

超临界流体萃取草果挥发油的工艺研究及成分分析

万红焱, 顾丽莉*, 刘文婷, 吕小刚

(昆明理工大学化学工程学院, 云南 昆明 650500)

摘要:以草果果实为原料, 挥发油提油率为指标, 研究超临界 CO₂ 萃取草果挥发油的分离工艺, 优选的萃取工艺为: 温度为 60℃, 压力为 30 MPa, CO₂ 流量为 25 g/min, 萃取时间为 120 min, 此条件下提油率为 5.4%。采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术对挥发油进行成分分析, 其主要成分为桉叶油素、(E)-2-癸烯醛、丙位十二内酯、4-丙基苯甲醛、2-十二烯醛等, 并首次从草果果实中分离出丙位十二内酯、亚油酸乙酯、可酮等 8 种化合物。

关键词:超临界流体萃取; 草果; 挥发油; 成分分析

中图分类号:R284

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2015)12-0096-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2015.12.025

Extraction of volatile oil from tsaoko by supercritical fluid CO₂ extraction and its component analysis

WAN Hong-yan, GU Li-li*, LIU Wen-ting, LV Xiao-gang

(College of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China)

Abstract: The volatile oil is extracted from tsaoko through supercritical fluid CO₂ extraction with oil extraction rate as the main indicator. The extraction yield can reach 5.4% under the following conditions: 60℃ of extraction temperature, 25 g/min of CO₂ flow rate, 30 MPa of pressure and 120 minutes of extraction duration. The components of the volatile oil are then analyzed by GC-MS. Its main components are 1,8-cineole, (E)-2-decenal, geranylacetate, 4-propylbenzaldehyde, etc. Among them, eight compounds, including γ -dodecalactone, ethyl linoleate, isodihydrolavandulal, and so on, are separated from the Tsaoko for the first time.

Key words: supercritical fluid CO₂ extraction; tsaoko; volatile oil; component analysis

草果又名草果子、草果仁, 系姜科豆蔻属植物草果的干燥成熟果实, 生长在亚热带多雨森林地带, 主要分布在中国的广西、云南和贵州三省, 以及越南、老挝北部的部分地区^[1]。草果具有特殊浓郁的辛辣香味, 能除腥气, 增进食欲, 是烹调佐料中的佳品, 被誉为食品调味中的“五香之一”。除了食用之外, 其药用价值也颇高, 具有燥湿健脾、温胃止痛、止呕截疟等功能, 用于寒湿内阻、脏腹胀满、呕逆、不思饮食等症^[2]。文献报道的草果挥发油的提取方法很多, 如水蒸气蒸馏法、超声波辅助萃取法、微波辅助萃取法等, 但均存在提油率不高, 有效成分遭破坏等问题, 超临界流体萃取工艺在密闭低温的操作环境下进行, 避免了有效成分与空气接触及遇高温分解氧化等弊端, 且操作过程无溶剂残留, 安全稳定^[3]。

笔者采用单因素实验法确定各因素对草果挥发油提取率的影响, 并用正交实验法对草果挥发油的提取工艺进行优化, 最后对萃取出的挥发油进行成分分析。

1 材料与实验

1.1 材料与设备

实验材料及设备如表 1 所示。

表 1 实验材料及设备

名称	型号或规格	供货商
草果		云南省怒江州泸水县
甲醇	分析纯	云南油滇药业有限公司
超临界萃取装置	SFE-500	Thar 科技公司
低温恒温槽	DC-0515	上海衡平仪器仪表厂
电子天平	BSA224S	赛多利斯科学仪器有限公司
高速多功能粉碎机	RHP-600	浙江荣浩工贸有限公司
气质联用设备	141665	费尔伯恩实业发展有限公司

1.2 实验

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取草果挥发油实验流程

将草果果实置于 40℃ 的烘箱中烘干至恒重并粉碎过筛, 用电子天平准确称取 60 g 草果粉末并放入超临界萃取装置中, 调整控制操作条件, 一定时间

收稿日期: 2015-06-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20966004)

作者简介: 万红焱(1988-), 女, 硕士生, 主要从事天然产物的分离与提纯, 452976614@qq.com; 顾丽莉(1963-), 博士, 教授, 主要从事化学工程领域研究, 通讯联系人, liligu001@163.com。

后从分离釜中取出挥发油并进行称重,计算提油率:

提油率 = (A₁/A₂) × 100%

式中,A₁ 为草果挥发油的质量(g);A₂ 为草果果实的质量(g)。

1.2.2 GC-MS 检测条件

GC 分析条件:色谱柱为 DB-5MS;载气为高纯度氦气,载气流量为 1 mL/min;进样口温度为 250℃;进样方式为分流进样,分流比为 20:1;程序升温条件:初始温度为 50℃,保持 5 min,以 2℃/min 升温至 80℃,再以 3℃/min 升温至 230℃,保持 16 min,最后以 12℃/min 升至 250℃,保持 20 min。

MS 分析条件:电离方式为 EI 离子源;离子源温度为 180℃;电离电压为 70 eV;传输线温度为 260℃;谱图检索为 WILEY、NIST 谱图数据库。

1.2.3 单因素实验

选取可能影响草果挥发油提油率的 5 个因素进行实验,各操作条件如表 2 所示。

表 2 实验变量及范围

实验序号	参数	变化范围
S-1	温度/℃	35、40、45、50、55、60
S-2	CO ₂ 流量/(g·min ⁻¹)	5、10、15、20、25、30
S-3	粉碎粒度/目	30、40、50、60、70、80
S-4	压力/MPa	10、15、20、25、30、35
S-5	萃取时间/min	30、60、90、120、150、180

(上接第 95 页)

由表 2 极差值 R 可知,正交试验所考察的 5 个因素对锆回收率的影响程度为 D > E > B > C > A。经方差分析表明,摩尔比(A)、焙烧温度(B)、焙烧时间(C)、固液质量比(D)和浸取时间(E)对锆收率的影响均有显著性影响。通过正交试验优选的锆收率最优试验为 A₄B₃C₃D₄E₃。

2 结果与讨论

(1)通过正交设计试验,碳还原法制备碳酸锆影响最大的因素是黑灰与浸取液水的质量比,其次是黑灰的浸取时间、天青石与煤的焙烧温度、焙烧时间、摩尔比。通过正交试验设计最优锆收率的试验为 A₄B₃C₃D₄E₃。重复最优试验 3 次,锆的平均收率为 76.85%。

(2)通过试验发现,浸取过程温度控制在 85℃能有效地除去黑灰中 Ca、Ba、Mg 等杂质,同时黑灰中硫化锆能较好地转化成 Sr(OH)₂ 和 Sr(SH)₂。但高温的熟料在浸取前与空气接触易发生副反应,

1.2.4 正交实验

以单因素实验结果为依据,提取率为考察指标,将粉碎干燥后的草果过 50 目筛,选用提取温度、提取压力、CO₂ 流量和提取时间 4 个对提取率影响较大的因素进行四因素三水平的正交实验。

2 实验结果及分析

2.1 草果挥发油提油率的影响因素水平筛选

2.1.1 温度对草果挥发性物质提取率的影响

温度是超临界流体萃取中重要的影响参数之一,不同温度下,溶质在超临界流体中的溶解度会有所不同,进而对提取率产生重要作用^[4],本组实验中,采用压力为 25 MPa,CO₂ 流量为 15 g/min,40 目草果粉末为 60 g,萃取时间为 60 min,温度变化情况如表 2 所示。温度对草果挥发性物质提取率的影响如图 1 所示。

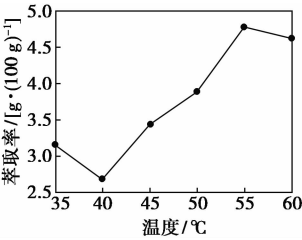


图 1 温度对提取率的影响

生成 SrSO₄ 和 SrSO₃,SrSO₄ 和 SrSO₃ 是不溶性的锆盐,可降低 SrS 的含量,导致锆收率低。所以在黑灰浸取前要避免副反应发生,黑灰直接浸取可提高锆的收率。

(3)天青石矿和还原煤摩尔比为 1:4.5,物料焙烧温度为 1 150℃,焙烧时间为 40 min,黑灰与水的质量比为 1:14,浸取时间为 150 min 为最优锆收率工艺,可为提高锆资源的利用率提供参考。

参考文献

[1] Aydogan S, Erdem oğlu M, Aras A, et al. Dissolution kinetics of celestine (SrSO₄) in HCl solution with BaCl₂ [J]. Hydrometallurgy, 2006, 84(3): 239–246.

[2] Obut A, Balz P, Girgin I. Direct mechanical conversion of celestine to SrCO₃ [J]. Minerals Engineering, 2006, 19(11): 1185–1190.

[3] 孟君, 刘够生, 王丽娟, 等. 碳还原硫酸锆反应的热力学分析 [J]. 无机盐工业, 2009, 13(41): 28–30.

[4] 张苍石. 粗制硫化锆浸取方式的探讨 [J]. 无机盐工业, 1995, (6): 37–38. ■

由图1可知,40℃之后,随着温度的升高,溶质的蒸汽压升高,溶解度上升,苹果挥发油的提取率随之升高;当温度升高至55℃时,提取率最高;但继续升高温度,CO₂的密度降低,溶剂化效应下降,提取物在其中的溶解度降低^[5],提取率反而降低。因此,选择55℃作为最佳萃取温度。

2.1.2 CO₂流量对苹果挥发性物质提取率的影响

在一定范围内,溶剂流量的增加,超临界流体与提取物的传质推动力加大,增加了提取物与溶剂的碰撞几率,传质过程加强,提取物收率增加;但流速过大,超临界流体在萃取罐中的停留时间过短,其与提取物的接触时间缩短,不利于传质过程的深入^[6],本组实验中的CO₂流量如表2所示,其他条件为:温度为55℃,压力为25 MPa,40目苹果粉末为60 g,萃取时间为60 min,CO₂流量对苹果挥发性物质提取率的影响如图2所示。

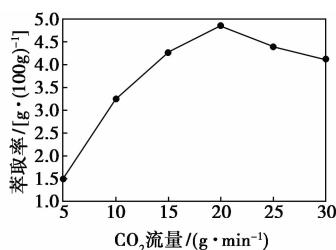


图2 CO₂流量对提取率的影响

由图2可知,挥发油的提取率随着CO₂流量的升高而升高,当流量达到20 g/min时,继续加大CO₂流量,提取率反而下降,所以选择20 g/min为最佳CO₂流量。

2.1.3 粉碎粒度对苹果挥发性物质提取率的影响

萃取温度为55℃,压力为25 MPa,CO₂流量为20 g/min,苹果粉末的质量为60 g,萃取时间为60 min,颗粒粒径如表2所示,粉碎粒度对苹果挥发性物质提取率的影响如图3所示。

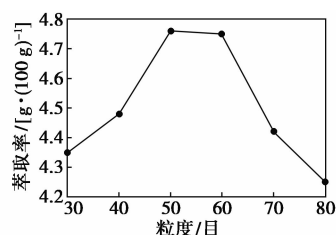


图3 粉碎粒度对提取率的影响

由图3可知,在一定范围内,提取率随着粉碎粒度的减小而增大,当粒度过小时,提取率有所下降。粉碎粒度的减小使得苹果粉末的比表面积增大,与

超临界流体的接触面积加大,有利于提取物溶解于超临界CO₂流体中;但粒度过小,颗粒发生团聚,反而不利挥发油溶出,且容易造成管路堵塞,使萃取过程变得不稳定^[7],因此,选择苹果粉碎粒度为50目。

2.1.4 压力对苹果挥发性物质提取率的影响

压力是超临界流体萃取中一个尤为重要的参数,本组实验中,萃取温度为55℃,CO₂流量为20 g/min,50目苹果粉末为60 g,萃取时间为60 min,压力变化如表2所示,压力对苹果挥发性物质提取率的影响如图4所示。

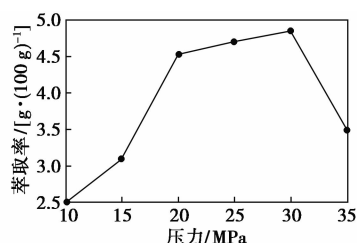


图4 压力对提取率的影响

由图4可知,随着压力的升高,提取率增加。压力增大,萃取流体的密度增大,溶质的溶解度增大,压力为30 MPa时提取率最高;但继续增大压力,CO₂的扩散系数减小,导致溶解度降低,当其影响大于CO₂的密度增大的影响时,提取率会下降^[8]。所以,选择适宜压力为30 MPa。

2.1.5 提取时间对苹果挥发性物质提取率的影响

萃取温度为55℃,CO₂流量为20 g/min,压力为30 MPa,50目苹果粉末为60 g,萃取时间如表2所示,提取时间对苹果挥发性物质提取率的影响如图5所示。

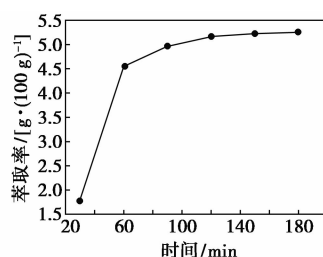


图5 提取时间对提取率的影响

由图5可知,随着时间的增加,挥发油提取率升高。当提取时间超过120 min后,提取率增幅不大。考虑操作成本,选萃取时间为120 min。

2.2 正交实验结果分析

正交实验方案及结果如表3所示。

通过分析正交实验结果可知,极差 $R(A) > R(D) > R(C) > R(B)$,即萃取温度对苹果挥发油的

表 3 $L_9(3^4)$ 正交实验方案及结果

序号	温度(A)/ ℃	CO ₂ 流量(B)/ (g·min ⁻¹)	压力(C)/ MPa	时间(D)/ min	提取率/ %
1	50	15	25	90	4.00
2	55	20	25	120	4.50
3	60	25	25	150	4.83
4	50	20	30	150	4.67
5	55	25	30	90	4.50
6	60	15	30	120	5.03
7	50	25	35	120	3.67
8	55	15	35	150	2.50
9	60	20	35	90	2.85
K_1	4.443	4.113	3.843	3.783	
K_2	4.733	3.833	4.400	4.400	
K_3	3.007	4.237	4.333	4.000	
R	1.726	0.404	0.490	0.617	

提取率影响最大,其次是萃取时间、萃取压力和 CO₂ 流量。以提油率为目标的最佳操作条件为: $A_3B_3C_4D_2$, 即萃取温度为 60℃, CO₂ 流量为 25 g/min, 萃取压力为 30 MPa, 萃取时间为 120 min。

2.3 最佳提取工艺条件验证结果

按上述 $A_3B_3C_4D_2$ 操作条件进行超临界流体萃取草果挥发油实验 3 次, 结果如表 4 所示。

表 4 验证性实验结果

实验号	1	2	3
提取率/%	5.5	5.33	5.37

由表 4 可知, 用正交优化后的实验条件进行实验, 得到的提取率均高于上述正交表中各实验值, 且 3 次平行实验提取率相差不大, 平均值为 5.4%, 说明此超临界流体萃取草果挥发油操作稳定可靠。

2.4 气相色谱-质谱联用结果及分析

草果挥发油的总离子色谱图如图 6 所示, 所得各组分的质谱数据采用 WILEY、NIST 谱图数据库进行检测, 并结合相关文献确定挥发油成分, 采用面积

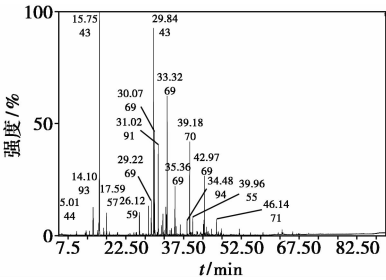


图 6 草果挥发油的总离子色谱图

归一法计算了各有效成分的质量分数, 结果如表 5 所示。

表 5 草果挥发油的 GC-MS 成分分析

序号	停留时 间/min	有效成分	分子式	质量分 数/%
1	9.836	α -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.25
2	12.065	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	0.15
3	12.290	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.30
4	13.181	月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	0.26
5	14.104	α -水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	2.42
6	14.212	萹烯	C ₁₀ H ₁₆	0.06
7	15.283	p-伞花烃	C ₁₀ H ₁₄	0.32
8	15.583	双戊烯	C ₁₀ H ₁₆	1.01
9	15.748	1,8-桉叶油素	C ₁₀ H ₁₈ O	17.29
10	16.864	(E)- β -罗勒烯	C ₁₀ H ₁₆	0.50
11	17.590	2-辛烯醛	C ₈ H ₁₄ O	0.17
12	18.305	(1 α ,2 β ,5 α)-2-甲基-5-(1-甲基 乙基)双环[3.1.0]己烷-2-醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.26
13	20.467	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.21
14	24.695	α -松油醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.21
15	25.253	4-萜烯醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.16
16	26.127	丙酸芳樟酯	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	1.60
17	26.517	4-亚甲基-1-(1-甲基乙基)-(1S, 3R,5S)-双环[3.1.0]己烷-3-醇	C ₁₀ H ₁₆ O	0.05
18	26.907	癸醛	C ₁₀ H ₂₀ O	0.11
19	27.238	(Z)-2-癸烯-1-醇	C ₁₀ H ₂₀ O	0.13
20	27.831	2-氧杂二环[2.2.2]辛-6-醇, 1,3,3-三甲基	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.10
21	28.499	(Z)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	C ₁₀ H ₁₆ O	1.99
22	29.217	香叶醇	C ₁₀ H ₁₈ O	2.22
23	29.837	(E)-2-癸烯醛	C ₁₀ H ₁₈ O	13.83
24	30.075	(E)-3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	C ₁₀ H ₁₆ O	6.57
25	30.170	(E)-2-癸烯醇	C ₁₀ H ₂₀ O	0.20
26	30.725	(R)-氧化柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆ O	0.22
27	31.016	4-丙基苯甲醛	C ₁₀ H ₁₂ O	6.36
28	32.527	2-氧杂二环[2.2.2]辛-6-醇, 1,3,3-三甲基	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.33
29	32.990	4-羟基-2-金刚烷酮	C ₁₀ H ₁₄ O ₂	1.97
30	33.080	紫苏醇	C ₁₀ H ₁₆ O	1.18
31	33.310	丙位十二内酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	8.74
32	33.908	可可醛	C ₁₀ H ₁₈ O	0.06
33	34.063	2-苯基丁醛	C ₁₀ H ₁₂ O	0.30

续表

序号	停留时间/min	有效成分	分子式	质量分数/%
34	34.468	3,5,5-三甲基己基丙烯酸酯	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.45
35	34.851	α -甲基肉桂醛	C ₁₀ H ₁₀ O	0.10
36	35.364	乙酸香叶酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	4.12
37	35.905	2,3-蒎烷二醇	C ₁₀ H ₁₈ O ₂	0.10
38	36.365	(Z,Z)-3,6-壬二烯醛	C ₉ H ₁₄ O	0.07
39	36.730	2-癸烯-1-醇	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.64
40	38.477	马鞭烯醇	C ₁₀ H ₁₆ O	1.00
41	38.679	(+)-香橙烯	C ₁₅ H ₂₄	0.08
42	39.180	2-十二烯醛	C ₁₂ H ₂₂ O	5.93
43	39.603	大根香叶烯	C ₁₅ H ₂₄	0.17
44	39.960	10-十一烯醛	C ₁₁ H ₂₀ O	1.03
45	41.229	(R)-氧化柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆ O	0.29
46	42.037	1-((Z)-3-乙氧基-1-丙烯基)-1-环己烯	C ₁₁ H ₁₈ O	0.41
47	42.257	2,6-二甲基-1,5,7-辛三烯-3-醇	C ₁₀ H ₁₆ O	0.06
48	42.512	2-壬炔-1-醇	C ₉ H ₁₆ O	0.07
49	42.738	2-八氢茛酮	C ₉ H ₁₄ O	0.76
50	42.965	橙花叔醇	C ₁₅ H ₂₆ O	3.88
51	43.226	(E)-2-癸烯醇	C ₁₀ H ₂₀ O	0.13
52	43.581	(E)-1-萘胺,n-2-丁烯基	C ₁₄ H ₁₅ N	0.49
53	44.281	4-环辛烯-1-羧基醛	C ₉ H ₁₄ O	0.11
54	44.804	(E)-2-癸烯-1-醇,1-乙酸盐	C ₁₂ H ₂₂ O ₂	0.40
55	46.136	3-乙氧基-3,7-二甲基-1,6-辛二烯	C ₁₂ H ₂₂ O	1.10
56	46.649	二环[3.3.1]壬烷-2,9-二醇	C ₉ H ₁₆ O ₂	0.28
57	47.209	2-十二烯醛醇	C ₁₂ H ₂₂ O	0.14
58	47.414	2-十五烷-1-醇	C ₁₅ H ₂₈ O	0.42
59	62.146	异胡薄荷醇	C ₁₀ H ₁₈ O	0.18
60	63.155	亚油酸乙酯	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	0.30
61	63.375	十八碳-9-烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	0.13
62	65.909	合金欢醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.19
63	67.766	环氧十二烷	C ₁₂ H ₂₂ O	0.05
64	70.061	合金欢醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.09

3 结论

通过单因素实验分析和正交试验优化,得出超临界 CO₂ 流体萃取草果挥发油的最佳操作条件为:萃取温度为 60℃,CO₂ 流量为 25 g/min,压力为 30 MPa,时间为 120 min,采用此操作条件重复实验 3 次,得到提油率的平均值为 5.4%,高于目前相关文献报道^[9-11]。采用 GC-MS 对草果挥发油进行成分分析,共鉴定出 64 种有效成分,其中主要成分为桉叶油素、(E)-2-癸烯醛、丙位十二内酯、4-丙基苯甲醛、2-十二烯醛等,并首次从草果果实中分离出丙位十二内酯、可可醛、亚油酸乙酯等 8 种化合物。

参考文献

- [1] 徐国钧. 常用中药材品种整理和研究(第三册)[M]. 福州:福建科学技术出版社,1997.
- [2] 高嘉俊,王洪图. 草果古今药方纵横[J]. 天津中医药,2007,24(1):15-18.
- [3] de Melo M M R, Silvestre A J D, et al. Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: Applications, trends and future perspectives of a convincing green technology[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2014, 92: 115-176.
- [4] Sara Rebolleda, Nuria Rubio, et al. Supercritical fluid extraction of corn germ oil: Study of the influence of process parameters on the extraction yield and oil quality[J]. The Journal of Supercritical Fluids, 2012, 72: 270-277.
- [5] 冯淑华. 药物分离纯化技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2009.
- [6] 朱自强, 蔡美强. 固体物料的超临界流体萃取[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2014.
- [7] 邓传波, 夏延斌, 等. 超临界 CO₂ 流体萃取食用级辣椒碱研究[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 135-138.
- [8] 李淑芳, 张志军, 等. 超临界 CO₂ 流体萃取食用级辣椒碱研究[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 23(B12): 137-139.
- [9] 熊将, 花儿. 正交试验优化超临界 CO₂ 提取草果挥发油工艺[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 48-51.
- [10] 陆占国, 孟大威. Clevenger 法提取草果精油的化学组成及清除 NaNO₂ 能力[J]. 天然产物研究与开发, 2013, 25: 207-211.
- [11] 杨丽娟, 张征, 等. 云南金平草果精油的微波萃取及化学成分研究[J]. 中药材, 2004, 21(11): 821-822. ■