

穿心莲内酯超临界CO₂萃取结晶前浸提工艺研究

张文成^{1,2}, 潘 见¹, 谢慧明¹

(1. 合肥工业大学 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽 合肥 230009;

2. 中国科学技术大学高分子科学与工程系, 安徽 合肥 230026)

摘 要: 选择 30% 穿心莲内酯浸膏为原料, 采用溶剂预浸提法, 探讨了超临界 CO₂ 萃取结晶前处理工艺中溶剂种类、液固比、浸提温度、浸提时间、浸提次数的作用规律。结果表明: 超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯前处理工艺中选择了乙酸乙酯作为溶媒, 液固比为 6:1, 浸提温度 50℃, 时间 3h, 次数 2 次, 获得较优工艺, 所得浸膏中穿心莲内酯的纯度在 45% 以上, 浸提率超过 85%。

关键词: 超临界 CO₂; 萃取结晶; 穿心莲内酯; 前处理; 工艺

Investigation on Solvent Technology Prior Supercritical CO₂ Extraction and Crystallization of Andrographolide

ZHANG Wen-cheng^{1,2}, PAN Jian¹, XIE Hui-ming¹

(1. Engineering Research Center of Bio-process, Ministry of Education, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China

2. Department of Polymer Science and Engineering, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

Abstract: Extraction of Andrographis paniculata (Burm. f.) Nees (purity of andrographolide 30%) was investigated for the sorts of solvent, ratio of liquid to solid, extraction temperature, extraction hours and extraction times in technology. The results showed that the ethyl acetone is the optimal solvent with the technology parameters as: ratio of liquid to solid 6:1, extraction temperature

收稿日期: 2006-02-27

基金项目: 教育部科技创新工程重大项目培育基金项目(704027); 国家自然科学基金资助项目(29976008)

作者简介: 张文成(1973-), 男, 博士后, 主要从事超临界流体结晶新方法研究。

- | | |
|--|---|
| <p>[1] CALDWELL C G, HILLS F, OTTO B W. Polysaccharide derivatives of substituted dicarboxylic acids: United State, 2661349[P]. 1953.</p> <p>[2] 刘莲芳. 中国食品添加剂的新品种、新进展[J]. 食品工业科技, 1999, 20(3): 1-3.</p> <p>[3] 张煜, 张燕萍, 陈煦, 等. 二烯基琥珀酸淀粉酯的制备[J]. 无锡轻工大学学报, 2000, 19(5): 495-497.</p> <p>[4] 柳志强, 杨鑫, 高嘉安, 等. 辛烯基琥珀酸淀粉酯研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2003, 29(4): 81-85.</p> <p>[5] TRZASKO P T, TESSLER M M, DIRSCHERL T A. Starch derivatives forming reversible gels: United States, 4626288[P]. 1985.</p> <p>[6] 黄强, 杨连生, 罗发兴. 水相体系十二烯基琥珀酸淀粉钠的制备研究[J]. 食品与发酵工业, 2001, 27(2): 18-21.</p> <p>[7] TESSLER M M, WURZBURG O B, DIRSCHERL T A. Alkyl- and alkenyl-sulfosuccinate starch half-esters, a method for the preparation thereof: United States, 4387221[P]. 1983.</p> <p>[8] 关凌庭. 食品添加剂手册[M]. 2版. 北京: 化学工业出版社, 1995.</p> <p>[9] 高嘉安. 淀粉与淀粉制品工艺学[M]. 中国农业出版社, 2001.</p> <p>[10] 加藤义辉. 铃木(日)特开平11-193229[P]. 1999.</p> <p>[11] ROBIN M, KARI N, ERIC B. Enzymatic and acidic hydrolysis of cationized waxy maize starch granules[J]. Cereal Chem, 2000, 77(3):</p> | <p>345-353.</p> <p>[12] 鲍鲁生. 香辛料精油微胶囊化过程中油滴粒径的变化[J]. 食品科学, 2000, 21(12): 29-31.</p> <p>[13] 吴琼英, 马海乐, 李国文. 脂类及脂溶性物质的微胶囊技术[J]. 粮油加工与食品机械, 2000(5): 4-6.</p> <p>[14] WU Y, SEIB P A. Acetylated and hydroxylated distarch phosphate from waxy. Part I. Physicochemical properties of waxy barley[J]. Cereal Chem, 1990, 67(2): 202-220.</p> <p>[15] 王彦波. 淀粉生产与质量控制技术[M]. 北京: 中国商业出版社, 1998.</p> <p>[16] 张友松. 变性淀粉生产与应用手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1999.</p> <p>[17] JONASON M. British, 409769[P]. 1975.</p> <p>[18] 沈德言. 红外光谱法在高分子研究中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 1982.</p> <p>[19] 戈尔茨坦 J I. 扫描电子显微技术与X-射线纤维分析[M]. 北京: 科学出版社, 1988.</p> <p>[20] 葛毅强. 微胶囊型天然维生素E粉末的研制[J]. 食品工业, 2000(3): 32-34.</p> <p>[21] 大川实, 等. 乳化型淀粉分解物: 特开平5-301903[P]. 1993.</p> |
|--|---|

50℃, extraction time 3 hours and extraction 3 times. The extract of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees with more than 45% purity of andrographolide and more than 85% extraction ratio can be achieved.

Key words supercritical CO₂ extraction and crystallization; andrographolide pretreatment; technology

中图分类号 TQ28

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)02-0130-04

穿心莲内酯(Andrographolide)是穿心莲的主要药用成分之一, 具有抗炎、抗菌、降压、诱导细胞分化及抑制肿瘤生长等诸多方面的功效^[1-2]; 革兰氏阴性菌及部份革兰氏阳性菌对其敏感, 因此有广谱抗菌的作用; 穿心莲内酯还有抑制血小板聚集、抗血栓形成、抗心肌缺血、抵抗中毒性肝损害活性等作用^[3-4]。

虽然作者采用了独创的超临界流体萃取结晶方法^[5]分离纯化过穿心莲内酯, 但是穿心莲内酯存在于多种成分, 如纤维素、黄酮类、油脂类、色素等配位包络环境中, 直接采用超临界流体萃取的阻尼比较大。考虑到目前市场上低纯度的穿心莲浸膏较为丰富, 为此, 作者选择 30% 穿心莲内酯浸膏为原料, 进行实验研究。

浸膏中穿心莲内酯的纯度仅达 30%, 但还存在 70% 的杂质成分, 如直接进行超临界流体萃取结晶, 势必影响结晶率和产品纯度^[6], 为此作者创新性采用了溶剂预浸提前处理工艺, 以预先降低浸膏中干扰萃取结晶的杂质组分, 特别是多糖类、黄酮类等极性较大成分的含量。从而能组合超临界 CO₂ 萃取结晶开发更高纯度的穿心莲内酯等天然产物有效成分, 进而降低超临界流体技术的操作难度, 突出超临界流体技术的“绿色”环保关键控制作用。

本文主要介绍超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的前处理工艺, 重点讨论了工艺参数, 如浸提溶剂的选择, 液固比、浸提温度、浸提时间、浸提次数的选择。

1 材料与方法

1.1 材料、设备仪器

30%穿心莲内酯浸膏 合肥拓峰生物工程有限责任公司; 穿心莲内酯标准品 中国药品生物制品检定所; 二氧化碳(99.8% 食品级)、乙醇(分析纯)、丙酮(分析纯)、异丙醇(分析纯)、乙酸乙酯(分析纯)、甲醇(色谱纯)、重蒸水、电子天平; 40MPa 超临界二氧化碳萃取结晶装置(1.6L萃取结晶釜(高径比4:1~10:1)) 合工大生物机电工程研究所; HPLC 检测仪(配有紫外双光束检测器) 美国Waters公司。

1.2 工艺

本实验采用下列工艺进行穿心莲内酯超临界 CO₂ 萃取结晶工艺研究, 如图 1 所示。

1.3 方法

本文以 30% 穿心莲内酯浸膏为原料, 通过选择合适的溶剂和工艺参数, 预先除去一部分杂质, 以提高超

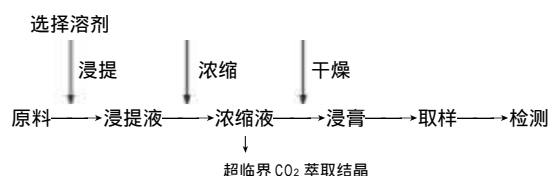


图1 穿心莲内酯超临界 CO₂ 萃取结晶原料前处理工艺流程

Fig.1 Technology flow chart before supercritical CO₂ extracting and crystallizing andrographolide

临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的效果, 重点进行。

(1) 浸提溶媒的选择;

(2) 工艺参数, 如液固比、浸提温度、浸提时间、浸提次数的选择。

为了提高浸提效果, 使实验数据更有实际应用价值, 浸提实验过程采用动态搅拌方式, 即动态浸提法进行实验。

1.4 溶剂选择原理

既然是溶剂浸提法, 溶剂的选择就显得至关重要。溶剂选择主要是根据“相似相溶”的原则。而溶剂的极性通常用介电常数 ϵ 来表示。介电常数 ϵ 的值越大, 其极性也越大^[7]。溶剂的极性与它们的亲脂性和亲水性相当。表 1 是常用溶剂的介电常数的值以及与极性的关系。

在复杂的混合物体系里, 由于各组分相互影响, 有时会产生增容现象, 有时又会相互生成难溶性化合物, 改变了欲提取组分的溶解性而提取困难。这种情况常常在中药的复方研究而发生。

表 1 常用溶剂的极性和介电常数
Table 1 Polarity and permittivity of common solvent

溶剂	介电常数(ϵ)	极性
苯	2.29	
乙醚(无水)	4.47	
氯仿	5.20	依
乙酸乙酯	6.11	次
丙酮	21.5	增
乙醇	26.0	强
甲醇	31.2	
水	81.0	

总之, 溶剂的选择对于提取过程的可行性以及效率都是非常重要的。除了根据上述的理论依据进行判断外, 还要进行尝试, 经验积累, 只有这样才能对不同的体系选定合适的提取溶剂, 达到理想的提取效果。而本实验夹带剂的选择就基于穿心莲内酯属于内酯类化合物, 极性不是非常强, 次中等极性的基础上, 选择乙

醇、丙酮、异丙醇及乙酸乙酯四种溶剂, 进行实验。

2 结果与分析

2.1 浸提溶剂的选择

选择固液比 6:1, 温度 50℃、时间 3h 条件下, 动态浸提 2 次, 分别考察乙醇、丙酮、异丙醇及乙酸乙酯四种溶剂的浸提效果, 并对浸提率和产品的纯度进行综合评价。结果如图 2、3 所示。

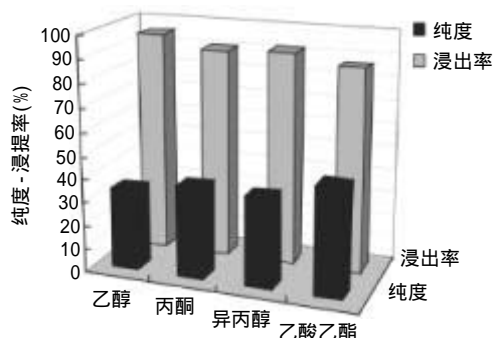


图2 溶剂与纯度-浸提率变化图

Fig.2 Relation between solvent and purity-extraction ratio

由图 2 的变化规律可知, 乙醇溶剂获得的浸提率最高, 达到 93%, 其次是丙酮、异丙醇, 乙酸乙酯溶剂得到的浸提率最低, 才达 85%; 而纯度却相反, 乙酸乙酯浸提穿心莲内酯的纯度最高, 达到 51%, 其次是异丙醇、丙酮, 乙醇溶剂浸提穿心莲内酯的纯度最低, 才达 36%。因选择溶剂预先浸提主要是降低杂质对超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的阻尼程度, 同时提高超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的可操作性。溶剂浸提预处理工序既要考虑浸提率较高, 也要考虑纯度较高, 为此需要进行。浸提率与纯度的综合评价。现把综合评价指标定义为:

$$\text{综合评价值}(\%) = \text{浸提率}(\%) \times A + \text{纯度}(\%) \times B$$

式中, A 的取值: 0~100%; B 的取值: 0~100%; 且 A+B=1。

考虑到实际应用中浸提率与纯度都很重要, 为此本实验选择为 A=50%、B=50%; 进而得到综合评价指标的线图 3 所示。

由图 3 可知, 乙酸乙酯的综合评价值最高。所以, 本研究选择乙酸乙酯作为超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的前处理工序中浸提溶剂。

2.2 液固比对提取效果的影响

以乙酸乙酯为浸提液, 选择浸提温度 50℃, 浸提时间 3h, 动态浸提 2 次, 可以浸没穿心莲浸膏粉为最低限度, 选择液固比 (V/V, ml/g) 为 3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1 进行实验。结果表明(图 4): 随着液固

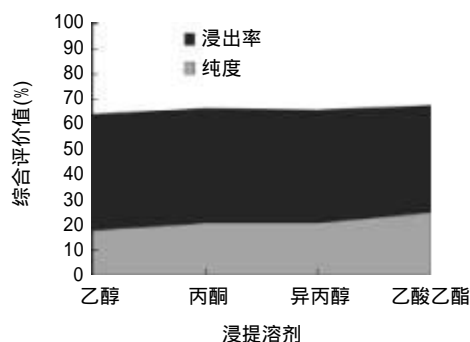


图3 四种溶剂浸提穿心莲内酯的综合评价

Fig.3 Composite effects of four solvents on extracting andrographolide

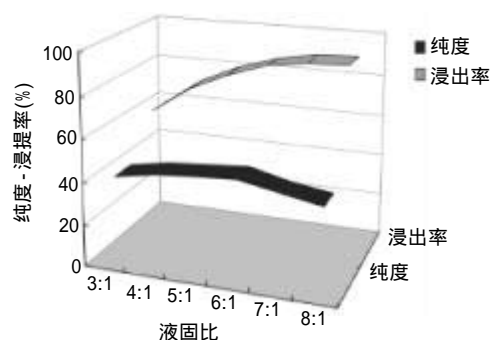


图4 液固比对浸提效果的影响

Fig.4 Effects of the ratio of liquid to solid on extraction

比的增加, 内酯浸出率提高, 当液固比达到 6:1 内酯纯度达到最高; 随着液固比的增加, 内酯纯度有所下降。从降低成本、节约能源和其它角度考虑, 可以选择 6:1 作为工业生产的依据。连续生产时, 可以采用续浸法, 即第一次提取液可直接浓缩, 第二、第三次提取稀液用来浸提下批原料, 依次类推, 获得浓度较高的提取液。

2.3 浸提温度对浸提效果的影响

以乙酸乙酯为浸提液, 选择液固比 (V/V, ml/g) 为 6:1, 浸提时间 3h, 动态浸提 2 次, 选择浸提温度 30、40、50、60、70℃进行实验。结果表明(见图 5): 随着温度的增高, 内酯浸出率也随之增大, 但内酯含

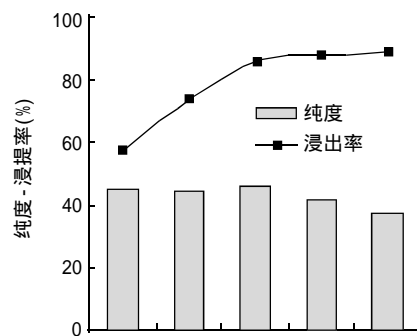


图5 浸提温度对浸提效果的影响

Fig.5 Effects of the temperature on extraction

量的变化呈现起伏不平的趋势。在温度为 50℃ 时, 穿心莲内酯纯度最高, 内酯浸出率也与其相应的最大值较接近, 作者认为选择在 50℃ 左右为宜。

2.4 浸提时间对提取效果的影响

以乙酸乙酯为浸提液, 选择液固比(V/V, ml/g) 为 6:1, 浸提温度 50℃, 动态浸提 2 次, 选择浸提时间 1、2、3、4、5 h 进行实验。结果表明(见图 6): 随着时间的延长, 内酯浸出率随之增加, 但在 3 h 的内酯含量达到最高值, 再随着时间的延长, 含量率急剧下降, 这是因为随着时间的延长, 杂质溶出增多, 而内酯基本不变化, 所以浸提时间取 3 h 为宜。

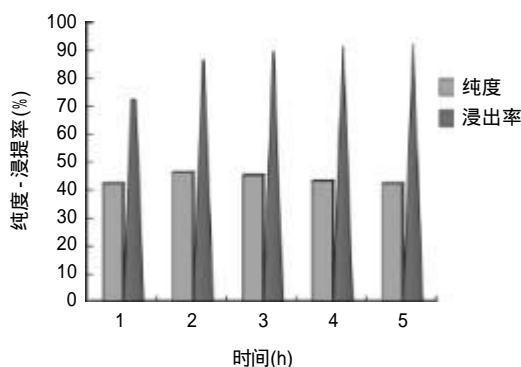


图6 浸提时间对浸提效果的影响

Fig.6 Effects of the time on extraction

2.5 提取次数对浸提效果的影响

以乙酸乙酯为浸提液, 选择液固比(V/V, ml/g) 为 6:1, 浸提温度 50℃, 浸提时间 3h, 选择动态浸提次数 1、2、3、4 进行实验。由图 7 变化曲线可以看出: 在浸提 2 次后, 内酯浸出率上升缓慢, 且浸提 2 次, 就可以达到内酯浸出率在 90% 以上, 但内酯含量随着浸提次数的增加, 下降较快。从生产成本和经济效益等方面考虑, 以浸提 2 次为宜。

2.6 工艺路线的确定

取 30% 穿心莲内酯浸膏 100g, 加入 2L 溶剂, 在浸提釜中搅拌 5min, 50℃ 水浴静态浸提 3h/ 次, 2 次, 用 200 目滤网过滤浸提液, 再真空浓缩浸提液, 得到 300ml 浓缩液, 此为超临界 CO₂ 萃取结晶的原料。即得到如下工艺路线:

30% 穿心莲内酯浸膏 → 6 倍体积乙酸乙酯溶解 → 浸提 2 次, 每次 3h → 过滤 → 浸提液浓缩 → 待超临界 CO₂ 萃取结晶。

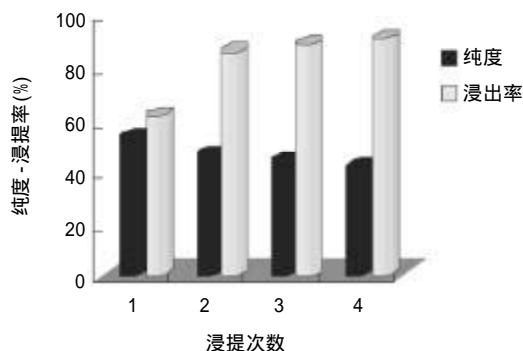


图7 浸提次数对提取效果的影响

Fig.7 Effects of times on extraction

3 结 论

3.1 综合评价, 优选出乙酸乙酯为浸提溶剂。

3.2 通过四组单因素试验, 对穿心莲内酯超临界 CO₂ 萃取结晶前处理浸提工艺进行研究。选择适宜的液固比、浸提温度、时间、次数是整个前处理工艺的关键。

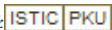
3.3 实验结果表明, 以 6 倍体积乙酸乙酯溶解 30% 穿心莲浸膏, 在 50℃ 热浸提的条件下浸提 2 次, 每次 3h, 穿心莲内酯提取效果最佳, 内酯浸出率在 85% 以上, 浸出物中穿心莲内酯含量在 45% 以上。

选择上述实验结果作工艺设计参数, 为建立超临界流体萃取结晶技术开发高纯度银杏内酯中试生产线奠定基础。

参考文献:

- [1] SINGH J, REEN R K. In vitro assessment of paracetamol-induced toxicity in the rat reuber hepatoma H4IIEC3/G- cell line competent of xenobiotics metabolism[J]. Toxicology in vitro, 1999, 13: 897-903.
- [2] HE Xiang-jiu, LI Jian-kuan, GAO Hao, et al. Four new andrographolide metabolites in rats[J]. Tetrahedron, 2003, 59: 6603-6607.
- [3] ZHANG C Y, TAN B K H. Mechanisms of cardiovascular activity of Andrographis paniculata in the anaesthetized rat[J]. Journal of Ethnopharmacology, 1997, 56: 97-101.
- [4] CHEUNG H Y, CHEUNG C S, KONG C K. Determination of bioactive diterpenoids from Andrographis paniculata by micellar electrokinetic chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2001, 930: 171-176.
- [5] 张文成. 穿心莲内酯超临界 CO₂ 萃取结晶研究[D]. 安徽: 合肥工业大学, 2005.
- [6] 张文成, 潘见, 陈克勋. 超临界 CO₂ 萃取结晶穿心莲内酯的工艺优化[J]. 食品科学, 2005, 26(2): 119-122.
- [7] 刘湘, 汪秋安. 天然产物化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.

穿心莲内酯超临界CO₂萃取结晶前浸提工艺研究

作者: [张文成](#), [潘见](#), [谢慧明](#), [ZHANG Wen-cheng](#), [PAN Jian](#), [XIE Hui-ming](#)
作者单位: [张文成, ZHANG Wen-cheng \(合肥工业大学, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽, 合肥, 230009; 中国科学技术大学高分子科学与工程系, 安徽, 合肥, 230026\)](#), [潘见, 谢慧明, PAN Jian, XIE Hui-ming \(合肥工业大学, 农产品生物化工教育部工程研究中心, 安徽, 合肥, 230009\)](#)
刊名: [食品科学](#) 
英文刊名: [FOOD SCIENCE](#)
年, 卷(期): 2007, 28 (2)

参考文献(7条)

1. [刘湘;汪秋安](#) [天然产物化学](#) 2005
2. [张文成;潘见;陈克勋](#) [超临界CO₂萃取结晶穿心莲内酯的工艺优化](#)[期刊论文]-[食品科学](#) 2005 (02)
3. [张文成](#) [穿心莲内酯超临界CO₂萃取结晶研究](#)[学位论文] 2005
4. [CHEUNG H Y;CHEUNG C S;KONG C K](#) [Determination of bioactive diterpenoids from Andrographis paniculata by micellar electrokinetic chromatography](#)[外文期刊] 2001
5. [ZHANG C Y;TAN B K H](#) [Mechanisms of cardiovascular activity of Andrographis paniculata in the anaesthetized rat](#) 1997
6. [HE Xiang-jiu;LI Jian-kuan;GAO Hao](#) [Four new andrographolide metabolites in rats](#)[外文期刊] 2003 (34)
7. [SINGH J;REEN R K](#) [In vitro assessment of paracetamol-induced toxicity in the rat reuber hepatoma H4IIEC3/G-cell line competent of xenobiotics metabolism](#)[外文期刊] 1999

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_spkx200702031.aspx