cm³/mol。 $\Delta\bar{\delta}$ 是另一种用于评价两种物质互溶性的参数，MPa^{0.5}，由 HOFTYZER 和 VAN KREVELEN 提出，他们认为 $\Delta\bar{\delta} < 5$ MPa^{0.5} 时，物质间具有良好的互溶性^[14-15]。 δ_v 为 MOHAMMAD 等^[16]提出的体积相关溶解度参数，MPa^{0.5}，他们认为，不同物质氢键的贡献本身就不同，而色散力和永久极性力在热力学上相似，因此，只考虑色散力和永久极性力的影响，

这也是评估物质相溶性的参数。

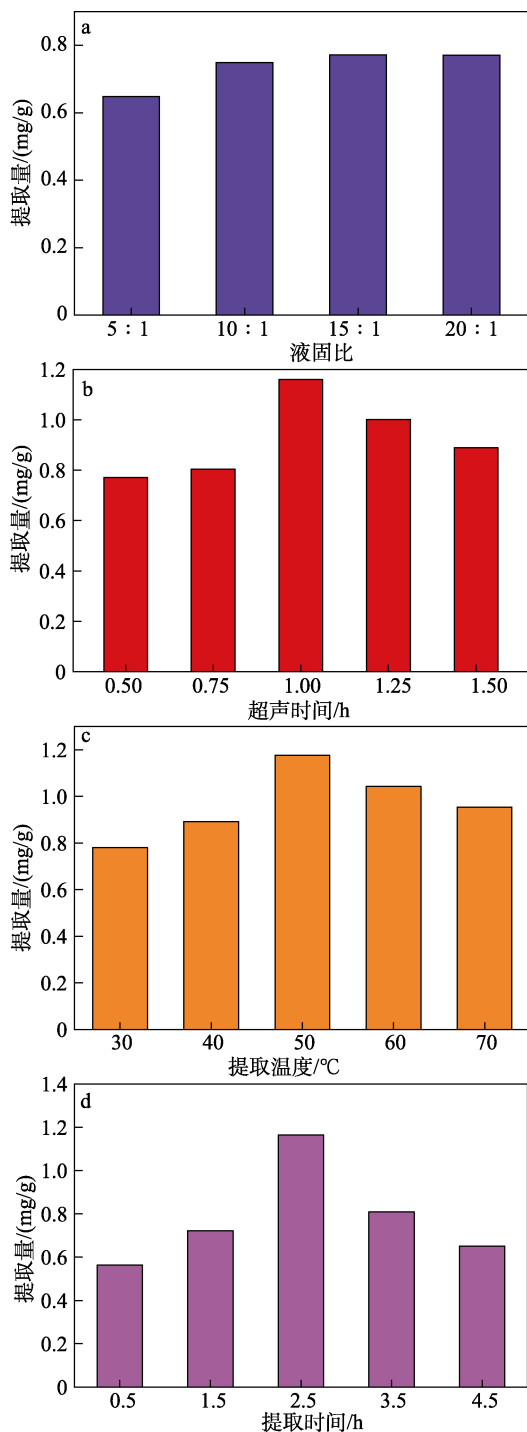
通过基团贡献法^[13-14], 并结合以上公式, 计算各有机酸和青蒿素的 Hansen 溶解度参数。

2 结果与讨论

2.1 青蒿素的提取

2.1.1 单因素实验结果分析

图 2 为青蒿素提取单因素实验结果。



a—液固比; b—超声时间; c—提取温度; d—提取时间

图 2 青蒿素提取单因素实验结果

Fig. 2 Single factor experiment results of artemisinin extraction

从图 2a 可以看出, 当液固比从 5 : 1 提高到 10 : 1 时, 青蒿素提取量明显增加; 当液固比增加至 15 : 1 时, 青蒿素提取量达到最大值 (0.77 mg/g); 继续增加液固比至 20 : 1, 青蒿素提取量不再增加。这是因为, 青蒿素的溶解量随着溶剂体积的增大而增大, 当溶剂体系增大至液固比为 15 : 1 时, 体系中溶解的青蒿素量已经接近原黄花蒿叶粉末中含有的青蒿素质量的极限, 与黄花蒿叶粉末中残余的青蒿素含量也基本达到平衡, 因此, 提取量趋于稳定^[11]。

从图 2b 可以看出, 当超声时间 < 1.00 h 时, 青蒿素提取量随着超声时间的延长而迅速增加; 当超声时间为 1.00 h 时, 青蒿素提取量达到最大值 (1.16 mg/g)。这是因为, 超声的空化作用导致植物细胞的溶胀或者细胞壁的坍塌, 从而使青蒿素快速释放^[17]。随着超声时间的进一步延长, 青蒿素提取量略有下降, 可能是因为长时间的超声导致青蒿素结构被破坏。

从图 2c 可以看出, 随着提取温度的增加, 青蒿素提取量逐渐增大并在 50 °C 时达到最高 (1.17 mg/g)。这是因为, 随着提取温度的上升, 青蒿素在脂肪酸中的溶解度逐渐增大。继续提高提取温度, 青蒿素提取量逐渐降低, 这可能是因为, 空化效应结合过高的提取温度导致青蒿素结构被破坏^[18-19]。

从图 2d 可以看出, 当提取时间为 0.5~2.5 h 时, 随着提取时间的增加青蒿素提取量逐渐增加, 在 2.5 h 时青蒿素提取量达到最大 (1.17 mg/g)。之后, 随着提取时间的增加, 青蒿素提取量减少, 这可能是因为, 过长的提取时间会造成青蒿素的结构不稳定。

通过以上单因素实验, 得到青蒿素的最佳提取条件为液固比为 15 : 1、超声时间 1.00 h、提取温度 50 °C, 提取时间 2.5 h。

2.1.2 正交实验结果分析

表 1 为正交实验的因素水平表。表 2 为正交实验结果与分析。

表 1 正交实验因素水平表

Table 1 Orthogonal experimental factor level table

水平	因素			
	A 液固比	B 超声时间/h	C 提取温度/°C	D 提取时间/h
1	10 : 1	0.75	40	1.5
2	15 : 1	1.00	50	2.5
3	20 : 1	1.25	60	3.5

从表 2 可以得到青蒿素提取的最佳工艺条件为: 液固比 20 : 1, 超声时间 1.00 h, 提取温度为 50 °C, 提取时间为 2.5 h。在最佳实验条件下重复进行 3 次实验, 青蒿素平均提取量为 1.27 mg/g。

表 2 正交实验结果与分析

Table 2 Results and analysis of orthogonal experiment

序号	A	B/h	C/°C	D/h	提取量/(mg/g)
1	10 : 1	0.75	40	1.5	0.78
2	10 : 1	1.00	50	2.5	0.94
3	10 : 1	1.25	60	3.5	0.85
4	15 : 1	0.75	50	3.5	0.96
5	15 : 1	1.00	60	1.5	0.98
6	15 : 1	1.25	40	2.5	1.05
7	20 : 1	0.75	60	2.5	1.16
8	20 : 1	1.00	40	3.5	1.26
9	20 : 1	1.25	50	1.5	1.21
K_1	0.857	0.967	1.030	0.990	
K_2	0.997	1.060	1.037	1.050	
K_3	1.210	1.037	0.997	1.023	
R	0.353	0.093	0.040	0.060	

R 代表极差值,表示各实验因素对青蒿素提取量的影响程度,极差值越大,该因素的影响越显著^[16,20]。从表 2 可以看出,液固比的极差值(0.353)远大于其他因素的极差值,说明液固比对青蒿素提取量影响最为明显,而超声时间、提取时间和提取温度的影响程度接近。根据 R 值得到各因素的影响大小顺序为液固比>超声时间>提取时间>提取温度。

2.1.3 有机酸的影响

图 3 为不同有机酸对青蒿素提取的影响。表 3 为不同有机酸的 Hansen 溶解度参数。

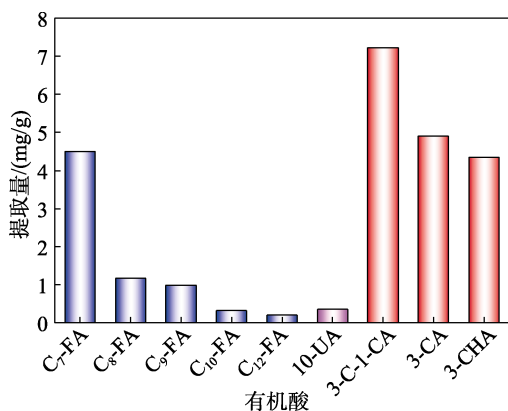


图 3 不同有机酸对青蒿素提取量的影响

Fig. 3 Effects of different organic acids on extracted amount of artemisinin

从图 3 可以看出,环烷酸(3-C-1-CA、3-CA、3-CHA)的青蒿素提取量高于直链脂肪酸(C₇-FA、C₈-FA、C₉-FA、C₁₀-FA、C₁₂-FA)和单烯酸(10-UA)。直链脂肪酸中,C₇-FA 的青蒿素提取量(4.37 mg/g)较高,其他直链脂肪酸的提取量随着碳链长度的增加而降低。而以 10-UA 为代表的单烯酸对青蒿素提取量较低。

表 3 不同有机酸的 Hansen 溶解度参数

Table 3 Hansen solubility parameters of different organic acids

有机酸种类	$\delta_d/\text{MPa}^{0.5}$	$\delta_p/\text{MPa}^{0.5}$	$\delta_h/\text{MPa}^{0.5}$	$\delta/\text{MPa}^{0.5}$	$\Delta\bar{\delta}/\text{MPa}^{0.5}$	$\delta_v/\text{MPa}^{0.5}$
C ₇ -FA	16.6	3.0	8.5	18.87	2.95	16.87
C ₈ -FA	16.6	2.7	8.0	18.60	3.14	16.82
C ₉ -FA	16.5	2.4	7.6	18.38	3.46	16.67
C ₁₀ -FA	16.5	2.2	7.3	18.20	3.66	16.65
C ₁₂ -FA	16.5	1.9	6.7	17.92	4.06	16.61
10-UA	16.6	2.1	7.1	18.17	3.73	16.73
3-C-1-CA	20.4	3.9	10.6	23.31	3.36	20.77
3-CA	17.3	2.7	8.0	19.30	2.74	17.51
3-CHA	18.1	3.5	9.2	20.60	2.05	18.44
ART ^[21]	18.6	5.1	8.0	20.91	—	19.31

注: ART 为青蒿素;“—”代表未给出。

从表 3 可以看出,青蒿素的 δ_d 、 δ_p 、 δ_h 、 δ 和 δ_v 分别为 18.6、5.1、8.0、20.91 和 19.31 $\text{MPa}^{0.5}$,说明色散力(即范德华力)为青蒿素的主要分子间作用力。3 类脂肪酸中环烷酸的 δ_d 、 δ_p 、 δ_h 、 δ 和 δ_v 与青蒿素的参数最为接近,其次是直链脂肪酸和单烯酸,根据“相似相溶”原理,环烷酸对青蒿素的溶解性最好,这与提取实验的结果相符。由于环烷酸中只有 3-C-1-CA 的 δ_d 、 δ_h 、 δ 和 δ_v 大于青蒿素,因此其青蒿素提取量最高。直链脂肪酸随着碳链的增加, δ_d 基本不变,而 δ_p 、 δ_h 、 δ 和 δ_v 逐渐降低,说明直链脂肪酸碳链的增加对范德华力的影响不显著,只引起极性作用力和氢键作用力的减弱,继而导致对青蒿素的溶解性下降。所有溶剂的 $\Delta\delta < 5 \text{MPa}^{0.5}$,说明青蒿素与这些溶剂都能互溶。除了 Hansen 溶解度参数的影响以外,溶剂的分子尺寸、黏度、表面张力等也会对溶剂的溶解能力产生影响,这里不再详细讨论。在课题组先前的工作中发现^[22],环烷酸不能与聚醚胺 D230 完全溶解形成均匀的水溶液,而是多相体系,因此,无法构建 CO₂ 开关的双循环体系,再加上环烷酸的生物毒性比 C₇-FA 和 C₈-FA 高,因此,后续选择 C₇-FA 作为提取青蒿素的有机酸,构建外循环。

2.2 青蒿素的分离

2.2.1 C₇-FA/D230/H₂O 三元体系 CO₂ 开关行为和机理

室温下,向 C₇-FA/D230/H₂O 中通入 CO₂,然后铵盐化合物(DHCO₃)在加热条件下通入 N₂,气体速率分别控制为 100 和 300 mL/min,且使用 pH 计与电导率仪观察 C₇-FA/D230/H₂O 三元体系的相转变行为、pH 和电导率的变化,结果见图 4。

从图 4a~c 可以看出,CO₂ 开关下 C₇-FA/D230/

H₂O 三元体系的相转变行为的第 1 步是脂溶性的 C₇-FA 与 D230 水溶液反应, 得到脂肪酸-胺复合物 C₇-FA-D230, 形成均一的亲水相 (图 4a), 反应式 (8) 如下所示; 第 2 步, 室温下将 CO₂ 鼓入 C₇-FA-D230 溶液中, 引发 H⁺ 和 HCO₃⁻ 的生成。电离后的脂肪酸被 H⁺ 质子化, HCO₃⁻ 与 D230 形成复合物 DHCO₃ (图 4b), 反应式 (9)、(10) 如下所示, 均相的溶液转变为疏水相 (C₇-FA) 和亲水相 (DHCO₃), 两相分离后实现 C₇-FA 的回收; 第 3 步, 通过在 65 °C 下鼓入 N₂ 将 DHCO₃ 溶液去质子化转变成 D230 溶液, 实现 D230/H₂O 的回收 (图 4c)。

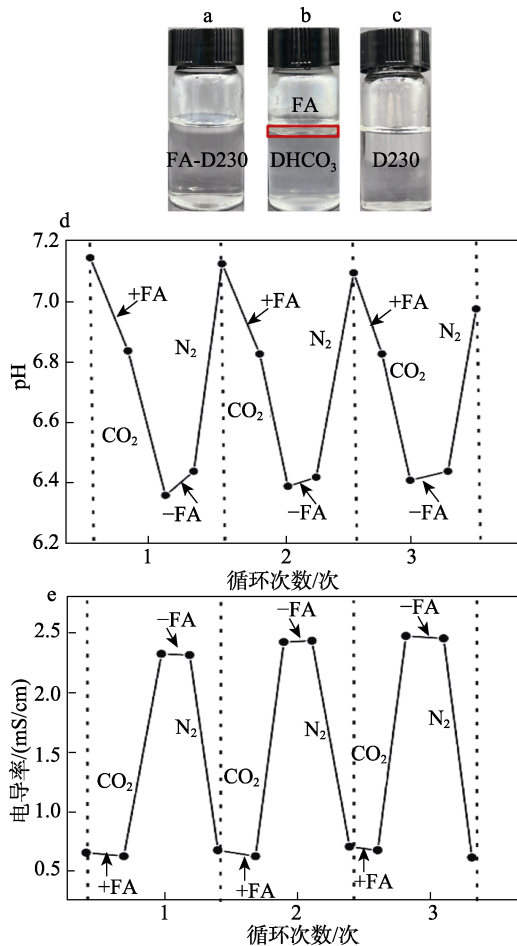
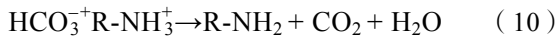
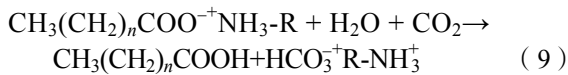
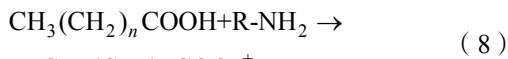


图 4 C₇-FA/D230/H₂O 三元溶剂体系相转变照片 (a、b、c), 开关过程中 pH (d) 和电导率 (e) 的变化
Fig. 4 Photos of phase transition for C₇-FA/D230/H₂O ternary solvent system (a, b, c); pH (d) and conductivity (e) change in switching process

从图 4d、e 的 pH 和电导率的变化可以看出,

在 D230/H₂O 溶液中加入 C₇-FA 后 pH 降低, 这是由于 C₇-FA 与 D230 发生酸碱中和反应后形成亲水性复合物 (C₇-FA-D230); 随着 CO₂ 的引入, 生成了 H⁺ 和 HCO₃⁻, 体系的 pH 迅速下降, 而电导率急剧上升。用 pH 计测定回收后上层疏水相的 pH, 发现其 pH 接近纯 C₇-FA 的 pH (约为 3.85), 证实了 C₇-FA 的回收。通过向下层水相注入 N₂, 该层的 pH 和电导率基本恢复到初始 D230/H₂O 的水平, 证明了 D230 溶液的成功回收。通入和排出 CO₂ 的 3 个循环过程中溶剂体系的 pH 和电导率的循环变化证实了 C₇-FA/D230/H₂O 具有 CO₂ 开关性能。

2.2.2 双循环 CO₂ 开关体系提取分离青蒿素

图 5 为以脂肪酸对青蒿素的提取为“外循环”、以聚醚胺的 CO₂ 开关分离青蒿素并进行溶剂回收为“内循环”构建的脂肪酸双循环 CO₂ 开关体系。

经 C₇-FA 提取后, 在提取液中加入 D230/H₂O, 由于青蒿素的脂溶性, 其逐渐从亲水的 C₇-FA-D230 中析出。经聚醚胺 D230/H₂O 分离得到的青蒿素提取量为 4.37 mg/g, 虽然低于大孔树脂分离得到的提取量 4.85 mg/g, 然而, 大孔树脂分离青蒿素耗时 20 h, 而开关溶剂只需要 0.5 h。开关溶剂较短的分离时间和可接受的提取分离能力使其更具有应用前景。

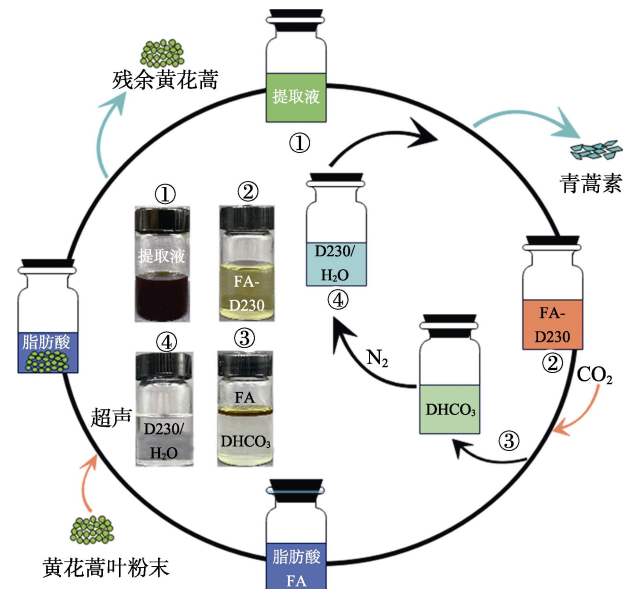


图 5 基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系提取青蒿素的流程示意图
Fig. 5 Schematic diagram of artemisinin extraction by a dual-circulation CO₂-switchable solvent system based on fatty acids

2.2.3 循环提取性能

溶剂的循环使用有利于减小溶剂用量, 降低环境污染风险, 节约成本, 是开关溶剂的一项重要指

标。图 6 为 C₇-FA/D230/H₂O 体系循环提取分离 4 次青蒿素提取量变化。

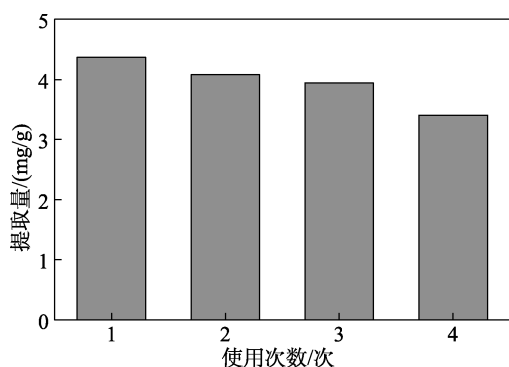


图 6 开关溶剂循环提取青蒿素性能

Fig. 6 Performance of switchable solvent cycle extraction of artemisinin

从图 6 可以看出,在前 3 次使用中,青蒿素提取量维持在新鲜溶剂提取量(4.37 mg/g)的 90%以上,到第 4 次使用时,青蒿素提取量明显下降(3.40 mg/g)至新鲜溶剂提取量的 78%,表明所构建的基于脂肪酸的双循环 CO₂ 开关溶剂体系具有良好的循环提取分离性能。青蒿素提取量的降低可能是由于在开关过程中,回收的 C₇-FA 和 D230 水溶液的互混导致纯度降低。

表 4 为 C₇-FA/D230/H₂O 体系提取分离青蒿素提取量与已报道的提取方法及实验室的索氏提取法进行比较结果。

表 4 不同方法的青蒿素提取量比较

Table 4 Comparison of artemisinin extraction by different methods

溶剂	提取量/(mg/g)	CO ₂ 开关能力	萃取方法	参考文献
丙二醇甲醚	13.79	否	超声辅助	[13]
聚乙二醇	15.80	否	超声辅助	[23]
甲基三辛基氯化铵/1-丁醇	7.993	否	超声辅助	[24]
L-肉碱/异山梨醇	1.168	否	超声辅助	[25]
氯化胆碱/甘油	3.52	否	超声辅助	[26]
SC-CO ₂	11.36	否	超临界流体	[27]
SC-CO ₂	7.10	否	超临界流体	[28]
C ₇ -FA/D230/H ₂ O	4.37	是	超声辅助	本文

从表 4 可以看出,虽然 C₇-FA/D230/H₂O 体系的青蒿素提取量较低,但与其他方法中使用的有机溶剂相比,脂肪酸具有低挥发性、低生物毒性的优点,对人体的健康威胁小;而与超临界(SC)CO₂ 提取方法相比,本法设备成本低、操作简单,更易于在工业上推广。此外,脂肪酸还能与聚醚胺 D230/水溶液组成具有 CO₂ 开关能力的双循环溶剂体系,可

快速分离青蒿素并实现溶剂的回收,避免了繁琐的分离操作。

根据文献报道的方法^[13],对 C₇-FA/D230/H₂O 体系的提取过程和索氏提取法的能耗进行了计算,得到提取 1 g 青蒿素时,C₇-FA/D230/H₂O 体系能耗为 0.1746 kW·h,而索氏提取法的能耗为 0.2281 kW·h,是 C₇-FA/D230/H₂O 体系能耗的 1.3 倍。结果表明,C₇-FA/D230/H₂O 体系不仅溶剂可重复使用、提取分离过程耗时短,而且能耗低。因此,此体系提供了一种高效提取和简便分离的方法,具有潜在的应用前景。

2.3 提取机理分析

图 7 为黄花蒿叶粉末经 C₇-FA 超声提取前后的 SEM 图。

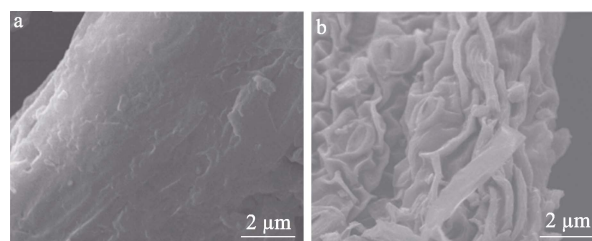


图 7 黄花蒿叶片经 C₇-FA 超声提取前(a)后(b)的 SEM 图

Fig. 7 SEM images of *Artemisia annua* leaves before (a) and after (b) ultrasonication

从图 7 可以看出,提取前黄花蒿叶表面光滑,无明显褶皱(图 7a);提取后,黄花蒿叶表面出现了明显的褶皱和断裂(图 7b),表明 C₇-FA 提取破坏了黄花蒿叶的细胞壁,这可能是由超声空化效应造成的^[29]。细胞壁破坏后,细胞内的青蒿素在超声作用下能加速地释放并溶解在 C₇-FA 中^[30-31]。

图 8 为 C₇-FA、青蒿素和不同质量浓度的青蒿素/C₇-FA 溶液的 FTIR 和 ¹HNMR 谱图。

从图 8a 可以看出,随着青蒿素/C₇-FA 溶液质量浓度的增加,1710 cm⁻¹ 处对应于羧基的伸缩振动峰和 3100~3300 cm⁻¹ 处对应羟基的伸缩振动峰出现了明显的增强,说明青蒿素与 C₇-FA 之间发生了氢键作用。

从图 8b 可以看出,C₇-FA 中 δ 9.40 处对应羧基的氢质子信号峰,随着青蒿素/C₇-FA 溶液质量浓度的增加该峰向低场移动,这是因为,分子间氢键会使氢质子周围的电子云密度降低,减弱屏蔽效应,导致化学位移增大^[32],进一步证实了 C₇-FA 和青蒿素之间形成了氢键。除了氢键作用外,通过 Hansen 溶解度参数分析发现,范德华力也是 C₇-FA 溶解青蒿素的主要作用力。

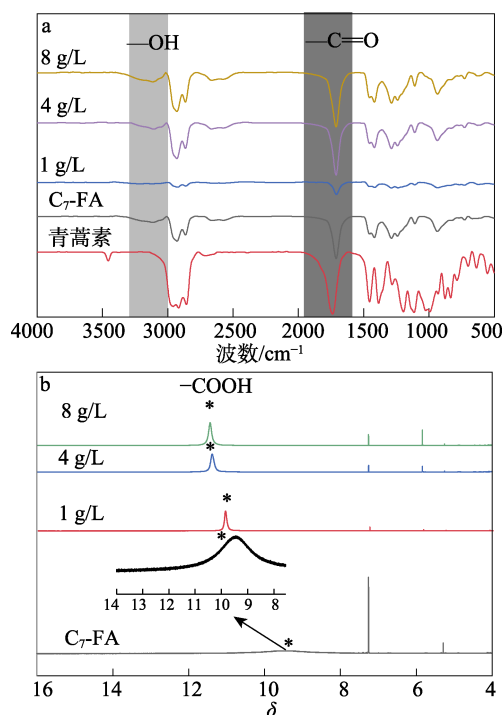


图 8 青蒿素、C₇-FA 以及不同质量浓度的青蒿素/C₇-FA 溶液的 FTIR 谱图 (a) 和 ¹H NMR 谱图 (b)

Fig. 8 FTIR (a) and ¹H NMR (b) spectra of artemisinin, heptanoic acid and artemisinin/heptanoic acid solution with different mass concentrations

3 结论

构建了基于脂肪酸的 C₇-FA/D230/H₂O 双循环 CO₂ 开关体系, 结合超声技术从黄花蒿叶粉末中提取分离青蒿素, 考察了青蒿素提取量的影响因素, 探究了提取分离机理, 主要结论如下:

(1) 当液固比为 20 : 1、超声时间 1.00 h、提取温度 50 °C、提取时间 2.5 h 时, C₇-FA/D230/H₂O 的青蒿素提取量为 4.37 mg/g。在 CO₂ 的调控下, C₇-FA/D230/H₂O 具有良好的相转变行为。在 4 次使用提取分离后, 回收溶剂的提取量是新鲜试剂提取量的 78%。

(2) 超声的空化作用破坏了黄花蒿叶的细胞壁, 促进了青蒿素的释放和溶解, 青蒿素和脂肪酸的分子间相互作用主要是范德华力和氢键。

采用 C₇-FA/D230/H₂O 对青蒿素进行提取分离, 具有较高的提取效率以及便捷的操作方式, 循环体系溶剂的回收利用可降低有机溶剂的使用量, 减少对环境 and 人类健康的威胁, 可为绿色环保、高效节能的青蒿素提取分离方法研究提供参考。

参考文献:

[1] CHEN M, YAN T, SHEN Q, *et al.* Glandular trichome-specific WRKY 1 promotes artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua*[J]. *New Phytologist*, 2017, 214(1): 304-316.
[2] FERREIRA J F S, ZHELJAZKOV V D, GONZALEZ J M.

Artemisinin concentration and antioxidant capacity of *Artemisia annua* distillation byproduct[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 41: 294-298.
[3] DAI Y F, ZHOU W W, MENG J, *et al.* The pharmacological activities and mechanisms of artemisinin and its derivatives: A systematic review[J]. *Medicinal Chemistry Research*, 2017, 26(5): 867-880.
[4] PILKINGTON J L, PRESTON C, GOMES R L. Comparison of response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANN) towards efficient extraction of artemisinin from *Artemisia annua*[J]. *Industrial Crops and Products*, 2014, 58: 15-24.
[5] CHEN X Y, WANG R P, TAN Z J. Extraction and purification of grape seed polysaccharides using pH-switchable deep eutectic solvents-based three-phase partitioning[J]. *Food Chemistry*, 2023, 412: 135557.
[6] YAN X Y, CAI Z H, ZHAO P Q, *et al.* Application of a novel and green temperature-responsive deep eutectic solvent system to simultaneously extract and separate different polar active phytochemicals from *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill[J]. *Food Research International*, 2023, 165: 112541.
[7] YUE W, LI X, JING J, *et al.* The green CO₂-controllable fatty acid-based deep eutectic solvents for sustainable oil separation[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2023, 378: 121590.
[8] PAN H Y, KOU P, YANG J, *et al.* A novel approach for efficient extraction and enrichment of phytochemicals with CO₂-based switchable-solvent from pigeon pea leaves[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 284: 124629.
[9] GUO Y (郭源), LI X J (李小江), LU H S (鲁红升), *et al.* Application of switched fatty acid solvent for extraction of oil sands[J]. *Applied Chemical Industry (应用化工)*, 2021, 50(2): 336-339.
[10] YANG D Z, WANG Y D, LI H, *et al.* Acid-base-governed deep eutectic solvent-based microextraction combined with magnetic solid-phase extraction for determination of phenolic compounds[J]. *Microchimica Acta*, 2020, 187(2): 124.
[11] WANG J D, GU Q, CAI Z H, *et al.* Efficient extraction and mechanism analysis of different polarity phytochemicals from *Rosa roxburghii* by a green CO₂-responsive switchable solvent combined with ultrasound[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2023, 11(51): 18051-18063.
[12] National committee compilation pharmacopoeia of the People's Republic of China (国家药典委员会). *The pharmacopoeia of the People's Republic of China*[M]. 2 nd. Beijing: China Medical Science and Technology Press (中国医药科技出版社), 2020.
[13] HANSEN C M. Hansen solubility parameters, a user's handbook[M]. 2nd ed. The United States of America: CRC Press, 2007.
[14] VAN KREVELEN D W, TE NIJENHUIS K. *Properties of polymers*[M]. 4th ed. Amsterdam: Elsevier, 2009.
[15] VAN KREVELEN D W, HOFFTYZER P J. *Properties of polymers. Their estimation and correlation with chemical structure*[M]. Amsterdam: Elsevier, 1976.
[16] MOHAMMAD M A, ALHALAWEH A, VELAGA S P. Hansen solubility parameter as a tool to predict cocrystal formation[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2011, 407(1): 63-71.
[17] ZHANG Y Q, PRAWANG P, LI C S, *et al.* Ultrasonic assisted extraction of artemisinin from *Artemisia Annu* L. using monoether-based solvents[J]. *Green Chemistry*, 2018, 20(3): 713-723.
[18] JIANG Y, PÉTRIER C, DAVID W T. Kinetics and mechanisms of ultrasonic degradation of volatile chlorinated aromatics in aqueous solutions[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2002, 9(6): 317-323.
[19] GONZE E, FOUREL L, GONTHIER Y, *et al.* Wastewater pretreatment with ultrasonic irradiation to reduce toxicity[J]. *Chemical Engineering Journal*, 1999, 73(2): 93-100.
[20] HUANG D T (黄冬婷), HUANG J S (黄俊生), TANG J J (汤静洁), *et al.* Ultrasonic-assisted ionic liquid extraction of ginseng polysaccharide and its antioxidant activity[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2022, 39(9): 1851-1857, 1871.