

玉竹挥发油超临界 CO₂ 萃取条件及抑菌活性研究

赵秀红¹, 曾洁², 高海燕², 孙希云³, 郑煜焱³

(1. 沈阳师范大学工程技术学院, 辽宁 沈阳 110034; 2. 河南科技学院食品学院, 河南 新乡 453003;

3. 沈阳农业大学食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘 要: 运用超临界流体 CO₂ 萃取技术提取玉竹挥发油。采用正交试验研究萃取温度、萃取压力、分离温度、分离压力因素对玉竹挥发油得率的影响, 以得率为主要标准, 确定最佳工艺条件。结果表明: 萃取温度 35℃、萃取压力 30MPa、分离温度 20℃、分离压力 9MPa 为最佳提取工艺。通过抑菌试验发现, 玉竹挥发油对细菌、霉菌、酵母菌、放线菌均有一定的抑菌活性, 并具有良好的热稳定性。

关键词: 玉竹; 挥发油; 超临界 CO₂ 萃取; 抑菌; 热稳定性

Supercritical CO₂ Extraction and Antimicrobial Activity Evaluation of *Polygonatum odoratum* Essential Oil

ZHAO Xiu-hong¹, ZENG Jie², GAO Hai-yan², SUN Xi-yun³, ZHENG Yu-yan³

(1. College of Engineering and Technology, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China;

2. School of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China;

3. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China)

Abstract In this study, supercritical fluid CO₂ extraction was applied to extract *Polygonatum odoratum* essential oil. The effects of extraction temperature and pressure as well as separation temperature and pressure on oil yield were investigated in single factor experiments and further, the extraction parameters were optimized using a 4-factor, 3-level, 9-run orthogonal array design based on oil yield. The results showed that extraction temperature of 35 °C, extraction pressure of 30 MPa, separation temperature of 20 °C and separation pressure 9 MPa were found optimal for the extraction of polygonatum essential oil. The oil had certain inhibitory effect against bacteria, mold, yeast and actinomycetes and excellent thermostability.

Key words: *Polygonatum odoratum*; essential oil; supercritical fluid CO₂ extraction; antimicrobial; thermostability

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)08-0155-04

玉竹, 又名玉参、尾参、菱蕤、铃铛菜^[1], 原产我国西南地区, 野生分布很广。据文献记载, 玉竹中含有甾体皂甙、黄酮、生物碱、多糖、甾醇、鞣质、黏液质和强心甙等成分^[2-5]。玉竹以根入药, 性平、味甘。具有具有养阴润燥, 生津止渴功能。用于肺胃阴伤, 燥热咳嗽, 咽干口渴, 内热消渴^[6]。挥发油, 又称精油, 是玉竹的主要活性成分之一, 是一类在常温下能挥发、可随水蒸气蒸馏、与水不相混的油状液体的总称^[7]。黎勇等^[8]采用 GC-MS 的方法对玉竹挥发油化学成分进行分析, 发现玉竹挥发油具有多种生物活性物质, 共检出 40 种成分, 并确定了 32 种化合物, 主要成分为不饱和烯烃, 除此之外还含有一些醇、醛、酸、酯及烷烃, 不同成分因结构的不同生物活性有很大差异, 玉竹挥发油不但可以应用于临床生物制药, 还可应用于化妆品等行业, 所以提取具有较高生物活性的

挥发油对医药和食品工业是十分有意义的。

目前, 有关玉竹挥发性成分研究报道甚少。超临界萃取技术提取挥发油具有步骤少、流程简单、产率高、绿色环保、工艺简单等特点^[9], 特别适应于提取天然动植物中的有效成分。为充分开发利用玉竹资源, 本实验采用超临界 CO₂ 萃取技术^[10-13]和滤纸片法^[14]对玉竹中挥发油的萃取工艺及其抑菌效果进行研究, 为玉竹有效成分的开发利用提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉竹 产地辽宁。

放线菌 SS4.165(*Actinobacteria*)、大肠埃希氏杆菌(*Escherichia coli*)、枯草芽孢杆菌(*Bacillus Subtilis*)、

收稿日期: 2010-06-28

作者简介: 赵秀红(1976—), 女, 副教授, 博士, 研究方向为活性物质提取。E-mail: zhaoxiuhong1976@163.com

金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、黑曲霉 SS2.132 (*Aspergillus niger*)、酵母菌 SS3.241(*Yeast*) 沈阳师范大学实验中心微生物实验室。

1.2 仪器与设备

HA-221-50-06 型超临界流体萃取设备 江苏南通华安超临界萃取有限公司；电子天平、恒温培养箱、振荡器 北京赛多利斯仪器系统有限公司；高压灭菌锅 上海爱明仪器有限公司；移液枪 上海嘉定粮油仪器有限公司；电动粉碎仪。

1.3 工艺流程

玉竹→干燥、粉碎→入釜→超临界 CO₂ 萃取→分离挥发油→冷冻保存

1.4 玉竹挥发油萃取条件的确定

1.4.1 萃取温度对玉竹挥发油得率的影响

水分含量相同、粉碎度相同的等量原料在不同压力(15、20、25、30MPa)条件下考察不同萃取温度(35、40、45、50℃)时萃取 110min 情况下的油得率，确定最佳萃取温度。

$$\text{玉竹挥发油得率} / \% = \frac{\text{分离出的挥发油质量}}{\text{样品质量}} \times 100$$

1.4.2 萃取压力对玉竹挥发油得率的影响

水分含量相同、粉碎度相同的等量原料在萃取温度 35℃，萃取时间 110min 条件下考察不同压力(10、15、20、25、30MPa)萃取情况下的油得率，确定最佳萃取压力。

1.5 玉竹挥发油分离条件的确定

1.5.1 分离温度对油得率的影响

水分含量相同、粉碎度相同的等量原料在萃取温度 35℃，萃取压力 25MPa，萃取时间 110min，分离压力 9MPa 条件下分别取不同的分离温度(10、20、30、40、50℃)进行超临界 CO₂ 萃取，确定最佳分离温度。

1.5.2 分离压力对油得率的影响

水分含量相同、粉碎度相同的等量原料在萃取温度 35℃，萃取压力 25MPa，萃取时间 110min，分离温度 30℃分别取不同的分离压力(3、6、9、12MPa)进行超临界 CO₂ 萃取，确定最佳分离压力。

1.6 玉竹挥发油提取正交试验

表 1 玉竹挥发油提取 L₉(3⁴) 正交试验因素水平
Table 1 Factors and levels in orthogonal array design

水平	因素			
	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 分离温度/℃	D 分离压力/MPa
1	25	20	20	6
2	35	25	30	9
3	45	30	40	12

以玉竹挥发油得率为指标，考察超临界 CO₂ 萃取过程中各因素对玉竹挥发油提取的影响，正交试验因素水平见表 1。

1.7 玉竹挥发油抑菌实验

1.7.1 培养基的制备

分别配制牛肉膏蛋白胨培养基(细菌用)^[15]、马铃薯培养基(霉菌用)^[15]、麦芽汁培养基(酵母菌用)^[15]、高氏 I 号培养基(放线菌用)^[15]，待用。

1.7.2 菌悬液的制备

将各菌种活化，制成菌悬液。细菌使用平板计数法，霉菌、酵母使用显微镜直接计数法测菌体个数，调至菌体 10⁶~10⁷ 个/mL 的菌悬液，备用。

1.7.3 对照溶剂的配制

将 100% 来苏尔液配制成 1% 来苏尔液；配制 0.85% 生理盐水并在 121.5℃ 灭菌 20min 制成无菌生理盐水。

1.7.4 抑菌实验

采用滤纸片法：超临界 CO₂ 萃取玉竹挥发油，用滤纸片法测定其抑菌圈大小，同时以相应溶剂做对照实验。

1.8 温度和时间对玉竹挥发油抑菌稳定性的影响

玉竹挥发油分别经 80、100℃ 热处理 30、15、5、0.5min 后，测定其对枯草芽孢杆菌的抑菌圈大小。

2 结果与分析

2.1 超临界萃取玉竹挥发油条件的优化

2.1.1 萃取温度对挥发油萃取的影响

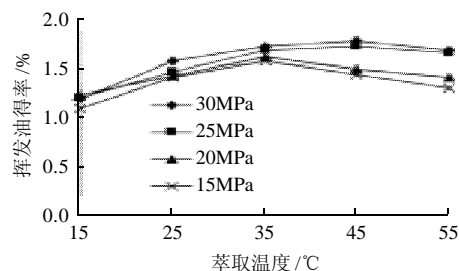


图 1 萃取温度对挥发油得率的影响
Fig.1 Effect of extraction temperature on the yield of polygonatum essential oil

由图 1 可知，在不同的压力条件下，温度对萃取挥发油得率有较大的影响。在一定范围内，高压下升温，玉竹挥发油得率增加，45℃ 达到最大值；低压下升温，玉竹挥发油得率先增加后急剧降低，35℃ 为其最高点。

2.1.2 萃取压力对玉竹挥发油萃取的影响

在 35℃ 恒定温度下，随着萃取压力的升高，最终的玉竹挥发油得率也升高。这是因为随着压力升高，超

临界 CO₂ 的密度增加, 其溶解能力也随着增加的缘故。

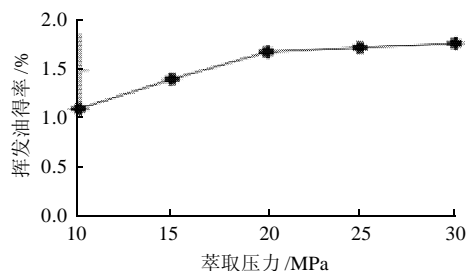


图2 萃取压力对挥发油得率的影响

Fig.2 Effect of extraction pressure on the yield of polygonatum essential oil

由图2可知, 萃取压力从10MPa升至20MPa时挥发油得率增加明显, 而从20MPa升至30MPa时, 挥发油得率虽有所增加, 但增加幅度很小。压力大时, 对设备的耐压力, 密封性要求高, 萃取成本增加明显。且操作压力相对高时, 萃取物颜色加深, 对产品的品质有一定影响。结合本实验, 考虑到生产的实用性, 萃取压力应选择在20~30MPa范围较好。

2.1.3 分离温度对玉竹挥发油分离效果的影响

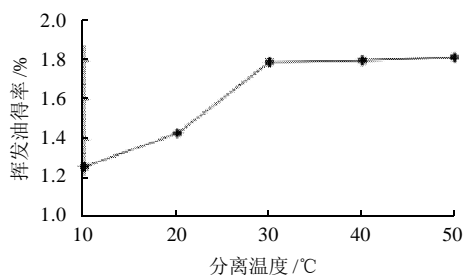


图3 分离温度对挥发油得率的影响

Fig.3 Effect of separation temperature on the yield of polygonatum essential oil

由图3可看出, 随着分离温度的提高, 玉竹挥发油得率升高, 这主要由于随着温度的提高二氧化碳溶解度降低造成的。另外, 尽管分离温度40℃时的玉竹挥发油得率比30℃高, 但同时玉竹挥发油品质下降了, 提取物中组分种类复杂, 不易得到较纯净的单一物质。因此, 本实验以30℃左右为佳。

2.1.4 分离压力对玉竹挥发油分离效果的影响

表2 分离压力对挥发油成分的影响

Table 2 Effect of separation pressure on the yield of polygonatum essential oil

分离压力/MPa	3	6	9	12
颜色	棕黄色	浅黄色	浅黄色	浅黄色

由表2可知, 分离压力3MPa时, 萃取物为棕黄色油状物质, 说明油中油溶性杂质较多。当分离压力6~

12MPa时, 萃取物为浅黄色油状物质, 说明油状物质中含有较多的油类物质。因此, 分离器最佳分离压力应为6~12MPa。

2.1.5 玉竹挥发油提取正交试验结果与分析

表3 玉竹挥发油提取 L₉(3⁴) 正交试验结果与分析

Table 3 Experimental scheme and results of orthogonal array design

因素	A	B	C	D	玉竹挥发油得率 /%
1	25	20	20	6	1.20
2	25	25	30	9	1.21
3	25	30	40	12	1.39
4	35	20	30	12	1.72
5	35	25	40	6	1.78
6	35	30	20	9	1.92
7	45	20	40	9	1.69
8	45	25	20	12	1.56
9	45	30	30	6	1.45
K ₁	1.267	1.537	1.560	1.477	
K ₂	1.807	1.517	1.460	1.607	
K ₃	1.567	1.587	1.620	1.557	
R	0.540	0.070	0.160	0.130	

由表3可知, 各因素对玉竹挥发油得率的影响程度依次为 A > C > D > B, 即萃取温度对玉竹挥发油得率的影响最大, 分离温度和分离压力其次, 萃取压力的影响最小。由于分离温度40℃, 油质量受到一定影响, 试验最佳的工艺条件确定为 A₂B₃C₁D₂, 即萃取温度35℃、萃取压力30MPa、分离温度20℃、分离压力9MPa。

2.2 玉竹挥发油的抑菌实验结果

通过对玉竹挥发油体外抗菌活性的实验研究, 结果表明玉竹挥发油对枯草杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、放线菌 SS4.165、霉菌 SS2.132 和酵母菌 SS3.241 均有一定抑制效果, 结果见表4。

表4 玉竹超临界 CO₂ 萃取物的抑菌活性

Table 4 Inhibitory activities of polygonatum essential oil

菌种	抑菌圈直径 /mm		
	萃取物	1% 米苏尔液	无菌生理盐水
枯草芽孢杆菌	14.5	13.5	8.6
金黄色葡萄球菌	13.3	13.0	8.5
大肠杆菌	12.0	13.0	8.3
放线菌 SS4.165	12.5	13.5	8.7
霉菌 SS2.132	18.9	13.2	8.5
酵母菌 SS3.241	15.1	13.4	8.6

从表4可知, 玉竹超临界 CO₂ 萃取物对大肠杆菌、放线菌霉菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌均有抑菌作用, 且对霉菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌作用较强。这是因为玉竹超临界 CO₂ 萃取物为挥发油, 其中含有一些萜烯类、酸、醇、

酮、萘、酚、醚等物质,可能是这些物质的分子结构特征与生物膜分支结构特征相似,容易进入菌体从而发挥抑菌作用。

2.3 温度和时间对玉竹挥发油抑菌稳定性的影响

表5 温度和时间对玉竹超临界CO₂萃取物抑菌圈大小的影响
Table 5 Effect of temperature and time on the size of the bacteriostatic circle of polygonatum essential oil

处理条件	80℃-30min	80℃-15min	100℃-15min	100℃-5min	100℃-0.5min	未处理
抑菌圈直径/mm	13.9	14.8	13.5	14.2	15.0	14.5

从表5可知,高温长时间处理对玉竹超临界CO₂萃取物抑菌效力有一些影响,而高温瞬时处理对玉竹超临界CO₂萃取物抑菌效力没有明显影响。这一结果表明玉竹挥发油在加热的条件下,其抗菌成分并未受到影响,还对微生物具备较强的抑制作用,说明玉竹挥发油中的抗菌成分具备良好的热稳定性,这对于玉竹挥发油作为防腐剂在食品中的实际应用具有重要的意义。

3 结 论

通过正交试验确定超临界CO₂萃取玉竹挥发油的最优工艺条件为萃取温度35℃、萃取压力30MPa、分离温度20℃、分离压力9MPa。超临界CO₂萃取所得玉竹挥发油对霉菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和放线菌均有抑菌作用,且对霉菌、酵母菌、枯草芽孢杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌作用较强,而且玉竹挥发油中的抗菌成分具备良好的

热稳定性。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中国药典: 一部[M]. 2005版. 北京: 化学工业出版社, 2005: 57-58.
- [2] 林厚文, 韩公羽, 廖时萱. 中药玉竹有效成分研究[J]. 药学报, 1994, 29(3): 215-222.
- [3] 李钟, 刘塔斯, 杨先国, 等. 不同产地与不同采收期玉竹多糖的含量测定研究[J]. 辽宁中医学院学报, 2004, 6(5): 355-356.
- [4] 秦海林, 李志宏, 王鹏, 等. 中药玉竹中新的次生代谢产物[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 42-44.
- [5] 王琴, 张虹, 王洪泉. 黄精及玉竹中甾体甙成分的研究[J]. 中国临床医药, 2003, 4(2): 75-77.
- [6] 施大文, 王志伟, 李自力. 玉竹的药源调查及商品鉴定[J]. 中药材, 1992, 15(7): 78-80.
- [7] 赵兴杰, 籍保平, 赵磊, 等. 佛手挥发油不同提取方法的比较研究[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 167-170.
- [8] 黎勇, 孙志忠, 郝文辉, 等. 玉竹挥发油化学成分的研究[J]. 黑龙江大学: 自然科学学报, 1996, 13(3): 92-94.
- [9] 马越, 王利明, 王晓杰, 等. 超临界CO₂萃取佛手挥发油的工艺研究及GC-MS分析[J]. 食品科学, 2009, 30(2): 221-223.
- [10] 金莹, 郭康权, 何蔚娟, 等. 乌柏籽皮油超临界流体萃取及其成分分析[J]. 食品科学, 2009, 30(1): 63-65.
- [11] 金晓铃, 何新霞, 杜红岩, 等. 超临界流体萃取佛手挥发油的气相色谱/质谱分析[J]. 浙江师范大学学报, 2002(2): 61-65.
- [12] 田洪磊, 詹萍. 新疆小白杏仁油的超临界萃取及其脂肪酸组成分析[J]. 食品科学, 2009, 30(1): 48-49.
- [13] REVERCHON E, DELLA P G. Supercritical CO₂ extraction and fractionation of lavender essential oil and waxes[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1995, 43(2): 1654-1655.
- [14] 郑钧墉, 王光宝. 药品微生物学及检验技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 43-56.
- [15] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 25-48.