

·研究简报·

## 砂地柏果实油杀虫成分松油烯-4-醇 的超临界流体萃取

李广泽<sup>1</sup>, 陈燕<sup>1</sup>, 闫海燕<sup>1</sup>, 陈安良<sup>1,2\*</sup>, 张兴<sup>1,2</sup>

(1. 西北农林科技大学 无公害农药研究服务中心, 陕西 杨凌 712100;

2. 陕西省生物农药工程技术研究中心, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**采用超临界流体萃取-气相色谱法,以砂地柏 *Sabina vulgaris* Ant 果实油主要杀虫活性成分松油烯-4-醇的萃取率为评价指标,提出了砂地柏果实油中松油烯-4-醇的超临界流体萃取较优工艺条件为:萃取物料粒径 0.85 mm (20目),静态萃取 10 min,萃取温度 45℃,压力 34.47 MPa,流体 CO<sub>2</sub> 总流量 30 mL/g。采用该法对砂地柏果实油中松油烯-4-醇的萃取率达 2.72 mg/g,明显高于水蒸气蒸馏法(萃取率为 2.00 mg/g),并具有快速、简便、精确、无毒、经济等优点。

**关键词:**砂地柏精油;松油烯-4-醇;超临界流体萃取;气相色谱法

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:1008-7303(2006)02-0187-04

## Studies on the Supercritical Fluid Extraction Technique of Terpenen-4-ol, the Main Insecticidal Ingredient of the Essential Oil from the Berries of *Sabina vulgaris*

LI Guang-ze<sup>1</sup>, CHEN Yan<sup>1</sup>, YAN Hai-yan<sup>1</sup>, CHEN An-liang<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Xing<sup>1,2</sup>

(1. Biorational Pesticide R & D Center, Northwest A & F University, Yangling Shaanxi 712100, China;

2. Shaanxi Research Center of Biopesticide Technology and Engineering, Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** With the extraction efficiency of terpenen-4-ol as estimated index, the technology conditions of extracting terpenen-4-ol from the berries of *Sabina vulgaris* were investigated by supercritical fluid extraction (SFE) and gas chromatography (GC). The rational conditions were the size of sample 0.85 mm, static extraction 10 min before dynamic extraction, temperature 45℃, pressure 34.47 MPa, flow rate 30 mL/g. SFE extraction rate of terpenen-4-ol was 2.72 mg/g under this condition apparently higher than steam-distillation extraction rate 2.00 mg/g. The investigated SFE conditions are suitable to extract, separate and analyse terpenen-4-ol from botanical material. Moreover, SFE technology has the merits of high efficiency, accuracy, innocuity, economy and convenient.

**Key words:** essential oil of *Sabina vulgaris*; terpenen-4-ol; supercritical fluid extraction; gas chromatography

收稿日期:2006-01-09;修回日期:2006-05-08.

作者简介:李广泽(1977-),男,甘肃宁县人,在读博士,讲师;\*通讯作者:陈安良(1963-),陕西西乡人,副教授,主要从事农药化学与植物化学保护教学与研究工作.联系电话:029-87091884; E-mail: liguangze@126.com chenanl@sohu.com

基金项目:国家西部开发重大项目(2004BA901A14);国家高技术研究发展计划("863计划")项目(2001AA246016).

砂地柏 *Sabina vulgaris* Ant 果实精油对多种昆虫表现出较强的熏蒸杀虫活性、拒食活性、种群形成抑制活性<sup>[1-3]</sup>,其主要杀虫活性成分为松油烯-4-醇,占精油总重的 22.3%<sup>[4]</sup>,是该精油中含量最高的化合物。松油烯-4-醇是一种自然资源十分丰富的天然产物,对昆虫具有较强的熏蒸毒杀、引诱、忌避活性,同时也具有较强的抑菌活性,在日用化学品、医药及食品行业等方面也有广泛的应用<sup>[5]</sup>。研究表明,该化合物可能作用于昆虫  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -ATP 酶,熏蒸杀虫活性高<sup>[6,7]</sup>,且环境安全性好<sup>[8]</sup>,在农药领域具有较大的研究和开发潜力。

二氧化碳是超临界流体萃取 (Supercritical Fluid Extraction, SFE)最常用的溶媒,超临界  $\text{CO}_2$  萃取被认为是目前最理想的植物精油萃取技术之一,在香精工业中已得到广泛应用<sup>[9]</sup>。砂地柏精油中多是一些热敏性、低沸点的萜烯类化合物<sup>[4]</sup>,如松油烯-4-醇的沸点为 88,热稳定性差<sup>[5]</sup>,采用常规的水蒸气蒸馏和溶剂萃取法提取可能会造成热敏性、低沸点成分的变构、分解或挥发散失;而 SFE法可在较低的温度下进行,具有传质速度快、萃取效率高、无毒、经济、操作简便、选择性可调等优点<sup>[10]</sup>。鉴于此,作者以松油烯-4-醇萃取率为评价指标,采用 SFE-GC分析方法,对砂地柏果实精油的超临界流体萃取技术进行研究,并将其与传统提取法进行比较、分析,探讨其优缺点及产业化的可行性。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与材料

ISCO™ 2-10型超临界流体萃取仪,Agilent 4890型气相色谱仪。

松油烯-4-醇标准品,纯度 >97%;水杨酸甲酯标准品,纯度 >97% (购自北京百灵威公司)。

砂地柏果实,2003年11月采自陕北榆林,60℃下烘干、粉碎,分别过 10、20、30和 40目实验标准筛(不锈钢材质,河南新乡市康达新机械有限公司),分别得到粒径为 2.00、0.85、0.60和 0.42 mm的萃取物料。

### 1.2 萃取效果的评价指标、测定和计算方法

以松油烯-4-醇萃取率(所得松油烯-4-醇质量占物料质量的比值)为萃取效果的评价指标,萃取物中松油烯-4-醇含量的测定采用 GC内标法<sup>[11]</sup>:毛细管色谱柱 [0.53 mm (i.d.) ×15.0 m, 0.25 μm 质量分数为 5%的 phenylpoly]; FID,检测器温度

260;汽化温度 250;柱温 45 ~ 200,程序升温:45 ~ 80 (2 /min), 80 ~ 200 (10 /min);柱前压,  $\text{N}_2$ : 0.29 MPa,  $\text{H}_2$ : 0.15 MPa,空气: 0.26 MPa;以水杨酸甲酯为内标物,线性方程:  $y = 1.413x + 0.093$ ,  $R = 0.9991$ ;添加回收率: 98.61% ~ 100.17%;  $\text{RSD} = 0.38\%$ ,  $n = 5$ 。

1.2.1 物料粒度对萃取效果的影响 试验分别设萃取物料粒度为 2.00、0.85、0.60、0.42 mm (10、20、30、40目) 4个处理,每个处理设 3次重复。在萃取温度为 50、压力为 34.47 MPa条件下将上述各样品 1.0 g 静态萃取 20 min (静态萃取用  $\text{CO}_2$  19.5 ~ 20.0 mL),然后在相同的温度和压力条件下用 30 mL  $\text{CO}_2$  动态萃取,流速控制在 1.0 mL /min左右。萃取物用二氯甲烷接收、定容至 10 mL,限流管温度为 65。

1.2.2 静态萃取时间对萃取效果的影响 根据 1.2.1节的研究结果,选用合适粒径的萃取物料,每次上样 1.0 g。采用先静态、后动态的萃取方式,设静态萃取时间分别为: 0、5、10、15和 20 min 5个处理,每个处理设 3次重复。萃取温度、压力、 $\text{CO}_2$  流量和流速等条件及萃取物接收、定容和测定方法同 1.2.1节。

1.2.3 动态萃取正交试验 根据物料粒度及静态萃取时间对萃取效果影响的研究结果,选用合适的物料粒度及静态萃取时间。采用 3因素 5水平 (表 1)的正交试验法,研究动态萃取中压力、温度和  $\text{CO}_2$  流量 3个工艺条件对萃取效果的影响。上样量 1.0 g,  $\text{CO}_2$  流速控制在 1.0 mL /min,限流管设定温度比萃取仓温度高 15。萃取物接收、定容和测定方法同 1.2.1节。

Table 1 Orthogonal experiment design of dynamic extraction conditions

Levels	Temperature /	Pressure / MPa	Flux of $\text{CO}_2$ / (mL / g)
1	25	20.68	10
2	35	27.58	20
3	45	34.47	30
4	55	41.37	40
5	65	48.26	50

### 1.3 常规水蒸气蒸馏法提取

称取植物样品 100 g,投入到 500 mL 蒸馏瓶中,采用水蒸气蒸馏法,蒸馏瓶温度约 120,8 h 后馏出液中无油状物后停止蒸馏。用乙醚萃取水相中的油状物,浓缩蒸除溶剂即得砂地柏精油。

## 2 结果与讨论

### 2.1 物料粒度对萃取效果的影响

从表 2 可以看出:在所选定的粒度范围内,松油烯-4醇萃取率随物料粒度的减小而升高,但当粒径小于 0.85 mm 时,萃取率增加并不显著。砂地柏浆果富含油脂,不易干燥、粉碎。综合考虑各种因素,作者认为 SFE 萃取物料粒度以 0.85 mm 较为适宜。

Table 2 Influence of sample size on extraction efficiency

Sample size/mm	Terpenen-4-ol extraction efficiency / (mg/g)
2.00	1.52 ±0.04 A
0.85	2.05 ±0.06 B
0.60	2.25 ±0.20 B
0.42	2.11 ±0.10 B

Note: Different capital letters in same column indicate significant differences under P > 1%. The same as in the following tables

### 2.2 静态萃取时间对萃取效果的影响

从表 3 可以看出:随静态萃取时间的延长,松油烯-4醇萃取率呈增加趋势,当静态萃取时间超过 10 min 时,萃取率变化不再明显。大多数 SFE 研究与应用都采用了先静态、后动态的萃取方式,合适的静态萃取时间有利于提高萃取率、节省溶剂。本研究确定静态萃取时间为 10 min 较为适宜。

Table 3 Influence of static time on extraction efficiency

Time of static extraction/min	Terpenen-4-ol extraction efficiency / (mg/g)
0	1.04 ±0.08 A
5	1.61 ±0.08 B
10	2.15 ±0.09 C
15	2.24 ±0.15 C
20	2.13 ±0.19 C

### 2.3 动态萃取条件对萃取效果的影响

动态萃取条件对松油烯-4醇萃取率影响的正交试验结果及其方差分析结果分别列于表 4 和表 5。从表 4 可以看出:随萃取条件的改变,松油烯-4醇萃取率变化明显,最高可达 2.90 mg/g,最低为 0.50 mg/g。从极值分析可以看出,温度、CO<sub>2</sub> 流量和压力 3 个因素中,影响松油烯-4醇萃取率的主次关系为:温度 > CO<sub>2</sub> 流量 > 压力。方差分析结

果(表 5)与直观分析结果(表 4)一致。方差分析还表明:3 因素对松油烯-4醇萃取率均有显著影响,其中,温度对萃取率有极显著影响,是影响萃取效果的最主要因素。通过对上述试验及方差分析结果进行分析,在萃取效率无显著差异情况下,应选取更低温度、压力和更少 CO<sub>2</sub> 流量,因此最终确定动态萃取较优工艺条件为:温度 45 °C,压力 34.47 MPa, CO<sub>2</sub> 流量 30 mL/g。

Table 4 Orthogonal experiment result of extraction efficiency under different dynamic conditions

No.	Temperature (A)	Pressure (B)	Flux of CO <sub>2</sub> (C)	Terpenen-4-ol extraction efficiency / (mg/g)
1	1	1	1	1.45
2	1	2	2	1.85
3	1	3	3	2.04
4	1	4	4	2.11
5	1	5	5	1.96
6	2	1	3	2.00
7	2	2	4	2.23
8	2	3	5	2.44
9	2	4	1	1.90
10	2	5	2	2.32
11	3	1	5	2.01
12	3	2	1	1.88
13	3	3	2	2.22
14	3	4	3	2.74
15	3	5	4	2.90
16	4	1	2	0.89
17	4	2	3	1.00
18	4	3	4	1.11
19	4	4	5	1.25
20	4	5	1	0.56
21	5	1	4	0.50
22	5	2	5	0.67
23	5	3	1	0.56
24	5	4	2	0.88
25	5	5	3	0.92
K <sub>1</sub>	1.88	1.37	1.27	
K <sub>2</sub>	2.18	1.53	1.63	
K <sub>3</sub>	2.35	1.68	1.74	T = 40.42
K <sub>4</sub>	0.97	1.77	1.77	μ = 1.62
K <sub>5</sub>	0.71	1.73	1.67	
R	1.64	0.40	0.50	

Note: K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>, K<sub>5</sub> are the sum of related levels R is the difference between the maximum and minimum among K<sub>1</sub>, K<sub>2</sub>, K<sub>3</sub>, K<sub>4</sub>, K<sub>5</sub>.

### 2.4 SFE法与水蒸气蒸馏法的比较

结果见表 6。可以看出, SFE 法对松油烯-4醇的萃取效果显著好于水蒸气蒸馏法。

Table 5 Analysis of orthogonal experiment variance of dynamic extraction

Variance source	df	SS	MS	F	Significance
Pressure (A)	10.87	4	2.72	100.10	**
Temperature (B)	0.55	4	0.14	5.06	*
Flux of CO <sub>2</sub> (C)	0.81	4	0.20	7.474	**
Error	0.33	12	0.03		
Total variance	12.56				

Note: \* = 0.05, \*\* = 0.01.

Table 6 Compare SFE with steam-distillation method

Extraction methods	Extraction rate of terpenen-4-ol / (mg/g)
Steam-distillation	2.00 ± 0.13 A
SFE	2.72 ± 0.08 B

### 3 小结

以 CO<sub>2</sub> 为流体,采用 SFE-GC 法研究确定砂地柏果实油中松油烯-4醇的 SFE 较优工艺条件为: 萃取物料粒径 0.85 mm, 静态萃取时间 10 min, 动态萃取温度 45 °C, 压力 34.47 MPa, CO<sub>2</sub> 流量 30 mL/g。

采用 SFE 法对砂地柏果实精油中松油烯-4醇的萃取率达 2.72 mg/g, 明显高于水蒸气蒸馏法(萃取率为 2.00 mg/g)。两者相比, SFE 在较低的温度下进行, 整个过程不涉及萃取、蒸除溶剂等操作, 过程简单, 这可能是该法萃取率高的主要原因。同时, SFE 法还具有精确、无毒、经济、选择性可调等优点。

### 参考文献:

[1] ZHANG Xing (张兴), FENG Jun-tao (冯俊涛), CHEN An-liang (陈安良), et al 砂地柏杀虫作用研究概况 [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agric For (Nat Sci Ed) [西北农林科

技大学学报 (自然科学版)], 2002, 30(4): 130-134.

- [2] GAO Cong-fen (高聪芬), ZHANG Xing (张兴). 砂地柏精油的熏蒸杀虫活性初探 [J]. J Nanjing Agric Univ (南京农业大学学报), 1997, 20(3): 50-53.
- [3] HOU Hua-min (侯华民), FENG Jun-tao (冯俊涛), CHEN An-liang (陈安良), et al 植物精油对几种害虫的毒杀活性 [J]. Nat Prod R & D (天然产物研究与开发), 2002, 14(6): 27-30.
- [4] WEI Hong-mei (魏红梅). Study on Fumigant Insecticidal Action and Activity Component of Essential Oil from Several Plants (几种植物精油的熏蒸杀虫作用及其活性成分研究) [D]. Yangling, Shaanxi (陕西杨凌): Northwest A & F University (西北农林科技大学), 2000.
- [5] CHEN Gen-qiang (陈根强), FENG Jun-tao (冯俊涛), CHEN An-liang (陈安良), et al 植物精油组分松油烯-4醇研究进展 [J]. J Northwest Sci-Tech Univ Agric For (Nat Sci Ed) [西北农林科技大学学报 (自然科学版)], 2004, 32(8): 130-134.
- [6] MA Zhi-qing (马志卿), ZHANG Xing (张兴). 松油烯-4醇对粘虫幼虫的生物活性 [J]. Acta Entom Sinica (昆虫学报), 2004, 47(3): 329-333.
- [7] MA Zhi-qing (马志卿), FENG Jun-tao (冯俊涛), JIANG Zhi-li (江志利), et al 松油烯-4醇对家蝇超氧化物歧化酶、过氧化氢酶及过氧化物酶的影响 [J]. Chin J Pestic Sci (农药学报), 2004, 6(2): 53-56.
- [8] Bessette S M, Beigler M A. Ecologically-safe insecticides and acaricides [P]. USA: WO 9854971 A1, 1998-12-10.
- [9] Larry T T. Supercritical Fluid Extraction [M]. New York: A Wiley-Interscience Publication, 1996.
- [10] LI ling (李玲), CHEN Zhi-qiang (陈志强), LI Xi-lu (李修禄). 超临界流体萃取法在中药材质量控制中的应用 [J]. Acta Pharm Sinica (药学学报), 1995, 30(2): 133-137.
- [11] ZHANG Bao-hua (张保华). Development on the Synergistic Compound Insecticidal Aerosol of the Essential Oil from the Berries of *Sabina vulgaris* Ant (砂地柏精油增效气雾剂研制) [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A & F University (西北农林科技大学), 2004.

(Ed. JIN S H)