

# 超临界CO<sub>2</sub>萃取及气质联用分析沙枣花精油成分

杨 虎<sup>1</sup>, 高国强<sup>2,\*</sup>

(1.兰州市科技情报研究所, 甘肃 兰州 730030; 2.兰州工业研究院, 甘肃 兰州 730050)

**摘 要:** 根据Box-Behnken试验设计原理, 采用三因素三水平的响应面分析法对沙枣花精油进行超临界CO<sub>2</sub>流体萃取研究。结果表明, 超临界CO<sub>2</sub>流体萃取沙枣花精油的最佳工艺条件为: 萃取压力3400psi(23.45MPa)、萃取温度58℃、萃取时间4h, 沙枣花精油萃取得率达到2.41%。通过气质联用技术对超临界CO<sub>2</sub>萃取得到的沙枣花精油进行分析, 鉴定出26种化合物。萃取物中含量最高的化合物是肉桂酸乙酯, 其次是9-十八烯酸乙酯, 再次是软脂酸, 相对含量较高的化合物还有乙酸丙酯、2-庚十五醇和9-十八烯醛等。可以确定肉桂酸乙酯是沙枣花精油的主要成分, 与芳香醇及酮类等对香气可能有贡献。

**关键词:** 沙枣花; 精油; 超临界CO<sub>2</sub>萃取; 气质联用

## Gas Chromatographic-Mass Spectrometric Analysis of Essential Oil Extracted by Supercritical CO<sub>2</sub> from Flowers of *Elaeagnus angustifolia* L.

YANG Hu<sup>1</sup>, GAO Guo-qiang<sup>2,\*</sup>

(1. Institute of Scientific and Technical Information of Lanzhou, Lanzhou 730030, China;

2. Lanzhou Industry Research Institute, Lanzhou 730050, China)

**Abstract:** The optimal conditions for supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oil from fresh flower of *Elaeagnus angustifolia* L were explored by response surface methodology (RSM). A three-level Box-Behnken factorial design was used to investigate the effects of three independent variables such as extraction pressure, extraction temperature and extraction time on the yield of essential oil. Results showed that the optimal extraction process conditions for supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oil from fresh flower of *Elaeagnus angustifolia* L. included extraction pressure of 3400 psi (23.45 MPa), extraction temperature of 58 °C, and extraction duration of 4 h. Under these extraction conditions, the yield of essential oil was up to 2.41%. Meanwhile, 26 compounds were identified in the extract by GC-MS. Among them, ethyl cinnamate was the most dominant followed by (*E*)-9-octadecenoic acid ethyl ester and *n*-hexadecanoic acid. In addition, relatively high amounts of *n*-propyl acetate, 2-pentadecyn-1-ol and 9-octadecenal (*Z*) were also found in the extract. Apart from ethyl cinnamate, aromatic alcohols and ketones appeared to contribute to the aroma of the essential oil.

**Key words:** *Elaeagnus angustifolia* L.; essential oil; supercritical CO<sub>2</sub> extraction; GC-MS

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)14-0152-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201314031

精油是从植物的花、叶、茎、根或果实中通过水蒸气蒸馏法、挤压法、冷浸法或溶剂法萃取得到的一类具有挥发性的芳香物质。它是一类植物源次生代谢物质, 分子质量较小, 呈油状液体物质, 化学成分非常复杂, 大致可分为萜烯类、芳香族、脂肪族和含氮含硫4大类化合物<sup>[1]</sup>。纯天然的植物精油不仅具有止血、加速伤口愈合的能力以及抑制皮炎, 抗菌消炎的作用, 还对细菌和病毒等有一定的抑制作用, 甚至某些精油还能调节内分泌, 促进荷尔蒙分泌, 强化人体的生理及心理功能<sup>[2-6]</sup>。

正是由于植物精油的这些特点引起了研究者对它的广泛关注, 并选择一些气味芳香或生理功能显著的原料来进行研究, 沙枣花就是其中的一种。

沙枣花为胡颓子科植物沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)的花, 呈银黄色, 钟形, 长5~7mm左右, 具有芳香气味, 主产于西北地区, 其主要成分是三萜酚、花白素、脂肪和少量的挥发油<sup>[7]</sup>。据《中国经济植物志》记载, 鲜花中含有0.2%~0.4%芳香油, 可作为化妆品和皂用香精的调香原料, 也可用于食品及饮料的调香<sup>[8]</sup>。王妍等<sup>[9]</sup>

收稿日期: 2012-06-21

作者简介: 杨虎(1981—), 男, 工程师, 硕士, 主要从事食品加工和植物中天然产物提取分离与功能研究。

E-mail: yang-hu119@126.com

\*通信作者: 高国强(1966—), 男, 高级工程师, 本科, 主要从事农产品加工研究。E-mail: gaogong506@126.com

采用超临界CO<sub>2</sub>流体萃取和气质联用技术从宁夏沙枣花鉴定出38种芳香成分。吕金顺<sup>[10]</sup>采用气质联用技术对沙枣花挥发性和半挥发性成分进行了分析,表明沙枣花萃取液的主要化学成分为反式肉桂酸乙酯、肉桂酸甲酯和苯乙醇,是香料和配制香精的原料,苯乙醇是吸引蜂蝶类采蜜和授粉的主要化合物。刘晔玮等<sup>[11]</sup>采用气质联用技术对沙枣花挥发油的化学成分进行分离、鉴定,共鉴定出17种化合物,占挥发油总量的89.27%,并应用高效液相色谱-二极管阵列检测器(high performance liquid chromatography-diode array detection, HPLC-DAD)技术建立了沙枣花挥发油指纹图谱。此外,也有学者对沙枣花中的黄酮类化合物,花青素和多糖等其他有效成分进行了研究<sup>[12-15]</sup>。本实验以兰州地区的沙枣花为研究对象,应用响应面法(RSM)对其进行了超临界CO<sub>2</sub>萃取研究,并用气质联用方法对萃取的精油进行分析,以期对兰州沙枣花产品的开发研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

沙枣花:采自甘肃兰州永登地区,采回后立即在-20℃冷冻保鲜。

SFT-250型超临界流体萃取装置 美国SepTech公司; Clarus 500气相色谱-质谱联用仪 美国Perkin Elemer公司; FA2004N型电子天平 上海精密科学仪器有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 超临界CO<sub>2</sub>萃取沙枣花精油的单因素试验

选用进行沙枣花精油的萃取。准确称取500g自然解冻的沙枣花装入4L的超临界CO<sub>2</sub>萃取釜中,进行萃取试验,并将萃取得到的沙枣花精油收集后放入冰箱冷冻备用。在萃取温度46℃、萃取压力24.83MPa下萃取1h,固定其他因素,分别考察萃取压力(1800~4200psi(12.41~28.97MPa))、萃取温度(46~62℃)和萃取时间(1~5h)对精油的萃取得率的影响。沙枣花精油的萃取得率按下列公式计算:

$$\text{精油萃取得率}/\% = \frac{\text{精油质量}/\text{g}}{\text{鲜花质量}/\text{g}} \times 1000$$

#### 1.2.2 响应面分析试验设计

在单因素试验的基础上,根据Box-Behnken试验设计方案,分别用X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>来代表萃取压力、萃取温度及萃取时间,并以-1、0、+1分别代表变量的水平,进行响应面分析,并用Design-Expert 7软件对实验数据进行回归分析。

#### 1.2.3 气相色谱-质谱分析条件

将萃取得到的沙枣花精油分别用乙醚溶解,过

滤,再用乙醚按体积比稀释50倍供气相色谱-质谱(gas chromatograph-mass spectrometry, GC-MS)分析用。GC条件:石英毛细管柱DB-5MS(30.0m×0.25mm);色谱柱升温程序为:起始温度60℃,保持1min后以10℃/min升至100℃,然后以5℃/min升温至230℃,保持5min至完成分析;载气为高纯氦气,流量为1mL/min,分流比为20:1;接口温度220℃,汽化室温度240℃。MS条件:电子电离(electron ionization, EI);离子源温度200℃,电离电压70eV;扫描质量范围50~500D。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

#### 2.1.1 萃取压力对萃取得率的影响

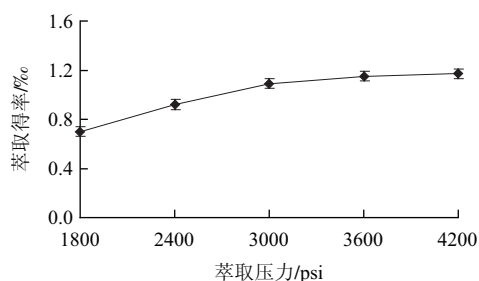


图1 萃取压力对精油得率的影响

Fig.1 Effect of extraction pressure on the extraction rate of essential oil

从图1可以看出,随着萃取压力的升高,沙枣花精油的得率也逐渐增大,但压力从3000~4200psi过程中沙枣花精油得率增速变缓,在3600psi和4200psi萃取过程中得率几乎一样。出现这种情况可能是因为萃取压力达到3600psi时沙枣花中萃取的蜡质成分和其他一些成分开始影响精油的得率,同时如果精油中蜡质成分过多,会影响精油的质量。

#### 2.1.2 萃取温度对萃取得率的影响

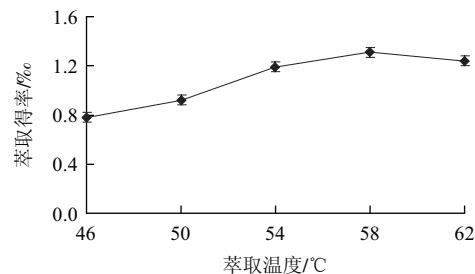


图2 萃取温度对精油得率的影响

Fig.2 Effect of extraction temperature on the extraction rate of essential oil

从图2可以看出,随着萃取温度的升高,精油得率逐渐增加,到58℃时精油得率最大,62℃时萃取得率较58℃时的萃取得率有所下降,但仍然大于54℃时的萃取得率。这是因为随着温度的升高,沙枣花中的香气成分

会不断逸出,得率也就随之升高,在62℃时萃取得率有所下降可能是萃取釜中CO<sub>2</sub>物理形态的变化所造成的。

2.1.3 萃取时间对萃取得率的影响

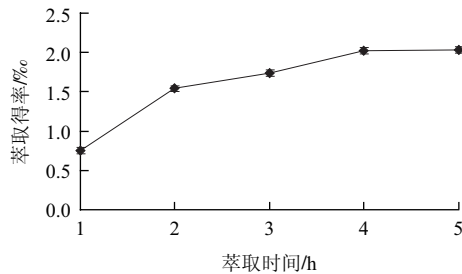


图3 萃取时间对精油得率的影响

Fig.3 Effect of extraction duration on the extraction rate of essential oil

从图3可以看出,随着萃取时间的延长,沙枣花精油得率也呈现一个上升的趋势,萃取4h和5h精油得率变化不大,说明萃取时间的延长已经不太可能增加精油得率,而且萃取时间如果太长会将沙枣花中的其他成分提取出来,影响沙枣花精油的萃取。

2.2 响应面试验

2.2.1 响应面试验方案与结果

在单因素试验分析的基础上选取对沙枣花精油萃取得率影响较大的水平作为响应面试验的因素水平,得到Box-Behnken试验因素水平编码表。响应面试验方案与结果见表1。

表1 响应面试验设计及结果  
Table 1 Design and results of orthogonal tests

试验号	X <sub>1</sub> 压力/psi	X <sub>2</sub> 温度/℃	X <sub>3</sub> 时间/h	萃取得率/%
1	0(3000)	1(58)	-1(2)	0.90
2	0	0(84)	0(3)	1.45
3	0	0	0	1.48
4	0	-1(50)	1(4)	0.94
5	-1(2400)	-1	0	0.83
6	1(3600)	-1	0	1.17
7	1	1	0	2.02
8	0	0	0	1.45
9	0	0	0	1.50
10	-1	0	1	0.73
11	-1	0	-1	0.76
12	1	0	1	1.99
13	-1	1	0	0.92
14	1	0	-1	0.75
15	0	-1	-1	0.86
16	0	1	1	1.74
17	0	0	0	1.40

根据表1的试验结果,采用Design-Expert 7软件对所得试验数据进行分析,回归分析结果如表2所示。

对表1数据进行回归方差分析显著性检验,结果见表3。由表3可知,该模型回归显著,模型的R<sup>2</sup>=0.9927,说明回归方程的拟合程度较好,可用于超临界CO<sub>2</sub>萃取沙枣花精油实验的理论预测。采用Design-Expert 7对响应值(精油得率)与各因素(萃取压力、萃取温度、萃取

时间)进行回归拟合后,得到回归方程:  $Y=1.46+0.34X_1+0.22X_2+0.27X_3+0.19X_1X_2+0.32X_1X_3+0.19X_2X_3-0.14X_1^2-0.084X_2^2-0.26X_3^2$ 。

表2 响应面试验结果回归分析  
Table 2 Results of regression analysis

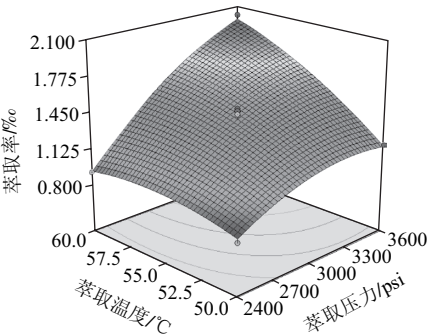
变异源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	2.99	9	0.33	132.26	<0.0001	显著
残差	0.022	7	3.142×10 <sup>-3</sup>			
失拟项	0.016	3	5.425×10 <sup>-3</sup>	3.79	0.1152	不显著
纯误差	5.720×10 <sup>-3</sup>	4	1.430×10 <sup>-3</sup>			
总和	3.01	16				

表3 回归方程系数显著性检验  
Table 3 Significance test for regression coefficients

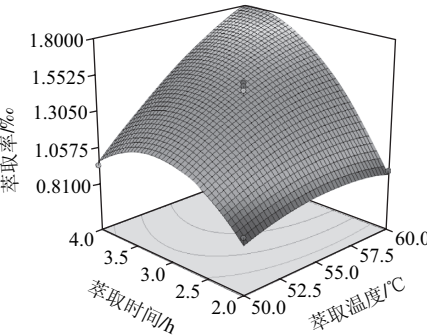
系数项	回归系数	自由度	标准误差	95%置信下限	95%置信上限	P值
截距	1.46	1	0.025	1.40	1.52	1.00
X <sub>1</sub>	0.34	1	0.020	0.29	0.38	1.00
X <sub>2</sub>	0.22	1	0.020	0.18	0.27	1.00
X <sub>3</sub>	0.27	1	0.020	0.22	0.31	1.00
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.19	1	0.028	0.12	0.26	1.00
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.32	1	0.028	0.25	0.38	1.00
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.19	1	0.028	0.12	0.26	1.00
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	-0.14	1	0.027	-0.20	-0.072	1.01
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	-0.084	1	0.027	-0.15	-0.020	1.01
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	-0.26	1	0.027	-0.33	-0.20	1.01

2.2.2 因素间的交互作用

根据回归方程利用Design-Expert 7软件做不同因素的响应面分析图,萃取压力、萃取温度、萃取时间3个关键因素及其交互作用对超临界CO<sub>2</sub>萃取沙枣花精油得率的影响见图4。



A. 萃取压力和温度

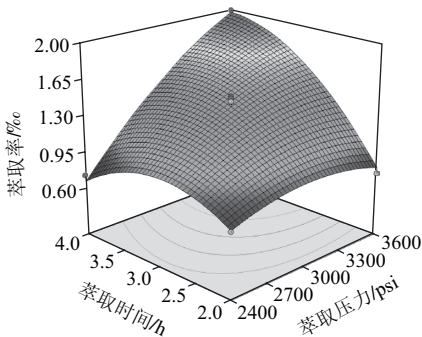


B. 萃取温度和时间

表 4 沙枣花超临界CO<sub>2</sub>萃取分离物化学成分分析结果  
Table 4 Chemical constituents of the essential oil of *E. angustifolia* flowers

序号	保留时间/min	化合物名称		
		化合物英文名称	化合物中文名称	相对含量/%
1	2.153	<i>n</i> -propyl acetate	乙酸丙酯	7.07
2	2.233	2, 4-pentanediol, 3-methyl-	3-甲基-2,4-戊二醇	1.36
3	2.559	oxirane, 2, 3-bis(1-methylethyl)-, <i>trans</i> -	2-3-二甲基-乙烷基氧化乙烯	0.81
4	13.034	2-propenoic acid, 3-phenyl-,methyl ester	3-苯基-2-丙烯酸苯甲酯	1.45
5	13.723	benzeneethanol, $\alpha$ -(phenyl methyl)-	$\alpha$ -苄基苯乙醇	2.16
6	14.990	2-propenoic acid, 3-phenyl-,ethyl ester	肉桂酸乙酯	100.00
7	17.104	1,6,10-dodecatrien-3-ol,3,7,11-trimethyl-,[S-(Z)]-	橙花叔醇	0.82
8	17.324	2-propenoic acid,3-phenyl-, 1-methylethyl ester	3-苯基-2-丙烯酸-1-甲基-苯乙酯	1.14
9	21.099	vinyl <i>trans</i> -cinnamate	反式肉桂酸乙烯酯	0.75
10	23.126	2-pentadecanone, 6, 10, 14-trimethyl-	6,10,14-三甲基-十五烷-2-酮	2.60
11	25.520	<i>n</i> -hexadecanoic acid	软脂酸	12.44
12	25.687	2-dodecanol	2-十二烷醇	1.24
13	26.113	hexadecanoic acid, ethyl ester	十六酸乙酯	2.66
14	28.127	1-Iodo-2methylundecane	1-碘-2-甲基十一烷	0.78
15	28.247	phytol	植醇	7.02
16	28.734	2-pentadecyn-1-ol	2-炔十五醇	4.34
17	28.808	1-cyclohexylnonene	1-环己烷壬烯	1.25
18	29.281	( <i>E</i> )-9-octadecenoic acid ethyl ester	9-十八烯酸乙酯	41.65
19	29.761	pentadecanoic acid, ethyl ester	十五烷酸乙酯	3.99
20	31.388	10-hebeicosene(c,t)	10-廿一碳烯	1.64
21	31.528	butanoic acid,3-methyl-, hexadecyl ester	3-甲基十六烷丁酸酯	2.32
22	31.629	eicosane	二十烷	2.63
23	32.961	9-octadecenal, ( <i>Z</i> )-	9-十八烯醛	4.12
24	33.516	eicosanoic acid, ethyl ester	二十酸乙酯	3.34
25	33.689	nonadecane, 9-methyl-	9-甲基-十九烷	1.00
26	34.876	eicosane	二十烷	3.30

注：表中各成分的相对含量是以肉桂酸乙酯作为 1 所得的数值。



C. 萃取压力和时间

图 4 两因素交互作用对沙枣花精油的萃取得率的响应面图

Fig.4 Response surface plots for the effect of cross-interactions among factors on the extraction rate of essential oil

由图4直观地反映了各因素对响应值的影响，比较这3个图可知，萃取时间( $X_3$ )对沙枣花精油得率的影响最为显著，表现为曲线较陡；而萃取压力( $X_1$ )与萃取温度( $X_2$ )次之，表现为曲线较为平坦。为进一步确定最佳提取工艺条件，对回归方程取一阶偏导数等于零，建立联立方程求解可以得到沙枣花精油得率达到最高时所需的参数条件，即萃取压力3600psi(24.8MPa)、萃取温度60℃、萃取时间4h。预测沙枣花精油萃取得率达到2.49‰。

为了检验响应面法所建立的数学模型的可靠性，采

用上述最优提取条件进行验证实验，在试验过程中考虑到萃取压力太大会导致所萃取沙枣花精油中蜡质含量的增加和沙枣花精油质量的下降，而且在其他条件不变的情况下3600psi和3400psi对萃取得率的影响几乎一样，所以将沙枣花精油的超临界CO<sub>2</sub>萃取的最佳条件修正为：萃取压力3400psi(23.45MPa)、萃取温度58℃、萃取时间4h，进行3次验证实验，实际测得沙枣花精油萃取的平均得率为2.41‰，与理论预测值相比，相对误差在0.08‰左右。因此，采用RSM法优化得到的超临界萃取CO<sub>2</sub>沙枣花精油的参数准确可靠，具有实用价值。

2.3 沙枣花精油GC- MS分析

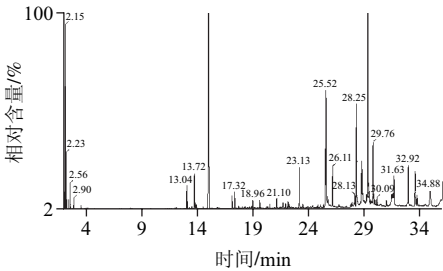


图 5 沙枣花超临界CO<sub>2</sub>萃取分离物总离子流图

Fig.5 Total ion chromatogram of the essential oil of *E. angustifolia* flowers



在最优条件下萃取,对沙枣花精油进行GC-MS分析,得其总离子流图,如图5所示。对总离子流图中的各峰经过质谱数据系统检索(质谱数据库CAS Library)及人工谱图解析,确定了沙枣花超临界CO<sub>2</sub>萃取物的主要化学成分,结果见表4。由表4可以看出,在萃取的沙枣花精油中有26种化合物被检测出来,肉桂酸乙酯是沙枣花精油的主要成分,9-十八烯酸乙酯和软脂酸的相对含量也很高,可能是沙枣花精油的香气成分,此外也可能存在其他一些没有被检测出来的成分对沙枣花精油的香气起主要作用。

### 3 结 论

应用超临界CO<sub>2</sub>萃取技术和GC-MS联用技术对兰州地区沙枣花进行研究,在最佳萃取条件下精油萃取得率达2.41%,鉴定出26种化合物。通过实验可以确定肉桂酸乙酯是沙枣花精油的主要成分,是否是沙枣花的主香成分需进一步研究,芳香醇及酮类对香气可能有贡献。值得注意的是在萃取沙枣花精油的过程中头香的芳香气味更浓,更舒适,所以要用沙枣花精油来作为香料、香精的原料需对头香成分做深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 邵海,龚钢明. 植物精油在药理和农药方面的研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2008, 27(5): 5-9.
- [2] OKOLI C, AKAH P, OKOLI A, et al. Potentials of leaves of *Aspilia africana* (Compositae) in wound care: an experimental evaluation[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2007, 7(1): 382-388.
- [3] MARUYAMA N, SEKIMOTO Y, ISHIBASHI H, et al. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil[J]. Journal of Inflammation, 2005, 2(1): 1-11.
- [4] NAYAK S, NALABOTHU P, SANDIFORD S, et al. Evaluation of wound healing activity of *Allamanda cathartica*. L. and *Laurus nobilis*. L. extracts on rats[J]. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2006, 6(1): 132-137.
- [5] TSAI N M, CHEN Y L, LEE C C, et al. The natural compound *n*-butylidenephthalide derived from *Angelica sinensis* inhibits malignant brain tumor growth *in vitro* and *in vivo*[J]. Journal Neurochemistry, 2006, 99(4): 1251-1262.
- [6] SCHNITZLER P, KOCH C, REICHLING J, et al. Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains to essential oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood[J]. Antimicrobial and Agents Chemotherapy, 2007, 51(5): 1859-1862.
- [7] 石玉平,王永宁,郭珍. 沙枣花中黄酮类化合物的提取[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2005, 29(2): 106-108.
- [8] 黄俊华,买买提江,杨昌友. 沙枣(*Elaeagnus angustifolia* L.)研究现状与展望[J]. 中国野生植物资源, 2005, 24(3): 26-33.
- [9] 王妍,巨涛,王立新,等. 超临界CO<sub>2</sub>流体萃取及气质联用研究宁夏沙枣花的芳香成分[J]. 香料香精化妆品, 2007(3): 1-4.
- [10] 吕金顺. 沙枣花挥发性和半挥发性成分的分析[J]. 林业科学, 2007, 43(3): 122-126.
- [11] 刘晔玮,邸多隆,王勤. 沙枣花挥发油的化学成分及其指纹图谱的研究[J]. 食品科学, 2003, 24(7): 111-113.
- [12] 何艳熙,李炳奇,刘红,等. 沙枣中黄酮类化合物提取工艺条件的研究[J]. 中国中医药信息杂志, 2008, 15(7): 57-58.
- [13] 阎娥,石玉萍,王永宁,等. 沙枣叶中提取的总黄酮化合物对羟基自由基的清除作用[J]. 青海大学学报: 自然科学版, 2006, 24(3): 65-67.
- [14] 石翠芳,孙智达,谢笔钧,等. 沙枣果肉原花青素的提取、纯化及抗氧化性能的研究[J]. 农业工程学报, 2006, 22(3): 158-161.
- [15] 王青宁,吕兴连,彭韵硕,等. 沙枣多糖EAP-2 的提取纯化及初步分析[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 43-46.