

# 超临界二氧化碳萃取黄柏挥发油工艺

何青云<sup>1</sup>, 张永康<sup>2,\*</sup>, 颜文斌<sup>1</sup>, 刘文萍<sup>1</sup>, 张娟<sup>3</sup>, 张俊生<sup>1</sup>

- (1. 吉首大学化学化工学院, 湖南吉首 416000;  
2. 吉首大学植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南吉首 416000;  
3. 厦门大学化学化工学院, 福建厦门 361005)

**摘要:** 使用超临界二氧化碳技术对经过超声-微波处理过的黄柏中的挥发油进行萃取, 并对萃取工艺进行响应面优化。在单因素预实验的基础上, 以萃取压力、萃取温度、萃取时间为响应因素, 黄柏挥发油的萃取量为响应值, 根据中心组合(Box-Behnken)实验设计原理, 采用三因素三水平的响应面分析法, 确定各工艺条件对萃取量的影响, 并用扫描电子显微镜(SEM)对萃取前、未超声-微波处理超临界萃取后及超声-微波处理超临界萃取后的黄柏进行比较观察, 对萃取效果进行了微观解释。结果表明, 经过超声-微波处理过的黄柏中的挥发油超临界二氧化碳萃取最佳工艺条件为: 萃取压力为34MPa, 萃取温度为41℃, 萃取时间为66min, 萃取率达6.03%。

**关键词:** 超临界萃取, 黄柏, 挥发油, 响应面分析, 扫描电镜

## Study on extraction technology of volatile oil from cortex phellodendri by supercritical carbon dioxide

HE Qing-yun<sup>1</sup>, ZHANG Yong-kang<sup>2,\*</sup>, YAN Wen-bin<sup>1</sup>, LIU Wen-ping<sup>1</sup>, ZHANG Juan<sup>3</sup>, ZHANG Jun-sheng<sup>1</sup>

- (1. College of Chemistry and Chemical Engineering of Jishou University, Jishou 416000, China;  
2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization, Jishou University, Jishou 416000, China;  
3. College of Chemistry and Chemical Engineering of Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**Abstract:** The supercritical carbon dioxide extraction of volatile oil from processed cortex phellodendri was optimized by response surface methodology (RSM). According to the principle of Box-Behnken central composite design, extraction pressure, extraction temperature, extraction time were chosen as response factors, extraction mass was chosen as response value, and a three-factor and three level central composite design was adopted to determine the influence of various technological conditions. Using SEM observed the cortex phellodendri before and after extraction, and explained the extraction effects from microcosmic aspect. The results showed that the optimum extraction conditions were as follows: extraction pressure 34MPa, extraction temperature 41℃, extraction time 66min, extraction yield was 6.03%.

**Key words:** supercritical carbon dioxide extraction, cortex phellodendri, volatile oil, response surface methodology; SEM

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)03-0217-04

黄柏主产于四川、湖南和贵州等省, 性寒、味苦, 具有清热燥湿、解毒疗疮、泻火解表之功效, 其主要有效成分为生物碱类、黄酮类、挥发油类、内酯类、萜类及甾醇类等<sup>[1]</sup>。超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction, SFE) 是食品工业新兴的一项萃取和分离技术, 具有操作温度低、选择性好、萃取无残留、可保持萃取油脂原始风味等特点, 该法大大增强了

油脂的开发空间<sup>[2-3]</sup>。响应面分析法(response surface methodology, RSM)是一种优化反应条件和加工工艺参数的有效方法, 相对正交实验设计法, 实验周期短, 求得的回归方程精度高, 能研究几种因素间交互作用, 已广泛应用于化学化工、生物工程、食品工业等方面<sup>[4]</sup>。在黄柏及黄柏果挥发油的研究报道中, 侯冬岩等<sup>[5]</sup>用蒸馏萃取装置(SDE)提取得黄柏果中挥发油得率为2.43%, 回瑞华等<sup>[6]</sup>同样使用SDE提取黄柏挥发油得率为0.45%, 但SDE提取具有挥发油得率低、无法进行中试实验等缺点。本工作立足湖南湘西当地中药材资源, 使用超临界二氧化碳萃取经过超声-微波处理<sup>[7-8]</sup>过的黄柏中的挥发油, 并对萃取工艺进行响应面优化, 提高了黄柏挥发油萃取率。

收稿日期: 2011-04-15 \* 通讯联系人

作者简介: 何青云(1989-), 男, 在读本科生。

基金项目: 湖南省科技厅重大专项(2008FJ1007); 2010年吉首大学大学生研究性学习与创新性实验计划项目(JSU-CX-2010-49)。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与仪器

实验用黄柏饮片 湖南湘泉制药有限公司提供 ;CO<sub>2</sub> 食品级 ,纯度大于99.5% ,购于吉首市华鑫气体冲装有限公司。

HA221-40-12型超临界流体萃取装置 江苏南通华安超临界流体萃取有限公司 ;Hitachi S-3400N扫描电子显微镜 日本日立株式会社 ;NJL07-3型实验专用微波炉 南京杰全微波设备有限公司 ;KQ250-E型超声波清洗器 郑州长城科工贸有限公司 ;JA5103N 高精度电子天平 上海民桥精密科学仪器有限公司 ;GZX-9070MBE数显鼓风干燥箱 上海博迅实业有限公司医疗设备厂 ;CDE-220E2多功能食品处理机 佛山市顺德区欧科电器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 工艺流程 黄柏饮片→干燥→粉碎→超声、微波处理→干燥→过筛→称重→装料→超临界CO<sub>2</sub>萃取→减压分离→黄柏挥发油

1.2.2 超声、微波处理操作过程 取适量粉碎干燥的黄柏于大烧杯中 ,以去离子水为介质 ,在超声设备中40℃下超声30min ,之后取出在微波设备中500W条件下微波处理4min<sup>[7-8]</sup>。

### 1.2.3 萃取率计算

$$\text{萃取率}(\%) = \frac{\text{萃取黄柏挥发油质量}}{\text{萃取原料质量}} \times 100\%$$

1.2.4 响应面优化实验设计 根据前期单因素预实验结果 ,影响黄柏挥发油萃取量的主要影响因素为萃取压力、萃取温度和萃取时间。因此以萃取压力、萃取温度和萃取时间3个因素为自变量 ,每个因素取

表1 中心组合因素水平表

Table 1 Variables and levels in central composite design

水平	因素		
	A萃取压力(MPa)	B萃取温度(℃)	C萃取时间(min)
+1	35	50	90
0	30	40	60
-1	25	30	30

三个水平 ,以-1、0、+1编码 ,黄柏挥发油的萃取量作为响应值 ,进行实验设计<sup>[9-11]</sup> ,实验方案见表1。

## 2 结果与分析

### 2.1 黄柏挥发油萃取量响应面优化及分析

对黄柏中挥发油的超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺进行响应面设计见表2。采用Design-Expert软件对所得数据进行回归分析 ,该二次回归方程方差分析结果和回归方程系数显著性检验见表3。三因素交互作用对黄柏挥发油的响应面分析结果见图1~图3。

表2 设计实验及结果

Table 2 Design and results of central composite experiment

实验号	A	B	C	Y 萃取量(g)
1	-1	-1	0	13.28
2	1	-1	0	16.34
3	-1	1	0	11.12
4	1	1	0	17.11
5	-1	0	-1	11.73
6	1	0	-1	17.06
7	-1	0	1	13.85
8	1	0	1	17.51
9	0	-1	-1	15.12
10	0	1	-1	14.68
11	0	-1	1	16.39
12	0	1	1	15.28
13	0	0	0	17.11
14	0	0	0	17.54
15	0	0	0	17.38
16	0	0	0	17.09
17	0	0	0	17.23

各因素经多元回归拟合 ,得到回归方程为 :

$$Y = 17.27 + 2.26A - 0.37B + 0.56C + 0.73AB - 0.42AC - 0.17BC - 1.57A^2 - 1.24B^2 - 0.66C^2$$

由表3数据及图1~图3可得 ,该二次方程模型极显著。一次项中A、C项偏回归系数极显著 ,说明萃取压力、萃取时间对黄柏挥发油的萃取量有极显著影响 ;B的偏回归系数高度显著 ,说明萃取温度对黄柏挥发油的萃取量有高度显著影响 ;AB的交互作用极显

表3 回归方程方差分析表

Table 3 Analysis of variance of each item of mathematical regression model

方差来源	总和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	67.759888	9	7.5288765	251.56150	<0.001	***
A	40.6802	1	40.680200	1359.2430	<0.001	***
B	1.08045	1	1.0804500	36.100955	0.005	**
C	2.4642	1	2.4642000	82.336038	<0.001	***
AB	2.146225	1	2.1462250	71.711575	<0.001	***
AC	0.69722500	1	0.69722500	23.296301	0.019	*
BC	0.11222500	1	0.11222500	3.7497613	0.094	
A <sup>2</sup>	10.362007	1	10.362007	346.22456	<0.001	***
B <sup>2</sup>	6.4610592	1	6.4610592	215.88265	<0.001	***
C <sup>2</sup>	1.8550066	1	1.8550066	61.981127	0.001	**
残差	0.20950000	7	0.029928571			
失拟项	0.064900000	3	0.021633333	0.59843246	0.649	不显著
纯误差	0.14460000	4	0.036150000			
总和	67.969388	16				

注:模型的R<sup>2</sup>=0.9969 ,R<sup>2</sup><sub>Adj</sub>=0.9929 ,\*\*\*为差异极显著(p<0.001) ,\*\*为差异高度显著(p<0.01) ,\*为差异显著(p<0.05)。

著;AC的交互作用显著;二次项中A<sup>2</sup>、B<sup>2</sup>的偏回归系数达到极显著水平,C<sup>2</sup>的偏回归系数达到高度显著水平。该模型极显著(P<0.0001),失拟项不显著,说明未知因素对实验结果干扰很小。模型的校正确定因素R<sup>2</sup><sub>Adj</sub>为0.9929,表明模型能解释黄柏挥发油萃取量响应值的变化。因而该模型与实际情况拟合较好,可用于预测超临界CO<sub>2</sub>萃取黄柏挥发油的实际情况。

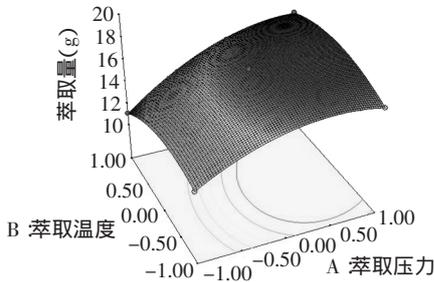


图1 萃取压力和萃取温度对萃取量的响应面分析

Fig.1 Response surface analysis for interactive effects of extraction pressure and extraction temperature on extraction capacity

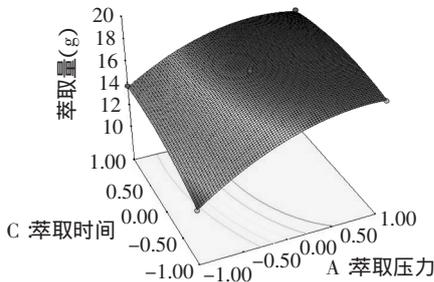


图2 萃取压力和萃取时间对萃取量的响应面分析

Fig.2 Response surface analysis for interactive effects of extraction pressure and extraction time on extraction capacity

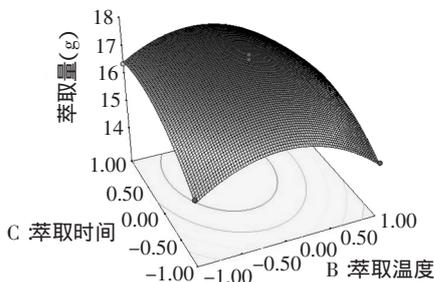


图3 萃取温度和萃取时间对萃取量的响应面分析

Fig.3 Response surface analysis for interactive effects of extraction temperature and extraction time on extraction capacity

对采用Design Expert软件分析可得二次多项回归方程去一阶偏导数等于零,整理可以得到如下三式:

$$3.14A - 0.73B + 0.42C = 2.26 \quad \text{式(1)}$$

$$0.73A - 2.48B - 0.17C = 0.37 \quad \text{式(2)}$$

$$0.42A + 0.17B + 0.32C = 0.56 \quad \text{式(3)}$$

由式(1)、(2)、(3)联立方程组,解得A=0.7, B=0.05, C=0.19。换算可得到萃取压力为33.5MPa,萃取温度为40.5℃,萃取时间为65.7min。由回归方程预测黄柏挥发油的理论萃取率达6.07%。考虑到实际操作的可行性,将黄柏挥发油的超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺条件修正为:萃取压力为34MPa,萃取温度为41℃,萃取时

间为66min。为检验结果的可靠性,在上述响应面分析结果确定的最佳工艺条件下进行3次萃取实验,得到黄柏挥发油的平均萃取率达6.03%,与理论预测值基本一致,说明方程与实际情况拟合很好,充分验证了所建模型的正确性。因此,使用响应面分析法得到的黄柏挥发油超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺参数真实可靠。

## 2.2 超声-微波处理对黄柏微观结构的影响

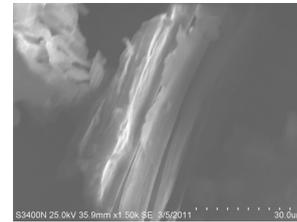


图4 萃取前的原料的扫描电镜图(1500×)

Fig.4 SEM image of phellodendron before extracted(1500×)

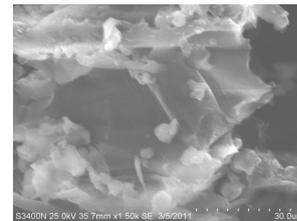


图5 未使用超声-微波处理的黄柏萃取后的扫描电镜图(1500×)

Fig.5 SEM image of unprocessed cortex phellodendri by ultrasonic and microwave after SFE extracted(1500×)

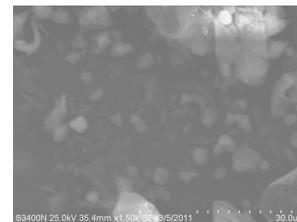


图6 超声-微波处理过的黄柏萃取后的扫描电镜图(1500×)

Fig.6 SEM image of processed cortex phellodendri by ultrasonic and microwave after SFE extracted(1500×)

比较图4~图6,发现萃取前原料表面大部分平滑完整,组织结构相对比较紧密,萃取后原料表面的结构遭到较大程度的破坏,而且超声-微波处理后在进行超临界CO<sub>2</sub>萃取比仅使用超临界CO<sub>2</sub>萃取对原料细胞组织结构的破坏作用更强。又由于植物油脂位于植物细胞内部,故超声-微波辅助超临界CO<sub>2</sub>萃取可加速黄柏挥发油的溶出速率<sup>[12-15]</sup>。超声波协同微波提取普遍被认为主要是超声波的空化效应、机械效应和微波的热效应造成了生物细胞壁及整个生物体的断裂与破碎<sup>[16-17]</sup>,可以解释超临界二氧化碳对经过超声-微波处理过的黄柏中的挥发油萃取率远高于SDE法萃取率的原因。

## 3 结论

3.1 采用Design Expert软件分析萃取压力、萃取温度和萃取时间三个因素对黄柏挥发油萃取量的影响,得到黄柏挥发油超临界CO<sub>2</sub>萃取工艺参数的回归

(下转第223页)

表7 各种抗氧化剂对油脂抗氧化能力比较  
Table 7 Comparison of antioxidant ability of different antioxidants on oil

比较值	植物油			动物油		
	1.5h	4.5h	9h	1.5h	4.5h	9h
空白POV(%)	0.15	0.20	0.19	0.064	0.090	0.078
加柠檬酸后POV降低率(%)	6.67	0.00	11.76		8.89	1.28
加V <sub>c</sub> 后POV降低率(%)	13.33	5.26	15.80	14.06	15.56	
加黄酮提取物后POV降低率(%)	6.67	15.00	21.05	4.69	3.33	8.33

注:POV降低率(%)=[(POV(%)空白样-POV(%)被测样)/POV(%)空白样]×100%。

从表7看出,作为植物油的抗氧化剂时,当在烤箱中放置时间越长,添加黄酮提取物的油脂的POV降低率越大,表明越是深度氧化的油脂,莲子心黄酮提取物的抗氧化活性越强。作为动物油的抗氧化剂时,黄酮提取物的抗氧化性比柠檬酸、V<sub>c</sub>弱,但在放置时间为9h即深度氧化时,添加黄酮提取物的样品抗氧化性优于柠檬酸、V<sub>c</sub>,这与后者常用于冷饮的情况符合,故莲子心黄酮提取物可用于烘焙含油食品中作抗氧化剂用。结果表明莲子心黄酮对植物油的抗氧化能力远强于对动物油的抗氧化能力,深度氧化时该提取物对油脂的抗氧化能力强于V<sub>c</sub>和柠檬酸,莲子心黄酮提取物作为天然抗氧化剂有着巨大的应用潜力。

### 3 结论

在乙醇体积分数80%、料液比1:25、超声功率250W、超声温度50℃、超声时间30min的优化条件下,

(上接第219页)

方程。方差分析结果表明该模型极显著(P<0.0001),校正确定因素达0.9929,失拟项不显著,说明该方程能很好地预测黄柏挥发油超临界CO<sub>2</sub>萃取量随着各参数变化的规律。

3.2 萃取工艺优化后确定的最佳条件为:萃取压力为34MPa,萃取温度为41℃,萃取时间为66min,在此工艺条件下300g黄柏中挥发油超临界CO<sub>2</sub>萃取率达6.03%,萃取率远高于SDE法。

### 参考文献

- [1] 王萌. 常用中药川黄柏和黄连化学成分及生物活性比较研究[D]. 北京:北京协和医学院研究生院,2009.
- [2] 潘秋月,刘悦,黄伟素. 超临界流体萃取活性脂质的研究进展[J]. 中国粮油学报,2010,25(5):120-128.
- [3] 廖传华,黄振仁. 超临界CO<sub>2</sub>流体萃取技术:工艺开发及其应用[M]. 北京:化学工业出版社,2004.
- [4] 杨文雄,高彦祥. 响应面法及其在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂,2005(2):68-71.
- [5] 侯冬岩,回瑞华,李铁纯. 纯黄柏果中挥发性成份的研究[J]. 质谱学报,2001,22(3):61-65.
- [6] 回瑞华,侯冬岩,李铁纯,等. 黄柏挥发性化学成分分析[J]. 分析化学,2001,29(3):361-364.
- [7] 易军鹏,朱文学,马海乐. 牡丹籽油超声辅助提取工艺优化

莲子心黄酮提取率为2.23%,是传统方法提取率的2.4倍。在7.26~21.78μg/mL范围内该提取物浓度与清除羟基自由基能力成正相关,对油脂的氧化具有明显的抑制作用,深度氧化时该提取物对植物油的抗氧化能力强于V<sub>c</sub>和柠檬酸。

### 参考文献

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京:化学工业出版社,2005:193-194.
- [2] 罗顺德,王辉. 莲心碱的研究概况和进展[J]. 中国药房,2001,12(10):624-625.
- [3] 夏稼红,陶冉,范乃兵,等. 紫外分光光度法测定莲子心总黄酮的含量[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(2):116-118.
- [4] 许雪琴,余丽双,陈国南. 毛细管电泳-柱端安培检测测定莲子心中荷叶碱、芦丁和金丝桃苷的含量[J]. 分析测试技术与仪器,2008,14(3):140-143.
- [5] 陈静,张敏,郑铁松,等. 莲子心乙醇提取液体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学,2008,29(9):48-51.
- [6] 王川. 葡萄籽单宁的抗氧化性研究[J]. 食品科技,2009,34(2):184-187.
- [7] 任雪峰,吴冬青,王永生,等. 人参总黄酮含量的超声提取工艺研究[J]. 食品工业科技,2011,32(3):307-309.
- [8] 张孟琴,张丽娜,王朝阳,等. 三叶木通果皮总黄酮的提取和含量测定的研究[J]. 食品工业科技,2010,31(1):250-253.
- [9] 汪河滨,白红进,王金磊,等. 黑果枸杞色素清除自由基活性的研究[J]. 食品研究与开发,2006,27(11):8-10.
- [10] 赵新淮,张娜,王琳. 油脂过氧化值的碘量测定法比较研究[J]. 中国油脂,2003,28(4):60-62.
- [11] 及其GC-MS分析[J]. 食品工业科技,2009(8):198-201.
- [12] 杨兰,吴肖,甘翠. 响应面法优化竹叶精油的微波辅助提取工艺[J]. 食品工业科技,2010(8):280-282.
- [13] YIN Jian zhong,WANG Aiqin,WEI Wei,et al. Analysis of the operation conditions for supercar I tical fluid extraction of seed oil[J]. Separation and Purification Technology,2005,43(2):163-167.
- [14] Serap Ozcan,et al. A response surface analysis of commercial corn starch annealing[J]. Cereal Chemistry,2003,80:241-243.
- [15] 侯伟伟,郑灿龙,逢焕明,等. 响应面法优化超临界CO<sub>2</sub>萃取杏香气成分的工艺参数[J]. 食品工业科技,2011(2):264-265.
- [16] 胡爱军,罗登林,丘泰球. 超声强化超临界流体萃取机理的研究[J]. 高校化学工程学报,2005,19(5):583-587.
- [17] 王萍. 红松仁油的超临界CO<sub>2</sub>萃取及其抗衰老功能研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2003.
- [18] 唐韶坤. 超临界二氧化碳萃取葡萄籽中食用及药用成分的工艺和模型研究[D]. 天津:天津大学,2003.
- [19] 孙丽萍,徐响. 超临界二氧化碳处理对油菜花粉破壁的影响[J]. 食品科学,2008,29(6):56-58.
- [20] 唐佳伟,李超,郑义,等. 超声波协同微波提取牛蒡籽油的工艺研究[J]. 食品科学,2009,30(22):104-107.
- [21] 邹小兵,陶进转,夏之宁,等. 微波辅助提取挥发油的研究进展[J]. 中成药,2010,32(6):1014-1020.