

## 微波-超声辅助提取黑胡椒油

吉惠杰,成乐琴\*,张俭,赵文卓,程振玉,盛志远

(吉林化工学院 化学与制药工程学院,吉林 吉林,132022)

**摘要** 以挥发油提取率为研究指标,在考察单因素实验的基础上,设计正交实验对超声-微波协同法的工艺条件进行优化,并利用 GC-MS 对挥发油的化学成分进行分离和鉴定。最佳工艺条件为:黑胡椒颗粒 60 目,加 8 倍溶剂量,提取温度 50 ℃,微波-超声协同萃取 35 min;在此最佳条件下,挥发油的平均提取率为 2.89%。微波-超声辅助法提取胡椒精油用时短、温度低、溶剂用量少且提取率高,为黑胡椒挥发油的工业化生产提供了一定的理论依据。

**关键词** 黑胡椒;挥发油;微波-超声辅助提取;正交实验

挥发油(volatile oils)又称精油(essential oils)、香精油或芳香油,精油组成成分以萜类化合物(主要是单萜和倍半萜)为主,还有非萜类芳香族和脂肪族。挥发油(精油)作为胡椒有效成分之一,具有多种生物活性及生理功效,在心脑血管系统、神经系统、消化系统、感染和肿瘤<sup>[1]</sup>等方面有显著作用;因其对多种细菌及真菌有良好的抑制作用,可加速局部组织血液循环,并可促进上皮细胞再生,故可起到解毒<sup>[2]</sup>、减肥、美容和保湿等功效;另外可应用于食品加工业,作为食品的保鲜剂和调味剂,可改善食物香味<sup>[3]</sup>。胡椒精油无任何毒副作用,可加工不同用途的产品。

杨小艳<sup>[4]</sup>等以水蒸气蒸馏法提取白胡椒挥发油,选取挥发油提取率为指标设计正交实验,优选出提取条件。刘学武<sup>[5]</sup>等用超临界流体萃取试验装置,考察了胡椒挥发油的最佳提取工艺。虽然具有高效、低温、产率高、绿色化、无溶剂残留等优点,但设备投资大、工艺技术要求高,局限性很大。陈文学<sup>[6]</sup>等利用乙醇做溶剂,采用均匀设计实验提取胡椒成分。虽然设备简单、廉价、产率高,但需要大量有机溶剂,所含杂质多。

本研究尝试微波和超声波 2 种技术相结合,建立操作简便、快速高效、对环境友好的方法。为提高胡椒精油的得率,采用正交实验优选出提取黑胡椒挥发油的最佳工艺。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料与仪器

黑胡椒,购于文昌市,产地为海南。无水乙醇,所用试剂均为分析纯。

CW-2000A 型超声-微波协同萃取/反应仪,上海新拓分析仪器科技有限公司;FA2004N 电子分析天平,上海精密科学仪器有限公司;RE-52A 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;SHB-3 循环水多用真空泵,郑州杜甫仪器厂;KQ2200B 超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司。

#### 1.2 黑胡椒挥发油提取方法的确定

不同的提取方法对温度及时间的要求有所不同,温度过高会对黑胡椒挥发油中不稳定成分造成破坏,使油的味道及药理活性都有所改变,因此对提取方法的研究是很有必要<sup>[7]</sup>。

#### 1.3 黑胡椒挥发油的提取方法

黑胡椒粉碎过筛,选取适当目数 20 g 于烧瓶中,然后在烧瓶中加入体积分数(下同)90%乙醇溶液,放入超声-微波协同萃取/反应仪中进行提取,抽滤得滤液,浓缩所得滤液,冷藏 12 h。再次过滤,滤液经减压蒸馏,收集挥发性成分。

### 2 结果与分析

#### 2.1 提取方法的分析

在相同的实验条件下,以微波-超声辅助提取法、超声波辅助提取法、蒸馏-萃取法、索氏提取法分别对黑胡椒中挥发油进行提取,比较所得挥发油的质量和性状,以确定最佳的提取方法。

第一作者:学士,实验师(成乐琴教授为通讯作者,E-mail:1052060008@qq.com)。

收稿日期:2015-08-10,改回日期:2015-10-29

表1 不同提取法对黑胡椒挥发油提取率的影响

Table 1 Effect of different extraction method on extraction rate of black pepper oil

提取方法	投料量/ g	颗粒度 (目数)	乙醇浸泡 时间/h	提取时 间/min	油的 颜色	提取率/ %
微波-超声 辅助提取法	20	40	2 h	35	微黄色	2.74
蒸馏-萃取法	20	40	2 h	120	淡黄色	2.05
超声波辅助提取法	20	40	2 h	60	黄色透明	1.87
索氏提取法	20	40	2 h	60	黄色	1.44

由表1可知,微波-超声辅助提取法提取挥发油提取率最高,用时短,所用的溶剂沸点较低,可回收重复利用;蒸馏-萃取法提取挥发油为传统的方法,虽然无污染,但所需的温度相对较高,对挥发油及其他成分的结构有所破坏,影响挥发油的品质;其他2种提取方法提取的挥发油得率都不高。最终选择微波-超声辅助提取法为黑胡椒挥发油提取的最佳方法。

## 2.2 不同因素对挥发油提取率的影响

### 2.2.1 颗粒度对挥发油提取率的影响

称取目数不同的黑胡椒粉,分别加入溶剂量为8倍的90%乙醇溶液,设定提取时间50 min,提取温度为45℃,得到颗粒度对挥发油提取率的影响见图1。

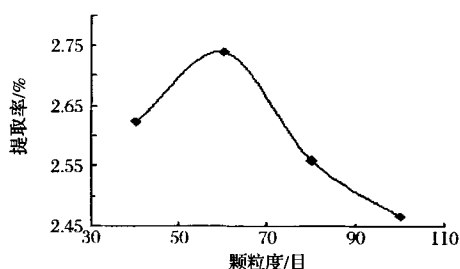


图1 颗粒度对挥发油提取率的影响

Fig. 1 Effect of particle size on the extraction rate of volatile oil

由图1可知,原料颗粒度在60目时提取率最高,随着目数的增大,提取率反而下降,由于原料粉碎过细,在增加成分扩散速度的同时也增加了原料的吸附,再则也会使大量的鞣质等提取出来,不利于提取液的分离与纯化。为进一步考察原料颗粒度对挥发油提取率的影响,选择50、60、70目的黑胡椒进行正交试验。

### 2.2.2 提取时间对挥发油提取率的影响

称取60目黑胡椒粉,分别加入溶剂量为8倍的90%乙醇溶液,提取温度为45℃,改变提取时间,得

到提取时间对挥发油提取率的影响见图2。

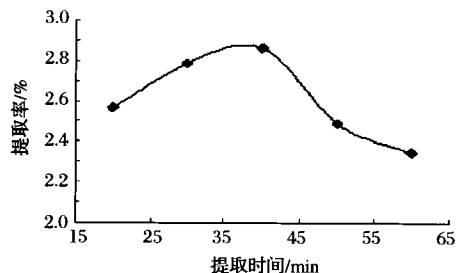


图2 提取时间对挥发油提取率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on the extraction rate of volatile oil

由图2可知,提取初期,原料细胞内外活性成分未达到平衡时,提取率随着提取时间的延长而增加,当细胞内外浓度平衡时,活性成分就不再溶出,提取效率反而下降。故最适宜的时间为40 min。为进一步考察提取时间对挥发油提取率的影响,选择黑胡椒挥发油提取时间分别为35、40、45 min进行正交试验。

### 2.2.3 提取温度对挥发油提取率的影响

称取60目黑胡椒粉,分别加入溶剂量为8倍的90%乙醇溶液,提取时间40 min,改变提取温度,得到提取温度对挥发油得率的影响见图3。

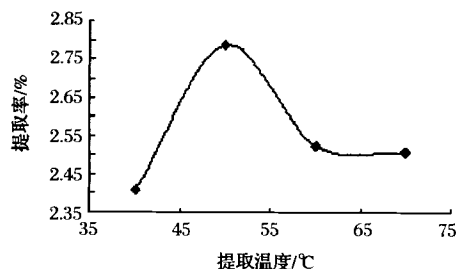


图3 提取温度对挥发油提取率的影响

Fig. 3 Effect of temperature on extraction rate of volatile oil

由图3可知,随着提取温度的增加,温度达到50℃,挥发油提取率最高,之后逐渐下降,由于挥发油高温易挥发,也易破坏其结构影响其生物活性,故提取温度50℃作为最佳实验条件。为进一步考察提取温度对挥发油提取率的影响,选择黑胡椒挥发油提取温度分别为45、50、55℃进行正交试验。

### 2.2.4 溶剂量对挥发油提取率的影响

称取60目黑胡椒粉,分别加入90%乙醇溶液不同倍数,提取时间40 min,提取温度为50℃,溶剂量对挥发油提取率的影响见图4。

结果表明,溶剂量对提取效率的影响非常显著。以乙醇作为溶剂,浓度偏高更利于挥发油成分

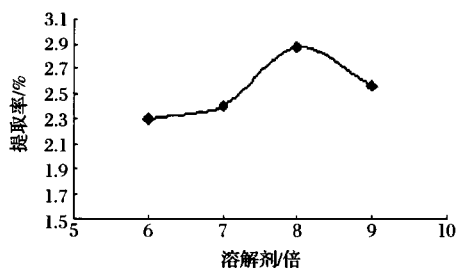


图4 溶剂对挥发油提取率的影响

Fig.4 Effect of solvent amount on the extraction rate of volatile oil

的提取。当溶剂过少时,不能使有效成分充分溶于溶剂中,因提取液达到饱和而阻止有效成分的溶出。当溶剂过多时,又会造成溶剂的浪费。选择8倍溶剂量为最佳条件。为进一步考察溶剂量对挥发油提取率的影响,选择溶剂量为7、8、9倍进行正交试验。

### 2.3 对黑胡椒挥发油提取工艺的优化

根据单因素试验的结果,通过正交实验对微波-超声辅助提取黑胡椒挥发油工艺进行优化。

#### 2.3.1 因素、水平选择

选择  $L_9(3^4)$  正交优化提取工艺,因素水平的选择见表2。

表2 正交实验因素水平表

Table 2 Factors and levels design of orthogonal test

试验序号	提取时间/ min (A)	溶剂量/ 倍 (B)	提取温度/ ℃ (C)	颗粒度/ 目 (D)
1	35	7	45	50
2	40	8	50	60
3	45	9	55	70

#### 2.3.2 正交实验结果与分析

以挥发油提取效率为考察指标,  $L_9(3^4)$  正交实验结果与分析见表3。

由表3可以看出,各个因素对黑胡椒精油的提取率的影响程度依次为:  $B > A > C > D$ , 即溶剂量 > 提取时间 > 提取温度 > 颗粒度, 且以  $A_1 B_2 C_2 D_2$  水平为最佳, 即60目黑胡椒粉、8倍溶剂量、提取时间35 min、提取温度50℃, 挥发油提取率为2.85%。

#### 2.3.3 最佳工艺验证试验

为了考察上述优化工艺的稳定性,应用最佳工艺条件,进行3次验证性试验,得到黑胡椒精油提取率分别为2.91%、2.90%、2.87%,平均为2.89%,说明优选的工艺稳定可靠。

表3 正交试验方案及结果

Table 3 Design and results of orthogonal experiments

试验序号	A	B	C	D	挥发油提取率/ %
1	1	1	1	1	2.46
2	1	2	2	2	2.85
3	1	3	3	3	2.66
4	2	1	2	3	1.85
5	2	2	3	1	2.65
6	2	3	1	2	2.14
7	3	1	3	2	2.27
8	3	2	1	3	2.55
9	3	3	2	1	1.95
$K_1$	7.97	6.58	7.15	7.06	
$K_2$	6.64	8.05	6.65	7.26	
$K_3$	6.76	6.75	7.58	7.06	
极差	1.33	1.47	0.93	0.20	
优化方案	$A_1$	$B_2$	$C_2$	$D_2$	

### 2.4 GC-MS 定性分析

#### 2.4.1 GC-MS 分析条件

色谱条件: RTX-5MS 石英毛细柱 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm); 汽化温度: 290℃; 升温程序: 60℃保持3 min, 以3℃/min速率升至100℃, 以5℃/min速率升至200℃, 以8℃/min速率升至290℃保持20 min; 载气为氦气(99.999%), 流速1.90 mL/min, 压力32.1 kPa, 隔膜吹扫3.0 mL/min; 分流比50:1; 0.2 μL进样。

质谱条件: 电子能量70 eV; 传输线温度250℃; 离子源温度230℃; 检测电压0.90 kV; 质量扫描范围  $m/z$ : 33~600; 记录3~65 min。

#### 2.4.2 结果分析

通过 GC-MS Solution 色谱工作站数据处理系统检索 NIST05 谱图库的标准谱图进行对照、复合, 结合有关文献进行人工谱图解析各峰相应的质谱图, 确认黑胡椒挥发油的化学成分, 鉴定结果见表4。

表4 黑胡椒挥发油中化学成分鉴定结果

Table 4 Identification results of chemical constituents in black pepper

序号	保留时间/ min	化合物名称	相对含量/ %
1	4.57	3-侧柏烯(3-thujene)	0.14
2	4.69	茴香烯(cyclofenchene)	3.54
3	4.85	β-蒎烯(β-pinene)	7.78
4	6.67	莰烯(camphene)	6.86
5	6.86	4-甲基-1-异丙基双环[3.1.1]己-2-烯(4-methyl-1-(1-methylethyl)bicyclo[3.1.1]hex-2-ene)	0.92

续表 4

序号	保留时间/ min	化合物名称	相对含量/ %
6	7.26	$\alpha$ -蒎烯( $\alpha$ -pinene)	9.28
7	7.35	香叶烯(myrcene)	2.45
8	7.89	$\alpha$ -水芹烯(phellandrene)	5.59
9	8.04	3-萜烯(3-carene)	20.32
10	8.56	4-萜烯(4-carene)	0.25
11	8.91	柠檬烯(limonene)	17.32
12	9.04	r-松油烯(r-terpinene)	1.08
13	9.18	芳樟醇(linalool)	1.08
14	9.45	$\alpha$ -松油醇( $\alpha$ -terpineol)	0.63
15	9.56	可巴烯(copaene)	0.93
16	9.68	胡椒酮(pepper ketone)	0.02
17	11.54	$\delta$ -榄香烯( $\delta$ -elemene)	2.65
18	11.84	罗勒烯(ocimene)	3.82
19	12.36	石竹烯(caryophyllene)	28.49
		2-甲基-5-异丙基-1,3-环己二烯	
20	12.43	(2-methyl-5-isopropyl-1,3-cyclohexadiene)	0.19
21	12.45	$\beta$ -榄香烯( $\beta$ -elemene)	1.57
22	12.89	石竹烯氧化物(oxide caryophyllene)	13.5
23	13.21	$\beta$ -金合欢烯( $\beta$ -farnesene)	0.07
24	14.67	$\alpha$ -橙烯( $\alpha$ -cubebene)	0.01
25	15.36	柠檬烯氧化物(oxide limonene)	1.99

### 3 结论

(1) 经单因素探索实验及正交实验的优化,确定了最佳工艺条件为:黑胡椒粉颗粒 60 目,8 倍溶剂

量,提取温度 50 ℃,微波-超声协同萃取 35 min,在最佳条件下进行 3 次验证试验,黑胡椒精油提取率平均为 2.89%,表明微波-超声辅助提取法可用于胡椒精油提取。

(2) 利用 GC-MS 联用技术,在黑胡椒挥发油中初步鉴定出 20 多种化合物,其中 16 个主要化合物的含量占挥发油总量的 97.58%,其中萜烯、柠檬烯、石竹烯含量较高。

### 参 考 文 献

- [1] 枉前,张恩娟. 胡椒属植物药理作用的研究概况[J]. 药学实践杂志,2006,24(3): 139-141.
- [2] 乔丽艳,罗断节. 胡椒外用健康产品的开发研究[J]. 中国实用医药,2008,3(6): 151-153.
- [3] 赵丽娟,张捷莉. 海南地区白胡椒挥发油成分的研究[J]. 鞍山钢铁学院学报,2001,24(4): 245-247.
- [4] 杨小艳,毛羽. 白胡椒挥发油的提取工艺研究[J]. 西南民族大学学报,2009,35(3): 556-558.
- [5] 刘学武,李志义,夏远景,等. 超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取胡椒油工艺条件的研究[J]. 中国粮油学报,2004,19(6): 57-59.
- [6] 陈文学,豆海港,仇厚援,等. 胡椒抗氧化产物提取条件的研究[J]. 热带农业科学,2005,25(2): 1-3.
- [7] MENG Teng, ZHANG Da. The exploitation of volatile oil [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2009, 6(17): 36.

## Study on the extraction of black pepper oil with microwave-ultrasonic assisted

JI Hui-jie, CHENG Le-qin\*, ZHANG Jian,  
ZHAO Wen-zhuo, CHENG Zhen-yu, SHENG Zhi-yuan

(College of chemical and Pharmaceutical Engineering, Jilin Institute of Chemical Technology, Jilin 132022, China)

**ABSTRACT** To investigate the extraction conditions of black pepper volatile oil by microwave-ultrasonic assisted method, extraction rate of volatile oil was select as the index. On the basis of single factor, orthogonal tests were adopted to optimize the extraction conditions, and the chemical constituents of volatile oil were also isolated and identified by GC-MS. Results showed that the optimal extraction conditions were as follows: black pepper grains sieved with 60 mesh, ratio of liquid to solid 8:1, extraction temperature 50 ℃, extraction time 35 min. Under these optimal conditions, the extraction rate was up to 2.89%. The method proposed in this study has the advantages of less-time, low-temperature, small amount of solvent and high extraction rate of volatile oil. The research provided certain theoretical basis for industrial production.

**Key words** black pepper; volatile oil; microwave-ultrasonic assisted extraction; orthogonal experiment