

尹爱国,刘兴龙,周 天,等.荔枝果核精油超临界 CO₂ 萃取工艺及其成分研究[J].江苏农业科学,2019,47(23):212-216.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.23.051

荔枝果核精油超临界 CO₂ 萃取工艺及其成分研究

尹爱国,刘兴龙,周 天,黄迎娣,刘杰凤

(广东石油化工学院,广东茂名 525000)

摘要:以荔枝果核为材料,考察萃取压力、萃取温度、解析温度对超临界 CO₂ 流体萃取荔枝果核精油提取量的影响。在此基础上,利用响应面优化果核精油提取的最佳工艺为萃取压力 20.09 MPa、萃取温度 41.50 ℃、解析温度 45.03 ℃,此时精油提取量的最大值为 1.34 g,提取率为 2.68%。同时利用气相色谱-串联质谱(GC-MS)对精油成分进行初步的定性和定量分析,发现其含有 26 种化合物,主要成分为醇、脂肪酸、酯、烷烃类及烯类化合物,其中醇类、烯类化合物是其主要成分,含量分别约为 45%、25%。

关键词:荔枝果核;超临界 CO₂ 流体萃取;精油;响应面;GC-MS;定性;定量

中图分类号: TQ420.6⁺6;TS255.36 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)23-0212-05

荔枝为“南国四大果品”之一^[1],为无患子科植物,其种类繁多,主要分布于热带、亚热带地区。在我国主要分布在两广、福建地区^[2]。因其具有丰富的营养价值及滋补和药用价值而深受人们喜爱^[3-4]。近年来,随着荔枝种植面积的扩增,其产量迅速升高,荔枝的深加工规模也逐步扩大,同时也使荔枝果核堆积如山,但一直没有得到合理的利用或者加工处理^[2]。近期有研究表明,荔枝果核富含多种生理活性物质,为温性药材,具有很高的药用价值^[3]。除此之外,荔枝果核提取物还具有抑菌的效果^[2]。但对荔枝果核精油的提取及其成分分析一直鲜有报道。

植物精油是植物体的次生代谢产物,化学成分较为复杂,因其有美容护肤、健体等特点,被广泛应用于医疗保健、生物化工、食品工业等领域^[5-6]。植物精油的提取有多种手段,传统的溶剂浸提法和一些新型的提取法,如超临界 CO₂ 流体萃取法(SFE)、超声波萃取法、微波萃取法等^[6-7]。其中超临界 CO₂ 流体萃取技术是近 50 年来发展出现的一种新的提取分离技术,其原理是在低温无氧环境下,利用超临界流体 CO₂ 为萃取剂提取样品中的有效成分,适合用于提取脂溶性、高沸点、热敏性的样品。同时萃取剂无毒,且回收方便,便于去除,方便便捷^[8]。

目前,国内对于植物精油的研究仍停留在细胞水平和单一性能上,无法对有效成分的具体作用给出正确的结论,且对植物精油的临床应用及生产应用相对薄弱^[5]。气相色谱-串联质谱(GC-MS)是目前联用技术中较为精确的一种分析仪器,可准确地分离样品中的各种有效成分,并进行定性和定量分析^[9-11]。本研究主要通过响应面法优化超临界 CO₂ 流

体萃取荔枝果核精油的工艺条件,并通过 GC-MS 分析荔枝果核精油中的有效化学成分,以期为加强荔枝果核的开发利用和深加工奠定坚实的研究基础,为植物精油的进一步综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料与试剂 新鲜荔枝采于广东省茂名市化州市荔枝园,品种名为黑叶。

柠檬酸、氯化钠、碳酸钠、大孔树脂、无水乙醇、正己烷均为化学分析纯试剂,购自天津光复精细化工有限公司。

1.1.2 仪器与设备 GZX-9070MBE 电热鼓风干燥箱,购自上海博讯实业有限公司医疗设备厂;JJ224BC 型电子天平,购自常熟市双杰测试仪器厂;国家标准检验筛(30、60 目),购自浙江飞达金属筛网厂;XFB-200 高速中药粉碎机,购自吉首市中诚制药机械厂;HA120-50-01 超临界萃取装置,购自江苏南通华安超临界萃取有限公司;GC-MS-QP2010 Plus,购自日本岛津公司;MB23 红外线水分测定仪,购自昆山巨天仪器设备有限公司。

1.2 方法

1.2.1 荔枝果核的预处理 荔枝去除果肉后,将果核置于含有 2% Na₂CO₃、1% 柠檬酸和 2% NaCl 的混合溶液中浸泡 2 min,用蒸馏水反复淘洗去表面含有的荔枝果肉残留物^[5]。将洗净的果核放入烘箱中,40 ℃热风烘烤,烘干至恒质量,取出自然冷却,常温储存备用^[12]。

1.2.2 荔枝果核的粉碎过筛 将常温储存备用的荔枝果核放入中药粉碎机中粉碎成干粉,过 30 目(孔径 0.6 mm)和 60 目(孔径 0.3 mm)的筛子,取颗粒大小在 0.3~0.6 mm 之间的荔枝核粉装袋并放入储物柜中待用。

1.2.3 荔枝果核精油提取工艺的单因素试验 准确称取 50 g 荔枝果核粉(干基),以萃取温度 40 ℃、萃取压力 20 MPa、解析温度 44 ℃、解析压力 5.5 MPa 为基本萃取条件,考察各单因素对荔枝果核精油提取率的影响,以明确最佳萃

收稿日期:2018-09-15

基金项目:广东省科技计划(编号:2014B090908007、2016A020227005);广东高校果蔬加工与贮藏工程技术开发中心(编号:2012gcxhB001)。

作者简介:尹爱国(1975—),男,湖北麻城人,博士,副教授,主要从事食品生物技术方面的研究。E-mail:240523958@qq.com。

取参数范围。各单因素变动设置如下:萃取温度为 36、38、40、42、44 ℃;萃取压力为 18、19、20、21、22 MPa;解析温度为 40、42、44、46、48 ℃;解析压力为 4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 MPa。

1.2.4 响应面法优化提取方法的试验设计 为了求出更优的荔枝果核精油提取的工艺条件,根据中心组合设计原理,在单因素试验的基础上,选取萃取温度(A,℃)、萃取压力(B,MPa)和解析温度(C,℃)为参试因子,以果核精油提取量(Y,g)为评价指标,设计3因素3水平的响应面分析方法,具体的试验设计如表1所示。

表1 响应面分析法的因素与水平

水平	因素		
	A:萃取温度(℃)	B:萃取压力(MPa)	C:解析温度(℃)
1	41	21	45
0	40	20	44
-1	39	19	43

1.2.5 荔枝果核精油的化学成分鉴定 按照最佳萃取工艺萃取荔枝果核精油,得到的挥发油用正己烷溶解,然后用50%乙醇混融、静置,取上清,用GC-MS进行鉴定分析。GC-MS色谱条件^[13]:HP-5 MS色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),进样口温度220 ℃,接口温度280 ℃。柱温:起始温度60 ℃,以10 ℃/min升至150 ℃,保留1 min,再以5 ℃/min升至280 ℃,保留4 min。载气:99.999%氦气。样品进样量为1 μL。质谱条件:接口温度为280 ℃;四极杆温度为150 ℃;离子源温度为230 ℃;溶剂延迟时间为2 min;电离方式为电子电离(electron ionization,简称EI)源;电离能量为70 eV;全扫描方式。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 萃取温度对荔枝果核精油提取量的影响 如图1所示,荔枝果核精油提取量随着萃取温度的升高先增加后下降,萃取温度为40 ℃时的提取量最高。萃取温度低于40 ℃时,果核精油提取量随温度的升高而增加;而高于40 ℃时,随温度的升高而减少。可能是因为萃取温度对果核精油提取量的影响有正效应和负效应2种作用。萃取温度增加,物料中溶质的压力增加,有利于提高果核精油的提取量,称之为正效应;同时萃取温度的增加,也可使超临界CO₂流体的密度降低,使果核精油提取量降低,称之为负效应。因此,对于超临界CO₂流体萃取荔枝果核精油的工艺,在萃取温度低于40 ℃时,温度对果核精油提取量影响的正效应起主要作用;在萃取温度高于40 ℃时,温度对果核精油提取量影响的负效应起主要作用,温度为40 ℃时有最高的提取量。

2.1.2 萃取压力对荔枝果核精油提取量的影响 萃取压力对于果核精油提取量来说是一个非常重要又较为复杂的因素,萃取压力对超临界状态下CO₂流体的密度、黏度、扩散系数等物理性质的影响非常大,随着萃取压力的增加,会使CO₂流体密度增加,会提高果核精油的溶解效果,从而提高精油提取量。但在萃取压力持续增加的同时,又使CO₂流体黏度增加,扩散系数也会降低,果核精油的提取量降低。如图2所示,荔枝果核精油提取量随着萃取压力的升高先增加后下降,

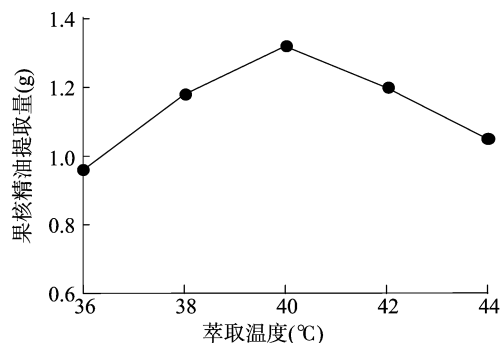


图1 萃取温度对果核香精油提取量的影响

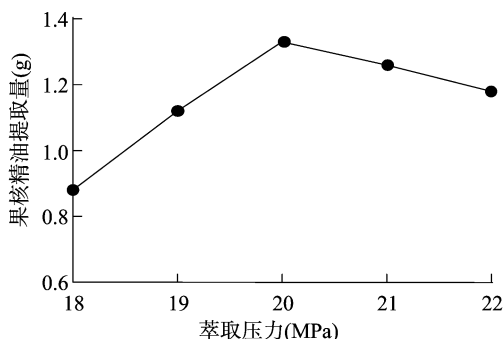


图2 萃取压力对果核精油提取量的影响

萃取压力为20 MPa时提取量最高。当萃取压力在20 MPa以下时,随着萃取压力的增加,CO₂流体密度也随之增加,提高了果核精油的溶解度,精油提取量伴随压力的增加而增加。当压力大于20 MPa时,CO₂流体黏度和扩散系数的变化明显,此时与萃取压力呈负相关关系,精油提取量伴随压力的增加而降低,因此,在萃取压力为20 MPa时有最高的精油提取量。

2.1.3 解析温度对荔枝果核精油提取量的影响 如图3所示,荔枝果核精油提取量随着解析温度的升高先增加后下降,解析温度为44 ℃时,提取量最高,解析温度低于44 ℃时,果核精油提取量随温度的升高而增加;而解析温度高于44 ℃,果核精油提取量随温度的升高而减小。可能是由于解析温度适度地升高将降低超临界CO₂流体对溶质的溶解能力,有利于解析;但解析温度过高时,溶质的承受压力升高,挥发量增加,不利于提高果核精油提取量。

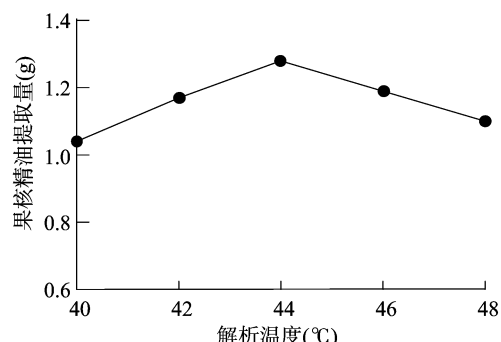


图3 解析温度对果核精油提取量的影响

2.1.4 解析压力对荔枝果核精油提取量的影响 如图4所示,当储罐压力较大时,解析压力也较大,所以选取解析压力分别为4.5、5.0、5.5、6.0、6.5 MPa的条件进行超临界萃取试

验,得出荔枝果核精油提取量分别为 1.29、1.30、1.33、1.31、1.30 g,说明解析压力在 4.5~6.5 MPa 的范围内对荔枝果核精油提取量的影响不大,故在后续响应面分析法中将不再考虑。

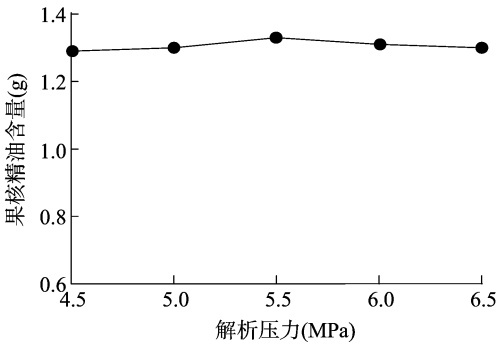


图4 解析压力对果核精油提取量的影响

2.2 超临界 CO₂ 萃取荔枝果核精油工艺条件的响应面优化

为了求出更优的荔枝果核精油萃取工艺条件,根据中心组合设计原理,在单因素试验的基础上,选取萃取温度、萃取压力和解析温度为参试因子,以果核精油提取量(*Y*,g)为评价指标,设计 3 因素 3 水平的响应面分析方法,共 17 个试验点,其中编号 1~12 为析点,即自变量 *A*、*B* 和 *C* 所构成的三维顶点;编号 13~17 为零点,即区域的中心点,重复试验,用以估算试验误差。响应面试验结果见表 2。

2.2.1 回归方程的建立 利用 Design Expert 8.0.6 统计分析软件对表 2 的试验结果进行回归分析,得到方差分析结果(表 3)和二次回归方程:

$$Y = 1.31 + 0.048 \times A + 0.13 \times B + 0.032 \times C - 7.500 \times$$

$$10^{-3} \times A \times B - 0.032 \times A \times C - 2.500 \times 10^{-3} \times B \times C - 0.065 \times A^2 - 0.21 \times B^2 - 0.13 \times C^2。$$

由表 3 可知,二次回归模型的 *F* 值为 49.85, *P*<0.000 1,极显著,且 *R*²=0.964 9, *R*_{Adj}²=0.845 5,说明该模型与实际结果相拟合,并且检验结果显著;失拟项 *F* 值为 1.90, *P*=0.270 2(*P*>0.05), *R*=0.984 6。由此可见,该模型的拟合程度比较好,适用于荔枝果核精油的提取分析与计算。由 *F* 值可看出,各单因素对荔枝果核精油提取率的影响顺序为 *B*>*A*>*C*,即萃取压力>萃取温度>解析温度。

表 2 响应面试验结果

试验号	A	B	C	Y
1	1	1	0	1.18
2	1	-1	0	0.96
3	-1	1	0	1.12
4	-1	-1	0	0.87
5	1	0	1	1.19
6	1	0	-1	1.16
7	-1	0	1	1.14
8	-1	0	-1	0.98
9	0	1	1	1.13
10	0	1	-1	1.10
11	0	-1	1	0.84
12	0	-1	-1	0.80
13	0	0	0	1.30
14	0	0	0	1.32
15	0	0	0	1.34
16	0	0	0	1.27
17	0	0	0	1.33

表 3 回归方程各项的方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
模型	0.480	9	0.053	49.850	<0.000 1
<i>A</i>	0.018	1	0.018	16.893	0.045 0
<i>B</i>	0.140	1	0.140	131.441	<0.000 1
<i>C</i>	8.450×10 ⁻³	1	8.450×10 ⁻³	7.912	0.026 1
<i>AB</i>	2.250×10 ⁻⁴	1	2.250×10 ⁻⁴	0.210	0.660 2
<i>AC</i>	4.225×10 ⁻³	1	4.225×10 ⁻³	3.951	0.087 1
<i>BC</i>	2.500×10 ⁻⁵	1	2.500×10 ⁻⁵	0.023	0.882 7
<i>A</i> ²	0.018	1	0.018	16.522	0.004 8
<i>B</i> ²	0.190	1	0.190	181.724	<0.000 1
<i>C</i> ²	0.071	1	0.071	66.342	<0.000 1
残差	7.480×10 ⁻³	7	1.069×10 ⁻³		
失拟项	4.400×10 ⁻³	3	1.467×10 ⁻³	1.901	0.270 2
误差	3.080×10 ⁻³	4	7.700×10 ⁻⁴		
总和	0.490	16			
<i>R</i> =0.984 6, <i>R</i> ² =0.964 9, <i>R</i> _{Adj} ² =0.845 5					

注:*P*<0.05 表示显著, *P*<0.01 表示极显著。

2.2.2 响应面及等高线分析 由回归模型转换并作出各个因素之间交互作用的响应面图,考察所拟合的响应面形状,分析萃取压力、萃取温度和解析温度对荔枝果核精油提取量的影响,其响应面 3D 图和等高线图见图 5 至图 7。

图 5 显示了解析温度为 0 水平时,萃取压力和萃取温度

交互作用对荔枝果核精油提取量的影响。综合响应面图和等高线图可以看出,萃取压力上升的幅度比萃取温度稍大,说明萃取压力对荔枝果核精油提取量的影响较萃取温度稍大。

图 6 显示了萃取压力为 0 水平时,萃取温度和解析温度交互作用对荔枝果核精油提取量的影响。综合响应面图和等

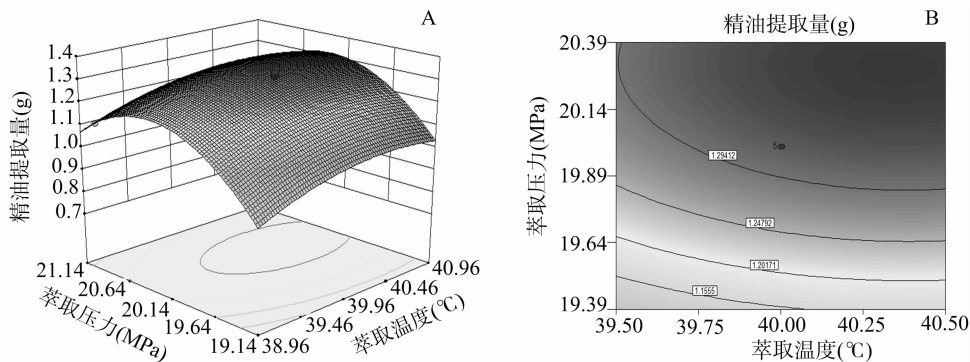


图5 萃取压力和萃取温度对荔枝果核精油提取量的响应面图(A)和等高线(B)

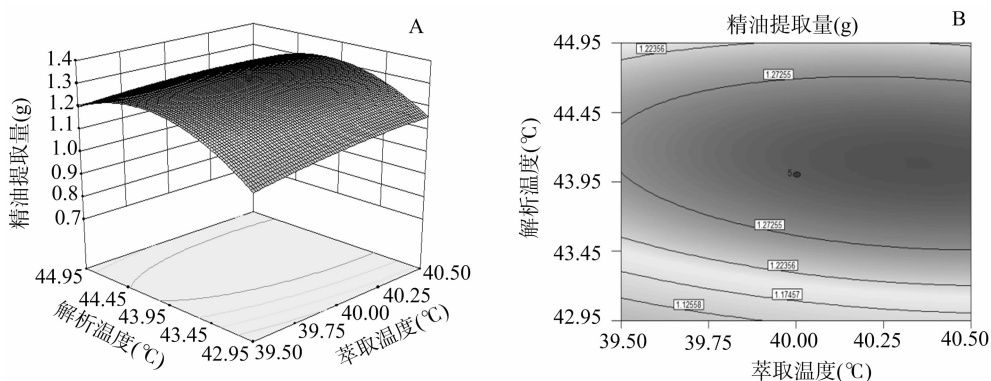


图6 解析温度和萃取温度对荔枝果核精油提取量的响应面图(A)和等高线(B)

高线图可以看出,解析温度上升的幅度比萃取温度稍大,说明解析温度对荔枝果核精油提取量的影响比萃取温度稍大。

图7显示了萃取温度为0水平时,解析温度和萃取压力

交互作用对荔枝果核精油提取量的影响。综合响应面图和等高线图可以看出,解析温度和萃取压力的交互作用较弱。

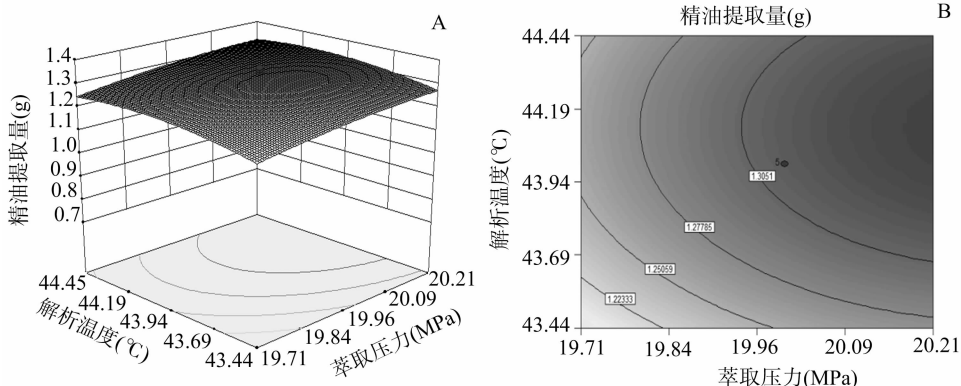


图7 解析温度和萃取压力对荔枝果核精油提取量的响应面图(A)和等高线(B)

对回归方程求解可得,当 $A = 41.50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $B = 20.09\text{ MPa}$ 、 $C = 45.03\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,即萃取压力为 20.09 MPa 、萃取温度为 $41.50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、解析温度为 $45.03\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,荔枝果核精油提取量有最大值,为 1.34 g ,提取率为 2.68% 。

2.3 荔枝果核精油化学成分的鉴定

利用 GC-MS 对荔枝果核精油进行成分分析,发现荔枝果核精油含有 26 种化学成分(图 8)。通过数据库检索与质谱标准图谱的核对,如表 4 所示,明确了这 26 种化合物,其主要成分为醇、脂肪酸、酯、烷烃类以及烯类化合物,其中醇类、烯烃类化合物是其主要成分,含量分别约为 45% 、 25% ,其他

化合物含量较少。

3 结论与讨论

本研究通过单因素试验和中心组合设计探讨了超临界 CO_2 流体萃取中萃取温度、萃取压力和分析温度对荔枝果核精油提取量的影响,并利用响应面分析法建立了超临界 CO_2 流体萃取荔枝果核精油提取量的二次多项数学模型,并且检验证明模型是合理可靠的。利用模型的响应面图对影响超临界萃取荔枝果核精油提取量的关键因素及其相互作用进行了探讨。得到了超临界萃取荔枝果核精油的最佳工艺:萃取压

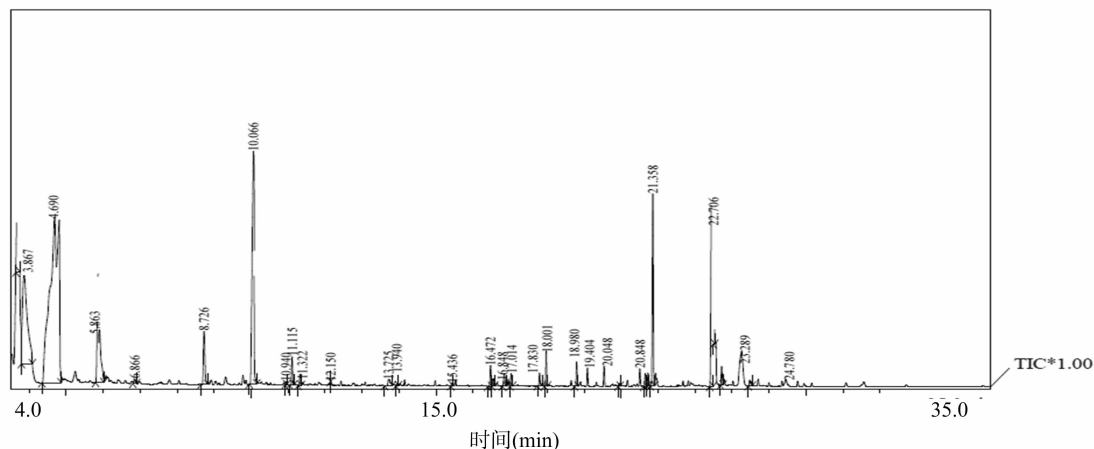


图8 荔枝果核萃取物总离子色谱

表 4 荔枝果核萃取物中挥发性成分鉴定结果

序号	保留时间 (min)	百分比 (%)	名称	化学式
1	3.867	8.82	1,3-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂
2	4.690	12.02	2,3-丁二醇	C ₄ H ₁₀ O ₂
3	5.863	4.81	1,1-二乙氧基乙烷	C ₆ H ₁₄ O ₂
4	6.866	0.41	丁内酯	C ₄ H ₆ O ₂
5	8.726	4.77	苯甲醇	C ₇ H ₈ O
6	10.066	16.62	苯乙醇	C ₈ H ₁₀ O
7	10.940	0.22	苯甲酸	C ₇ H ₆ O ₂
8	11.115	2.00	1,1-二丁氧基乙烷	C ₁₀ H ₂₂ O
9	11.322	0.43	百里酚	C ₁₀ H ₁₄ O
10	12.150	1.19	对羟基苯甲醛	C ₇ H ₆ O ₂
11	13.725	0.87	trans-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄
12	13.940	0.90	β-榄香烯	C ₁₅ H ₂₄
13	15.436	0.89	3-苯基-2-丙烯酸	C ₉ H ₈ O ₂
14	16.472	1.58	β-石竹烯	C ₁₄ H ₂₂
15	16.848	0.57	α-雪松烯	C ₁₅ H ₂₄
16	17.014	0.96	姜黄烯	C ₁₅ H ₂₂
17	17.830	1.01	2,4-二叔丁基苯酚	C ₁₄ H ₂₂ O
18	18.001	3.05	α-甜旗烯	C ₁₅ H ₂ O
19	18.980	2.12	斯巴醇	C ₁₅ H ₂₄ O
20	19.404	1.91	香树烯	C ₁₅ H ₂₄
21	20.048	2.03	杜松醇	C ₁₅ H ₂₆ O
22	20.848	1.59	十八烷	C ₁₈ H ₃₈
23	21.358	14.66	β-绿叶烯	β-C ₁₅ H ₂₄
24	22.706	13.14	棕榈酸乙酯	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
25	23.289	3.11	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
26	24.780	0.32	己二酸二异辛酯	C ₂₂ H ₄₂ O ₄

力为 20.09 MPa、萃取温度为 41.50 ℃、解析温度为 45.03 ℃,荔枝果核精油提取量有最大值,为 1.34 g,提取率为 2.68%。与其他报道中关于超临界萃取荔枝果核精油的最佳工艺条件^[13]基本一致,但精油提取率偏低,可能与本研究所选用的荔枝品种、产地有关。

另外利用 GC-MS^[14-15]对荔枝果核精油化学成分进行了鉴定,结果显示荔枝果核精油中共有 26 种化合物,其主要成分为醇、脂肪酸、酯、烷烃类以及烯类化合物,其中醇类、烯

烃类化合物占其主要成分,含量分别约为 45%、25%,其他化合物含量较少。这些结果有利于荔枝果核的进一步开发利用和深加工,且荔枝果核精油的明确将为植物精油的进一步综合利用提供理论依据。

参考文献:

[1]陈玲,刘志鹏,施文兵,等.荔枝核与荔枝膜挥发油的 GC/MS 分析[J].中山大学学报(自然科学版),2005,44(2):53-56.

[2]侯美珍,卢习刚,韦红群,等.荔枝果皮和果核提取物对植物病原菌的抑菌作用[J].广西植保,2006,19(2):2-4.

[3]屠鹏飞,罗青,郑俊华.荔枝核的化学成分研究[J].中草药,2002,33(4):300-301.

[4]中华人民共和国卫生部药典委员会.中华人民共和国药典[M].北京:化学工业出版社,1985.

[5]陈建烟,李永裕,吴少华.植物精油生物活性作用机理研究进展[J].天然产物研究与开发,2012,24(9):1312-1318,1322.

[6]杨君,张献忠,高宏建,等.天然植物精油提取方法研究进展[J].中国食物与营养,2012,18(9):31-35.

[7]王增祥,沈沛锋.天然植物精油提取方法研究进展[J].乡村科技,2014(4):164-165.

[8]李天祥,王静康.超临界 CO₂ 流体萃取技术在天然物提取上的研究进展[J].天津大学学报(自然科学与工程技术版),2002,35(4):417-424.

[9]陈晓水,侯宏卫,边照阳,等.气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)的应用研究进展[J].质谱学报,2013,34(5):308-320.

[10]冼继东,刘少兰,陈越,等.妃子笑荔枝果实不同组织挥发性物质的成分分析[J].广东农业科学,2014,41(9):39-43,47.

[11]杨芳,嵯苏,倪星,等.七里香蔷薇精油的化学成分分析[J].湖北农业科学,2016,55(10):2635-2636.

[12]赵海华,李长友,关植基.荔枝果实干燥特性试验研究[C]//北京国际食品加工及包装技术讨论会论文集,1997.

[13]饶长全,乔方,喇文军.无水乙醇夹带剂超临界 CO₂ 萃取荔枝核[J].深圳职业技术学院学报,2012,11(3):59-63.

[14]刘位芬,梁钺,苗春辉,等.顶空固相微萃取/GC-MS 分析鉴定大蜡螟雄性信息素成分[J].江苏农业科学,2018,46(4):87-89.

[15]尤莉艳,杨婷,姜辉,等.杜香挥发油提取工艺研究及成分 GC-MS 分析[J].江苏农业科学,2018,46(10):180-182.