DOI :10.12161/j.issn.1005-6521.2019.24.026

超临界CO_2萃取印蒿精油工艺优化及成分分析

丁仡[1,2]，李源栋[1]，刘秀明[1]，尹开云[3]，邱杰斐[4]，夏建军[1]，杨义[4]，段焰青[1,*]
（1. 云南中烟工业有限责任公司技术中心，云南 昆明 650202；2. 湘潭大学 化学学院，湖南 湘潭 411100；
3. 昆明香冠科技有限公司，云南 昆明 650202；4. 红云红河烟草（集团）有限责任公司，云南 昆明 650202）

摘　要：优化超临界萃取工艺提取印蒿精油并结合气相色谱质谱联用（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）法分析其成分。以萃取率为评价指标，通过正交试验得出最佳提取工艺条件，其中萃取温度 50 ℃，萃取压力 30 MPa，CO_2 流量 30 L/h，萃取时间 60 min；采用气相色谱质谱联用仪结合保留指数对印蒿油进行成分分析，从印度和英国印蒿油中分别共鉴定出 28、40 种化合物，主要成分包括印蒿酮、大根香叶烯 B、肉桂酸乙酯、印蒿醚等；该研究结果填补了印蒿油提取工艺及成分相关分析数据，并为其应用提供了理论指导。

关键词：印蒿；精油；超临界萃取；单因素试验；成分分析

Process Optimization and Component Analysis for Supercritical CO_2 Extraction of *Artemisia Palls Wall.*

DING Yi[1,2], LI Yuan-dong[1], LIU Xiu-ming[1], YI Kai-yun[3], QIU Jie-fei[4],
XIA Jian-jun[1], YANG Yi[4], DUAN Yan-qing[1,*]
(1. Technology Center of Yunnan China Tobacco Industry Co., Ltd., Kunming 650202, Yunnan, China;
2. College of Chemistry, Xiangtan University, Xiangtan 411100, Hunan, China; 3. Kunming Xiangguan Science & Technology Co. Ltd., Kunming 650202, Yunnan, China; 4. Hongyun-Honghe Tobacco (Group) Co., Ltd., Kunming 650202, Yunnan, China)

Abstract: The supercritical extraction process was optimized to extract artemisia davana oil and analyze its components by gas chromatography mass spectrometry. According to the extraction index, the optimal extraction conditions were obtained by orthogonal test, including extraction temperature 50 ℃, extraction pressure 30 MPa, CO_2 flow rate 30 L/h, extraction time 60 min; Gas chromatography - mass spectrometry combined with retention index for Artemisia oil for component analysis, 28 and 40 compounds were identified from Indian and British *Artemisia palls Wall.* oil, respectively. The main components included davanone, germacrene B, ethyl cinnamate, davana ethers, etc.; *Artemisia palls Wall.* oil extraction process and composition related analysis data, and provided theoretical guidance for its application.

Key words: *Artemisia palls Wall.*; essential oil; supercritical extraction; single factor test; composition analysis

引文格式：
丁仡，李源栋，刘秀明，等. 超临界CO_2萃取印蒿精油工艺优化及成分分析[J].食品研究与开发，2019，40（24）：167-172
DING Yi, LI Yuandong, LIU Xiuming, et al. Process Optimization and Component Analysis for Supercritical CO_2 Extraction of *Artemisia Palls Wall.*[J]. Food Research and Development, 2019, 40(24): 167-172

印蒿（*Artemisia palls Wall*）归属于菊科植物蒿属，始于印度南部地区，其具有持久的特征微弱膏香和药香草本植物[1]。印蒿油的主要来源来自印蒿花采用水蒸馏所得，作为食品香料来源，已被多国引进，目前主要用于调配葡萄干、海枣、果脯、桃子、李子等香精[2]。目前国内外关于印蒿精油成分组成报道文献较少[3-6]，

基金项目：云南省科技厅项目（2018BA084）；中国烟草总公司科技项目[110201801016（XZ-04）]；云南中烟科技项目（2018CP04）；2015 年云南省技术创新人才项目（2016HB009）
作者简介：丁仡（1994—），男（汉），硕士研究生，研究方向：天然香料开发。
* 通信作者：段焰青，研究员，研究方向：天然香料开发。

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

这对了解印蒿精油挥发性成分组成和应用有一定的局限性。

植物油提取方法有很多种，有着各自优缺点，其中水蒸气蒸馏法[7]，蒸汽温度过高、易使物质分解且耗能大；溶剂提取法[8]，精油中含有杂质、耗时长、溶剂用量大且难回收；微波辅助提取[9-10]，可能导致挥发油成分发生变化；压榨法[11]会将部分杂质溶于精油中；超临界流体萃取法相比于其他方法可以避免对成分的破坏，避免水解，对活性成分提取更完全，且采用CO_2为萃取溶剂，具有无毒，廉价以及来源丰富等特点，广泛用于植物油的提取[12-14]。本研究首次采用超临界流体萃取法提取不同产地印蒿的挥发油，通过探讨不同操作因素对萃取效果影响，并采用气相色谱质谱联用（gas chromatography-mass spectrometry，GC-MS）法结合保留指数对印蒿油进行成分分析，为其开发应用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料与设备

1.1.1　材料与试剂

印蒿：市场；二氯甲烷、甲醇、正己烷（优级纯）：百灵威科技有限公司；正构烷烃C_7~C_{30}：Sigma-Aidrich公司。

1.1.2　仪器与设备

ZX-FW80高速万能粉碎机：北京中兴伟业仪器有限公司；HELIX超临界流体萃取仪：Applied separations Inc公司；RE-52A型旋转蒸发仪：瑞士BUCHI公司；7890A/5975C气相色谱-质谱联用仪：美国Agilent公司；ME414S万分之一电子天平：德国Sartorius公司。

1.2　方法

1.2.1　超临界萃取

取30 g印蒿用粉碎机进行粉碎并过40目筛选，干燥后将其放入萃取釜。开通CO_2，选择萃取温度、萃取压力、萃取时间，收集精油，并通过公式计算出精油的得率。

萃取率/%=（精油质量/印蒿干粉质量）×100

1.2.2　单因素试验设计

设定萃取压力为25 MPa，CO_2流量为20 L/h，萃取时间60 min，萃取温度为35、40、45、50、55 ℃条件下对精油得率的影响；设定CO_2流量为20 L/h，萃取时间60 min，萃取温度为40 ℃，萃取压力为15、20、25、30、35 MPa条件下对精油得率的影响；设定萃取压力为25 MPa，萃取时间60 min，萃取温度为40 ℃，CO_2流量为10、15、20、25、30 L/h条件下对精油得率的影响；设定萃取压力为25 MPa，CO_2流量为20 L/h，萃取温度为40 ℃，萃取时间40、50、60、70、80 min条件下对精油得率的影响。进行单因素试验，分析萃取温度、萃取压力、CO_2流量、萃取时间对精油得率的影响[15-17]。

1.2.3　印蒿精油成分分析

准确称取印蒿精油0.20 g，用甲醇∶二氯甲烷（体积比为1∶4）混合溶液稀释到10 mL，进样前需要将样品用0.45 μm有机相滤膜过滤，直接进GC/MS分析。色谱条件：RXi-5sil MS石英毛细管柱（60 m×0.25 mm×0.25 μm），载气为氦气（纯度为99.99 %），流速：1.0 mL/min。升温程序：初始温度50 ℃，保持2 min；以3 ℃/min的速率升温至180 ℃；再以10 ℃/min的速率升温至230 ℃，保持10 min。进样口温度：250 ℃，进样量：1.0 μL，分流比：20∶1，溶剂延迟6 min。质谱条件：离子源：电轰击电离（electron impact ion source，EI）源；离子源温度：230 ℃；四极杆温度：150 ℃；电离能量：70 eV；传输线温度：280 ℃；扫描范围：40 m/z ~450 m/z，质谱检索图库：NIST谱库。

1.2.4　定性方法

移取正构烷烃C_7~C_{30}标准品，用正己烷将其稀释成质量分数为5 %溶液，按照1.2.3仪器操作条件进样，求出正构烷烃C_7~C_{30}保留时间，为下一步计算印蒿精油中各成分保留指数作准备。

根据Vanden Dool和Kratz的线性程序升温的保留指数原理，利用自编软件求得保留指数（kovats index，*KI*）值：

$$KI=100n+\frac{t_x-t_n}{t_{n+1}-t_n} \quad (1)$$

式中：t_x为被分析组分；t_n为碳原子数；t_{n+1}为n和n+1的正构烷烃流出峰的保留时间，min。

样品印蒿精油经过GC/MS分析后，利用仪器自带的NIST质谱库对印蒿精油中化学成分进行自动检索，然后通过云南中烟技术中心开发的保留指数软件求出各成分保留指数，将软件计算的保留指数与精油数据库中保留指数进行比对（可接受误差不超过3 %），对其进行定性。

2　结果与分析

2.1　印度印蒿单因素分析

2.1.1　萃取温度

设定萃取压力为25 MPa，CO_2流量为20 L/h，萃取时间60 min，萃取温度为35、40、45、50、55 ℃条件下，得出温度对精油得率影响的折线图，见图1。

由图1可知，温度在超临界流体萃取中，温度升高分子热运动加快，溶剂挥发和扩散系数提高增加了分

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

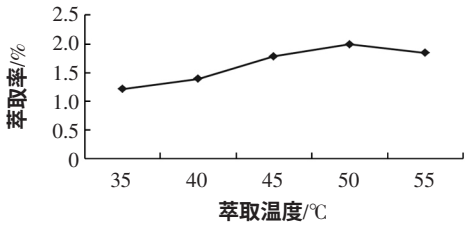

图 1　萃取温度对萃取率的影响

Fig.1　Influence of extraction temperature on extraction rate

子间的缔合几率，使得萃取率提高。但另一方面温度过高时，分子间的间距增大，密度减小，不利于传质作用，并可能将易分解的物质分解从而降低萃取得率。

2.1.2　萃取压力

设定 CO_2 流量为 20 L/h，萃取时间 60 min，萃取温度为 40 ℃，萃取压力为 15、20、25、30、35 MPa 条件下，得出萃取压力对精油得率影响的折线图见图 2。

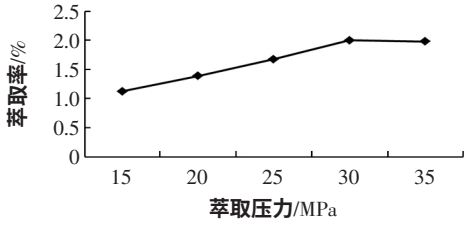

图 2　萃取压力对萃取率的影响

Fig.2　Influence of extraction pressure on extraction rate

由图 2 可知，萃取压力增大，萃取物的溶解度随之增加，内部分子间的相互作用能急剧增大，使之更加接近油脂内部分子间的作用能。但当压力过大时，CO_2 密度太大反而会降低传质效率。

2.1.3　CO_2 流量

设定萃取压力为 25 MPa，萃取时间 60 min，萃取温度为 40 ℃，CO_2 流量为 10、15、20、25、30 L/h 条件下，得出 CO_2 流量对精油得率影响的折线图，见图 3。

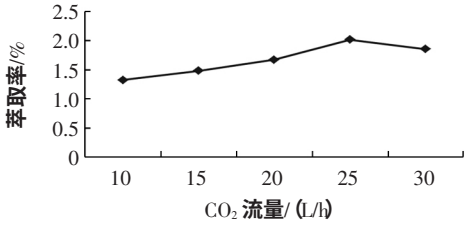

图 3　CO_2 流量对萃取率的影响

Fig.3　Influence of CO_2 flow rate on extraction rate

由图 3 可知，当 CO_2 流量增大时，CO_2 与物料的接触面积增大，提高了溶质密度和传质速度。当流量过大时，物料与 CO_2 接触不够充分，扩散速度不够无法萃取到溶剂中，使得萃取效率降低。

2.1.4　萃取时间

设定萃取压力为 25 MPa，CO_2 流量为 20 L/h，萃取温度为 40 ℃，萃取时间 40、50、60、70、80 min 条件下得出萃取时间对精油得率影响的折线图，见图 4。

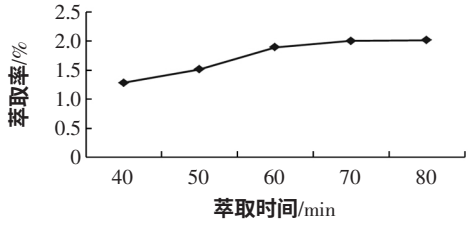

图 4　萃取时间对萃取率的影响

Fig.4　Influence of extraction time on extraction rate

由图 4 可知，随着时间的增加，CO_2 与物料接触时间更为充分，萃取效率增加，当达到一个时间点时，物料中的精油大部分被萃取出，往后的效率几乎无变化。

2.2　正交试验结果与分析

结合 2.1 在单因素试验基础上，以印蒿精油得率作为评价指标，选取萃取温度（45、50、55 ℃）、萃取压力（25、30、35 MPa）、CO_2 流量（20、25、30 L/h）、萃取时间（50、60、70 min）进行四因素三水平正交试验，优化印蒿精油提取工艺。正交试验因素水平设计表如表 1 所示，结果如表 2 所示。

表 1　正交试验因素水平表

Table 1　Horizontal table of orthogonal test factors

水平	因素			
	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C CO_2 流量/(L/h)	D 萃取时间/min
1	45	25	20	50
2	50	30	25	60
3	55	35	30	70

表 2　正交试验设计及结果

Table 2　Orthogonal test design and results

编号	A	B	C	D	得率/%
1	1	1	1	1	1.46
2	1	2	2	2	2.15
3	1	3	3	3	1.99
4	2	1	2	3	1.97
5	2	2	3	1	1.85
6	2	3	1	2	1.86
7	3	1	3	2	2.05
8	3	2	1	3	1.83
9	3	3	2	1	1.75
K_1	1.867	1.827	1.717	1.687	
K_2	1.893	1.943	1.957	2.020	
K_3	1.877	1.867	1.963	1.930	
R	0.027	0.117	0.247	0.333	
主次顺序	D>C>B>A				
最优组合	$A_2B_2C_3D_2$				

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

由表 2 可知，考察 4 个重要因素指标，对试验的影响大小排序为 D>C>B>A，最优组合为 $A_2B_2C_3D_2$，既萃取温度为 50 ℃、萃取压力 30 MPa、CO_2 流量 30 L/h、萃取时间 60 min，在此条件下，通过多次试验得出精油平均得率 2.26 %，得率优于正交试验中的得率，因此最优组合为 $A_2B_2C_3D_2$。并采用上述条件提取英国印蒿精油，得率为 2.32 %。

2.3　印蒿精油成分分析

印蒿精油中成分经 GC/MS 检测所得到总离子流色谱图见图 5~图 6，其结果采用 Nist11 进行检索后结合香精保留指数进行对比对其定性，利用面积归一化法[18]计算得出印蒿精油中各成分相对百分含量，结果见表 3。

通过质谱库检索，结合精油数据库辅助定性，提

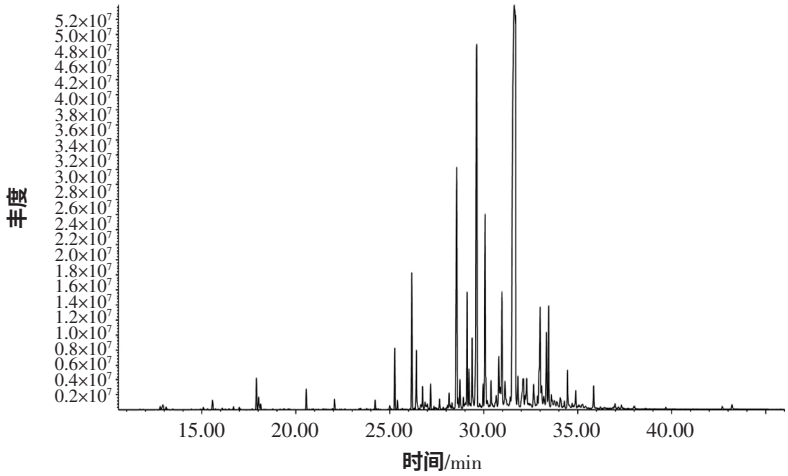

图 5　印度印蒿精油气相色谱/质谱总离子流色谱图

Fig.5　GC/MS total ion flow chromatography of India *Artemisia palls Wall*. oil

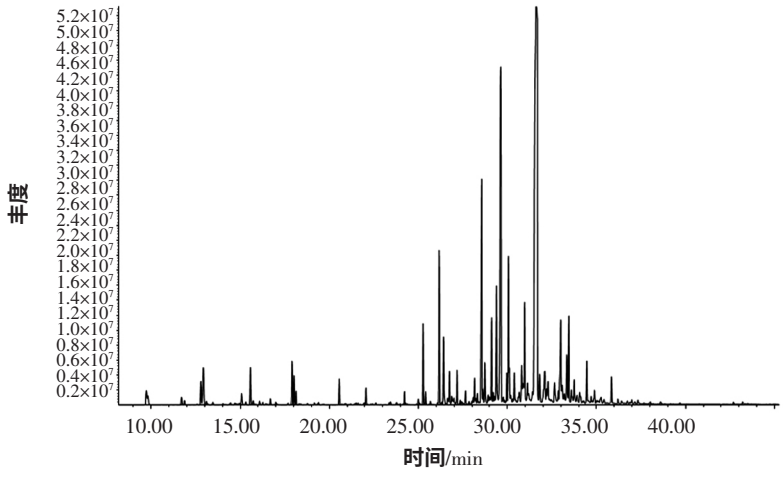

图 6　英国印蒿精油气相色谱/质谱总离子流色谱图

Fig.6　GC/MS total ion flow chromatography of English *Artemisia palls Wall*. oil

表 3　印蒿精油成分分析

Table 3　Composition analysis of *Artemisia palls Wall*. oil

序号	名称	保留时间/min	相似度/%	计算值	文献值	峰面积相对含量/%	
						印度印蒿精油	英国印蒿精油
1	2-甲基丁酸乙酯	9.73	95	849	845	/	0.45
2	异戊酸乙酯	9.82	97	852	860	/	0.31
3	2-甲基丁酸丙酯	12.80	99	947	936	0.09	0.57
4	苯甲醛	13.47	98	967	964	/	0.07
5	2-甲基丁酸异丁酯	14.70	91	1 004	1 010	/	0.04

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

续表 3　印蒿精油成分分析

Continue table 3　Composition analysis of *Artemisia palls Wall*. oil

序号	名称	保留时间/min	相似度/%	计算值	文献值	峰面积相对含量/%	
						印度印蒿精油	英国印蒿精油
6	α-松油烯	15.31	92	1 023	1 019	/	0.07
7	对伞花烃	15.52	95	1 031	1 026	0.24	/
8	邻异丙基苯	15.58	93	1 031	1 021	/	0.81
9	γ-松油烯	16.68	94	1 065	1 064	0.07	0.13
10	(Z)-水合桧烯	17.00	98	1 074	1 099	/	0.03
11	萜品油烯	17.69	95	1 095	1 089	/	0.04
12	芳樟醇	17.91	97	1 102	1 101	0.62	0.83
13	异戊酸 2-甲基丁酯	18.02	93	1 106	1 115	0.45	0.59
14	戊酸 2-甲基丁酯	18.14	95	1 110	1 135	/	0.27
15	松油醇	20.56	98	1 187	1 181	0.40	0.47
16	橙花醇	22.61	98	1 257	1 231	/	0.04
17	苯丙酸甲酯	23.37	97	1 283	1 258	/	0.04
18	2,6,6-三甲基-1-亚甲基-2-环己烯	25.27	93	1 352	1 360	/	1.37
19	丁香酚	25.68	95	1 367	1 364	/	0.07
20	肉桂酸甲酯（异构体不详）	26.42	94	1 394	1 403	1.30	1.45
21	β-榄香烯	26.75	93	1 407	1 391	0.47	0.65
22	α-古芸香烯	27.35	91	1 431	1 412	0.17	0.08
23	β-石竹烯	27.65	95	1 442	1 427	0.22	0.30
24	白菖蒲油萜	27.85	97	1 450	1 429	0.05	0.06
25	香橙烯	28.16	94	1 462	1 463	0.34	0.51
26	肉桂酸乙酯	28.56	96	1 478	1 481	6.45	5.66
27	别香橙烯	28.73	93	1 485	1 471	0.66	/
28	γ-依兰油烯	28.99	95	1 495	1 479	0.12	0.18
29	印蒿醚	29.11	97	1 500	1 502	5.46	4.27
30	大根香叶烯 D	29.21	95	1 504	1 485	/	0.26
31	β-芹子烯	29.38	95	1 511	1 488	1.68	2.52
32	大根香叶烯 B	29.62	91	1 521	1 551	11.52	11.78
33	(Z) -α-红没药烯	29.77	96	1 527	1 502	/	0.25
34	γ-杜松烯	29.96	95	1 535	1 515	0.52	0.60
35	δ-杜松烯	30.11	97	1 541	1 524	/	0.58
36	丁酸香叶酯	30.66	93	1 564	1 558	0.38	/
37	(E) -橙花叔醇	30.88	95	1 573	1 567	0.68	0.63
38	喇叭茶醇	31.41	94	1 595	1 573	0.40	0.43
39	印蒿酮	31.62	92	1 604	1 586	48.33	45.37
40	β-桉叶油醇	33.34	91	1 679	1 648	1.91	1.26
41	广藿香醇	33.75	95	1 697	1 660	/	0.65
42	6,10,14-三甲基-2-十五酮	36.99	98	1 850	1 872	0.10	0.08
43	正十九烷	38.02	94	1 900	1 900	0.05	0.03
44	正二十一烷	42.70	97	2 100	2 100	0.08	/
45	植醇	43.21	93	2 117	2 117	0.15	/

注：保留指数（计算值）由自我开发的保留指数软件计算而得，保留指数（引用值）采用文献[20]的数据；“/”表示该物质不存在。

高了天然化合物定性准确性，减少了误判和错判。对检索出的化合物进行定性分析时，发现许多醇类、烷烯类等化合物，若仅用质谱库检索定性会难以判定甚至误判，尤其是同系物和同分异构体的确定[19]。

通过质谱库检索和人工图谱解析，结合保留指数比对，从印度印蒿精油中共鉴定出 28 个化合物，占印

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

蒿精油成分 82.90 %，其中烯烃类 11 个，酯类 5 个，醇类 6 个，醚类 1 个，酮类 2 个，其它化合物 3 个，主要成分包括：印蒿酮（36.585 %）、大根香叶烯 B（11.52 %）、肉桂酸乙酯（6.45 %）、印蒿醚（5.46 %）、β-桉叶油醇（1.91 %）、β-芹子烯（1.68 %）、肉桂酸甲酯（1.30 %）等化合物，其中酮类化合物含量最为丰富，占精油成分 48.43 %；从英国印蒿精油中共鉴定出 40 个化合物，占印蒿精油成分 83.80 %，其中烯烃类 16 个，酯类 9 个，醇类 7 个，醚类 1 个，酮类 2 个，醛类 1 个，酚类 1 个，其它化合物 3 个，主要成分包括：印蒿酮（45.37 %）、大根香叶烯 B（11.78 %）、肉桂酸乙酯（5.66 %）、印蒿醚（4.27 %）、β-芹子烯（2.52 %）、肉桂酸甲酯（1.45 %）、2，6，6-三甲基-1-亚甲基-2-环己烯（1.37 %）等化合物，其中酮类化合物含量最为丰富，占精油成分 45.45 %。从本试验结果可以看到，不同产地印蒿精油成分具有一定的相似性但各组分的相对百分含量具有较大的差异。

3 结论

采用超临界萃取技术对印蒿油进行提取，并以精油得率为指标来优化萃取工艺条件，通过正交试验得出超临界最佳提取工艺条件；利用气相色谱/质谱法，对提取印蒿精油成分进行分析，通过质谱库检索及保留指数验证。从印度和英国印蒿精油中分别鉴定出 28、40 种化合物，占总峰面积 82.90 %和 83.80 %，主要成分为：印蒿酮、大根香叶烯 B、肉桂酸乙酯、印蒿醚等，在定性过程中，使用了保留指数进行验证，提高了化合物定性准确性；本研究结果为印蒿精油开发应用提供了科学依据。

参考文献：

[1] 包丽君，施明利. 印蒿油香气成分研究[C]. 中国香料香精学术研讨会，2000：42-44

[2] 李耀光，侯鹏娟，李皓，等. 基于顶空固相微萃取印蒿挥发性风味成分的 GC-MS 分析[J]. 食品科技，2016(4)：293-297

[3] 刘波.蒸馏法提取印蒿油成分分析及在卷烟中的应用[J]. 食品工业，2014(4)：206-208

[4] Jayanthi M, Vijayakumar A, Vanangamudi K, et al. Optimizing the date of transplanting to increase seed yield and quality in davana (*Artemisia pallens Wall*.ex.D.C.).[J]. Inquiry A Journal of Medical Care Organization Provision & Financing, 2014, 43(4): 309-314

[5] Bhat P B, Farooqi A A, Subbaiah T K, et al. Influence of growth regulators on growth, herbage and essential oil yield in davana (*Artemisia pallens Wall*.).[J]. Proceedings of the 11th international congress of essential oils, fragrances and flavours. New Delhi, India, 12-16 November, 1989 Vol. 3. 1990: 81-84

[6] Prakasarao E V S , Narayana M R , Rajeswararao B R . The Effect of Nitrogen and Farm Yard Manure on Yield and Nutrient Uptake in Davana (*Artemisia pollens Wall*, ex D.C.)[J]. Journal of Herbs Spices & Medicinal Plants, 1998, 5(2): 39-48

[7] 金利泰，李校堃，华会明，等. 天然药物提取分离工艺学[M]. 杭州：浙江大学出版社，2011

[8] 徐怀德.天然产物提取工艺学[M]. 北京：中国轻工业出版社，2009

[9] 谢明勇，陈奕. 微波辅助萃取技术研究进展[J]. 食品与生物技术学报，2006，25(1)：105-114

[10] 李核，李攻科，张展霞. 微波辅助萃取技术的进展[J]. 分析化学，2003，31(10)：1261-1268

[11] 苏晓云. 压榨法在精油提取中的应用[J]. 价值工程，2010，29(1)：51-52

[12] 陈维杜. 超临界流体萃取的原理和应用[M]. 北京：化学工业出版社，1998

[13] 宗建军，廖传华. 超临界二氧化碳萃取葡萄籽油工艺优化[J]. 化工进展，2018，37(2)：485-491

[14] 张苏慧，王绥鑫，万明正. 超临界 CO_2 萃取斜叶黄檀精油工艺优化及精油成分分析[J]. 热带作物学报，2018(4)：174-179

[15] 耿鹏飞，刘家伟. 榛子油 3 种提取方法的对比及超临界 CO_2 萃取工艺优化[J]. 中国油脂，2018(5)：7-10

[16] 彭子达，彭程. 超临界 CO_2 萃取中药川芎挥发油的工艺优化[J]. 考试周刊，2018(22)：150

[17] 姜红宇，刘郁峰，谢国飞，等. 陆英挥发油超临界 CO_2 萃取工艺优化及其成分分析[J]. 食品与机械，2017(10)：154-157

[18] 宋平，宋元德. 不同方法提取沙田柚柚皮精油成分的研究[J]. 保鲜与加工，2014(1)：41-46

[19] 李源栋，刘秀明，夏建军，等. GC/MS 法结合保留指数分析留兰香油成分[J]. 中国测试，2016，42(4)：45-48

[20] 丁仡，李娟，李源栋，等. 俄罗斯松针油与加拿大冷杉针油挥发性成分比较与分析[J]. 中国食品添加剂，2019(3)：145-151

收稿日期：2019-01-14

(C)1994-2020 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net