

# 花椒挥发油超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的工艺优化及 GC-MS 分析

刘琳琪, 赵晨曦, 李佩娟, 向思孟, 罗金花

(长沙学院生物与环境工程学院, 湖南长沙 410022)

**摘要:** 本文以花椒油得率为指标, 通过响应面法优化超临界 CO<sub>2</sub> 法萃取花椒挥发油工艺, 并利用 GC-MS 分析挥发油的成分, 同时以水蒸气蒸馏法作对比。结果表明, 当温度 42 °C, 压力 30 MPa, 提取 180 min 时, 超临界 CO<sub>2</sub> 法的得率高达 12.70%, 是水蒸气蒸馏法得率的 2.27 倍。GC-MS 分析发现两种提取方法所得挥发油的组成相似, 含量差异较大, 主要成分有花椒油素 (32.99%/10.56%)、芳樟醇 (4.68%/4.84%)、桉叶油醇 (3.92%/5.84%)、 $\alpha$ -松油醇 (4.55%/7.04%)、4-萜烯醇 (2.95%/10.42%)、乙酸松油酯 (5.19%/7.24%)、薄荷酮 (5.40%/4.41%)、茴香脑 (2.91%/3.73%) 等, 其中超临界 CO<sub>2</sub> 法所得挥发油中的花椒油素含量最高, 达到 32.99%。这说明与传统的水蒸气蒸馏法相比, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法的提取效率更高, 而且所得挥发油含有高含量的花椒油素, 这为花椒油素的提纯, 花椒挥发油的开发利用提供了参考。

**关键词:** 花椒挥发油; 响应面优化; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法; GC-MS; 花椒油素

文章编号: 1673-9078(2020)05-73-80

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.5.011

## Optimization of Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction Process of Essential Oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. and Its Chemical Composition Analyzed by GC-MS

LIU Lin-qi, ZHAO Chen-xi, LI Pei-juan, XIANG Si-meng, LUO Jin-hua

(School of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China)

**Abstract:** As compared with steam distillation, the volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. was extracted by supercritical CO<sub>2</sub> extraction (SCE) and identified by GC-MS. Taking the yield of volatile oil as the evaluation index, the extraction process was optimized by response surface method. The experimental results showed that the essential oil yield was as high as 12.70% when the sample was extracted by the supercritical CO<sub>2</sub> extraction method for 180 min at 42 °C and 30 MPa, which was 2.27 times as that obtained by steam distillation (SD). The chemical composition in the essential oils obtained by SCE and SD were similar but with very different contents analyzed by GC-MS. The main constituents were xanthoxylin (32.99%/10.56%), linalool (4.68%/4.84%), eucalyptol (3.92%/5.84%),  $\alpha$ -terpineol (4.55%/7.04%), terpinen-4-ol (2.95%/10.42%), terpinyl acetate (5.19%/7.24%), piperitone (5.40%/4.41%) and anethole(2.91%/3.73%). The relative contents of the components in the essential oils were determined with area normalization method. Among them, the relative content of xanthoxylin in the volatile oil obtained by SCE was the highest (32.99%). It showed that the extraction yield of the essential oil extracted by SCE was much higher, compared with traditional steam distillation. Moreover, the content of xanthoxylin, which is the characteristic chemical constituent of volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim., was very high. This is beneficial for the purification and manufacture of xanthoxylin. Our results provide a foundation for the development and utilization of volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

引文格式:

刘琳琪,赵晨曦,李佩娟,等.花椒挥发油超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的工艺优化及 GC-MS 分析[J].现代食品科技,2020,36(5):73-80

LIU Lin-qi, ZHAO Chen-xi, LI Pei-juan, et al. Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction process of essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. and its chemical composition analyzed by GC-MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(5): 73-80

收稿日期: 2019-12-05

基金项目: 湖南省自然科学基金项目 (2017JJ3342); 长沙市科技计划项目 (kc1809036); 长沙学院 2019 年度大学生创新创业训练计划项目

作者简介: 刘琳琪 (1982-), 女, 实验师, 研究方向: 植物活性成分

通讯作者: 赵晨曦 (1963-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 中药化学

**Key words:** volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim; response surface optimization; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; gas chromatography mass spectrometry; xanthoxylin

花椒为芸香科植物青椒(*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc.)或花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.)的干燥成熟果皮<sup>[1]</sup>,有比较浓郁的气味,是一种常见的烹调香料,具有药食两用的特性,全国大部分地区都有生产,比较有名的有四川汉源花椒、云南谷律花椒等<sup>[2]</sup>。花椒的主要成分有挥发油、生物碱类、酰胺类(麻味成分)、香豆素类、黄酮类等。挥发油的主要成分为烯醇及其酯类、萜烯类化合物,具有抑菌、杀虫、抗氧化等功效<sup>[3-8]</sup>。

花椒挥发油的提取方法有水蒸气蒸馏法、有机溶剂浸取法、微波提取法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法等<sup>[2]</sup>。其中,水蒸气蒸馏法、有机溶剂浸取法存在得率不高或者能耗较大或者有机溶剂残留的缺点。微波提取法提取效率高,但是对药材的含水量有要求,另有微波泄漏的危险。而超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术具有无毒害、产品品质好、产率高的特点,并且处于临界点附近的超临界 CO<sub>2</sub> 流体对溶质的溶解能力极强,压力、温度等的微小改变,会极大地改变溶质的溶解度,从而可以在很大程度上进行选择提取<sup>[9]</sup>。目前,已有文献<sup>[2,9]</sup>报道采用超临界 CO<sub>2</sub> 法提取花椒挥发油,而得率差别较大。这些文献中花椒的产地不同,挥发油的得率及组成会存在一定差异;而采用不同的提取工艺,挥发油的含量及组成、乃至生物活性也会发生变化。若选用传统水蒸气蒸馏法作对比,能更好地说明超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺对挥发油得率,组成的影响。因此本文通过响应面法优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取花椒挥发油的工艺条件,采用 GC-MS 分析其组成,并用水蒸气蒸馏法加以对比,从而为花椒挥发性成分的进一步研究开发提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药材、试剂与仪器

#### 1.1.1 药材、试剂

花椒,产自云南省昆明市,经湖南中医药大学中医药研究院李若存教授鉴定为花椒(*Zanthoxylum bungeanum* Maxim.)的干燥成熟果皮。花椒于 40 °C 下干燥 8 h,粉碎后,过 40 目筛,备用。正己烷(分析纯,国药集团有限公司)。

#### 1.1.2 主要仪器设备

超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置(SPE-ED SFE-2),美国 ASI 公司;气相色谱质谱联用仪(6890/5973 型),安捷伦公

司;电子分析天平(AUY120),岛津公司;挥发油提取装置。

### 1.2 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取花椒挥发油

称取 5 g 花椒粉末投入 50 mL 超临界萃取釜中。在一定的温度、压力、时间下,萃取得到花椒挥发油。称量,记录数据,计算花椒挥发油的得率,实验平行 3 次。

$$\text{得率}(\%) = \frac{\text{花椒油质量}(\text{g})}{\text{花椒质量}(\text{g})} \times 100\%$$

#### 1.2.1 单因素实验

分别探究压力(15、20、25、30、35 MPa),温度(30、35、40、45、50 °C),时间(110、130、150、170、190 min)因素对挥发油得率的影响,探究较好的参数水平,进行后续响应面优化。

#### 1.2.2 响应面优化试验

在 1.2.1 单因素试验基础上,利用 Box-Behnken 试验,分别考察影响挥发油提取过程的 3 个主要因素,即萃取温度(A)、时间(B)、压力(C),设计三因素三水平响应面优化试验。以花椒油得率为响应值,采用软件 Design-Expert 8.0.6 进行优化分析。试验方案见表 1。

表 1 Box-Behnken 实验设计

Table 1 Design of combined test of Box-Behnken			
水平	因素		
	温度 A/°C	时间 B/min	压力 C/MPa
-1	35	150	25
0	40	170	30
1	45	190	35

### 1.3 水蒸气蒸馏法提取花椒挥发油

取 15 g 花椒加入 500 mL 圆底烧瓶中,以 150 mL 蒸馏水为溶剂,浸泡 3 h 后通入冷凝水,加热回流 4 h,停止加热,自然冷却至室温。从挥发油提取装置中收集花椒挥发油,称量,记录数据,计算花椒挥发油的得率,实验平行 3 次。

### 1.4 挥发油成分分析

分析条件:初始温度 50 °C,维持 2.0 min,以速率 5 °C/min 升温至 110 °C,维持 1 min,以速率 2 °C/min 升温至 120 °C,维持 1 min,以速率 10 °C/min 升温至 150 °C,维持 5 min,以速率 20 °C/min 升温至 180 °C,维持 5 min;进样口温度 250 °C;载气为

99.999%氦气;载气流量为1 mL/min;分流比为30:1;溶剂延时3 min。样品经正己烷稀释50倍后进样分析。

## 1.5 数据处理

所有测量数据均重复测定三次,结果以平均值±标准偏差表示。对提取工艺的实验数据,采用软件Design-Expert 8.0.6进行响应面优化分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素实验结果

#### 2.1.1 萃取压力对得率的影响

如1.2所述,当温度40℃、时间170 min时,以15、20、25、30、35 MPa的压力萃取花椒挥发油,结果见图1。由图1可见,随着萃取压力由15 MPa升高至30 MPa,挥发油得率由4%增至12%左右,但当压力超过30 MPa后,得率下降。在温度、时间等条件不变的情况下,增加压力,可使CO<sub>2</sub>流体密度增大,溶解能力上升,挥发油得率增加。但当压力增加到一定程度后,CO<sub>2</sub>扩散率会下降,得率下降,也会损耗设备。因此,选择25、30、35 MPa三水平进行响应面优化。

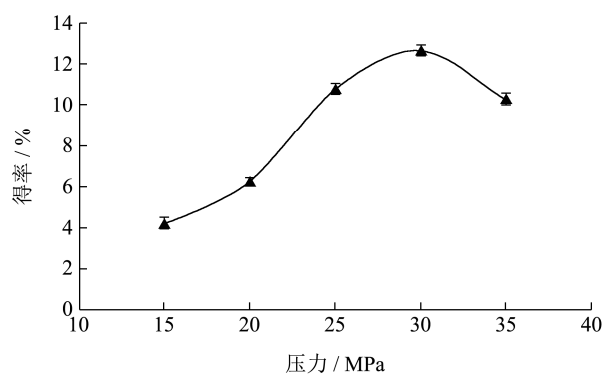


图1 萃取压力对花椒油得率的影响

Fig.1 The effect of pressure on yield of volatile oil extracted from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

#### 2.1.2 萃取温度对得率的影响

如1.2所述,当压力30 MPa、时间170 min时,以30、35、40、45、50℃的温度萃取花椒挥发油,结果见图2。由图2可知,随着萃取温度由30℃升高至40℃,花椒挥发油的得率由2.5%增至12%左右,但当温度超过40℃时,得率下降。在较高的压力下,CO<sub>2</sub>可压缩性小,升温使CO<sub>2</sub>流体的密度降低缓慢,使分离组分的扩散系数大大增加,溶解能力增强,从而提高了得率;但温度超过一定程度后,会使CO<sub>2</sub>流

体密度急剧下降,分离组分扩散系数的提高难以补偿CO<sub>2</sub>密度降低造成的溶解能力下降<sup>[10-12]</sup>,从而得率下降。因此,选择35、40、45℃三水平进行响应面优化。

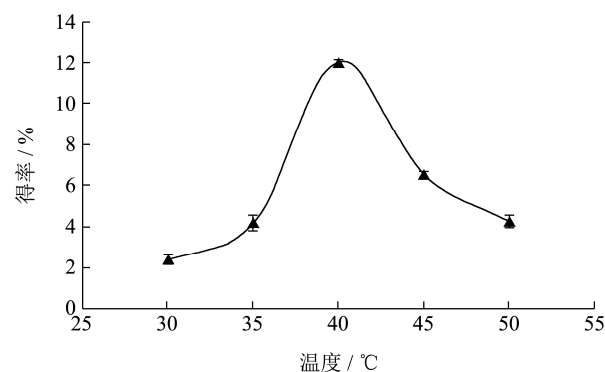


图2 萃取温度对花椒油得率的影响

Fig.2 The effect of temperature on yield of volatile oil extracted from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

#### 2.1.3 萃取时间对得率的影响

如1.2所述,当萃取温度40℃、萃取压力30 MPa时,以110、130、150、170、190 min的时间萃取花椒挥发油,结果见图3。由图3可见,时间由110 min增加至170 min时,得率由6%增至12%左右,当时间超过170 min时,得率基本不变。因此,选择150、170、190 min三水平进行响应面优化。

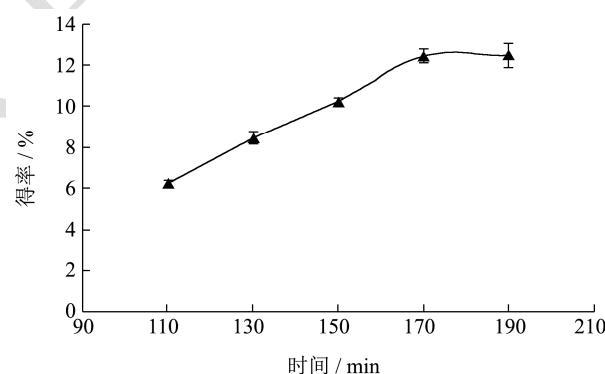


图3 萃取时间对花椒油得率的影响

Fig.3 The effect of time on yield of volatile oil extracted from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim.

## 2.2 响应面优化试验

在单因素试验基础上,按照表1进行响应面优化实验。试验方案及结果见表2,方差分析见表3。回归方程:

$$Y=12.53+1.13A+1.01B+0.30C+0.60AC+0.10BC-4.71A^2+0.63B^2-1.92C^2 \quad (1)$$

表2 Box-Behnken 试验方案及结果

Table 2 Box-Behnken design in terms of coded levels with response variable

试验号	温度 A/°C	时间 B/min	压力 C/MPa	得率/%
1	1	1	0	10.39±0.12
2	1	0	-1	6.04±0.03
3	0	0	0	12.73±0.04
4	0	0	0	12.68±0.15
5	0	0	0	12.25±0.23
6	-1	0	-1	4.64±0.03
7	0	1	-1	12.13±0.18
8	0	-1	1	10.15±0.02
9	-1	-1	0	6.51±0.07
10	1	0	1	8.37±0.08
11	0	0	0	12.32±0.22
12	-1	1	0	8.49±0.09
13	-1	0	1	4.56±0.05
14	1	-1	0	8.41±0.06
15	0	0	0	12.68±0.04
16	0	1	1	12.42±0.13
17	0	-1	-1	10.27±0.22

表3 方差分析

Table 3 Variance analysis for the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方差	F值	p值
模型	134.11	9	14.90	104.26	<0.0001**
A	10.15	1	10.15	71.00	<0.0001**
B	8.18	1	8.18	57.24	0.0001**
C	0.73	1	0.73	5.12	0.0581
AB	0.000	1	0.000	0.000	1.0000
AC	1.45	1	1.45	10.16	0.0153*
BC	0.042	1	0.042	0.29	0.6045
A <sup>2</sup>	93.45	1	93.45	653.86	<0.0001**
B <sup>2</sup>	1.67	1	1.67	11.66	0.0112*
C <sup>2</sup>	15.50	1	15.50	108.44	<0.0001**
残差	1.00	7	0.14		
失拟项	0.79	3	0.26	5.10	0.0748
纯误差	0.21	4	0.052		
总误差	135.11	16			

注: \*\*差异极显著,  $p < 0.01$ ; \*差异显著,  $p < 0.05$ 。

由表3数据可知, 回归模型 $p < 0.0001$ , 模型影响显著, 失拟项 $p > 0.05$ , 不显著, 说明其他干扰项对实验结果几乎无影响, 残差由随机误差引起。复相关系数 $R^2 = 0.9926$ , 校正系数 $R^2_{Adj} = 0.9831$ , 说明该模型可以很好地描述花椒油各提取因素温度、时间、压力与得率的关系, 模型拟合程度较小, 试验误差较小。F值越

大, 所对应的因素对得率影响力越强。由表3看出, 温度(A)对花椒油得率的影响最大, 时间(B)次之, 压力(C)最小。二次项 $A^2$ 、 $B^2$ 、 $C^2$ 、交互项AC, 因素A、因素B均对花椒挥发油得率有显著影响( $p < 0.05$ ), 其余项如AB、BC等不显著, 表明每个因素对挥发油得率的影响都是非常复杂的, 而不是纯粹的线性关系。响应面法优化所得三者的3D图见图4。

由图4a可见曲面平缓, 当提取时间一定时, 花椒油得率随温度的增加先增加后减小; 当提取温度一定时, 花椒油得率随时间的变化不显著。由图4c可见曲面变化平缓, 当提取时间一定时, 花椒油得率随压力的增加先增加后减小; 而当提取压力一定时, 花椒油得率随时间的变化不显著。同时结合方差分析表3, 因素温度A和时间B, 时间B和压力C交互作用的 $p$ 值( $p > 0.05$ ), 可知这些因素交互作用对花椒油得率的影响不显著。而图4b的曲面最陡峭, 当提取压力一定时, 花椒油得率随温度的增加先增加后减小; 当提取温度一定时, 花椒油得率随压力的增加先增加后减小。同时结合方差分析表3, 温度A和时间C交互作用的 $p$ 值( $p < 0.05$ ), 可知这两个因素交互作用对花椒油得率影响显著。

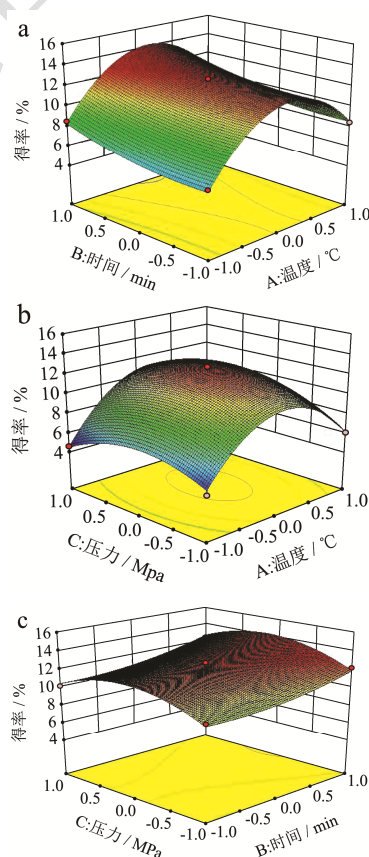


图4 两因素交互作用对花椒油得率影响的响应面图

Fig.4 Response surface plots for the two factor interactions on oil yield of zanthoxyl pericarpium



### 2.3 优化工艺验证试验

通过软件 Design-Expert 8.0.6 求解回归方程, 得到花椒挥发油最佳提取工艺条件为温度 42.45 °C, 压力 29.9 MPa, 时间 181.2 min, 此时花椒挥发油理论得率可达到 12.72%。根据实际情况对上述条件略作调整并进行验证实验, 选取温度 42 °C, 压力 30 MPa, 时间 180 min, 进行 3 次验证实验, 得到花椒挥发油的平均得率为 12.70%, 与回归方程算出的理论值 12.72% 接近, 说明响应面优化得到的工艺参数较好, 具有实用价值。而如 1.3 所述, 水蒸气蒸馏法所得花椒挥发油的得率仅为 5.60%, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法的得率是水蒸气蒸馏法的 2.27 倍。目前已有文献中, 采用超临界 CO<sub>2</sub> 法萃取花椒挥发油的得率为 4%~13%, 本实验的得率 12.70% 与文献报道的最高得率基本一致。而选用传统水蒸气蒸馏法作对比, 能更好地说明超临界 CO<sub>2</sub> 提取工艺对挥发油得率的影响。

### 2.4 挥发油的成分分析

如 1.4 所述方法, 分析超临界 CO<sub>2</sub> 萃取和水蒸气蒸馏得到的花椒挥发油成分, 得到花椒挥发油的 GC-MS 总离子流图, 见图 5。采用质谱库 NIST11 检索及文献比对, 进行组分鉴定, 以峰面积归一法计算各组分的百分含量。当匹配度大于 90%, 共鉴定了 63 种挥发油成分。超临界 CO<sub>2</sub> 法所得挥发油鉴定了 40 种物质, 占总峰面积的 91.75%。水蒸气蒸馏法所得挥发油鉴定了 57 种物质, 占总峰面积的 89.00%, 详见表 4。由表 4 可见, 两种提取工艺得到的花椒油组成相似, 含量存在差异。主要成分有花椒油素 (32.99%/10.56%) 和大量萜类物质, 如芳樟醇 (4.68%/4.84%)、桉叶油醇 (3.92%/5.84%)、 $\alpha$ -松油醇 (4.55%/7.04%)、4-萜烯醇 (2.95%/10.42%)、乙酸松油酯 (5.19%/7.24%)、薄荷酮 (5.40%/4.41%)。另外还有茴香脑 (2.91%/3.73%) 等。据文献<sup>[5]</sup>报道, 采用超临界 CO<sub>2</sub> 法提取四川凉山的花椒, 其挥发油中富含柠檬烯 (14.01%), 芳樟醇 (13.18%), 罗勒烯 (26.23%)。另一文献<sup>[7]</sup>采用水蒸气蒸馏法提取四川成

都的花椒, 其挥发油中含芳樟醇含量最高, 为 29.69%。可见不同产地、不同工艺的花椒挥发油成分各异。而关于花椒油中花椒油素的文献报道很少, 仅见宋蓉<sup>[6]</sup>等报道以石油醚、乙醚为溶剂, 采用索氏提取法提取山东德州花椒的挥发油含有花椒油素, 具有明显的抗菌作用。花椒油素为花椒植物特有活性成分, 除了抗菌作用外, 还具有抑制药物引起的肌肉收缩和血小板凝聚的药理作用, 其衍生物还具有驱虫、杀菌、防霉的功效, 是一种十分重要的药效成分<sup>[16]</sup>。花椒油中的其它成分如芳樟醇、松油烯、茴香脑、4-萜烯醇、薄荷酮、乙酸松油酯等均为天然香料。芳樟醇、 $\alpha$ -松油醇等具有较强的抑菌、杀虫活性<sup>[7,8]</sup>。4-萜烯醇也具有杀虫生物活性<sup>[8]</sup>。总之, 花椒油有多种生理活性, 具有很强的应用价值。

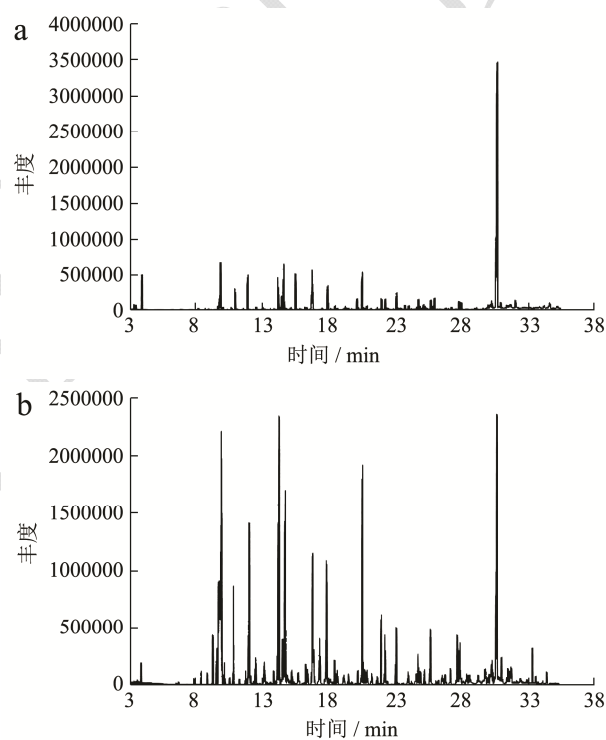


图5 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取 (a) 及水蒸气蒸馏法 (b) 所得花椒挥发油的总离子流图

Fig.5 Total ion chromatograms of volatile oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. extracted by supercritical CO<sub>2</sub> extraction (a) and steam distillation(b)

表 4 两种工艺提取的花椒挥发油的化学成分

Table 4 Chemical composition of essential oil from *zanthoxyli pericarpium* extracted by SCE and SD

序号	名称	保留时间/min	超临界 CO <sub>2</sub> 萃取法		水蒸气蒸馏法	
			相对含量/%	匹配度/%	相对含量/%	匹配度/%
1	侧柏烯	7.71	-	-	0.12±0.01	91
2	$\beta$ -蒎烯	8.24	-	-	0.27±0.02	90
3	$\alpha$ -水芹烯	8.71	-	-	0.26±0.02	91

转下页

接上页

4	(+)-4-萜烯	9.14	-	-	1.06±0.03	97
5	伞花烃	9.67	0.31±0.03	95	0.85±0.02	95
6	柠檬烯	9.79	1.29±0.04	91	-	-
7	桉叶油醇	9.87	3.92±0.03	98	5.84±0.03	98
8	反-β-罗勒烯	10.06	0.24±0.01	98	0.49±0.02	96
9	β-罗勒烯	10.35	-	-	0.15±0.01	97
10	(+)-3-萜烯	10.68	0.23±0.01	94	2.28±0.02	95
11	顺-β-松油醇	10.96	1.82±0.02	96	-	-
12	2-萜烯	11.53	-	-	0.77±0.03	96
13	芳樟醇	11.92	4.68±0.03	96	4.84±0.04	97
14	1,3,8-对孟三烯	12.03	-	-	0.07±0.02	95
15	反式-1-甲基-4-(1-甲基乙基)2-环己烯-1-醇	12.46	0.35±0.01	90	0.75±0.03	96
16	顺式-1-甲基-4-(1-甲基乙基)2-环己烯-1-醇	13.08	0.29±0.02	91	0.68±0.04	93
17	4-萜烯醇	14.20	2.95±0.02	95	10.42±0.05	95
18	4-(1-甲基乙基)-2-环己烯-1-酮	14.46	-	-	1.68±0.04	93
19	α-松油醇	14.62	4.55±0.04	90	7.04±0.03	90
20	薄荷烯醇	15.16	0.39±0.01	95	0.50±0.02	93
21	葛缕醇	15.34	-	-	0.37±0.03	98
22	松油烯	15.50	3.91±0.02	91	-	-
23	2-甲基-3-苯基-丙二醛	16.22	0.44±0.03	96	0.62±0.02	98
24	左旋香芹酮	16.37	0.27±0.01	97	0.43±0.03	95
25	薄荷酮	16.76	5.40±0.03	94	4.41±0.04	95
26	月桂烯	17.03	-	-	0.97±0.02	93
27	水芹醛	17.68	-	-	1.61±0.04	96
28	茴香脑	17.94	2.91±0.02	98	3.73±0.03	97
29	对伞花-1-醇	18.12	-	-	0.27±0.01	98
30	三环萜	18.48	0.61±0.01	90	0.71±0.02	90
31	3-甲基-4-异丙基苯酚	19.21	-	-	0.39±0.03	91
32	乙酸桃金娘烯酯	19.58	-	-	0.33±0.01	91
33	1,3,3-三甲基-2-氧杂环[2.2.2]辛烷-6-醇乙酸酯	19.86	-	-	0.42±0.03	95
34	乙酸松油酯	20.53	5.19±0.03	91	7.24±0.01	91
35	2,6-二甲基-2,6-辛二烯	20.68	0.30±0.01	97	0.45±0.02	97
36	3-烯丙基-甲氧基苯酚	20.89	0.74±0.02	98	0.40±0.05	98
37	橙花醇乙酸酯	21.45	-	-	0.39±0.02	91
38	α-萜澄茄油烯	21.66	0.33±0.01	97	0.23±0.02	99
39	乙酸香叶酯	21.98	1.30±0.01	91	1.96±0.05	91
40	β-榄香烯	22.27	1.24±0.03	96	1.53±0.02	91
41	β-石竹烯	23.12	1.67±0.02	99	1.74±0.01	99
42	α-律草烯	24.03	0.48±0.01	98	0.44±0.03	98
43	香树烯	24.26	-	-	0.09±0.02	99
44	γ-摩勒烯	24.63	0.30±0.02	98	0.33±0.02	98
45	右旋大根香叶烯	24.76	1.03±0.03	95	0.93±0.03	96
46	(+)-β-芹子烯	24.90	0.41±0.01	99	0.47±0.02	99

转下页

接上页						
47	$\gamma$ -芹子烯	25.24	-	-	0.51±0.01	93
48	$\alpha$ -摩勒烯	25.29	0.40±0.01	98	0.47±0.02	98
49	1,2,4a,5,6,8a-六氢-1-异丙基-4,7-二甲基萘	25.70	1.04±0.02	98	-	-
50	$\delta$ -杜松烯	25.97	1.32±0.04	96	1.79±0.04	94
51	$\alpha$ -杜松烯	26.35	-	-	0.12±0.01	98
52	榄香醇	27.38	-	-	0.35±0.02	91
53	反式-橙花叔醇	27.26	0.29±0.02	91	0.54±0.02	91
54	桉油烯醇	27.81	1.29±0.03	96	1.66±0.01	99
55	石竹素	27.99	1.05±0.01	96	1.48±0.03	93
56	$\tau$ -杜松醇	29.98	0.57±0.02	98	-	-
57	2-异丙基-5-甲基-9-亚甲基-双环(4.4.0)-1-奎烯	30.00	-	-	0.82±0.02	95
58	$\beta$ -桉叶醇	30.18	-	-	0.56±0.04	99
59	$\alpha$ -杜松醇	30.28	0.82±0.03	92	0.93±0.02	98
60	花椒油素	30.69	32.99±0.04	94	10.56±0.03	94
61	7-乙酰基-2-羟基-2-甲基-5-异丙双环[4.3.0]壬烷	32.06	1.26±0.04	94	-	-
62	反,反-法尼基乙酸酯	34.64	1.08±0.01	96	0.50±0.02	95
63	14-甲基十五烷酸甲酯	34.90	-	-	0.22±0.01	98
合计			91.75%±0.04%		89.00%±0.02%	

### 3 结论

响应面优化法采用非线性模型,可连续地对因素的各个水平进行分析,可得到整个区域范围内的最佳因素水平组合,克服了正交试验只能对一个个孤立的试验点进行分析,因此,与正交法相比,对实验数据的分析更加全面,从而广泛地用于植物活性成分的提取<sup>[13-15]</sup>。本文成功地通过响应面优化法得到超临界CO<sub>2</sub>法萃取花椒挥发油的最优提取工艺,最佳工艺条件为温度42℃,压力30MPa,提取180min,得率为12.70%,是水蒸气蒸馏法得率的2.27倍。所得花椒油富含花椒油素,其含量高达32.99%,且不使用任何有机溶剂,安全无毒无污染,易于实现工业化,为花椒的进一步开发利用特别是天然花椒油素单体制备提供了研究基础。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典.2015版第一部[M].北京:中国医药科技出版社,2015:159-160  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015. Vol I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 159-160
- [2] 王秋亚,景晓卉.花椒精油化学成分、提取方法及抑菌活性研究进展[J].中国调味品,2018,43(12):187-190,195  
WANG Qiu-ya, Jing Xiao-hui. Research progress of the chemical compositions, extraction methods and antibacterial

- activities of essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* [J]. China Condiment, 2018, 43(12): 187-190, 195
- [3] ZHANG Meng-meng, WANG Jiao-long, ZHU Lei, et al. *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. (Rutaceae): A systematic review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(10): 2172
- [4] PANG Wen-wen, LIU Shan, HE Fang-ting, et al. Anticancer activities of *Zanthoxylum bungeanum* seed oil on malignant melanoma [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2019, 229: 180-189
- [5] 邵红军,程俊侠,段玉峰.花椒挥发油化学成分、生物活性及加工利用研究进展[J].食品科学,2013,34(13):319-322  
SHAO Hong-jun, CHEN Jun-xia, DUAN Yu-feng. Advance in chemical compositions and biological activities of volatile components from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim [J]. Food Science, 2013, 34(13): 319-322
- [6] 宋蓉,贾晓娟,邵彦春.花椒精油的提取、抗菌活性研究及GC-MS分析[J].中国农学通报,2014,30(21):263-270  
SONG Rong, JIA Xiao-juan, SHAO Yan-chun. Study of extraction, antimicrobial activities of essential oil from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim and GC-MS [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(21): 263-270
- [7] 唐裕芳,唐小辉,张妙玲,等.花椒挥发油化学组成及抑菌活性研究[J].湘潭大学自然科学学报,2013,35(2):64-69

- TANG Yu-fang, TANG Xiao-hui, ZHANG Miao-ling, et al. Composition and antimicrobial activity of the volatile oil from *Zanthoxylum Bungeanum* Maxim [J]. Natural Science Journal of Xiangtan University. 2013, 35(2): 64-69
- [8] ZHANG Wen-Juan, GUO Shan-shan, YOU Chun-Xue, et al. Chemical composition of essential oils from *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. and their bioactivities against *Lasioderma serricorne* [J]. Journal of Oleo Science, 2016, 65(10): 871-879
- [9] 王劲.超临界二氧化碳提取花椒油工艺研究[J].中国调味品, 2016,41(4):92-95
- WANG Jin. Extraction of *Zanthoxylum* oil by supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction technology [J]. China Condiment, 2016, 41(4): 92-95
- [10] Khaw Kooi-Yeong, Parat Marie-Odile, Shaw Paul Nichilas, et al. Solvent supercritical fluid technologies to extract bioactive compounds from natural sources: A review [J]. Molecules, 2017, 22(7): 1186
- [11] 周玉凤,张海东,熊昆,等.超临界CO<sub>2</sub>萃取植物功能性油脂的研究进展[J].食品工业科技,2019,40(20):334-339
- ZHOU Yu-feng, ZHANG Hai-dong, XIONG Kun, et al. Research progress in supercritical CO<sub>2</sub> extraction of functional oils of plant [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(20): 334-339
- [12] 陈铁壁,全沁果,段丽萍,等.超临界CO<sub>2</sub>萃取肉桂皮中肉桂油[J].食品与发酵工业,2015,41(12):229-234
- CHEN Tie-bi, QUAN Qin-guo, DUAN Li-ping, et al. Extraction of *Cinnamomum cassia* oil from *Cinnamomum cassia* by supercritical carbon dioxide [J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(12): 229-234
- [13] 于淼,王冰,付叶珊,等.响应面法优化五加根废弃物多糖提取工艺的研究[J].中草药,2019,50(7):1610-1613
- YU Miao, WANG Bing, FU Ye-shan, et al. Research on extraction technology of polysaccharides from *Acanthopanax senticosus* waste residue by response surface methodology [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2019, 50(7): 1610-1613
- [14] 陈敬,温庆果,刘韶,等.正交设计与响应面法优化壳聚糖对莲子心提取液除杂工艺对比研究[J].中草药,2012,43(11): 2183-2188
- CHEN Jing, WEN Qing-guo, LIU Shao, et al. Optimization for purifying technology of *Nelumbinis Plumula* extract with chitosan by comparison of orthogonal design and response surface method [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(11): 2183-2188
- [15] 蒋蕾,林美珠,茹巧美,等.莲子皮渣中酚类物质的提取优化及抗氧化活性评价[J].现代食品科技,2019,35(4):198-208, 263
- JIANG Lei, Jarukitt Limwachiranon, RU Qiao-mei, et al. Extraction optimization and antioxidant activity of phenolic compounds from lotus seed epicarp residue [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(4): 198-208, 263
- [16] 孙克奎.花椒油素的纯化和鉴定[J].现代食品科技,2015, 31(1):137-141
- SUN Ke-kui. Purification and identification of xanthoxylin [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(1): 137-141

---

(上接第 112 页)

- [35] Hess B, Ke D, Kader A A. Changes in intracellular PH, ATP, and glycolytic enzymes in 'hass' avocado in response to low O<sub>2</sub> and high CO<sub>2</sub> stresses[A]. In Proc 6th Intl Contr Atmosphere Res Conf [C]. NARRAES-71, Cornell Univ, Ithaca NY, 1993: 1-9
- [36] Roberts J K M, Chang K, Webster C, et al. Dependence of ethanolic fermentation, cytoplasmic PH regulation and viability on the activity of alcohol dehydrogenase in hypoxic maize root tips [J]. Plant Physiology, 1989, 89(4): 1275-1278
- [37] 李盼盼,钟雨,戚雯焱,等.美味猕猴桃'布鲁诺'果实贮藏过程中乙醇代谢与挥发性成分的变化[J].果树学报,2016,33(7):865-873
- LI Pan-pan, ZHONG Yu, QI Wen-ye, et al. Changes in ethanol fermentation metabolism and volatile metabolites in kiwifruit 'Bruno' during storage at room and low temperature [J]. Journal of Fruit Science, 2016, 33(7): 865-873
- [38] 宋倩倩.1-MCP 处理对称猕猴桃采后果实品质及乙醇和 GABA 代谢的影响[D].杭州:浙江工商大学,2019
- SONG Qian-qian. Effects of 1-MCP treatment on fruit quality associated with ethanol metabolism and GABA-shunt in kiwi fruit storage at room temperature [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2019
- [39] 宋夏钦.草酸处理对猕猴桃采后果实品质的调控作用研究[D].杭州:江工商大学,2012
- SONG Xia-qin. Effect of oxalate treatment on postharvest fruit quality of kiwi fruit [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2012