

超临界 CO₂ 和微波辅助萃取艾叶挥发油工艺的研究

曾虹燕, 张晓云, 冯波

(湘潭大学生物技术研究所, 湖南湘潭 411105)

摘要: 通过超临界 CO₂ 萃取均匀设计实验和微波辅助萃取艾叶挥发油的正交实验比较, 考察影响提取的主要因素, 寻求最佳萃取工艺。超临界 CO₂ 萃取最佳工艺条件为: 萃取压力 16 MPa, 萃取温度 31 °C, CO₂ 流量 20 kg/h 和时间 80 min, 得率 3.75%; 微波萃取最佳工艺条件为: 辐射功率 720 w, 辐射时间 200 s, 溶剂量 400 mL, 洗涤剂量 50 mL, 得率 4.85%。水蒸馏法提取率为 1.87%。结果表明超临界 CO₂ 和水蒸馏法萃取艾叶挥发油品质最好; 微波萃取收率最高, 但品质较差。

关键词: 艾叶; 挥发油; 超临界 CO₂ 萃取; 微波萃取

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2005)03-0285-04

Extraction technology of the volatile oils from *Artemisia argyi* Leaves by supercritical CO₂ and microwave

ZENG Hong-yan, ZHANG Xiao-yun, FENG Bo

(Biotechnology Research Institute, Xiangtan University, Hunan 411105, China)

Abstract: In the paper, the volatile oils from the leaves of *Artemisia argyi* were obtained with supercritical CO₂ and microwave for their optimum extraction conditions. The uniform design experiment were used to optimize the SFE CO₂ conditions, and the optimal conditions were determined: the pressure of 16MPa, the temperature at 31 °C, CO₂ flowing rate at 20 kg/h and the time for 80 min. The optimum conditions of the microwave extraction were obtained by orthogonal experiment; radiation time for 200 s, microwave power of 720 w, 400 mL solvent, 40 mL washing solvent. The volatile oils were obtained by supercritical CO₂, microwave and steam distillation, extraction rate were 3.75%, 4.85% and 1.87% respectively. The results showed that the extraction rate of microwave extraction was the highest and its process was simpler, but its quality was worse than the volatile oils extracted by supercritical CO₂ and steam distillation which qualities were better.

Key words: *Artemisia argyi*; volatile oil; supercritical CO₂ extraction; microwave extraction

艾叶为菊科植物艾 (*Artemisia argyi* Levl. et Vant.) 的干燥叶。为中医临床常用药之一, 在我国分布极广, 全国各地均产。艾叶挥发油具有平喘、镇咳、祛痰和消炎等作用, 用于治疗支气管炎和空气消毒等 (江苏新医学院, 2002; 姚发业等, 2001; 潘炯光等, 1992)。挥发油的化学成分曾有人做过研究: 含

有 1,8-桉叶素、樟脑、龙脑等化合物 (姚发业等, 2001; 潘炯光等, 1992)。超临界 CO₂ 和微波萃取技术是食品和中药有效成分提取的一项新技术。超临界 CO₂ 萃取法与传统提取方法相比是可以在近常温的条件下提取分离, 几乎保留产品中全部有效成分, 无有机溶剂残留, 产品纯度高, 操作简单, 节能。

* 收稿日期: 2004-05-08 修订日期: 2004-07-20

基金项目: 湖南省科技厅重点项目 (02SSY1001-11)

作者简介: 曾虹燕 (1963-), 女, 河南洛阳人, 博士, 教授, 从事植物资源和植物有效成分的分离提取工作 E-mail: hyzeng@xtu.edu.cn

对于提取分离挥发性成分、脂溶性物质、高热敏性物质以及贵重药材的有效成分显示出独特的优势。但设备属高压设备,一次性投资较大,运行成本高,溶剂选择范围窄,因此这一技术目前在工业生产中还难以普及。微波萃取具有设备简单、适用范围广、萃取效率高、重现性好、节省时间、节省试剂、污染小等特点。与传统煎煮法相比,克服了药材细粉易凝聚、易焦化的弊病,提取时间极短,设备简单,投资较少。而且还可将其与超临界流体萃取结合运用,解决微波萃取中溶剂残留问题,这是现有的各种萃取法难以匹敌的。然而,微波萃取在理论和实践中还存在一些问题,如有机溶剂的残留以及微波穿透物质内部时的衰减问题等。鉴于艾叶挥发油是其有效成分,利用超临界 CO₂ 和微波诱导萃取挥发油的研究也未见报道(江苏新医学院,2002;姚发业等,2001;尹庚明等,1999;周峰等,2000),本文通过利用超临界 CO₂ 萃取艾叶挥发油的均匀设计实验和利用微波诱导萃取的正交实验的比较,考察了影响提取的主要因素,寻求最佳萃取工艺。为更好地开发利用我国现有资源及超临界 CO₂ 和微波诱导萃取艾叶挥发油技术在工业上的应用提供实验基础。

1 实验

1.1 实验材料

艾叶干品购自于湖南邵东廉桥,由湖南农业大学理学院蒋道松副教授鉴定为艾(*Artemisia argyi*)的叶。用刀切碎,粉碎成粉末状(50目)样品。CO₂ 为食品级。石油醚(60~90℃)。HA221-50-06 超临界萃取装置(江苏南通华安超临界萃取有限公司);瑞士 BUCH 公司 HE-250 型旋转蒸发器;微波萃取器(自制)。所用试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 水蒸气蒸馏法 将艾叶 170 克装入挥发油提取器中,加水蒸馏 6 h,收集挥发油,称重。

1.2.2 微波萃取法 将艾叶样品准确称量 40 g,装入烧瓶中,加入 100 mL 石油醚,放入微波炉辐射 40 s 后,取出冷却到室温,倒出溶液(注意不要将物料倒出)。再加入新鲜的石油醚,重新放入微波炉中的辐射 40 s。重复以上步骤直至辐射时间累积到所定时间。用石油醚洗涤烧瓶的残渣,将所提溶液过滤于一烧瓶中,减压蒸馏后,用无水 Na₂SO₄ 干燥 24 h,称重。

以萃取辐射时间、微波功率、溶剂用量和洗涤溶剂用量四因素为变量。进行四因素三水平正交试验(表 1)。

表 1 正交试验设计表

Table 1 Orthogonal experimental design

水平 Level	辐射时间 Time of radiation(s)	微波功率 Power of microwave(w)	溶剂用量 Volume of solvent(mL)	洗涤剂量 Volume of wash(mL)
1	200	630	260	30
2	225	720	280	40
3	250	810	300	50

以萃取辐射时间、微波功率、溶剂的用量和洗涤溶剂用量 4 因素为变量,对实验数据进行处理得到最佳工艺条件后,再在此条件进行艾叶微波萃取实验,得出最佳条件下的萃取率,以验证数据处理所得结果。

1.2.3 超临界 CO₂ 萃取法 设定分离 I 的压力 7~8 MPa,温度 60℃。分离 II 的压力 4~6 MPa,35℃。准确称取艾叶 170 g,装入 1 L 的萃取罐内,超临界 CO₂ 萃取。在 2 h 内,每 20 min 收集提取物,称其重量,计算萃取率。

以萃取温度、萃取压力、CO₂ 流量三个因素为变量进行三因素七水平的均匀设计实验(表 2)。

表 2 均匀设计表

Table 2 Uniform design

水平 Level	压力(Mpa) Pressure	温度(℃) Temperature	CO ₂ 流量(kg/h) Flow of CO ₂
1	8	45	30
2	13	30	20
3	18	55	40
4	23	35	45
5	28	50	15
6	33	25	35
7	38	40	25

以萃取压力,温度和 CO₂ 流量三因素为变量,对实验数据进行处理得到最佳工艺条件后,再以此条件进行艾叶超临界流体萃取实验,得出最佳条件下的萃取率,以验证数据处理所得结果。

2 结果与讨论

2.1 水蒸气蒸馏法

将艾叶 300 g 装入提取器中,加水蒸馏 6 h,收集挥发油并称重为 5.6 g,收率为 1.87%。挥发油淡黄色,具有特殊香味。

2.2 微波萃取结果与数据处理

正交实验对微波辅助萃取艾叶挥发油工艺参数的优化见表 3。从表 3 可知,微波功率、溶剂量、洗

溶剂量和辐射时间四因素提取率的离差值分别为 0.83、0.34、0.27 和 0.26,结果顺序为:微波功率 > 溶剂量 > 洗涤剂量 > 辐射时间。微波功率对挥发油萃取率影响最大。用微波辅助萃取艾叶挥发油的

最佳提取工艺为:辐射时间 200 s,微波功率 720 W,溶剂用量 400 mL,洗涤剂用量 50 mL。我们在最佳条件下做了 3 次追加验证实验,相应得提取率分别为 4.81%、4.98% 和 4.75%,其均值为 4.85%。

表 3 正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal experimental design

水平 Level	辐射时间(s) Time of radiation	微波功率(w) Power of microwave	溶剂用量(mL) Volume of solvent	洗涤剂量(mL) Volume of wash	提取率(%) Rate of extraction
1	200	630	50	380	4.28
2	200	720	40	360	4.15
3	200	810	30	400	3.65
4	225	630	40	400	4.01
5	225	720	30	380	4.35
6	225	810	50	360	3.50
7	250	630	30	360	3.48
8	250	720	50	400	4.50
9	250	810	40	380	3.34
I	12.08	11.77	11.48	11.13	—
II	11.86	13.00	11.50	11.97	—
III	11.32	10.49	12.28	12.16	—
K1	4.03	3.92	3.82	3.71	—
K2	3.95	4.33	3.83	3.99	—
K3	3.77	3.50	4.09	4.05	—
R1	0.26	0.83	0.27	0.34	—

表 4 均匀设计实验结果

Table 4 Results of uniform design

水平 Level	压力 Pressure (Mpa)	温度 Temperature (°C)	CO ₂ 流量 Flow of CO ₂ (kg/h)	提取率(%) Rate of extraction
1	8	45	30	1.92
2	13	30	20	3.78
3	18	55	40	3.60
4	23	35	45	3.42
5	28	50	15	3.31
6	33	25	35	1.98
7	38	40	25	1.80

2.3 超临界萃取结果与数据处理

我们用 SAS 软件对其均匀设计实验数据(表 4)进行了回归分析,处理结果见表 5、6。通过 SAS 软件所回归的数学模型为 $Y=6.2800-0.1280X_2-0.0055X_1 * X_1+0.0057X_1 * X_2$,由表的方差分析看出 $R^2=90.46\%$,三项的 T 统计量分别为 -3.772 6、-5.050 0、4.462 7,相应的 p 值分别为 0.032 6、0.015 0、0.020 9,均非常显著。通过残差分析,未发现异常,模型被接受。在模型中,因素 X3 没有出现,可能是实验次数太少的原因,或者实验时对 X3 所取的水平不适当,导致这个变量在该试验区域内对收率的影响不显著(X1:萃取压力,X2:萃取温度,X3:CO₂ 流量)。通过配方法对此模型进行分析,确定其最佳工艺条件为:X1=16MP,X2=31 °C,Y=3.79%。从图 3 分析可以得 X3=20,为了

进一步验证此结果的准确性,我们在最佳条件下做了 3 次追加验证实验,相应得提取率分别为 3.70%、3.75% 和 3.77%,其均值为 3.74%,与预报值 3.79% 相距不远,表明模型比较符合实际情形。从而进一步证实此结果的正确性。所以,超临界萃取艾叶挥发油的最佳工艺条件为:萃取压力 16 MP 萃取温度 31 °C 流量 20 kg/h。

表 5 方差分析表(SAS 输出)

Table 5 Analysis of variance

来源 Source	自由度 DF	平方和 Sum of Squares	均方 Mean Square	F 值 F Stat	Prob>F
模型 Model	3	4.240 6	1413 5	9.482 2	0.048 6
误差 Error	3	0.447 2	0.149 1		
总变量 C Total	6	4.687 8			
R ²	0.904 6				
C. V.	2.829 4				

2.3 超临界萃取时间对萃取率的影响

随着时间增加萃取量逐渐增大。从图 1 可知,本实验在进行均匀实验的过程中,每一实验均隔 20 min 取样 1 次,前三次 60 min 取样会得到较多的萃取物,第四次 80 min 取样就较少,以后几无产物萃出。在最佳条件下进行艾叶挥发油提取,每隔 20 min 取 1 次,取样 6 次,在 80 min 时产物几乎萃取完全,时间再增加出料也甚少,为了提高效率,节省能源,所以萃取时间以 80 min 为宜。

表 6 参数估计
Table 6 Parameter estimates

变量 Variable	自由度 DF	估计 Estimate	标准差 Std Error	T 检验 T Stat	Prob> T	膨胀因子 Var. Inflation
INTERCEPT	1	6.280 0	1.004	6.277 3	0.008 2	0.000 0
X2	1	-0.128 0	0.033 9	-3.772 6	0.032 6	5.406 0
X1 * X1	1	-0.005 5	0.001 1	-5.050 0	0.015 0	12.347 0
X1 * X2	1	0.005 7	0.001 3	4.462 7	0.020 9	13.366 1

注: X1:萃取压力 Pressure of extraction; X2:萃取温度 Temperature of extraction.

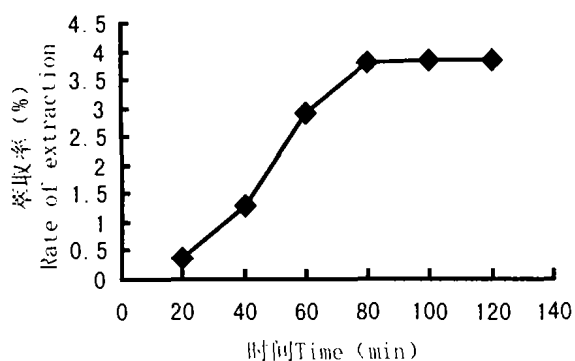


图 1 萃取时间与萃取率的关系(超临界 CO₂)

Fig. 1 The relationship between the time and the extraction rate

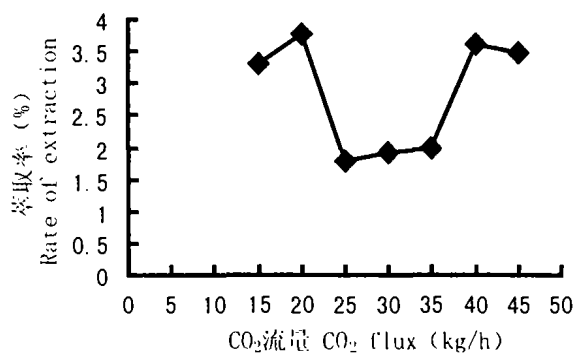


图 2 CO₂ 流量与萃取率的关系(超临界 CO₂)

Fig. 2 Effect of the CO₂ flowing speed on the extraction rate

表 7 不同提取方法对萃取率的影响

Table 7 Effect of different methods on extraction rate

实验方法 Methods of experiment	挥发油外观性状 Appearance of volatile oil	时间 Time	萃取率 Rate of extraction(%)
超临界 CO ₂ 萃取 Supercritical CO ₂ extraction	黄色 Yellow	80 min	3.74
微波萃取 Microwave extraction	黄褐色 Snuff color	200 s	4.85
水蒸气蒸馏 Steam distillation	浅黄色 Straw yellow	6 h	1.87

2.4 CO₂ 流量对萃取率的影响

CO₂ 流量是实际生产中必须十分重视的一个参数。动态萃取 CO₂ 流量大时,相当于萃取剂与被萃取物有较大比值,有利于被萃取物从物料中向超临界流体中扩散。从图 2 可知,在 80 min 的萃取时间内,CO₂ 流量增大,萃取率增高,但在 CO₂ 流量 20 kg/h 时,萃取率急剧下降,到 CO₂ 流量 40 kg/h 时又急剧上升,可能与 CO₂ 流速过快与物料接触不充分所致,以及在此流量下,被萃取物未来得及在解析釜中析出就被冲回萃取釜而使收率下降。综合考虑,本实验选用每 170 g 原料,CO₂ 流量为 20 kg/h。所以,超临界萃取艾叶挥发油的最佳工艺条件为:萃取压力 16 MPa,萃取温度 31 °C,流量 20 kg/h,萃取时间 80 min。

2.5 不同提取方法对萃取率的影响

由表 7 知,超临界 CO₂ 萃取和水蒸气蒸馏提取艾叶挥发油在外观性状上都优于微波萃取的,微波萃取收率高,时间短。超临界萃取收率较之传统水

蒸气蒸馏萃取方法已经有很大的提高,品质较好,适合萃取品质要求高的挥发油。而且不存在有机溶剂残留所带来的一系列问题。

3 讨论

(1)挥发油组分比较复杂,对于不同组分,其最佳条件也不同。超临界 CO₂ 萃取艾叶挥发油的最佳条件为萃取压力 16 MPa,萃取温度 31 °C,流量 20 kg/h;解析釜 I 压力 7~8 MPa,温度 60 °C;解析釜 II 压力 4~6 MPa,35 °C,萃取时间为 80 min,其提取率为 3.74%。

(2)微波提取艾叶挥发油的最佳提取工艺为:辐射时间 200 s,微波功率 720 w,溶剂量 400 mL,洗涤剂量 50 mL,其提取率为 4.85%。

(3)微波萃取收率很高,约为水蒸气蒸馏的 2.6 倍,且萃取时间短,工艺简单,但外观品质略差,可能(下转第 263 页 Continue on page 263)

5 讨论

从表 1 可见,白筋叶挥发油成分复杂,已鉴定出的 81 种化合物的含量占挥发油总量的 96.50%,主要包括大量的萜烯及萜醇类化合物以及少量的长链脂肪族和芳香族化合物。其中单萜有 25 个,占总挥发油总量的 65.77%,倍半萜有 36 个,占挥发油总量的 26.99%。萜类化合物是存在于自然界的具有多种生物活性的一类化合物,是某些中草药的有效成分,如在白筋叶挥发油中的主要单萜类化合物 α -蒎烯(α -pinene, 占挥发油相对百分含量的 21.54%)、 β -水芹烯(β -phellandrene, 9.03%)、D-柠檬烯(D-limonene, 7.63%)和 β -蒎烯(β -pinene, 5.77%)分别有明显的镇咳、祛痰、抗真菌、抗炎和祛痛等作用(江纪武等,1986)。通过对白筋叶挥发油化学成分的分析及其相对含量的测定,为开发和综合利用白筋资源提供了科学依据。

中国科学院西双版纳热带植物园动植物关系组提供 GC-MS 测试,特此致谢。

参考文献:

- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 1978. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 54: 112-113.
- 丛浦珠. 1987. 质谱学在天然有机化学中的应用[M]. 北京: 科学出版社, 595-650.
- 《全国中草药汇编》编写组. 1976. 全国中草药汇编,上册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 29-30.
- 江纪武, 肖庆祥. 1986. 植物药有效成分手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 668-833.
- Kiem PV, Cai XF, Minh CV, et al. 2003a. Lupane-triterpene carboxylic acids from the leaves of *Acanthopanax trifoliatum* [J]. *Chem Pharm Bull*, 51(12): 1432-1435.
- Kiem PV, Minh CV, Cai XF, et al. 2003b. A new 24-nor-lupane-glycoside of *Acanthopanax trifoliatum* [J]. *Arch Pharm Res*, 26(9): 706-708.
- Lischewsky M, Ty PD, Kutschabsky L, et al. 1985. Two 24-nor-triterpenoid carboxylic acids from *Acanthopanax trifoliatum*[J]. *Phytochemistry*, 24(10): 2355-2357.
- Ty PD, Lischewsky M, Phiet HV, et al. 1984. Two triterpenoid carboxylic acids from *Acanthopanax trifoliatum* [J]. *Phytochemistry*, 23(12): 2889-2891.
- Ty PD, Lischewsky M, Phiet HV, et al. 1985. 3 α , 11 α -Dihydroxy-23-oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid from *Acanthopanax trifoliatum*[J]. *Phytochemistry*, 24(4): 867-869.
- Yook CS, Kim IH, Hahn DR, et al. 1998. Lupane-triterpene glycoside from leaves of two *Acanthopanax*[J]. *Phytochemistry*, 49(3): 839-843.

(上接第 288 页 Continue from page 288)

含有杂质。超临界萃取艾叶挥发油的收率较微波萃取稍低,约为水蒸汽蒸馏的 2.3 倍,外观品质与水蒸汽蒸馏的相仿,品质较优(其三种工艺提取的挥发油成分分析另发表)。

(4)超临界萃取技术和微波辅助萃取技术提取艾叶挥发油尚未见报道,本实验结果表明采用上述两种方法提取艾叶挥发油是可行的,微波辅助萃取艾叶挥发油仅为初探,应进一步研究,提高品质。

参考文献:

- 江苏新医学院. 2002. 中药大辞典(上册)[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 559-562.
- Yao Faye(姚发业), Qiou Qin(邱琴), Liu Tingli(刘廷礼),

- et al. 2001. Chemical components of essential oils from folium *Artemisiae argyi*(艾叶挥发油的化学成分)[J]. *J Instrumental Analysis*(分析测试学报), 20(3):42-45.
- Pan JG(潘炯光), Xu ZL(徐植灵), Ji L(吉力), 1992. Chemical constituents of volatile oils from folium *Artemisiae argyi*(艾叶挥发油的化学研究)[J]. *China J Chinese Materia Medica* 中国中药杂志, 17(12):741-744.
- Yin GM(尹庚明), Sun N(孙宁), Zhu JZ(朱锦瞻), et al. 1999. Extraction of volatile components of folium *Artemisiae argri* and analysis by gas chromatography/mass spectrometry (艾叶挥发性成分的提取及其化学成分的气相色谱/质谱分析)[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学), 27(1):55-58.
- Zhou F(周峰), Qin LP(秦路平), Liang JF(连佳芳). 2000. Chemical constituents, bio-activity and plant resource from *Artemisia argri*(艾叶的化学成分、生物活性和植物资源)[J]. *J Pharm Practice*(药学实践杂志), 18(2): 96-98.