

文章编号: 1674-8085(2016)04-0077-12

栀子花香精成分的超声提取工艺研究

王利国¹, *唐 灿²

(1. 四川医科大学附属中医医院, 四川, 泸州 646000; 2. 四川医科大学药学院, 四川, 泸州 646000)

摘 要: **目的** 优选栀子花香精成分的超声提取工艺。**方法** 采用超声波提取栀子花挥发油, 使用正交试验设计优选提取工艺方案, 以具有代表性的近 7.7 min 的共有色谱峰的化学成分含量为指标, 采用 $L_9(4^3)$ 正交试验表对提取溶剂用量、浸泡时间、超声提取时间、提取次数 4 个影响因素进行考察, 通过气相色谱仪进行提取物分析, 选取具有代表性的接近 7.7 min 的共有色谱峰进行对比。**结果** 其最佳工艺为: 采用无水乙醇提取, 栀子花与溶剂比为 1: 15, 浸泡时间 60 min, 超声提取时间为 60 min, 提取 2 次。**结论** 该方法操作简便, 重复性好, 栀子花提取物气味芳香, 可用于栀子花香精成分日化用品的提取制备。

关键词: 栀子花; 香精成分; 气相色谱法; 日化用品

中图分类号: R284.2

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2016.04.016

EXTRACTION PROCESS OF THE ESSENCE COMPONENTS FROM *GARDENIA JASMINOIDES* FLOWERS

WANG Li-guo¹, *TANG Can²

(1. The T.C.M Hospital Affiliated To Sichuan Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Pharmacy School, Sichuan Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

Abstract Objective: To optimize the extraction process of *Gardenia jasminoides* flowers by ultrasonic extraction. **Methods:** Using the ultrasonic extraction with the extraction components as index, the extracting process of *G. jasminoides* flowers was optimized by the orthogonal design. The following four factors were considered: amount of solvent, soaking time, extracting time and extraction times, and the essence contents of *G. jasminoides* flowers were determined by the common and characteristic chromatographic peak of GC around 7.787min. **Results:** The optimized extraction process of *G. jasminoides* flowers is using 15 times solvent of the flowers, soaking 60 min, extracting 60 min, and extracting twice. **Conclusion:** The extracting method is stable and easy to operate. The extraction is fragrant, and the solvent (alcohol) is harmless to human body. So it can be used for preparation of the daily cosmetic products of *G. jasminoides* flowers.

Key words: *Gardenia jasminoides* flowers; essence components; GC; daily cosmetic products

栀子花为茜草科植物栀子(*Gardenia jasminoides* Ellis)的花朵, 栀子 5 至 7 月开花, 花色洁白无瑕, 香气浓郁, 是我国著名的八大香花之一^[1,5,11]。栀子又名黄栀子、山枝子、大红栀(江苏)、白蝉(广东),

主产于湖南、江西、福建、浙江、四川、湖北、重庆, 全国大部分地区有栽培, 南方有野生。栀子系常绿灌木, 花单生于枝顶, 芳香, 花梗短, 萼管倒圆锥形, 有棱, 裂片线形。花冠未开时旋卷, 开放

收稿日期: 2016-01-06; 修改日期: 2016-05-06

基金项目: 四川省科技厅-泸州市政府-泸州医学院三方联合专项 (14ZC0045); 四川省科技支撑计划项目 (2010SZ0049, 2011SZ0048); 泸州市政府-泸州医学院联合专项 (2013LZLY-K69); 四川省教育厅重点科研项目 (2005A071)

作者简介: 王利国(1969-), 女, 四川泸州人, 主管药剂师, 执业药师, 主要从事临床药学工作(E-mail:tsswlg@163.com);

*唐 灿(1967-), 男, 四川广安人, 教授, 硕士生导师, 执业药师, 主要从事中药科学研究 (E-mail:Tang9670625@163.com)。

后呈高脚杯状, 5 至多裂, 初为白色, 后变为乳黄色。提取栀子黄色素的研究工作在我国早已开始, 并且逐步投入规模生产^[2]。植物精油是香料工业的重要原料和出口物质。栀子花具有一种令人非常愉快的香味, 目前关于栀子花香气成分的研究报道, 主要集中在栀子花挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用技术研究、栀子花挥发油超临界 CO₂ 萃取以及通过超临界 CO₂ 萃取分析其挥发油化学成分的分析等^[3]。栀子花精油水蒸汽蒸馏的提取因该方法受高温作用, 对栀子花精油头香影响很大, 得到的精油质量较差, 没有天然鲜花气息, 收率也低^[4]。然而对于栀子花超声提取工艺的优选研究较少, 市面上虽有少量栀子花香精成分的日用品, 但对此研究的文献甚少, 且大部分为成分含量分析。对于提取工艺优化的研究, 可以使我们提高挥发油提取效率, 以用于制备相关栀子花香味的日用化妆品, 增

加经济效益。有文献指出, 不同花期的栀子花的香气成分存在一定差异, 包括香气的特征以及香气的浓郁程度^[3]。本实验通过对超声提取工艺进行优选后, 还能对不同花期的香精成分进行对比, 为栀子花日用化妆品的开发利用提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

栀子花采自四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村和天仙镇天仙硐, 经课题组蒲清荣主任中药师鉴定品种为茜草科山栀子 (*Gardenia jasminoides* Ellis) 和大花栀子 (*G. J. var. grandiflora* Nakai.)。采摘后直接冷冻保存, 防止成分挥发。试验所用各栀子花品种、采集地与编号如表 1。

表 1 栀子花采集地、品种与编号

Table 1 Collection sites, varieties and serial numbers of Gardenia flowers

序号	采集地	品种	编号
1	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ1
2	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ2
3	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ3
4	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ4
5	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ5
6	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ6
7	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ7
8	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ8
9	四川省泸州市纳溪区大渡口镇和丰乡青龙村	山栀子	ZJ9

Agilent 7890A 气相色谱仪; Agilent DB-1701 弹性毛细管色谱柱 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm, -20 °C~280 °C); AS3120A 超声波清洗仪 (天津奥特赛恩斯仪器有限公司); 电子天平(上海民析精密科学仪器有线公司); 无水乙醇(分析纯), 重庆川东化工(集团)有限公司; 150 mL 磨口塞锥形瓶; 定量滤纸; 500 mL 烧杯; 5 mL、25 mL 容量瓶; 0.22 μm 微孔滤膜。

1.2 正交试验设计

以无水乙醇超声提取栀子花挥发性成分^[5]时, 溶剂用量、浸泡时间、超声提取时间、提取次数为

主要影响因素, 因此选取这 4 个因素, 各因素 3 个水平, 选用 L₉(4³) 正交试验表^[6-10], 结果见表 2。

表2 栀子花正交试验设计[L₉(4³)]

Table 2 The orthogonal design of Gardenia flowers [L₉(4³)]

编号	因 素			
	A.溶剂倍数/倍	B.浸泡时间/min	C.超声时间/min	D.提取次数/次
1	10	15	30	1
2	15	30	60	2
3	20	60	90	4

栀子花采摘后冰冻以防止挥发性成分挥发, 精密称取去冰栀子花 9 份, 计量如表 3。

表 3 各编号栀子花质量
Table 3 Weights of serial numbers of Gardenia flowers

编号	ZJ1	ZJ2	ZJ3	ZJ4	ZJ5	ZJ6	ZJ7	ZJ8	ZJ9
质量	5.0256	5.0437	5.0638	5.0823	5.0366	5.0022	5.0255	5.0348	5.0510

1.3 超声提取

按照正交试验设计，将称取好后编号 ZJ1~ZJ9 号的栀子花剪碎后按正交表 L9(43) 相应提取条件进行超声提取，提取液用定量滤纸过滤后合并于 500 mL 烧杯中，置于 30 ℃ 室温中挥发至低于 25 mL，将浓缩液转移至 25mL 容量瓶，并将烧杯润洗 5~6 次，合并润洗液至容量瓶中，定容至 25 mL 后转移至密封瓶中密封，低温保存备测。

1.4 GC 分析

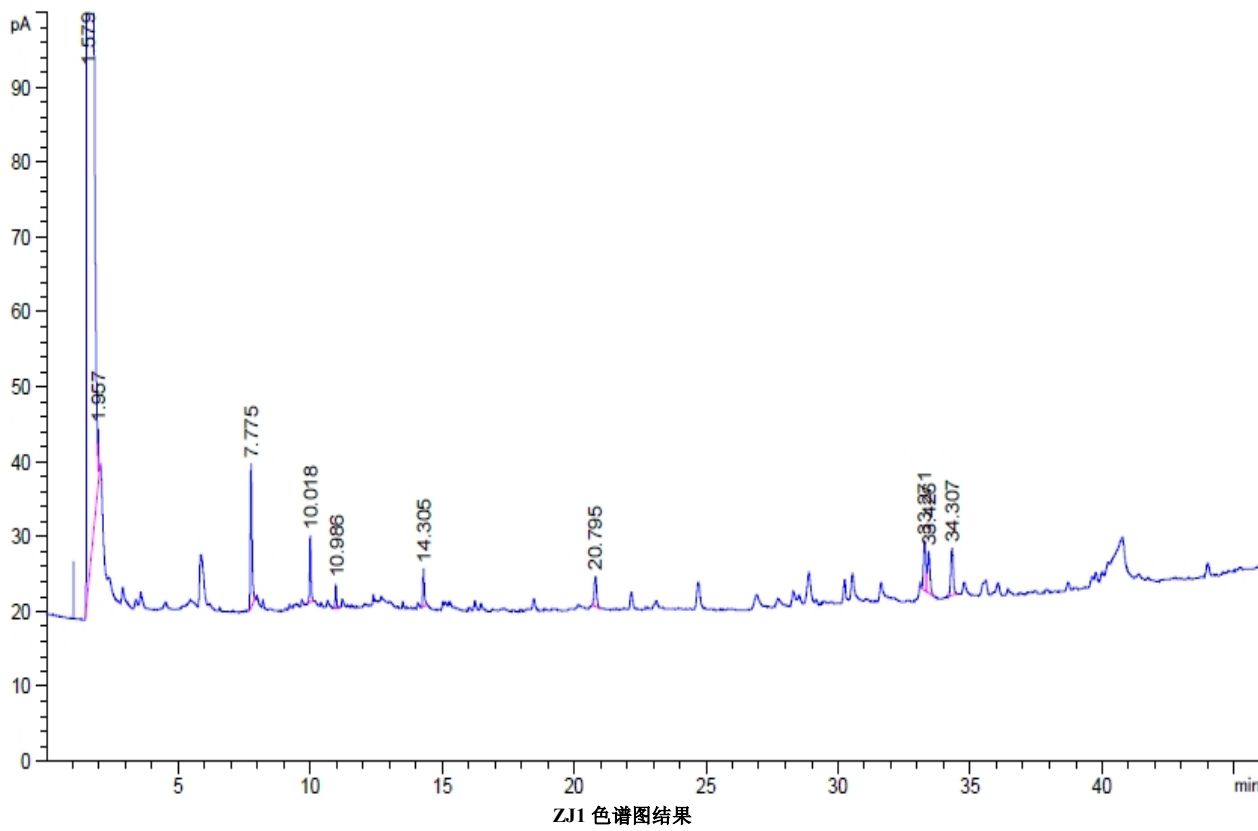
本实验样品使用 Agilent 7890A 气相色谱系统进行检测，色谱条件：Agilent DB-1701 毛细管柱（30 m × 0.32 mm × 0.25 μm，-20 ℃~280 ℃）；采用程序升温：初始温度 80 ℃ 保持 4 min，7 ℃/min

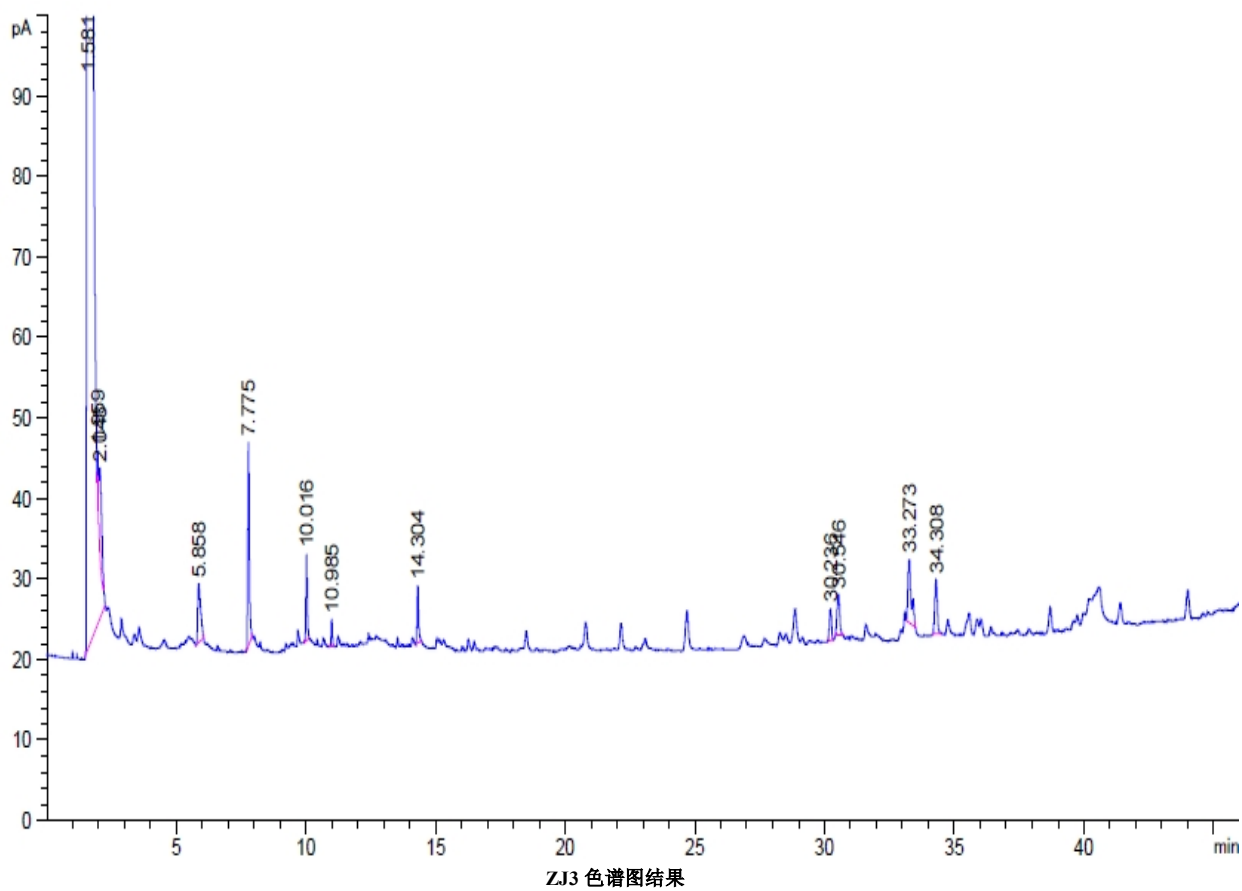
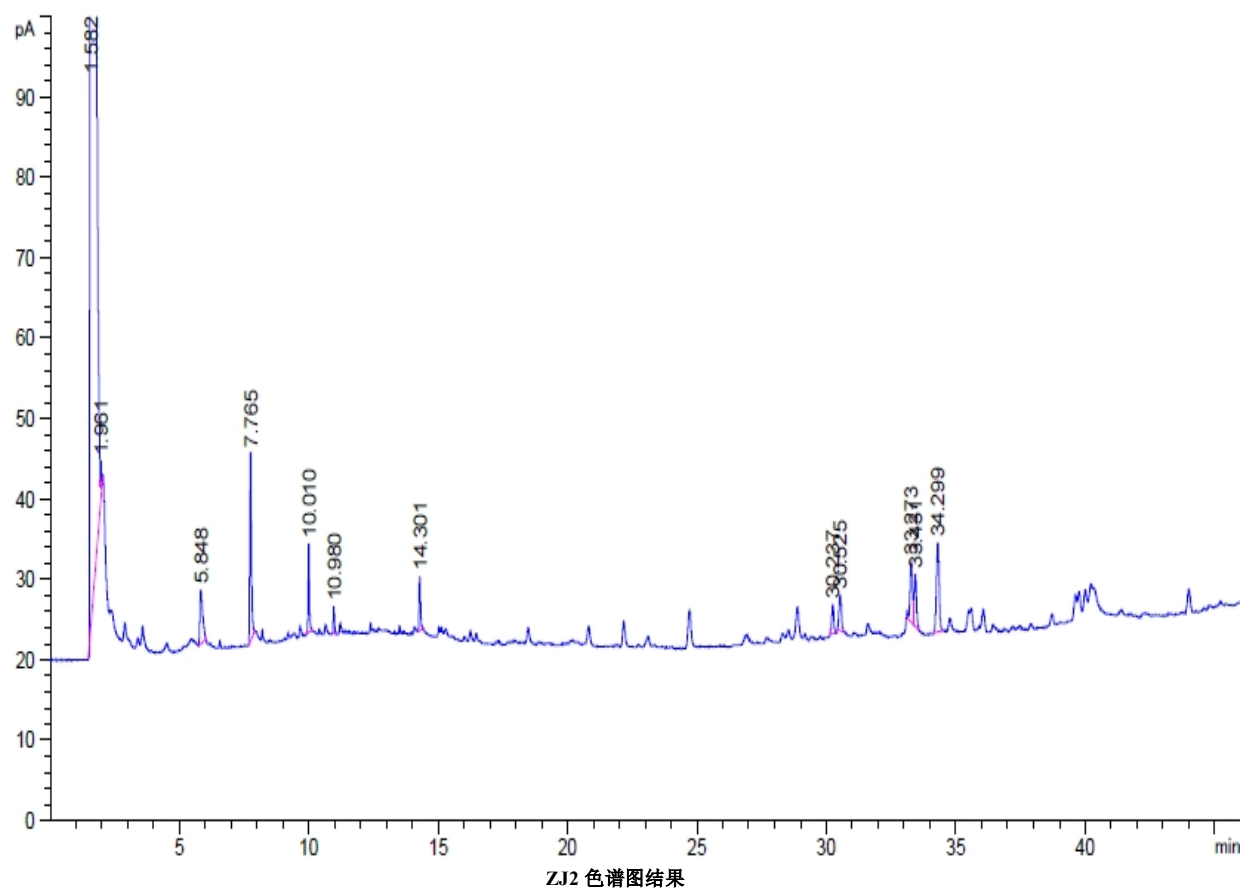
升至 143 ℃，保持 4 min，3 ℃/min 升至 160 ℃，保持 2 min，5 ℃/min 升至 190 ℃，保持 2 min，3 ℃/min 升至 230 ℃；载气为氮气；柱流量 2 mL/min；吹扫流量 3 mL/min；进样口温度 250 ℃；进样量 1 μL；分流比 4:1；FID 检测器；接口温度 280 ℃。每个样品经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后进样 3 次。

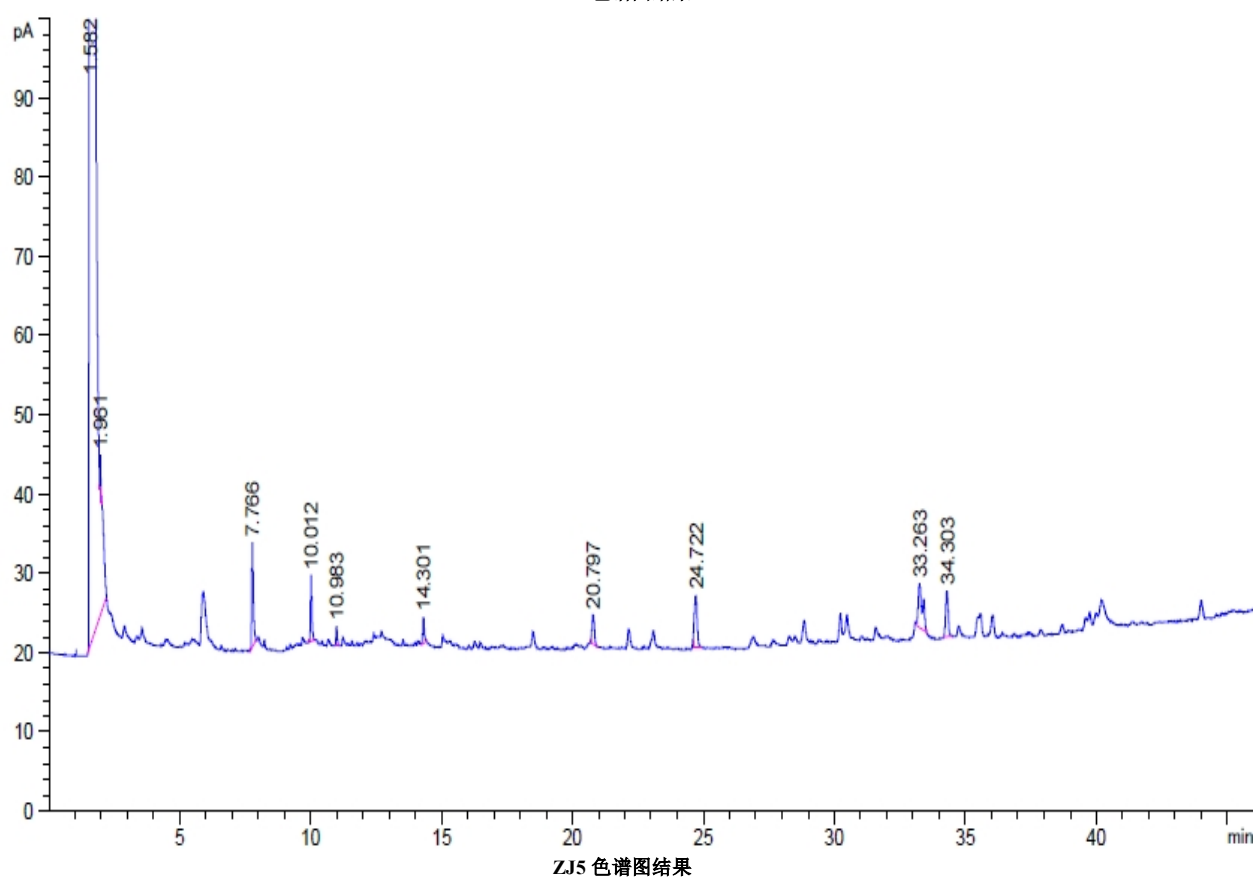
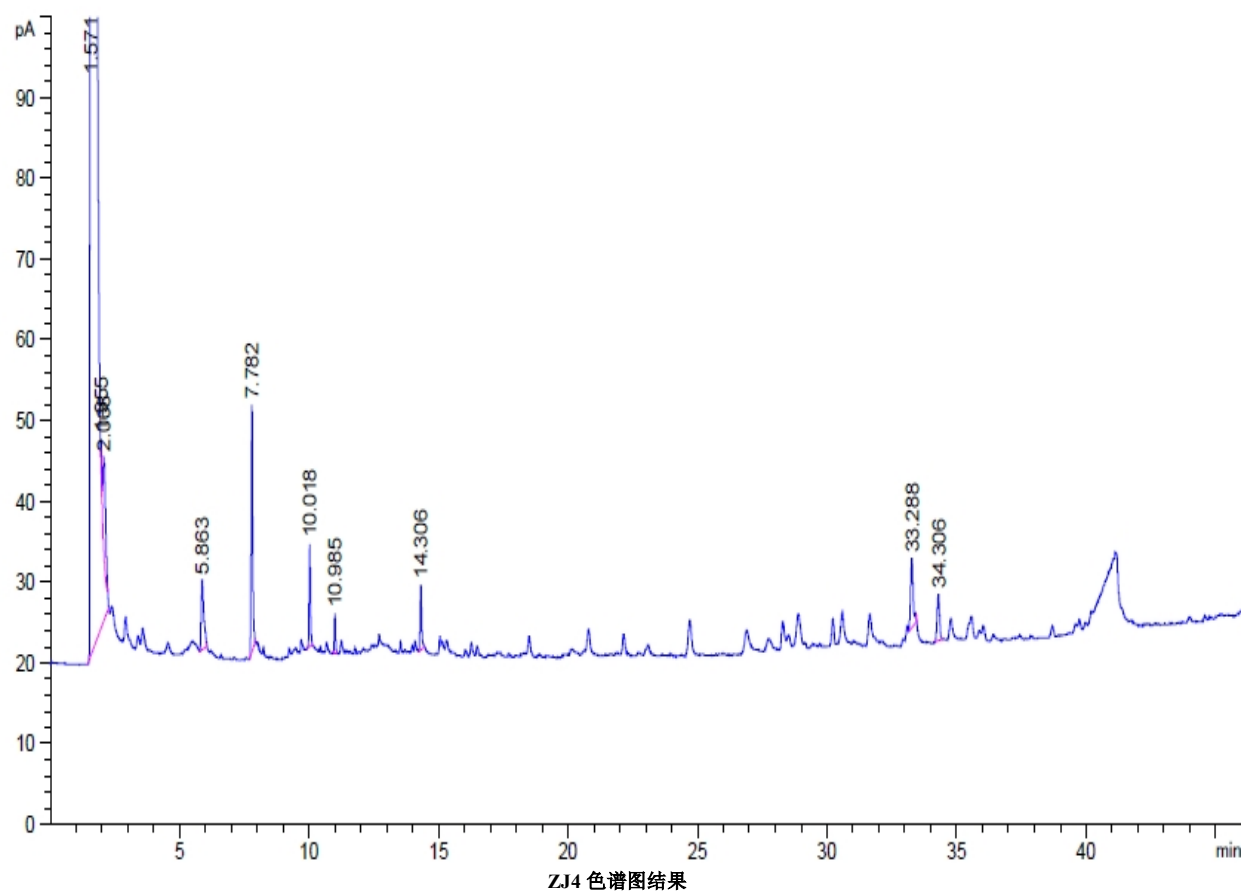
2 结果

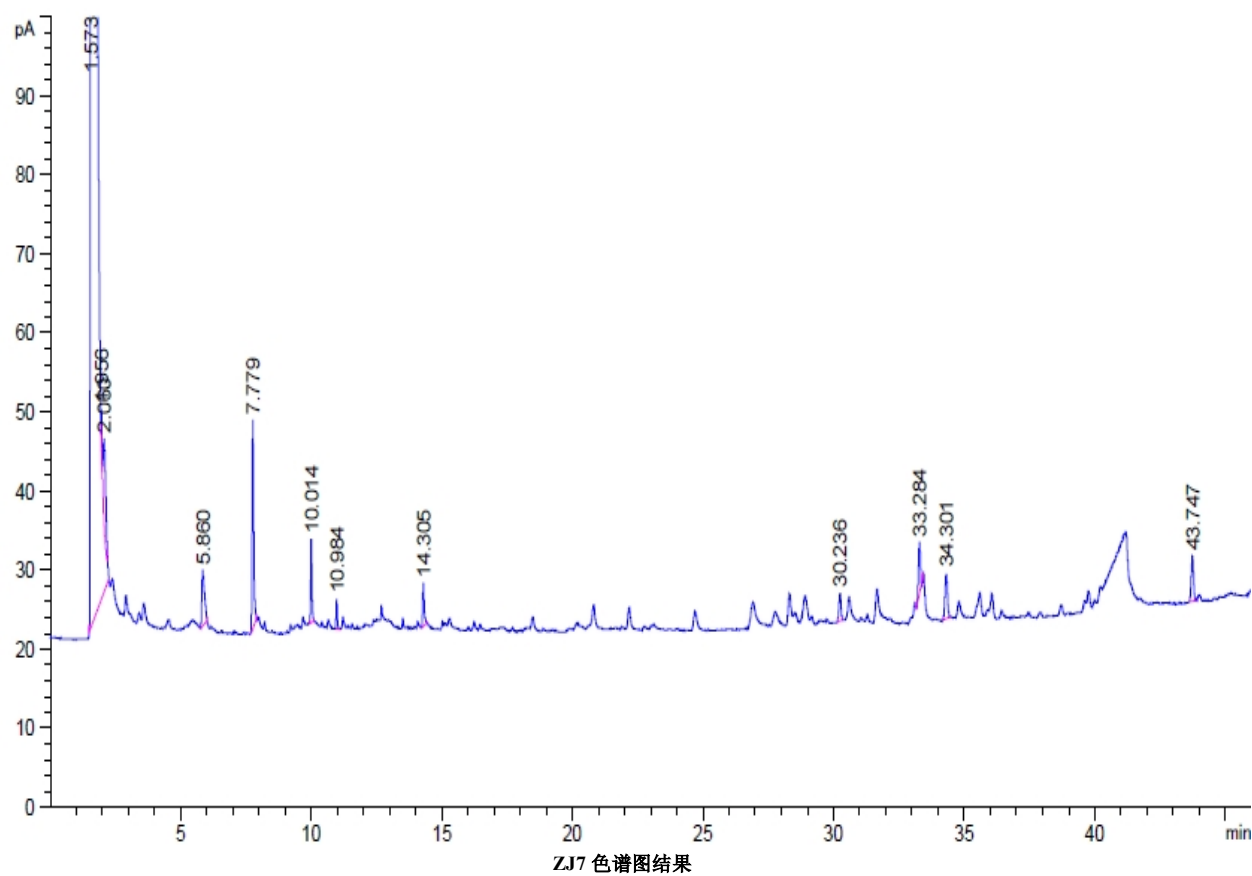
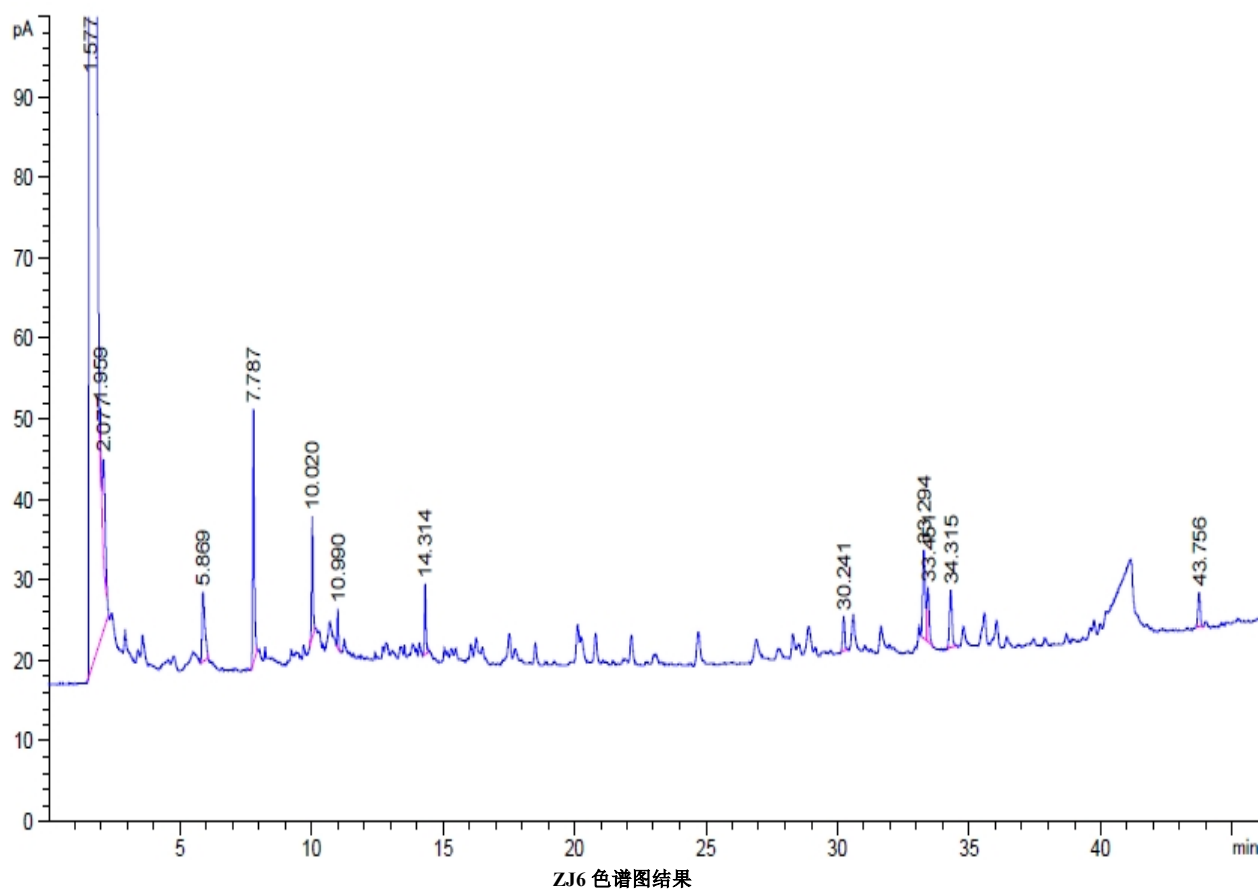
2.1 GC 色谱图结果

每个样品各选取一张色谱图，如图 1 所列，保留时间为 7.7 min 左右的色谱峰峰形较好，峰高最高，占峰面积比也大，因此选定此峰作为提取效率主要判定依据。









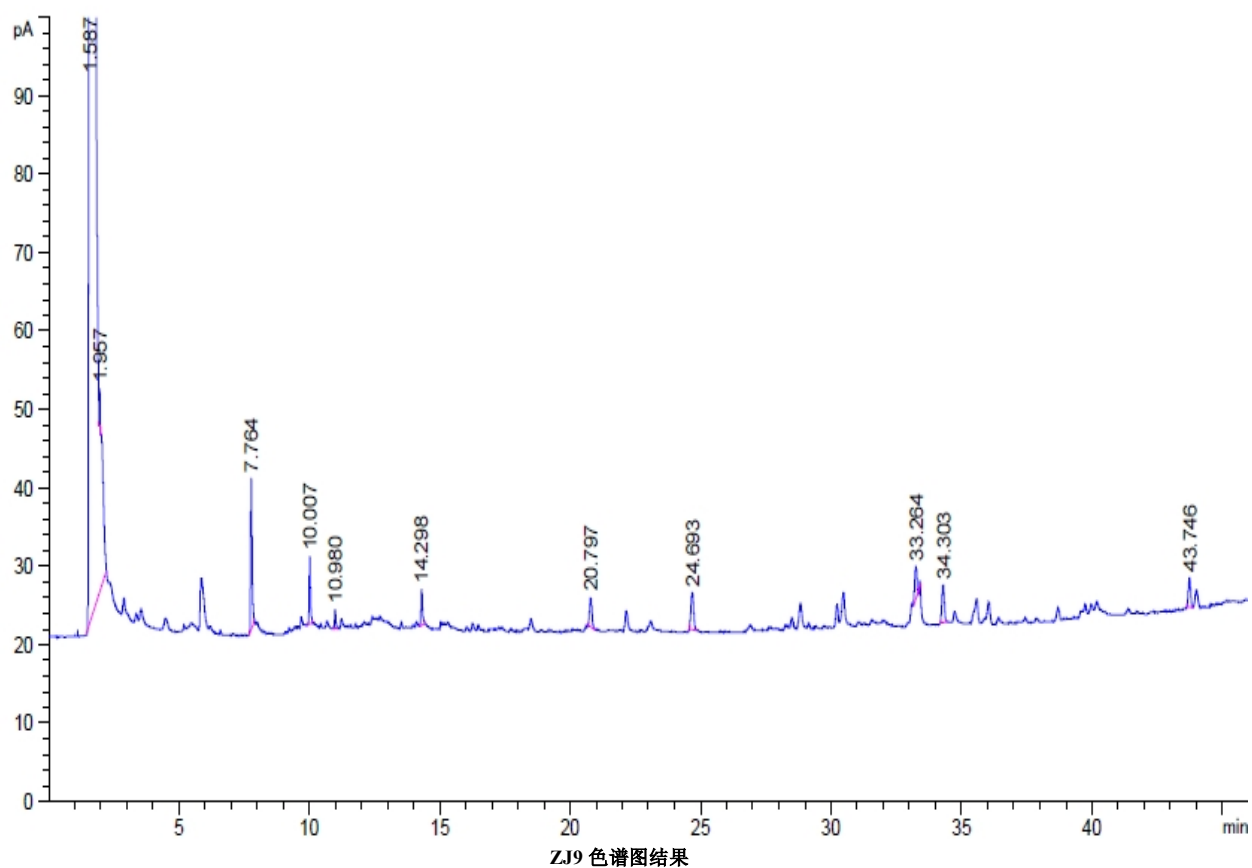
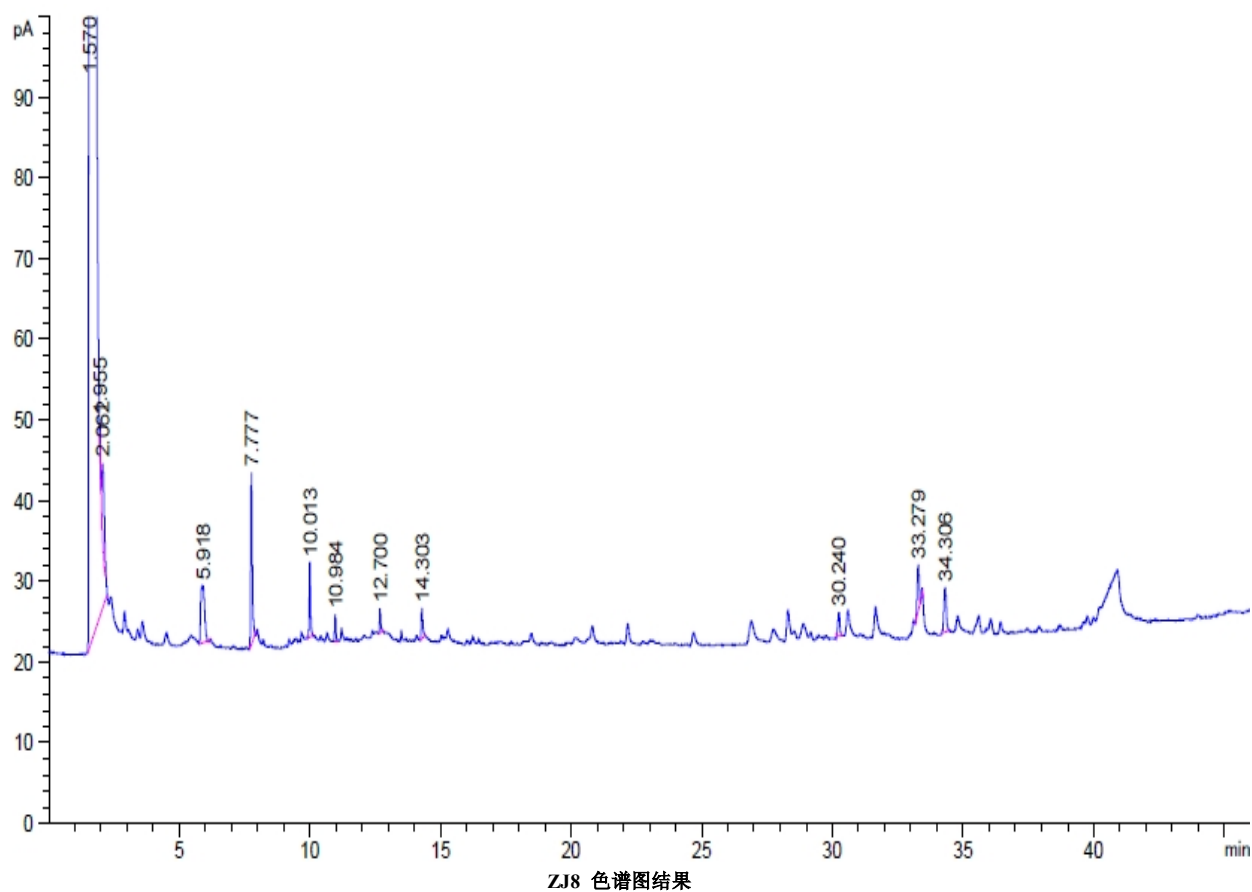


图1 编号 ZJ1-ZJ9 色谱图结果

Fig. 1 Chromatographic results of No.ZJ1-No.ZJ9

2.2 正交试验结果

按照“1.2”的实验设计进行正交试验^[6-10],选取各色谱检测结果中如“2.1”所述接近 7.7 min 的色谱峰面积,每个样品 3 次进样检测后计算其平均值,再除以各编号栀子花精确质量得单位峰面积,以减小误差,结果见表 4。

表 4 栀子花超声提取正交实验结果
Table 4 Results of the orthogonal design of Gardenia flowers

编号	因素				单位峰面积 pA*s/g
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	14.62147
2	1	2	2	2	18.57649
3	1	3	3	3	21.86476
4	2	1	2	3	24.24607
5	2	2	3	1	11.59257
6	2	3	1	2	26.21689
7	3	1	3	2	20.66713
8	3	2	1	3	16.86065
9	3	3	2	1	15.48954
K1	55.06272	59.53466	57.69900	41.70357	
K2	62.05553	47.02971	58.31210	65.46050	
K3	53.01732	63.57119	54.12445	62.97149	
K-1	18.35424	19.84489	19.23300	13.90119	
K2	20.68518	15.67657	19.43737	21.82017	
K-3	17.67244	21.19040	18.04148	20.99050	
R	3.012736	5.513825	1.395883	7.918976	

从表 4 可以看出,在选定的四个因素中,各因素的影响力 $D > B > A > C$,提取次数对栀子花香精成分提取效率的影响显著,浸泡时间也有一定影响,确定的最佳工艺为 $A_2B_3C_2D_2$,即无水乙醇加入量为栀子花的 15 倍,浸泡时间为 60 min,超声提取时间为 60 min,提取次数为 2 次。

2.3 复核试验结果

按照“2.2”的正交试验结果的最佳工艺 $A_2B_3C_2D_2$ 进行超声提取,称取三份冰冻栀子花同时进行复核实验,滤液同“1.3”中方法所述挥发至 5 mL 以下,定容至 5 mL,测定后结果如下图 2。

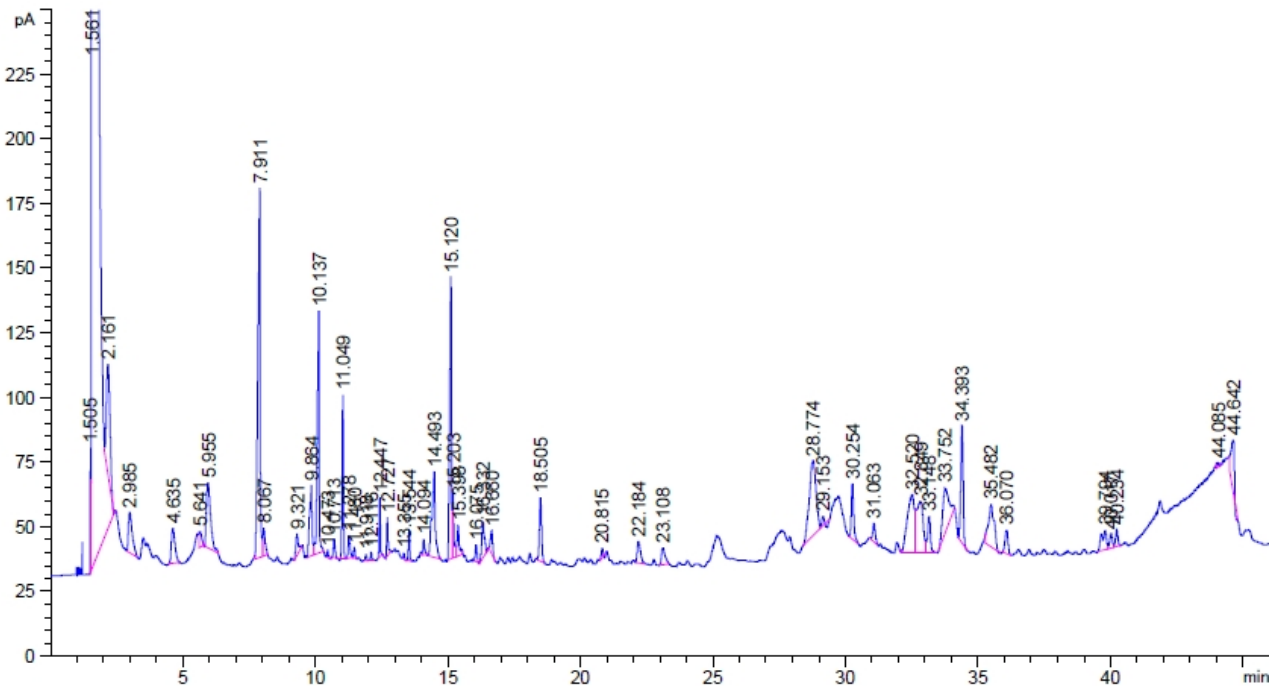


图 2 复核 1 实验 GC 测定结果
Fig.2 Chromatographic result of check experiment No.1

根据实验结果报告, 复核 1 实验的平均单位面积 $173.8299 \text{ pA}\cdot\text{s/g}$, 约为正交试验中最大值 (ZJ6) 的 6.63 倍, 而正交试验定容体积是复核 1 试验的 5 倍, 此结果较为合理, 说明 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2\text{D}_2$ 确为最佳工艺, 提取效率较高。

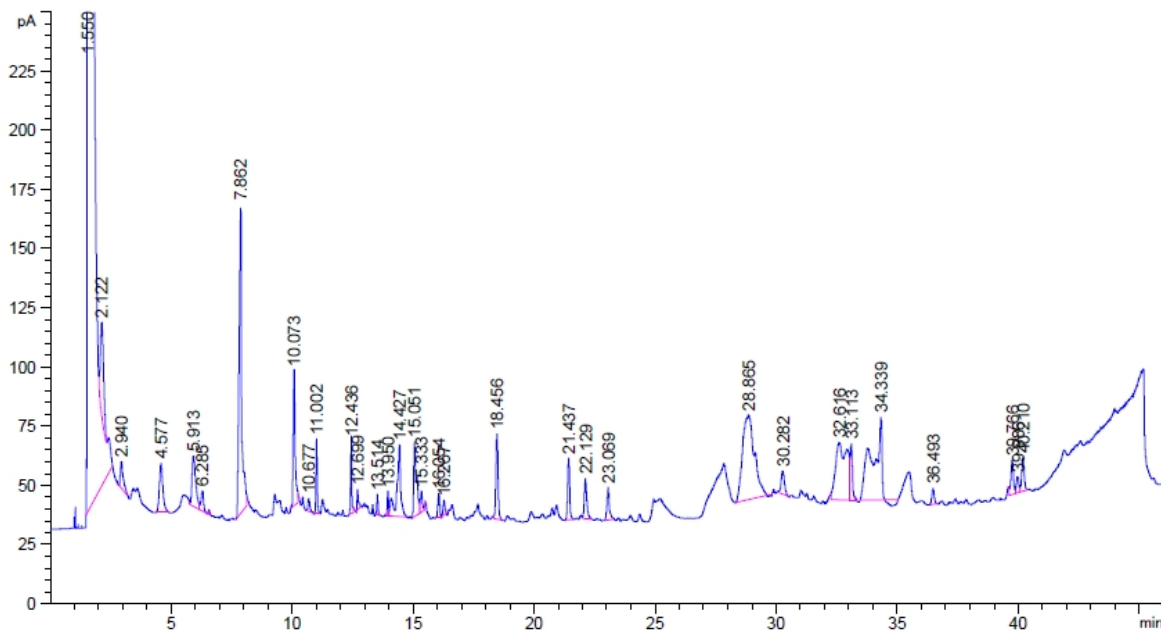


图 3 复核 2 实验 GC 测定结果

Fig.3 Chromatographic result of check experiment No.2

经测算得知, 复核 2 的 6 次平行实验平均单位面积为 $193.77471 \text{ pA}\cdot\text{s/g}$, 为正交试验最大值的 7.39 倍, 而正交试验定容体积是复核 2 的 2.5 倍, 但新鲜栀子花相比较冰冻栀子花香精成分更高是合理的。由色谱图结果可知, 此方法重复性较好。

3 讨论

3.1 提取情况

通过无水乙醇超声提取栀子花香精成分, 并经 $0.22 \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后, 可观察到提取物呈浅黄或黄色澄明液体, 气味芳香, 接近栀子花的自然香, 浓度越大香味越浓。

试验初期, 对栀子花进行称重处理时, 连同花萼一起称取, 提取时一同提取, 过滤后的提取液呈淡绿色, 可能系绿色花萼中色素被一同提取出, 掩盖了应呈现的淡黄色, 色谱图的出峰也与后来调整后的实验结果出峰有所差异, 考虑到为排除花萼的影响, 在进行正式的正交试验时统一去掉花萼, 称

在实验后期采摘了新鲜栀子花后进行了再次复核实验复核 2, 按最佳工艺 $\text{A}_2\text{B}_3\text{C}_2\text{D}_2$ 进行了 6 次平行实验, 滤液同“1.3”中方法所述挥至 10 mL 以下, 定容至 10 mL, 测定后结果如图 3。

取去萼花并剪碎后进行提取, 尽最大可能增加接触面积, 减少干扰因素。

定容到 25 mL 后的编号 ZJ1~ZJ9 的提取液颜色均为浅黄色, 气相检测时峰高普遍偏低, 因此复核实验时对定容体积进行了调整, 改定容为 5 mL, 此时过滤后的提取液基本呈较深的黄色, 如图 2 的结果所示, 色谱峰提高了很多, 浓度也相应提高, 因此 5 g 未干燥栀子花定容到 5~10 mL 较为合适。

3.2 栀子花状态

由于栀子花采摘后为防止挥发性成分挥发而进行了冰冻保存, 并未立即进行提取工作, 可能普遍的成分含量会有所下降, 或成分组成有所改变, 本实验使用相同条件下保存的栀子花采用正交设计通过相对含量比较最佳工艺, 对绝对含量没有要求, 优选出的最佳工艺同样适合各方法处理的栀子花香精成分提取。由于冰冻后的栀子花表面含有部分冰块, 虽尽力除去可见冰, 但在称取时难以完全除尽, 因此实际质量可能小于称取质量, 导致实验结果可能会有些许误差, 但在实验条件操作一致的

情况下,对优选工艺的影响可能较小。

3.3 复核实验

实验后期因有条件采摘了新鲜的栀子花进行了新的复核实验,称取去花萼栀子花 5 g,按最佳工艺 $A_2B_3C_2D_2$ 进行了 6 次平行实验,实验结果如“2.3”所述,可知新鲜栀子花相比冰冻后的栀子花,其香精成分含量更高,若有条件应采摘后即使提取,以保证最大化提取出香精成分。同时,选取了与最佳工艺的 K 值较接近的水平,按 $A_2B_1C_1D_3$ 进行了复核 3 的 6 次平行实验,其结果只有最佳工艺的三分之二,因此可确定最佳工艺的优越性。之后又进行了提取工艺为 $A_2B_1C_1D_2$ 的 6 次平行试验,

检测结果与 $A_2B_1C_1D_3$ 差异不大,可能为提取次数增加后合并后的提取液总量也增大,因此挥发时间较长,在此过程中香精成分损失也较多,因此其余条件相同时,提取 2 次与 4 次的情况下含量相差不大,为节省时间与溶剂,选择提取 2 次更为恰当。

3.4 色谱条件

因色谱条件不成熟,在对色谱条件进行摸索的时候使用样品为试验初期未去花萼的提取试样,在可参考的栀子花气相-质谱联用的气相色谱条件下进行 GC 检测后的出峰并不太理想,在不分流,初始温度为 50 °C 保持 2 min, 4 °C/min 升温到 240 °C 的条件下色谱峰多且杂乱,如图 4。

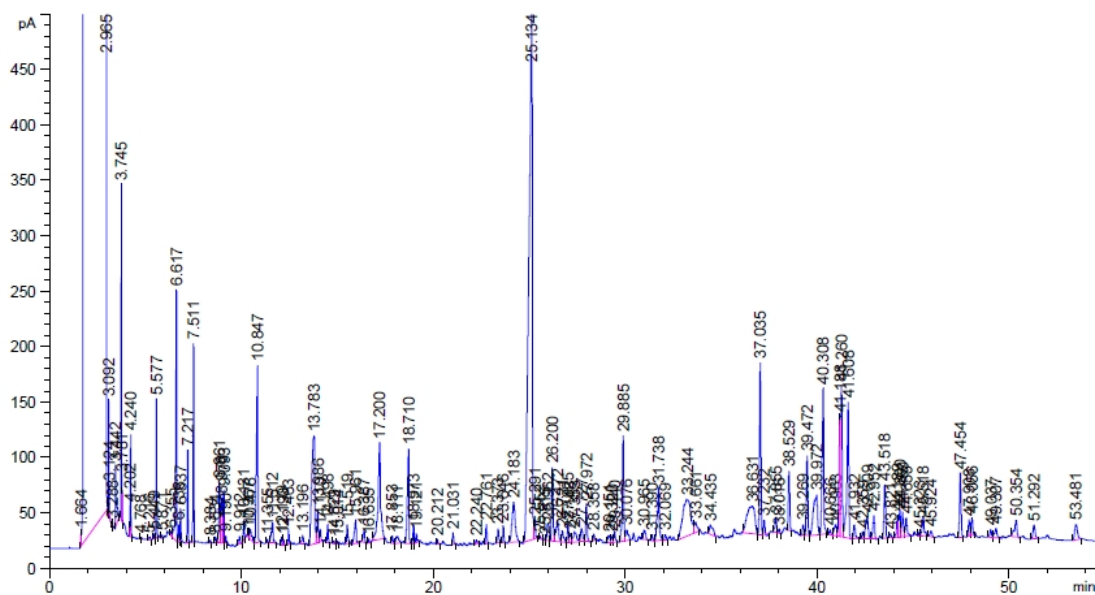


图 4 未分流气相色谱图
Fig.4 Chromatographic result of non shunt

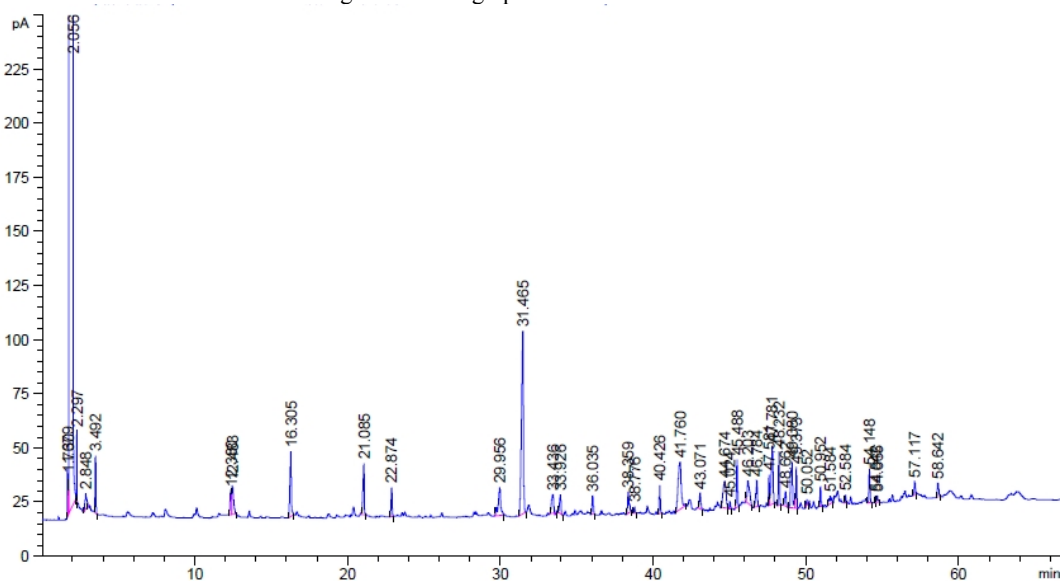


图 5 不成熟程序升温条件色谱图
Fig.5 Chromatographic result under immature temperature programming

在调整分流比为 7:1, 50 °C 保持 3 min, 3 °C/min 升温至 130 °C 保持 3 min, 再 5 °C/min 升至 250 °C

保持 10 min 的程序升温条件后的色谱中, 有些地方出峰较为拖沓, 有些重叠较多, 如图 5。

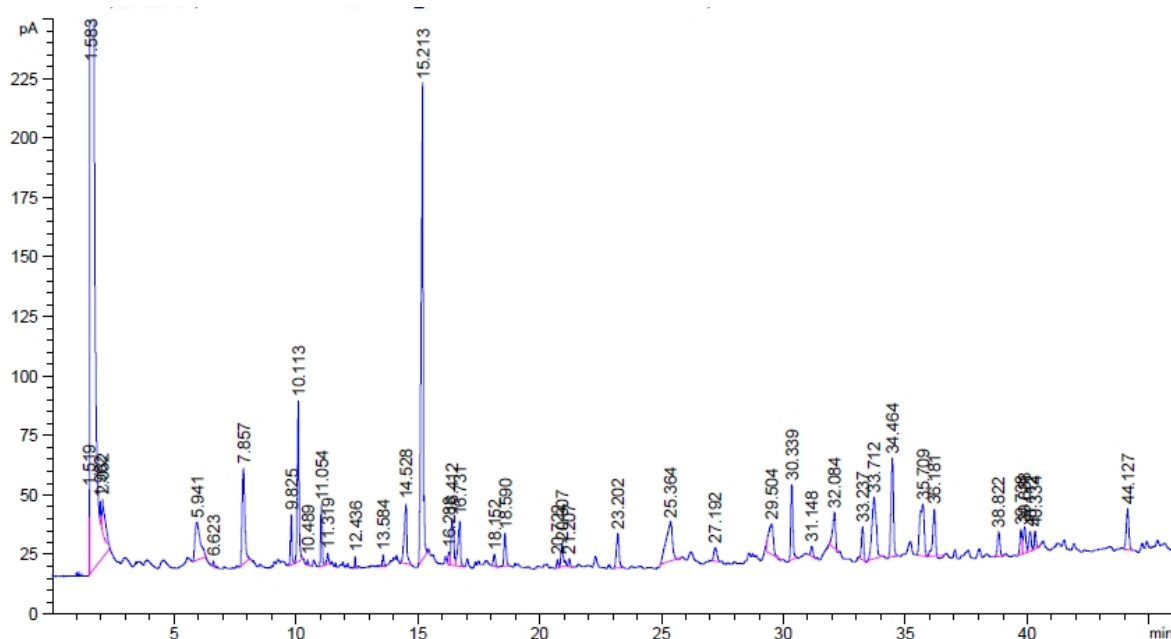


图 6 最佳程序升温条件色谱图

Fig.6 Chromatographic result of best temperature programming

在一段时间的试验后选定了 4:1 的分流比, 可以保持大部分特征峰峰形较好; 起始温度为 50 °C 或 60 °C 时, 前 15 min 的色谱峰稀少且峰形低。为了加快前段时间的出峰进程调整了初始温度为 80 °C, 并在出峰易重叠的地方提前停止升温保持一定时间, 通过不断调整与试验, 终于选定了最佳程序升温条件, 如“1.4”所述, 色谱图如图 6。

3.5 试验实用性

通过正交设计试验提取后, 提取液经检测后计算得知, 正交试验最佳工艺为 $A_2B_3C_2D_2$, 即溶剂无水乙醇加入量为梔子花的 15 倍, 浸泡时间为 60 min, 超声提取时间为 60 min, 提取 2 次, 所得结果也较为合理。此提取剂量可以完全浸泡梔子花, 将接触面最大化, 浓度差较大易于提取, 提取时间不长, 次数也不多, 既能节省提取时间, 也避免了浓缩时大剂量长时间挥发而影响香精成分的含量。如若投入工业化生产, 用乙醇作为提取溶媒, 无毒安全, 价格便宜, 容易回收再利用; 采用超声提取, 可以大大缩短提取时间, 并且避免了提取过程中由于温度过高引起化学成分结构变化、损失以及生理活性的降低, 具有一定的优势^[11]。虽然对于梔子花香精成分的研究以超临界 CO_2 萃取, 固相微萃取、动态

顶空法、活性炭吸附^[12-13]等方法为主, 但都成本较高, 难以实现工业化生产。

超声波辅助提取梔子花多酚类的文献报道指出, 从梔子花中可以提取大量的多酚类物质, 具有特殊的生物活性, 在医疗与保健等方面有着重要的作用和利用价值。多酚类化合物具有较强的抗氧化活性, 研究和开发植物多酚类化合物已成为食品、药品界的研究热点。植物多酚因其具有较强的抗氧化作用, 以及明显的抑菌、抗癌、抗衰老和抑制胆固醇上升等功效, 使多酚类物质在天然产物化学、生物化学、医药、食品、饲料及日用化妆品等领域成为研究热点^[11,14]。本实验所述方法可提取出梔子花香精成分, 同时由于提取条件有相似之处, 因此可能也含有大量多酚类物质。此方法不仅有效可行, 能提高香精成分提取效率, 降低成本, 用于制备相关梔子花香味的日用化妆品, 还能在保留梔子花香精成分的同时对日用化妆品的抗氧化活性提供物质基础。

3.6 GC-MS 梔子花香精成分的检测研究

本实验采用气相色谱仪对梔子花香精成分进行检测, 香精成分复杂, 各成分含量不一, 只选取 7.7 min 左右的共有特征峰作为提取率高低的判定

条件可能有失偏颇,有参考价值但应综合考虑可能说服力会更佳,因此目前课题组正在四川大学进行 GC-MS 的栀子花香精成分分析,后续的研究工作应该能对本实验的结果进行验证。

4 小结

研究表明,此方法稳定可行,提取条件简便易行,提取生产成本较低,对于提取栀子花中香精成分以制备相关日化用品具有可行性,提取效果好,香气自然,且不含有毒副作用的溶剂,经过简单处理即可直接用于生产,对于制备具有栀子花香精的日化用品奠定了基础。

超声波提取效率高、方便省时、节能,并对热敏性较高的栀子花挥发油中的有效成分或有效部位有较好的保护作用。前期研究中经过比较超声波提取法、回流提取法、萃取法、冷浸法等方法,发现超声波提取栀子花挥发油效率最高,适合本研究提取栀子花挥发油中的有效成分或有效部位。超声波提取具有空泡、热和震荡效应等特点,现已广泛应用于中药有效成分的提取。

参考文献:

- [1] 赵喜兰,常陆林,任丽平. 栀子花挥发油的 GC-MS 的指纹图谱[J]. 安徽农业科学,2009,37(8):3355-3356.
- [2] 张银华,熊秀芳,徐盈. 湖北栀子花挥发油的 GC/MS 分析[J]. 武汉植物学研究,1999,17(1):61-63.
- [3] 谭谊谈,薛山,唐会周. 不同花期栀子花的香气成分分析[J]. 食品科学,2012,33(12):223-227.
- [4] 何天平,陈岩冰,晏家瑛,等. 超临界 CO₂ 萃取栀子花头香精油及其分析应用[J]. 香料香精化妆品,2011(1):17-20.
- [5] 张国良,沈国军,凌国海,等. 栀子花化学成分的 GC/MS 分析[J]. 中国园艺文摘,2012,(11):13-14-66.
- [6] 蒲艳春,徐艳丽,崔静茹. 正交设计法优选栀子苷提取工艺[J]. 中华中医药学刊,2012,30(5):1029-1030.
- [7] 陈红,唐灿,黄锐. 优选栀子提取工艺[J]. 泸州医学院学报,2011,34(1):36-38.
- [8] 郑礼娟,秦昆明,蔡皓,等. 多指标正交试验优选白术芍药散提取工艺[J]. 中国中药杂志,2013,38(10):1504-1509.
- [9] 孙嘉婧,唐灿,王子雯. 多指标综合考察巴中产栀子提取工艺[J]. 中国医院药学杂志,2012,32(4):255-359.
- [10] 陈运江. 栀花挥发油超临界 CO₂ 萃取工艺优选分析[J]. 广州化学,2009,34(3):37-40.
- [11] 罗秋水,林丽萍,汤凯洁,等. 超声波辅助提取栀子花中多酚类物质工艺的优化[J]. 食品科技,2013,38(1):215-218.
- [12] 黄巧巧,蒋可志,冯建跃,等. 气相色谱/质谱法研究栀子花头香成分[J]. 云南植物研究,2004,26(4):471-474.
- [13] 刘百战,高芸. 固相微萃取气相色谱/质谱分析栀子花的头香成分[J]. 色谱,2000,18(5):452-455.
- [14] 甘秀海,赵超,赵阳,等. 栀子花精油化学成分及抗氧化作用的研究[J]. 食品工业科技,2013,34(1):77-79,84.

(上接第 76 页)

- [8] Atmani H, Grognet S, Teillet J. Crystallization-nitriding process of FeSiB and FeSiBCuNb ribbons: influence of additive(Cu,Nb) pair and nitrogen on structure magnetic and magnetostrictive parameters[J]. Journal of Non-crystalline Solids, 2001, 290:194-207
- [9] Chiriac H, Marilena Tomut, Maria Neagu. Improving the magnetic properties of nanocrystalline Fe_{73.5}Cu₁Nb₃Si_{13.5}B₉ by heat treatment of the melt[J]. NanoStructured Materials, 1999,12:851-854
- [10] 宛德福,罗世华. 磁性物理[M]. 北京: 电子工业出版社, 1987,236.
- [11] 胡琴,朱正吼,尹镭,等. 铁基纳米晶带材表面 TiO₂ 薄膜制备及其磁性能研究[J]. 功能材料,2012,43(12):1537-1539.
- [12] 梁灿彬,秦光戎,梁竹健. 电磁学[M]. 北京: 高等教育出版社,2012:245.
- [13] 梁灿彬,秦光戎,梁竹健. 电磁学[M]. 北京: 高等教育出版社,2012:189.