

# 迷迭香抗氧化剂和精油综合提取技术研究(Ⅲ)

## ——超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法



Bi Liang-wu

毕良武, 赵振东, 李冬梅, 古 研, 王 婧, 刘先章

(中国林业科学研究院 林产化学工业研究所; 国家林业局 林产化学工程  
重点开放性实验室, 江苏 南京 210042)

**摘 要:** 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取(SCDE)法是迷迭香抗氧化剂和精油综合提取的有效方法之一。迷迭香抗氧化剂和精油超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的优选条件为: 萃取时间 4 h, 夹带剂 95% 乙醇与迷迭香叶子的质量比为 2:5, 萃取罐和分离器 I 的温度分别为 50 和 70 °C, 分离器 II 的温度为 40 °C, 萃取压力 20 MPa, 分离压力为 4~5 MPa。迷迭香精油的平均得率为 1.80%, 迷迭香精油主要含有 1,8-桉叶素、樟脑、 $\alpha$ -松油醇、龙脑、马鞭草烯酮、4-松油醇、乙酸龙脑酯和芳樟醇等成分。迷迭香抗氧化剂的平均得率为 11.93%, 主要含有鼠尾草酸、鼠尾草酚和迷迭香酸等活性成分, 其质量分数分别为 23.61%、7.33% 和 5.13%。

**关键词:** 迷迭香; 抗氧化剂; 精油; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取

中图分类号: TQ654.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2007)06-0008-05

## Study on Comprehensive Extraction of Antioxidant and Essential Oil from Rosemary (Ⅲ)——Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction

Bi Liang-wu, ZHAO Zhen-dong, LI Dong-mei, GU Yan, WANG Jing, LIU Xian-zhang

(Institute of Chemical Industry of Forest Products, CAF; Key and Open Lab. on  
Forest Chemical Engineering, SFA, Nanjing 210042, China)

**Abstract:** Supercritical CO<sub>2</sub> extraction (SCDE) is a kind of effective comprehensive extraction for antioxidant and essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). In this study, the optimal conditions of comprehensive extraction for antioxidant and essential oil of rosemary were as follows: extraction time 4 h, 95% (volume fraction) ethanol as entrainer to rosemary leaves 2:5, temperature of extraction pot 50 °C, temperature of separation pot I 70 °C, temperature of separation pot II 40 °C, extraction pressure 20 MPa and separation pressure 4-5 MPa. Average yield of rosemary oil was 1.80%. Results of constituent analysis of rosemary oil showed that the essential oil mainly contains 1,8-cineole, camphor,  $\alpha$ -terpineol, borneol, verbenone, terpinen-4-ol, bornyl acetate and linalol. Average yield of rosemary antioxidant was 11.93%. Main active components of rosemary antioxidant were carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, whose contents were 23.61%, 7.33% and 5.13%, respectively.

**Key words:** rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.); antioxidant; essential oil; supercritical CO<sub>2</sub> extraction

针对迷迭香抗氧化剂和精油的综合提取, 毕良武等<sup>[1-3]</sup>研究了极性溶剂和非极性溶剂相结合的两步提取法和一步提取法, 取得了满意的结果。随着对提取物中溶剂残留量的关注, 人们更倾向于使用绿色提取手段, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取(SCDE)法就是经常被选择和研究的方法之一。SCDE 法与常规溶剂提取法相比具有以下显著特点: 1) 提取温度低。在室温或较低温度及 CO<sub>2</sub> 氛围下提取, 可有效防止热敏性物质的氧化和分解, 能保证活性成分的活性, 而且能把高沸点、低挥发度、易热解的物质提取出来; 2) 绿色环保。SCDE 法无溶剂残留, 提取过程无有毒和污染物排放; 3) 提取效率高。SCDE 法使提取和分离过程合二为一, 效率高、能耗较少, 节约成本; 4) 安全性好。CO<sub>2</sub> 为不活泼气体, 不燃性、无味、无臭、无毒, 提取过程亦无化学反应; 5) 提取介质便宜易得。CO<sub>2</sub> 方便易得、价格便宜, 纯度高, 可循环使用; 6)

收稿日期: 2006-12-12

基金项目: 国家林业局林产化学工程重点开放性实验室基金资助项目(无编号)

作者简介: 毕良武(1966-), 江苏盐城人, 副研究员, 博士, 从事天然产物化学与利用研究。

操作简单,可调性好。压力和温度都可以成为调节提取过程的参数。国内外迷迭香叶子的 SCDE 研究,可以分为如下 3 类方法:1)迷迭香精油的 SCDE<sup>[4-5]</sup>。在相对低的压力条件下,先采用 SCDE 法提取分离迷迭香精油,然后再用传统溶剂法提取迷迭香抗氧化剂;2)迷迭香抗氧化剂的 SCDE<sup>[6]</sup>。先采用传统方法(如水蒸气法等)分离迷迭香精油,然后在较高的压力条件下,采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取分离迷迭香抗氧化剂;3)迷迭香抗氧化剂和精油的 SCDE<sup>[7-18]</sup>。迷迭香抗氧化剂和精油在不同阶段或不同分离部位实现分步或同步提取分离。本研究主要是利用 SCDE 装置中多级分离器存在较大压力差的特点,分别在高压分离器和低压分离器中同步得到迷迭香抗氧化剂和精油。对迷迭香叶子而言,迷迭香精油等挥发性成分完全可以直接采用 SCDE 法实现分离,而迷迭香抗氧化剂为非挥发性酚化化合物,则需加乙醇等夹带剂实现 SCDE。

## 1 实验部分

### 1.1 原料、试剂和仪器

迷迭香叶子,由厦门劲美生物科技有限公司提供。鼠尾草酸和迷迭香酸标准样品均来自英国 Axxora (UK) Ltd. 公司。95% (体积分数,下同)乙醇,分析纯;CO<sub>2</sub> 钢瓶及气体。HA120-50-02 型超临界萃取装置(江苏华安超临界萃取有限公司)。

### 1.2 提取方法和操作过程

按图 1 所示提取过程,开启超临界萃取装置的总电源、加热、制冷及冷循环开关,向萃取罐中加入迷迭香叶子,加夹带剂,通 CO<sub>2</sub>。待设定温度和压力平衡后,启动高压泵,调节萃取罐与分离器 I 及分离器 II 之间的连通阀,使之保持在所需压力,开始计时。待萃取结束时,依次关闭高压泵、加热、制冷、冷循环及总电源的开关,由分离器 I 的排料阀放出固态的迷迭香抗氧化剂,由分离器 II 的排料阀放出液态的迷迭香精油和夹带剂。调节萃取罐与分离器 I 及分离器 II 之间的连通阀,待压力平衡后使部分 CO<sub>2</sub> 返回钢瓶。关闭相关连通阀,开排空阀,打开萃取罐,取出迷迭香叶子残渣(见图 1)。

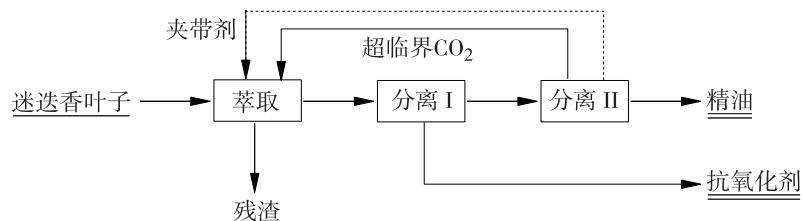


图 1 迷迭香抗氧化剂和精油综合提取过程(SCDE 法)

Fig. 1 Comprehensive extraction procedure of antioxidant and essential oil from rosemary by SCDE method

### 1.3 分析方法与仪器

**1.3.1 迷迭香精油的分析方法与仪器** 气相色谱及气-质联用具体分析及仪器与文献[1]相同。各组分含量的测定,采用面积归一化法;成分鉴定主要依据质谱数据库进行自动比对完成,并利用迷迭香精油的 ISO 标准中所提供的色谱图和各对应峰的成分进行二次验证<sup>[18]</sup>。

**1.3.2 迷迭香抗氧化剂的分析方法与仪器** 液相色谱具体分析及仪器与文献[1]相同。分析样品和标样均采用无水乙醇溶解配制成待测溶液,主要根据色谱保留时间和文献数据进行定性判断,利用标准样品所测标准曲线进行定量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取(SCDE)的影响因素分析

由于迷迭香叶子中精油含量比抗氧化剂含量低很多,萃取条件对迷迭香精油的提取影响不明显,因此只研究 SCDE 因素对抗氧化剂得率的影响。根据前期初步试验,认为萃取和分离温度、萃取压力、萃取时间和夹带剂量等因素为迷迭香抗氧化剂 SCDE 的主要影响因素,为此设计了 4 因素 3 水平的试

验方案,具体正交试验结果见表1(萃取温度是指萃取罐的水浴温度,分离温度是指分离器I的水浴温度,分离器II的水浴温度固定为40℃;萃取压力是指萃取罐的压力,分离器I与分离器II的压力均为4~5 MPa;固定循环流量;迷迭香叶子为粉碎料,投料规模为50 g)。

表1 迷迭香抗氧化剂 SCDE 正交试验

Table 1 Orthogonal test on SCDE of rosemary antioxidant

序号 No.	A 萃取(分离)温度/℃ extraction (separation) temp.	B 萃取压力/MPa extraction pressure	C 萃取时间/h extraction time	D $m(\text{夹带剂}):m(\text{叶子})$ $m(\text{entrainer}):m(\text{leaves})$	得率/% yield
1	40(60)	20	2	1:5	4.38
2	40(60)	30	3	2:5	7.07
3	40(60)	40	4	3:5	6.58
4	50(70)	20	3	3:5	8.24
5	50(70)	30	4	1:5	8.29
6	50(70)	40	2	2:5	7.62
7	60(80)	20	4	2:5	10.93
8	60(80)	30	2	3:5	5.07
9	60(80)	40	3	1:5	5.62
$k_1$	6.01	7.85	5.69	6.10	
$k_2$	8.05	6.81	6.98	8.54	
$k_3$	7.21	6.61	8.60	6.63	
R	2.04	1.24	2.91	2.44	
优选条件 optimal condition	$C_3(4\text{ h}) > D_2(2:5) > A_2(50\text{ }^\circ\text{C}/70\text{ }^\circ\text{C}) > B_1(20\text{ MPa})$				

由表1结果得到,迷迭香抗氧化剂 SCDE 的优选条件为:萃取罐和分离器I的温度分别为50和70℃,萃取压力20 MPa,萃取时间4 h,夹带剂95%乙醇与迷迭香叶子的质量比为2:5。

## 2.2 验证试验

参照上述优化条件:萃取时间4 h,夹带剂95%乙醇与迷迭香叶子的质量比2:5,萃取罐和分离器I的温度分别为50和70℃,分离器II的温度为40℃,萃取压力20 MPa,分离压力4~5 MPa进行放大试验,投料规模由50 g提高到500 g,进行SCDE法的重复试验,迷迭香精油的平均得率为1.80%,迷迭香抗氧化剂的平均得率为11.93%。

表2 SCDE法迷迭香精油的化学组成

Table 2 Chemical constituents of rosemary essential oil by SCDE

保留时间/min retention time	化合物 compounds	相对含量/% relative content
10.75	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -pinene	1.30
11.21	蒎烯 camphene	0.48
11.73	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -pinene	0.18
11.96	月桂烯 myrcene	0.12
13.15	苧烯 limonene	0.71
13.51	1,8-桉叶素 1,8-cineole	30.09
14.98	异松油烯 $\gamma$ -terpinene	1.57
16.43	芳樟醇 linalool	3.31
16.63	樟脑 camphor	17.23
17.09	龙脑 borneol	8.96
17.26	4-松油醇 terpinen-4-ol	4.00
17.60	马鞭草烯酮 verbenone	5.65
18.26	$\alpha$ -松油醇 $\alpha$ -terpineol	16.41
19.77	乙酸龙脑酯 bornyl acetate	3.48
23.03	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -caryophyllene	0.59
23.73	$\alpha$ -律草烯 $\alpha$ -humulene	0.45

放大试验同时发现,迷迭香叶子堆积状态对抗氧化剂的得率也有一定程度的影响,堆积过密也会降低抗氧化剂的得率。

## 2.3 迷迭香精油的 GC 和 GC-MS 分析

根据 GC 和 GC-MS 分析结果(表2)可知,迷迭香精油的主要成分为1,8-桉叶素、樟脑、 $\alpha$ -松油醇、龙脑、马鞭草烯酮、4-松油醇、乙酸龙脑酯和芳樟醇等。SCDE法所得精油与传统溶剂提取法相比,主要成分种类相同,但两者各成分的相对含量稍有差别。SCDE法所得精油中 $\alpha$ -蒎烯和蒎烯等成分的含量明显比常规方法所得迷迭香精油低<sup>[18-19]</sup>,这可能与SCDE装置的分离器排料时,分离器中CO<sub>2</sub>要经过由高压到常压的瞬间释放引起部分低沸点精油气化损失有关。

## 2.4 迷迭香抗氧化剂的 HPLC 分析

鼠尾草酸标准样品的质量与其 HPLC 相应峰面积关系曲线的平均斜率( $k$ )为 178 562.9 单位面积(以  $\mu\text{g}$  鼠尾草酸计)。迷迭香酸标准样品的质量与其 HPLC 相应峰面积关系曲线的  $k$  为 338 740.3 单位面积(以  $\mu\text{g}$  迷迭香酸计)。由于鼠尾草酚是鼠尾草酸部分氧化形成的内酯环产物,它们的化学结构非常相似,两者的色谱相应因子也相近,因此可以用鼠尾草酸的  $k$  值代替鼠尾草酚的  $k$  值,用于其 HPLC 含量测定和计算<sup>[1]</sup>。图 2 为 SCDE 法所得迷迭香抗氧化剂的 HPLC 图。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法所得迷迭香抗氧化剂主要含有鼠尾草酸、鼠尾草酚和迷迭香酸等活性成分,它们的质量分数分别为 23.61%、7.33% 和 5.13%。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法所得迷迭香抗氧化剂与溶剂提取法相比,有效成分的含量要高一些。

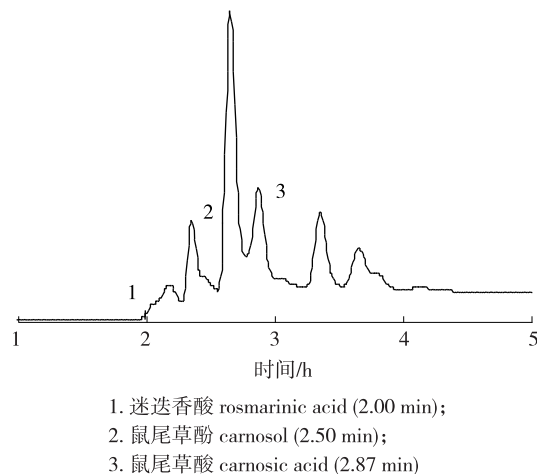


图 2 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法迷迭香抗氧化剂的 HPLC 图

Fig. 2 HPLC chart of rosemary antioxidant by SCDE

## 3 结论

**3.1** 迷迭香精油和抗氧化剂超临界 CO<sub>2</sub> 萃取(SCDE)的优选条件为:萃取时间 4 h,夹带剂 95% 乙醇与迷迭香叶子的质量比为 2:5,萃取罐和分离器 I 的温度分别为 50 和 70 °C,分离器 II 的温度为 40 °C,萃取压力 20 MPa,分离压力 4~5 MPa。

**3.2** 迷迭香精油的平均得率为 1.80%,主要含有 1,8-桉叶素、樟脑、 $\alpha$ -松油醇、龙脑、马鞭草烯酮、4-松油醇、乙酸龙脑酯和芳樟醇等成分。与两步法或一步法的溶剂提取法相比,该法所得精油的  $\alpha$ -蒎烯和蒎烯等成分的含量较低。

**3.3** 迷迭香抗氧化剂的平均得率为 11.93%,主要含有鼠尾草酸、鼠尾草酚和迷迭香酸等活性成分,其质量分数分别为 23.61%、7.33% 和 5.13%。与两步法或一步法的溶剂提取法相比,该法所得迷迭香抗氧化剂的鼠尾草酸较高。

### 参考文献:

- [1] 毕良武,赵振东,李冬梅,等. 迷迭香抗氧化剂和精油综合提取技术研究(1)——两步提取法[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(4): 21-25.
- [2] 毕良武,赵振东,李冬梅,等. 迷迭香抗氧化剂和精油综合提取技术研究(II)——一步提取法[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(5): 11-14.
- [3] 毕良武,赵振东,李冬梅,等. 迷迭香精油和迷迭香抗氧化剂综合提取方法:中国,1654616A[P]. 2005-08-17.
- [4] KAHLEYSS R, MICHLBAUER F. Process for the production of natural antioxidants: US, 5433949[P]. 1995-06-18.
- [5] REVERCHON E, SENATORE F. Isolation of rosemary oil comparison between hydrodistillation and supercritical CO<sub>2</sub> extraction[J]. J Flavour Fragrance, 1992(7):227-230.
- [6] 王道杰,刘博,陈开勋,等. 超临界萃取迷迭香精油工艺及其 GC/MS 分析研究[J]. 香料香精化妆品,2001(4): 1-3.
- [7] 黄纪念,屠鹏飞,蔡同一. 迷迭香天然抗氧化剂的超临界流体萃取工艺研究[J]. 食品工业科技,2003, 24(10): 119-120.
- [8] NGUYEN U, EVANS D A, BERGER D J, et al. Process for the supercritical extraction and fractionation of spices: US, 5120558[P]. 1992-06-09.
- [9] NGUYEN U, FRAKMAN G, EVANS D A. Process for extracting antioxidants from labiatae herbs: US, 5017397[P]. 1991-05-21.
- [10] MUHLNICKEL T. Extraction with carbon dioxide manufacture of dearomatized rosemary antioxidant[J]. Food Market Technol, 1992, 6(4): 37-38.
- [11] DJARMATI Z, JANKOV R M, SCHWIRTLICH E, et al. High antioxidant activity of extracts obtained from sage by supercritical CO<sub>2</sub> extraction[J]. J Am Oil Chem Soc, 1991, 68(10): 731-734.

- [12] GERARD D, QUIRIN K, SCHWARZ E. CO<sub>2</sub> extracts from rosemary and sage[J]. Food Market Technol, 1995, 9(5): 46-55.
- [13] TENA M T, VALCARCEL M, HIDAGO P J. Supercritical fluid extraction of natural antioxidants from rosemary—Comparison with liquid solvent sonication[J]. Analytical Chemistry, 1997, 69 (1/2/3): 521-526.
- [14] LOPEZ-SEBASTIAN S, RAMOS E, IBANEZ E, et al. Dearomatization of antioxidant rosemary extracts by treatment with supercritical carbon dioxide[J]. J Agric Food Chem, 1998, 46: 13-19.
- [15] IBANEZ E, OCA A, MURGA G, et al. Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47: 1400-1404.
- [16] SENORANS F J, IBANEZ E, CAVERO S, et al. Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of supercritical-fluid extracts of rosemary plants[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 870: 491-499.
- [17] 黄纪念, 屠鹏飞, 蔡同一. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取迷迭香中抗氧化活性成分的工艺研究[J]. 中草药, 2004, 35(2): 149-153.
- [18] HADOLIN M, RIZNER-HRAS A, BAUMAN D, et al. Isolation and concentration of natural antioxidants with high-pressure extraction[J]. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 2004, 5(2): 245-248.
- [19] ISO 1342 - 2000, Oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) [S].
- [20] 许鹏翔, 贾卫民, 毕良武, 等. 不同产地的迷迭香精油成分分析及品质研究[J]. 分析科学学报, 2003, 19(4): 361-363.

## 本刊信息

# 中国科技论文统计源期刊 (中国科技核心期刊) 收录证书

CERTIFICATE OF SOURCE JOURNAL  
FOR CHINESE SCIENTIFIC AND TECHNICAL PAPERS AND CITATIONS

林产化学与工业

经过多项学术指标综合评定及同行专家  
评议推荐, 贵刊被收录为“中国科技论文统  
计源期刊”(中国科技核心期刊)。

特颁发此证书。



中国科学技术信息研究所  
Institute of Scientific and Technical Information of China  
北京复兴路15号 100038 <http://cstpcd.istic.ac.cn>

2006年4月

证书编号: T017 2006  
有效期至: 2008年12月