

超临界 CO₂ 流体萃取-分子蒸馏提取 丁香精油的研究



YU Hong-peng

于泓鹏¹, 吴克刚¹, 吴彤锐¹, 钟少枢¹, 柴向华¹, 李泽洪²

(1. 广东工业大学轻工化工学院 食品添加剂与微胶囊控释技术实验室, 广东 广州 510006; 2. 广州百花香料股份有限公司, 广东 广州 510370)

摘 要: 用超临界 CO₂ 流体萃取技术 (SCDE) 萃取丁香精油, 然后用分子蒸馏技术 (MD) 进行精制, 所得精油经气相色谱-质谱 (GC-MS) 分析与传统提取方法比较。正交试验分析结果显示, SCDE 最佳工艺条件为: 萃取温度 45 °C、萃取压力 12 MPa、解析温度 50 °C。SCDE 得油率达到 21.04 %, 经 GC-MS 分析共检测出 22 种成分, 主要成分丁香酚 GC 含量为 67.56 %, 经 MD 精制后, 尽管丁香酚、 β -石竹烯、乙酰基丁香酚 3 种有效成分的总含量与水蒸气蒸馏法和有机溶剂回流法相差不大, 但精油中丁香酚提高至 68.75 %, 精油色泽和流动性明显改善, 品质明显提高。SCDE-MD 技术萃取丁香精油的得油率为 19.18 %, 高于水蒸气蒸馏法 (11.38 %) 和正己烷回流法 (17.40 %), 而且萃取时间短, 色素、树脂含量低。

关键词: 丁香; 精油; 超临界 CO₂ 萃取; 分子蒸馏

中图分类号: TQ351.0; R284.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2009)05-0074-05

Studies on Supercritical CO₂ Extraction-molecular Distillation of Essential Oil from Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) Bud

YU Hong-peng¹, WU Ke-gang¹, WU Tong-rui¹, ZHONG Shao-shu¹,
CHAI Xiang-hua¹, LI Ze-hong²

(1. Department of Food Science and Bioengineering, Guangdong University of Technology, Guangzhou 510006, China;
2. Guangzhou Baihua Flavors & Fragrances Industry Co., Ltd., Guangzhou 510370, China)

Abstract: Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) bud was extracted with supercritical CO₂ extraction (SCDE) and then refined with molecular distillation (MD). The refined clove oil was analyzed by GC-MS. The optimum condition of SCDE for clove oil was: extraction temperature 45 °C, pressure 12 MPa, and separating temperature 50 °C. The extraction yield was 21.04 %. Twenty-two components in the clove oil were detected by GC-MS. The content of eugenol in clove oil refined with MD was increased from 67.55 % to 68.75 %. Total contents of three main components (eugenol, β -caryophyllene and eugenol acetate) obtained by SCDE-MD, hydrodistillation and organic solvent reflux methods respectively were mostly similar. The total yield of clove oil (19.18 %) obtained by SCDE-MD was also higher than those by steam distillation (11.38 %) and *n*-hexane extraction (17.40 %). SCDE-MD has many advantages over traditional methods, including shorter extraction time, low contents of colorants and resin.

Key words: clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb.) bud; essential oil; supercritical CO₂ extraction; molecular distillation

丁香为桃金娘科植物丁香的干燥花蕾, 其提取的挥发油——丁香精油具有较强的抗菌、消炎和抗氧化等功效。丁香精油主要含有丁香酚、乙酰基丁香酚和 β -石竹烯, 其中最主要的活性成分丁香酚能够使蛋白变性并与细胞膜磷脂反应改变膜的透性而起到抗菌、杀虫作用^[1]。除丁香酚外, 丁香精油还含有其他具有抗菌活性的成分, 甚至有些成分的抗菌活性强于丁香酚, 或是其共存时的相互作用使抗菌效

收稿日期: 2008-09-07

基金项目: 广东省科技计划农业攻关项目 (2007A02030008-2); 广州市科技攻关重点项目 (2007Z2-E0191)

作者简介: 于泓鹏 (1979-), 男, 河南商丘人, 副教授, 博士, 主要从事天然产物有效成分研究工作。

果增强^[2],例如乙酰基丁香酚也是丁香精油中一种重要的抗氧化组分^[3],而实验证明 β -石竹烯具有消炎作用^[4]。丁香精油提取的方法有水蒸气蒸馏、有机溶剂提取等方法,但存在热降解、水解、水溶和溶剂残留等问题。超临界 CO₂ 萃取(SCDE)具有萃取能力强、无毒、不爆炸、来源广泛、易于从产品中去除等优点,是近年来发展较快的绿色提取技术。但 SCDE 丁香精油中非挥发性组分和色素物质含量高,这些非挥发性组分主要是不饱和脂肪酸,极易发生自氧化,此外叶绿素和类胡萝卜素等色素也会影响精油的储藏,因此超临界萃取丁香精油品质恶化快,储藏期较短^[5]。分子蒸馏技术(MD)是利用分子运动自由程的差别,将液体混合物分离,可以在高真空度、低操作温度条件下快速地将混合物中轻分子和重分子分离,能较好地保护高沸点和热敏性物料的有效成分。因此结合 MD 方法可以有效地将其中的非挥发性重分子组分和色素物质分离,提高丁香精油品质和储藏期。因此作者采用 SCDE-MD 联用技术萃取丁香精油,对所得精油进行了气相色谱-质谱(GC-MS)分析,并与传统提取方法进行了比较。

1 材料与方法

1.1 材料与主要仪器

丁香(*Eugenia caryophyllata* Thunb.),购于广州市康洋中药行;CO₂ 气体(纯度 >99.50%);其他试剂均为国产分析纯。

1 L 超临界 CO₂ 萃取(SCDE)型超临界流体萃取装置;MDS-80 型分子蒸馏装置;HP6890PLUS (FID)型气相色谱分析仪;HP6890/5973MSD 型气相色谱-质谱联用分析仪。

1.2 实验方法

1.2.1 水蒸气蒸馏法 称取 15 g 经粉碎过孔径为 0.45 mm 筛的丁香粉末,装入 500 mL 烧瓶中,加入 150 mL 的蒸馏水,在水蒸气蒸馏装置中进行蒸馏操作,至没有油状物浸出且溶液澄清透明时停止加热。蒸出蒸馏液约为 100 mL,所得馏出液加入氯化钠至溶液饱和,再加入适量乙醚充分混匀后用分液漏斗除去水层,然后在乙醚层中加适量无水硫酸钠充分吸水,并用滤纸过滤至圆底烧瓶,将圆底烧瓶置 50 °C 恒温水浴槽中回收乙醚,得到精油。

1.2.2 有机溶剂回流法^[6] 称取一定量粉碎并过孔径为 0.45 mm 筛的丁香粉末放入圆底烧瓶中,加入正己烷至料液比为 1:15(g:mL),组装成回流装置,置于恒温水浴槽中于 80 °C 恒温回流 30 min,后将回流液过滤,过滤液置于回收装置中回收正己烷,得到精油。

1.2.3 SCDE 法 采用一次加料、一级萃取、一级分离的方法萃取丁香精油,其萃取流程为:CO₂ 钢瓶→冷冻系统→CO₂ 贮罐→高压泵→萃取釜→解析釜→冷冻系统(循环)。取粉碎过孔径为 0.45 mm 筛的丁香粉末 300 g 一次性加入萃取罐(1 L),在一定萃取压力、萃取温度和解析温度下萃取 1.5 h,从解析釜中分离得到丁香精油。通过正交试验设计,研究超临界 CO₂ 流体萃取过程萃取温度(A)、萃取压力(B)和解析温度(C)3 个因素对得油率和丁香酚得率的影响,如表 1 所示。

1.2.4 分子蒸馏法(MD) 利用分子蒸馏设备在刮板转速 260~280 r/min,蒸馏温度 80 °C,冷却温度 10 °C 条件下,控制蒸馏真空度 40~100 Pa,维持流速 2.0 mL/min 进行单级多次分子蒸馏。

1.2.5 GC-MS 色谱进样口温度 250 °C,分流比 50:1,接口温度 300 °C,四极杆温度 150 °C,离子源温度 230 °C,载气类型氦气,进样量 0.2 μ L,离子源类型 EI,电子能量 70 eV。升温程序:50 °C 开始以 6 °C/min 的速度升至 100 °C 并保持 2 min,继而以 5 °C/min 的速度升至 150 °C,保持 5 min,再以 4 °C/min 的速度升至 200 °C,保持 5 min 后以 5 °C/min 的速度升至 250 °C。

1.2.6 气相色谱分析 精油进行气相色谱分析所用仪器为美国惠普公司 HP6890PLUS,检测器为 FID,色谱操作条件:80 °C 保持 4 min,以 4 °C/min 升至 240 °C 并保持 10 min,进样器温度 250 °C,检测器温度 250 °C,用氦气(He)作为载气,恒流,流速 2 mL/min,进样量为 0.4 μ L,进样方式:分流进样 30:1。

2 结果与分析

2.1 超临界 CO₂ 萃取丁香油正交试验结果与极差分析

正交试验结果如表 1 所示。极差分析显示萃取压力对得油率和丁香酚得率的影响最大,而解析温

度和萃取温度的影响较小。

表1 超临界流体萃取丁香精油正交试验结果

Table 1 Orthogonal design and experimental results for extraction of clove oil with SCDE

实验号 test No.	A 萃取温度/℃ extraction temp.	B 萃取压力/MPa extraction pressure	C 解析温度/℃ separate temp.	得油率/% yield of oil	丁香酚得率/% eugenol yield
1	40	8	45	15.31	11.45
2	40	12	50	16.12	13.14
3	40	16	55	14.77	12.48
4	45	8	50	13.69	10.89
5	45	12	55	19.63	15.86
6	45	16	45	16.70	14.38
7	50	8	55	6.93	6.03
8	50	12	45	17.29	13.89
9	50	16	50	20.29	16.24
k_1	15.40	11.98	16.43		
k_2	16.67	17.68	16.70		
k_3	14.84	17.25	13.77		
R	5.51	17.10	8.77		
k'_1	12.36	9.46	13.24		
k'_2	13.71	14.30	13.42		
k'_3	12.05	14.37	11.46		
R'	1.66	4.91	1.97		

随萃取压力由 8 MPa 提高到 12 MPa,得油率和丁香酚得率均急剧升高,这是由于萃取压力增大,则超临界流体的密度增大,流体的溶解能力随之增强^[7]。而随着压力的增大,介电常数也随之增大,介电常数的增加不利于一些非极性或弱极性物质的溶解^[8],丁香油的主要成分丁香酚、乙酰基丁香酚和 β -石竹烯均为弱极性或非极性物质^[9]。因此,压力继续升高至 16 MPa,丁香酚得率仅略有升高,而得油率则呈稍微下降的趋势。考虑到高萃取压力(16 MPa)在提高丁香酚得率的同时带来了更多色素和非挥发性组分,而丁香酚得率并未有明显提高,选取最优萃取压力 12 MPa。

解析温度从 45 °C 升高至 50 °C,得油率和丁香酚得率均略有升高,这是因为在实验中解析釜压力可以控制在较低的 5.1 MPa,此压力条件下,气体的可压缩性大,升温使 CO₂ 溶解度的升高难以补偿 CO₂ 密度降低所造成的溶解度下降,因此提高了得油率。继续提高解析温度至 55 °C,一方面提高了解析釜中 CO₂ 的溶解度,另一方面较高的温度有可能造成挥发性油的损失或精油中有效成分的破坏而使得油量下降,得油率明显降低。

得油率和丁香酚的得率随着萃取温度的升高先升高继而降低,这是由于当温度升高时,一方面温度的增加使溶质的饱和蒸气压增大,有利于溶解度的增加;另一方面,CO₂ 的密度随着温度的升高而减小,这就使得溶质的溶解度减小。温度的影响最终取决于上述两因素的综合作用^[10]。

正交试验分析结果显示 SCDE 最佳工艺条件为:萃取温度 45 °C、萃取压力 12 MPa、解析温度 50 °C。在此最佳条件下进行了验证实验,实际测得 SCDE 法得油率达到 21.04%,所得丁香油呈淡黄色,有较浓郁的芳香丁香气味,黏稠度低,相对密度为 1.040 1。

2.2 分子蒸馏及精油的 GC-MS 分析

SCDE 制取的丁香粗油,经分子蒸馏除去非挥发性重分子组分和色素物质,最后得到无色透明油状物,具有浓郁的丁香的特殊芳香气味,黏稠度极低,流动性接近蒸馏水。由于除去了重组分,最终 SCDE-MD 法所得丁香精油的相对密度为 1.031,低于 SCDE 法所得精油。

图 1 为 SCDE 和 SCDE-MD 萃取的丁香油的总离子色谱图。通过 Wiley 275. L 和 NBS 质谱数据系统检索,并核对质谱标准图谱,分别鉴定出 22 种和 27 种组分。由于四极杆质量检测器(MSD)对同一类

型的有机化合物或碳氢化合物的质量因子的变化范围远远大于氢火焰离子化检测器(FID)的检测结果^[11],因此精油定量分析结果以FID检测较为准确。精油化学成分定量用气相色谱分析法,峰面积归一化法测量了各个化学成分的GC含量。分析显示,SCDE法萃取精油中GC含量最多的是丁香酚,GC含量为67.56%,经MD精制后,丁香油中最主要的生物活性和抗菌活性物质丁香酚提高至68.75%,其次为 β -石竹烯,SCDE法和SCDE-MD法萃取精油GC含量分别为19.93%和19.84%,GC含量较高的还有乙酰基丁香酚(7.95%和7.18%)、 α -葎草烯(2.10%和2.08%)、金合欢烯(0.34%和0.32%)。

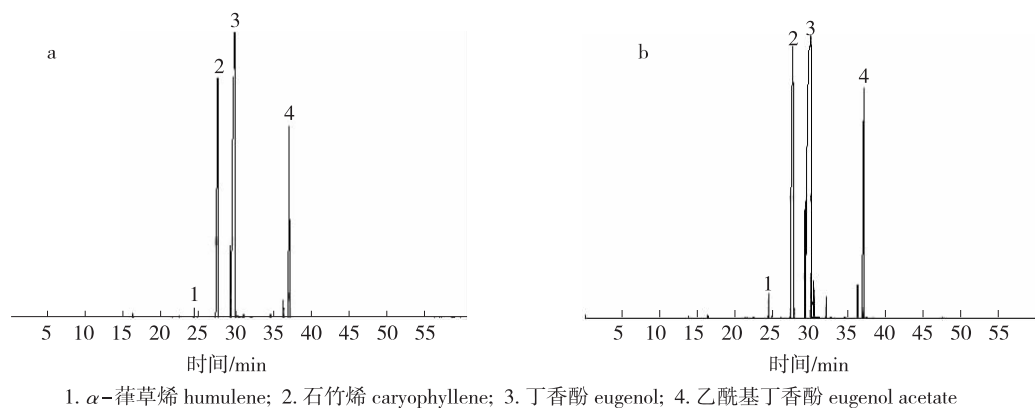


图1 SCDE(a)和SCDE-MD(b)萃取丁香精油的总离子流量图

Fig.1 Total ion currents chromatograms of clove oil extracted by SCDE (a) and SCDE-MD (b)

2.3 不同提取方法的比较

水蒸气蒸馏法、正己烷回流法、SCDE法和SCDE-MD法提取丁香油的得油率、主要成分的得率和GC含量,以及所得丁香油的相对密度和感官品质如表2所示。

表2 不同提取方法制得的丁香油

Table 2 Comparison of clove oils extracted by different methods

提取方法 extraction methods	得油率/% oil yield	相对密度/ (g·mL ⁻¹) density	丁香酚/% eugenol		β -石竹烯/% β -caryophyllene		乙酰基丁香酚/% eugenol acetate		感官品质 sensory qualities
			GC含量 GC content	得率 yield	GC含量 GC content	得率 yield	GC含量 GC content	得率 yield	
水蒸气蒸馏 steam distil- lation	11.39	1.0392	80.71	9.19	10.34	1.18	5.63	0.64	无色透明油状,较强的丁香芳 香气味,黏稠度低 transparent oil, characteristic clove odor, low viscosity
正己烷回流 n-hexane extraction	17.40	1.0517	75.00	13.05	11.33	1.97	9.40	1.64	呈棕黄色,有芳香的丁香味, 较黏稠 brown thickness ointment, clove smell
SCDE	21.04	1.0401	67.56	14.21	19.93	4.19	7.95	1.67	呈淡黄色,有较浓郁的芳香丁 香气味,黏稠度较低 pale yellow oil, strong clove smell, rather low viscosity
SCDE-MD	19.18	1.0312	68.75	13.19	19.84	3.81	7.18	1.38	无色透明油状,浓郁的丁香芳 香气味,黏稠度极低 transparent oil, very strong clove smell, extra low viscosity

SCDE法的得油率最高,达到21.04%,其次为SCDE-MD法(19.18%),水蒸气蒸馏法得油率(11.39%)最低,而其所得精油中丁香酚GC含量(80.71%)较高,这主要是由于水蒸气蒸馏法较难萃取出大相对分子质量、高沸点组分,同时由于提取过程时间长、温度高、系统开放,易造成热不稳定及易

氧化成分的破坏及挥发损失,乙酰基丁香酚 GC 含量和得率仅为 5.63% 和 0.64%,远低于其他 3 种方法,正是由于在水中长时间加热被分解为乙酸和丁香酚^[4],而由于色素、树脂大分子组分含量少,水蒸气蒸馏所得精油色泽最浅,黏度较低。正己烷回流法提取丁香油得油率较高,但由于色素和其他脂溶性物质浸出较多,丁香油色泽很深,呈棕黄色,黏稠度相对较高。

SCDE 法和 SCDE-MD 法萃取精油的 3 种主要成分得率均高于水蒸气蒸馏和正己烷回流法,但正如其他研究结果^[12-13],超临界 CO₂ 萃取比传统的水蒸气蒸馏技术萃取出较多的不需要物质,如极易发生自氧化的不饱和脂肪酸酯、色素及其他成分,因此超临界 CO₂ 萃取丁香精油品质恶化快,储藏期较短,经分子蒸馏精制后,进一步除去丁香油中与精油物质的平均自由程差别较大的高分子质量杂质、色素。尽管 SCDE-MD 法萃取精油得油率和 3 大组分的得率略有下降,但精油比例较低,呈无色透明油状,有浓郁的丁香芳香气味,黏度极低,流动性接近于水,品质得到明显提升。

3 结论

3.1 SCDE 萃取丁香精油的最佳工艺条件为:萃取温度 45℃、萃取压力 12 MPa、解析温度 50℃。SCDE 法得油率达到 21.04%,丁香酚得率 14.21%,GC 含量 67.56%,经分子蒸馏技术(MD)精制后,尽管精油得率降为 19.18%,但丁香酚 GC 含量提高至 68.75%,精油色泽和流动性明显改善,品质显著提高。

3.2 采用 GC-MS 技术测定 SCDE 法和 SCDE-MD 法所得丁香油的化学成分,分别鉴定出 22 种和 27 种化学物质,主要成分均为丁香酚、乙酰基丁香酚、 β -石竹烯,3 个主要活性物质成分的总含量相近。

3.3 和传统精油提取方法相比,尽管 SCDE-MD 技术萃取丁香精油中丁香酚含量降低,但得油率远高于水蒸气蒸馏法和有机溶剂回流法,而且萃取时间短,色素、树脂含量低,是提取丁香精油值得推广和有前景的一种方法。

参考文献:

- [1] 徐汉虹. 杀虫植物与植物性杀虫剂[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [2] 郭晨,竺青,刘颖. 丁香精油的提取及其抗菌作用研究[J]. 医药导报,2006,25(5):384-386.
- [3] LEE K G, SHIBANOTO T. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds [*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry] [J]. Food Chemistry, 2001,74:443-448.
- [4] GUAN Wen-qiang, LI Shu-fen, YAN Rui-xiang, et al. Comparison of essential oils of clove buds extracted with supercritical carbon dioxide and other three traditional extraction methods[J]. Food Chemistry, 2007,101:1558-1564.
- [5] GOPALAKRISHNAN N. Studies on the storage quality of CO₂-extracted cardamom and clove bud oils[J]. J Agric Food Chem, 1994,42(3):796-798.
- [6] JOHN S, HASEEB N, JOSEPH P, et al. Extraction of Polyphenolics from Plant Material for Functional Foods-engineering and Technology[M]. Canada: Food Review International, 2005:139-166.
- [7] 彭英利, 马承愚. 超临界流体技术应用手册[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [8] 郭晓斐. 超临界萃取姜油的方法与其它方法的比较[D]. 济南:山东大学博士学位论文,2005.
- [9] 高鸿宾. 有机化学[M]. 北京:高等教育出版社,2005.
- [10] ZKAL S G O, YENER M E, BAYIND L. Mass transfer modeling of apricot kernel oil extraction with supercritical carbon dioxide[J]. J Super-crit Fluids, 2005,35(2):119-127.
- [11] 廖超林. 泰国葵叶精油化学成分的研究[J]. 香料香精化妆品, 2000(2):3-6.
- [12] MOSTAAF K, YADOLLAH Y, FATEMEH S, et al. Comparison of essential oil of composition of *Caurm copticum* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods[J]. Food Chemistry, 2004,86(4):587-591.
- [13] MYINT S, WAN D, WAN R, et al. Gas chromatographic determination of eugenol in ethanol extract of cloves[J]. J Chromatography, 1996,679:193-195.