

超临界二氧化碳萃取蜘蛛香油工艺的研究

杨 军¹, 龙庆德², 罗喜荣², 黄 静², 田弋夫^{1*}

(1. 中国科学院地球化学研究所, 贵州 贵阳 550002; 2. 贵阳医学院, 贵州 贵阳 550004)

摘要:目的 探讨超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香油的优化工艺条件。方法 采用均匀设计及偏最小二乘法考察萃取压力、萃取温度、物料粒度和萃取时间对蜘蛛香油得率的影响。结果 优化萃取条件为萃取压力 30 MPa、萃取温度 60℃、物料粒度 120 目、萃取时间 40 min, 此条件下蜘蛛香油得率为 6.92%。结论 该工艺可靠易行, 提取效率高。

关键词:蜘蛛香; 超临界二氧化碳萃取; 均匀设计; 偏最小二乘

DOI 标识: doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2012.01.069

中图分类号: R284.2 文献标识码: B 文章编号: 1008-0805(2012)01-0157-01

蜘蛛香又名马蹄香、土细辛、心叶缬草、老虎七等, 为败酱科缬草属植物蜘蛛香 *Valeriana jatamansi* Jones. 干燥根茎及根, 性温, 味辛、微苦, 具有镇静安神、理气止痛、消炎止泻、祛风除湿等功效, 主产于贵州、四川、云南等省。蜘蛛香系苗族习用药材, 收载于贵州省地方标准^[1], 贵州民间常用其治疗心腹疼痛、镇静、顺气消食、止水泄等。蜘蛛香含有挥发油、环烯醚萜类、黄酮类和多糖等化学成分^[2], 其挥发油具有镇静、抗菌、抗病毒和细胞毒及抗肿瘤等作用^[3], 是蜘蛛香的药效成分。有关蜘蛛香油提取工艺的研究鲜有报道, 超临界 CO₂ 对中药脂溶性成分具有强溶解能力和高选择性, 本文采用均匀设计及偏最小二乘法优化超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香油工艺, 以期寻找最佳萃取工艺条件。

1 材料与仪器

蜘蛛香(贵州织金产), 冷冻一夜后粉碎成不同粒度颗粒备用; 4L 超临界萃取装置(自行研制); CO₂ 为食品级(纯度 99.9%)。

2 方法

2.1 均匀实验设计 根据预试验结果, 以萃取压力(X₁)、萃取温度(X₂)、物料粒度(X₃)和萃取时间(X₄)为自变量, 蜘蛛香油得率(Y)为因变量, 每因素设 6 个水平, 选择 U₇(7⁶) 表组成 U₆(6⁴) 表安排均匀设计实验。因素水平见表 1。

表 1 因素水平

水平	X ₁ /MPa	X ₂ /℃	X ₃ /目	X ₄ /min
1	10	35	20	10
2	14	40	40	20
3	18	45	60	30
4	22	50	80	40
5	26	55	100	50
6	30	60	120	60

2.2 超临界萃取 取不同粒度蜘蛛香粉 200 g 置于超临界萃取器, 设定解析压力为 5MPa, 解析温度为 50℃, CO₂ 流量为 20 L/h, 当达到预定温压条件, 泵入 CO₂ 萃取一定时间得黄褐色油状物, 称重并计算蜘蛛香油得率。

3 结果与讨论

3.1 实验结果及模型方程的建立 超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香油实

验均匀设计方案及实验结果见表 2。利用 Minitab 16 软件对表 2 实验数据进行二次多元回归, 发现 X₁ 和 X₂ 的方差膨胀因子为 63.57 和 226.70, 表明体系存在较强多重共线性, 进而采用偏最小二乘法进行回归建模分析, 经交叉验证(逐一剔除法)得到用 4 个主成分建立的二次多项式回归模型: $Y = 0.563524 + 0.010363X_1 + 0.015698X_2 + 0.001821X_3 - 0.004145X_4 - 0.000121X_1^2 + 0.000202X_2^2 + 0.000026X_3^2 - 0.000177X_4^2 + 0.000096X_1X_2 + 0.000083X_1X_3 + 0.00314X_1X_4 + 0.000023X_2X_3 + 0.00009X_2X_4 + 0.000015X_3X_4$

表 2 U₆(6⁴) 实验方案及结果

水平	X ₁ /MPa	X ₂ /℃	X ₃ /目	X ₄ /min	Y(%)
1	10	40	60	60	3.23
2	14	50	120	50	4.75
3	18	60	40	40	4.78
4	22	35	100	30	4.25
5	26	45	20	20	3.63
6	30	55	80	10	3.96

对该模型进行方差分析结果见表 3, 由表 3 可知模型 $P = 0.045 < 0.05$ 表明该模型显著, $R^2 = 0.999 1$, 说明该模型拟合程度良好。

表 3 回归模型的方差分析

方差来源	自由度	SS	MS	F	P
回归	4	1.903 06	0.475 765	273.54	0.045
残差误差	1	0.001 74	0.001 739		
合计	5	1.904 8			$R^2 = 0.999 1$

3.2 因素影响分析 标准回归系数绝对值大小直接反映了各自变量对因变量的影响程度, 标准回归系数绝对值越大, 其所对应的自变量对因变量的影响亦越大, 据此判断因素对考察指标影响的主次和重要性。回归模型系数分析结果见表 4, 根据使用标准回归系数评价自变量对因变量影响的标准^[4], 由表 4 可知各因素对蜘蛛香油得率的影响顺序为 X₂(正相关) > X₁(正相关) = X₄(负相关) > X₃(正相关), 即萃取温度影响最大, 萃取压力和萃取时间影响次之, 物料粒度影响最小; 模型中一次项 X₂、二次项 X₂² 和 X₃² 影响较明显, 二次项 X₄² 影响明显, 交互项 X₁X₄ 影响特别显著, 其他项影响不明显。

3.3 工艺优化 采用 Maple14 软件根据设定的优化条件对回归模型进行优化, 得到 Y 有极大值的各因素组合为 X₁ = 30, X₂ = 60, X₃ = 120, X₄ = 60。但应用该工艺条件于实际操作, 蜘蛛香油在 40 min 内即已提取完全, 由此可确定蜘蛛香油的最优提取工艺条件为萃取压力 30 MPa、萃取温度 60℃、物料粒度 120 目、萃取时间 40 min, 此条件下蜘蛛香油理论得率为 7.27%。经验证实验蜘蛛香油得率为 6.92%, 与模型预测值相对偏差 < 5%, 说明该优化工艺条件重复性较好, 回归模型可靠。

收稿日期: 2011-07-06; 修订日期: 2011-11-15

基金项目: 贵州省中药现代化专项项目(No. [2007]5016);

贵州省科技基金项目(No. J[2011]2288)

作者简介: 杨 军(1972-), 男(苗族), 贵州松桃人, 现任中国科学院地球化学研究所副研究员, 硕士学位, 主要从事生物资源开发利用及超临界流体技术研究工作。

* **通讯作者简介:** 田弋夫(1972-), 男(汉族), 贵州贵阳人, 现任中国科学院地球化学研究所副研究员, 学士学位, 主要从事生物资源开发利用及超临界流体技术研究工作。

表 4 回归模型系数分析

因素	回归系数	标准回归系数	显著性
常量	0.563 524	0.000 000	
X ₁	0.010 363	0.125 639	
X ₂	0.015 698	0.237 913	较明显
X ₃	0.001 821	0.110 388	
X ₄	-0.004 145	-0.125 639	
X ₁ ²	-0.000 121	-0.059 429	
X ₂ ²	0.000 202	0.292 185	较明显
X ₃ ²	0.000 026	0.221 257	较明显
X ₄ ²	-0.000 177	-0.382 682	明显
X ₁ X ₂	0.000 096	0.067 577	
X ₁ X ₃	0.000 083	0.114 313	
X ₁ X ₄	0.003 140	0.796 953	特别显著
X ₂ X ₃	0.000 023	0.066 220	
X ₂ X ₄	0.000 090	0.129 430	
X ₃ X ₄	0.000 015	0.052 299	

4 结论

通过均匀设计实验和偏最小二乘回归建模分析,得到超临界 CO₂ 萃取蜘蛛香油优化工艺条件为萃取压力 30 MPa、萃取温度 60℃、物料粒度 120 目、萃取时间 40 min,此条件下蜘蛛香油得率为 6.92%。该工艺具有萃取率高、速度快、操作简便等优点,是提取蜘蛛香油的理想方法之一。

参考文献:

[1] 贵州省药品监督管理局. 贵州省中药材、民族药材质量标准(2003 年版)[S]. 贵阳:贵州科技出版社,2003:401.
 [2] 李强,郑伟,陈林,等. 蜘蛛香多糖提取工艺的研究[J]. 食品工业科技,2010,31(7):273,277.
 [3] 刘翠娟. 蜘蛛香挥发油 β-环糊精包合物稳定性的探讨[J]. 黑龙江医药科学,2005,28(6):65.
 [4] 曹雁平,刘佐才,徐小丽,等. 红茶氨基酸、茶多酚、咖啡因的低强度多频超声浸取特性[J]. 精细化工,2006,23(11):1075.

灵杞黄斑颗粒 对大鼠视网膜光损伤时自由基代谢的影响

宋毅¹, 宫媛媛², 吴星伟^{2*}

(1. 上海中医药大学附属中医医院, 上海 200071; 2. 上海交通大学附属第一人民医院, 上海 200080)

摘要:目的 研究灵杞黄斑颗粒对大鼠视网膜光损伤时自由基代谢的影响。方法 SD 大鼠随机分为 3 组:正常对照组、光损伤给水组、光损伤给药组。建立光损伤模型,于光照后 1 d,行视网膜电图(ERG)检查,取视网膜组织,测定各组 MDA 含量及 T-SOD、GSH-Px、CAT 活性的变化。结果 与正常对照组相比,光损伤给水组 ERG a 波、b 波及 Ops 总振幅明显降低(P<0.01),视网膜 MDA 含量增高(P<0.01),T-SOD、GSH-Px、CAT 活性降低(P<0.01);与光损伤给水组比较,光损伤给药组 ERG a 波、b 波及 Ops 总振幅升高(P<0.01),视网膜 MDA 含量降低(P<0.05),T-SOD、GSH-Px、CAT 活性增高(P<0.05)。结论 灵杞黄斑颗粒具有干预自由基代谢作用,明显减轻光照引起的视网膜氧化应激损伤,对视网膜功能起保护作用。

关键词:灵杞黄斑颗粒; 光损伤; 视网膜; 自由基

DOI 标识:doi:10.3969/j.issn.1008-0805.2012.01.070

中图分类号:R284.2 文献标识码:B 文章编号:1008-0805(2012)01-0158-03

视网膜光损伤是由视紫红质介导的氧化应激的过程,强烈的光照射可使视网膜产生氧化应激,生成大量的自由基包括活性氧,导致感光细胞外节盘膜的脂质过氧化,从而诱发感光细胞凋亡^[1,2]。维持感光细胞的抗氧化应激能力主要依赖于内源性抗氧化系统和视网膜色素上皮细胞和视网膜胶质细胞分泌的神经营养因子^[3],但当外源或内源性的自由基生成量超过了机体清除能力时,必将损害组织和细胞。年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是国内外主要的致盲眼病之一,目前 AMD 确切的发病机制仍不清楚,多数学者认为慢性光损伤可能起着重要的作用^[4]。近年来,随着大量眼科光学诊疗器械的应用,过强的光源也容易导致视网膜损伤。由此可见,环

境和人造光源等都是威胁视力的潜在因素。本课题组以往的研究证实灵杞黄斑颗粒对视网膜光损伤有保护作用^[5,6],该药是否通过干预自由基代谢的机制,对光损伤视网膜起保护作用,有待于进一步研究。因此本研究通过建立大鼠视网膜光损伤模型并给予灵杞黄斑颗粒治疗,观察其对视网膜功能的保护作用及自由基代谢的影响。

1 材料与仪器

1.1 试剂与药物 灵杞黄斑颗粒(沪药制字 Z05050795),MDA、T-SOD、GSH-Px、CAT 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器 视觉电生理仪(德国罗兰),KYORITSU-5202 光度计(共立仪器公司,日本),组织匀浆器(BioSpec 公司,美国),紫外分光光度计(HACH 公司,美国)。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠购自中国科学院上海实验动物中心,体质量 190~230 g。

2 方法

2.1 分组与给药 雄性 SD 大鼠 18 只,随机分为 3 组:正常对照组、光损伤给水组、光损伤给药组。其中,正常对照组不用药,不光照;光损伤给水组接受 5 h 持续光照,给予蒸馏水 2 ml 灌胃,每日一次;光损伤给药组接受 5 h 持续光照,给予灵杞黄斑颗粒。

收稿日期:2011-05-13; 修订日期:2011-09-16

基金项目:上海市科学技术委员会资助项目(No. 05dz22322)

作者简介:宋毅(1980-),女(汉族),山东烟台人,现任上海市中医医院眼科主治医师,博士学位,主要从事中西医结合眼科临床及实验研究工作。

*通讯作者简介:吴星伟(1962-),男(汉族),黑龙江哈尔滨人,现任上海交通大学附属第一人民医院主任医师、教授,博士研究生导师,博士学位,主要从事中西医结合眼底病临床及教研工作。