

超临界 CO₂ 流体萃取-精馏联用技术提取 脱酸月见草油的工艺优选

谷满仓^{1*}, 钱亚芳²

(1. 浙江中医药大学, 杭州 310053; 2. 浙江省中医院, 杭州 310006)

[摘要] 目的: 优选超临界 CO₂ 流体萃取-精馏联用技术(SCFEF)提取脱酸月见草油的工艺条件。方法: 以得油率和 γ -亚麻酸含量为指标, 采用单因素试验考察萃取压力、萃取温度、分离压力和分离温度对月见草油提取工艺的影响。比较 SCFEF 与超临界 CO₂ 流体萃取技术(SCFE)提取的月见草油质量差异。结果: 优选的脱酸月见草油提取工艺参数为萃取压力 22 MPa, 萃取温度 308 K, 分离压力 10~12 MPa, 分离温度 321 K, CO₂ 用量 45 kg, 脱酸月见草油得率 16.7%~18.1%, 酸值 0.85~1.21 mg KOH·g⁻¹, 所得脱酸月见草油各项理化指标均优于 SCFE 所得月见草油。结论: SCFEF 通过将萃取、分离与纯化工序耦合, 可做到一步提取脱酸月见草油。

[关键词] 超临界 CO₂ 流体萃取-精馏联用; 月见草油; 脱酸; γ -亚麻酸

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0011-04

[doi] 10.11653/syfy2013130011

Optimization of Supercritical CO₂ Fluid Extraction-Fractionation Technology for One Step Deacidification of Evening Primrose Oil

GU Man-cang^{1*}, QIAN Ya-fang²

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China;

2. Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize extraction technology conditions of deacidification evening primrose oil by supercritical CO₂ fluid extraction-fractionation technology (SCFEF). **Method:** With yield of oil and the content of γ -linolenic acid as indexes, single factor tests were adopted to investigate effect of extraction pressure, extraction temperature, separation pressure and separation temperature on extraction technology of evening primrose oil. And quality differences of evening primrose oil was compared, which were extracted by SCFEF and supercritical CO₂ fluid extraction (SCFE). **Result:** Optimal extraction parameters were as follows: extraction pressure 22 MPa, extraction temperature 36 °C, separation pressure 10-12 MPa, separation temperature 48 °C, dosage of CO₂ 45 kg, oil yield 16.7%-18.1%, the acid values of 0.85-1.21 mg KOH·g⁻¹, each physical and chemical indicators of evening primrose oil from SCFEF were better than that from SCFE. **Conclusion:** SCFEF successfully prepared deacidified evening primrose oil by integration of extraction, separation and purification processions into one step.

[Key words] supercritical CO₂ fluid extraction-fractionation technology; evening primrose oil; deacidification; γ -linolenic acid

[收稿日期] 20130109(005)

[基金项目] 教育部高等学校博士学科点专项科研基金项目(20112327120008); 浙江省科技厅钱江人才计划项目(2011R10068)

[通讯作者] * 谷满仓, 博士, 讲师, 从事中药超临界 CO₂ 流体萃取分离研究, Tel:0571-86613524, E-mail:mancanggu@yahoo.com.cn

月见草油中富含 γ -亚麻酸, 具有抗炎、抗氧化、抗血栓、降脂等作用^[1]。超临界 CO_2 流体萃取技术 (SCFE) 作为一种新型的“绿色萃取技术”已被广泛用于提取中药有效成分^[2-3], 但常规 SCFE 提取的月见草油中含有大量杂质, 酸值较高, 无法达到药用标准^[4], 因此需进一步精制处理, 且无法发挥 SCFE 萃取效率高、萃取温度低的优势。超临界 CO_2 流体精馏技术 (SCFF) 是一种新型的油脂精制工艺, 可实现快速制备脱酸油脂, 已被用于鱼油、米糠油等多种高级食用油的精炼工艺, 但在药用油脂精制中应用较少。本实验将 SCFE 与精馏技术相耦合, 将萃取与脱酸工艺合二为一, 通过单因素试验优选耦合技术的关键工艺参数, 以实现一步法提取脱酸月见草油, 并比较其与 SCFE 所得月见草油的品质差异, 为应用超临界 CO_2 流体萃取精馏联用技术 (SCFEF) 提取脱酸月见草油的推广提供实验依据。

1 材料

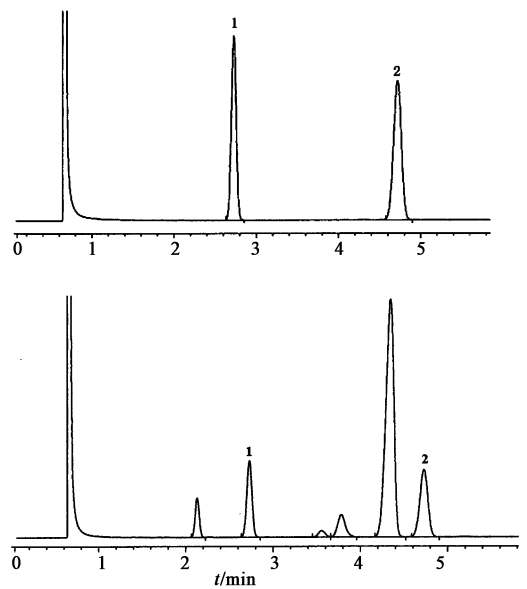
SFE-I 型超临界 CO_2 萃取装置 (广州轻工研究所), Agilent 6980N 型气相色谱仪 (美国 Agilent 公司), Mettler AX205 型电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司)。干燥月见草籽 (沈阳天奇有机制品有限公司, 批号 20091111, 经浙江中医药大学药学院俞冰副教授鉴定为柳叶菜科月见属月见草 *Oenothera biennis* L. 的种子), γ -亚麻酸甲酯对照品 (Sigma 公司, 批号 114K1303), 十七烷酸甲酯 (Sigma 公司, 批号 015K212), 试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 月见草油样品制备 将干燥月见草籽粗粉 (60 目) 约 360 g 装入萃取釜中, 调节至所需温度与压力, 开始萃取操作。进行 SCFEF 试验时, 使流体经高效精馏柱后再从解析釜中析出, 进行 SCFE 试验时则使超临界流体绕过高效精馏柱直接从解析釜中析出。待系统稳定后于规定时间分别从高效精馏柱与解析釜中收集萃取物, 称重, 充 N_2 , $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存, 待用。解析压力 4~5 MPa, 解析温度 296~298 K, CO_2 流量 $15\text{ kg}\cdot\text{h}^{-1}$ 。

2.2 γ -亚麻酸含量测定^[5]

2.2.1 色谱条件 HP-INNOWax 石英毛细管柱 (0.32 mm \times 30 m, 0.25 μm), FID 检测器, 柱温 $190\text{ }^\circ\text{C}$, 进样口和检测器温度 $250\text{ }^\circ\text{C}$, 载气 N_2 (纯度 $>99.999\%$), 分流比 15:1, 进样量 2.0 μL , 以十七烷酸甲酯为内标, 按内标加校正因子法计算峰面积, 结果乘以 0.952, 即得, 见图 1。



A. 对照品; B. 供试品; 1. 十七烷酸甲酯 (内标); 2. γ -亚麻酸甲酯

图 1 月见草油 GC

2.2.2 对照品溶液与内标溶液制备 精密量取 γ -亚麻酸甲酯对照品适量, 加正己烷配制成 $3.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。另精密量取十七烷酸甲酯内标物适量, 加正己烷配制成 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的内标溶液。

2.2.3 供试品溶液制备 精密量取月见草油适量, 加 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钾甲醇溶液 2.0 mL, 充 N_2 , 于 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中皂化约 15 min, 放冷, 加三氟化硼甲醇溶液 2.0 mL, 充 N_2 , 于 $65\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中甲酯化 2 min, 放冷, 精密加入正己烷 4 mL, 振摇, 加入饱和氯化钠溶液至刻度, 充 N_2 , 静置待分层, 精密吸取上层清液 1.0 mL, 与 1.0 mL 内标溶液混合均匀, 即得。

2.3 酸值与过氧化值测定 精密称取月见草油样品适量, 分别按《中国药典》2010 年版一部附录 IX N 和 IX P 项下方法测定酸值与过氧化值。

2.4 单因素试验考察

2.4.1 萃取压力 其他条件固定, 分别考察萃取压力为 15, 19, 22, 25 MPa 对得油率 (图 2) 和 γ -亚麻酸含量的影响。结果而 γ -亚麻酸质量分数分别为 $(6.35 \pm 0.85)\%$, $(7.29 \pm 0.78)\%$, $(8.08 \pm 0.79)\%$, $(8.18 \pm 0.88)\%$, 表明月见草油得率和 γ -亚麻酸含量随萃取压力的升高而增加, CO_2 积累用量 $>37\text{ kg}$ 后得油率曲线已趋于平直, 说明萃取已基本完全。

2.4.2 萃取温度 其他条件固定, 考察不同萃取温度 (304, 309, 319, 329 K) 对得油率和 γ -亚麻酸含量的影响。结果得油率分别为 $(18.06 \pm$

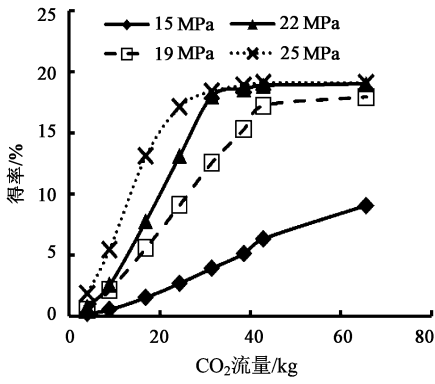


图2 萃取压力对月见草油得率的影响

2.11)% , (19.01 ± 2.03)% , (16.16 ± 1.67)% , (12.89 ± 1.32)% ; γ -亚麻酸质量分数分别为 (8.03 ± 0.84)% , (8.08 ± 0.79)% , (7.81 ± 1.05)% , (7.02 ± 0.93)% ; 说明随萃取温度上升, 月见草油得油率和 γ -亚麻酸含量呈现先小幅升高后逐渐降低的趋势。

2.4.3 分离压力 固定其他条件不变, 考察不同分离压力对月见草油质量的影响, 结果见表1。表明随分离压力的提高, 月见草油得率和过氧化值下降; 当分离压力升至10 MPa时, 产物酸值骤降, γ -亚麻酸含量则增加较多, 说明10 MPa时分离柱对月见草油具有较高的选择性, 此时得油率最高, 所得萃取产物为黄色澄清液体。

2.4.4 分离温度 固定其他条件不变, 考察不同分离温度对月见草油质量的影响, 结果见表2。

 表1 分离压力对得油率和月见草油质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分离压力 /MPa	得油率 /%	酸值 /mg KOH · g ⁻¹	过氧化值 /meq · kg ⁻¹	γ -亚麻酸质量分数 /%
6	19.20 ± 1.86	9.84 ± 0.22	16.20 ± 1.74	8.11 ± 0.91
8	18.12 ± 2.04	10.70 ± 0.30	8.03 ± 0.79	8.18 ± 0.88
10	17.65 ± 1.50	2.06 ± 0.17	4.27 ± 0.59	8.75 ± 0.95
12	16.52 ± 1.55	0.85 ± 0.03	3.98 ± 0.54	8.84 ± 0.89

 表2 分离温度对得油率和月见草油质量的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

分离温度 /K	得油率 /%	酸值 /mgKOH · g ⁻¹	过氧化值 /meq · kg ⁻¹	γ -亚麻酸质量分数 /%
312	15.96 ± 1.66	3.48 ± 0.18	7.69 ± 0.79	8.21 ± 0.81
316	17.60 ± 2.01	2.00 ± 0.18	4.72 ± 0.66	8.72 ± 0.89
321	18.11 ± 1.99	1.10 ± 0.10	3.12 ± 0.45	8.85 ± 0.97
326	18.32 ± 2.14	2.26 ± 0.21	5.07 ± 0.49	8.64 ± 0.90

2.5 不同提取工艺比较 在单因素试验基础上, 分别采用 SCFEF 和 SCFE 萃取月见草油, 对2种方法所得月见草油进行考察。结果见表3, SCFE 所得月见草油色深、混浊, 酸值和过氧化值高, 不能直接作为药用原料, 必须进一步精制。采用 SCFEF 分离压力为10 MPa时, 酸值和过氧化值已符合月见草油国家药品标准^[6], 达到了一步制备脱酸月见草油目的。

 表3 不同超临界萃取方法所得月见草油质量的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

萃取方法	外观性状	酸值 /mgKOH · g ⁻¹	过氧化值 /meq · kg ⁻¹	γ -亚麻酸质量分数 /%	得油率 /%
超临界 CO ₂ -精馏联用 A ¹⁾	淡黄色澄清液体	1.21 ± 0.13	3.14 ± 0.22	8.90 ± 0.10	18.11 ± 1.13
超临界 CO ₂ -精馏联用 B ²⁾	淡黄色澄清液体	0.85 ± 0.07	2.36 ± 0.12	9.05 ± 0.07	16.70 ± 0.92
常规超临界 CO ₂	橙黄色浑浊液体	10.66 ± 1.02	17.22 ± 1.60	8.07 ± 0.12	19.01 ± 1.77
国家药品标准	淡黄色澄清液体	<2.5	<12	>7.5	-

注: ¹⁾分离压力10 MPa, 分离温度321 K; ²⁾分离压力12 MPa, 分离温度321 K。

3 讨论

考察了 SCFEF 不同工艺条件对月见草油得率、酸值、过氧化值和 γ -亚麻酸含量的影响。研究显示, 分离压力对月见草油得率与理化指标影响最显著, 当分离压力在10~12 MPa时已达到了制备脱酸月见草油的目的, 所得月见草油理化指标达到国家药品标准要求。本实验充分利用了超临界 CO₂ 流体密度在低压区受温度影响大的特性, 通过

“温度倒置效应”在精馏塔内形成密度差, 从而大大提高了分离过程的选择性^[7]。目前该原理已被成功应用于从沉香油中分离挥发油^[8]及从米糠油中脱除游离脂肪酸^[9]。通过联用技术将 SCFE 与 SCFF 整合于同一个工艺过程, 实现了从月见草籽中一步提取脱酸月见草油, 与传统制备工艺相比, 极大地简化了工艺过程, 提高了萃取效率并降低了 γ -亚麻酸被氧化降解的可能性。

微粉化增溶技术在残黄片工艺中的应用

陈红鸽^{1,2}, 韩晋², 袁海龙^{2*}, 高春生¹

(1. 军事医学科学院毒物药物研究所, 北京 100850; 2. 中国人民解放军第 302 医院, 北京 100039)

[摘要] 目的: 考察微粉化残黄片的体外溶出度及退黄药效作用, 优选微粉化残黄片的超微粉粒度。方法: 以小檗碱为指标, 采用 HPLC 测定不同粉碎粒度的微粉残黄片在不同时间段的小檗碱溶出量, 计算累计溶出度, 观察溶出情况; 采用 4% ANIT 造成大鼠高黄疸模型, 按给药方案给药, 股动脉取血, 测定血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、总胆红素 (TBIL)、直接胆红素 (DBIL)、谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 等血清生化指标, 评价不同粉碎粒度的微粉残黄片的退黄效果。以体外溶出及退黄效果综合优选微粉化残黄片的超微粉粒度。结果: 随粉碎目数的增加, 黄连中小檗碱的累计溶出率增加, 200 目和 300 目 60 min 时累计溶出率可分别达 94.86%, 96.18%; 在退黄效果方面, 200 目残黄片可显著降低 ALT, AST 和 γ -GT, 且作用强于 100, 150, 300 目的残黄片, 在降低 ALT 和 γ -GT 作用上甚至优于对照药熊去氧胆酸片。综合残黄片的外观性状及生产实际, 确定最佳微粉粒度 200 目。结论: 以体外溶出及退黄效果综合优选微粉化残黄片的超微粉粒度是一种简便、可行的试验设计方法, 可推广应用。

[关键词] 残黄片; 超微粉碎; 溶出度; 退黄

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0014-04

[doi] 10.11653/syfj2013130014

[收稿日期] 20130123 (008)

[基金项目] 国家“重大新药创新”科技重大专项 (2011ZX09201-201-14, 2011ZX09201-201-35)

[第一作者] 陈红鸽, 硕士, 主管药师, 从事中药新型给药系统研究, Tel: 010-66933224, E-mail: gezichen@126.com

[通讯作者] *袁海龙, 博士, 主任药师, 从事中药新剂型研究, Tel: 010-66933367, E-mail: gezichen@126.com

[参考文献]

- [1] Stonemetz D. A review of the clinical efficacy of evening primrose [J]. *Holist Nurs Pract*, 2008, 22 (3): 171.
- [2] 蒋顶云, 蒋长兴, 熊清平, 等. 皱皮木瓜中齐墩果酸的超临界 CO₂ 提取工艺优选 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18 (17): 20.
- [3] 李卫民, 王治平, 刘杰, 等. 超声强化超临界流体萃取对大黄总蒽醌提取效果的探究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16 (10): 20.
- [4] 王腾宇, 李振岚, 齐颖, 等. 超临界 CO₂ 萃取月见草油的研究 [J]. *食品科技*, 2010, 35 (10): 222.
- [5] 谷满仓, 王辉, 蒋国潮, 等. 气相色谱法测定月见草籽超临界流体萃取物中有效成分的含量 [J]. *医学研究杂志*, 2009, 38 (2): 57.

- [6] 国家食品药品监督管理局. 国家药品标准. WS₁-XG-2002 [S]. 北京: 国家食品药品监督管理局编委会, 2002: 26.
- [7] Vasquez L, Hurtado-Benavides A M, Reglero G, et al. Deacidification of olive oil by countercurrent supercritical carbon dioxide extraction: experimental and thermodynamic modeling [J]. *J Food Eng*, 2009, 90 (4): 463.
- [8] 李勇, 蒋海强, 巩丽丽, 等. 沉香种子超临界 CO₂ 萃取物的气相色谱-质谱联用分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18 (16): 142.
- [9] Chen C R, Wang C H, Wang L Y, et al. Supercritical carbon dioxide extraction and deacidification of rice bran oil [J]. *J Supercrit Fluids*, 2008, 45 (3): 322.

[责任编辑 全燕]