

超临界萃取沙葱花挥发油的工艺 优化及 GC—MS 分析

Studies on volatile oil extracting process optimization by supercritical
CO₂ and analysis by GC—MS of *Allium mongolicum* Regel flowers

温俊峰^{1,2} 刘 侠¹ 高立国^{1,2} 李 睿¹

WEN Jun-feng^{1,2} LIU Xia¹ GAO Li-guo^{1,2} LI Rui¹

(1. 榆林学院, 陕西 榆林 719000; 2. 榆林市农产品深加工重点实验室, 陕西 榆林 719000)

(1. Yulin University, Yulin, Shaanxi 719000, China;

2. Yulin Key Laboratory of Deep Processing of Agricultural products, Yulin, Shaanxi 719000, China)

摘要:以野生沙葱花为原料,利用响应曲面法优化超临界 CO₂ 提取沙葱花挥发油工艺,并对挥发油进行 GC—MS 检测分析。以萃取温度、萃取压力、萃取时间为影响因素,应用 Box-Behnken 中心组合方法进行三因素三水平试验,以挥发油得率为响应值,进行响应面分析。沙葱花挥发油提取的最佳工艺条件为萃取温度 39 ℃,萃取压力 29 MPa,萃取时间 1.2 h,流速 20 L/h,挥发油得率预测值为 19.36%,验证值为 18.90%。通过 GC—MS 分析,分离出了 29 种组分,占总峰面积的 96.67%,鉴定出了 27 种化合物,其中醛类化合物 8 种共占 37.63%,芳香烃化合物共占 30.52%,姜辣素占 12.60%。

关键词:沙葱花;挥发油;超临界 CO₂ 萃取;GC—MS

Abstract: The volatile oil from the *Allium mongolicum* Regel flowers by supercritical-CO₂ fluid extraction (SFE) was optimized using response surface methodology (RSM), and the volatile oil was identified by GC—MS. The effects of the extraction pressure, extraction temperature, extraction time on the yield of volatile oil were investigated by a three-factor and three-level Box-Behnken central composite design with the extraction rate as the response value. The results showed that the optimum conditions for the extraction of *Allium mongolicum* Regel flower oil were as follows: extracting temperature 39 ℃, pressure 29 MPa, time 1.2 h, CO₂ flux 20 L/h. Under such condition, the model-predicted and experimental values of oil yield were 19.36% and 18.90%. The 29 chemical components were separated by GC—MS, which were 96.67% of the total oil, and 27 compounds of them were also identified, including 8 aldehydes

(37.63%), aromatic hydrocarbon compounds (30.52%) and Gingerol (12.60%).

Keywords: *Allium mongolicum* Regel flowers; volatile oil; supercritical-CO₂ fluid extraction; GC—MS

沙葱(*Allium mongolicum* Regel)又名蒙古韭,野葱、山葱,百合科,葱属多年生草本。主要生长于蒙古高原的荒漠草原和典型草原的沙地上,广泛分布于中国的内蒙古西北部、辽宁西部、陕西北部、宁夏北部、甘肃、青海和新疆东北部^[1]。野生沙葱所含的生物矿物质、必需微量元素和氨基酸均高于一般的蔬菜^[2],富含植物蛋白、膳食纤维和维生素等多种营养成分。沙葱不仅是西北地区独特的地方风味,还是药用植物,据记载^[3-4],沙葱地上部分可入药,能开胃、消食、杀虫,主治消化不良、不思饮食、秃疮、青腿病等,还具有降血压、降血脂等功效,被誉为“菜中灵芝”。沙葱夏季开花,花香浓郁,有辛辣味,当地居民将沙葱花晾干后用作调味品。沙葱花中含有大量的挥发油,但目前尚未见沙葱花挥发油化学组分的文献报道。

植物精油是中草药中分布较广泛的一类成分,具有抗病毒、抗菌^[5]、抗炎^[6]、抗肿瘤^[7]、驱虫、抗过敏、抗氧化等活性^[8-9]。目前挥发油提取的方法主要有水蒸气蒸馏^[10]、微波提取^[11]、超声波提取^[12]、超临界 CO₂ 萃取^[13-15]等,其中超临界 CO₂ 萃取具有操作过程工艺简单、耗时少;萃取能力强、提取率高;挥发油纯度高,组分不被破坏的优点,被广泛用于天然植物中有效组分的提取^[16-17]。

本试验拟采用超临界 CO₂ 萃取仪萃取沙葱花挥发油,利用 Box-Behnken Design 响应曲面法优化萃取条件,并通过 GC—MS 分析沙葱花挥发油的化学成分,旨在为开拓沙葱花在食品、医药等方面的应用提供理论依据。

基金项目:陕西省榆林市科技局产学研项目(编号:2015LXY21)

作者简介:温俊峰(1978—),女,榆林学院副教授,硕士。

E-mail: wenjf_72@163.com

收稿日期:2016—03—23

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

沙葱花:采自陕西省榆林市神木县;
无水硫酸钠:分析纯,天津市凯通化学试剂有限公司;
CO₂ 气体:食品级,纯度 99.9%,北京普莱克斯气体有限公司。

1.1.2 仪器

超临界流体萃取装置:HA121-50-01C 型,江苏华安科研仪器有限公司;
电子天平:FA2204B 型,上海精密科学仪器有限公司;
高速万能粉碎机:FW-100D 型,天津鑫博仪器有限公司;
气相色谱质谱联用仪:GC-MS-QP2010 型,日本岛津(上海)责任有限公司。

1.2 方法

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取沙葱花挥发油的工艺流程 沙葱花阴干、粉碎、过 60 目筛,称取 40 g,放入萃取釜内,同时在萃取柱的两端填塞少许脱脂棉及加装过滤片。固定 CO₂ 流速 20 L/h(分离压力 I 为 5 MPa,温度 55 ℃;分离压力 II 为 5 MPa,温度 45 ℃),考察萃取温度,萃取压力,萃取时间对挥发油得率的影响。萃取结束,从分离器出口口得粗挥发油,用无水硫酸钠干燥脱水后得浅黄色精制挥发油。

1.2.2 超临界 CO₂ 萃取沙葱花挥发油的单因素试验 选取萃取温度、萃取压力、萃取时间 3 个因素进行单因素试验,以挥发油得率为指标,确定各因素的优化区间。

(1) 温度:在萃取压力 30 MPa,萃取时间 1.5 h 的条件下,考察萃取温度(20,30,40,50,60 ℃)对挥发油得率的影响。

(2) 压力:在萃取温度 40 ℃,萃取时间 1.5 h 的条件下,考察萃取压力(10,20,30,40,50 MPa)对挥发油得率的影响。

(3) 时间:在取萃取温度 40 ℃,萃取压力 30 MPa 的条件下,考察萃取时间(0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 h)对挥发油得率的影响。

1.2.3 响应面(RSM)试验设计 在单因素试验基础上,利用 Design-Expert 8.05 软件以沙葱花挥发油得率为指标,萃取温度、萃取压力、萃取时间为自变量,设计三因素三水平的响应面(RSM)试验方案。

1.2.4 挥发油得率计算

$$R = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%,$$

(1)

式中:

R——挥发油得率,%;

m₁——萃取挥发油质量,g;

m₂——沙葱花样品质量,g。

1.2.5 挥发油的 GC—MS 分析

(1) 气相色谱条件:色谱柱为 AB - INowax 弹性石英毛细管柱(30. 0 m×250 μm×0. 25 μm),柱温 50 ℃(保留

2 min),以 6 ℃/min 升温至 220 ℃,保持 35 min;汽化室温度 260 ℃;载气为高纯 He (99. 999%) ;柱前压 100 kPa,载气流量 1. 5 mL/min;进样量 1 μL;分流比 20 : 1。

(2) 质谱条件: EI 电离,离子源温度 260 ℃,四极杆温度 150 ℃,电子能量 70 eV,发射电流 34. 6 μA,倍增器电压 1 015 V,接口温度 260 ℃,质量范围 30~550 amu,溶剂延迟 5 min,NIST107 标准质谱检索库。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果分析

2.1.1 萃取温度对沙葱花挥发油得率的影响 由图 1 可知,挥发油得率随着萃取温度的升高而先升高后降低,温度为 40 ℃时,挥发油收率最高。这是由于温度上升,加速了挥发油的扩散,增加了传质速度,有利于萃取;另一方面温度上升会导致 CO₂ 密度变小,对挥发油的溶解能力下降,不利于萃取。

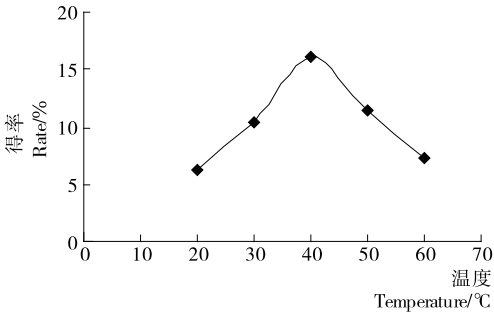


图 1 萃取温度对挥发油得率的影响

Figure 1 Effect of the extraction temperature on extraction rate of essential oil

2.1.2 萃取压力对沙葱花挥发油得率的影响 由图 2 可知,随着萃取压力的增大,挥发油收率增大,当压力达到 30 MPa 后,收率达到最高,之后有所下降。原因是萃取压力升高,CO₂ 密度增大,对挥发油的溶解性能增加,有利于萃取;但另一方面,压力增大,挥发油的扩散速率会下降而不利于萃取。

2.1.3 萃取时间对挥发油得率的影响 由图 3 可知,在 0.5~1.0 h 时,挥发油收率升高最快,1.5 h 时达最大值,之后基本不再变化。因挥发油随时间不断溶解,最终达到溶解饱和,所以 1.5 h 后挥发油得率基本稳定。

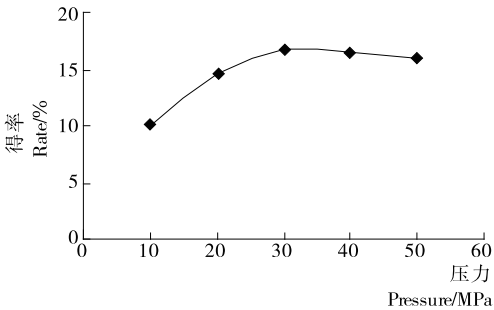


图 2 萃取压力对挥发油得率的影响

Figure 2 Effect of the extraction pressure on extraction rate of essential oil

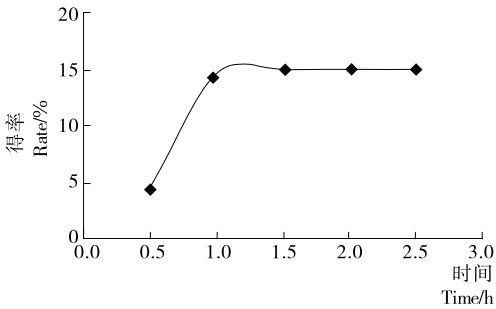


图 3 萃取时间对挥发油得率的影响

Figure 3 Effect of the extraction time on extraction rate of essential oil

2.2 响应曲面试验结果分析

2.2.1 Box-Behnken 试验设计方案及结果分析 综合单因素试验结果,选取萃取温度、萃取时间、萃取压力 3 个因素,采用 Box-Behnken 设计多因素响应面试验,各因素水平的选取保证最佳萃取条件在其范围内,具体因素及水平见表 1,试验方案及结果见表 2。

2.2.2 模型方程的建立及显著性分析 采用 Design-Expert

表 1 响应面试验因素与水平

Table 1 Factors and levels in response surface experiment

水平	A 萃取温度/℃	B 萃取压力/MPa	C 萃取时间/h
1	35	25	0.5
0	40	30	1.0
−1	45	35	1.5

表 2 响应曲面试验设计及试验结果

Table 2 Response surface design arrangement and experimental results

试验号	A	B	C	挥发油得率 R/%
1	0	0	0	19.72
2	0	1	1	14.78
3	0	0	0	19.27
4	0	−1	1	16.57
5	−1	0	−1	8.60
6	0	0	0	18.42
7	1	0	1	7.29
8	0	0	0	18.63
9	−1	1	0	6.17
10	1	0	−1	6.34
11	1	−1	0	1.97
12	0	0	0	19.05
13	−1	0	1	11.24
14	0	−1	−1	14.31
15	−1	−1	0	12.86
16	1	1	0	7.25
17	0	1	−1	13.66

8.05 软件对表 2 中的试验数据进行二次线性回归拟合,得沙葱花挥发油提取收率对萃取温度、萃取压力、萃取时间二次多项回归模型方程:

$$R=19.0-2.00A-0.48B+0.87C+2.99AB-0.42AC-0.29BC-9.21A^2-2.75B^2-1.44C^2。(2)$$

对模型方程(2)进行显著性检验,结果见表 3,本试验选用的模型 P 值<0.000 1,具有极显著性,失拟项(P=0.230 6>0.05)不显著,说明模型合适是有意义的。该模型的复相关系数 $R^2_{Adj}=0.987\ 1$,说明该模型的拟合度良好,可以解释 98.71% 响应值的变化,因而试验误差较小,信噪比 Adeq Precision=33.81>4,说明该模型的响应信号较强。整体来说,回归方程具有很好的拟合程度,可以用该模型来分析和预测沙葱花挥发油的提取工艺结果。

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance (ANOVA) for the Response Surface Quadratic Model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	496.80	9	55.20	136.85	<0.000 1	* * *
A	32.08	1	32.08	79.53	<0.000 1	* * *
B	1.85	1	1.85	4.59	0.069 3	
C	6.07	1	6.07	15.05	0.006 1	* *
AB	35.82	1	35.82	88.80	<0.000 1	* * *
AC	0.71	1	0.71	1.77	0.225 1	
BC	0.32	1	0.32	0.81	0.399 3	
A ²	357.08	1	357.08	885.23	<0.000 1	* * *
B ²	31.76	1	31.76	78.74	<0.000 1	* * *
C ²	8.75	1	8.75	21.69	0.002 3	* *
残差	2.85	7	0.40			
失拟性	1.76	3	0.59	2.20	0.230 6	
纯误差	1.07	4	0.27			
总和	499.63	16				

[†] * * * 为差异极显著(P<0.001); * * 为差异高度显著(P<0.01); * 为差异显著(P<0.05); $R^2=0.994\ 3, R^2_{Adj}=0.987\ 1$ 。

根据表 3 中数据进一步检验可以看出一次项中 A 的偏回归系数极显著,说明萃取温度对沙葱花挥发油提取率有极显著影响;C 项的偏回归系数高度显著,说明萃取时间对沙葱花挥发油提取率有高度显著影响;AB 项的交互作用极显著;二次项中的 A²、B² 的偏回归系数达极显著水平,而 C² 达高度显著水平。由上分析,表明影响沙葱花挥发油萃取率的因素依次为萃取温度>萃取时间>萃取压力。

2.2.3 响应曲面分析 对表 2 数据进行二次多元回归拟合,得到二次模型的响应曲面及等高线图,见图 4~6。由图 4 可知,萃取温度和萃取压力的等高线呈椭圆形,说明具有极显著的交互作用;图 5 中萃取温度与萃取时间之间的等高线也偏椭圆形,显示二者也存在明显的交互作用;而图 6 中的等高线接近圆形,说明萃取压力与萃取时间之间交互作用不显著。

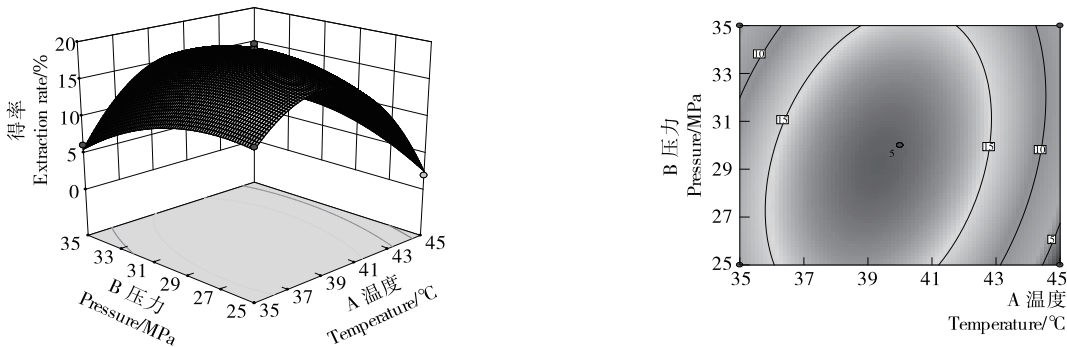


图 4 萃取温度和萃取压力对挥发油得率影响的曲面和等高线图
Figure 4 Response surface plot and contour line of the effects of extraction temperature and extraction pressure on extraction rate

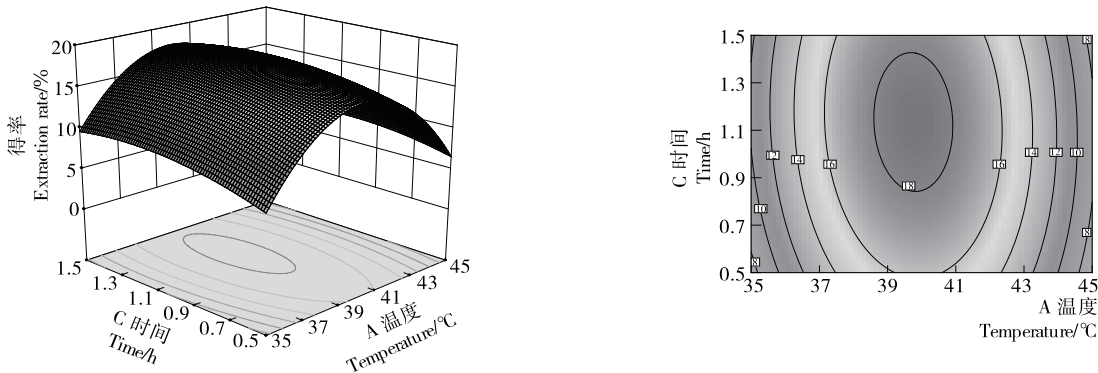


图 5 萃取温度和萃取时间对挥发油得率影响的曲面和等高线图
Figure 5 Response surface plot and contour line of the effects of extraction temperature and extraction time on extraction rate

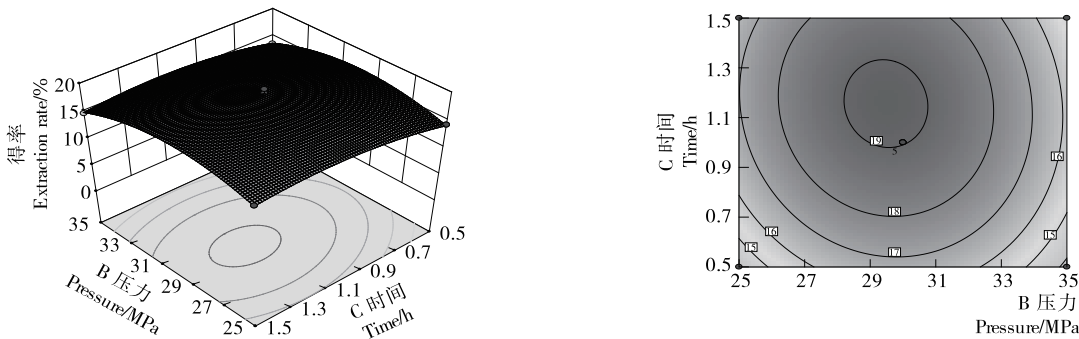


图 6 萃取压力和萃取时间对挥发油得率影响的曲面和等高线图
Figure 6 Response surface plot and contour line of the effects of extraction pressure and extraction time on extraction rate

2.2.4 超临界 CO₂ 萃取工艺条件优化结果 采用 Design-Expert 8.05 软件对模型方程(2)进行求解,得到超临界 CO₂ 萃取沙葱花挥发油的最优工艺为:萃取温度 39.25 ℃,萃取压力 29.1 MPa,萃取时间 1.17 h,理论提取率为 19.36%。考虑到实际操作的方便,确定沙葱花挥发油提取的条最优件为:萃取温度 39 ℃,萃取压力 29 MPa,萃取时间 1.2 h。在此优化条件下进行 3 次平行实验,得提沙葱花挥发油取率为 18.90%,与理论预测值基本相符。

2.3 沙葱花挥发油的组分分析结果

沙葱花挥发油 GC—MS 成分分析的总离子流图见图 7,经 Nist2007 标准质谱图库数据系统检索和人工谱图解析,按

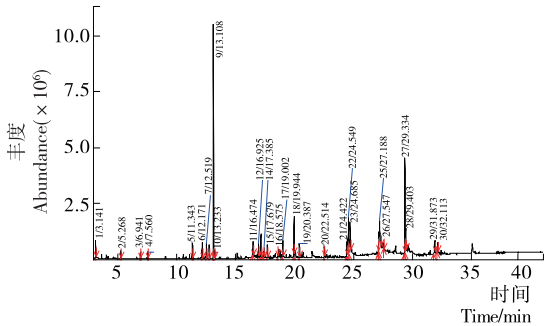


图 7 沙葱花挥发油的总离子流图
Figure 7 Total ion chromatogram of volatile oil of Allium mongolicum Regel flowers

各色谱峰的质谱裂片图与文献核对,对基峰、质荷比和相对丰度等方面进行直观分析比较,结果从沙葱花超临界萃取中分离出 29 个色谱峰,共鉴定出 27 个化学成分,占总离子峰相对含量的 96.67%,结果见表 4。

由表 4 可知,超临界萃取产品中醛类化合物 8 种高达 37.63%;芳香烃化合物含量也较高,占 30.52%,其中甲氧基-4-(1-丙烯)苯 25.33%;另外姜辣素含量达 12.60%。

3 结论

(1) 超临界 CO₂萃取沙葱花挥发油的最优工艺为:萃取温度 39℃,萃取压力 29 MPa,萃取时间 1.2 h,CO₂流速 20 L/h,沙葱花挥发油的得率为 18.90%。

表 4 沙葱花挥发油成分分析结果		
Table 4 Identified components of volatile oil of Allium mongolicum Regel flowers		
名称	保留时间/min	相对含量/%
己醛	3.141	1.78
异丙苯	5.268	0.65
辛醛	6.941	0.54
桉油精	7.560	0.58
葵醛	11.343	22.39
3-甲基-4-苯基丁醛	12.171	2.42
4-甲氧基-安息香醛	12.519	1.63
3,7-二甲基-2,6-辛二烯醛	12.760	1.39
1-甲氧基-4-(1-丙烯)苯	13.108	25.33
7,7-二甲基-二环[4.1.0]庚三烯-3-甲醛	13.234	0.87
邻苯二甲酸二甲酯	16.474	2.29
1-(1,5-二甲基-4-己烯基)-4-甲苯	16.952	1.47
5-甲基-(1,5-二甲基-4-己烯基)-1,3-环己烯	17.143	2.52
1-甲基-4-(4-甲基环己基)-亚甲基环己烷	17.385	0.58
3-(1,5-二甲基-4-己烯基)-6-甲苯	17.679	1.52
未知	18.575	0.42
邻苯二甲酸乙酯	19.002	2.04
4-(4-羟基-3-甲基苯基)丁酮	19.944	4.60
1-(3-甲基-2-丁氧基)-4-(1-丙烯基)苯	20.387	1.60
反-Z-α-环氧化红没药烯	22.514	1.23
9-十六碳烯酸	24.422	2.86
E-9-十四碳烯酸	24.549	6.48
正二十酸(花生酸)	24.685	4.85
氧杂环十七碳-10-烯-2-酮	27.125	3.50
9-十八碳烯醛	27.188	7.48
2-甲基-1,3-十八碳二烯-1-醇	27.547	0.55
姜辣素	29.334	12.60
1-(1,3-二甲基)-7-氧杂二环[4.1.0]	29.403	3.28
庚烷		
未知	32.119	1.21

(2) 对在优化的最佳条件下获得的精油样品进行 GC—MS 分析,结果表明超临界萃取精油产品总共分离出 29 种成分,占总峰面积的 96.67%,鉴定出了 27 种化合物,其中多为醛,芳香烃化合物,姜辣素,还有少量的酸、酯类化合物。姜辣素含量较高,有证据^[18-19]显示,姜辣素有多种不同的药理学作用,包括抗氧化、抗细胞凋亡、抗炎、抗癌和化学防癌等作用,这对开发沙葱深加工产品提供了科学依据。

参考文献

[1] 贺访印,刘世增,严子柱,等.野生沙葱的资源分布与保护利用[J].中国野生植物资源,2007,26(2):14-17.

[2] 巴俊杰,张春丽,高建萍,等.沙葱营养成分分析[J].内蒙古农业大学学报,2002,23(4):114-115.

[3] 乌仁张嘎,张兴夫,敖长金.沙葱挥发油提取工艺的研究[J].饲料工业,2011,32(7):37-40.

[4] 张婷,杨波,罗瑞明,等.响应面法优化沙葱的自然发酵工艺[J].中国酿造,2014,33(10):94-98.

[5] 黄赛金,尹爱武,罗紫英,等.高良姜挥发油抑菌及抗氧化作用研究[J].食品工业科技,2015,36(19):112-115.

[6] 耿东升,王雪飞,陈雪莲.瘤果黑种草子挥发油抗炎、祛痰药理作用研究[J].中国医院药学杂志,2014,34(8):605-607.

[7] 卫强,鲁轮,龙先顺,等.提取方法对木槿叶挥发油成分及其对肺癌 A549 细胞抑制作用的影响[J].食品与机械,2016,32(4):160-166.

[8] 何月秋,林立,杜甜钿,等.紫娇花挥发油成分的 GC-MS 分析及抗氧化能力测定[J/OL].广西植物,http://www.cnki.net/kcms/detail/45.1134.Q.20160328.1534.008.html.

[9] 刘超祥,丁锐,王珊,等.亳州疏毛罗勒挥发油化学成分及抗氧化与抑菌活性研究[J].长江大学学报:自科版,2016,13(21):34-37.

[10] 刘世巍,赵堂,杨敏丽.GC-MS 分析沙葱挥发油的化学成分[J].华西药学杂志,2007,22(3):313-314.

[11] 易雪静,刘刚,龚铮午.微波联合纤维素酶提取艾叶挥发油的研究[J].食品与机械,2016,32(3):160-164.

[12] 李超,杨日福,傅雪峰,等.超声强化超临界 CO₂萃取复方丁香肉桂挥发油[J].华南理工大学学报:自然科学版,2008,36(7):67-68.

[13] 李茂迁,胡萍萍,王艳艳.Design-Expert 在超临界 CO₂萃取工艺优化中的应用[J].广东化工,2011,38(8):8-9.

[14] 欧阳辉,余佑,陈功锡,等.超临界 CO₂萃取花椒籽油工艺的响应面优化[J].中国油脂,2009,34(10):9-12.

[15] 何花,雷鸣,薛金彪,等.超临界 CO₂萃取菊叶香藜精油工艺研究[J].山西农业科学,2016,44(2):253-254.

[16] 李松吴,光斌,陈发河.超临界萃取瑛溪蜜柚精油工艺优化及组分分析[J].食品与机械,2013,29(1):113-117.

[17] 蒋燕,蒲彪,王汉清,等.不同方法提取冷榨藤椒油中的油树脂及其成分分析[J].食品与机械,2016,32(1):131-134.

[18] 谢志刚,唐德容,李乐.姜辣素的提制及抗氧化性能的研究[J].食品与机械,2006,22(5):52-54.

[19] 郁红礼,毛善虎,赵腾斐,等.姜辣素拮抗半夏凝集素蛋白刺激巨噬细胞所致炎症因子 TNF-α 释放增加、ROS 过量生成及 RIP3 表达增高[J].中国中药杂志,2015,40(18):3630-3635.