

文章编号:1674-2869(2010)12-0013-05

番石榴果芳香浸膏的提取及成分分析

陈 凡¹, 刘永红², 刘永琼^{1*}, 李 亮¹, 陈雅芬¹, 黎璐平¹

(1. 武汉工程大学化工与制药学院, 绿色化工过程省部共建教育部重点实验室,

新型反应器与绿色化学工艺湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430074;

2. 襄樊市中心医院, 湖北 襄樊 441021)

摘 要:采用乙醇作溶媒对番石榴果进行芳香浸膏的提取, 通过小试及正交设计得出最佳工艺为物料比1:5、温度 40 ℃、提取 3 h, 此时乙醇质量分数为 80%, 浸膏得率可达 22.6%, 并采用 GC-MS 联用技术对提取所得芳香浸膏进行成分分析, 可能的成分及质量分数为: 5-羟甲基糠醛(71.47%)、2,3-2H-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃酮(6.44%)、糠醛(4.69%)、乙酸(2.54%)、庚酸(1.70%)等。

关键词:番石榴果; 芳香浸膏; 提取; 正交设计; GC-MS

中图分类号: R284.1

文献标识码: A

doi: 10.3969/j.issn.1674-2869.2010.12.004

0 引 言

番石榴(Psidium guajava L.), 又名鸡矢果, 拔子, 珍珠芭乐, 是桃金娘科番石榴属的多年生长灌木, 亦是热带与亚热带地区广泛栽培的果树^[1]。番石榴原产美洲热带地区, 传入我国已有 300 多年历史, 在粤、桂、闽、琼、台、滇、川等省区均有露地栽培, 一年可收获果实 2 或 3 季^[2]。它的果实风味独特, 清爽、甜润, 随着番石榴口味产品的风靡流行和畅销, 番石榴香料也引起很多厂商和技术人员关注^[3]。根据已查阅文献, 国外有古巴哈瓦那食品工业研究所用水蒸气蒸馏法-溶剂萃取法从哥斯达黎加番石榴果中分离出挥发性化合物, 认为脂族、酯类化合物和萜类化合物是其主要成分^[4]; 国内有清华大学及北京大学采用 Amberlite XAD-4 树脂吸附番石榴果散发的天然香气, 无水乙醚吸附后浓缩洗脱液, 采用双柱 GC/MC/DC 及色谱保留指数鉴定了 36 个成分中的 25 个, 发现果实的天然香气主要来自乙醛缩二乙醇、甲醛缩二乙醇^[5]; 广州百花香料股份有限公司采用顶空成分气相色谱-质谱分析得到番石榴香气成分 58 种^[6]。由此可知提取方法的不同, 所得番石榴果的香气成分也有所不同。而关于番石榴果中芳香浸膏提取工艺与成分分析的研究尚未见报道^[7], 本实验采取乙醇作溶媒, 进行番石榴果芳香浸膏的提取与提取所得芳香浸膏的成分分析研究, 为将番石

榴果开发成为香料资源和丰富我国香料资源的植物来源提供实验依据。

1 实验部分

1.1 材料、试剂与仪器

番石榴(品名: 珍珠芭乐, 采购于广东省茂名市); 体积分数 95% 的食用乙醇(武昌中北酒精厂); 活性炭(北京绿色风活性炭有限公司); 番石榴果实芳香浸膏(自制, 批号 20091210)

高速万能粉碎机(天津泰斯特仪器有限公司); AB204-N 型分析天平(上海科导超声仪器有限公司); 5 mL 比重瓶(中山市精科化玻仪器有限公司); DGF3006A 电热鼓风干燥箱(重庆银河试验仪器有限公司); RE52-C 高速旋转蒸发器(巩义市予华仪器有限公司); SSY-H 不锈钢恒温水浴锅(上海三申医疗器械公司); BS60 电热三用水箱(北京市医疗设备厂); GS12-2 电子恒速搅拌器(上海机械专机厂); 气相色谱-质谱联用仪(安捷伦 GC7890A/MS5973C)。

1.2 实验方法

1.2.1 果实水分含量的测定 参照国家标准(GB/T8858-1988)^[8], 将番石榴粉碎至 380 μm 粒度果浆, 称取果浆的重量 m_1 , 然后在干燥箱通风, 控温为 70 ℃ 干燥至恒重 m_2 , 番石榴水分含量 $m = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100\%$, 测量三次取平均值 \bar{m} 。

1.2.2 番石榴芳香浸膏提取及单因素试验

收稿日期: 2010-09-03

作者简介: 陈 凡(1985-), 女, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 研究方向: 天然产(药)物的研究与开发。

指导老师: 刘永琼, 女, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 药物合成、药物制剂与天然药物。* 通信联系人

a. 番石榴芳香浸膏提取. 将番石榴果粉碎至 380 μm 粒度果浆, 按番石榴果与食用乙醇一定的物料比 (W/W) 投入物料, 开动搅拌至一定速率, 水浴加热至预定温度, 保持一定的提取时间后, 冷却, 抽滤得提取液, 将提取液减压 (−0.08 MPa~−0.095 MPa) 蒸馏至一定密度, 即得番石榴果芳香浸膏.

b. 单因素试验. 在一定的粉碎度和搅拌速度条件下, 以浸膏得率为考察指标, 分别对番石榴浸膏提取工艺的物料比、乙醇浓度、提取温度和提取时间等进行单因素考察, 确定影响提取的主要因素.

据浸膏定义可知, 所得浸膏每 1 mL 相当于原药材 2.5 g. 本研究统一密度为 1.22 g/mL, 定义浸膏得率为:

浸膏得率 (%) = $\frac{x}{40} \times 100\%$ (x 为 100 g 果实所得浸膏的毫升数)

1.2.3 正交实验 根据 1.2.2 对提取工艺进行单因素实验研究的结果, 对影响提取的 4 个主要因素均选出 3 个水平, 得出 $L_9(3^4)$ 设计表^[9]. 如表 1 所示.

表 1 因素水平				
Table 1 factor and level				
因素	物料比	乙醇质量分数/%	温度/℃	提取时间/h
	A	B	C	D
1	1:4	60	20	3
2	1:5	70	40	4
3	1:6	80	60	5

1.2.4 GC-MS 联用对芳香浸膏成分进行分析 由前述国内外对番石榴果香气成分研究可知, 不同提取方法所得香气成分均不同, 因此本文对实验所得番石榴果实芳香浸膏 (批号 20091210) 进行 GC-MS 分析^[10].

色谱条件 (GC): a. 色谱柱: 毛细管柱 HP-5; 30 m \times 250 μm \times 0.25 μm ; b. 进样口温度: 325 $^{\circ}\text{C}$; c. 载气: He; d. 分流比: 20:1; e. 进样量: 1 μL ; f. 程序升温: 40 $^{\circ}\text{C}$ (5 min) 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 200 $^{\circ}\text{C}$ (3 min).

选用的质谱条件 (MS) 如下: a. 调谐方式: 自动调谐; b. 电离方式: EI 源; c. 电子能量: 23 $^{\circ}\text{C}$; d. 四级杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; e. 采集方式: 全扫描.

2 实验结果与讨论

2.1 果实水分含量的测定

三次测得的水分含量如下表 2 所示.

表 2 水分含量				
Table 2 The content of water				
序号	1	2	3	平均值(\bar{m})
水分含量 L%	86.4	87.6	87.1	87.0

即番石榴果实中的水分含量约为 87.0%.

2.2 番石榴芳香浸膏提取及单因素实验

2.2.1 物料比对提取效果的影响 表 3 为物料比与芳香浸膏得率的关系.

表 3 物料比与芳香浸膏得率的关系					
Table 3 The effect of material ratio on extrat rate					
物料比/(w/w)	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7
得率/%	10.4	11.9	12.5	12.4	12.5

由表 3 知: 随着物料比的增加, 芳香浸膏得率增大, 物料比为 1:5 时, 浸膏得率基本不变, 这是因为当料液比例较小时, 水浸润作用进行不彻底, 达到一定比例后, 物料充分溶解, 物料比的继续增加对得率的影响随之减弱.

2.2.2 乙醇浓度对提取效果的影响 表 4 为乙醇质量浓度与芳香浸膏得率的关系.

表 4 乙醇质量浓度与芳香浸膏得率的关系						
Table 2 The effect of ethanol on extrat rate						
质量浓度/%	40	50	60	70	80	90
得率/%	10.1	10.7	11.5	12.8	13.1	13.0

由表 4 可知, 随着乙醇浓度不断增加, 得率不断提高且在 70 $^{\circ}\text{C}$ 之后趋于平缓. 这充分说明乙醇浓度对番石榴浸膏提取的提取浓度选择性.

2.2.3 提取温度对提取效果的影响 表 5 为温度与芳香浸膏得率的关系.

表 5 温度与芳香浸膏得率的关系							
Table 5 The effect of temperature on extrat rate							
温度/℃	20	30	40	50	60	70	80
得率/%	11.8	12.1	12.4	12.2	12.3	11.8	11.6

由表 5 可知, 温度对得率的影响较小, 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 左右得率最大, 随后略有下降. 这可能是当温度升高, 番石榴中芳香性成分在溶剂中的溶解度增加, 当温度过高, 芳香性成分易挥发, 导致得率下降.

2.2.4 提取时间对提取效果的影响 表 6 为时间与芳香浸膏得率的关系.

表 6 时间与芳香浸膏得率的关系							
Table 6 The effect of time on extrat rate							
时间/h	2	3	4	5	6	7	8
得率/%	10.7	11.9	12.7	12.3	12.0	11.8	11.9

表 6 表明, 随着提取时间的延长, 得率在 4 h 达到最大, 随着时间的继续增加, 得率略微减小. 这可能是当提取达到 4 h, 番石榴果提取较充分, 随着时间延长, 浸膏所含部分香气成分略有挥发, 导致得率有所下降.

2.3 正交实验

以浸膏得率和外观以及香气作为考察指标,按 $L_9(3^4)$ 正交表的水平组合进行试验,结果如下:

不同指标所对应的优选方案是不一定完全相同的,此时需通过综合平衡法可得到综合的最优方案^[5],在本次正交设计中,对不同的指标,影响因素的最佳水平比较一致.

通过两种分析综合考察后,得到最佳提取工艺为 $C_3A_2D_2B_2$,即:乙醇浓度为 80%,提取时间为 4 h,物料比为 1:5,提取温度 40 ℃.

2.4 GC-MS 联用对芳香浸膏的分析

以 1. 2. 4 对正交所得芳香浸膏(批号 20091210)进行分析,结果如图 2. 3.

由计算机谱库(NIST05a. L)检索,面积归一法知主要成分和含量如表 9 所示.

表 7 提取率正交实验结果

Table 7 The results of orthogonal of the rate of extraction

实验号	A	B	C	D	浸膏得率%
1	1	1	1	1	10.4
2	1	2	2	2	12.3
3	1	3	3	3	12.9
4	2	1	2	3	13.3
5	2	2	3	1	11.8
6	2	3	1	2	11.9
7	3	1	3	2	11.6
8	3	2	1	3	13.2
9	3	3	2	1	12.0
K1	11.933	11.967	11.500	11.867	
K2	12.533	12.333	11.933	12.433	
K3	12.100	12.267	13.133	12.267	
极差 R	0.600	0.366	1.633	0.566	
因素主次	C>A>D>B				

表 8 香气、外观正交实验结果

Table 8 The results of orthogonal of aroma and appearance

实验号	A	B	C	D	香气得分	外观得分	综合分
1	1	1	1	1	6.8	7.0	6.82
2	1	2	2	2	8.3	7.0	8.17
3	1	3	3	3	8.1	7.5	8.04
4	2	1	2	3	8.7	7.5	8.58
5	2	2	3	1	8.3	7.5	8.22
6	2	3	1	2	8.5	8.0	8.45
7	3	1	3	2	7.3	7.5	7.32
8	3	2	1	3	7.4	7.5	7.41
9	3	3	2	1	7.0	8.0	7.10
K1	7.560	7.677	7.380	7.573			
K2	7.950	8.417	7.980	7.933			
K3	7.860	7.277	8.010	7.863			
极差 R	0.390	1.140	0.630	0.360			
因素主次	B>C>A>D						

注:评分满分为 10 分,香气和外观评分权重为 0.9 和 0.1.

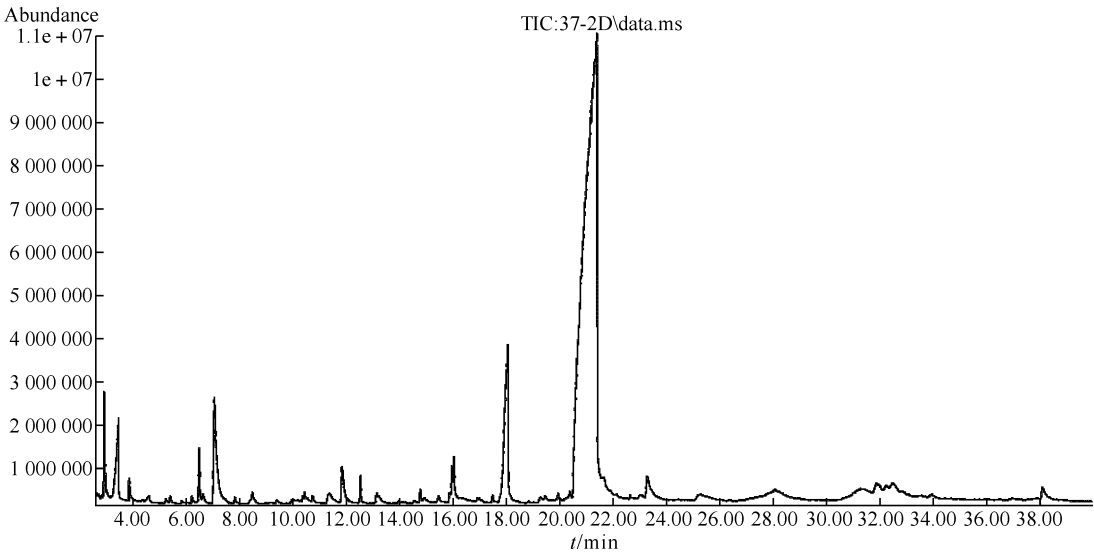


图 1 质谱图

Fig.1 XRD spectra of hydroxyapatite

表 9 番石榴浸膏气相-质谱分析

Table 9 The GC-mass spectrometry of guava extractive

峰号	保留时间 /min	相对含量 /%	化合物	保留 指数	匹配度
1	2.950	1.08	甲酸 Formic acid	99	78
2	3.479	2.54	乙酸 Acetic acid	256	86
3	3.892	0.32	羟基丙酮 2-Propanone, 1-hydroxy	800	58
4	4.631	0.16	乙烯基乙醚 Ethene, ethoxy-	657	64
5	5.429	0.14	(2S,3S)-2,3-环氧己醇 (2S,3S)-(-)-3-Propyloxiranemethano	7 968	56
6	6.228	0.09	2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	2 244	62
7	6.503	0.74	2,3-丁二醇 2,3-Butanediol	2 245	91
9	7.071	4.25	糠醛 Furfural	2 676	97
10	8.498	0.44	糠醛 -Furanmethanol	3 015	93
11	10.371	0.07	1-戊醇 1-Pentanol	2 054	50
12	10.437	0.22	2(5H)-呋喃酮 2(5H)-Furanone	1 316	70
13	10.756	0.10	甲基环戊烯醇酮 2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-	3 049	52
14	11.379	0.50	衣康酸酐 2,5-Furandione,dihydro-3-methylene-	6 086	91
15	11.852	1.06	5-甲基呋喃醛 2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	5 620	95
16	12.530	0.38	2,4-二羟基-2,5-甲基-3(2H)-呋喃酮 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one	19 880	72
17	13.141	0.2	2H-吡喃-2,6(3H)-二酮 2H-Pyran-2,6(3H)-dione	6 076	87
18	13.218	0.27	芳酸 3-Cyclobutene-1,2-dione,3,4-dhydroxy-	6 879	38
19	14.783	0.21	4-壬烯(顺反共混合物) trans--4-Nonene	11 160	50
20	14.943	0.20	2-甲基-乙烷肼醛 Propanal,2-methyl-,dimethylhydrazone	7 200	50
21	15.461	0.14	4-羟基-2,5-二甲基-3(2H)呋喃酮 2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3(2H)-furanone	11 760	58
22	15.868	0.12	2,5-二甲酰基呋喃 2,5-Furandicarboxaldehyde	9 997	74
23	15.956	0.5	羟甲基酮-糠醇 Furyl hydroxymethyl ketone	10 765	78
24	16.033	0.67	1-甲基-2,4,5-乙二酰脲 1-Methyl-2,4,5-trioximidazolidine	11 625	37
25	17.482	0.11	1,1,1-三氟-2-己酮 2-Hexanone, 1,1,1-trifluoro-	26 161	35
26	18.039	6.44	2,3-2H-3,5-二羟基-6-甲基-4H-吡喃酮 4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-di hydroxy-6-methyl-	19 887	90
27	19.295	0.11	2-甲基-3,5-二羟基-4-吡喃酮 4H-Pyran-4-one,3,5-dihydroxy-2-methyl-	18 755	96
28	19.465	0.16	二(二甲基肼)乙二醛 Ethanedial,bis(dimethylhydrazone)	18 719	41

峰号	保留时间 /min	相对含量 /%	化合物	保留 指数	匹配度
29	19.967	0.16	(+/-)- β -羟基- γ -丁内酯 2(3H)-Furanone, dihydro-4-hydroxy-	4 139	87
30	20.407	0.20	5-乙酰基糠醛 5-Acetoxyethyl-2-furaldehyde	35 413	43
31	21.399	70.38	5-羟甲基糠醛 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)-	10 778	93
32	21.691	1.09	5-羟甲基糠醛 2-Furancarboxaldehyde,5-(hydroxymethyl)-	10 778	90
33	23.321	1.11	4-甲基-1,3-二氢咪唑-2-酮 2H-Imidazol-2-one,1,3-dihydro-4-methyl-	2 988	43
34	25.282	0.26	溴戊烷 Pentane, 1-bromo-	23 097	30
35	28.075	1.70	庚酸 Heptanoic acid	12 997	46
36	31.375	1.32	甲基- α -D-呋喃核糖苷 Methyl-, α -D-ribofuranosideL-Galactose, 6-deoxy-	32 338	50
37	31.915	0.79	3-甲基-1-(三甲硅氧基)-环己烯 Cyclohexene,3-methyl-1-(trimethylsilyloxy)-	45 692	35
38	32.251	0.42	2,2,6-三甲基-6-(2-丙基)四氢吡喃 2,2,6-Trimethyl-6-(2-oxopropyl)tetrahydropyran	45 824	38
39	32.488	0.61	6-羟基-5-甲基亚胺甲基-2,4(1H,3H)-二酮嘧啶 Pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione,6-hydroxy-5-methyliminomethyl-	35 822	37
40	38.145	0.54	5-甲基-N-(3-硝基苯)-2-糠酸 5-Methyl-N-(3-nitrophenyl)-2-furamide	88 892	50

由表 9 可知,番石榴芳香浸膏大部分成分属于香料类物质,相对含量超过 1%的主要芳香物质的含量由多到少依次为醛类(5 种,77.78%),酮类(10 种,9.13%),酸类(5 种,6.13%),杂环类(5 种,2.47%),醇类(4 种,1.54%),碳氢化合物(3 种,1.26%),碳酸衍生物(1 种,0.67%),羧酸衍生物及醚类(2 种,0.66%)。其中,5-羟甲基糠醛是主要香气来源,含量高达 71.47%。

3 结 语

a. 通过水分含量测定得出番石榴的水分含量为 87%,属于高水分果肉型水果,因此在提取时会稀释溶剂的浓度,对溶剂的选择性增加,对提取增加了一定困难,所以对乙醇质量分数的单因素探索选择了从 40%至 90%的较大范围,实验确定质量分数在 60%、70%、80%时提取效果较佳,最后通过正交设计得出最佳乙醇质量分数为 80%。

b. 考察番石榴果实芳香浸膏的各因素水平,得出最佳工艺经中试验证,操作简易可行且工艺稳定,为产品的工业化生产奠定基础。

c. 根据初步品评和分析,认为番石榴果实芳香浸膏具有纯正的焦糖香、膏甜香似烟香,GC/MC 分析出浸膏主要发香物质为 5-羟甲基糠醛,占 71.47%。据有关文献可知,5-羟甲基糠醛具有焦甜味,烘烤味,这与本实验所得芳香浸膏的焦甜香味相吻合,说明 5-羟甲基糠醛为主要发香物质,也为

5-羟甲基糠醛的纯品所证实。

参考文献:

[1] 林进能.天然食用香料生产与应用[M].北京:轻工业出版社,1991:7-9.

[2] Ruehle G D. The Common Guava-A Neglected Fruit With a Promising Future[J]. Economic botany,1948, 17(2):306-325.

[3] 刘建林,夏明忠,袁颖,等.番石榴的综合利用现状及发展前景[J].中国林副特产,2005,79(6):60-62.

[4] Prasad N B L, Azeemoddin G. Characteristics and Composition of Guava Seed and Oil[J]. Jaoocs,1994, 71(4):457-458.

[5] 郑瑶青,孙亦樑,吴筑平,等.番石榴的天然香气(头香)成分研究[J].植物学报,1987,29(6):643-648.

[6] 房小林.番石榴香精的调配工艺[J].现代食品科技, 2006,22(4):177-178.

[7] 张闯,陈普,谢薇,等.傣药麻贵香拉的研究进展[J].中国民族医药杂志,2007,14(2):16-17.

[8] 国家标准化管理委员会.水果、蔬菜产品中干物质和水分含量的测定方法[S].中国人名共和国商业部, 1988:1-4.

[9] 鄢文,周迎春,刘强,等.正交实验法优选番石榴叶挥发油提取工艺[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(6):25-26.

[10] 杨靖,黎莉,戴立珍,等.白玉兰种子挥发油成分的 GC-MS 分析[J].武汉工程大学学报,2010,32(3): 47-48.

(下转第 22 页)