

薄荷油超临界 CO₂ 萃取条件的优化和筛选

梁呈元, 李维林^①, 夏冰, 房海灵, 王小敏

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 以样品中的薄荷脑含量为指标, 通过单因素和正交实验对影响薄荷 (*Mentha haplocalyx* Briq.) 油超临界 CO₂ 萃取的因素进行研究, 筛选出薄荷油超临界 CO₂ 萃取的最佳条件。研究表明, 影响样品中薄荷脑萃取率的因素从大到小依次为萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量。样品中薄荷脑含量最高的超临界 CO₂ 萃取条件为萃取压力 10 MPa、萃取温度 50℃、CO₂ 流量 30 L·h⁻¹ 且萃取时间 1.5 h。

关键词: 超临界 CO₂ 萃取; 薄荷; 挥发油

中图分类号: R284.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2006)04-0038-04

Optimization and selection of extraction conditions of essential oil from *Mentha haplocalyx* by supercritical CO₂ extraction method LIANG Cheng-yuan, LI Wei-lin^①, XIA Bing, FANG Hai-ling, WANG Xiao-min (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2006, 15(4): 38-41

Abstract: According to content of menthol in sample, conditions for supercritical CO₂ extraction of essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq. were studied through single factor and orthogonal experiment. The results showed that factors of effect on content of menthol in sample in order from large to small were extraction pressure, temperature, time and CO₂ flow rate. The optimized extraction conditions were pressure 10 MPa, temperature 50℃, CO₂ flow rate 30 L·h⁻¹ and extraction time 1.5 h.

Key words: supercritical CO₂ extraction; *Mentha haplocalyx* Briq.; essential oil

薄荷 (*Mentha haplocalyx* Briq.) 既是中国常用的传统中药, 也是重要的香料植物。具有疏风、散热、解毒的功效, 用于治疗风热感冒、头痛、目赤、咽喉肿痛、牙痛等^[1]。薄荷茎、叶中含有挥发油, 其主要有效成分为薄荷脑。

目前, 薄荷油的提取主要以水蒸气蒸馏法为主^[2-4]。由于该方法温度高, 容易使一些热敏性成分分解, 并且能耗较高, 而且温度难以控制, 导致出油率低。超临界 CO₂ 萃取技术 (supercritical carbon dioxide extraction, SC-CO₂) 具有操作温度低、无毒害、专一性强、效率高和操作简单等优点, 能保证有效成分及提取物的稳定性和安全性, 同时对环境无污染。因而, 超临界 CO₂ 萃取技术已广泛应用于食品、医药及化妆品等领域^[5-9]。作者对薄荷油超临界 CO₂ 提取条件进行了优化和筛选, 以期对薄荷油生产技术的改良提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验所用的薄荷 (*Mentha haplocalyx* Briq.) 采自江苏东台, 于 2005 年 7 月下旬采其地上部分, 经江苏省·中国科学院植物研究所郭荣麟研究员鉴定。

1.2 仪器

HA121-50-05 型超临界萃取装置 (江苏南通华安超临界萃取有限公司); 岛津 2010 型气相色谱仪; FZ102 型植物试样粉碎机; 挥发油提取器; 电热套; 电子天平等。

收稿日期: 2006-10-18

基金项目: 江苏省高技术研究项目 (BG2003314)

作者简介: 梁呈元 (1972-), 男, 江西吉安人, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事药用植物资源的研究。

^① 通讯作者 E-mail: lwlcnb@mail.cnbg.net

1.3 方法

1.3.1 超临界 CO₂ 萃取方法 称取粉碎后的样品 1.3 kg 装入萃取釜中。调节萃取温度及分离温度至设定值。开泵加压至设定的萃取压力,并调节 CO₂ 流量。当达到实验设定的萃取时间后,调节减压阀,减压至常压。收集薄荷油,用无水 Na₂SO₄ 脱水,过滤,称重,计算出油率,并测定薄荷脑含量。

1.3.2 单因素实验 按上述萃取方法,分别调整萃取压力为 8、10、12、15 和 18 MPa;萃取温度 35、45、55 和 65℃;CO₂ 流量 20、30、40 和 50 L·h⁻¹,萃取时间为 0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 h,进行单因素实验。

1.3.3 正交实验 按 L₉(3⁴) 正交表设计实验,选择萃取压力(A)、萃取温度(B)、CO₂ 流量(C)和萃取时间(D)4个因素,设置萃取压力为 8、10 和 12 MPa;萃取温度为 40、50 和 60℃;CO₂ 流量为 20、30 和 40 L·h⁻¹;萃取时间为 1.0、1.5 和 2.0 h。按上述萃取方法进行正交实验。

1.3.4 气相色谱分析条件 薄荷脑对照品购自中国药品生物制品检定所。

色谱条件:色谱柱为 ZB-WAX 弹性石英毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);柱温 80℃,恒温 2 min。程序升温:5℃·min⁻¹ 升至 110℃,保持 1 min;3℃·min⁻¹ 升至 150℃,保持 1 min;6℃·min⁻¹ 升至 170℃。汽化室温度 240℃;载气为高纯氮气(99.99%);检测温度 240℃(FID);分流比 20:1;进样量 2 μL(乙酸乙酯溶液)。

1.3.5 薄荷脑含量的计算方法 样品中薄荷脑含量(%) = 萃取率 × 薄荷油中薄荷脑含量 × 100%。

2 结果和分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 萃取压力对萃取率及薄荷脑含量的影响 压力是超临界 CO₂ 萃取过程中最重要的参数之一。当萃取温度一定时,随着萃取压力的增加,超临界流体的密度增大,从而使溶解能力增强。从表 1 可以看出,在萃取温度 55℃、CO₂ 流量 30 L·h⁻¹、萃取时间 1.5 h 的条件下,萃取压力从 8 MPa 增加到 10 MPa 时,样品中薄荷脑含量增加较快;但当压力增加至 10 MPa 后,样品中薄荷脑含量开始减少。因此,萃取压力应选定为 10 MPa。

2.1.2 萃取温度对萃取率及薄荷脑含量的影响 温度对萃取效果也有较大影响。一方面,随着温度的升高,超临界流体密度不断降低,其溶解能力也相应下降,从而导致萃取数量的减少;另一方面,温度升高使被萃取溶质的挥发性增加,促使被萃取物在超临界气相中的浓度增加,从而使萃取量增加。从表 2 可以看出,在萃取压力 10 MPa、CO₂ 流量 30 L·h⁻¹、萃取时间 1.5 h 的条件下,随着温度的增加,薄荷油萃取率相应增加;当温度到达 55℃ 以后,样品中薄荷脑含量增加缓慢。因此,萃取温度选在 55℃ 为宜。

表 1 萃取压力对薄荷油萃取率和薄荷脑含量的影响
Table 1 Effect of extraction pressure on extraction rate and menthol content in essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq.

萃取压力/MPa Extraction pressure	萃取率/% Extraction rate	薄荷油中薄荷脑含量/% Content of menthol in essential oil	样品中薄荷脑含量/% Content of menthol in sample
8	1.83	55.97	1.024
10	1.96	61.62	1.208
12	2.15	48.27	1.038
15	2.26	45.82	1.036
18	2.29	42.15	0.965

表 2 萃取温度对薄荷油萃取率和薄荷脑含量的影响
Table 2 Effect of extraction temperature on extraction rate and menthol content in essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq.

萃取温度/℃ Extraction temperature	萃取率/% Extraction rate	薄荷油中薄荷脑含量/% Content of menthol in essential oil	样品中薄荷脑含量/% Content of menthol in sample
35	1.75	59.62	1.043
45	1.98	60.73	1.202
55	2.03	61.94	1.257
65	2.07	61.56	1.274

2.1.3 CO₂ 流量对萃取率及薄荷脑含量的影响 超临界 CO₂ 萃取过程中,CO₂ 流量对薄荷油萃取率的影响见表 3。CO₂ 流量的变化对超临界流体萃取过程的影响较复杂,对萃取产生有利和不利 2 个方面的影响。当加大 CO₂ 流量时,流速加快,萃取液停留时间缩短,CO₂ 与被萃取物接触时间减少,不利于萃取;随着 CO₂ 流量的增加,萃取过程的传质效果增强,超临界 CO₂ 能迅速地将被溶解的溶质从原料表面带走,从而提高萃取能力^[10]。从表 3 可以看出,在萃取压力 10 MPa、萃取温度 55℃、萃取时间 1.5 h 的条件下,样品中薄荷脑含量随着 CO₂ 流量增加而

递增,但当流量增加到一定程度后,样品中薄荷脑含量增加趋势渐缓。考虑到 CO₂ 流量增加过大将导致 CO₂ 消耗增加和生产成本的增加,因此,CO₂ 流量选定为 30 L·h⁻¹。

表 3 CO₂ 流量对薄荷油萃取率和薄荷脑含量的影响
Table 3 Effect of CO₂ flow rate on extraction rate and menthol content in essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq.

流量/L·h ⁻¹ Flow rate	萃取率/% Extraction rate	薄荷油中薄荷脑含量/% Content of menthol in essential oil	样品中薄荷脑含量/% Content of menthol in sample
20	1.97	54.47	1.073
30	2.12	56.32	1.194
40	2.15	56.58	1.216
50	2.17	56.92	1.235

2.1.4 萃取时间对萃取率及薄荷脑含量的影响
由表 4 可以看出,在萃取压力 10 MPa、萃取温度 55℃、CO₂ 流量为 30 L·h⁻¹ 的条件下,随着萃取时间的增加,样品中薄荷脑含量增加,但当萃取时间增加到 1.5 h 后,样品中薄荷脑含量开始减少。因此,萃取时间选择 1.5 h 为宜。

表 5 薄荷油超临界 CO₂ 萃取的正交实验设计及结果

Table 5 Design and result of orthogonal experiment on essential oil extraction from *Mentha haplocalyx* Briq. by supercritical CO₂ extraction

编号 No.	萃取压力/MPa Extraction pressure (A)	萃取温度/℃ Extraction temperature (B)	CO ₂ 流量/L·h ⁻¹ CO ₂ flow rate (C)	萃取时间/h Extraction time (D)	萃取率/% Extraction rate	薄荷油中薄荷脑含量/% Content of menthol in essential oil	样品中薄荷脑含量/% Content of menthol in sample
1	8	40	20	1.0	1.59	54.24	0.862
2	8	50	30	1.5	1.83	55.97	1.024
3	8	60	40	2.0	1.61	52.04	0.838
4	10	40	30	2.0	1.92	59.03	1.133
5	10	50	40	1.0	1.97	62.9	1.239
6	10	60	20	1.5	2.03	62.03	1.259
7	12	40	40	1.5	2.05	49.41	1.013
8	12	50	20	2.0	2.30	46.16	1.062
9	12	60	30	1.0	2.32	44.72	1.038
K ₁	2.724	3.008	3.183	3.139			
K ₂	3.631	3.325	3.195	3.296			
K ₃	3.113	3.135	3.090	3.033			
R	0.907	0.317	0.105	0.263			

3 结论和讨论

萃取压力是影响薄荷油萃取率和薄荷脑含量的重要因素。当萃取压力为 10 MPa 时,薄荷油为红棕

表 4 萃取时间对薄荷油萃取率和薄荷脑含量的影响
Table 4 Effect of extraction time on extraction rate and menthol content in essential oil from *Mentha haplocalyx* Briq.

萃取时间/h Extraction time	萃取率/% Extraction rate	薄荷油中薄荷脑含量/% Content of menthol in essential oil	样品中薄荷脑含量/% Content of menthol in sample
0.5	1.63	53.51	0.872
1.0	1.85	57.42	1.062
1.5	2.06	59.96	1.235
2.0	2.17	52.87	1.147
2.5	2.20	43.64	0.960

2.2 正交实验结果

根据单因素实验结果,设计 4 因素 3 水平正交实验,正交实验设计及结果见表 5。由表 5 可见,对薄荷样品中薄荷脑含量的影响因素从大至小依次为萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量。薄荷样品中薄荷脑含量最高的萃取条件为 A₂B₂C₂D₂,即萃取压力为 10 MPa、萃取温度为 50℃、CO₂ 流量为 30 L·h⁻¹、萃取时间为 1.5 h。

色的澄清透明油状物;当萃取压力达到 15 MPa 时,所得薄荷油为暗绿色,这是因为部分叶绿素随挥发油一同被萃取出来;当萃取压力超过 20 MPa 时,从分离釜中分离到的是暗绿色膏状物,而不是油状物,这是因为压力过高,薄荷中的叶绿素、蜡及树脂等物

质被大量萃取出来。因此,在薄荷油的超临界 CO₂ 萃取过程中,萃取压力不宜过高。

萃取时间对薄荷脑含量的影响也较大。在超临界 CO₂ 萃取过程中,薄荷脑首先被萃取出来,而其他成分被萃取出来的速度较慢。所以经过一段时间的萃取后,随着萃取时间的增加,被萃取出来的薄荷脑总量基本没有变化,而薄荷油的总量却在增加,因此,薄荷油中薄荷脑含量反而降低。

超临界 CO₂ 萃取薄荷油时,4 个因素对薄荷样品中薄荷脑含量的影响程度从高到低依次为萃取压力、萃取温度、萃取时间、CO₂ 流量。薄荷样品中薄荷脑含量最高的萃取条件是萃取压力 10 MPa、萃取温度 50℃、CO₂ 流量 30 L·h⁻¹ 和萃取时间 1.5 h。

在实际生产中,薄荷油主要是通过水蒸气蒸馏法提取获得,其薄荷油得率和薄荷脑含量都较低;相比较而言,利用超临界 CO₂ 萃取技术不但能提高薄荷油的出油率和薄荷脑含量,还能有效保留薄荷的天然香味和色泽。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2000 年版(一部)

[M]. 北京:人民卫生出版社,2000. 6097.

- [2] 魏新国,董岩. 野生薄荷挥发油化学成分的 GC-MS 分析[J]. 烟台师范学院学报(自然科学版),2003,19(2):116-118.
- [3] 安秋荣,郭志峰. 夏、秋季薄荷挥发油成分的对比研究[J]. 河北大学学报(自然科学版),2000,20(4):351-354.
- [4] 刘金荣,李萍. 三种野生薄荷挥发油化学成分的测定[J]. 石河子医学院学报,1995,17(1):16-17.
- [5] 张镜澄. 超临界流体萃取[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [6] Zkal S, Salgin U, Yener M. Supercritical carbon dioxide extraction of hazelnut oil[J]. Journal of Food Engineering, 2005, 69: 217-223.
- [7] Mostafa K, Yadollah Y, Fatemeh S. Comparison of essential oil composition of *Carum copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods [J]. Food Chemistry, 2004, 86: 587-591.
- [8] 张晨,刘志伟. 超临界 CO₂ 萃取在天然产物提取中的应用[J]. 四川食品与发酵,1999(2):29-31.
- [9] 李淑芬,陈宝良. 超临界 CO₂ 萃取在天然产品中的特性研究[J]. 化工进展,1997(2):10-14.
- [10] 李卫民,金波. 中药现代化与超临界流体萃取技术[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002.

(上接第 32 页 Continued from page 32)

识及苦豆子不同溶剂提取物的深入开发应用有重要意义。

在增效作用实验中,苦豆子提取物对埃玛菌素的增效作用远好于生物碱单体,其原因可能有二:一是提取物为多种成分的混合物,其中含有的脂溶性成分有助于埃玛菌素进入昆虫体内,而生物碱单体则缺乏这种功能。二是“综合效应”表现。在对植物源杀虫剂的研究中发现,往往高含量的经分离纯化的化合物“单体”效果低于其提取物,最典型的就是单一“印楝素”杀虫效果不及“印楝提取物”。该结果将对植物源农药的相关研究工作有所启示。

参考文献:

- [1] Kuchkarov S, Kushmuradov. Lupinine alkaloids from *S. alopecuroides* [J]. Khim Prii Soedin, 1979(3): 413-414.
- [2] 黎雪如,戴寿芝,李为,等. 苦豆子七种生物碱对小鼠免疫功能的影响[J]. 中草药,1987,18(5):214-215.
- [3] 罗万春,李云寿,慕立义,等. 苦豆子生物碱对萝卜蚜的毒力

及其对几种酯酶的影响[J]. 昆虫学报,1997,40(4):358-365.

- [4] Zhao B G, Grant G G, Langevin D, et al. Deterring and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm oviposition [J]. Physiological and Chemical Ecology, 1998, 27(4): 984-992.
- [5] 刘传秀,韩招久,李凤良,等. 应用蛭石萝卜苗法室内继代大量繁殖小菜蛾室的研究[J]. 昆虫知识,1993(6):341-344.
- [6] 赵建周,剧正理,朱国仁,等. 小菜蛾抗药性的田间监测方法[J]. 农业科学集刊,1993(1):253-256.
- [7] 罗万春,张强. 苦豆子生物碱对小菜蛾体内部分杀虫剂代谢酶活性的影响[J]. 昆虫学报,2003,46(1):122-125.
- [8] 罗万春,李云寿. 两种苦豆子生物碱对昆虫酯酶同工酶的影响[J]. 农药,1996,35(7):12-13.
- [9] 张强,罗万春. 苦豆子7种生物碱对不同类型4种杀虫剂增效作用的研究[J]. 农药学报,2002,4(3):57-61.
- [10] 罗万春,慕卫,张新,等. 苦豆子提取物与辛硫磷的增效作用研究[J]. 莱阳农学院学报,1998,15(4):268-271.
- [11] 罗万春,慕卫,张新,等. 苦豆子提取物与灭多威的增效作用研究[J]. 莱阳农学院学报,1998,15(3):191-194.