

# 响应面法优化超临界 CO<sub>2</sub> 萃取茉莉花蕾精油及抗氧化活性的研究

张杨波<sup>1</sup>, 林海燕<sup>2</sup>, 李 适<sup>1</sup>, 董新荣<sup>3</sup>, 黄建安<sup>1,2</sup>, 刘仲华<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>湖南农业大学茶学教育部重点实验室; <sup>2</sup>国家植物功能成分利用工程技术研究中心;

<sup>3</sup>湖南农业大学理学院, 长沙 410128

**摘要:**为研究超临界 CO<sub>2</sub> 萃取茉莉花蕾获得精油的最佳工艺及抗氧化活性, 实现资源的综合利用。实验考察了夹带剂用量、原料颗粒大小、萃取压力、萃取温度和动态萃取时间对茉莉精油产率的影响, 进一步以响应面实验设计优化挥发油的提取工艺参数, 以 GC-MS 分析挥发油组成及相对含量, 并测定精油清除 DPPH 自由基及还原铁离子能力。结果表明, 最佳工艺参数为: 夹带剂乙醇用量为 0.2 mL/g, 花粉颗粒为 40 目, 萃取压力 20 MPa, 萃取温度 46 °C, 动态萃取时间 1.6 h。在此条件下茉莉精油的产率为 13.67%, 远高于同时蒸馏萃取法(2.87%)和超声辅助提取(2.45%)。超临界萃取精油的主要香气成分与茉莉鲜花基本一致, 并且具有较好的清除自由基和还原铁离子能力。实验证明超临界萃取技术提取茉莉花蕾得到茉莉精油品质高, 可为其资源综合利用提供参考。

**关键词:**超临界 CO<sub>2</sub> 萃取; 精油; 茉莉花蕾; 响应面实验设计; 抗氧化活性

中图分类号: R284.2; TS05

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)7-1220-10

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.7.015

## Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction of essential oil from jasmine buds by response surface methodology and effect of antioxidant activity

ZHANG Yang-bo<sup>1</sup>, LIN Hai-yan<sup>2</sup>, LI Shi<sup>1</sup>, DONG Xin-rong<sup>3</sup>, HUANG Jian-an<sup>1,2</sup>, LIU Zhong-hua<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Tea Science of Ministry of Education;

<sup>2</sup>National Research Center of Engineering Technology for Utilization of Functional Ingredients from Botanicals;

<sup>3</sup>Science College of Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

**Abstract:** This study was to investigate the optimum extraction conditions of essential oil from *jasmine* flower buds and antioxidant of the extraction by supercritical CO<sub>2</sub> extraction, and the comprehensive utilization of jasmine flower bud resources was realized. Firstly, the effects of entrainer dosage, raw material particle size, extraction pressure, extraction temperature and dynamic extraction time on the extraction yields of jasmine essential oil were investigated by single-factor experiment combined with central combination design method of Box-Behnken. The compositions and relative contents of volatile oil were analyzed by GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometer). Finally, the ability of essential oil to scavenge DPPH free radicals and reduce iron ions were evaluated. The results showed that the optimum extraction parameters were as follows: entrainer ethanol dosage 0.2 mL/g, particle size 40 mesh, extraction pressure 20 MPa, extraction temperature 46 °C, dynamic extraction time 1.6 h. Under this condition, the yield of jasmine essential oil was 13.67%, which was much higher than SDE (simultaneous distillation extraction) (2.87%) and UAE (ultrasonic assisted extraction) (2.45%). The main compositions of aroma of essential oil extracted by supercritical carbon dioxide extraction were basically as the same with jasmine flowers. According to the antioxidant activity experiment, the essential oil has good ability to scavenge free radicals and reduce iron ions. The experiment has proved that the extraction of jasmine buds by supercritical extraction technology can get high quality of jasmine essential oil, which can provide a reference for its comprehensive utilization of resources.

收稿日期: 2018-12-13 接受日期: 2019-05-06

基金项目: 2018 年湖南省研究生科研创新项目 (CX2018B420)

\* 通信作者 E-mail: arkin-liu@163.com

**Key words:** supercritical CO<sub>2</sub> extraction; essential oil; jasmine flower buds; response surface optimization; antioxidant activity

茉莉花是一种典型的气质花,开花时具有浓郁的香气,因而被用于传统茉莉花茶窈制原料<sup>[1,2]</sup>。茉莉花不仅富含乙酸苜酯、芳樟醇、苯甲醇、吡啶、邻氨基苯甲酸甲酯等芳香物质,还具有生物碱、黄酮类化合物,因此具有理气、开郁、抗疲劳、舒血管、抗氧化活性等生理活性<sup>[3,4]</sup>。在茉莉花人工采摘过程中,许多青蕾、白蕾不可避免的一起被采摘下来。但由于开放程度低、香气含量少,无法用于茉莉花茶的窈制而被筛选出来,导致大量青蕾、白蕾浪费的现象。

传统茉莉花精油的提取一般采用水蒸气蒸馏法、溶剂萃取法、同时蒸馏萃取法等,这些方法存在提取时间长、提取产率低、溶剂残留、热敏性成分易被破坏等问题<sup>[5]</sup>。因此,人们对于改善茉莉精油提取工艺进行了研究。程淑华<sup>[6]</sup>等采用椰壳活性炭吸附与亚临界萃取茉莉头香精油,其组成与天然茉莉花香气成分相符,能获得品质较好的茉莉花精油。但是提取过程受到鲜花开放时间及产地的限制,整个工艺流程较为复杂。超临界流体萃取技术(supercritical fluid extraction, SFE)是近 30 年来具有萃取分离双重功能的一种技术,具有萃取能力强、选择性好、收率高、生产周期短、不损坏热敏性物质、工艺简单、操作参数易于调控、整个过程无溶剂残留等优点,用于名贵香精的提取,能有效萃取得到高品质产品<sup>[7]</sup>。何茂春<sup>[8]</sup>等研究发现利用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取所得到的茉莉浸膏不论是从得率还是其它各项指标均明显优于石油醚萃取得到的浸膏。

本文优化了超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取茉莉花蕾中精油的工艺条件,分析其组成及相对含量,测定其清除 DPPH 自由基和还原铁离子能力,发现所得精油产量高、抗氧化活性好、香气成分与茉莉鲜花主要成分相近,为茉莉花蕾的综合利用提供了科学依据。

## 1 材料与仪器

茉莉干花蕾(广西横县);无水乙醇、石油醚、乙醚、硫酸亚铁、30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(AR. 国药集团化学试剂有限公司);抗坏血酸、三氯乙酸(阿拉丁试剂公司);2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)(alfa aesar 公司);He(纯度 >99.999%);CO<sub>2</sub>(纯度 >99.9%)。

同时蒸馏萃取装置(自制);HA-22-50-01 型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取装置(江苏南通华安超临界萃取公司);液晶超声波清洗仪(昆山洁力美超声仪器有限

公司);手动 SPME 进样器、65 μm PDME/DVB 固相微萃取头、50/30 μm DVB/CAR/PDMS 估下微萃取头(美国 Supelco 公司);7890B 气相色谱 7000C 质谱联用仪(GC/MS, 美国 Agilent 公司);AE240 型电子天平(瑞士 Mettler 公司);LDP-350 型高速多功能粉碎机(浙江永康市红太阳机电有限公司);紫外分光光度计(日本岛津公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取

考察不同单因素(夹带剂添加量、花粉颗粒大小、萃取压力、温度、动态萃取时间)对精油产率的影响。首先,调节萃取压力 23 MPa,静态萃取 1 h。静态萃取结束后,调节压力为设定值,开始循环。萃取时,固定分离 1 压力 6 MPa、温度 40 ℃;分离 2 压力 4 MPa、温度 30 ℃,以无水乙醇为夹带剂。萃取结束后,分别从分离 1 和分离 2 底部收集黄绿色半透明油状萃取物,无水硫酸钠干燥过夜,得到黄绿色油状物,称重并计算提取产率,具体公式如下:

$$\text{精油产率}(\%) = \frac{M(\text{茉莉精油})}{M(\text{茉莉花粉})} \times 100\%$$

### 2.2 响应面实验设计

在单因素试验的基础上,初步确定了夹带剂用量、原料颗粒大小、压力、温度和动态萃取时间的最佳范围。采用 Dsign-Expert. V8. 0. 6 设计三因素三水平 Box-Behnken 响应面方法来确定精油生产中提取变量的最佳组合。在单因素实验基础上,根据不同因素对精油产率变化趋势大小,确定关键变量萃取压力(MPa, A<sub>1</sub>)、萃取温度(℃, B<sub>2</sub>)和动态提取时间(h, C<sub>3</sub>)对茉莉精油得率的影响,实验设计如表 1 所示。

表 1 响应面设计的因素和水平

Table 1 Factors and levels of response surface design

水平 Level	因素 Factors		
	压力 Pressure (MPa)	温度 Temperature (℃)	时间 Time (h)
1	25	50	3
0	20	45	2.5
-1	15	40	2

### 2.3 其它方法提取茉莉精油

#### 2.3.1 同时蒸馏萃取法提取茉莉精油

同时蒸馏萃取(simultaneous distillation extrac-

tion)法参考文献<sup>[9]</sup>,略微修改:称取 50.0 g 40 目茉莉花粉于 1 000 mL 圆底烧瓶中,加入 500 mL 沸水并加热,量取 25 mL 重蒸乙醚于 100 mL 圆底烧瓶置于 50 °C 恒温水浴中,提取 45 min,收集乙醚层,冷冻过夜除去水分,除去乙醚,获得精油。称重,计算提取产率,样品保存于冰箱,用于 GC-MS 检测。

### 2.3.2 超声辅助提取茉莉精油

超声辅助提取(ultrasonic assisted extraction)法参考文献<sup>[10]</sup>,略微修改:准确称取 10.00 g 40 目茉莉花粉,置于 250 mL 具塞锥形瓶中,以石油醚为溶剂,按照料液比 1:10(g:mL)添加溶剂置于超声波处理器,提取 45 min,过滤去除滤渣,除去溶剂,获得精油。称重,计算提取产率,样品保存于冰箱,用于 GC-MS 检测。

### 2.3.3 顶空固相微萃取茉莉精油

顶空固相微萃取(headspace solid phase mic-extraction)参考文献<sup>[11]</sup>,略微修改:称取 40 目花粉 5.00 g,放入 50 mL 顶空瓶,立即密闭瓶口,50 °C 加热萃取 45 min 后,用于 GC-MS 检测。

35 °C 凌晨 2 点茉莉鲜花香气检测采用同样方法收集香气,再进样 GC-MS 检测分析。

## 2.4 GC-MS 分析

GC 条件:色谱柱 HP-5MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),载气为氦气(纯度 > 99.999%),进样口温度 250 °C,柱流速 1 mL/min,脉冲分流 1:5;起始温度 40 °C,保持 3 min,以 3 °C/min 升至 100 °C,以 5 °C/min 升温至 180,以 15 °C/min 升温至 280 °C,保持 2 min,溶剂延迟 2 min。

MS 条件:离子源 EI,离子源温度 230 °C,接口温度 250 °C,EI 源能量 70 eV,电子倍增压力:1 188 V,质量扫描范围 40 ~ 550 amu。

在相同的操作条件下,相对于 n-烷烃系列(C<sub>9</sub>-C<sub>27</sub>)的保留指数进行测定。芳香挥发物的成分是通过与标准共注射确定,并使用 Wiley(version)和国家标准与技术研究所(NIST08)的 GC-MS 库和文献中提供的保留指数进行确认。通过对色谱图面积积分,对化合物进行相对定量分析。

## 2.5 茉莉精油清除 DPPH 能力测定及还原铁离子能力测定

2.5.1 茉莉精油清除 DPPH(2,2-联苯基-1-苦基肼基)能力测定

DPPH 清除能力参考文献<sup>[12]</sup>。具体计算公式如下:

$$\text{DPPH 清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

其中 A<sub>0</sub>:无水乙醇与 DPPH 混合后的吸光值;A<sub>1</sub>:试样与 DPPH 混合反应后的吸光值;A<sub>2</sub>:各浓度试样与乙醇混合后的吸光值。

### 2.5.2 茉莉精油还原铁离子能力测定

还原铁离子能力测定参考文献<sup>[13]</sup>。以普鲁士蓝 Fe<sub>4</sub>(Fe(CN)<sub>6</sub>)生成量作为指标,在 700 nm 处测定相应的吸光值(选择不加试样做参比),以 V<sub>C</sub> 作为对照。

## 3 结果与讨论

### 3.1 超临界提取

#### 3.1.1 夹带剂添加量对提取效果的影响

乙醇是具有强烈亲核加成性质的极性物质,能与被萃取物形成氢键或改变被萃取物之间的范德华力,增强被萃取溶解性,通常用做超临界流体萃取的夹带剂,提高萃取效率<sup>[14]</sup>。本文考察了乙醇用量(0、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mL(乙醇)/g(干茉莉花蕾))对茉莉精油产率的影响,结果如图 1 所示。

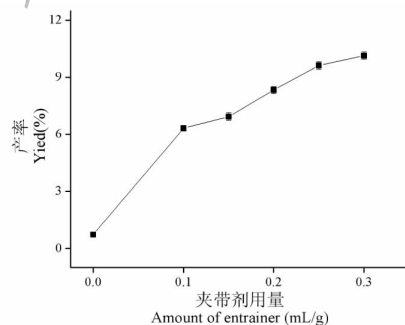


图 1 夹带剂对精油提取率的影响

Fig. 1 The effect of amount of entrainer on the extraction rate of essential oil

由图 1 可知,精油提取产率随着夹带剂的增加而呈现上升趋势,在本实验的最大用量(0.30 mL/g)时,精油产率达到最大值。当夹带剂用量超过 0.20 mL/g 时,精油产率增加趋势变缓;随着夹带剂的增加,一方面会降低样品浓度、增加样品除醇成本,另一方面增加夹带剂用量会增大体系的极性,提取较多杂质,降低精油品质。因此,选用 0.20 mL/g 夹带剂添加量进行后续实验。

#### 3.1.2 原料颗粒大小对精油提取效果的影响

在超临界萃取中,原料颗粒的大小与 CO<sub>2</sub> 的接触面积有关。本文考察了颗粒大小为(未粉碎样、

20、40、60、80 目)对精油萃取效果的影响,结果如图 2 所示。

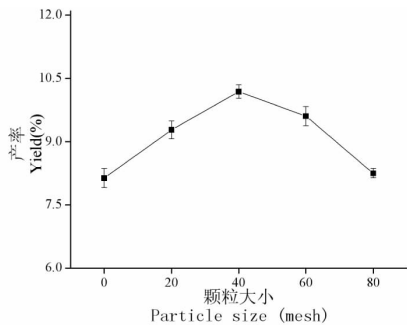


图 2 颗粒大小对精油提取率的影响

Fig. 2 The effects of raw material particle size on the extraction rate of essential oil

由图 2 可知,精油产率在颗粒大小为 0~40 目呈上升趋势,颗粒小于 40 目时,精油产率呈下降趋势。这可能是由于萃取物颗粒过大,流体与被萃取物接触面积小,萃取不完全,提取效果不理想;萃取物颗粒过小,原料堆积密度增大会使得局部受热不均,超临界流体经物料时易造成沟流(流体的线速度增大,摩擦发热,导致某些产物活性成分被破坏)、壁流等现象,两者接触面积不均匀,提取产率降低;部分细小颗粒会随着流体进入管道,造成堵塞<sup>[15]</sup>。因此,选择 40 目花粉进行下一步实验。

### 3.1.3 萃取压力对精油提取效果的影响

萃取压力是影响流体溶解度的关键因素之一。在前期优化参数的基础上考察萃取压力(10、15、20、25、30 MPa)对茉莉精油出油率的影响,结果如图 3 所示。

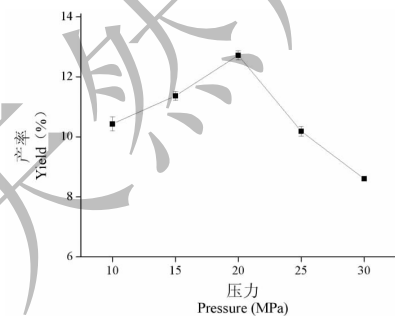


图 3 萃取压力对精油提取率的影响

Fig. 3 The effect of extraction pressure on the extraction rate of essential oil

从图 3 可以看出,压力低于 20 MPa 时,精油产率与压力呈现出正相关。压力增高,流体的密度必然变大,能增加精油在 CO<sub>2</sub> 中的溶解度。压力高于

20 MPa 时,精油产率与压力呈现出负相关。流体的扩散性和对流性有所下降,传质速率降低,使得茉莉精油的产率呈现负增长。考虑到在实际生产过程中,压力过高,会对仪器造成一定程度的机械损坏,设备的维修成本或者对设备的材质要求变高,还会导致一系列安全隐患<sup>[16]</sup>。因此,选择 20 MPa 萃取压力进行下一步实验。

### 3.1.4 萃取温度对精油提取效果的影响

31.06 °C 是 CO<sub>2</sub> 超临界状态。实验探究了萃取温度(35、40、45、50、55 °C)对茉莉精油提取效果的影响,结果如图 4 所示。

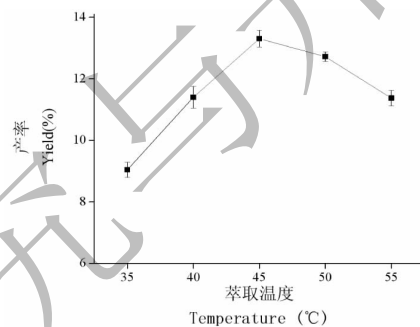


图 4 萃取温度对精油提取率的影响

Fig. 4 The effect of extraction temperature on the extraction rate of essential oil

如图 4 可知,精油产率随着温度的增加而增加,45 °C 时达到最大值。出现这种情况的原因可能是温度升高,溶质萃取精油在流体中的热运动速度加快,相应的溶剂蒸汽压增大,精油的挥发性增强,在流体中的浓度上升,增加产率。随着温度进一步升高,精油产率有所下降。温度升高,CO<sub>2</sub> 密度降低,溶质的溶解度减弱,提取效果下降;还会萃取出茉莉精油中其他非精油成分(果胶、鞣质等),影响精油品质;在较高的温度下,不仅会使得精油中某些热敏性成分发生分解、变质、改性,改变精油产量和性质;还会增加设备的能耗、生产成本,不符合现代化产业发展模式<sup>[17]</sup>。因此,选择 45 °C 作为萃取压力中心点,进行下一步实验。

### 3.1.5 动态萃取时间对提取效果的影响

在前期优化结果基础上,进一步考察动态萃取时间为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h 对精油提取产率的影响,结果如图 5 所示。

从图 5 可以看出,精油产率随着时间的延长,精油提取越完全。当萃取时间到达 1.5 h 后,精油产

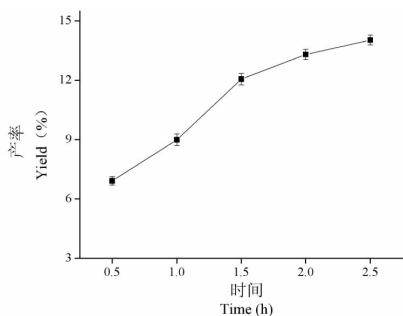


图5 动态萃取时间对精油提取率的影响

Fig. 5 The effect of dynamic extraction time on the extraction rate of essential oil

率增加趋势变缓。超临界萃取是一个动态的传质过

程,随着流体与溶质接触时间延长,有利于促进体系溶解平衡,增加提取产率;在萃取末尾阶段,提取率上升的速度会变得很缓慢。继续延长萃取时间,会增加能耗和生产成本,一些无效成分也可能被萃取出来,会影响产品的最终质量。因此,用 1.5 h 进行后续实验。

### 3.2 响应面优化超临界流体萃取参数

根据 Box-Behnken 设计(BBD),采用响应面法(RSM)对超临界流体萃取参数进行优化。基于单因素试验结果,选择三个对精油萃取效率最大自变量进行试验设计。不同实验组合的响应值(产油率)如表 2 所示。

表 2 茉莉干花蕾产油率的 BBD 矩阵及响应值

Table 2 BBD matrix and the response values for the oil yields of dried jasmine flower buds

试验号 Run	水平 Level			产率 Yield (%)	
	A	B	C	实验值 Experimental	预测值 Predicted
1	15	40	1.5	10.57	10.56
2	25	40	1.5	11.05	11.01
3	15	50	1.5	11.61	11.65
4	25	50	1.5	11.95	11.96
5	15	45	1.0	11.74	11.71
6	25	45	1.0	12.07	12.07
7	15	45	2.0	12.18	12.18
8	25	45	2.0	12.57	12.60
9	20	40	1.0	11.13	11.17
10	20	50	1.0	12.07	12.06
11	20	40	2.0	11.53	11.54
12	20	50	2.0	12.72	12.68
13	20	45	1.5	13.59	13.60
14	20	45	1.5	13.60	13.60
15	20	45	1.5	13.65	13.60
16	20	45	1.5	13.62	13.60
17	20	45	1.5	13.57	13.60

通过对实验数据进行多元回归分析,可以通过以下二阶多项式方程得到预测的精油产率 Y:

$$\text{产率}(\%) = 13.60 + 0.19A + 0.51B + 0.25C - 0.035AB + 0.015AC + 0.063BC - 1.01A^2 - 1.29B^2 - 0.45C^2$$

其中 A, B, C 分别为测试变量的编码因子,萃取

压力、萃取温度、动态萃取时间。

BBD 实验结果的方差分析如表 3 所示, P 值为 0.000 1,说明模型是有效的。失拟项 P 大于 0.05,说明模型没有失拟,  $R^2 = 0.999 5$ ,  $R_{\text{adj}} = 0.998 8$ ,说明该方程对试验拟合好,试验误差小,信噪比  $\text{Adeq Precision} = 112.050 > 4$ ,说明该模型响应信号强,回

表 3 二元多项式模型的估计回归系数和实验结果方差分析(ANOVA)

Table 3 Estimated regression coefficient for the quadratic polynomial model and the analysis of variance (ANOVA) for the experimental results

参数 Parameter	估计系数 Coefficient estimate	标准差 Standard error	平方和 Sum of square	自由度 DF	均方 Means square	F 值 F-value	Prob > F	显著性 Significant
模型 Mode			16.22	9	1.80	1 440.53	< 0.000 1	**
截距 Intercept	13.60	0.016		1	0.30			
A	0.19	0.013	0.30	1	2.07	237.02	< 0.000 1	**
B	0.51	0.013	2.07	1	0.50	1 655.54	< 0.000 1	**
C	0.25	0.013	0.50	1	4.900E-003	395.78	< 0.000 1	**
AB	-0.035	0.018	4.900E-003	1	9.000E-004	3.92	0.088 3	
AC	0.015	0.018	9.000E-004	1	0.016	0.72	0.424 3	
BC	0.063	0.018	0.016	1	4.32	12.49	0.009 5	*
A <sup>2</sup>	-1.01	0.017	4.32	1	7.01	3 452.89	< 0.000 1	**
B <sup>2</sup>	-1.29	0.017	7.01	1	0.83	5 604.36	< 0.000 1	**
C <sup>2</sup>	-0.45	0.017	0.83	7	1.251E-003	667.40	< 0.000 1	**
残差 Residual	8.755E-003		8.755E-003	3	2.425E-003			
失拟 Lack of fit	7.275E-003		7.275E-003	4	3.700E-004	6.55	0.050 5	
纯误差 Pure error	1.480E-003		1.480E-003	16	2.930E-003			
R <sup>2</sup>	0.999 5			Adj R <sup>2</sup>	0.998 8			
变异系数 c. v%	0.29			Pred R <sup>2</sup>	0.992 7			
预测残差平方和 Press	0.12			信噪比 Adep precision	112.050			

注: \*  $P < 0.05$  表示差异显著, \*\*  $P < 0.001$  表示差异极显著;

Note: \*  $P < 0.05$  indicates that the difference is significant, \*\*  $P < 0.001$  indicates that the difference is extremely significant.

归方程拟合度好,可进行真实值的分析和预测试验结果。变异系数(C.V)低于5%,说明该模型是可重复的。从各因素显著性水平差异可知,萃取压力A、萃取温度B、动态萃取时间C对超临界CO<sub>2</sub>对茉莉精油产率影响存在极显著差异;萃取压力A、萃取温度B、动态萃取时间C的二项式对精油产率也存在极显著性水平;BC存在显著关系,其它交互影响均不存在显著性差异。

从响应面图可见各因素对响应值的影响:响应曲面的走势及坡度可体现试验因素对响应值的影响。图6(c)响应面曲线陡峭,等高线密集、形状呈现出椭圆形,表明萃取温度(B)与动态萃取时间(C)相互作用极显著;图6(b)与图6(c)相比,响应面走势较为平缓、等高线较为稀疏,形状为椭圆形,结合多元回归方程,AC、BC的回归系数均为正,AC、BC存在相互作用,且AC(0.015)小于BC(0.063),说明萃取压力(A)与动态萃取时间(C)存在相互作用,但弱于萃取温度(B)和动态萃取时间(C)的相互作用;图6(a)响应面曲线走势平缓、等

高线稀疏,形状为圆形,结合多元回归方程,AB回归系数为-0.035,表明萃取压力(A)与萃取温度(B)之间相互作用不明显。

通过软件Dsign-Expert. V8.0.6分析得到最优值提取压力20.47 MPa,萃取温度46.07 °C,动态萃取时间1.65 h,在此条件下,茉莉精油的预测值为13.70%。考虑到实验的可操作性,调整实验参数为:萃取压力20 MPa、萃取温度46 °C、动态萃取时间1.6 h,并在此条件下进行3次验证实验。验证实验得到的平均值为13.67% ( $n = 3$ ),与预测值(13.70%)接近,进一步验证了响应模型的准确性,能够反映预测超临界萃取茉莉花蕾的出油率。

### 3.3 SEF 提取茉莉花蕾精油的优势

#### 3.3.1 产率与外观

本文比较了SEF、SDE、UAE三种方法提取茉莉花蕾精油的产率及外观。结果表明,SFE在夹带剂用量为0.20 mL/g、颗粒大小40目、萃取压力20 MPa、萃取温度46 °C、动态萃取时间1.6 h时,可获得13.67%的精油(黄绿色),远高于SDE的2.87%

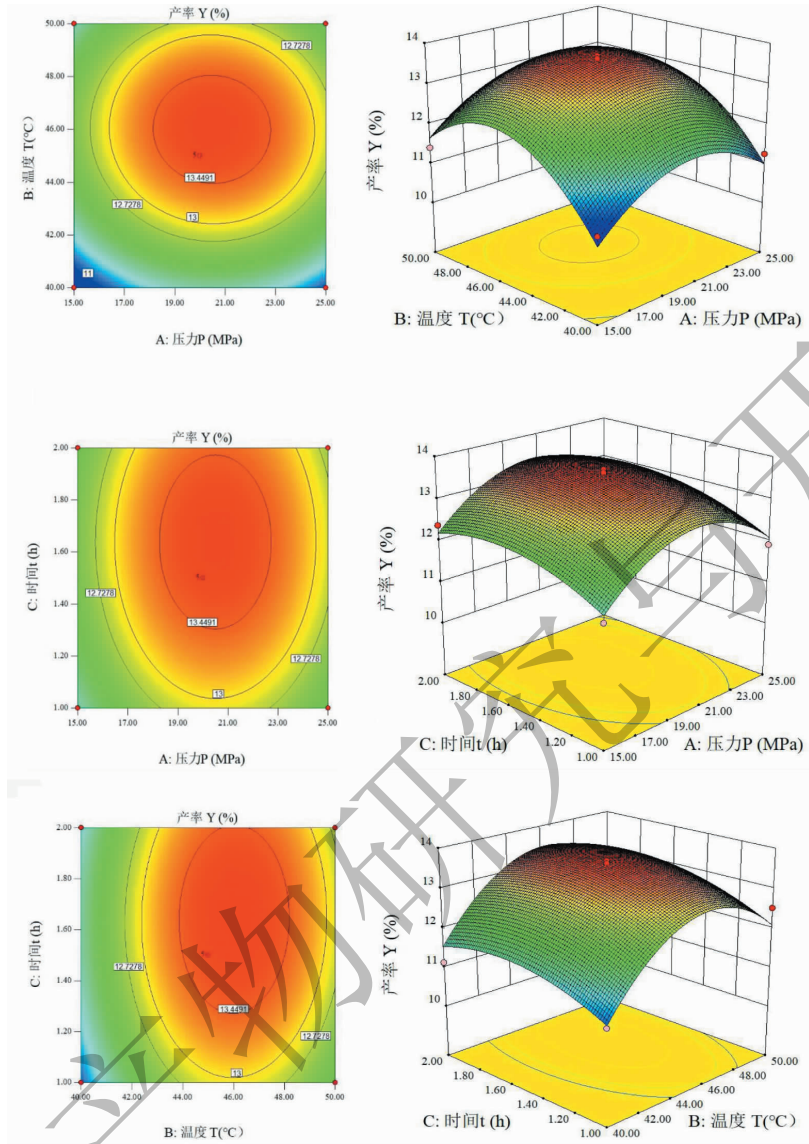


图6 萃取压力(A)、萃取温度(B)和动态萃取时间(C)对茉莉精油提取率的等值线图和响应面图  
Fig. 6 Response surface plots and contour plots of the oil yields affected by extraction pressure (A), extraction temperature (B) and dynamic extraction time (C)

和 UAE 的 2.45%。而且 SED 和 UAE 提取得到的茉莉精油呈绿色,与市场上出售的茉莉精油(黄色)不同,可能是在提取过程中石油醚、乙醚提取出花蕾中色素类物质。

### 3.3.2 精油的 GC-MS 分析

为了考察 SFE 萃取的精油品质,本文以凌晨 2 点 35 °C 环境下培养的茉莉鲜花为对照样品,以 GC-MS 法分析了鲜花及茉莉花蕾的 SFE、SDE、UAE 及 HSPME 萃取所得精油样品的组成及相对含量。结果显示,鲜花的香味物质主要有 7 种,几种茉莉花蕾的精油提取物的结果如表 4。

不同状态下的茉莉花香气组成和含量有所差异,香气是在开放过程中逐步释放出来,主要成分有芳樟醇、吡嗪、邻氨基苯甲酸甲酯等芳香物质<sup>[3,18]</sup>。由表 4 可知,SFE、SDE 所提取得到的精油与鲜花检测出成分在组成上相同,只是含量上较鲜花有所差异。这是可能由于提取原料为花蕾,其香气物质含量与鲜花含量本身存在差异性,并且花蕾经烘干后香气含量也会存在一定损失。超临界萃取得到的茉莉花精油中苯甲醇含量(26%)远高于其它几种方法中的含量。芳樟醇、吡嗪在茉莉香气起重要作用,在鲜花中含量高达 62.33%、25.74%,相同原料在

表 4 SFE, SDE 和 UAE 对茉莉精油主要成分的影响

Table 4 SFE, SDE and UAE on main components of jasmine essential oil

化合物 Compound	鲜花 Flower (%)	SFE (%)	SDE (%)	UAE (%)	HAPME (%)
苯甲醇 Benzyl alcohol	5.38	26	1.89	1.511	23.2
芳樟醇 Linalool	62.33	3.58	2.75	0.67	25.5
吲哚 Indole	25.74	7.03	1.08	1.55	5.37
2-氨基苯甲酸甲酯 Methyl 2-aminobenzoate	8.65	5.29	2.32	0.67	3
α-法呢烯 α-Farnesene	28.72	7.44	12.58	6.66	15.86
苯甲酸苄酯 Benzyl benzoate	0.28	7.46	2.09	2.08	-
α-杜松醇 α-Dansole	0.14	2.43	0.96	-	-

注: - 表示该物质未检测出来。

Note: - Indicate that the substance has not been detected.

不同提取条件下,顶空固相微萃取法提取效果理想,其次是超临界萃取得到的精油,但是顶空固相微萃取目前仅用于香气物质检测前处理,不能用于大规模工业生产。α-法呢烯是构成茉莉鲜花清香的重要组成部分,SFE 提取精油中检测出较高含量的 α-法呢烯。苯甲酸苄酯是茉莉精油中一个典型的香气物质,也是茉莉花中主要的酯类成分<sup>[19]</sup>。SFE 精油中的苯甲酸苄酯含量高于鲜花含量,并且几乎是 SDE、UAE 法的 3 倍。SEF 提取精油中还检测出较高含量的 2.43% 杜松醇。综上所述,SFE 提取精油产率高,品质好,主要香气物质组成与鲜花一致。因此,SFE 更适用于茉莉花蕾中精油成分的提取。

### 3.4 茉莉精油清除 DPPH 能力及还原铁离子能力实验结果

#### 3.4.1 茉莉精油清除 DPPH 实验结果

为了测定茉莉精油自由基清除能力,以抗坏血酸(VC)为对照,进行 DPPH 自由基清除能力测定,结果如图 7 所示。

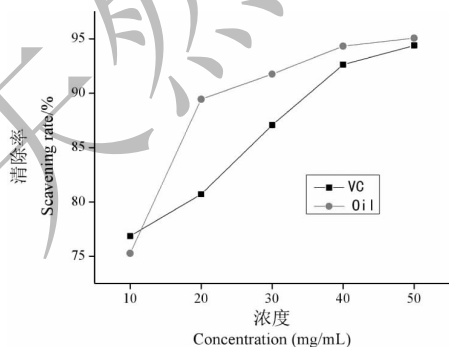


图 7 精油浓度对 DPPH 自由基清除能力

Fig. 7 Effect of essential oil concentration on

DPPH free radical scavenging ability

注:浓度单位:1 × 10<sup>-2</sup> mg/mL。

Note: Concentration unit: 1 × 10<sup>-2</sup> mg/mL.

由图 7 可知,茉莉精油浓度从 10 × 10<sup>-2</sup> mg/mL 增加到 20 × 10<sup>-2</sup> mg/mL 的过程中,DPPH 的清除能力逐渐上升,茉莉精油的 DPPH 自由基清除活性与其浓度呈现明显的效应关系。在这个过程中,DPPH 自由基清除能力从 75% 上升到 89%。当精油浓度继续增加至 50 × 10<sup>-2</sup> mg/mL 时,其 DPPH 自由基清除率趋势变缓,达 95%。可以看出,茉莉精油 DPPH 自由基清除活性总体强于对照样品 V<sub>C</sub>,除了低浓度时,茉莉精油清除率(75%)低于 V<sub>C</sub>(77%),其他浓度均高于 V<sub>C</sub> 清除率,视觉上 DPPH 溶液体系呈现出明显褪色变化。结果表明。在一定浓度下,茉莉精油具有较强抗氧化能力。

#### 3.4.2 茉莉精油还原铁离子能力实验结果

为了测定茉莉精油还原铁离子能力,以抗坏血酸(V<sub>C</sub>)为对照,进行实验测定,结果如图 8 所示。

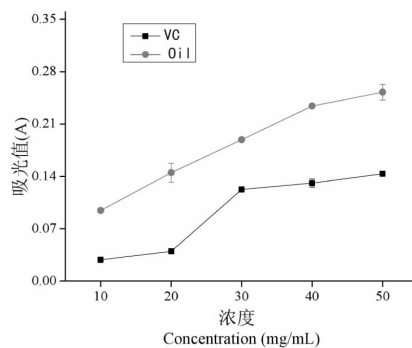


图 8 精油浓度对还原铁离子能力的影响

Fig. 8 Effect of essential oil concentration on the ability to reduce iron ions

注:浓度单位:1 × 10<sup>-2</sup> mg/mL。

Note: Concentration unit: 1 × 10<sup>-2</sup> mg/mL.

铁氰化钾在还原性条件下会还原成亚铁氰化钾,亚铁氰化钾在酸性条件下进一步与三氯化铁反



映,生成普鲁士蓝,在 700 nm 下出现吸收峰,通过测定其吸光值得到还原性物质的总还原能力<sup>[13]</sup>。还原力是抗氧化物提供电子能力的重要指标,抗氧化剂通过自身的还原作用给出电子而是使自由基变为稳定的分子,从而失去活性。吸光值的大小能反映出该物质的还原能力,吸光值越大,还原能力越强,抗氧化性越强<sup>[20]</sup>。由图 8 可知,铁离子还原能力与茉莉精油浓度呈现出明显的正相关,当茉莉精油浓度为  $50 \times 10^{-2}$  mg/mL 时,体系吸光值达 0.253,较  $2.5 \times 10^{-2}$  mg/mL 抗坏血酸(A 值为 0.144)强,这说明茉莉精油具有较强的抗氧化能力。

#### 4 结论

茉莉花蕾是茉莉花采摘过程中不可避免带来的未开放的花蕾,是茉莉花加工筛选中带来的副产物。但花蕾仍然含有香味物质,如能实现利用则具有重要的意义。本文以超临界 CO<sub>2</sub> 萃取茉莉花蕾中精油,考察了夹带剂用量、原料颗粒大小、萃取压力、萃取温度和动态萃取时间对精油收率的影响,进一步采用三水平 Box-Behnken(BBD)实验设计优化精油的提取工艺,并测定其清除 DPPH 自由基及还原铁离子能力。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取的最佳工艺参数为:以乙醇为夹带剂,用量为 0.2 mL/g,原料颗粒大小为 40 目,萃取压力 20 MPa,萃取温度 46 ℃,动态萃取时间 1.6 h,在此条件下茉莉精油的产率为 13.67%,与预测值 13.70% 接近,远高于同时蒸馏萃取法(2.87%)和超声辅助提取(2.45%)。进一步用 GC-MS 分析法比较了 SFE 法与几种常用精油提取方法所得精油的组成及相对含量。结果表明,SFE 法所得精油的香气主要组成与茉莉鲜花一致,并且具有较好的清除 DPPH 自由基能力和还原铁离子能力。SFE 是萃取茉莉干花蕾的精油的有效方法,为茉莉花蕾的综合利用与茉莉花茶产业化发展奠定基础。

#### 参考文献

- Dang CY, Guo SZ, Na HY, et al. Changes in chemical constituents and contents of essential oils in *Jasminum sambac* "unifoliatum" during flower development stages[J]. *J Trop & Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 2014, 22: 292-300.
- Chen ML, Zhang J, Gong SY, et al. Establishment of predictive model for quantitative analysis of major components in jasmine tea by near infrared spectroscopy (NIRS) [J]. *Tea Sci* (茶叶科学), 2013, 33(1): 21-26.
- Xu XY, Li AP, Zheng KF, et al. Research progress of aroma

- components and processing and application of jasmine flowers [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2017, 33: 159-164.
- Liang XJ, Huang XX, Lu M, et al. Study on anti-fatigue and hypoxia tolerance function of Jasmine leaves' water extract in mice [J]. *Chin J Clin Phar* (中国临床药理学杂志), 2017, 33: 1575-1577.
- Zhang LX, Wang YW, Li MJ, et al. Study on the quality of the jasmine fragrance oils by the different preparation methods [J]. *J Shangdong Agric Univ: Nat Sci* (山东农业大学学报: 自科版), 2002, 4: 399-402.
- Cheng SH, Ye QP, Xu XD, et al. Aroma components analysis of jasmine fragrant volatile oil based on application of subcritical extraction technology [J]. *Food Sci Technol* (食品科技), 2016, 41: 280-284.
- Daniela DA, Andrés HB, Martínez CH. Study of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of tamarillo (*Cyphomandra Betacea*) seed oil containing high added value compounds [J]. *Elec*, 2018, 1: 21.
- He GM, Liang ZY, Liu H. Study on chemical constituents of jasmine absolute extracted by supercritical carbon dioxide [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 1999, 10(3): 53-57.
- Shi MN. Research on analysis of the tea aroma using SDE improved method [D]. Hangzhou: Zhejiang University (浙江大学), 2014.
- Xie ZX, Chen LL, Zhang WZ, et al. The ultrasonic-assisted extraction technology and antioxidant of star anise volatile oil [J]. *Chin Con* (中国调味品), 2018, 43: 124-128.
- Lyu SD, Jiang DH, Yang F, et al. Analysis of aroma components between pu-erh ripe tea and anhua dark tea by headspace solid-phase microextraction and GC-MS [J]. *J Trop & Subtrop Bot* (热带作物学报), 2013, 8: 1583-1591.
- Miao YM, Sun JQ, Xu RH, et al. Optimization of the extraction process of polysaccharide from *Bublophyllum kwangtungense* and its antioxidant activity [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2019, 31: 1-11.
- Zhao L, Huang S, Jin Y, et al. Antioxidant effect of each part of ethanol extraction of *Rhamnella gilgitica in vitro* [J]. *Chin J of Exp Tradit Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2013, 19: 210-213.
- Cai XD. Application of ethanol entrainer in extracting active ingredients of TCM with supercritical CO<sub>2</sub> [J]. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), 2014, 53: 1245-1248.
- Xie QT. Research on optimization of processing parameters for supercritical carbon dioxide extraction of rose essential oil and comprehensive utilization of byproducts [D]. Changsha:

Central South University(中南大学),2013.

- 16 Sun ZJ. Study on the technology of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of lemon essential oil[D]. Xi'an: Northwest University (西北大学),2012.
- 17 Yang SW. Study on supercritical CO<sub>2</sub> fluid extraction and microencapsulation of ginger essential oil[D]. Tianjin: Tianjin University of Science & Technology(天津科技大学),2015.
- 18 Lu N, Wan XC, Pan D. extraction and analysis of jasmine tea aroma constituents of three different grades[J]. Food Sci(食品科学),2004,6:93-97.
- 19 Liu LH, Wang LS, Shen F, et al. Research progress on jasmine essential oil[J]. Pop Sci Technol(大众科技),2007,3:124-125.
- 20 Li JK, Li GX, Zhao YH, et al. Composition of pomegranate peel polyphenol and its antioxidant activities[J]. Sci Agric Sin(中国农业科学),2009,42:4035-4041.
- (上接第 1257 页)
- 13 Cui H, Xu B, Wu T, et al. Potential antiviral lignans from the roots of *Saururus chinensis* with activity against Epstein-Barr virus lytic replication[J]. J Nat Prod,2014,77:100-110.
- 14 Kasper AC, Moon EJ, Hu X, et al. Analysis of HIF-1 inhibition by manassantin A and analogues with modified tetrahydrofuran configurations[J]. Bioorg Med Chem Lett,2009,19:3783-3786.
- 15 Li M, Hou Y, Wang J, et al. Kinetics comparisons of mammol/Lalian Atg4 homologues indicate selective preferences toward diverse Atg8 substrates[J]. J Biol Chem,2011,286:7327-7338.
- 16 Perera RM, Stoykova S, Nicolay BN, et al. Transcriptional control of autophagy-lysosome function drives pancreatic cancer metabolism[J]. Nature,2015,524:361-365.
- 17 Khaminets A, Heinrich T, Mari M, et al. Regulation of endoplasmic reticulum turnover by selective autophagy[J]. Nature,2015,522:354-358.
- 18 Martinez J, Cunha LD, Park S, et al. Noncanonical autophagy inhibits the autoinflammol/Latory, lupus-like response to dying cells[J]. Nature,2016,533:115-119.
- 19 Kumanomidou T, Mizushima T, Komatsu M, et al. The crystal structure of human Atg4b, a processing and de-conjugating enzyme for autophagosome-forming modifiers[J]. J Mol Biol,2006,355:612-618.
- 20 Satoo K, Noda NN, Kumeta H, et al. The structure of Atg4B-LC3 complex reveals the mechanism of LC3 processing and delipidation during autophagy[J]. EMBO J,2009,28:1341-1350.
- 21 Fu YY, Wu YN, Yu X, et al. Virtual screening and *in vitro* activity studies of novel ATG4B inhibitors[J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报),2017,33:321-326.