

DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2015.03.041

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取崖柏精油的研究

Research on supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Thuja sutchuenensis* essential oil

王亚琦<sup>1</sup> 陈奕洪<sup>2</sup> 黄卫文<sup>1,3</sup> 莫启武<sup>4</sup> 周洁<sup>1</sup>

WANG Ya-qi<sup>1</sup> CHEN Yi-hong<sup>2</sup> HUANG Wei-wen<sup>1,3</sup> MO Qi-wu<sup>4</sup> ZHOU Jie<sup>1</sup>

(1. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 湖南 长沙 410004; 2. 广东江门市藏寿天然艺术品有限公司,

广东 江门 529000; 3. 稻谷及副产物深加工国家工程实验室, 湖南 长沙 410004;

4. 国家轻工业香料化妆品洗涤用品质量监督检测广州站, 广东 广州 510075)

(1. Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China;

2. Guangdong Jiangmen City Cang Shou Natural Art Ware Co. Ltd., Jiangmen, Guangdong 529000, China;

3. National Engineering Laboratory for Rice and By-product Deep Processing, Changsha, Hunan 410004, China;

4. Guangzhou Station for Supervision and Inspection of National Light Industry Spices Cosmetics  
Cleaning Products Quality, Guangzhou, Guangdong 510075, China)

**摘要:**采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取崖柏精油,通过正交试验对提取工艺进行优化,用 GC—MS 定性定量分析检测崖柏精油成分。结果表明,影响崖柏精油提取率的主要因素顺序为萃取压力、萃取温度、动态萃取时间;优化后的工艺条件为:物料装料系数 0.68,萃取压力 20 MPa,萃取温度 50 ℃,动态萃取时间 60 min,静态萃取时间 30 min,该条件下崖柏精油提取率为 7.20%~7.31%。崖柏精油中共鉴定出 28 种化学成分,主要为萜烯类化合物,其中罗汉柏烯、 $\alpha$ -雪松醇和花侧柏烯含量较高,其相对质量分数分别为 45.50%, 25.72%, 7.11%。

**关键词:**崖柏;精油;超临界 CO<sub>2</sub> 萃取;GC—MS

**Abstract:** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction method was applied to essential oil from *Thuja sutchuenensis* in the present study. The composition of the essential oil was identified by GC—MS. The extraction conditions were optimized by orthogonal tests. Results: The main factors influencing the extraction yield are extraction pressure, extraction temperature and extraction dynamic time. The Optimization of process: filling coefficient was 0.68, the extraction pressure and temperature were 20 MPa and 50 ℃, dynamic time was 60 min and static time was 30 min. The essential oil extraction rate were 7.20%~7.31% under this condition. 28 components were identified in the *Thuja sutchuenensis*, primarily terpene compounds containing Thujopsene,  $\alpha$ -cedrol and cuparene, accounting for 45.5%, 25.41% and 7.11%, respectively.

**Keywords:** *Thuja sutchuenensis* essential oil; supercritical CO<sub>2</sub>; ex-

traction; GC—MS

崖柏(*Thuja sutchuenensis*)为柏科(cupressaceae)崖柏属(thuja)常绿乔木,是一类起源于恐龙时代的“活化石”<sup>[1]</sup>。经研究<sup>[2-4]</sup>发现,崖柏的根、茎、叶中含有罗汉柏烯、 $\alpha$ -蒎烯、柠檬烯等萜类化合物,这些萜类化合物脂溶性佳,分子小,具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤、降血压、驱虫、抗炎、利尿、祛痰、健身强体的功效。从崖柏中提取的崖柏精油亦含有上述许多有益成分,可应用于医疗保健、食品工业、果蔬保鲜、日用化妆品等领域<sup>[5]</sup>。超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取方法应用于植物精油的提取,具有萃取速度快、效率高,产品分离流程简单且应用广等优点<sup>[6,7]</sup>。由于崖柏资源的稀有,尚未未见超临界 CO<sub>2</sub> 萃取崖柏精油的报道,近年来,已进行了崖柏的人工种植试验,并获得成功,为对崖柏的研究开发提供了条件<sup>[8,9]</sup>。本研究拟采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取法从崖柏中提取精油,通过单因素试验和正交试验确定最佳的萃取工艺条件,并采用 GC—MC 对该工艺获得的崖柏精油进行成分分析和鉴定,为崖柏扩大种植及其开发利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

崖柏(根部)切片:5 mm×5 mm×0.2 mm,广东江门市藏寿天然艺术品有限公司;

二氧化碳:纯度≥99.9%,长沙中益气体有限公司;

二氯甲烷:色谱纯,上海化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置: DY120-50-02 型,江苏南通华安

基金项目:国家林业局 948 项目(编号:2012-4-17)

作者简介:王亚琦(1990—),男,中南林业科技大学在读硕士研究生。

E-mail: wyq0920@qq.com

通讯作者:黄卫文

收稿日期:2014-09-15

超临界萃取有限公司；

气相色谱—质谱联用仪：QP2010 Ultra 型，日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 工艺流程

崖柏根切片→超临界 CO<sub>2</sub> 萃取(CO<sub>2</sub> 钢瓶→冷却系统→高压泵→萃取釜→分离釜)→收集精油

1.3.2 工艺方法 准确称取 150.0 g 崖柏切片装入 2 L 的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取釜中,启动设备,调节萃取釜和分离釜的温度、压力及 CO<sub>2</sub> 流量进行循环萃取,萃取一定时间后从分离釜中收集萃出物,准确测定所得精油的体积和质量,置于 4℃密封保存并计算崖柏精油的提取率。

1.3.3 崖柏精油得率 按式(1)计算:

崖柏精油得率 =  $\frac{\text{萃取所得崖柏精油质量}}{\text{崖柏样品质量}} \times 100\%$  (1)

1.3.4 装料系数计算 本试验所用小试装置萃取釜容积为 2 L,测定出 2 L 的萃取釜中装满崖柏切片的总重量为 220 g。装料系数按式(2)计算:

装料系数 =  $\frac{\text{崖柏切片萃取量}}{\text{萃取釜最大装量}}$  (2)

1.3.5 单因素试验设计

(1) 物料装料系数:称取 150.0 g 崖柏切片,固定萃取压力 20 MPa、萃取温度 45℃、分离压力 8 MPa、分离温度 50℃、CO<sub>2</sub> 流速 1.5 L/min、静态萃取时间 30 min、动态萃取时间 50 min 条件下,研究物料装料系数(0.3,0.4,0.5,0.6,0.7,0.8,0.9)对崖柏精油提取率的影响。

(2) 萃取压力:称取 150.0 g 崖柏切片,固定萃取温度 45℃、分离压力 8 MPa、分离温度 50℃、CO<sub>2</sub> 流速 1.5 L/min、静态萃取时间 30 min、动态萃取时间 50 min 条件下,研究萃取压力(10,15,20,25,30,35 MPa)对崖柏精油提取率的影响。

(3) 萃取温度:称取 150.0 g 崖柏切片,固定萃取压力 20 MPa、分离压力 8 MPa、分离温度 50℃、CO<sub>2</sub> 流速 1.5 L/min、静态萃取时间 30 min、动态萃取时间为 50 min 条件下,研究萃取温度(35,40,45,50,55,60℃)对崖柏精油提取率的影响。

(4) 静态萃取时间:称取 150.0 g 崖柏切片,固定萃取压力 20 MPa、萃取温度 45℃、分离压力 8 MPa、分离温度 50℃、CO<sub>2</sub> 流速 1.5 L/min、动态萃取时间 50 min 条件下,研究静态萃取时间(10,20,30,40,50 min)对崖柏精油提取率的影响。

(5) 动态萃取时间:称取 150.0 g 崖柏切片,固定萃取压力 20 MPa、萃取温度 45℃、分离压力 8 MPa、分离温度 50℃、CO<sub>2</sub> 流速 1.5 L/min、静态萃取时间 30 min 条件下,研究动态萃取时间(10,30,50,70,90 min)对崖柏精油提取率的影响。

1.3.6 正交试验 在单因素试验的基础上,选取萃取压力、

萃取温度以及动态萃取时间进行 3 因素 3 水平 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验,优化崖柏精油的萃取工艺条件。

1.3.7 精油分析方法 所得到最佳工艺的崖柏精油用二氯甲烷稀释 10 倍,过 0.22 μm 有机滤膜后进行 GC—MC 鉴定分析。

(1) 气相色谱条件:Rtx-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm)色谱柱,进样量 1 μL,分流比 100 : 1,进样口温度 260℃,流速 1 mL/min,载气为高纯氦气。程序升温:初始温度 90℃(保持 5 min),以 3℃/min 速度升至 220℃(保持 5 min),再以 10℃/min 升至 250℃。

(2) 质谱条件:EI 电离源,电离电压 70 eV,离子源温度 230℃,四级杆温度 150℃,传输线温度 250℃,标准调谐,SCAN 质量扫描,溶剂延迟 5 min,扫描范围 35~600 amu。

(3) 成分解析:GC—MS 分析,获得精油的总离子流色谱图(TIC),利用 NIST05 质谱数据检索标准谱库解析成分,对所得的谱图进行检索,相似度大于 85%作为结构确认依据,以峰面积归一法计算各组相对质量分数。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 物料装料系数对崖柏精油萃取率的影响 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取的过程中,在不同的温度和压力下,萃取物料可能会发生不同程度膨胀等现象,如果物料装量过满,容易造成堵塞,物料装量过少会直接影响萃取的收率。由图 1 可知,装料系数过小,提取率较低,主要因为萃取物料过少,剩余空间大与 CO<sub>2</sub> 流体偏流,且萃取总量过小,管道损失较大。随着装料系数的增大提取率也增大,在 0.6~0.8 时有较大的提取率,最后考虑提取率 and 安全性,选择装料系数为 0.68(150 g)做后续的试验。

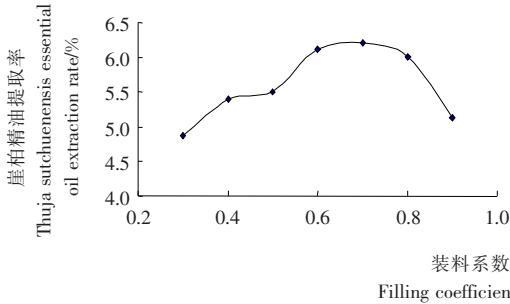


图 1 崖柏切片装料系数对崖柏精油提取率的影响

Figure 1 Effect of filling coefficient on *Thuja sutchuenensis* essential oil extraction rate

2.1.2 萃取压力对崖柏精油提取率的影响 由图 2 可知,随着萃取压力增大,萃取率也增加,主要因为压力增大,超临界流体密度随之增大,从而萃取物在流体中的溶解度增大,当萃取压力达到 20 MPa 时萃取量最大。随后萃取压力继续增加,崖柏精油的萃取率逐渐降低,可能是因为萃取压力增

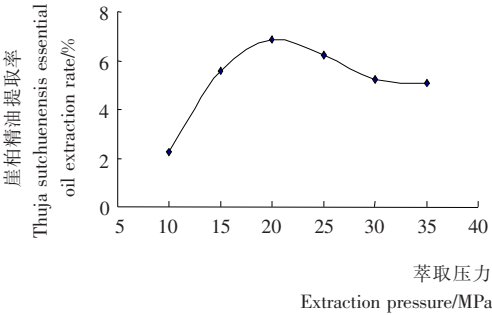


图 2 萃取压力对崖柏精油提取率的影响  
Figure 2 Effect of extraction pressure on *Thuja sutchuenensis* essential oil extraction rate

高后,CO<sub>2</sub> 流体的密度必然变得更大,而 CO<sub>2</sub> 流体的扩散性能会相应地减弱,从而造成两相接触传质速率的降低。同时在实际生产过程中,萃取压力太高会使成本变高,同样存在安全隐患,所以初步选择 20 MPa 为宜。

2.1.3 萃取温度对崖柏精油提取率的影响 由图 3 可知,崖柏精油提取率先随温度升高而增加,50 ℃ 达到最大,温度继续升高,崖柏精油萃取率反而降低。温度升高,一方面溶质萃取精油在 CO<sub>2</sub> 流体的热运动速度加快,相应的溶剂蒸汽压增大,使得溶解度增大,另一方面,温度继续升高,CO<sub>2</sub> 流体密度变小,萃取物在 CO<sub>2</sub> 流体中的溶解度也相应减少,而且过高温也会导致胶体浸出影响细胞壁的通透性导致精油难以带出,所以综合考虑选择 50 ℃ 为宜。

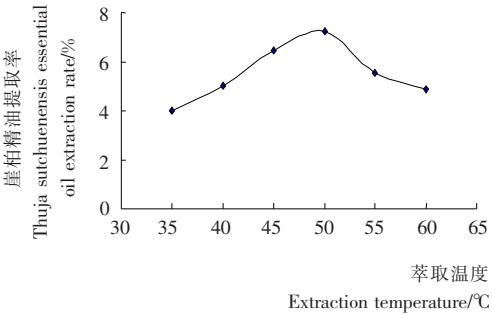


图 3 萃取温度对崖柏精油提取率的影响  
Figure 3 Effect of extraction temperature on *Thuja sutchuenensis* essential oil extraction rate

2.1.4 静态萃取时间对提取率的影响 由图 4 可知,随着静态萃取时间的变化,萃取率变化不明显,可能是因为崖柏细胞壁的通透性较好,在 30 min 有最大的萃取率,最后静态萃取时间选择 30 min 为宜。

2.1.5 动态萃取时间对崖柏精油提取率的影响 由图 5 可知,崖柏精油萃取率随动态萃取时间的延长而提高,动态萃取时间在 10~50 min 时,萃取率增加明显,在 50 min 时达最大值,之后提取率无明显变化,从提取率和节能低耗方面考虑选择 50 min 为最佳动态萃取时间。

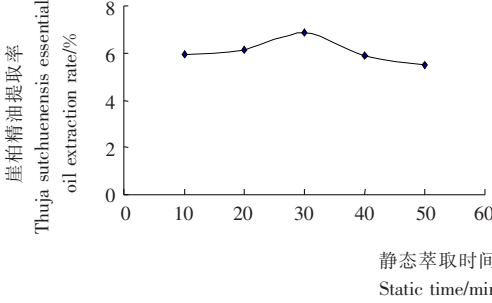


图 4 静态萃取时间对崖柏精油提取率的影响  
Figure 4 Effect of static time on *Thuja sutchuenensis* essential oil extraction rate

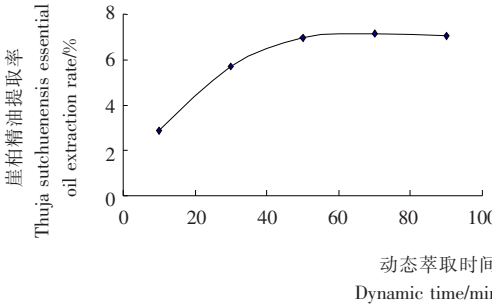


图 5 动态萃取时间对崖柏精油提取率的影响  
Figure 5 Effect of dynamic time on *Thuja sutchuenensis* essential oil extraction rate

2.2 崖柏精油提取工艺优化

2.2.1 正交试验结果与分析 根据单因素试验结果,萃取压力、萃取温度、动态萃取时间对崖柏精油的提取率有较大影响,设计 L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>) 正交试验,进一步考察各因素对精油提取率的影响,优化提取工艺,试验因素与水平见表 1。

表 1 因素水平设计表  
Table 1 Factors and levels of orthogonal test

| 水平 | A 萃取压力/MPa | B 萃取温度/°C | C 动态萃取时间/min |
|----|------------|-----------|--------------|
| 1  | 15         | 45        | 40           |
| 2  | 20         | 50        | 50           |
| 3  | 25         | 55        | 60           |

由表 2 可知,各因素对提取率影响程度依次为:A>B>C,即:萃取压力>萃取温度>动态萃取时间。最佳提取条件为 A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>C<sub>3</sub>,即萃取压力 20 MPa,萃取温度 50 ℃,动态萃取时间 60 min。根据表 3 方差分析萃取压力显著,其他两个因素不显著。

2.2.2 验证实验 崖柏精油的提取在最佳工艺条件下,重复 5 次进行验证,提取率分别为 7.23%,7.29%,7.31%,7.20%,7.25%,平均提取率为 7.26%,标准偏差为 0.044 5, RSD 为 0.006 1,表明此试验有良好的重现性。

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验结果

Table 2 Results of L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)orthogonal test

| 试验号            | A    | B    | C    | 提取率/% |
|----------------|------|------|------|-------|
| 1              | 1    | 1    | 1    | 5.69  |
| 2              | 1    | 2    | 2    | 5.92  |
| 3              | 1    | 3    | 3    | 5.82  |
| 4              | 2    | 1    | 2    | 6.52  |
| 5              | 2    | 2    | 3    | 7.22  |
| 6              | 2    | 3    | 1    | 6.32  |
| 7              | 3    | 1    | 3    | 6.41  |
| 8              | 3    | 2    | 1    | 6.39  |
| 9              | 3    | 3    | 2    | 6.12  |
| <hr/>          |      |      |      |       |
| K <sub>1</sub> | 5.81 | 6.21 | 6.13 |       |
| K <sub>2</sub> | 6.69 | 6.51 | 6.19 |       |
| K <sub>3</sub> | 6.31 | 6.09 | 6.48 |       |
| R              | 0.88 | 0.42 | 0.35 |       |

表 3 正交试验结果方差分析<sup>†</sup>

Table 3 Analysis of variance of orthogonal test

| 方差来源  | 离差平方和   | 自由度 | 均方(MS) | F 值    | Sig.  |
|-------|---------|-----|--------|--------|-------|
| A     | 1.160   | 2   | 0.583  | 43.341 | 0.023 |
| B     | 0.286   | 2   | 0.143  | 10.675 | 0.086 |
| C     | 0.213   | 2   | 0.107  | 7.974  | 0.111 |
| D     | 0.002 7 | 2   | 0.013  | 1.000  |       |
| <hr/> |         |     |        |        |       |
| 误差 E  | 0.03    | 2   |        |        |       |
| 总和 T  | 1.67    | 8   |        |        |       |

<sup>†</sup> F<sub>0.01</sub>(1,2)=99;F<sub>0.05</sub>(1,2)=19。

2.3 崖柏精油 GC—MS 分析

由表 4 可知,最佳工艺条件下用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的崖柏精油经 GC—MS 分析鉴定出的 28 种化学成分中,以萜烯类化合物为主,其中罗汉柏烯、α-雪松醇和花侧柏烯的含量较高,其相对质量分数分别为 45.50%,25.72%,7.11%。

3 结论

采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取可有效提取崖柏精油,提取率高于普通水蒸气蒸馏法,且缩短了萃取时间,具有低耗、高效、无污染等优点。本研究对超临界 CO<sub>2</sub> 萃取崖柏精油中单因素条件(物料装料系数、萃取压力、萃取温度、静态萃取时间、动态萃取时间)进行探究,并通过正交试验对萃取率有较大影响的 3 个因素(萃取压力、萃取温度、动态萃取时间)进行工艺优化,结果表明最佳提取工艺为:物料装料系数 0.68,萃取压力 20 MPa,萃取温度 50 ℃,动态萃取时间 60 min,静态萃

表 4 崖柏精油 GC—MS 分析结果

Table 4 Analytic results of GC—MS of *Thuja*

*sutchuenensis* essential oil

| 序号 | 名称               | 相对质量<br>分数/% | 序号 | 名称           | 相对质量<br>分数/% |
|----|------------------|--------------|----|--------------|--------------|
|    | 9-亚甲基-3-氧        |              | 14 | 花侧柏烯         | 7.11         |
| 1  | 双环{5.3.0}        | 0.28         | 15 | α-花柏烯        | 0.70         |
|    | 十二-2-酮           |              | 16 | β-金合欢烯       | 0.13         |
| 2  | 异长叶烯             | 0.38         | 17 | β-雪松烯        | 1.07         |
| 3  | 长叶萜烯             | 0.29         | 18 | 茨烯           | 0.10         |
| 4  | α-柏木萜            | 3.00         | 19 | 环长叶烯         | 0.13         |
| 5  | γ-衣兰油烯           | 1.50         | 20 | 喇叭烯          | 2.27         |
| 6  | 罗汉柏烯             | 45.50        | 21 | α-雪松醇        | 25.72        |
| 7  | 松油烯              | 0.36         | 22 | 花侧柏醇         | 2.31         |
| 8  | 律草烯              | 0.16         | 23 | γ-姜黄烯        | 0.80         |
| 9  | α-古芸烯            | 0.19         | 24 | 白菖油萜环氧<br>化物 | 0.83         |
| 10 | 新异长叶烯,<br>8,9-二氢 | 0.63         | 25 | 花侧柏烯醇        | 0.20         |
| 11 | 大牛儿烯             | 0.04         | 26 | α-红没药醇       | 1.62         |
| 12 | α-姜黄烯            | 0.12         | 27 | 香橙烯          | 2.63         |
| 13 | β-花柏烯            | 0.65         | 28 | 环氧白菖烯        | 1.40         |

取时间 30 min,此工艺条件下崖柏精油提取率为 7.20%~7.31%。

参考文献

1 Xiang Qiao-ping, Farjon A, Li Zhen-yu, et al. *Thuja sutchuenensis*: a rediscovered species of the Cupressaceae [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2002, 139(3): 305~310.

2 Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, et al. Biological effects of essential oils[J]. Food Chem. Toxicol., 2008, 46(2): 446~475.

3 Burt S A. Antibacterial activity of essential oils: potential applications in food[D]. Thesis: Utrecht University, 2007.

4 Gaysinsky S, Weiss J. Aromatic and spice plants: uses in food safety[J]. Stewart Post Harvest Rev., 2007, 3(2): 1~9.

5 李松, 吴光斌, 陈发河. 超临界萃取瑯溪蜜柚精油工艺优化及组分分析[J]. 食品与机械, 2013, 29(1): 113~117.

6 梁健钦, 杨焕琪, 熊万娜, 等. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取砂糖桔叶挥发油及其 GC—MS 分析[J]. 食品与机械, 2010, 26(3): 28~34.

7 王祥福. 崖柏群落生态学[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2008.

8 郑群明, 吴楚材, 谭益民, 等. 崖柏乙醇提取物抑菌作用的初步研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2011, 31(4): 66~69.

9 吴章文, 吴楚材, 陈奕洪, 等. 8 种柏科植物的精气成分及其生理功效分析[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(10): 1~8.