

响应曲面法优化超临界 CO₂ 萃取虎掌菌精油工艺及其挥发性化合物成分分析

苗笑雨^{1,2}, 谷大海^{1,2}, 王桂瑛^{1,2}, 徐志强^{1,2}, 王雪峰^{1,2}, 程志斌², 范江平^{1,2}, 普岳红^{1,2}, 廖国周², 葛长荣²

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201)

(2. 云南农业大学云南省畜产品加工工程技术研究中心, 云南昆明 650201)

摘要:以虎掌菌为萃取原料,采用超临界 CO₂ 萃取技术进行虎掌菌精油的提取,在单因素试验的基础上,设定 CO₂ 流量为 25 kg/h,原料粉碎粒度为 40 目,一次性投料量为 800 g,通过响应曲面法(Response surface methodology, RSM)建立数学模型,确定最优工艺条件:选择萃取压力、温度、时间为影响因子,以虎掌菌精油萃取得率为响应值进行响应面分析,结果表明在萃取压力 33 MPa,萃取温度 55 °C,萃取时间 145 min 时虎掌菌精油萃取得率最大为 4.18±0.46%,与理论值(4.23%)相接近。此外,采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对虎掌菌精油的挥发性成分进行分析,通过人工解析结合标准图谱数据库(NIST)检索定性确认,共检测出 77 种化学成分,采用峰面积归一化法计算各化合物的相对百分含量,化合物含量占总面积的 68.868%,其中主要成分为酸类 28.09%,醛类 18.77%,含氧杂环 5.13%,烃类 4.90%,酚类 4.37%,醇类 4.02%和酮类 3.61%等,含量较丰富的有 2-甲基-己酸(19.46±0.81%),苯甲醛(6.86±0.17%)。

关键词:虎掌菌; 精油; 超临界流体萃取; 响应曲面法(RSM); 挥发性成分分析

文章编号:1673-9078(2018)05-148-157

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.05.022

Optimization of Supercritical CO₂ Extraction of Essential Oil from *Sarcodon Aspratus* by Response Surface Methodology and Analysis of Its Volatile Compounds

MIAO Xiao-yu^{1,2}, GU Da-hai^{1,2}, WANG Gui-ying^{1,2}, XU Zhi-qiang^{1,2}, WANG Xue-feng^{1,2}, CHENG Zhi-bin², FAN Jiang-ping^{1,2}, PU Yue-hong^{1,2}, LIAO Guo-zhou², GE Chang-rong²

(1.College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)(2.Livestock Product Processing Engineering and Technology Research Center of Yunnan Province, Kunming 650201, China)

Abstract: Using *Sarcodon aspratus* as the raw material, supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) extraction method was employed to extract the essential oil in *Sarcodon aspratus*. Based on the single factor experiment, the CO₂ flow rate was set at 25 kg/h, the particle sizes-mash was 40 meshes and material mass was 800 g. The mathematical model was established by the response surface methodology (RSM) to determine the optimal process conditions. The extraction pressure, temperature and time were used as the Box-Behnken design variables. The response rate of the extract of *Sarcodon aspratus* oil was the response value. The results showed that the extraction yield of *Sarcodon aspratus* oil was 4.18 ± 0.46% when the extraction pressure was 33 MPa, extraction temperature was 55°C and extraction time was 145 min, which was close to the theoretical value (4.23%). Moreover, gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) analysis was carried out to analyze the volatile components of the essential oil of *Sarcodon aspratus*. The qualitative analysis was confirmed by manual analysis and the National Institute of Standards and Technology (NIST) library. A total of 77 kinds of volatile compounds and the peak were detected. The area normalized method was used to calculate the relative percentage of each compound. The compound content accounted for 68.868% of the total area, of

收稿日期: 2017-12-19

基金项目: 云南省科技计划项目重大科技专项(2016ZA008); 云南省科技计划项目省院省校科技合作专项(2013IB010); 昆明市畜产品加工与质量控制重点实验室(2015-1-A-00563)

作者简介: 苗笑雨(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与质量控制方向

通讯作者: 廖国周(1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品加工与质量控制; 葛长荣(1962-), 男, 教授, 研究方向: 食品加工与质量控制

which the main components were acids (28.09%), aldehydes (18.77%), oxygen heterocyclic ring (5.13%), hydrocarbons (4.90%), phenols (4.37%), alcohol (4.02%), ketones (3.61%), etc. 2-methyl-hexanoic acid ($19.46 \pm 0.81\%$) and benzaldehyde ($6.86 \pm 0.17\%$) were comparatively rich in the essential oil of *Sarcodon aspratus*.

Key words: *Sarcodon aspratus*; essential oil; supercritical fluid extraction; response surface methodology (RSM); analysis of volatile component

虎掌菌, 又称为翘鳞肉齿菌, 营养丰富、味道鲜美, 含有丰富的氨基酸和微量元素, 是一种高蛋白、低脂肪、低热量的珍稀名贵野生食用菌^[1,2]。且中医认为该菌是一种很好的中药材、性平味甘, 具有驱寒除湿、活血化瘀和润肠通便等功效^[3], 因对其认识和利用较晚, 现已成为野生食用菌的后起之秀。目前国内外已有大量关于虎掌菌干品的营养成分分析^[4]以及挥发性香气成分分析^[5], 并对虎掌菌多糖提取及抗氧化^[6,7]、虎掌菌酶解提取物的抑菌效果^[8]等进行了研究。但目前关于虎掌菌精油的提取工艺及其化学成分分析未见报道。精油作为一种挥发性的芳香物质, 被广泛用于祛痰止咳和防皱保养等^[9]。提取植物精油一般是通过水蒸气蒸馏法、挤压法和溶剂提取法等, 但这些常规的化学方法萃取得到的精油萃取率低, 纯度难以达到工业的要求^[10]。超临界流体萃取技术 (Supercritical Fluid Extraction, SFE) 作为一种替代技术, 利用流体在超临界区的高渗透性、高扩散性、高溶解性能够有选择性地目标成分萃取出来。而 CO₂ 因其良好的临界特性 (临界温度 31.3 °C、临界压力 7.39 MPa) 被广泛用于超临界流体^[11]。在国外利用超临界 CO₂ 萃取技术主要应用于天然香辛料、调味品、天然色素提取等方面, 国内主要用于传统中药有效成分提取等方面^[12-16]。且精油的提取占据主导地位。

本试验通过超临界 CO₂ 流体萃取技术对虎掌菌进行精油的提取, 并选用响应面法 (Box-Behnken) 研究萃取压力、萃取温度、萃取时间等因素对虎掌菌精油萃取得率的影响以及他们之间的交互作用, 从而确定超临界萃取虎掌菌精油的最佳工艺条件, 以期为虎掌菌及食用菌资源的深加工利用提供基础研究依据, 并通过气相色谱-质谱法 (GC-MS) 对虎掌菌油挥发性成分进行分析。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

虎掌菌, 由易门县康源菌业有限公司提供, 粉碎过筛 40 目备用; CO₂ (纯度>99.99%)。

超临界萃取设备: TH12-5 型, 成都药机, 上海震樾机电科技发展有限公司。

高速万能粉碎机, SCION SQ 456-GC 气相色谱-质谱联用仪 (BRUKER, USA)。

1.2 方法

1.2.1 超临界 CO₂ 萃取工艺流程如下

干制虎掌菌→粉碎过筛→装料→超临界 CO₂ 萃取→减压分离→虎掌菌精油

1.2.2 单因素试验

粉碎粒度采用 20、40、60 目三个水平, 一次性投料量采用 500 g、600 g、700 g、800 g、900 g、1000 g 六个水平, 萃取压力采用 20、25、30、35 MPa 四个水平, 萃取温度采用 40、45、50、55、60 °C 五个水平, 萃取时间采用 30、60、90、120、150 min 五个水平分别进行单因素试验, 每个试验重复三次, 确定各因素的最优萃取范围, CO₂ 流量保持在 25 kg/h 左右。

1.2.3 响应曲面法优化试验

在单因素试验结果的基础上, 采用 Box-behnken 设计响应面试验, 以虎掌菌油萃取得率为响应值, 优化萃取压力、萃取温度、萃取时间工艺参数, 并判断各因素是否对虎掌菌油萃取得率有显著性影响及其相互作用。

1.2.4 验证试验

对响应曲面分析得到的优化条件进行验证试验, 试验平行三次, 计算虎掌菌精油的平均萃取得率。

1.2.5 气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 分析虎掌菌精油挥发性风味成分

样品预处理: 取 5 mL 样品置于 20 mL 顶空瓶中, 将老化后的 70 μm CAR/PDMS 萃取头插入样品瓶顶空部分, 45 °C 时吸附 30 min, 将吸附后的萃取头取出并插入气相色谱进样口, 于 250 °C 解吸 3 min, 同时启动仪器采集数据。

色谱条件: DB-WAX 毛细管柱, 30 m×0.25 mm×0.25 μm, 载气为高纯氦气, 流速为 0.80 mL/min, 升温程序: 起始温度 40 °C, 以 5 °C/min 上升至 90 °C, 再以 10 °C/min 上升至 230 °C; 质谱条件: 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子流温度 200 °C。

1.3 数据处理与分析

试验数据采用 SPSS 12.0 软件进行统计分析, 采

用方差分析, 结果以 Mean±SD 表示。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 不同投料量对虎掌菌油萃取得率的影响

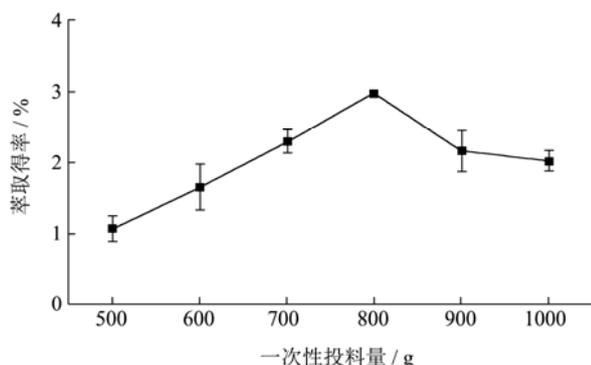


图1 一次性投料量对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.1 Effects of one-time material mass on the extraction yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

在考察一次性投料量对虎掌菌精油萃取得率影响时, 其他因素参数保持不变即粉碎粒度 40 目, 萃取压力 20 MPa, 萃取温度 55 °C, 分离压力 8 MPa, 分离温度 25 °C, 萃取时间 150 min, CO₂ 流量保持在 25 kg/h 左右。由图 1 可知, 当一次性投料量为 800 g 时萃取得率最高, 投料量为 900 g 时萃取得率开始下降, 且在试验结束后倒出物料发现有结块的现象, 这是由于原料过多导致传质阻力加大, CO₂ 流动不均匀造成的, 且当投料量为 500 g、600 g、700 g 时占萃取釜空间少, 不能充分发挥萃取能力。因此综合以上因素本试验选择一次性投料量为 800 g。

2.1.2 粉碎粒度对虎掌菌油萃取得率的影响

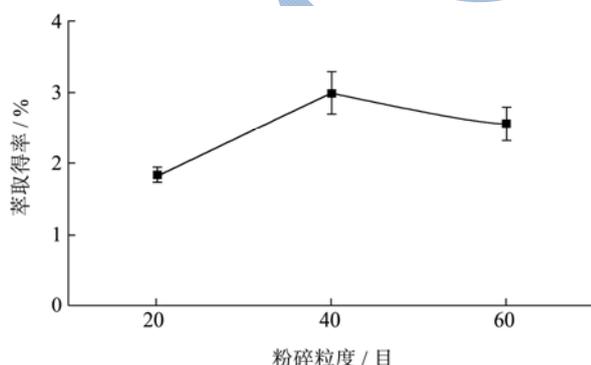


图2 粉碎粒度对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.2 Effects of particle size on the extraction yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

在考察粉碎粒度对虎掌菌油萃取得率影响时, 其他因素参数保持不变即一次性投料量选择 800 g, 萃取压力 20 MPa, 萃取温度 55 °C, 分离压力 8 MPa, 分

离温度 25 °C, 萃取时间 150 min, CO₂ 流量保持在 26 kg/h 左右。从图 2 可以看出, 当虎掌菌粉碎粒度为 40 目时虎掌菌油萃取得率明显高于 20 目, 但粉碎粒度为 60 目时虎掌菌油萃取得率又稍有下降。这是由于原料的粉碎可以更好的破坏细胞壁, 油脂更容易被萃取出来, 但当虎掌菌粉碎粒度为 60 目时, 物料过细会增加堆积密度, 在高压环境下造成物料结块萃取不均匀等现象, 综合考虑本试验选择粉碎粒度为 40 目。

2.1.3 不同萃取压力对虎掌菌油萃取得率的影响

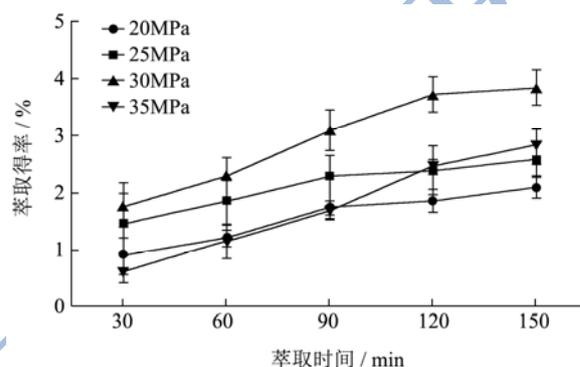


图3 萃取压力对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.3 Effects of extraction pressure on the extraction yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

在考察萃取压力对虎掌菌精油萃取得率的影响时, 其他影响因素保持不变即一次性投料量 800 g, 粉碎粒度 40 目, 萃取温度 55 °C, 分离压力 8 MPa, 分离温度 25 °C, CO₂ 流量保持在 25 kg/h 左右。萃取时间为设置为 150 min, 每隔 30 min 接收一次萃取物。萃取压力的大小会影响超临界 CO₂ 的溶解度即虎掌菌油萃取得率, 由图 3 可知, 萃取压力在 25 MPa 增加到 30 MPa 时, 最终萃取得率由 2.578% 增加至 3.847%, 这是由于萃取压力升高, CO₂ 密度增加溶解能力增大, 而当萃取压力升至 30 MPa 时, 虎掌菌油最终萃取得率稍有下降, 下降了 1.047%, 由于萃取压力过大时会使得物料容易结块导致萃取不完全, 且萃取压力增大, CO₂ 选择性会降低, 在萃取过程中会把杂质和色素等萃取出来, 影响产品品质。综合考虑, 萃取压力以 25~35 MPa 为宜。

2.1.4 不同萃取温度对虎掌菌油萃取得率的影响

在考察萃取温度对虎掌菌精油萃取得率的影响时, 其他影响因素保持不变, 一次性投料量 800 g, 粉碎粒度 40 目, 萃取压力 30 MPa, 分离压力 8 MPa, 分离温度 25 °C, CO₂ 流量保持在 25 kg/h 左右。萃取时间为 150 min, 每隔 30 min 接收一次萃取物。由图 4 可以看出, 萃取温度在 45~55 °C 时, 虎掌菌油最终

萃取得率增加迅速,在萃取温度为 55 °C 时萃取得率得到最高为 3.847,之后随着萃取温度的升高萃取得率开始下降,这是由于萃取温度升高,有效成分的扩散系数增大,传质速度加快,萃取得率增加,而当萃取温度过高时,CO₂ 流体的密度开始降低导致萃取得率下降。且萃取得率过高会影响萃取产物中的热敏性物质活性,因此选择萃取温度 50~60 °C 为宜。

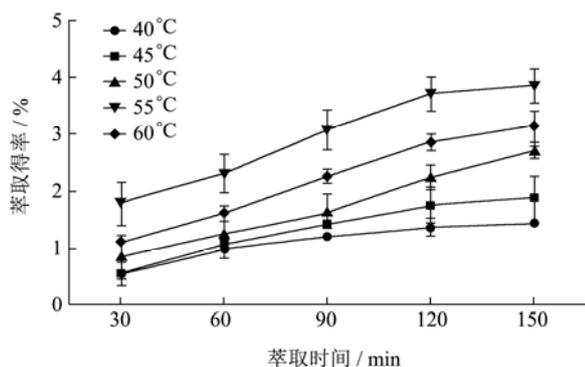


图4 萃取温度对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.4 Effects of extraction temperature on the yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

2.1.5 不同萃取时间对虎掌菌油萃取得率的影响

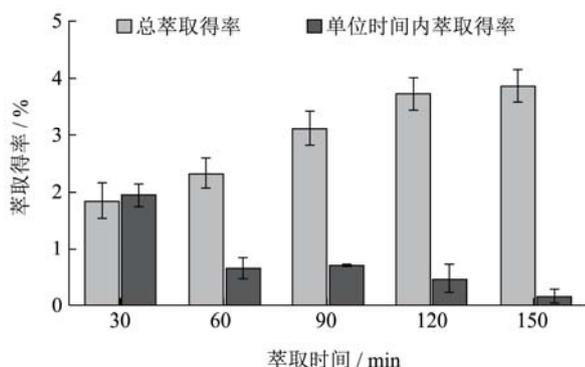


图5 萃取时间对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.5 Effects of extraction time on the yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

考察萃取时间对虎掌菌精油萃取得率的影响时,其他影响因素保持不变即一次性投料量 800 g,粉碎粒度 40 目,萃取压力 30 MPa,萃取温度 55 °C,分离压力 8 MPa,分离温度 25 °C,CO₂ 流量保持在 25 kg/h 左右。萃取时间为 150 min,每隔 30 min 接收一次萃取物。从图 5 可以看出,随着时间的增加,虎掌菌精油总萃取得率与时间呈正相关也在增加,而单位时间内的萃取得率在 60 min 后逐渐降低直至趋零。在 90 min 以内,虎掌菌油萃取得率显著增加,在 120 min 时,单位时间内萃取得率增加缓慢,说明 90% 的油脂被萃取出来,萃取进入最后阶段,且随着萃取时间的延长,得到的精油颜色开始加深,这是由于后期色素

等物质也被萃取出来,且造成萃取操作能耗的增加和过多 CO₂ 的消耗,综合考虑萃取时间选择 90~150 min 为宜。

2.2 响应曲面法结果及方差分析

在单因素试验的基础上,利用响应面 Box-Behnken 试验进行设计,即选择萃取压力、萃取温度、萃取时间作为所需优化参数条件,虎掌菌精油萃取得率为响应值,响应面分析因素及水平见表 1。

表 1 响应曲面试验因素与水平设计表

Table 1 Uncoded and coded independent variables used in

RSM design				
Symbol	Independent variable	Coded levels		
		-1	0	1
Factor levels				
X ₁	Pressure/MPa	25	30	35
X ₂	Temperature/°C	50	55	60
X ₃	Time/min	90	120	150

根据单因素试验结果,建立 Box-Behnken Design 中心组合设计试验模型,通过拟合二次方程计算最优工艺组合以及虎掌菌精油的最大理论萃取量。选择萃取压力 (X₁)、萃取温度 (X₂)、萃取时间 (X₃) 进行三因素三水平响应面实验,试验结果见表 2。

表 2 响应面分析方案及结果

Table 2 Experimental points of the Box-Behnken design and the experimental data

Experiment number	Pressure X ₁ /MPa	Temperature X ₂ /°C	Time X ₃ /min	Yield Y/%
1	30	60	90	4.01
2	30	55	120	4.18
3	30	50	90	3.44
4	30	60	150	3.9
5	35	60	120	3.84
6	35	55	90	3.87
7	25	55	90	3.32
8	35	50	120	3.39
9	30	50	150	3.87
10	25	55	150	3.7
11	30	55	120	3.94
12	35	55	150	4.13
13	30	55	120	4.12
14	30	55	120	4.05
15	30	55	120	4.2
16	25	60	120	3.11
17	25	50	120	3.23

2.2.1 模型建立及显著性检验

利用 Design-Expert8.0.6 软件对表 2 即响应面分析方案及结果进行多元回归拟合, 得到虎掌菌精油萃取得率与萃取压力 (X_1)、温度 (X_2)、时间 (X_3) 的二

次方程模型为: $Y=4.10+0.23X_1+0.12X_2+0.12X_3+0.14X_1X_2-0.030X_1X_3-0.14X_2X_3-0.38X_1^2-0.33X_2^2+0.035X_3^2$; 回归模型的方差分析结果见表 3。

表 3 虎掌菌精油萃取得率回归模型方差分析表

Table 3 Variance analysis of regression model of the yield of the essential oil of *Sarcodon aspratus*

虎掌菌精油萃取得率回归模型方差分析表					
来源	平方和	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.93	0.21	22.13	0.0002	**
X_1	0.44	0.44	45.13	0.0003	**
X_2	0.11	0.11	11.16	0.0124	*
X_3	0.12	0.12	11.89	0.0107	*
X_1X_2	0.081	0.081	8.39	0.0231	*
X_1X_3	3.600E-003	3.600E-003	0.37	0.5614	
X_2X_3	0.073	0.073	7.53	0.0288	*
X_1^2	0.60	0.60	62.03	0.0001	**
X_2^2	0.45	0.45	46.69	0.0002	**
X_3^2	5.084E-003	5.084E-003	0.52	0.4923	
残差	0.068	9.686E-003			
失拟项	0.023	7.642E-003	0.68	0.6082	
纯误差	0.045	0.011			

注: *差异显著, $p<0.05$; **差异极显著, $p<0.01$, $R^2=0.9660$ 。

由表 3 方差分析可知: 虎掌菌油萃取得率回归模型显著性检验 $p<0.0001<0.05$, 说明该二次多元回归模型极显著, 失拟性检验 $p=0.6082>0.05$ 说明虎掌菌油萃取得率二次回归模型与实际试验拟合性充分模型失拟不显著。

决定系数 $R^2=0.9660$, 这表明方程的拟合度和可信度均很高, 可以解释 96.6% 的响应值变化。离散系数 C.V (Y 的变异系数) 表示实验本身的精确度, C.V 值越小, 实验的可靠性越高, 萃取得率拟合 C.V 值为 2.60%。

综上所述, 该回归模型拟合程度良好, 试验误差小, 能够准确的分析和预测虎掌菌油萃取得率, 说明实验操作可信度高, 具有一定的实践指导意义。由回归系数显著性表明, 在所取因素水平范围内, 各因素对虎掌菌油萃取得率的影响的顺序为: 萃取压力>萃取时间>萃取温度。

2.2.2 各两因素交互作用分析

通过观察各图中响应面的变化情况和等高线的稀疏程度可直观地反映萃取温度 $^{\circ}C$ 、萃取时间 min、萃取压力 MPa 之间交互作用对虎掌菌油萃取得率的影响, 当等高线呈圆形时表示两因素之间交互作用不显著, 呈椭圆形或马鞍形时则表示两因素之间交互作用显著。

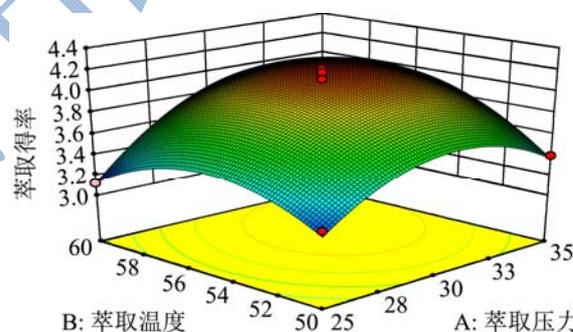


图 6 萃取压力与萃取温度的交互作用对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.6 Response surface plot for the effects of the interaction of extraction pressure and extraction temperature on the yield of essential oil of *Sarcodon aspratus*

由图 6 可以看出, 等高线的形状为椭圆形, 表明萃取压力和萃取温度的交互作用显著, 通过观察等高线的密度可以看出萃取压力对虎掌菌油萃取得率的影响比萃取温度显著, 与方差分析结果 ($p=0.0231<0.05$) 一致。在萃取压力较低的情况下, 萃取得率随温度的升高先增加后下降, 在萃取压力升高的情况下, 萃取得率也是先缓慢的增加随后下降。出现这一现象的原因可能在于萃取压力和温度的改变直接影响着 CO_2 密度即流体萃取的溶解性。

随着萃取压力的增加, CO_2 密度增大, 溶解性增

强, 萃取得率升高, 而在低压的情况下, 随着温度的增加, 分子热运动加快, CO₂ 与待萃取物接触机会增加, 传质速度加快, 使得萃取得率增加, 但温度的增加也会伴随着 CO₂ 密度的下降, 使得携带物质的能力降低造成萃取得率下降。同时在试验过程中, 萃取压力过高也会造成传质阻力加大, 物料结块萃取不完全等现象, 也会造成萃取得率下降。

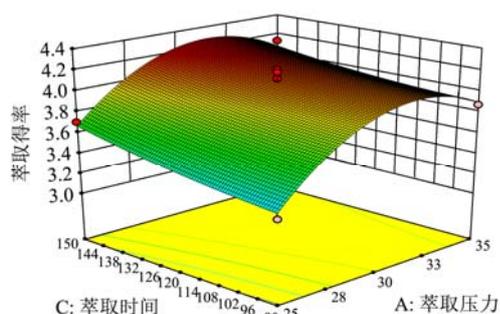


图7 萃取压力与萃取时间的交互作用对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.7 Response surface plot for the effects of the interaction of extraction pressure and extraction time on the yield of essential oil of *Sarcodon aspratus*

由图7可以看出, 萃取压力和萃取时间的交互作用不显著, 与方差分析结果 ($p=0.5614>0.05$) 一致, 从等高线的密度可以看出, 萃取压力对虎掌菌油萃取得率的影响比萃取时间显著, 在萃取压力较低的情况下, 虎掌菌油萃取得率随萃取时间的延长缓慢增加。而萃取压力对萃取得率的影响是随着时间的增加呈先上升后趋于平缓。萃取压力太大造成的萃取得率下降可能是由于萃取压力大造成 CO₂ 选择性较低, 且在萃取过程中会把色素及部分杂质萃取出来影响萃取物的品质。且萃取压力大会对设备的耐压性和密封性造成一定的破坏, 造成物料结块, 影响萃取得率。

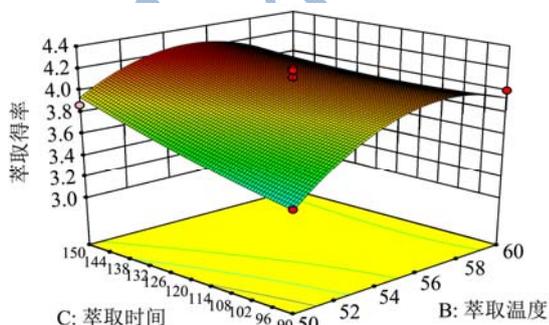


图8 萃取温度与萃取时间的交互作用对虎掌菌精油萃取得率的影响

Fig.8 Response surface plot for the effects of the interaction of extraction temperature and extraction time on the yield of essential oil of *Sarcodon aspratus*

由图8可以看出, 萃取温度和萃取时间的交互作用

用显著, 与方差分析结果 ($p=0.0288<0.05$) 一致, 从等高线的密度可以看出萃取温度和萃取时间和萃取温度对虎掌菌油萃取得率的影响近似, 随着萃取温度的增加、萃取时间的延长, 萃取得率先增加后趋于平缓。出现这一现象的原因可能在于萃取温度和萃取时间的延长, 不仅会将游离态和结合态油脂完全萃取出来, 也会将色素和部分杂质萃取出来, 且萃取得率随着时间的延长, 单位时间内的萃取得率是下降的, 这是由于在 90 min 之后, 90% 的油脂被完全萃取出来, 使得后期萃取得率增加缓慢。

2.2.3 最佳条件的确定和回归模型的验证

最佳条件的确定和回归模型的验证, 结果见表4。

表4 最佳条件的确定和回归模型的验证

Table 4 Determine the best conditions and verify the regression model

因素	响应面优化	实测值
萃取压力/MPa	33	33
温度/°C	55.21	55
时间/min	144.90	145
萃取得率/%	4.23%	4.18±0.46%

回归模型通过响应面法得到虎掌菌精油萃取得率最高值所需要的参数条件为萃取压力 33 MPa, 萃取温度 55.21 °C, 萃取时间 144.90 min, 在此工艺条件下, 通过拟合方程计算出虎掌菌油萃取得率为 4.23%, 根据实际情况以萃取得率 33 MPa, 萃取温度 55 °C, 萃取时间 145 min 进行萃取, 重复三次, 得到的虎掌菌油萃取得率为 (4.18±0.46%), 与理论值相接近, 即实际值与理论值无显著差异。

2.3 精油中挥发性化合物分析结果

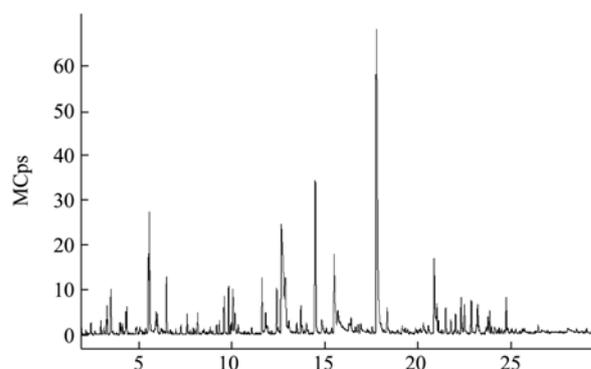


图9 虎掌菌精油挥发性成分 GC-MS 分析总离子流图

Fig.9 GC-MS ion chromatogram of the volatile components of essential oil of *Sarcodon aspratus*

经固相微萃取-气相色谱-质谱联用仪 (SPME-GC-MS) 分析, 虎掌菌精油中共检测出 77 种化学成分, 占总峰面积的 68.87%, 主要成分为其中主要成分为酸

类 28.09%, 醛类 18.77%, 含氧杂环 5.13%, 烃类 4.90%, 酚类 4.37%, 醇类 4.02%, 酮类 3.61% 等。含量较丰富的有 2-甲基-己酸 (19.46±0.81%), 高于其他物质中的含量如羊肉 (3.41) [18]、干酪 (9.81%) [19] 和红茶 (8.05%) [20] 等, 主要用于烘培布丁和糖果等食品, 对虎掌菌的呈味具有重要作用。

同时, 苯甲醛 (6.86±0.17%)、己酸 (2.78±0.25%) 和己醛 (2.07±0.25%) 等均为规定使用的食用香料, 苯甲醛作为工业上最常用的芳香醛, 具有特殊的杏仁气味, 己醛呈生的油脂和青草气及苹果香味, 广泛存在于苹果、草莓、茶叶、苦橙、茶叶和咖啡等是十

多种精油当中, 对虎掌菌油的香味贡献较大。且 5.13% 的含氧化合物为虎掌菌精油提供了特殊的麝香香气, 可以使肉类更美味且在煲汤过程中带来甜味 [21], 为虎掌菌油的开发利用提供了方向。

才媛 [22] 对虎掌菌子实体研究表明其主要香气成分为半萜类和脂肪酸类化合物, 而虎掌菌精油的香气成分主要为酸类和醛类。出现这一现象的原因可能在于虎掌菌经干燥处理后, 损失了部分的香气成分, 而超临界 CO₂ 萃取技术能够充分的富集有效成分且最大限度地保持虎掌菌的香味物质不被破坏, 香味更加浓郁且有效地改善单一的食用方式及产业链。

表 5 虎掌菌精油挥发性化合物分析

Table 5 Volatile compounds of essential oil of *Sarcodon aspratus*

序号	保留时间/min	化合物名称	相对含量/%	匹配度
酸类 (10 种)	1	辛基-2-戊酯亚硫酸	0.511±0.034	856
	2	二甲基-丙二酸	3.844±0.127	922
	3	丁酸	0.378±0.015	958
	4	2-甲基-己酸	19.456±0.809	782
	5	乙酰胺	0.218±0.080	917
	6	环丙基甲酸	0.116±0.042	801
	7	己酸	2.781±0.250	972
	8	N-(3-甲基丁基)乙酰胺	0.344±0.027	915
	9	辛酸	0.248±0.030	907
	10	2-苯乙基硫脲-乙酰胺	0.190±0.010	946
				小计: 28.09
醛类 (16 种)	11	醋醛	0.115±0.071	984
	12	2-甲基-丁醛	0.347±0.034	889
	13	3-甲基-丁醛	0.793±0.068	966
	14	戊醛	0.238±0.019	944
	15	3-苄氧基-2-氟-4-苯甲醛	0.238±0.015	749
	16	己醛	2.072±0.254	961
	17	庚醛	0.250±0.021	920
	18	正辛醛	0.43±0.023	968
	19	(E)-2-庚烯醛	1.800±0.198	831
	20	壬醛	1.914±0.278	937
	21	癸醛	0.385±0.029	913
	22	苯甲醛	6.856±0.173	912
	23	E-2-癸烯醛	1.800±0.198	809
	24	4-(1-甲基乙基)-苯甲醛	0.173±0.013	960
	25	1-对甲苯磺酰吡咯-2-乙醛	0.141±0.059	921
	26	2-氨基-苯甲醛	1.213±0.120	855
				小计: 18.77
烃类 (12 种)	27	2,4-二甲基-1-庚烯	0.413±0.066	926
	28	3,5-二甲基-辛烷	0.705±0.089	876

转下页

接上页					
	29	5.076	3,7-二甲基-1-辛烯	0.129±0.024	807
	30	6.7	4-乙酯-辛烷	0.154±0.021	870
	31	7.006	3-甲基-十一烷	0.123±0.011	880
	32	7.613	十二烷	0.524±0.048	959
	33	7.787	十四烷	0.111±0.001	867
	34	9.201	1,2,4-三甲基苯	0.315±0.027	956
	35	11.079	3-甲基-十三烷	0.131±0.082	868
	36	11.829	十六烷	0.595±0.053	903
	37	12.426	2,4-二(1,1-二甲基乙基)苯酚	1.42±0.022	863
	38	19.169	萘	0.276±0.037	964
					小计: 4.90
酚类 (9种)	39	21.028	2-甲氧基-苯酚	0.873±0.069	936
	40	22.328	甲氧甲酚	0.925±0.039	963
	41	22.882	2-甲基-苯酚	0.191±0.036	900
	42	23.22	4-乙基-2-甲氧基苯酚	0.709±0.413	834
	43	23.773	2,3-二甲基-苯酚	0.656±0.033	855
	44	23.863	3-甲基-苯酚	0.582±0.016	969
	45	24.841	3-乙酯-苯酚	0.118±0.015	844
	46	25.61	2-甲氧基-4(1-丙烯基)-苯酚	0.139±0.079	809
	47	26.468	2-甲氧基-4-(1-丙烯基)-苯酚	0.173±0.020	919
					小计: 4.37
含氧杂环 (11种)	48	2.654	六甲基环三硅氧烷	0.117±0.005	933
	49	4.137	八甲基环四硅氧烷	0.327±0.031	938
	50	4.227	2-异丙基-2-甲基环氧乙烷	0.113±0.008	868
	51	6.498	十甲基-环戊硅氧烷	1.481±0.166	981
	52	8.18	2-戊基-咪喃	0.586±0.221	978
	53	13.078	2-糠醛	0.537±0.073	942
	54	16.409	二氢-5-甲基-2(3H)-咪喃酮	0.535±0.076	843
	55	16.798	二氢-2(3H)-咪喃酮	0.364±0.021	934
	56	18.359	2,6-二氢-2H-吡喃酮	0.721±0.091	771
	57	19.314	2(5H)-咪喃酮	0.239±0.118	847
	58	21.411	4-甲基-2(5H)-咪喃酮	0.11±0.001	905
					小计: 5.13
醇类 (11种)	59	5.939	2-甲基-2-十一硫醇	0.877±0.504	867
	60	9.985	2-丁基-1-辛醇	0.218±0.140	850
	61	10.352	2-甲基-2-十一硫醇	0.325±0.049	808
	62	10.698	己醇	0.124±0.001	906
	63	15.086	3,7-二甲基-1,6-辛二烯-3-醇	0.19±0.003	918
	64	15.369	1-正辛醇	0.184±0.007	902
	65	15.706	2,3-丁二醇	1.25±0.427	948
	66	21.281	苯甲醇	0.113±0.024	909
	67	21.777	苯乙醇	0.439±0.006	952
	68	23.276	4-戊烯-2-醇	0.149±0.103	842
					转下页

接上页					
	69	23.961	1-戊烯-3-醇	0.149±0.006	820
					小计: 4.02
	70	2.44	丙酮	0.366±0.057	887
	71	3.13	2-丁酮	0.229±0.015	945
	72	4.003	3-甲基-2-丁酮	0.143±0.151	990
酮类 (8种)	73	6.208	3-甲基-3-丁烯-2-酮	0.100±0.009	855
	74	9.602	1-辛烯-3-酮	1.250±0.101	971
	75	12.507	(+)-(R)-5-甲基环己-2-烯酮	0.149±0.083	988
	76	20.571	2-羟基-3-甲基-环戊烯酮	0.409±0.040	950
	77	22.513	1-(1H-吡咯-2-基)-乙酮	0.961±0.116	957
					小计: 3.61
					总计: 68.868

3 结论

3.1 通过响应曲面法优化超临界 CO₂ 萃取虎掌菌精油的最佳工艺实测值为萃取压力为 33 MPa, 萃取温度 55 °C, 萃取时间 145 min, 在此工艺条件下虎掌菌精油的萃取得率为 (4.18±0.46%), 且通过分析各影响因素间的相互作用表明, 萃取压力与萃取温度对虎掌菌精油的萃取得率影响显著, 在所取因素水平范围内, 各因素对虎掌菌油萃取得率的影响的顺序为: 萃取压力>萃取时间>萃取温度。

3.2 采用 SPME-GC-MS 对虎掌菌精油进行挥发性成分分析, 鉴定出了 77 种化合物, 主要包括酸类 28.09%, 醛类 18.77%, 酚类 4.37%, 烃类 4.90% 和含氧杂环 5.13% 等。含量较丰富的有 2-甲基-己酸(19.46±0.81%), 其含量远高于烟叶、羊肉中, 为虎掌菌精油提供了一种独特的麝香香气。对虎掌菌精油香味成分贡献较大的为醛类, 推测该物质可能来源于虎掌菌脂肪族物质, 且各成分相互作用影响, 使得虎掌菌具有了特殊且浓郁的香味。虎掌菌的超临界流体萃取工艺为虎掌菌挥发性成分分析提供了科学依据且为虎掌菌的开发利用指明了方向。

参考文献

- [1] 张丙青, 陈健. 黑虎掌菌营养成分的测定与评价[J]. 食品科学, 2011, 32(5): 299-302
ZHANG Bing-qing, CHEN Jian. The analysis and evaluation of nutritional components in *Sarcodon Aspratus* [J]. Food Science, 2011, 32(5): 299-302
- [2] D H Keum, J G Ro, T Y Jung. Drying equations of *Sarcodon Aspratus* [J]. Journal of Biosystems Engineering, 2004, 8(1): 354-359
- [3] 李良生. 云南农副土特产品概况[M]. 昆明: 云南人民出版社, 1982

社, 1982

LI Liang-sheng. The points of agricultural products in Yunnan province [J]. Kunming: Yunnan People's Publishing House, 1982

- [4] 冯颖, 赵丽芳, 陈晓鸣, 等. 翘鳞肉齿菌营养成分分析及价值评价[J]. 林业科学研究, 1998, 11(5): 498-501

FENG Ying, ZHAO Li-fang, CHEN Xiao-ming, et al. The analysis and evaluation of nutritional components in *Sarcodon Aspratus* [J]. Forest Research, 1998, 11(5): 498-501

- [5] 李晓林, 陈诚, 黄羽佳, 等. 顶空固相微萃取-气质联用分析 4 种野生食用菌干品的挥发性香气成分[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(9): 174-180

LI Xiao-lin, CHEN Cheng, HUANG Yu-jia, et al. The analysis of volatile aroma components of four wild edible fungi by GC-MS [J]. Food and Fermentation Industries, 2015, 41(9): 174-180

- [6] 王雪冰. 云南野生虎掌菌多糖的提取及其抗氧化研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2011

WANG Xue-bing. Extraction technology of polysaccharides and antioxidants in *Sarcodon Aspratus*, Yunnan Province [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2011

- [7] Park S R, Lee S Y, Da H K, et al. Antioxidant activity and anti-inflammation capacities of *sarcodon aspratus* [J]. Korea food nutrition society academic conference, 2012, 10: 409-409

- [8] 陈龙, 郭永红, 曹建新, 等. 虎掌菌酶解提取物抑菌试验研究[J]. 中国食用菌, 2009, 28(1): 42-44

CHEN Long, GUO Yong-hong, CAO Jian-xin, et al. The research of antibacterial experiment in zymolyte from *Sarcodon aspratus* [J]. Edible Fungi Society of China, 2009, 28(1): 42-44

- [9] 刘学文,徐汉虹,鞠荣,等.植物精油在农药领域中的研究进展[J].香料香精化妆品,2004,2:36-39
LIU Xue-wen, XU Han-hong, JU Rong, et al. The advance of plant essential oil in pesticide field [J]. Perfume and Essence Cosmetics, 2004, 2: 36-39
- [10] 沈强,司辉清.国外对植物精油萃取方法的研究进展[J].食品工业科技,2009,8:349-351
SHEN Qiang, SI Hui-qing. Research progress of extraction methods of essential oil from abroad [J]. Food Industry Technology, 2009, 8: 349-351
- [11] 张国宏,孙奇.高新技术在现代食品工业中的应用-超临界流体萃取技术[J].食品科学,1998,19(12):4-7
ZHANG Guo-hong, SUN Qi. Application of high-tech in modern food industry-supercritical fluid extraction technology [J]. Food Science, 1998, 19(12): 4-7
- [12] 侯华民,冯俊涛,陈安良,等.植物精油对几种害虫的毒杀活性[J].天然产物研究与开发,2002,14(6):27-31
HOU Hua-min, FENG Jun-tao, CHEN An-liang, et al. The toxicity of plant essential oil on several pests [J]. Research and Development of Natural Products, 2002, 14(6): 27-31
- [13] G Liu, X Xu, Q Hao. Supercritical CO₂ extraction optimization of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil using response surface methodology [J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42(9): 1491-1495
- [14] KM Ara, F Raofie. Application of response surface methodology for the optimization of supercritical fluid extraction of essential oil from pomegranate [J]. J Food Sci. Technol., 2016, 53(7): 1-9
- [15] Larkeche, A zermane, AH Meniai. Supercritical extraction of essential oil from *Juniperus communis* L. needles: Application of response surface methodology [J]. Journal of Supercritical Fluids, 2015, 99: 8-14
- [16] SP Nie, JE Li, C Yang. Optimization of supercritical fluid extraction of essential oil from herba moslae by response surface methodology and its chemical composition analysis [J]. Food Science and Technology Research, 2010, 16(3): 185-190
- [17] 杨文雄,高彦祥.响应面法及其在食品工业中的应用[J].中国食品添加剂,2005,2:68-71
YANG Wen-xiong, GAO Yan-xiang. Response surface method and its application in food industry [J]. Chinese Food Additives, 2005, 2: 68-71
- [18] 罗玉龙,赵丽华,王柏辉,等.苏尼特羊不同部位肌肉挥发性风味成分和脂肪酸分析[J].食品科学,2017,38(4):165-169
LUO Yu-long, ZHAO Li-hua, WANG Bo-hui, et al. Different parts of the muscle volatile flavor composition and fatty acid analysis in ujumqin sheep [J]. Food Science, 2017, 38(4): 165-169
- [19] 王宠,梁琪,杨敏,等.固相微萃取法测定牦牛乳硬质干酪中的挥发性成分[J].甘肃农业大学报,2012,47(2):141-146
WANG Chong, LIANG Qi, YANG Min, et al. Determination of volatile components in yak milk cheese by solid phase microextraction [J]. Gansu Agricultural University Journal, 2012, 47(2): 141-146
- [20] 范远景,王林,董万领,等.SPME-GC/MS 法测定红茶及红茶粉中的挥发性[J].现代食品科技,2012,9:1231-1235
FAN Yuan-jing, WANG Lin, DONG Wan-ling, et al. Determination of volatile properties of black tea and black tea powder by SPME-GC/MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 9: 1231-1235
- [21] KIM SK. Method for making seasoned pork ribs by using *Sarcodon aspratus* and *Acanth-opanax senticosus* broth for aging pork ribs [P]. 2006, patent, KR 2007026950 A20070309
- [22] 才媛,徐菁鹤,王琦.采用顶空固相微萃取-气质联用技术分析翘鳞肉齿菌中挥发性成分[J].食用菌学报,2013, 20(1): 93-95
CAI Yuan, XU Qing-he, WANG Qi. The volatile components of *Sarcodon Aspratus* were analyzed by using the technique of topspace solid phase microextraction [J]. Acta Edulis Fungi, 2013, 20(1): 93-95