

超临界乳液萃取法制备载槲皮素微胶囊

刘志军, 范文华, 董超, 李志义, 魏炜, 刘凤霞*

(大连理工大学 流体与粉体工程研究设计所, 辽宁 大连 116023)

摘要: 采用超临界乳液萃取法 (SFEE) 制得载槲皮素微胶囊, 系统考察了制备过程中萃取温度、压力、CO₂ 流速、配制乳液参数对溶剂残留与微胶囊粒径的影响。采用顶空气相色谱法、场发射扫描电镜、Zeta 电位、FTIR 对溶剂残留与微胶囊进行表征。结果表明: 在 313 K、9 MPa、CO₂ 流速为 0.4 L/min 的条件下, 处理 40 min, 溶剂残留可低至 59 mg/L。壁材质量浓度从 10 g/L 增加至 100 g/L 时, 微胶囊粒径由 0.9 μm 升至 3.7 μm。与溶剂蒸发法相比, SFEE 法可在短时间内有效去除有机溶剂, 所制备的微胶囊球形度高, 界面清晰, 在水中稳定性好。

关键词: 超临界乳液萃取法 (SFEE); 微胶囊; 溶剂残留; 粒径; 稳定性; 功能材料

中图分类号: TQ464 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214(2018)12-1981-06

Production of Microcapsules Loaded with Quercetin by Supercritical Fluid Extraction of Emulsions

LIU Zhi-jun, FAN Wen-hua, DONG Chao, LI Zhi-yi, WEI Wei, LIU Feng-xia*

(Research and Design Institute of Fluid and Powder Engineering, Dalian University of Technology, Dalian 116023, Liaoning, China)

Abstract: Microcapsules loaded with quercetin were prepared by supercritical fluid extraction of emulsions (SFEE). The influence of process parameters, such as operating temperature and pressure, CO₂ flow rate and emulsion parameters on solvent residue and particle size of microcapsules was studied. The solvent residue and microcapsules were characterized by headspace gas chromatography, field emission scanning electron microscopy, Zeta potential and Fourier transform infrared spectroscopy. The results showed that the solvent residue can be as low as 59 mg/L after 40 min treatment at 313 K, 9 MPa and CO₂ flow rate of 0.4 L/min. When the mass concentration of wall material increased from 10 g/L to 100 g/L, the particle size of microcapsules increased from 0.9 μm to 3.7 μm. Compared with the solvent evaporation method, the SFEE method can effectively remove the organic solvent in a short time and the prepared microcapsule has high sphericity, clear interface and good stability in water.

Key words: supercritical fluid extraction of emulsions (SFEE); microcapsule; solvent residue; particle size; stability; functional materials

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (21606037)

槲皮素是生物类黄酮, 具有抗氧化性^[1]、抗肿瘤^[2]、抗炎^[3]、止咳、降血脂、增加免疫力等多种生物活性, 应用前景广阔。在实际应用中, 由于槲皮素水溶性低、在自然条件下易被氧化, 其口服生物利用率在小鼠中低于 17%^[4], 在人体中低于 1%^[5], 需要被加工成微胶囊使用。传统制备微胶囊方法如溶剂蒸发法、喷雾干燥法等易造成有机溶剂的残留,

需要繁琐的后处理过程, 此外, 所得微胶囊粒径不均匀, 通常需要进行筛分处理。这在一定程度上限制了槲皮素的安全、高效使用。

超临界乳液萃取法 (Supercritical Fluid Extraction of Emulsion, SFEE) 作为利用超临界流体制备微胶囊的一种新兴方法可以看作是 SAS 法 (Supercritical anti-solvent technology, 超临界流体抗溶剂法, SAS)

的一种优化^[6]。该法利用超临界流体密度低、扩散性高以及临界点附近压力温度微小变化使其溶解能力发生较大变化的特点,萃取效果相比传统萃取方法有所提高,短时间内有效减少微胶囊制备过程中有机溶剂残留量。此外,该技术制备微胶囊的结构可控性更强^[7],这是因为:(1)微胶囊的形成受限于油滴,可通过控制乳液制备参数得到尺寸分布均匀的微胶囊。(2)水/表面活性剂构成的外水相的存在有效避免微胶囊之间聚并现象^[8-10]。

本文以聚己内酯(PCL)为壁材,槲皮素为芯材,采用 SFEE 法制备载槲皮素微胶囊。研究分析了过程参数对溶剂残留量及微胶囊粒径的影响,并对微胶囊在水中的稳定性、包埋效果进行了表征。以期 SFEE 法在制备载药微胶囊方面提供一定的实验数据和理论依据。

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

槲皮素,质量分数 97%,南京都莱生物技术有限公司;乙酸乙酯(EA)、二氯甲烷(DCM),分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司;吐温 80(Tween 80),分析纯,天津大茂化学试剂厂;聚己内酯(PCL),相对分子质量 60000,深圳光华伟业公司;二氧化碳(CO₂),体积分数 99%,大连气体有限公司。

H-1650 离心机,长沙湘锐有限公司;FLUKO/F6/10 超细均质机,德国布鲁克仪器有限公司;AR2140 电子分析天平,美国奥豪斯公司;7P-1 磁力加热搅拌器,常州国华电器有限公司;Nano ZS 纳米粒度及 Zeta 电位分析仪,英国马尔文仪器有限公司;Nicolet iN MX & IS10 傅里叶红外光谱仪,美国赛默飞尼高力公司;7000B 气相色谱仪,美国安捷伦公司;SUPARR 55 场发射扫描电镜,德国蔡司光学仪器;Brookfield DV2T 旋转黏度计,美国博勒飞公司;超临界设备,威海行雨化工机械有限公司。

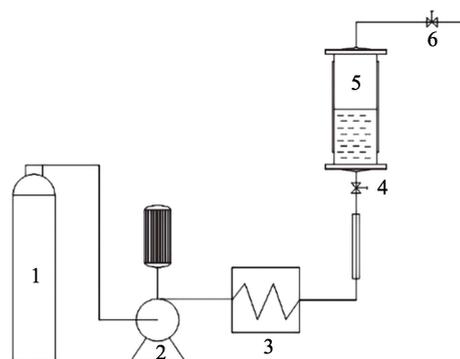
1.2 槲皮素微胶囊的制备

将 0.1 g 槲皮素加入到 100 mL EA 中,加热溶解得到油相。将 0.1 g Tween80 与 8.3 g EA 加入 100 mL 蒸馏水中搅拌均匀后得到水相。称取 0.42 g PCL 加热溶于 20 mL 油相中,水浴降温后加入 80 mL 水相,高速(5000 r/min)剪切乳化 1 min,制得乳液。

SFEE 装置简图如图 1 所示,实验过程中制备的样品如图 2 所示。

图 1 中,先设定预热器 3 中水箱温度,以保证进气温度恒定。随后设定超临界乳液萃取釜 5 中油浴温度,以保证反应期间温度恒定。将制备的乳液(图 2a),倒入超临界乳液萃取釜 5 中,打开二级压

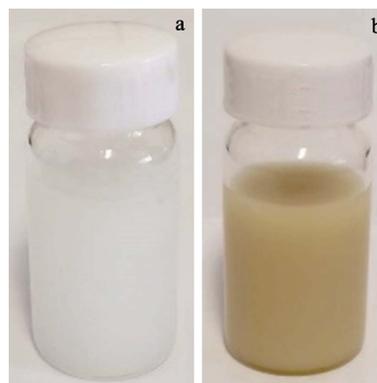
缩机 2 对气瓶 1 中 CO₂ 加压并使其以恒定流速到达萃取釜 5 中。利用背压阀 6 调控反应期间 CO₂ 流速,釜外有质量流量计实时监测 CO₂ 流速及总流量。



1—CO₂ 气瓶, 2—二级压缩机, 3—预热器, 4—针阀, 5—反应釜, 6—背压阀

图 1 SFEE 装置简图

Fig. 1 Schematic diagram of SFEE device



a—乳液; b—处理后悬浊液

图 2 实验样品

Fig. 2 Experimental sample

萃取完成后,从超临界乳液萃取釜 5 中取出悬浊液样品,其外观如图 2b 所示。待样品静置 1 h 后,用蒸馏水多次洗涤,冷冻干燥后即得到载槲皮素微胶囊。

1.3 结构表征与性能测试

粒度测定:微胶囊的粒径及粒径分布由纳米粒度仪测定。称取一定量槲皮素微胶囊样品,配制成 0.01 g/L 悬浊液,用磁力搅拌器搅拌分散均匀,注射器吸取 1 mL 悬浊液置于纳米粒度分析仪中测定。

包埋率测定:称取 10 mg 槲皮素置于 100 mL 容量瓶用无水乙醇溶解,并稀释成质量浓度为 2、4、6、8、10 mg/L 标准液,于 373 nm 波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标(y)标准溶液质量浓度为横坐标(x)制槲皮素标准曲线,得到回归方程 $y = 0.9613x + 0.0231 (R^2 = 0.9994)$ 。

称取 20 mg 槲皮素微胶囊样品置于烧瓶中,加入 2 mL 二氯甲烷超声(650 W)15min,破坏微胶

囊,待二氯甲烷蒸发后,用无水乙醇定容至 50 mL,过滤,量取 1 mL 上清液置于容量瓶中,用无水乙醇定容至 50 mL,在 373 nm 波长处测定吸光度。包埋率按下式计算:

$$\text{包埋率}/\% = \frac{\text{微胶囊中实际槲皮素含量}}{\text{微胶囊中理论槲皮素含量}} \times 100 \quad (1)$$

溶剂残留量测定:溶液中有有机溶剂残留量由顶空气相色谱测定。色谱柱:Agilent 19091s-433(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);柱箱测试条件:373 K 保持 2 min,以 288 K/min 升至 553 K 保持 5 min,最高温度 593 K;顶空条件:平衡温度 353 K,平衡时间 25 min,进样口温度 353 K。载气(He)流速 1 mL/min,压力 1.6 kPa;分流比:50:1。

Zeta 电位测定:微胶囊在水中稳定性由 Zeta 电位分析仪表征。称取一定量槲皮素微胶囊样品,配制 0.01 g/L 悬浊液,室温条件下吸取 1 mL 样液,

置于仪器中测定。

傅里叶红外图谱测定:物质结构分析由傅里叶红外光谱仪测定。将一定量的微胶囊和无水溴化钾均匀混合后,用真空压缩机压成薄膜后,置于样品室,在室温下进行检测,测定波数范围为 4000~400 cm⁻¹,扫描次数为 256 次,分辨率为 4 cm⁻¹。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件的影响

本文研究了萃取温度、萃取压力和 CO₂ 流速等过程参数对溶剂残留量和微胶囊粒径的影响。其中,因壁材 PCL 是一种半结晶聚合物,玻璃化转变温度(213 K)和熔点(333 K)都较低,过高的萃取温度会使其溶解,进而影响封包埋率、粒径、形貌,故萃取温度选为 308、313、318、323、328 K。实验设计如表 1 所示。

表 1 实验条件
Table 1 Experimental conditions

	实验序号												
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
反应温度/K	308	313	318	323	328	313	313	313	313	313	313	313	313
反应压力/MPa	12	12	12	12	12	6	9	14	16	9	9	9	9
CO ₂ 流速/(L/min)	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.1	0.2	0.3	0.5

注:油相质量浓度为 50 g/L,水相质量浓度为 1 g/L,乳化转速为 5000 r/min。

2.1.1 萃取温度对溶剂残留量的影响

12 MPa 下,考察萃取温度对溶剂残留量的影响,结果如图 3 所示。

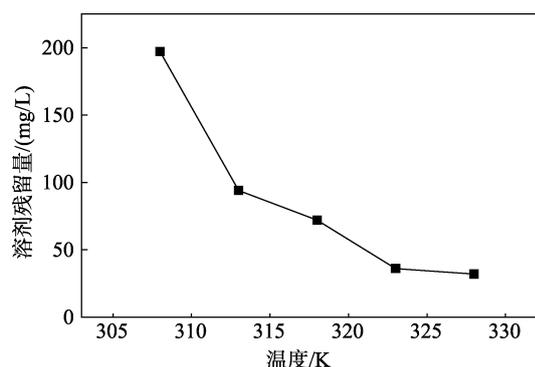


图 3 萃取温度对溶剂残留的影响

Fig. 3 Effect of extraction temperature on the residual solvent

由图 3 可见,当萃取温度从 308 K 上升到 328 K,实验 E1~5 的溶剂残留量从 197 mg/L 降至 32 mg/L。因此,萃取压力一定时,萃取温度的升高有助于降低溶剂残留量。这是因为,温度升高加快了连续相中 EA 的蒸发速率,随着连续相 EA 的持续减少,分散相中 EA 向连续相扩散加快,最终导致体系内溶

剂残留量相比萃取温度较低时有所下降。其次,根据 EA/CO₂ 二元体系扩散系数经验公式^[11],萃取温度的升高有利于 Sc-CO₂ (超临界二氧化碳)在液相扩散,从而提高萃取效率。结合上述规律以及出于对 SFEE 法在低温下萃取效果的考量,故随后实验的萃取温度选为 313 K。

2.1.2 萃取压力对溶剂残留量的影响

313 K 下,考察萃取压力对溶剂残留量的影响,如图 4 所示。

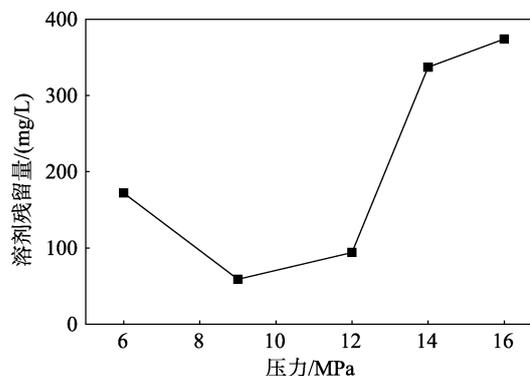


图 4 萃取压力对溶剂残留的影响

Fig. 4 Effect of extraction pressure on the residual solvent

当萃取压力从 6 MPa 增加至 16 MPa 过程中, 溶剂残留量先减少后增加。实验 E2、E7 在萃取压力为 12、9 MPa 时溶剂残留量较低, 分别为 94、59 mg/L。这是因为实验 E2、E7 的萃取压力均高于其萃取温度下 EA/CO₂ 二元体系的临界压力 (P_c)。Byun^[12] 等通过实验给出了在 313 K 时 EA/CO₂ 的 P_c 为 8.16 MPa。SFEE 法制备微胶囊实质是一个反溶剂过程, 其传质是在 Sc-CO₂ 与分散相的每个油滴间进行。Mattea^[13] 等指出传质在两个方向上同时进行, 即油滴中 EA 向 Sc-CO₂ 的扩散和 Sc-CO₂ 在油滴中的溶解。前者决定溶剂萃取效果, 后者是反溶剂过程发生的前提。因此, 有机溶剂在 Sc-CO₂ 中的溶解度与 Sc-CO₂ 的扩散速率对 SFEE 工艺的萃取效果都有决定性的影响。特定温度下二元体系的临界压力 (P_c) 决定了有机溶剂在 Sc-CO₂ 中的溶解度。当操作压力 P 大于 P_c 时, Sc-CO₂ 与 EA 完全混溶而水仅微溶于 Sc-CO₂^[7], SFEE 法正是利用两者溶解度差异, 使得 O/W 乳液中有机溶剂 EA 迅速被 Sc-CO₂ 萃取; 而在 P 小于 P_c 时, EA 无法与 Sc-CO₂ 完全混溶, 二者之间存在相边界; 因而当体系处于超临界状态时, 萃取效率高。

实验 E8、E9 的萃取压力分别为 14、16 MPa 均高于 P_c , 溶剂残留量却高达 337、374 mg/L。这是因为萃取效率不但取决于溶解度, 还与扩散速率有关。根据 EA/CO₂ 二元体系扩散系数经验公式^[11] 可知, 液相扩散系数随温度的升高而升高, 随压力的升高而下降, 随 Sc-CO₂ 的黏度升高而下降。高压环境与高压下 Sc-CO₂ 的较高黏度使得 Sc-CO₂ 在液相中的扩散速率降低, 不利于溶剂萃取。反之, 低压下 Sc-CO₂ 扩散速率较快, 有利于溶剂萃取。

通过实验与分析可得, 一定萃取温度下, 当萃取压力达到该温度下 EA/CO₂ 的临界压力时即可取得较好的萃取效果, 过高的压力不仅带来能源的消耗还会在一定程度上抑制萃取效果。因而萃取压力 9 和 12 MPa 比较理想, 考虑到较低压力 9 MPa 易于达到, 又能减少能源消耗, 因此后续实验选择 9 MPa。

2.1.3 CO₂ 流速对溶剂残留量的影响

313 K、9 MPa 下, 考察 CO₂ 流速对溶剂残留量的影响, 如图 5 所示。

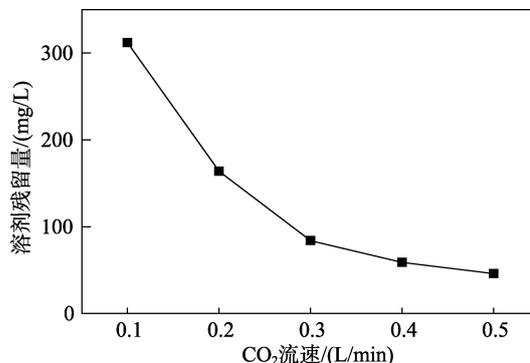


图 5 CO₂ 流速对溶剂残留的影响
Fig. 5 Effect of CO₂ flow rate on the residual solvent

当 CO₂ 流速从 0.1 L/min (E10) 增加到 0.5 L/min (E13) 时, 溶剂残留量逐步减少, 从 312 mg/L 降到 46 mg/L。这是因为流速增加, 雷诺数变大, 易产生湍流, 使得 Sc-CO₂ 与乳液充分接触; 其次流速的增加使分散相表面流动速度加快, 传质推动力、传质系数增加从而提高萃取能力。实验还发现, 当 CO₂ 流速为 0.5 L/min 时, 出口处会有乳液流出, 说明过大的 CO₂ 流速会导致乳液的损失, 故当 CO₂ 流速为 0.4 L/min 时, 萃取效果最佳。

2.1.4 萃取参数对微胶囊粒径的影响

由表 2 粒径结果可知, 制备的微胶囊粒径在 2.1~2.8 μm 之间, 跨度在 1.3~1.7 μm 之间。从结果可以看出微胶囊粒径为微米级, 分布均匀, 且萃取温度、萃取压力、CO₂ 流速等操作参数对微胶囊粒径影响不大。这是因为 SFEE 法中微粒的成形机理与 SAS 法类似, 当 Sc-CO₂ 与乳液中分散相接触时, 迅速扩散溶解, 使分散相内有机溶剂对溶质的溶解度降低, 溶质过饱和析出形成微胶囊。而 SFEE 法中由于乳液中外水相的存在, 微胶囊的形成受限于乳液油滴^[14], 因此改变乳液油滴大小能有效控制微胶囊的粒径及其分布。

表 2 SFEE 中操作参数对粒径的影响结果

Table 2 Effect of operating parameters on the particle size in SFEE

	实验编号												
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8	E9	E10	E11	E12	E13
跨度/μm	1.6	1.4	1.3	1.4	1.7	1.7	1.4	1.4	1.3	1.5	1.7	1.4	1.3
粒径/μm	2.3	2.3	2.6	2.4	2.4	2.8	2.4	2.2	2.1	2.4	2.3	2.6	2.5

2.1.5 传统溶剂方法比较

将本文最优条件与传统溶剂蒸发法进行了对比, 结果见表 3。

由表 3 实验结果可知, 在 313 K、加热 40 min

的条件下, 溶剂蒸发法的溶剂残留为 538 mg/L, 而 SFEE 法在 313 K、9 MPa、CO₂ 流速为 0.4 L/min 的条件下处理 40 min 溶剂残留可低至 59 mg/L。由此可见, 相比传统方法 SFEE 法可在相同时间内提高

溶剂萃取效率, 其次由于 SFEE 法可通过一定温度下调节压力、Sc-CO₂ 流速优化萃取效果, 而不像溶剂蒸发法只能通过温度调节, 因而操作弹性和可控性更有优势。

表 3 SFEE 与溶剂蒸发法的对比结果

Table 3 Comparison of SFEE and solvent evaporation method

	SFEE	溶剂蒸发法
萃取压力/MPa	9	0
操作时间/min	40	40
萃取温度/K	313	313
溶剂残留/(mg/L)	59	538
CO ₂ 流速/(L/min)	0.4	—
粒径/ μm	2.4 \pm 0.2	2.8 \pm 0.3
跨度/ μm	1.4 \pm 0.3	2.0 \pm 0.3
包埋率/%	64 \pm 3	61 \pm 3

注: 油相质量浓度为 50 g/L, 水相质量浓度为 1 g/L, 乳化转速为 5000 r/min。—表示无该项数据。

2.2 微胶囊粒径控制

微胶囊的粒径主要受控于乳液中油滴尺寸, 因而本文研究了乳液配比的影响, 主要参数有 PCL 质量浓度、表面活性剂 Tween80 质量浓度、均质乳化转速。本实验中, PCL 质量浓度分别为 10、25、50、75、100 g/L, Tween80 质量浓度分别为 1、2.5、5、7.5、10 g/L, 均质乳化转速分别为 5000、10000、15000 r/min。

313 K、9 MPa、CO₂ 流速为 0.4 L/min 下, 考察 PCL 质量浓度对微胶囊粒径的影响, 如图 6 所示。

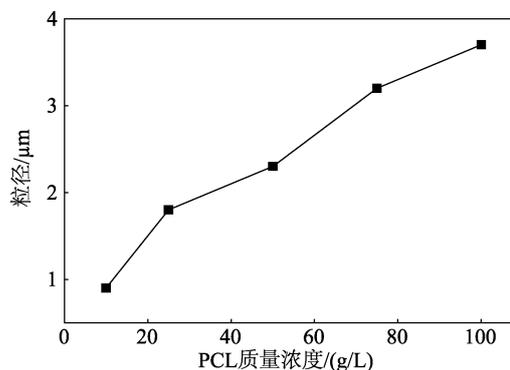
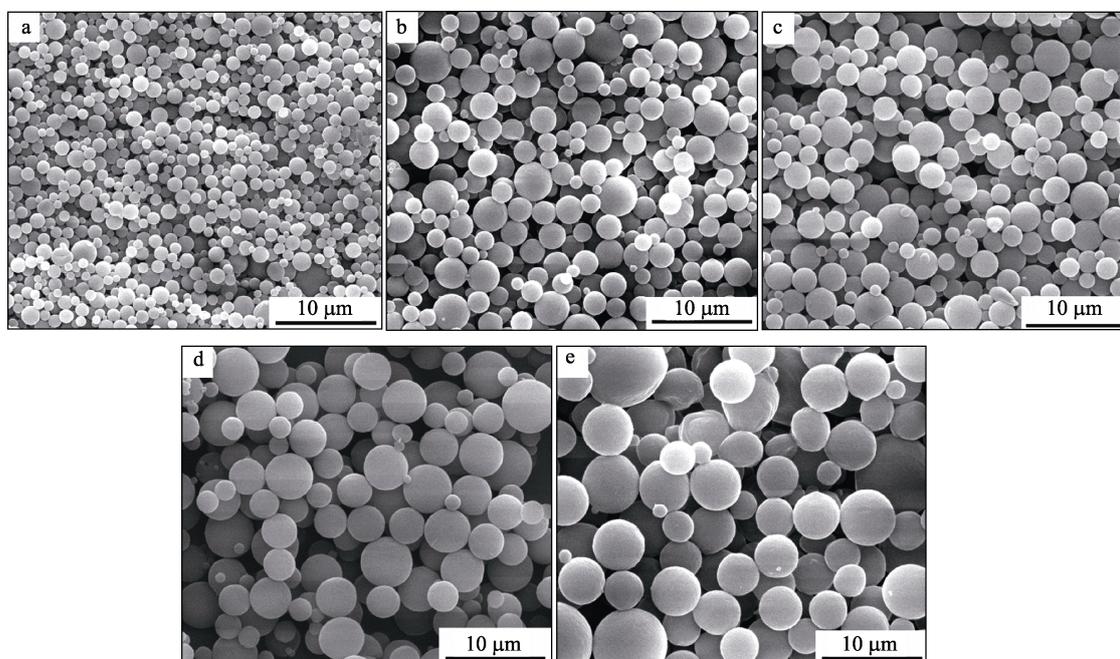


图 6 PCL 质量浓度对微胶囊粒径的影响

Fig. 6 Effect of PCL concentration on the particle size of microcapsules

不同 PCL 质量浓度下微胶囊的平均粒径分别为 0.9、1.8、2.3、3.2、3.7 μm , 可以看出随 PCL 质量浓度增加微胶囊粒径逐渐增大。这是因为当 PCL 质量浓度增加溶液黏度也随之增大, 这将导致乳液中的油滴变大, 得到微胶囊的粒径相应变大。测得不同 PCL 质量浓度下的油相黏度分别为 1.08、1.52、2.31、9.11、16.23 mPa·s。

不同 PCL 质量浓度下微胶囊的 FE-SEM 图像, 如图 7 所示。



a—10 g/L; b—25 g/L; c—50 g/L; d—75 g/L; e—100 g/L

图 7 不同 PCL 质量浓度下微胶囊 FE-SEM 图像

Fig. 7 SEM images of microcapsules at different PCL mass concentrations

由图 7 可以清楚看出, 本文所得微胶囊球形度高, 尺寸分布均匀, 界面清晰, 分散度好。此外, 本文考察范围内, Tween80 质量浓度、均质乳化转

速对微胶囊粒径影响不明显。这是因为: Tween80 质量浓度方面, 本文研究范围内 Tween80 水溶液的黏度分别为 1.68、1.43、1.40、1.52、1.48 mPa·s,

变化并不大;而且 Tween 80 质量浓度远高于其临界胶束浓度 1.4×10^{-2} g/L 时,界面张力不再随 Tween 80 浓度发生变化。均质乳化转速方面,当输入的能量超过基本能量时,粒径分布相差不大^[15]。由于本文采用的均质机为间歇式高剪切,一档(5000 r/min)便能提供较大能量,因此,以上两种因素对粒径分布影响不大。

2.3 微胶囊水中稳定性及包埋效果表征

2.3.1 槲皮素微胶囊 Zeta 电位

微胶囊在水中的长期稳定性与每个微粒的表面电荷密切相关。文献[16]指出,当体系的 Zeta 电位绝对值大于 30 mV 时,才能实现微粒间的稳定状态,反之当体系 Zeta 电位过小,微粒之间则倾向于团聚状态。经检测,本文制备的载槲皮素微胶囊 Zeta 电位值为 -34.80 mV,因而槲皮素微胶囊处于稳定状态。

2.3.2 槲皮素微胶囊红外图谱分析

PCL、槲皮素、微胶囊的红外谱图见图 8。

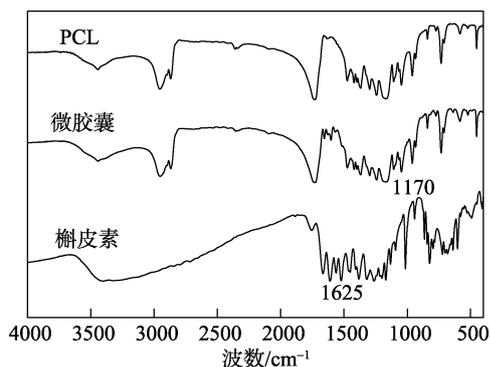


图 8 PCL、槲皮素、微胶囊 FTIR 谱图

Fig. 8 FTIR spectra of PCL, quercetin, and microcapsules

文献[6]指出槲皮素的特征峰为 $1600 \sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ 之间。由图 8 可知,槲皮素在 $1600 \sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ 之间的特征峰并未出现在微胶囊的波谱图上,而 PCL 的波谱图与微胶囊的波谱图在整个波数范围内非常相似,因而证明槲皮素被壁材 PCL 所包覆,而不是以槲皮素晶体形式存在。

3 结论

本研究以槲皮素为芯材, PCL 为壁材,采用 SFEE 法制备出粒径在 $1 \sim 5 \mu\text{m}$ 的载槲皮素微胶囊。通过对过程参数研究表明:(1)升高萃取温度、加快 CO_2 流速都能提高萃取效率,一定温度下,溶剂残留量随萃取压力的升高先减少后增加。当萃取压力达到该温度下 EA/ CO_2 二元体系临界点压力时,即可取得较好的萃取效果。(2)与溶剂蒸发法相比, SFEE 法在 40 min 内使溶剂残留降至 59 mg/L。(3)乳液配比是控制微胶囊粒径的重要手段,本实验研究范

围内, PCL 质量浓度通过改变乳液黏度对微胶囊粒径产生影响。(4)经扫描电镜、FTIR 光谱图、Zeta 电位表征,制备所得微胶囊成功包覆槲皮素,且粒径均匀,分散度好,在水中具有较好的稳定性。研究结果对 SFEE 法在载药微胶囊的制备上提供了一定的理论依据,为下一步将 SFEE 法应用在聚合物纳米微胶囊的制备上奠定基础。

参考文献:

- [1] Heo D J, Shon M S, Kim G N, *et al.* Effect of UV irradiation on the antioxidant and anti-adipogenic activities of quercetin[J]. *Food Science & Biotechnology*, 2015, 24(1): 341-345.
- [2] Kiekow C J, Figueiró F, Dietrich F, *et al.* Quercetin derivative induces cell death in glioma cells by modulating NF- κ B nuclear translocation and caspase-3 activation[J]. *European Journal of Pharmaceutical Sciences Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 2016, 84: 116-122.
- [3] Guazelli C F, Fattori V, Colombo B B, *et al.* Quercetin-loaded microcapsules ameliorate experimental colitis in mice by anti-inflammatory and antioxidant mechanisms[J]. *Journal of Natural Products*, 2013, 76(2): 200-208.
- [4] Khaled K A, El-Sayed Y M, Al-Hadiya B M. Disposition of the flavonoid quercetin in rats after single intravenous and oral doses[J]. *Drug Development & Industrial Pharmacy*, 2003, 29(4): 397-403.
- [5] Gugler R, Leschik M, Dengler H J. Disposition of quercetin in man after single oral and intravenous doses[J]. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 1975, 9(2/3): 229-234.
- [6] Lévai G, Ángel Martín, Paz E D, *et al.* Production of stabilized quercetin aqueous suspensions by supercritical fluid extraction of emulsions[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2015, 100: 34-45.
- [7] Porta G, Reverchon E. Nanostructured microspheres produced by supercritical fluid extraction of emulsions[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2008, 100(5): 1020-1033.
- [8] Paz E D, Rodríguez S, Kluge J, *et al.* Solubility of β -carotene in poly(ϵ -caprolactone) particles produced in colloidal state by Supercritical Fluid Extraction of Emulsions (SFEE)[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2013, 84(84): 105-112.
- [9] Porta G D, Castaldo F. Bacteria microencapsulation in PLGA microdevices by supercritical emulsion extraction[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2012, 63(2): 1-7.
- [10] Falco N, Reverchon E, Della P G. Injectable PLGA/hydrocortisone formulation produced by continuous supercritical emulsion extraction[J]. *International Journal of Pharmaceutics*, 2013, 441(1/2): 589-597.
- [11] Vignes A. Diffusion in Binary Solutions. Variation of diffusion coefficient with composition[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Fundamentals*, 1966, 5(2): 189-199.
- [12] Byun H S, Choi M Y, Lim J S. High-pressure phase behavior and modeling of binary mixtures for alkyl acetate in supercritical carbon dioxide[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2006, 37(3): 323-332.
- [13] Mattea F, Ángel Martín, Matías-Gago A, *et al.* Supercritical antisolvent precipitation from an emulsion: β -Carotene nanoparticle formation[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2009, 51(2): 238-247.
- [14] Chattopadhyay P, Shekunov B Y, Yim D, *et al.* Production of solid lipid nanoparticle suspensions using supercritical fluid extraction of emulsions (SFEE) for pulmonary delivery using the AERx system[J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2007, 59(6): 444-453.
- [15] Li Ji Cheng (李继成), Dong Li Feng (董立峰), Liu Zhen Bang (刘振邦), *et al.* The Impact of Shearing Speed, Time and Content of Emulsifier on the Particle Size Distribution of EW[J]. *World Pesticides (世界农药)*, 2011, 33(3): 53-57.
- [16] Lu Yi (吕怡). Preparation of jasmine essence micro/nano-capsule via complex coacervation and its mechanism research[D]. Wuxi: Jiangnan University (江南大学), 2012.