

超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的工艺优化

张文成¹, 潘 见¹, 陈克勋²

(1.农产品生物化工教育部重点实验室 合肥工业大学, 山东 合肥 230069;

2.中国科学技术大学化学与材料学院, 山东 合肥 230026)

摘 要: 以 30% 穿心莲内酯浸膏为原料, 进行了穿心莲内酯的超临界 CO₂ 萃取结晶工艺优选研究。利用单因素实验法考察了压力、温度、时间对穿心莲内酯分离纯化的影响。结果表明: 超临界 CO₂ 在萃取穿心莲内酯时, 出现同步结晶, 且在结晶板上呈梯度分布; 选择的较佳工艺参数为压力 20MPa, 温度 55℃, 时间 90min, 流量 15L/min 时, 得到的穿心莲内酯的纯度超过 80%。

关键词: 超临界 CO₂; 萃取; 结晶; 梯度分布; 穿心莲内酯

Study on the Technology Optimization on Extraction and Crystallization of *Andrographolide* by Supercritical CO₂

ZHANG Wen-cheng¹, PAN Jian¹, CHEN Ke-xun²

(1.Key Laboratory of Bioprocess of State Education Ministry, Hefei University of Technology,

Hefei 230069, China; 2.School of Chemistry and Material, University of Science and

Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: To separate and purify andrographolide by supercritical carbon dioxide extraction and crystallization with 30% andrographolide material. The single factor method to investigate the effect of technology parameters: pressure, temperature and time on purity of andrographolide was adopted. The result was that there was synchronous crystallization in separation and purity of andrographolide by supercritical CO₂ extraction, and gradie of appeared distributin on the crystal board. When we selected the parameters pressure 20MPa, temperature 55℃, and time of crystallization 90min, the purity of andrographolide

收稿日期: 2004-09-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29976008)

作者简介: 张文成(1973-), 男, 博士研究生, 主要从事天然产物有效成分超临界流体萃取分离技术、新方法研究与开发。

响不明显。在确定最佳工艺条件时, 应兼顾 α -亚麻酸的纯度与得率, 在包络反应中, 降低包络温度无疑会使 α -亚麻酸的纯度增加, 但过低的包络温度将促使 α -亚麻酸与尿素形成络合物, 同时降低 α -亚麻酸的得率。因此, 我们认为包络反应的最适条件为: 包络温度: -10°C ; 混合酸: 尿素: 乙醇: 1:3:6; 包络时间: 24h。所得 α -亚麻酸的纯度为 87.2%, α -亚麻酸的得率 69.5%。在实际生产中还可以通过增加包络次数进一步提高产品的纯度。酶法制取 α -亚麻酸是在常温、常压的温和条件下进行, 最大限度的保全了 α -亚麻酸的性质且减少了废弃物的排放, 有利于环境的保护。

参考文献:

- [1] 汤逢. 油脂化学(第一版)[M]. 江西科学技术出版社, 1985.
- [2] 魏决, 肖青. 紫苏油成分的测定及其开发[J]. 粮油食品科技, 1999, (4): 25.
- [3] (美)D 斯沃恩. 贝蕾油脂化学与工艺学(第四版)[M]. 秦洪万译. 北京: 轻工业出版社, 1992.
- [4] 张海满, 刘福祯, 等. 尿素包络法纯化 α -亚麻酸工艺研究(I)[J]. 中国油脂, 2001, 26(2): 41-44.
- [5] 赵人俊, 郑幼霞. 月见草油中 γ -亚麻酸富集研究[J]. 中国粮油学报, 1995, 10(2): 44-47.
- [6] Ziboh, Vincnt A. The role of n-3 fatty acids in psoriasis[J]. Med.Fatty Acids Inflammation, 1998: 45-53.

was more than 80%.

Key words: supercritical carbon dioxide; extraction; crystallization; gradient distribution; *andrographolide*

中图分类号: S337

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0119-04

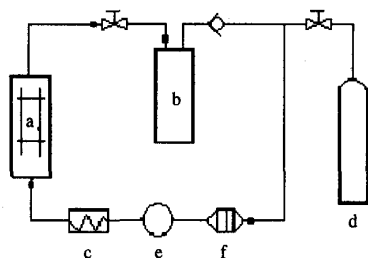
我国很早以前人们就有以穿心莲(*Andrographis paniculata*(Burm.f.) Nees)为药的记载。特别是近些年,医药领域报道了穿心莲中萜类穿心莲内酯(*andrographolide*)活性成分具有抗炎症和抗癌等药效^[1]。精制纯化过的穿心莲内酯,有助于开发新型高档穿心莲制剂或保健品。

目前报道的穿心莲内酯提取分离工艺主要是采用溶剂提取、树脂吸附分离等技术^[2,3],而采用超临界流体萃取技术未曾见报道。超临界流体萃取(supercritical fluid extraction, SCFE)是集萃取与分离于一体的新型分离技术。但天然药草中活性成分复杂,分子量、空间结构与超临界溶剂(如 CO₂)相差较大,单纯 SCFE 技术开发天然活性成分存在一定局限性^[4~6],特别是结晶性组分容易堵塞循环管道等问题。为此,作者拟采用超临界二氧化碳萃取结晶分离技术精制纯化穿心莲内酯^[7]。本文重点研究了萃取结晶关键工艺参数压力、温度、时间对穿心莲内酯分离纯化的影响,并进行了单因素优选。

1 材料与方法

1.1 实验设备

超临界二氧化碳萃取结晶装置(自行研制);萃取结晶釜 1.6L(高径比 10:1),工艺流程如图 1。



a 萃取结晶釜; b 分离釜; c 热交换器; d CO₂钢瓶;
e 压缩机; f 过滤器

图1 实验装备工艺流程

Fig.1 The flow chart of experimental apparatus

1.2 实验材料

穿心莲浸膏(穿心莲内酯纯度为 30%):合肥拓峰生物工程有限责任公司生产;穿心莲内酯对照品购于中国药品生物制品检定所;二氧化碳(99.8%食品级)等。

1.3 色谱检测条件

Waters HPLC 系统:包括 515 型输液泵,2487 紫外双光束检测器,Rheodyne7725i 型手动进样器,Mil-

lennium32 化学工作站;色谱柱:Waters Symmetryshield 5μm C₁₈柱(3.9×150mm);

流动相:65% 甲醇-35% 水。

1.4 实验方法

因超临界流体萃取结晶穿心莲内酯效果因压力、温度、时间等参量变化存在较大差异,故选择单因素实验进行初步工艺参数优选研究。

2 结果与分析

2.1 压力对萃取结晶穿心莲内酯影响

2.1.1 同一结晶板上晶体的分布

在萃取结晶温度为 55℃,时间 90min,流量 15L/min 条件下,选择萃取结晶压力为 15MPa。

将结晶板自底至顶部平均分为 5 段,由下至上取样,压力-纯度变化曲线如图 2 所示。

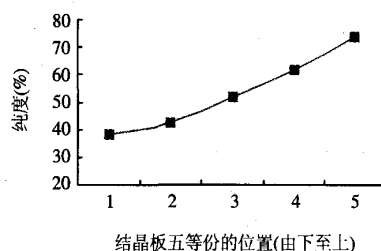


图2 穿心莲内酯晶体在结晶板上的分布情况

Fig.2 The distribution of *andrographolide* on crystal board

2.1.2 结晶板同一部位压力与纯度的变化关系

在萃取结晶温度为 55℃,时间 90min,流量 15L/min 条件下,选择压力为 10、15、20、25、30MPa。将结晶板平分为两段,因较高纯度的产品主要分布在结晶板上部,因此取样选择上段,压力-纯度变化曲线如图 3 所示。

2.1.3 结晶板同一部位压力与结晶量的变化关系

选择压力为 10、15、20、25、30MPa。将结晶板平分为两段,由上段取样,压力-结晶量关系如表 1 所示。

以图 3、表 1 的变化规律说明:穿心莲内酯的纯度在结晶板上呈梯度分布,可能是穿心莲内酯与其它杂质在超临界 CO₂ 中因重力、分子引力及结晶板表面吸附力作用差异,优势结晶效用形成梯度结晶分布;在其它工艺参数不变的情况下,随着压力的升高,结晶板上部

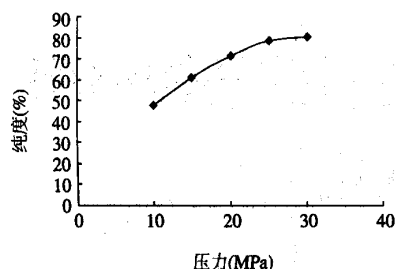


图3 萃取结晶压力对穿心莲内酯纯度的影响

Fig.3 Effect of pressure on the purity of andrographolide

表1 萃取结晶压力与穿心莲内酯结晶量分布

Table 1 Andrographolide mass on crystal board versus different pressure

| 压力(MPa) | 结晶量(g) | | 相对结晶量(%) |
|---------|--------|--------|----------|
| | 上 | 总 | 上 |
| 10 | 0.1213 | 0.3767 | 32.2 |
| 15 | 0.4253 | 1.2399 | 34.3 |
| 20 | 0.1722 | 0.4473 | 38.5 |
| 25 | 0.2636 | 0.7940 | 33.2 |
| 30 | 0.1707 | 0.6075 | 28.1 |

纯度越来越高, 上段的结晶量先增后降, 因压力升高, SC-CO₂ 溶解能力增强^[8], 携带晶体析出量增加, 出现纯度及结晶量的增加; 而压力超过一定值, 超临界流体的超强溶解能力必将削弱结晶, 而萃取到分离釜的穿心莲内酯量增加, 所以选择较适宜的壓力值 20MPa, 产品纯度超过 80%, 相对结晶量 38.5%。

2.2 温度对萃取结晶穿心莲内酯影响

在萃取结晶压力为 20MPa, 萃取时间 90min, CO₂ 流量 15L/min 条件下, 实验温度分别为 35、45、55、65℃。将结晶板平分两段, 取样仍选择上段, 得温度-纯度变化曲线如图 4 所示。

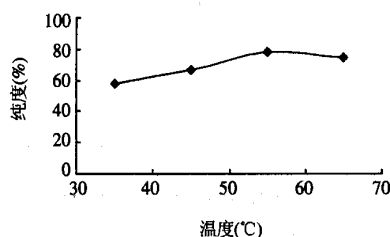


图4 萃取结晶温度对穿心莲内酯纯度的影响

Fig.4 Effect of temperature on the purity of andrographolide

由图 4 可知, 适当升高温度有利于穿心莲内酯结晶, 更有利于提高时效; 但温度超过 55℃后, 穿心莲内酯晶体纯度下降, 可能是温度升高, 分子活性增强,

当超过结晶板表面吸附力、重力、分子间作用力等的束缚温度, 萃取分离占优势, 而结晶析出转为劣势。

2.3 时间对萃取结晶穿心莲内酯影响

在萃取结晶压力为 20MPa, 萃取结晶温度 55℃, 流量 15L/min 条件下, 实验萃取结晶时间分别为 45、60、75、90、105、120min。将结晶板平分为两段, 由上段取样, 得时间-纯度变化曲线, 如图 5 所示。

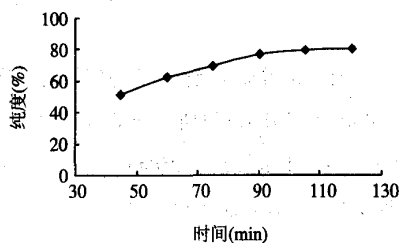


图5 萃取结晶时间对穿心莲内酯纯度的影响

Fig.5 Effect of time on the purity of andrographolide

由图 5 可知, 在其它工艺参数不变的情况下, 内酯纯度与温度也呈正相关, 特别是当时间超过 75min 后, 纯度变化缓慢, 考虑到晶体纯度与结晶量不同步性, 结晶量的积累还需要后延, 所以本实验选择的萃取结晶时间为 90min, 纯度达 80% 以上。

2.4 实验工艺流程

先称 50g 原料, 按照固液比 1:3 溶解(溶剂为乙醇), 50℃水浴搅匀, 静置、分层、过滤, 再进行萃取结晶: 设定萃取结晶压力 20MPa, 温度 55℃, 选择时间为 90min, 流量 15L/min。实验结束后, 取出结晶器, 分段称量、检测。

3 结论

3.1 超临界 CO₂ 在萃取穿心莲内酯的同时, 出现了同步结晶, 且晶体在结晶板上按梯度分布;

3.2 随着萃取结晶压力的升高, 结晶板上段纯度逐渐升高; 而结晶相对量和温度对纯度的影响都是先增后减; 时间与晶体的纯度是正相关系。

3.3 在本实验条件下, 选择较佳工艺参数萃取结晶压力 20MPa, 温度 55℃, 时间 90min, 流量为 15L/min 时, 多次实验结果都会获得纯度 80% 以上的穿心莲内酯。

参考文献:

- [1] 胥佩菱. 抗癌药物合成设计[M]. 北京: 北京医科大学和中国协和医科大学出版社, 1991.
- [2] 许天荣. 不同提取工艺对复方穿心莲片中穿心莲内酯含量影响[J]. 中成药, 1988, (12): 8-9.
- [3] 张艺, 张希, 赖先容, 等. 穿心莲提取工艺及其含量测定

嗜碱芽孢杆菌产环糊精葡萄糖基转移酶 发酵条件的优化

曹新志, 金征宇

(江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 对一株嗜碱芽孢杆菌产环糊精糖基转移酶的发酵条件进行了研究。利用单因素试验和正交试验获得该菌株产环糊精糖基转移酶的最佳条件为: 接种量 3%; 培养温度 30℃; pH10.5; 发酵培养基的组成为玉米粉 2%, 酵母膏 1.5%, 玉米浆 5%; 250ml 三角瓶装液量为 30ml; 270r/min 振荡培养 3d, 其发酵液酶活可达 5400U/ml 左右。10L 罐发酵时酶活可达 5820U/ml。

关键词: 嗜碱芽孢杆菌; 环糊精糖基转移酶; 发酵条件; 优化

Optimization Study on Cyclodextrin Glycosyltransferase Production by *Bacillus alkalophilus*

CAO Xin-zhi, JIN Zheng-yu

(College of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Conditions of cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) production by *Bacillus alkalophilus*12-7 were studied. The optimal fermentation conditions for cyclodextrin glycosyltransferase production were determined by a single-factorial experiment and orthogonal experiment. The results showed that the optimal conditions were as follows: amount of inoculum is 3%; incubation temperature 30℃; pH 10.5. The compositions of fermentation medium were maize powder 2%, yeast extract 1.5% and corn steep liquor 5%. The load of 250ml-flask was 30ml and the shaking incubation took 3d at 270r/min and the enzyme activity could reach to 5400 U/ml. In 10L-fermentor the enzyme activity could reach as high as 5820U/ml.

Key words: *Bacillus alkalophilus*; cyclodextrin glycosyltransferase; fermentation conditions optimization

中图分类号: Q55

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)02-0122-05

收稿日期: 2004-02-20

作者简介: 曹新志(1965-), 男, 副教授, 博士研究生, 研究方向为食品生物技术。

- 研究进展[J]. 中成药, 1993, 15(6): 6-7.
- [4] 朱自强. 超临界流体技术——原理和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [5] Hans Berg, Charlotta Turner, Lena Dahlberg, et al. Determination of food constituents based on SFE: applications to vitamins A and E in meat and milk[J]. J Biophys Methods, 2000, 43: 391-401.
- [6] Russell Thiering, Fariba Dehghani, Nei R. Foster. Current issues relating to anti-solvent micronisation techniques and their extension to industrial scales[J]. Journal of supercritical fluid, 2001, 21: 159-177.
- [7] 潘见, 杨克, 张文成. 超临界 CO₂ 萃取天然产物技术及发展[J]. 精细与专用化学品, 2001, 14: 14-16.
- [8] Jaw-Shin Cheng, Muoi Tang, Yan-Ping Chen. Correlation of solid solubility for biological compounds in supercritical carbon dioxide: comparative study using solution model and other approaches[J]. Fluid Phase Equilibria, 2002, 194-197: 483-491.