胡椒叶精油的提取工艺优化及其 GC-MS 分析

樊志国[1]，陈长锴[2]，赵凤祥[1]，吴颖颍[1]，蒋志国[1]，施瑞城[1]

（1.海南大学食品科学与工程学院，海南海口 570100）（2.三沙南海美源岛生物科技有限公司，海南三沙 573199）

摘要：以不同类型的低共熔溶剂为提取剂，采用微波辅助蒸馏法从胡椒叶中提取精油。比较了不同类型的低共熔溶剂，并对影响精油得率的主要因素(液料比、微波功率、提取时间)进行了单因素试验和响应面的工艺优化。结果表明：氯化胆碱-尿素低共熔溶剂为最佳提取剂，当其液料比为 16:1 mL/g，微波功率 480 W，提取时间 53 min 时。在此条件下，精油最大得率为 1.42%。对比试验发现：此方法对精油得率明显优于水蒸气蒸馏法和微波辅助蒸馏法，分别提高了 17.48%、5.66%。通过用气相色谱-质谱(GC-MS)对精油的化学成分进行了鉴定，共 34 种物质，主要成分为异桉油烯醇（25.47%）、δ-榄香烯（17.52%）、石竹烯（8.27%）、α-荜澄茄油烯（7.07%）、α-古芸烯（5.59%）、(+)-喇叭烯（5.02%）。以氯化胆碱-尿素作为低共熔溶剂提取胡椒叶精油的方法是可行的。

关键词：低共熔溶剂；胡椒叶；精油；微波辅助蒸馏；气相色谱-质谱法(GC-MS)

文章篇号：1673-9078(2020)06-226-234 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.6.1260

Optimization and GC-MS Analysis of Extracting Pepper Leaves Essential Oil

FAN Zhi-guo[1], CHEN Chang-kai[2], ZHAO Feng-xiang[1], WU Ying-ying[1], JIANG Zhi-guo[1], SHI Rui-cheng[1]

(1.College of Food Science and Engineering, Hainan Univeristy, Haikou 570100, China)

(2.Sansha Nanhai Meiyuan Island Biotechnology Co., Ltd., Sansha 573199, China)

Abstract: Essential oils were extracted from pepper leaves by microwave-assisted distillation using different types of deep eutectic solvents as solvents. Different types of eutectic solvents were compared, and the main factors affecting the yield of essential oils (solvent-solid ratio, microwave power, extraction time) were optimized by single factor test and response surface methodology. The results showed that the choline chloride-urea deep eutectic solvent was the best extractant, when the conditions was as follow: solvent-solid ratio of 16:1 (mL/g), the microwave power of 480 W, and the extraction time of 53 min. Under these conditions, the maximum yield of essential oil was 1.42%. The comparison test indicated that the yield of the essential oil was significantly better than that of steam distillation and microwave-assisted distillation, which increased by 17.48% and 5.66%, respectively. The chemical constituents of the essential oils were identified by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). A total of 34 substances, the main components were isospathulenol (25.47%), δ-elemene (17.52%), caryophyllene (8.27%), α-cubebene (7.07%), α- gurjunene (5.59%), (+)-ledene (5.02%). A method for extracting pepper leaves essential oil by using choline chloride-urea as deep eutectic solvent could be feasible.

Key words: deep eutectic solvents; pepper leaves; Essential oil; microwave-assisted distillation; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

引文格式：

樊志国,陈长锴,赵凤祥,等.胡椒叶精油的提取工艺优化及其 GC-MS 分析[J].现代食品科技,2020,36(6):226-234

FAN Zhi-guo, CHEN Chang-kai, ZHAO Feng-xiang, et al. Optimization and GC-MS analysis of extracting pepper leaves essential oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 226-234

收稿日期：2019-12-20

基金项目：海南省重点研发计划项目（ZDYF2019058）

作者简介：樊志国（1993-），男，硕士，研究方向：食品加工与贮藏工程

通讯作者：蒋志国（1977-），男，博士，副教授，研究方向：食品化学与营养；共同通讯作者：施瑞城（1962-），男，教授，研究方向：农产品加工及贮藏工程

胡椒(*Piper nigrum* L.)属于胡椒科的开花藤本植物，其果味辛辣，是最为广泛的香料。原产于东南亚，我国主产区在海南，占全国胡椒总产量的 90%以上，现已是海南省的一项特色农产品。胡椒具有健肠胃、温中散寒、消痰等功效[1,2]，医药上也常用作驱风药慢性消化不良药[3,4]。因其精油具有良好的防腐[5]和抗氧化作用[6]，在食品中可作为天然防腐剂和抗氧化剂。泰国当地人已经用胡椒叶来治疗某些疾病了[7]，Agbor 等[8]发现胡椒叶甲醇提取物具有显著抗氧化和抗动脉粥样硬化功能，这些说明胡椒叶的粗提物具有一定价值。

胡椒精油常规提取方法有水蒸气蒸馏[9-12]和溶剂萃取法[13]等，但其工艺繁琐、提取得率低，且有机溶剂浸提法对环境造成影响。最近几年的新型提取植物精油的方法有微波辅助蒸馏法、超声辅助蒸馏法、超临界 CO_2 萃取法等[14,15]。超临界 CO_2 萃取法的提取效率较高，但生产成本较高而不太适合常规工业提取。因此，寻找高效简洁的绿色环保提取方法非常有意义。

低共熔溶剂(deep eutectic solvents，DES)作为一类新型绿色环保溶剂，它是由氢键供体(hydrogen bond donor，HBD)(如酰胺、羧酸、尿素和多元醇等化合物)和氢键受体(hydrogen bond acceptor，HBA)(如一定化学计量比的季铵盐）组合而成的低共熔混合物[16,17]。因其具有熔点低、不易挥发、安全无毒可降解、价格低廉、制备过程方便快捷且具有良好的生物相容性等特点[18,19]，非常适合作为新型离子液体来代替传统的有机溶剂。随着大家对 DES 性质研究的不断加深，在天然产物的提取过程中，例如多酚[20]或黄酮类[21,22]生物活性物质的提取具有较好的优势，但有关精油提取的研究鲜有报道。本文尝试选取一种合适 DES 结合微波辅助水蒸气蒸馏形成一种新型的工艺方法应用于胡椒叶精油的提取，先通过单因素试验，然后经响应曲面法优化提取工艺参数。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

胡椒叶，海南省定安县黄竹镇；正己烷为色谱纯；1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、氯化胆碱、乙二醇、乳酸、尿素、葡萄糖、甘油、正己烷、无水硫酸钠及其他均为国产分析纯。

FCMCR-3SX 型微波炉，巩义市科瑞仪器有限公司；YHG-9050A 台式电热恒温鼓风干燥箱，上海姚氏仪器设备有限公司；DFY-200C 高速万能粉碎机，上海皓庄仪器有限公司；JB 挥发油测定器，常州普天仪器制造有限公司；AL-IC 系列分析天平，上海精密仪器仪表有限公司；AMD10 气相色谱质谱联用仪，常州磐诺仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 DES 的制备

表 1 不同类型 DES

Table 1 Reagents for preparation of DES

编号	HBA	HBD	摩尔比
DES-1	氯化胆碱	甘油	1:2
DES-2	氯化胆碱	乙二醇	1:4
DES-3	氯化胆碱	尿素	1:2
DES-4	氯化胆碱	乳酸	1:2
DES-5	氯化胆碱	葡萄糖	2:1

按照表 1 所示，制备 5 种不同的低共熔溶剂。将氯化胆碱与甘油(乙二醇、尿素乳酸、葡萄糖)按照一定的摩尔比进行混合，在 80 ℃的恒温水浴锅中加热搅拌 0.5~2 h，直至形成均匀无色透明的液体。

1.2.2 胡椒叶精油提取工艺

将干燥后的胡椒叶粉碎且过 50 目筛，准确称取 30 g 的胡椒叶粉末并加入 DES 进行预处理一段时间，然后将其置于 500 mL 圆底烧瓶中，按液料比加入蒸馏水进行微波辅助处理，然后水蒸气蒸馏提取胡椒叶精油，分液之后加无水硫酸钠干燥，称量并计算胡椒叶精油得率。

胡椒叶精油得率(%)＝(提取精油的重量/干胡椒叶粉末重量)×100%

1.2.3 不同类型 DES 对精油得率的影响

根据表 1 所示，以液料比 15:1 mL/g、微波功率 320 W、提取时间 50 min 作为精油的提取条件，把精油得率作为指标，比较不同 DES 类型对胡椒叶样品中精油提取的影响，并使用效果最佳的 DES 进行后续微波辅助蒸馏提取胡椒叶精油的单因素试验。

1.2.4 单因素实验

采用 1.2.2 的方法提取胡椒叶精油，提取条件为：保持微波功率 480 W、提取时间 50 min 的条件不变，比较不同液料比(5:1、10:1、15:1、20:1、25:1)对胡椒叶精油得率的影响；保持液料比 15:1 mL/g，提取时间 50 min 的条件不变，比较不同微波功率(100、200、300、400、500 W)对胡椒叶精油得率的影响；保持液料比 15:1 mL/g，微波功率 480 W 的条件不变，比较不同提取时间(30、40、50、60、70 min)对胡椒叶精油得率的影响。通过单因素实验来探究各因素变量对胡椒叶精油得率的影响。

1.2.5 响应面法优化试验

表 2 响应面设计实验因素水平和编码

Table 2 Independent variables and their levels used in the response surface design

水平	因素		
	A 液料比/(mL/g)	B 微波功率/W	C 提取时间/min
-1	10:1	320	40
0	15:1	480	50
1	20:1	640	60

在 1.2.4 单因素试验结果的基础上，以液料比(A)、微波功率(B)、提取时间(C)为自变量，以胡椒叶精油得率(Y)为响应值，根据响应面试验设计原理，设计三因素三水平响应面试验因素与水平对胡椒叶精油的提取条件进行优化，试验设计见表 2 所示。

1.2.6 GC-MS 分析

GC 条件：BR-5 ms 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm)；升温程序：初始温度为 60 ℃，以 1.5 ℃/min 升至 185 ℃，保持 1 min，9 ℃/min 升至 275 ℃，保持 2 min；载气(He)，流速 1 mL/min，压力 2.4 kPa，进样量 0.5 μL；分流比 40:1。

MS 条件：EI 电离源，能量 70 eV；离子源温度 230 ℃，四极杆温度 150 ℃，接口温度 250 ℃，质量扫描范围 *m/z* 35~500。

1.3 数据处理

采用 SPSS 16.0 统计软件对单因素实验数据进行单因素方差统计分析，采用 Origin 8.5 软件作图，Design-Expert 响应面软件对胡椒叶精油提取的相关因素做出响应面优化。

2 结果与讨论

2.1 DES 种类的选择

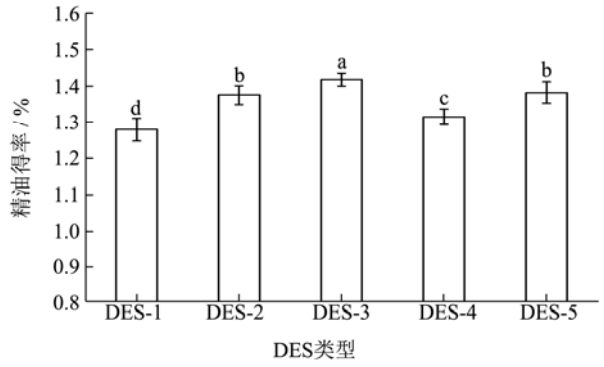


图 1 不同类型 DES 对精油得率的影响

Fig.1 Effect of the DES type on the extraction rate of essential oils

注：a~d 不同字母代表差异性显著(p<0.05)。

5 种不同类型的 DES 对精油得率的影响如图 1 所示。5 种类型 DES 中 DES-3 对胡椒叶精油提取效果最好，其提取率为 1.42%。据 Kumar 等人[23]研究表明，一些 DES 能够溶解纤维素，可以增强植物组织的预处理，促进细胞内化合物的释放。根据实验结果可知，氢键供体为酰胺类的低共熔溶剂（DES-3）对精油的提取得率优于氢键供体为多元醇类（DES-1，DES-2）、羧酸类（DES-4、DES-5）的低共熔溶剂。季铵盐类（氯化胆碱）低共熔溶剂对纤维素的溶解机理是季铵盐阳离子与纤维素羟基上的氧原子发生反应从而形成新的氢键，这符合纤维素羟基基团上的氢、氧原子参与的电子接受和提供机理[24,25]，乙酸根阴离子与已内酰胺的作用能为半纤维素的溶解提供更多活性位点，而季铵盐与酰胺类物质间的氢键结构使纤维素由致密有序结构向毛糙无序结构转变[26]，对木质素有着较强的溶解能力。故在后续实验中，选择氯化胆碱-尿素（DES-3）低共熔溶剂来进行后续实验。

2.2 单因素试验

2.2.1 液料比对胡椒叶精油得率的影响

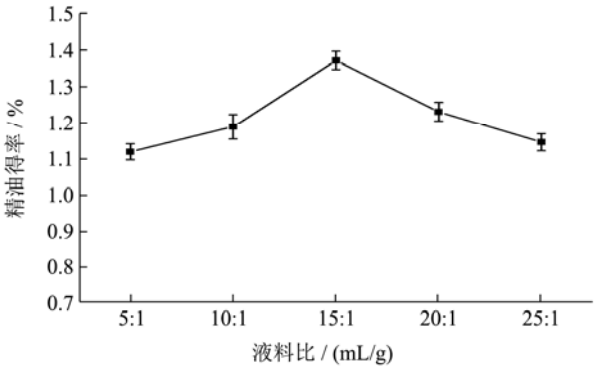


图 2 液料比对胡椒叶精油得率的影响

Fig.2 Effect of the solvent-solid ratio on the extraction rate of essential oils

由图 2 可知，胡椒叶精油得率的趋势是先增加后降低，当液料比达到 15:1 mL/g 时，精油得率最大，为 1.37%。当液料比过小即胡椒叶粉末中蒸馏水过少时，由于水不能充分渗入胡椒叶粉末中，同时水量少导致胡椒叶粉末局部受热，从而降低了胡椒叶精油的得率。当液料比逐渐增大即胡椒叶粉末中蒸馏水逐渐增加时，细胞内的压力随着渗入细胞内的水分温度升高而增强，细胞受到压力而破裂，使得细胞内的物质更容易溢出，从而提高了胡椒叶精油得率。但当液料比过大即胡椒叶粉末中蒸馏水过多时，微波的效果在一定程度上被液面厚度所影响而降低其得率。同时考虑其能耗和时间[27,28]等因素，所以液料比的选择应该

在 15:1 mL/g 左右。

2.2.2 微波功率对胡椒叶精油得率的影响

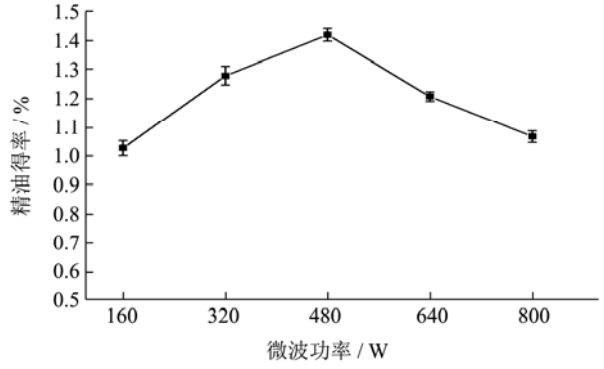


图 3 微波功率对胡椒叶精油得率的影响

Fig.3 Effect of the microwave power on the extraction rate of essential oils

由图 3 可以知，随微波功率的增大，胡椒叶精油得率也逐渐提高，当微波功率达到 480 W 时，胡椒叶精油得率达到最大值为 1.41%，但再提高微波功率时，胡椒叶精油得率反而逐渐降低。原因在于当微波功率逐渐增加时，温度升高，分子热运动加剧，细胞内的物质更容易溢出，从而提高了胡椒叶精油得率。但随着功率继续增大，精油成分中热敏性物质因过高的温度而受热破坏和损失，降低了胡椒叶精油得率。这个结果和杨艳等[29]在用微波辅助水蒸气蒸馏提取孜然精油有相似之处。因此，超声功率的选择在 480 W 左右。

2.2.3 提取时间对胡椒叶精油得率的影响

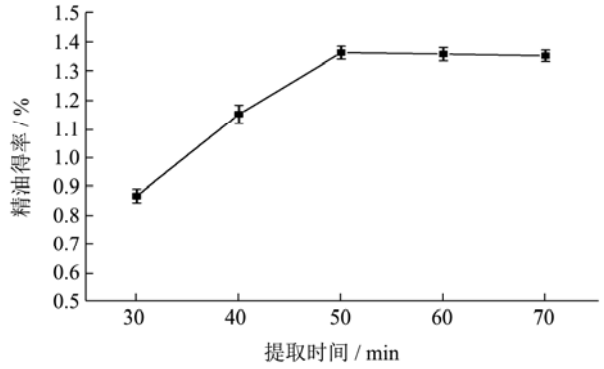


图 4 提取时间对胡椒叶精油得率的影响

Fig.4 Effect of the extraction time on the extraction rate of essential oils

图 4 的结果表明，在 50 min 前，随提取时间的增加，胡椒叶精油得率也快速提升，其最大提取率为 1.36%，但当提取时间超过 50 min 时，胡椒叶精油得率基本不变，反而有所降低，出现这一现象的原因可能是精油成分中热敏性物质因其过长的提取时间而被受到损失，导致部分胡椒叶精油挥发，精油得率稍有下降。这个结果与包怡红等[30]研究响应面法优化艾叶精油的提取工艺及其化学成分分析的实验中发现有相似之处，考虑时间成本和能量的消耗的因素，提取时间的选择在 50 min 左右比较合适。

2.3 响应面优化胡椒叶精油的提取工艺

2.3.1 试验设计方案及结果

由表 2 响应面设计实验因素与水平，在单因素试验结果上，把液料比(A)、微波功率(B)、提取时间(C)作为自变量，以胡椒叶精油得率(Y)为响应值，根据 Box-Behnken 设计原理，设计三因素三水平试验，进行 3 次重复试验，响应面设计的因素水平及结果如表 3 所示。

表 3 响应面试验设计与结果

Table 3 The design and results of response surface experiment

编号	A	B	C	Y 精油得率/%
1	-1	-1	0	1.04
2	1	0	-1	0.90
3	1	0	1	1.24
4	0	0	0	1.43
5	-1	1	0	1.20
6	1	-1	0	1.23
7	0	1	1	1.00
8	1	1	0	0.88
9	0	-1	1	1.19
10	0	0	0	1.39
11	0	-1	-1	0.72
12	0	0	0	1.37
13	0	0	0	1.42
14	0	1	-1	0.84
15	0	0	0	1.37
16	-1	0	-1	0.89
17	-1	0	1	1.14

2.3.2 模型建立及方差分析

利用 Design-Expert 软件对所得数据进行回归分析，得到 Y(精油得率)与液料比、微波功率、提取时间的二次回归方程：

$Y=1.40+0.002125A-0.031B+0.15C-0.13AB+0.023AC-0.076BC-0.10A^2-0.21B^2-0.25C^2$。

由表 4 可知，回归模型决定系数 $R^2=0.9871$，校正决定系数 $R^2_{Adj}=0.9704$，由方差分析可知，回归方程模型极显著($p<0.0001$)，表明胡椒叶精油得率的实验值与预测值吻合较好。失拟项不显著($p=0.102>0.05$)，表明所得方程与实际拟合中非正常误差所占比例小，具有较好的稳定性，结果准确可靠。各单因素对胡椒叶精油得率影响的大小跟方差分析中的 F 值相关，F

值越大，说明其对应的因素对试验指标影响越显著。由表 4 可以看出，各因素对响应值显著的排序为提取时间(C)>微波功率(B)>液料比(A)。

表 4 回归方程方差分析

Table 4 Analysis of variance of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	Prob>F	显著性
模型	0.83	9	0.092	59.32	<0.0001	**
A	3.612E-005	1	3.612E-005	0.023	0.8831	
B	7.875E-003	1	7.875E-003	5.07	0.0421	*
C	0.19	1	0.19	120.49	<0.0001	**
AB	0.066	1	0.066	42.17	0.0003	**
AC	2.162E-003	1	2.162E-003	1.39	0.2767	
BC	0.023	1	0.023	14.96	0.0061	**
A^2	0.044	1	0.044	28.10	0.0011	**
B^2	0.18	1	0.18	118.17	<0.0001	**
C^2	0.27	1	0.27	171.49	<0.0001	**
残差	0.011	7	1.554E-003			
失拟项	8.227E-003	3	2.742E-003	4.13	0.1020	
误差	2.653E-003	4	6.632E-004			
总和	0.84	16				
R^2	0.9871					
R^2_{Adj}	0.9704					

注：**p<0.01 为极显著；*p<0.05 为显著。

2.3.3 响应面交互作用分析

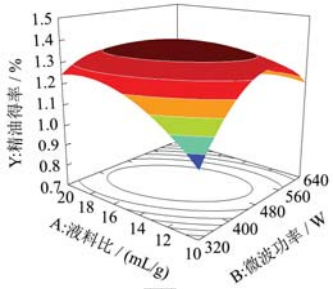


图 5 液料比和微波功率对胡椒叶精油得率交互影响的响应面图

Fig.5 Response surface plot for interactive effect of the solvent-solid ratio and microwave power on extraction rate of essential oil

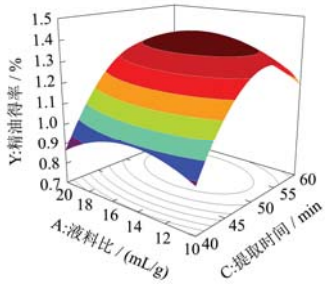


图 6 液料比和提取时间对胡椒叶精油得率交互影响的响应面图

Fig.6 Response surface plot for interactive effect of the solvent-solid ratio and extraction time on extraction rate of essential oil

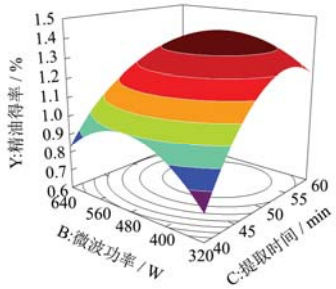


图 7 微波功率和提取时间对胡椒叶精油得率交互影响的响应面图

Fig.7 Response surface plot for interactive effect of the microwave power and extraction time on extraction rate of essential oil

由图 5~图 7 可知，液料比(A)、微波功率(B)和提取时间(C)三者对胡椒叶精油得率(Y)交互作用的响应面图，各因子对响应值的影响可以通过响应曲面图直观看出。根据方差分析结果和响应曲面图可以看出，液料比与微波功率、微波功率与提取时间交互作用对胡椒叶精油得率的影响比较显著，而液料比与提取时间交互作用对胡椒叶精油得率的影响不显著。

2.4 最佳工艺条件的确定及验证实验

响应面回归方程预测的最佳提取条件是液料比 15.71:1 mL/g，微波功率 451.05 W，提取时间 53.38

min，精油得率最大值为 1.43%。为了实际操作和方便生产，修正后的工艺优化参数为液料比 16:1 mL/g，微波功率 480 W，提取时间 53 min。根据修正后的提取条件来验证实验的结果，重复 3 次实验，实际胡椒叶精油的得率为 1.42%，与响应面回归方程理论值相对误差约为 0.56%(在允许范围之内)，表明建立的模型与实际情况吻合较好。通过对比试验(如表 5 所示)发现：基于低共熔溶剂法微波辅助水蒸气蒸馏对精油得率明显优于水蒸气蒸馏法和微波辅助蒸馏法，分别提高了 17.48%、5.66%，说明以氯化胆碱-尿素作为低共熔溶剂提取胡椒叶精油的方法是可行的。根据张水平[31]等人研究胡椒果与胡椒叶精油化学成分分析的结果可知，水蒸气蒸馏提取胡椒叶精油得率为 1.25%，而本实验水蒸气蒸馏提取胡椒叶精油得率为 1.21%，偏差产生的原因可能跟胡椒叶的产地、加工方式及实验条件等因素有关。

表 5 不同提取方法对精油得率的影响

Table 5 Effect of the different extraction methods on the extraction rate of essential oils

提取方法	精油得率/%
水蒸气蒸馏	1.21±0.02
微波辅助水蒸气蒸馏	1.34±0.02
基于低共熔溶剂法微波辅助水蒸气蒸馏	1.42±0.02

2.5 胡椒叶精油化学成分的 GC-MS 分析结果

从胡椒叶精油中共分离检测到 34 种挥发性化学成分，利用质谱信息与标准谱库 NIST08 分别对各色谱峰进行初步检索及相关文献参考定性，确认挥发性物质名称。胡椒叶精油 GC-MS 化学成分总离子流图见图 8，分析结果见表 6。由表 6 可知，胡椒叶精油中提取含量大于 3%的成分为异桉油烯醇（25.47%）、*δ*-榄香烯（17.52%）、石竹烯（8.27%）、*α*-荜澄茄油烯（7.07%）、*α*-古芸烯（5.59%）、(+)-喇叭烯（5.02%）、*β*-榄香烯（3.83%）、大根香叶烯 D（3.39%）。所得到的精油中烯烃类化合物含量最为丰富，占精油成分 64.14%。张水平等[31]的研究中胡椒叶精油的主要成分为 *δ*-榄香烯，其含量占总物质成分的 38.54%，而在本研究中 *δ*-榄香烯的含量为 19.75%，这可能是跟胡椒叶的品种类型、地理环境、处理方式以及提取条件等因素差异所导致。本实验提取的胡椒叶精油中的 *δ*-榄香烯的相对较高，根据相关的文献记载所知，*δ*-榄香烯具有显著的抗肿瘤作用[32]，其中 *β*-榄香烯属于国家二类非细胞毒性肿瘤药物，使胡椒叶具有很高的开发和利用价值。

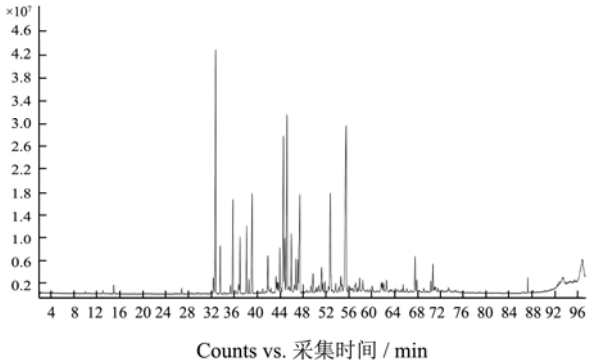


图 8 胡椒叶精油 GC/MS 分析总离子流图

Fig.8 Total ion current chromatogram of pepper leaves essential oil

表 6 胡椒叶精油化学组成成分

Table 6 Chemical composition of the pepper leaves essential oil

序号	名称	相对含量/%	保留时间/min	保留指数 RI	CAS 号
1	芳樟醇	0.52	14.952	1099	78-70-6
2	(S)-(-)香茅酸甲酯	0.43	26.831	1256	-
3	*δ*-榄香烯	17.52	32.385	1325	20307-84-0
4	异喇叭烯	0.68	35.340	1361	95910-36-4
5	*α*-荜澄茄油烯	7.07	35.828	1367	17699-14-8
6	*β*-波旁烯	0.28	36.298	1373	5208-59-3
7	*β*-榄香烯	3.83	37.017	1382	515-13-9
8	*α*-古芸烯	5.59	38.224	1397	489-40-7
9	石竹烯	8.27	39.207	1409	87-44-5
10	6,9-愈创木二烯	0.17	41.010	1432	36577-33-0
11	Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一碳三烯	2.73	41.922	1443	-
12	1,1,7,7a-四甲基-1a,2,6,7,7a,7b-六元-1H-环丙烷丙[a]萘	0.33	42.446	1450	154098-14-3
13	*γ*-古芸烯	1.32	43.332	1461	22567-17-5

转下页

接上页

14	双环大根香叶烯	0.75	43.516	1463	24703-35-3
15	白菖烯	0.67	43.702	1466	17334-55-3
16	大根香叶烯 D	3.39	44.015	1470	23986-74-5
17	(+)-喇叭烯	5.02	44.883	1481	21747-46-6
18	*δ*-杜松烯	2.63	47.126	1509	483-76-1
19	去氢白菖烯	2.08	47.571	1515	483-77-2
20	荜澄茄油宁烯	0.69	48.119	1522	29837-12-5
21	大根香叶烯 B	1.45	49.801	1544	15423-57-1
22	喇叭茶醇	0.34	50.420	1552	5986-49-2
23	桉油烯醇	1.76	51.277	1563	6750-60-3
24	石竹烯氧化物	0.65	51.528	1566	1139-30-6
25	(-)-蓝桉醇	0.82	51.904	1571	489-41-8
26	白千层醇	0.43	52.513	1579	552-02-3
27	(1S,8a*α*)-十氢-1,4a*β*-二甲基-7*β*-异丙烯基-1-萘酚	0.40	54.334	1603	5945-72-2
28	异桉油烯醇	25.47	55.600	1621	88395-46-4
29	*α*-杜松醇	0.88	57.262	1643	481-34-5
30	依兰醇	0.86	58.477	1660	41610-69-9
31	金合欢醇	0.61	62.080	1710	4602-84-0
32	金合欢醛	0.51	63.511	1730	502-67-0
33	乙酸法呢醇酯	0.91	70.378	1830	29548-30-9
34	叶绿醇	0.93	87.316	2106	150-86-7

3 结论

本文建立了一种新型的低共熔溶剂(DES)提取胡椒叶精油的方法，研究结果表明，低共熔溶剂是一种理想的新型离子溶剂，能有效地提高胡椒叶精油得率。通过单因素实验和响应面分析法优化了基于低共熔溶剂的微波辅助水蒸气蒸馏提取胡椒叶精油的工艺，建立了液料比、微波功率和提取时间三个主要因素对胡椒叶精油得率的回归模型，根据其模型优化的胡椒叶精油提取条件为：液料比 16:1 mL/g、超声功率 480 W、提取时间 53 min，此条件下胡椒叶精油得率为 1.42%，通过对比试验发现，基于低共熔溶剂的微波辅助水蒸气蒸馏比水蒸气蒸馏精油和微波辅助水蒸气蒸馏分别提高了 17.48%、5.66%，表明氯化胆碱-尿素组合的低共熔溶剂能有效地提高胡椒叶精油得率，此方法具有较高的可行性。胡椒叶精油通过 GC-MS 分析鉴定出共 34 种化合物，其主要成分为异桉油烯醇（25.47%）、*δ*-榄香烯（17.52%）、石竹烯（8.27%）、*α*-荜澄茄油烯（7.07%）、*α*-古芸烯（5.59%）、(+)-喇叭烯（5.02%）、*β*-榄香烯（3.83%）、大根香叶烯 D（3.39%），其中 *δ*-榄香烯具有很好的研究价值。本文为胡椒叶提取精油的方法提供了一条新的研究思路，同时也有益于胡椒叶的综合利用以及胡椒叶精油在食品、药品及化妆品行业的应用。

参考文献

[1] Zarai Z, Boujelbene E, Salem N B, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum* [J]. LWT- Food Science and Technology, 2013, 50(2): 634-641

[2] Prakash B, Singh P, Mishra P K, et al. Safety assessment of *Zanthoxylum alatum Roxb*. essential oil, its antifungal, antiaflatoxin, antioxidant activity and efficacy as antimicrobial in preservation of *Piper nigrum* L. fruits [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 153(1-2): 183-19

[3] 李春艳,冯爱国.食用天然香料的应用及研究进展[J].农业工程,2014,4(3):55-57
LI Chun-yan, FENG Ai-guo. Application and research progress of edible natural spices [J]. Agricultural Engineering, 2014, 4(3): 55-57

[4] 王建新,衷平海.香辛料原理与应用[M].化学工业出版社, 2004
WANG Jian-xin, ZHONG Ping-hai. Principles and Applications of Spices [M]. Chemical Industry Press, 2004

[5] 王波,陈红兵,韩巨才,等.黑胡椒精油抑菌活性研究[J].山西

农业大学学报(自然科学版),2012,2:60-63
WANG Bo, CHEN Hong-bing, HAN Ju-cai, et al. Study on inhibition activity of the essential oil in black pepper [J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2012, 2: 60-63

[6] Bagheri H, Abdul Manap M Y B, Solati Z. Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO_2 extraction and hydro-distillation [J]. Talanta, 2014, 121: 220-228

[7] Murata K, Nakao K, Hirata N, et al. Hydroxychavicol: a potent xanthine oxidase inhibitor obtained from the leaves of betel, *Piper betle* [J]. Journal of Natural Medicines, 2009, 63(3): 355-359

[8] Agbor G A, Vinson J A, Sortino J, et al. Antioxidant and anti-atherogenic activities of three Piper species on atherogenic diet fed hamsters [J]. Experimental & Toxicologic Pathology, 2012, 64(4): 387-391

[9] Jeleń, Henryk H, Gracka A. Analysis of black pepper volatiles by solid phase microextraction-gas chromatography: A comparison of terpenes profiles with hydrodistillation [J]. Journal of Chromatography A, 2015, 1418: 200-209

[10] XueFeng, Zi-TaoJiang, YingWang, et al. Composition comparison of essential oils extracted by hydro distillation and microwave-assisted hydrodistillation from *Amomum kravanh* and *Amomum compactum* [J]. Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2011, 14(3): 354-359

[11] 谭康志,袁娟娟,陈乔喻,等.四川山胡椒叶挥发油的提取工艺条件研究[J].成都中医药大学学报,2017,40(4):30- 32
TAN Kang-zhi, YUAN Juan-juan, CHEN Qiao-yu, et al. Research on extraction process conditions of essential oil from *Lindera setchuenensis* Gamble leaves [J]. Journal of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2017, 40(4): 30-32

[12] Singh S, Kapoor I P S, Singh G, et al. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potentials of white pepper (*Piper nigrum* L.) essential oil and oleoresins [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India - Section B: Biological Sciences, 2013, 83(3).

[13] Fred J. Eller, Jerry W. King. Supercritical carbon dioxide extraction of cedarwood oil: a study of extraction parameters and oil characteristics [J]. Phytochemical Analysis, 11(4): 226-231

[14] Thakker M R, Parikh J K, Desai M A. Microwave assisted extraction of essential oil from the leaves of palmarosa: Multi-response optimization and predictive modelling [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 86: 311-319

[15] Paul T Anastas, Mary M Kirchhoff. ChemInform abstract: origins, current status, and future challenges of green chemistry [J]. Accounts of Chemical Research, 2002, 49: 686

[16] 熊兴泉,韩骞,石霖,等.低共熔溶剂在绿色有机合成中的应用[J].有机化学,2016,36:55-64
XIONG Xing-quan, HAN Qian, SHI Lin, et al. Application of deep-eutectic solvents in green organic synthesis [J]. Chinese Journal of Organic Chemistry, 2016, 36: 55-64

[17] Zhang Q, Karine D O V, Royer, Sébastien, et al. Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications [J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(21): 7108

[18] Wujie Guo, Yucui Hou, Weize Wu, et al. Separation of phenol from model oils with quaternary ammonium salts, *via* forming deep eutectic solvents [J]. Green Chemistry, 2013, 15: 226-229

[19] Sónia P M Ventura, Marques C S, Rosatella A A, et al. Toxicity assessment of various ionic liquid families towards *Vibrio fischeri* marine bacteria [J]. Ecotoxicology & Environmental Safety, 2012, 76(2): 162-16

[20] 倪玉娇,赵春建,李春英,等.超声辅助低共熔溶剂提取沙棘籽粕多酚的工艺优化[J].植物研究,2017,37(3):474- 480
NI Yu-jiao, ZHAO Chun-jian, LI Chun-ying, et al. Process optimization of ultrasonic assisted deep eutectic solvents (DESs) extraction of polyphenols from *Hippophae rhamnoides* seed meal [J]. Bulletin of Botanical Research, 2017, 37(3): 474-480

[21] 熊苏慧,唐洁,李诗卉,等.一种新型天然低共熔溶剂用于玉竹总黄酮的绿色提取[J].中草药,2018,49(10):2378- 2386
XIONG Su-hui, TANG Jie, LI Shi-hui, et al. A new natural eutectic solvent for green extraction of total flavonoids in *Polygonatum* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2018, 49(10): 2378-2386

[22] 李梅,卢秋榕,韦迎春,等.微波辅助低共熔溶剂提取薏苡叶总黄酮的工艺研究[J].中国食品添加剂,2017,5:49-53
LI Mei, LU Qiu-rong, WEI Ying-chun, et al. Study on microwave-assisted eutectic solvent extraction of total flavonoids from loquat leaves [J]. China Food Additives, 2017, 5: 49-53

[23] Kumar A K, Parikh B S, Pravakar M. Natural deep eutectic solvent mediated pretreatment of rice straw: bioanalytical characterization of lignin extract and enzymatic hydrolysis of pretreated biomass residue [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(10): 9265

[24] 陈子澍,赵子暄,张绍蒙,等.季铵盐/酰胺类低共熔溶剂的制

备及其对纤维素的溶解性能[J].林产化学与工业,2018, 38(5):93-99
CHEN Zi-shu, ZHAO Zi-xuan, ZHANG Shao-meng, et al. Effect of hydrogen bonding of ammonium-based deep eutectic solvents on cellulose dissolution [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2018, 38(5): 93-99

[25] Rinaldi R. Instantaneous dissolution of cellulose in organic electrolyte solutions [J]. Chemical Communications (Cambridge, England), 2011, 47: 511- 513

[26] 付时雨.纤维素的研究进展[J].中国造纸,2019,38(6):54- 64
FU Shi-yu. Progress in cellulose research [J]. China Pulp & Paper, 2019, 38(6): 54-64

[27] Desai M A, Parikh J, De A K. Modelling and optimization studies on extraction of lemongrass oil from *Cymbopogon flexuosus* (Steud.) Wats [J]. Chemical Engineering Research and Design, 2014, 92(5): 793-803

[28] 马希汉,王永红,尉芹,等.玫瑰精油提取工艺研究[J].林产化学与工业,2004,24(S1):80-84
MA Xi-han, WANG Yong-hong, WEI Qin, et al. Study on extraction technology of rose essential oil [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2004, 24(S1): 80-84

[29] 杨艳,吴素玲,张卫明,等.微波辅助水蒸汽蒸馏法和无溶剂微波萃取法提取孜然精油工艺的研究[J].食品科学,2009, 30(8):42-46
YANG Yan, WU Su-ling, ZHANG Wei-ming, et al. Study on microwave-assisted hydrodistillation extraction and solvent-free microwave extraction of essential oil from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed [J]. Food Science, 2009, 30(8): 42-46

[30] 包怡红,段伟丽,王芳,等.响应面法优化艾叶精油的提取工艺及其化学成分分析[J].食品工业科技,2015,14:282- 287
BAO Yi-hong, DUAN Wei-li, WANG Fang, et al. Study on optimization of microwave-assisted extraction and chemical composition analysis of essential oil from *Artemisia argyi* leaves [J]. Science and Technology of Food Industry, 2015, 14: 282-287

[31] 张水平,谷风林,吴桂苹,等.胡椒果与胡椒叶精油化学成分分析[J].热带作物学报,2014,35(2):387-395
ZHANG Shui-ping, GU Feng-lin, WU Gui-ping, et al. Analysis of the essential oil distilled from the fruits and leaves of *Piper nigrum* L. [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(2): 387-395

[32] 王茜莎.*δ*-榄香烯抗肿瘤作用及诱导肿瘤凋亡的机制研究[D].沈阳:沈阳药科大学,2006
WANG Qian-sha. Studies of the anti-tumor activity *in vivo* or *in vitro* and mechanisms of *δ*-elemene induced tumor cell apoptosis [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2006

（上接第 127 页）

[21] 张姝.白腐真菌多功能过氧化物酶基因克隆表达研究[D].武汉:华中科技大学,2017
ZHANG Shu. Gene cloning and expression of white rot fungi versatile peroxidases [D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2017

[22] Knop D, Yarden O, Hadar Y. The ligninolytic peroxidases in the genus *Pleurotus*: divergence in activities, expression, and potential applications [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(3): 1025-1038

[23] Knop D, Ben-Ari J, Salame T M, et al. Mn^{2+}-deficiency reveals a key role for the *Pleurotus ostreatus* versatile peroxidase (VP4) in oxidation of aromatic compounds [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(15): 6795-6804

[24] Gettemy J M, Ma B, Alic M, et al. Reverse transcription-PCR analysis of the regulation of the manganese peroxidase gene family [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(2): 569-574