

超临界CO₂萃取冷破碎苹果皮蜡质 工艺优化及其成分分析

李卓, 郭玉蓉*, 闫玉培

(陕西师范大学食品工程与营养科学学院, 陕西西安 710062)

摘要:以冷破碎苹果皮渣为原料,研究超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的工艺条件,并用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)分析苹果皮蜡质的化学组成。结果表明:超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的最佳工艺条件为:萃取压力35MPa,萃取温度50℃,萃取时间1.5h,原料粒度>100目,该条件下萃取率为2.081%;用GC-MS检测到萃取物中36种化合物,其中主要成分是饱和烷烃和酯类,这两类物质的相对含量分别为41.44%和37.41%;其次,苹果皮蜡质还含有醇类、脂肪酸、酮类、β-谷甾醇、木栓酮等成分。

关键词:超临界CO₂萃取,蜡质,成分,GC-MS

Optimization of extracting process of waxes from cold-break apple peel by supercritical CO₂ and analysis of the composition

LI Zhuo, GUO Yu-rong*, YAN Yu-pei

(College of Food Engineering and Nutritional Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract:The extraction condition of waxes from cold-break apple peel by supercritical CO₂ extraction technology was studied and the composition of apple waxes was analyzed by GC-MS. The optimum condition of supercritical CO₂ were as follows: extraction pressure 35MPa, extraction temperature 50℃, raw material particle size >100 mesh, extraction time 1.5h. Under optimal conditions, the yield of apple waxes was 2.081%. 36 compounds of apple waxes were detected. Main ingredients were hydrocarbons and esters which account for 41.44% and 37.41% respectively of all the detected compounds. Alcohols, fatty acids, ketones, β-sitosterol and friedelin were also detected.

Key words: supercritical CO₂ extraction; waxes; composition; GC-MS

中图分类号: TS201.2

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)22-0312-04

苹果果皮上覆盖着一层疏水性的蜡质,可防止微生物、昆虫等对果实的侵害及果实非气孔性水分散失^[1]。除了对果实的生理性保护作用,苹果皮蜡质还可用于护发和护肤品中,国外已有公司将苹果皮蜡质作为一种天然保护剂和调理剂用于洗发剂、清洗剂和护发剂中^[2]。我国是浓缩苹果汁的出口大国,在其生产过程中会产生大量的果渣副产物,若能提取出苹果皮渣中的蜡质,对其加以研究利用,不仅可避免资源浪费、防止环境污染,也可提高果渣的附加值。冷破碎榨汁技术^[3]是一种在榨汁前将果实的果皮、果核与果肉部分分离,只用果肉榨汁的技术,可得到分离较完全的皮渣、肉渣、果籽,为果渣不同部分的研究利用提供良好原料。超临界CO₂萃取技术^[4]是一种新型分离技术,溶剂超临界CO₂具有良好的传质能力,且具有安全、价廉、环境友好、可循环利用等优点,可对目标成分进行高效提取,萃取速度快,萃

取物纯度高,利于后继的成分分析,得到的产品无溶剂残留,可作为纯天然植物提取物应用于化妆品、食品等行业中。CO₂是非极性溶剂,因此可高选择性地萃取苹果皮上的疏水性蜡质。国外有学者以苹果整果上的蜡质为研究对象,对某些苹果品种的皮蜡成分做过较全面的研究^[5-7],而国内关于苹果皮蜡质的研究较少;也有学者利用超临界CO₂萃取技术提取其他植物天然蜡质的报道^[8-9],但未见使用榨汁剩余的苹果皮渣为原料对蜡质进行提取和分析的相关研究。本实验利用冷破碎苹果皮渣为原料,研究了超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的工艺条件,并对最佳萃取条件下的萃取物用GC-MS进行了成分分析,旨在为全面了解苹果皮渣及探索苹果皮渣资源开发利用的新途径提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

冷破碎苹果皮渣 使用自行研发设计的冷破碎设备削取红富士苹果。

超临界CO₂萃取装置Spe-ed SFE-2美国应用分离公司 Applied Separations Inc.; HP6890/MS5973气相

收稿日期:2012-05-23 * 通讯联系人

作者简介:李卓(1988-),女,研究生,研究方向:食品生物技术。

基金项目:现代苹果产业技术体系专项资金资助(CARS-28)。

色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司;石英毛细管柱 HP-5MS (30m×0.25mm×0.25 μ m);高速万能粉碎机 北京科伟永兴仪器有限公司;标准检验筛(筛孔大小:40、60、80、100目) 上虞市大亨桥化验仪器厂;电子分析天平 Sartorius公司;冷破碎设备 陕西鼎合机械有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 材料预处理 冷破碎苹果皮渣于60 $^{\circ}$ C烘干、粉碎、过筛,分别得到粒度为40~60目、60~80目、80~100目、>100目的皮渣。

1.2.2 超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的工艺研究 称取约40g处理好的苹果皮渣,准确记录其质量,记为M₁;将其置于超临界CO₂萃取设备的萃取釜中,密封严实,打开CO₂钢瓶和高压泵送气并开启设备,设定萃取温度和压力,待设备升温升压至特定萃取条件后进行超临界流体萃取,萃取一定时间后于放料口接收得到的萃取物,用分析天平称量并计算其质量,记为M₂。分别在不同的萃取压力、萃取温度、萃取时间、原料粒度^[10]条件下以苹果皮蜡质的萃取率为指标进行单因素实验,计算公式:苹果皮蜡质萃取率(%) = M₂/M₁×100。

根据单因素实验结果,选取萃取压力(A),萃取温度(B),萃取时间(C)及原料粒度(D)四个因素的合适水平进行L₉(3⁴)正交实验,因素水平表见表1。

表1 超临界CO₂萃取苹果皮蜡质正交实验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal experiment

水平	因素			
	A 萃取压力 (MPa)	B 萃取温度 (°C)	C 萃取时间 (h)	D 原料粒度 (目数)
1	25	45	1.5	60~80
2	30	50	2	80~100
3	35	55	2.5	>100

1.2.3 苹果皮蜡质的GC-MS分析 色谱条件:色谱柱:HP-5MS柱(30m×250mm×0.25 μ m);程序升温:初温70 $^{\circ}$ C,保持1min,以15 $^{\circ}$ C/min升至220 $^{\circ}$ C,再以5 $^{\circ}$ C/min升至280 $^{\circ}$ C,保持8min;进样口温度260 $^{\circ}$ C;载气为高纯氦气(0.9999),流速1.0mL/min;分流比20:1;进样量1 μ L。

质谱条件:电离方式为电子轰击(ED);电子能量70eV;离子源温度230 $^{\circ}$ C;传输线温度290 $^{\circ}$ C;扫描范围35~650m/z,采用全扫描工作方式。

1.2.4 统计分析 应用DPS和Microsoft Excel 2003软件处理正交实验数据,确定超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的最佳工艺参数。根据总离子流图利用标准MSD版本数据分析软件分析提取物的组成。

2 结果与分析

2.1 超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的单因素实验结果

2.1.1 萃取压力对萃取率的影响 在萃取温度35 $^{\circ}$ C,萃取时间2h,原料粒度40~60目实验条件下,选取不同萃取压力进行超临界CO₂萃取,苹果皮蜡质萃取率与萃取压力间的关系见图1。由图1可看出,苹果皮蜡质萃取率随着萃取压力的升高而增大,但萃取压力超过30MPa后萃取率变化不明显。这是因为压力升高

时,CO₂流体的密度增大,溶解能力随之增大,使萃取率升高;但当压力超过一定值后,可能会使CO₂的粘度增加,扩散系数降低,从而对萃取过程产生不利影响。

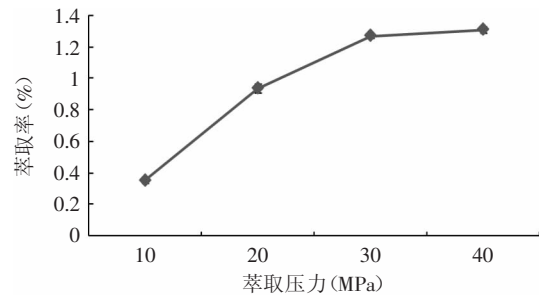


图1 萃取压力对萃取率的影响

Fig.1 Effect of extraction pressure on extraction rate

2.1.2 萃取时间对萃取率的影响 固定萃取压力30MPa,萃取温度35 $^{\circ}$ C,原料粒度40~60目,选取不同萃取时间为研究对象,探讨苹果皮蜡质萃取率与萃取时间的关系。由图2可看出,萃取时间由1h增至1.5h,萃取率有一定提高;延长萃取时间至2h,萃取率稍有增加,而2.5和2h得到的萃取率几乎相同。这是由于延长萃取时间有利于溶质充分溶解于超临界CO₂中,从而可以在一定程度上提高萃取率;当溶质溶解完全后,萃取率不再随萃取时间的延长而升高。

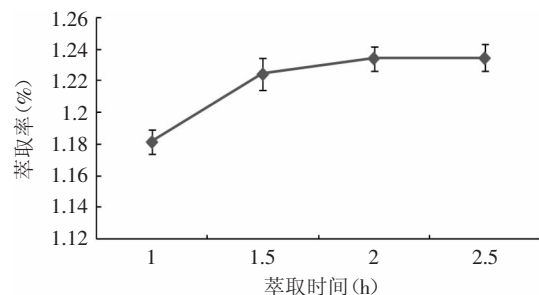


图2 萃取时间对萃取率的影响

Fig.2 Effect of extraction time on extraction rate

2.1.3 萃取温度对萃取率的影响 在萃取压力30MPa,萃取时间2h,原料粒度40~60目实验条件下,研究不同萃取温度对苹果皮蜡质萃取率的影响,结果见图3。由图3可知,萃取温度升高,苹果皮蜡质萃取率呈上升趋势,但萃取温度高于45 $^{\circ}$ C之后萃取率增加不明显。萃取温度对萃取效果的影响有正负两种效应,一方面萃取温度升高,可提高溶质的蒸汽压,有利于溶质的溶解和扩散系数的提高;另一方面又会使超临界流体的密度降低,不利于萃取。本实验

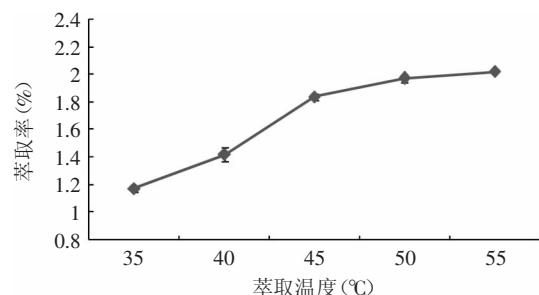


图3 萃取温度对萃取率的影响

Fig.3 Effect of extraction temperature on extraction rate

中,萃取温度对萃取率的影响主要体现了正效应,但可看出温度升至一定范围后,正效应作用表现不再明显。

2.1.4 原料粒度对萃取率的影响 固定萃取压力30MPa,萃取时间1h,萃取温度35℃,选取不同粒度的原料进行超临界CO₂萃取,原料粒度对苹果皮蜡质萃取率的影响见图4。由图4可知,减小原料粒度在一定程度上可提高萃取率;当原料粒度为80~100目时,萃取率最高;继续减小粒度,萃取率下降。分析可能原因:减小原料粒度可增大颗粒群的比表面积,从而增大原料与超临界流体的接触面积,提高萃取率;若原料粒度过小,可能会减小原料颗粒床层的空隙率及降低有效传质面积,反而降低萃取率。

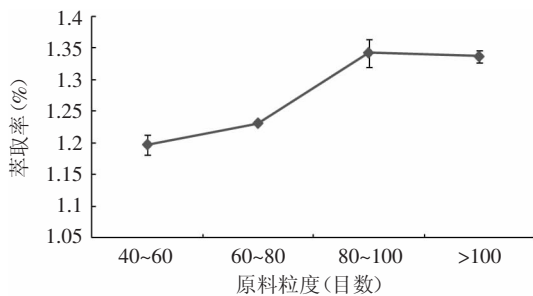


图4 原料粒度对萃取率的影响

Fig.4 Effect of raw material particle size on extraction rate

2.2 超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的正交实验结果

以苹果皮蜡质萃取率为指标,超临界CO₂萃取冷破碎苹果皮蜡质正交实验结果及极差分析见表2,方差分析见表3。由表2比较各因素极差大小得到影响苹果皮蜡质提取率的主次顺序:萃取压力>原料粒度>

表2 L₉(3⁴)正交实验结果
Table 2 Results of orthogonal experiment

实验号	A	B	C	D	萃取率 (%)
1	1	1	1	1	1.613
2	1	2	2	2	1.417
3	1	3	3	3	1.547
4	2	1	2	3	1.718
5	2	2	3	1	1.834
6	2	3	1	2	1.771
7	3	1	3	2	1.619
8	3	2	1	3	2.081
9	3	3	2	1	1.842
k ₁	1.526	1.650	1.822	1.763	
k ₂	1.775	1.777	1.659	1.602	
k ₃	1.847	1.720	1.667	1.782	
R	0.321	0.127	0.162	0.180	

表3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

变异来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
A	0.341	2	0.171	17.031	0.001	**
B	0.049	2	0.024	2.434	0.143	
C	0.101	2	0.050	5.033	0.034	*
D	0.117	2	0.058	5.833	0.024	*
误差	0.090	9	0.010			

注:**表示差异显著水平 $p < 0.01$; *表示差异显著水平 $p < 0.05$ 。

萃取时间>萃取温度。最佳工艺参数组合为A₃B₂C₁D₃,即萃取压力35MPa,萃取温度50℃,萃取时间1.5h,原料粒度>100目;在此条件下苹果皮蜡质提取率为2.081%。由方差分析结果可看出,萃取压力(A)对苹果皮蜡质萃取率的影响为极显著,萃取时间(C)和原料粒度(D)对萃取率影响为显著。

2.3 苹果皮蜡质的GC-MS分析结果

采用气相色谱-质谱联用技术分析超临界CO₂萃取的苹果皮蜡质成分,总离子流图见图5。对照标准谱库初步定性出36种物质,见表4。分析结果显示,苹果皮蜡质中烷烃成分所占比例最高,相对含量占到了41.44%;其中,含量最高的成分为二十九烷,相对含量达37.14%。Els A. Veraverbeke等^[9]在研究三个不同苹果品种在储藏过程中蜡质化学组成变化时曾发现二十九烷是其中含量最高的物质,本研究结果与其相一致。酯类是苹果皮蜡中另一类主要物质,其相对含量达37.41%。除此之外,检测结果还显示苹果皮蜡含有少量醇类、脂肪酸、酮类、β-谷甾醇、木栓酮等成分。其中,β-谷甾醇为四环三萜类化合物,具有降血脂、抗癌、抗炎等生理功能^[11];木栓酮为五环三萜类化合物,具有抗炎及抑制真菌生长活性^[12];可推测苹果皮超临界萃取物可能具有一定的生理活性。苹果皮蜡质是成分复杂的混合物,不同品种、外界环境的诱导等因素都会造成蜡质成分的差异^[13],另外,检测所用的仪器及分析条件等也会造成分析结果的一定差异;这可能是本研究结果与前人研究结果^[7]不完全相同的原因。

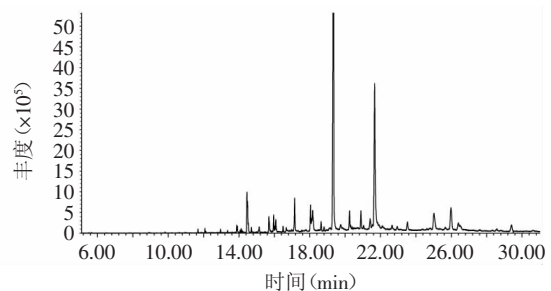


图5 超临界CO₂萃取苹果皮蜡的总离子流图

Fig.5 Total ion chromatogram of SFE apple peel waxes

3 结论

3.1 采用超临界CO₂萃取技术,研究影响超临界流体萃取苹果皮蜡质的工艺条件,以苹果皮蜡质的萃取率为指标,得到4个实验因素对萃取率影响大小的主次顺序为:萃取压力>原料粒度>萃取时间>萃取温度;最佳工艺条件为:萃取压力35MPa,萃取温度50℃,萃取时间1.5h,原料粒度>100目;在最佳工艺条件下苹果皮渣粗蜡质提取率为2.081%。

3.2 采用气相色谱-质谱联用技术分析超临界CO₂萃取苹果皮蜡质的组成,初步分离定性了36种化合物,结果显示,饱和烷烃和酯类是其成分,这两类物质的相对含量分别占41.44%和37.41%;所有成分中,二十九烷的相对含量明显高于其他物质,达37.14%;此外还含有醇类、脂肪酸、酮类、β-谷甾醇、木栓酮等成分。

表4 超临界CO₂萃取苹果皮蜡质组分GC-MS分析结果

Table 4 Composition of SFE apple peel waxes identified by GC-MS

峰号	保留时间 (min)	分子式	化合物	分子量	相对含量 (%)
1	7.828	C ₁₃ H ₂₀ O ₂	3-羟基- π -大马酮	208	0.07
2	8.603	C ₁₆ H ₂₆ O ₂	3, 7, 11-三甲基-1, 6, 10-十二碳三烯-3醇甲酸酯	250	0.08
3	9.556	C ₁₈ H ₃₀ O	6, 10, 14-三甲基-2-十五烷酮	268	0.07
4	9.819	C ₂₆ H ₃₄ O ₄	邻苯二甲酸丁基十四烷基酯	418	0.08
5	10.521	C ₁₈ H ₂₄ O	雌甾-1, 3, 5(10)-三烯-17 π 醇	256	0.06
6	11.68	C ₂₆ H ₅₄	11-(1-乙基丙基)-二十烷	366	0.28
7	12.072	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	15-羟基-9, 12-十八烷酸甲酯	310	0.47
8	12.132	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9-十四烯酸丁酯	282	0.32
9	12.951	C ₃₅ H ₆₈ O ₅	1, 2-二棕榈酰甘油	568	0.29
10	13.871	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	19's, 11, 反-十八碳二烯酸丁酯	336	0.60
11	13.908	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	9-十八碳烯酸丁酯	338	0.57
12	14.121	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	硬脂酸丁酯	340	0.41
13	14.45	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	亚油酸异丙酯	322	2.52
14	14.484	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	油酸异丙酯	324	1.95
15	14.524	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	E, E, Z-1, 3, 12-十九碳三烯-5, 14-二醇	294	0.55
16	14.704	C ₂₄ H ₄₂ O ₇	L-抗坏血酸-6-硬脂酸酯	442	0.58
17	15.144	C ₂₆ H ₅₄	3-乙基-5-(2-乙基)-十八烷	366	0.61
18	15.687	C ₂₂ H ₄₀ O ₂	9, 12-十八碳烯酸丁酯	336	1.30
19	15.778	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	甘油亚麻酸酯	352	0.52
20	15.955	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	硬脂酸己酯	368	1.46
21	16.02	C ₂₃ H ₄₆ O ₄	2-羟基-1-(羟甲基)-二十烷酸	386	0.65
22	16.076	C ₁₈ H ₃₄ O	8-十八碳烯醛	266	1.50
23	16.489	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	22-二十三烯酸	352	0.90
24	17.144	C ₂₇ H ₅₆	二十七烷	380	3.40
25	18.039	C ₃₈ H ₇₆ O ₂	花生酸十八烷醇酯	386	2.40
26	18.165	C ₃₅ H ₇₀	三十五烯	490	2.74
27	19.345	C ₂₉ H ₆₀	二十九烷	408	37.14
28	19.751	C ₃₈ H ₇₄ O ₂	油酸二十烷醇酯	562	1.01
29	20.245	C ₃₁ H ₆₂ O ₂	二十二烷酸壬酯	466	2.30
30	20.89	C ₃₄ H ₆₄ O ₂	(Z, Z)-9-十六碳烯酸9-十八碳烯酯	504	2.13
31	21.666	C ₂₄ H ₄₆ O ₄	草酸异丁基十八基酯	398	18.71
32	23.51	C ₃₈ H ₇₄ O ₂	(Z, Z)-二-1, 1'-[1, 2-乙烷二基 [(氧基)]-9-十八碳烯	562	1.57
33	25.017	C ₂₉ H ₅₀ O	β -谷甾醇	414	4.28
34	25.982	C ₂₁ H ₃₆ O ₆	π -D-甘露糖呋喃糖金合欢醇苷	384	4.59
35	26.398	C ₂₇ H ₄₄ O ₃	24, 25-二氢维生素D ₃	416	1.68
36	29.4	C ₃₀ H ₅₀ O	木栓酮	426	2.21

参考文献

[1] P E Kolattukudy. Natural waxes on fruits[J]. Post Harvest Pomology Newsletter, 1984, 2(2): 3-7.
 [2] 波吉特·卡姆, 帕特里克R 格鲁伯, 迈克·卡姆. 生物炼制-工业过程与产品(下卷)[M]. 欧阳平凯译. 北京: 化学工业出版社, 2007: 361-365.
 [3] 李锦运, 郭玉蓉, 董守利, 等. 冷破碎苹果皮渣中多糖提取工艺优化及除杂方法研究[J]. 食品工业科技, 2011(7): 274-277.
 [4] 廖传华, 黄振仁. 超临界CO₂流体萃取技术-工艺开发及其应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
 [5] Sando CE. Constituents of the wax-like coating on the surface of the apple[J]. Journal of biological chemistry, 1923, 56: 457-468.
 [6] Els A Veraverbeke, Jeroen Lammertyn, Stijn Saevens, et al. Changes in chemical wax composition of three different apple (Malus domestica Borkh.) cultivars during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2001, 23: 197-208.
 [7] Giancarlo Verardo, Emanuela Pagani, Paola Geatti, et al. A thorough study of the surface wax of apple fruits[J]. Anal Bioanal Chem, 2003, 376: 659-667.

[8] Peter Lorenz, Melanie Berger, Julia Bertrams, et al. Natural wax constituents of a supercritical fluid CO₂ extract from quince (Cydonia oblonga Mill.) pomace[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 391: 633-646.
 [9] Yasantha Athukorala, Giuseppe Mazza. Supercritical carbon dioxide and hexane extraction of wax from triticale straw: Content, composition and thermal properties[J]. Industrial Crops and Products, 2010, 31: 550-556.
 [10] 张德权, 胡晓丹. 食品超临界CO₂流体加工技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
 [11] 李月, 陈锦屏, 段玉峰, 等. 植物甾醇功能及开发前景展望[J]. 粮食与油脂, 2004(5): 11-13.
 [12] 何兰, 岳祥军, 陈耀祖, 等. 木栓酮化学结构修饰及其抗炎活性[J]. 应用化学, 1996, 13(5): 67-69.
 [13] Belding R D, Blankenship S M, Young E, et al. Composition and variability of epicuticular waxes in apple cultivars[J]. Journal of the american society for horticultural science, 1998, 123: 348-356.