

胡椒梗精油的提取条件优化及其成分分析

李麟洲¹, 张桢炎², 刘建卓¹, 冯建成^{3*}, 张容鹊^{4,5*}, 谷风林⁶, 吴桂苹⁶

(1. 海南大学化学工程与技术学院, 海南海口 570228) (2. 海南海垦胡椒产业股份有限公司, 海南海口 571126)
(3. 海南大学理学院, 海南海口 570228) (4. 海南省农业科学院农产品加工设计研究所, 海南海口 571100)
(5. 海南省热带果蔬冷链研究重点实验室, 海南海口 571100)
(6. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南万宁 571533)

摘要: 以胡椒梗为原料, 利用纤维素酶, 采用酶法辅助水蒸气蒸馏法从胡椒梗中提取精油, 并通过单因素试验和响应面优化法对影响精油产率的四个因素(酶液浓度、酶处理时间、酶处理温度、液料比)进行优化, 实验结果表明: 在酶浓度为 103.25 g/L, 酶处理温度为 41.28 °C, 酶处理时间为 3.01 h, 液料比为 5.23:1 时, 胡椒梗精油的产率可达 1.21%±0.02%, 相同条件下比水蒸气蒸馏法提高 51.25%; 通过 GC-MS 对胡椒梗精油成分进行分析鉴定, 共解离出 47 种化学物质, 主要含有单萜、倍半萜、芳烃、醇类化合物、酯类化合物、等, 其组成成分以烯萜类物质为主, 其中含量最高的组分依次为柠檬烯(19.4%)、1-石竹烯(11.2%)、 β -蒎烯(10.9%)、异桉油烯醇(10.7%)、3-萜烯(6.31%)等。胡椒梗与黑胡椒精油、白胡椒精油存在较多共有成分, 表明胡椒梗精油有较高的利用价值。

关键词: 胡椒梗; 精油; 水蒸气蒸馏法; 化学成分; 气质联用

文章编号: 1673-9078(2021)10-126-135

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.10.0174

Optimization of Extraction Conditions of Pepper Stems Essential Oil and Its Composition Analysis

LI Lin-zhou¹, ZHANG Zhen-yan², LIU Jian-zhuo¹, FENG Jian-cheng^{3*}, ZHANG Rong-hu^{4,5*}, GU Feng-lin⁶, WU Gui-ping⁶

(1.School of Chemical Engineer and Technology, Hainan University, Haikou 570228, China) (2.Hainan State Farm Pepper Industry Co. Ltd., Haikou 571126, China) (3.School of Science, Hainan University, Haikou 570228, China)
(4.Institute of Processing & Design of Agroproducts, Hainan Academy of Agricultural Science, Haikou 571100, China)
(5.Hainan Tropical Fruit and Vegetable Cold-chain Key Laboratory, Haikou 571100, China)
(6.Spice and Beverage Institute, Chinese Academy of Tropical Agriculture Science, Wanning 571533, China)

Abstract: Pepper stems essential oil was extracted from pepper stems by enzymatic assisted steam distillation using cellulase as extractant. The four factors affecting the yield of essential oil (enzyme concentration, enzyme treatment time, enzyme treatment temperature and liquid-solid ratio) were optimized by single factor test and response surface methodology. The experimental results showed that: the best yield of pepper stems essential oil was 1.21%±0.02% when the enzyme concentration was 103.25 g/L, the enzyme treatment temperature was 41.28 °C, the enzyme treatment time was 3.01 h, and the liquid-to-material ratio was 5.23:1, which was 51.25% higher than that of steam distillation under the same conditions. The components of pepper stems essential oil were analyzed and identified by GC-MS. The results showed that: there were 47 chemical substances in pepper stems essential oil, mainly containing monoterpenes, sesquiterpenes, aromatic hydrocarbons, alcohol

引文格式:

李麟洲,张桢炎,刘建卓,等.胡椒梗精油的提取条件优化及其成分分析[J].现代食品科技,2021,37(10):126-135,+86

LI Lin-zhou, ZHANG Zhen-yan, LIU Jian-zhuo, et al. Optimization of extraction conditions of pepper stems essential oil and its composition analysis [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(10): 126-135, +86

收稿日期: 2021-02-20

基金项目: 海南省重大科技计划项目 (zdkj201814)

作者简介: 李麟洲 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 生物化工, E-mail: 468309837@qq.com

通讯作者: 冯建成 (1972-), 男, 教授, 研究方向: 生物化学; E-mail: fjc197228@126.com; 共同通讯作者: 张容鹊 (1970-), 女, 研究员, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: zrh0912@126.com

compounds, ester compounds, etc. Its composition was mainly enterpenoids, and the components with the highest content were limonene (19.4%), 1-caryophyllene (11.2%), β -pinene (10.9%), iso-eucalyinol (10.7%), 3-carene (6.31%), etc. There are many common components of pepper stems, black pepper essential oil and pepper leaf essential oil, indicating that pepper stalk essential oil has a higher utilization value.

Key words: pepper stems; essential oil; steam distillation; chemical composition; GC-MS

胡椒 (*Piper nigrum* L.) 又名白川、王椒, 是胡椒科 (Piperaceae)、胡椒属 (*Piper*) 常绿藤本植物。原产于印度, 后传入我国, 是我国重要的经济作物。其气味独特, 口感辛辣, 深受世界各地人民的喜爱, 被誉为“香料之王”^[1-3]。胡椒梗是胡椒初加工过程中产生的废弃物, 在传统加工过后被直接丢弃或被焚烧, 带来了环境污染和资源浪费。

精油又称挥发油或香精油, 是一类存在于植物的花、叶、枝、根、树皮、果实、种子等部位, 可以以蒸馏、压榨、萃取等方式提炼出来的具有挥发性的芳香物质^[4-6]。胡椒粒中胡椒精油含量约 1%~3%, 主要成分是萜烯类物质^[7]。胡椒精油具有胡椒的辛辣气味, 风味独特, 自然醇香^[8,9]。目前, 胡椒精油一般作为保健用品, 供熏香、按摩时使用, 有较高的产品附加值。长期以来, 国际胡椒市场存在着供不应求的问题^[10], 若能够从胡椒初加工废弃物-胡椒梗中提取精油来代替胡椒果精油, 或许可以减少胡椒果精油的需求^[7]。

精油常用的提取方法有水蒸气蒸馏法、有机溶剂萃取法、超临界萃取法等方法^[11]。水蒸气蒸馏法工艺简单, 设备低廉易得, 但精油产率较低^[12,13]; 溶剂萃取法工艺简单且提取率高, 但有机溶剂对环境危害较大, 且溶剂残留会对精油品质造成较大影响^[14]。超临界萃取法提取效率高, 且安全无残留, 但生产成本较高, 不适合大规模生产^[15,16]。国内外利用互补技术提取不同天然产物的功能因子, 均比传统法得率高、时间短。王颖等^[17]利用超声-微波协同技术提取白胡椒精油, 得率达 3.80%, 比单独微波辅助和单独超声辅助得率均有所提高。酶法辅助水蒸气蒸馏法在保留两种方法优势的基础上, 通过生物酶专一性降解底物的细胞壁等细胞结构^[18,19], 使得在细胞内的有效物质溶出, 从而达到提高精油产率的目的^[20]。辜雪冬等^[21]利用酶法辅助水蒸气蒸馏技术提取柠檬果皮精油, 相较单独使用水蒸气蒸馏, 提取率有所提高, 提取所需时间大大减少。

目前, 国内外关于胡椒果的精油提取已有较多报道, 但鲜有关于胡椒梗精油提取及其成分分析的报道。本实验以海南文昌胡椒初加工废弃物-胡椒梗为原料, 采用响应面法对酶法辅助水蒸气蒸馏法提取胡椒梗精油条件进行优化, 并对胡椒梗精油的化学成分进行分析, 以期对胡椒梗废弃物的开发利用提供研究基础。

1 材料与方法

1.1 原料与仪器

胡椒梗来自海南省琼海市东红农场; 正己烷为色谱纯, 美国 SIGMA 公司; 纤维素酶, 酶活 30000 U/g, 山东隆科特酶制剂有限公司; 无水硫酸钠及其他试剂均为国产分析纯。

HF-200A 型高速多功能粉碎机, 辰禾盛丰工贸有限公司; DHG-9053A 型电热恒温鼓风干燥箱, 上海一恒科学仪器有限公司; AUY-220 型分析天平, 岛津制作所; SPH-200B 型恒温培养振荡器, 上海世平实验设备有限公司; Agilent 7890B-7250 气质联用仪, 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 胡椒梗精油的提取

将胡椒梗用自来水洗涤, 在 60 °C 烘箱中充分干燥, 粉碎, 过 60 目筛。准确称取 100 g 胡椒梗粉末, 并按液料比 5:1 (mL/g) 加入 100 g/L 的纤维素酶, 在 40 °C, 180 r/min 振荡处理 3.0 h。将酶处理后的样品放入水蒸气蒸馏装置, 水蒸气蒸馏 6.0 h, 回收分离器中的精油, 并计算精油得率。

$$\text{胡椒梗精油得率/\%} = \frac{\text{提取精油的质量}}{\text{称取胡椒梗粉末的质量}} \times 100\%$$

1.2.2 单因素实验

采取 1.2.1 中的提取方法, 保持酶解温度为 40 °C、酶处理时间为 3.0 h, 液料比为 5:1 不变, 分别考察酶浓度为 0、50、100、150、200 g/L 时对胡椒梗精油产率的影响; 保持酶浓度为 100 g/L, 酶处理时间为 3.0 h, 液料比为 5:1 不变, 分别考察酶处理温度为 20、30、40、50、60 °C 时对胡椒梗精油产率的影响; 保持酶浓度为 100 g/L、酶解温度为 40 °C、液料比为 5:1 不变, 分别考察酶处理时间为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 h 下对胡椒梗精油产率的影响; 保持酶浓度为 100 g/L, 酶解温度为 40 °C、酶处理时间为 3.0 h 不变, 分别考察液料比为 2:1、5:1、8:1、11:1、14:1 (mL/g) 时对胡椒梗精油产率的影响。通过单因素试验考察各因素对胡椒梗精油产率的影响, 进而进一步确认响应面实验的实验因素及水平。

表1 响应面实验因素和水平

Table 1 Response surface experimental factors and levels

水平	因素			
	A 酶浓度/(g/L)	B 酶处理温度/℃	C 酶处理时间/h	D 液料比/(mL/g)
-1	50	30	2	2 : 1
0	100	40	3	5 : 1
1	150	50	4	8 : 1

1.2.3 响应面实验设计

在单因素实验的基础上, 选取酶液浓度 (g/L)、酶处理温度 (°C)、酶处理时间 (h)、液料比 (mL/g) 为自变量, 以胡椒梗精油得率为响应值, 设计四因素三水平响应面实验对胡椒梗精油提取工艺进行优化, 其因素及水平设计见表 1 所示。

1.2.4 GC-MS 色谱条件

精油前处理: 将所得胡椒梗精油样品充分静置, 加入少量无水硫酸钠干燥, 取上层精油样品, 用少量正己烷进行稀释待用。

气相色谱条件: 进样量 0.5 μ L, 色谱柱 Agilent HP-5MS (30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m), 升温程序为: 初始温度 50 °C, 保持 3 min, 以 4 °C/min 升温至 250 °C, 保持时间 7 min, 后运行温度为 280 °C。

质谱条件: 离子源温度 200 °C, 四级杆温度 150 °C, 扫描范围 40~450 u, 采集速度 5 质谱图/s。

1.2.5 数据处理

实验数据用 Design-Expert 8.05 等软件进行显著性分析, 并通过各因素之间的交互影响效果的三维图来分析各因素之间影响效果的显著性, 以预测最佳提取条件, 通过比较预测值和实际值的差异可以判断模型的准确性。CG-MS 结果采用采用 Wiley 谱库检索、结合人工解谱和查阅相关文献数据进行定性, 并采用面积归一化法计算精油各成分的相对含量。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果

2.1.1 酶浓度对胡椒梗精油得率的影响

由图 1 可知, 当酶液浓度低于 100 g/L 时, 随着酶液浓度增大胡椒梗精油产率也不断增加, 但继续增大酶液浓度, 精油产率反而缓慢下降。其原因在于纤维素酶可以有效破坏胡椒梗细胞的细胞壁, 使有效成分更容易溶出, 从而增大胡椒梗精油的产率, 随着酶液浓度的增加, 底物和纤维素酶的作用更加充分, 使精油产率随之增加; 但酶液浓度过大, 精油产率反而略有降低, 这可能是由于酶浓度较高时会大大加快细胞壁的分解速率, 细胞壁的分解产物会吸附精油中的

某些组分, 从而导致精油提取率降低^[22], 该结果与张雪松^[23]的研究一致。此外, 更高的酶浓度会增加生产成本, 因此, 酶液浓度应选择 100 g/L 左右为宜。

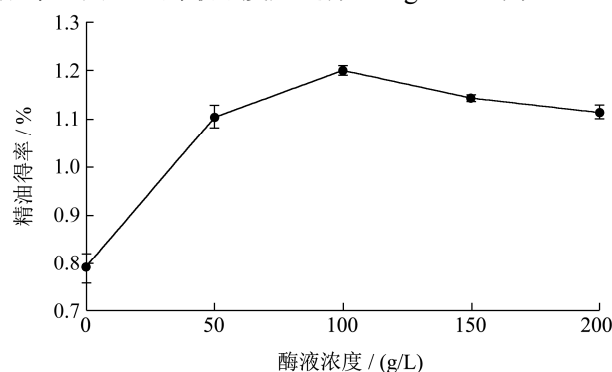


图 1 酶浓度对胡椒梗精油得率的影响

Fig.1 The effect of enzyme concentration on the yield of pepper stem essential oil

2.1.2 酶处理温度对胡椒梗精油得率的影响

由图 2 可知, 随着酶处理的增大, 胡椒梗精油得率呈现先上升后降低的趋势, 在 40 °C 左右时胡椒梗精油产率最高, 进一步增加温度, 精油产率大大降低。这是因为当温度较低时, 酶活性很低, 产率也较低, 随着温度增加, 酶活增大, 精油产率随之增加, 但温度或高反会使酶活降低, 从而降低精油产率。这与周亚军等^[24]的研究结果基本一致。因此, 酶处理温度选择 40 °C 左右为宜。

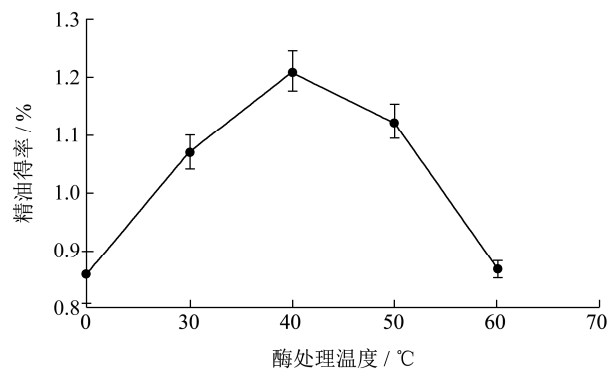


图 2 酶处理温度对胡椒梗精油得率的影响

Fig.2 Effect of enzyme treatment temperature on the yield of pepper stem essential oil

2.1.3 酶处理时间对胡椒梗精油得率的影响

由图 3 可知, 胡椒梗精油得率随着酶解时间的增

大呈先上升后下降的趋势，在酶解时间为 3 h 时胡椒梗精油得率最高。其原因可能是随着酶解时间的增大，纤维素酶对细胞的破坏程度增加，促进了细胞内活性成分的释放，但由于酶解反应趋于完全，进一步增加酶解时间精油得率不再增加。其结果与 Sowbhagya 等^[25]提取小茴香精油结果相似。因此，酶解时间以 3.0 h 左右为宜。

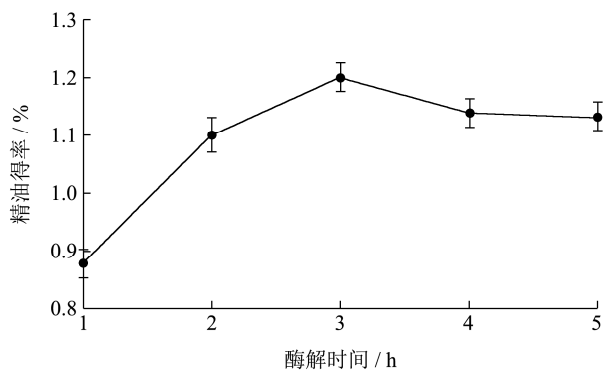


图3 酶解时间对胡椒梗精油得率的影响

Fig.3 The effect of enzyme treatment time on the yield of pepper stem essential oil

2.1.4 液料比对胡椒梗精油得率的影响

由图4可以看出，随着液料比的增加，胡椒梗精油的产率呈现先上升后下降的趋势，在液料比为 5:1 (mL/g) 时精油得率最高。这是由于液料比过低时，酶液不能充分浸润物料，酶解效率较低，随着液料比增大，胡椒梗精油得率有所增加，但继续增加液料比，会导致物料比率过低，酶液过量，不但增加了生产成本，而且会造成精油的损失^[26]；因此，液料比的选择应该在 5:1 左右。

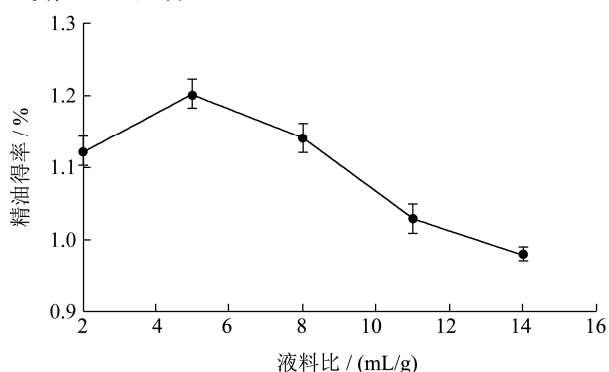


图4 液料比对胡椒梗精油得率的影响

Fig.4 The effect of liquid to material ratio on the yield of pepper stem essential oil

2.2 响应面优化试验

2.2.1 响应面试验结果

在单因素实验的基础上，利用 Design-Expert 软件，选取酶液浓度、酶处理温度、酶解时间、液料比

四个因素作为自变量，以胡椒梗精油产量为响应值，采用 Box-Behnken 实验设计原理，设计四因素三水平响应面实验，各组实验结果见表 2。

表2 响应面实验结果

Table 2 Response surface experiment results

实验编号	A	B	C	D	Y 精油得率/%
1	0	0	0	0	1.22
2	1	0	0	-1	1.04
3	-1	1	0	0	1.06
4	1	0	0	1	1.08
5	0	-1	-1	0	0.97
6	1	1	0	0	1.06
7	0	-1	1	0	1.02
8	0	0	1	1	1.05
9	0	1	0	1	1.07
10	-1	0	-1	0	1.04
11	0	1	0	-1	1.04
12	-1	0	1	0	1.06
13	-1	0	0	-1	1.05
14	0	0	0	0	1.19
15	0	1	-1	0	1.07
16	-1	-1	0	0	0.97
17	-1	0	0	1	1.07
18	0	-1	0	-1	0.99
19	0	0	0	0	1.2
20	1	0	1	0	1.1
21	0	0	-1	1	1.07
22	0	0	0	0	1.18
23	1	0	-1	0	1.06
24	0	-1	0	1	1.02
25	0	1	1	0	1.03
26	0	0	-1	-1	1.05
27	0	0	1	-1	1.06
28	1	-1	0	0	1.03
29	0	0	0	0	1.2

2.2.2 响应面回归模型的建立与分析

通过 Design-Expert 软件对实验结果进行回归拟合，得到胡椒梗精油得率和四个因素的拟合二次多项式回归方程为：

$$Y=1.20+0.0100A+0.0275B+0.0050C+0.0108D-0.0150AB+0.0050AC+0.0050AD-0.0225BC-0.0075CD-0.0657A^2-0.1019B^2-0.0707C^2-0.0694D^2$$

由表3方差分析结果可知，响应面实验模型显著性 $p < 0.0001$ ，为极显著，表明该模型具有统计学意义，自变量 B 为极显著，A、D 项为一般显著，C 项为不

显著, 二次项 BC 为显著, A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均为极显著, 表明改模型拟合情况良好, 结果可靠。四个因素

对胡椒梗精油提取率影响显著程度排序为酶处理温度 (B)>液料比 (D)>酶液浓度 (A)>酶处理时间 (C)。

表 3 响应面实验方差分析

Table 3 Response surface test variance analysis

来源	平方和	自由度	均方	F 值	p	显著性
模型	0.12	14	0.0086	43.57	< 0.0001	***
A-A	0.0012	1	0.0012	6.1	0.0270	*
B-B	0.0091	1	0.0091	46.12	< 0.0001	***
C-C	0.0003	1	0.0003	1.52	0.2373	
D-D	0.0014	1	0.0014	7.16	0.0181	*
AB	0.0009	1	0.0009	4.57	0.0506	
AC	0.0001	1	0.0001	0.5082	0.4876	
AD	0.0001	1	0.0001	0.5082	0.4876	
BC	0.0020	1	0.0020	10.29	0.0063	**
BD	0.0000	1	0.0000	0.0000	1.0000	
CD	0.0002	1	0.0002	1.14	0.3030	
A^2	0.028	1	0.028	142.14	< 0.0001	***
B^2	0.0674	1	0.0674	342.38	< 0.0001	***
C^2	0.0324	1	0.0324	164.61	< 0.0001	***
D^2	0.0313	1	0.0313	158.83	< 0.0001	***
残差	0.0028	14	0.0002			
失拟项	0.0019	10	0.0002	0.8523	0.6208	
纯误差	0.0009	4	0.0002			
总和	0.1228	28				

注: 表中***表示差异极显著, $p < 0.0001$; **表示差异显著, $p < 0.01$; *表示差异一般显著, $p < 0.05$ 。

2.2.3 响应面自变量间交互作用分析

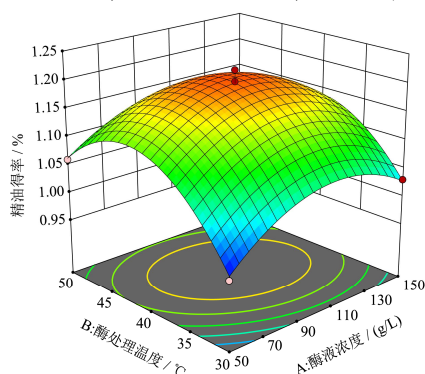


图 5 酶浓度和酶处理温度对胡椒梗精油得率交互影响响应面图

Fig.5 Response surface plot of the interaction of enzyme concentration and enzyme treatment temperature on the yield of pepper stem essential oil

利用软件 Design-Expert 模拟各因素之间交互作用的三维相应面图如图 5~图 10 所示, 由图可以看出, 因素 AB、BC 间交互作用曲线比较陡峭, 三维效果图

中心区域有明显凸起, 表明酶液浓度和酶处理温度、酶处理温度和酶处理时间的交互作用对胡椒梗精油得率的影响最为显著, 其他因素间的交互作用对最终精油得率的影响较小。

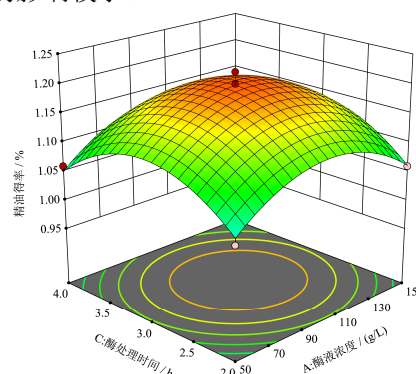


图 6 酶浓度和酶处理时间对胡椒梗精油得率交互影响响应面图

Fig.6 Response surface plot of the interaction of enzyme concentration and enzyme treatment time on the yield of pepper stem essential oil

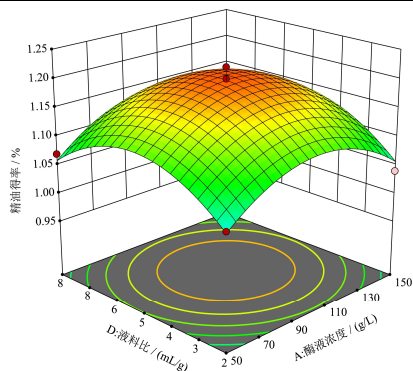


图 7 酶浓度和液料比对胡椒梗精油得率交互影响响应面

图

Fig.7 Response surface plot of the interaction of enzyme concentration and liquid-to-material ratio on the yield of pepper stem essential oil

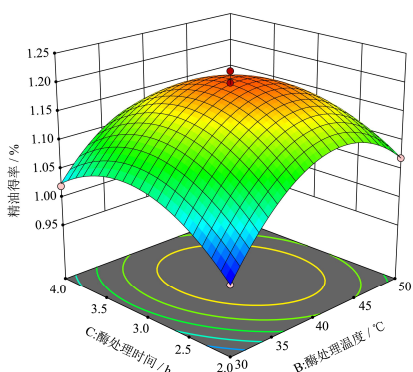


图 8 酶处理时间和酶处理温度对胡椒梗精油得率交互影响

响应面图

Fig.8 Response surface plot of the interactive influence of enzyme treatment time and enzyme treatment temperature on the yield of pepper stem essential oil

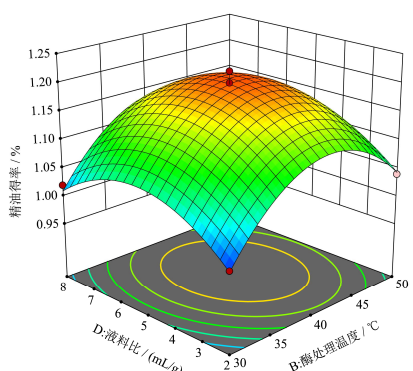


图 9 酶处理温度和液料比对胡椒梗精油得率交互影响响应面

图

Fig.9 Response surface plot of the interactive influence of enzyme treatment temperature and liquid-to-material ratio on the yield of pepper stem essential oil

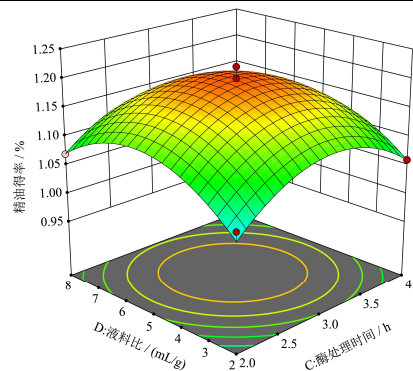


图 10 酶处理时间和液料比对胡椒梗精油得率的影响响应面图

Fig.10 Response surface plot of the effect of enzyme treatment time and liquid-to-material ratio on the yield of pepper stem essential oil

2.2.4 最佳工艺的确定及验证

通过响应面回归方程对胡椒梗精油最佳提取工艺条件进行预测, 其结果为酶浓度 103.25 g/L, 酶处理温度 41.28 °C, 酶处理时间 3.01 h, 液料比 5.23:1, 预测最佳产率 1.20%, 在相同条件下实际产率为 1.21%, 实际结果与理论结果相对误差为 0.83%, 表明实际结果与回归模型吻合良好, 实验结果较可靠。在相同条件下使用蒸馏水做空白对照, 胡椒梗精油得率为 0.80%, 酶辅助水蒸气蒸馏精油得率比水蒸气蒸馏提高 51.25%。Molica 等^[27]采用酶法辅助水蒸气蒸馏法提取柑橘皮精油, 在相同条件下, 纤维素酶预处理后的柑橘皮精油产率约为对照组的两倍; 张雪松等^[23]通过复合酶法制备桂花精油, 在复合酶添加量为 50.7 U/g, 液料比为 20.3:1, 温度为 46 °C, 水解时间 2.7 h, 桂花精油得率为 2.75%, 比未经酶处理时精油得率提高 55.37%, 与本实验结果相似, 表明本实验结果具有较高可靠性。Nurshazana Mohamad 等^[28]的研究表明, 通过酶处理可以有效增加精油分泌腺体的收缩, 促进精油的释放, 并且通过酶处理可以破坏细胞壁等结构, 使细胞质流出, 从而增加精油产率。

2.3 胡椒梗精油化学成分 GC-MS 分析

2.3.1 胡椒梗精油 GC-MS 测定结果

在所设色谱条件下, 胡椒梗精油的 GC-MS 色谱图见图 11。采用面积归一化法计算各组分的相对含量见表 4。由图表可知, 从胡椒梗精油中分别解析出 47 种化合物, 主要含有单萜、倍半萜、芳烃、醇类化合物、酯类化合物、酮类化合物等。胡椒梗精油含量最高组分依次为柠檬烯 (19.4%)、1-石竹烯 (11.2%)、 β -蒎烯 (10.9%)、异桉油烯醇 (10.7%)、3-萜烯 (6.31%) 等。

表4 胡椒梗精油化学成分

Table 4 Chemical composition of pepper stem essential oil

序号	化合物	分子式	相对含量/%
1	(+)-柠檬烯	C ₁₀ H ₁₆	19.4
2	1-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	11.2
3	(-)- β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	10.9
4	异桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	10.7
5	3-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	6.31
6	匙叶桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	4.54
7	2-蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	4.44
8	双戊烯	C ₁₀ H ₁₆	3.33
9	δ -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	3.28
10	(-)- α -萜澄茄油萜	C ₁₅ H ₂₄	2.3
11	β -瑟林烯	C ₁₅ H ₂₄	1.99
12	β -榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	1.61
13	γ -瑟林烯	C ₁₅ H ₂₄	1.34
14	棕榈酸香茅酯	C ₂₆ H ₄₈ O ₂	1.24
15	芳樟醇	C ₁₀ H ₁₈ O	1.18
16	Z,Z,Z-1,5,9,9-四甲基-1,4,7-环十一烷三烯	C ₁₅ H ₂₄	1.16
17	β -月桂烯	C ₁₀ H ₁₆	0.89
18	3,6,6-三甲基-双环[3.1.1]庚-2-烯	C ₁₀ H ₁₆	0.77
19	(1S,4S,4aS)-1-异丙基-4,7-二甲基-1,2,3,4,4a,5-六氢萘	C ₁₅ H ₂₄	0.68
20	α -水芹烯	C ₁₀ H ₁₆	0.65
21	桉油烯醇	C ₁₅ H ₂₄ O	0.58
22	萜澄茄醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.55
23	Muurolo-4,10(14)-dien-1 β -ol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.52
24	τ -杜松醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.47
25	吉马烯	C ₁₅ H ₂₄	0.36
26	β -红没药烯	C ₁₅ H ₂₄	0.34
27	邻异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	0.34
28	己基酯-N-(4-丁基苯甲酰)-D-丙氨酸	C ₂₀ H ₃₁ NO ₃	0.25
29	(-)- α -古芸烯	C ₁₅ H ₂₄	0.24
30	榄香烯异构体	C ₁₅ H ₂₄	0.23
31	去氢白菖烯	C ₁₅ H ₂₂	0.21
32	Selina-6-en-4-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.17
33	β -蒎烯	C ₁₀ H ₁₆	0.16
34	喇叭茶醇	C ₁₅ H ₂₆ O	0.15
35	4-萜烯	C ₁₀ H ₁₆	0.14
36	桉烯	C ₁₀ H ₁₆	0.13
37	植酮	C ₁₈ H ₃₆ O	0.12
38	邻苯二甲酸二丁酯	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	0.11
39	3,7-二甲基-6-辛烯酸甲酯	C ₁₁ H ₂₀ O ₂	0.11
40	α -Isonootkatol	C ₁₅ H ₂₄ O	0.11
41	香叶基丙酮	C ₁₃ H ₂₂ O	0.09

转下页

接上页

42	Selin-6-en-4 α -ol	C ₁₅ H ₂₆ O	0.09
43	甲基壬基甲酮	C ₁₁ H ₂₂ O	0.08
44	8,9-脱氢-新异长烯炔	C ₁₅ H ₂₂	0.07
45	茨烯	C ₁₀ H ₁₆	0.06
46	乙酸松油酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	0.05
47	α -二去氢莒蒲烯	C ₁₅ H ₂₀	0.05

表 5 胡椒梗精油与其他胡椒产品精油成分相对含量对比

Table 5 Comparison of the content of pepper stem essential oil and other pepper products essential oil

序号	胡椒梗精油		黑胡椒精油 ^[29]		白胡椒精油 ^[30]	
	成分	相对含量/%	成分	相对含量/%	成分	相对含量/%
1	(+)-柠檬烯	19.4	1-石竹烯	21.66	1-石竹烯	32.20
2	1-石竹烯	11.2	蒎烯	19.37	δ -榄香烯	16.32
3	(-)- β -蒎烯	10.9	(+)-柠檬烯	13.60	3-萜烯	7.10
4	异桉油烯醇	10.7	β -蒎烯	13.15	(+)-柠檬烯	4.59
5	3-萜烯	6.31	3-萜烯	9.86	胡椒烯	3.95
6	匙叶桉油烯醇	4.54	α -松油醇	1.92	D-杜松烯	3.13
7	2-蒎烯	4.44	邻异丙基甲苯	1.77	α -石竹烯	3.10
8	双戊烯	3.33	异松油烯	1.76	月桂烯	2.22
9	δ -榄香烯	3.28	氧化石竹烯	1.54	石竹烯氧化物	2.00
10	(-)- α -萜澄茄油萜	2.30	(-)-4-松油醇	1.42	β -蒎烯	1.89

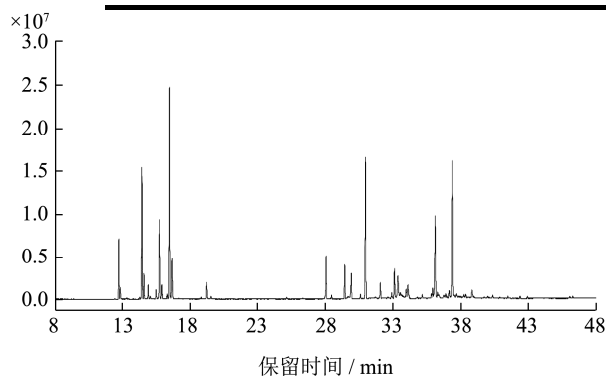


图 11 胡椒梗精油总离子流图

Fig.11 Total ion current chromatograms of volatile components in pepper stem essential oil

2.3.2 胡椒梗精油成分比较分析

对所得胡椒梗精油化学成分表进行分类，整理可知：胡椒梗精油包含单萜 12 种，倍半萜 15 种，萜醇 11 种，芳烃 1 种，脂肪醇 1 种，酯类化合物 4 种，酮类化合物 3 种。胡椒梗精油与其他胡椒产品精油存在相同成分，王花俊等^[29]报道的黑胡椒精油含量前 10 的组分中，柠檬烯、石竹烯、蒎烯、 β -蒎烯、3-萜烯均为二者共同拥有；与房一鸣等^[30]所报道的白胡椒精油成分比较，石竹烯、 δ -榄香烯、蒎烯、3-萜烯均为二者大量拥有。这表明胡椒梗精油具与其他胡椒产品精油具有一些相同的特点。

胡椒梗精油中大量存在的组分均有一定的生物活

性，如胡椒梗精油中含量最高的物质柠檬烯，具有抗菌、消炎、抗肿瘤等功效^[31]；石竹烯则具有较强的抗癌活性，在清除自由基，抗衰老方面也有一定活性^[32]；3-萜烯具有消炎杀菌的功效^[33]，在杀虫除病害方面也有应用。这表明胡椒梗精油具有一定的医疗及保健功效，在生物农药制造方面也有广阔应用前景。

胡椒梗精油和黑胡椒精油的共有组分 1-石竹烯、(+)-柠檬烯、(-)- β -蒎烯等均为二者大量拥有，且含量较为接近，其中石竹烯是胡椒辛辣刺激风味的主要来源，因此表明胡椒梗精油在具有黑胡椒精油辛辣风味的基础还具有其独特风味，在食品工业及保健行业拥有广泛前景。胡椒梗精油与白胡椒精油共有大量组分为 1-石竹烯、 δ -榄香烯、(+)-柠檬烯、 β -蒎烯、3-萜烯等，且 3-萜烯含量非常接近，表明胡椒梗精油和白胡椒精油具有较多相同的活性成分，在按摩、熏香产品以及保健功能上胡椒梗精油可以部分替代白胡椒精油，以减少白胡椒精油需求的压力。

3 结论

本文通过单因素试验和响应面分析法确立了一种酶辅助水蒸气蒸馏法提取胡椒梗精油的生产工艺。结果表明：

(1) 经响应面分析，胡椒梗精油的最佳提取工艺为酶浓度 103.25 g/L，酶处理温度为 41.28 °C，酶处理

时间为3.01 h, 液料比为5.23:1 (mL/g), 在此条件下胡椒梗精油的最佳产率为1.21%±0.02%, 在该条件下, 酶辅助水蒸气蒸馏法胡椒梗精油的产率比水蒸气蒸馏法提高了51.25%。

(2) 通过GC-MS分析, 胡椒梗精油中共解离出47种化学物质。其组成成分以萜烯类物质为主, 含量最高的组分依次为柠檬烯(19.4%)、1-石竹烯(11.2%)、 β -蒎烯(10.9%)、异桉油烯醇(10.7%)、3-萜烯(6.31%)等。

(3) 胡椒梗中含量较高的组分均具有一定的生理及保健功效; 此外, 胡椒梗精油和黑胡椒精油、胡椒叶精油存在较多共有组分, 使得其在具有胡椒精油的风味的基础上具有自己的独特风味。

本文的研究结果为胡椒梗废弃物的综合利用提供了思路, 同时可以为胡椒梗精油的提取和综合利用提供理论依据。

参考文献

- [1] Omafuvbe B O, Kolawole D O. Quality assurance of stored pepper (*Piper guineense*) using controlled processing methods [J]. Pakistan Journal of Nutrition, 2004, 3(4): 244-249
- [2] Yongxin Li, Chi Zhang, Shenyan Pan, et al. Analysis of chemical components and biological activities of essential oils from black and white pepper (*Piper nigrum* L.) in five provinces of southern China [J]. LWT, 2020, 117: 108644
- [3] 郭华松, 杨建峰, 林丽云. 中国胡椒研究综述[J]. 中国农业科学, 2009, 42(7): 2469-2480
WU Hua-song, YANG Jian-feng, LIN Li-yun. A summary of pepper research in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(7): 2469-2480
- [4] 邓永飞, 何惠欢, 马瑞佳, 等. 植物精油在食品行业中的应用[J]. 中国调味品, 2020, 45(6): 181-184, 200
DENG Yong-fei, HE Hui-huan, MA Rui-jia, et al. Application of plant essential oil in food industry [J]. China Condiment, 2020, 45(6): 181-184, 200
- [5] 李文茹, 施庆珊, 谢小保, 等. 植物精油化学成分及其抗菌活性的研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(6): 1339-1344
LI Wen-ru, SHI Qing-shan, XIE Xiao-bao, et al. Progress on the antimicrobial properties of essential oils [J]. Microbiology China, 2016, 43(6): 1339-1344
- [6] Sara Burt. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review [J]. International Journal of Food Microbiology, 2004, 94(3): 223-253
- [7] 张水平, 谷凤林, 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
- [8] Marzieh Moosavi-Nasab, Ehsan Shad, Esmail Ziaee, et al. Biodegradable chitosan coating incorporated with black pepper essential oil for shelf life extension of common carp (*Cyprinus carpio*) during refrigerated storage [J]. Journal of Food Protection, 2016, 79(6): 986-993
- [9] 范睿, 周利萍, 伍宝朵, 等. 六个杂交品种白胡椒精油香气成分GC-MS分析[J]. 热带作物学报, 2020, 41(8): 1683-1692
FAN Rui, ZHOU Li-ping, WU Bao-duo, et al. Aroma components of essential oil of white pepper from six hybrid germplasms by GC-MS [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(8): 1683-1692
- [10] 龙宇宙. 热带特色香辛饮料作物农产品加工与利用[M]. 海口: 海南出版社, 2007
LONG Yu-zhou. Processing and Utilization of Agricultural Products of Tropical Spice Beverage Crops [M]. Hainan: Hainan Publishing House, 2007
- [11] 何凤平, 雷朝云, 范建新, 等. 植物精油提取方法、组成成分及功能特性研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(3): 307-312, 320
HE Feng-ping, LEI Chao-yun, FAN Jian-xin, et al. Research progress of extraction methods, components and functional characteristics in essential oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(3): 307-312, 320
- [12] Mouin Rouatbi, Albert Duquenoy, Pierre Giampaoli. Extraction of the essential oil of thyme and black pepper by superheated steam [J]. Journal of Food Engineering, 2005, 78(2): 708-714
- [13] 赵方方, 韩丙军, 吕岱竹, 等. 海南胡椒蔓提取物活性测试及化学成分分离鉴定[J]. 热带作物学报, 2019, 40(7): 1317-1324
ZHAO Fang-fang, HAN Bing-jun, LYU Dai-zhu, et al. Separation, identification of the chemical components and activity analysis from the branches of *Piper nigrum* Linn. in Hainan [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(7): 1317-1324
- [14] Mansour Golmohammadi, Alimohammad Borghei, Ali Zenouzi, et al. Optimization of essential oil extraction from orange peels using steam explosion [J]. Heliyon, 2018, 4(11): e00893
- [15] Allawzi Mamdouh, Allaboun Hussein, Almasri Atheer. CO₂ supercritical extraction of essential oil of Jordanian rosemary

- [J]. Journal of AOAC International, 2019, 102(2): 662-665
- [16] 杜丽君,牛先前,林晓红,等.水蒸气蒸馏法与超临界 CO₂ 萃取法结合气相色谱-质谱分析胡椒木精油成分[J].分析测试学报,2019,38(1):86-91
DU Li-jun, NIU Xian-qian, LIN Xiao-hong, et al. Analysis of compositions of essential oil in *Zanthoxylum piperitum* by gas chromatography - mass spectrometry with steam distillation and supercritical CO₂ extraction [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(1): 86-91
- [17] 王颖,李荣,姜子涛.超声-微波协同技术提取白胡椒精油的条件优化[J].食品工业科技,2017,38(17):156-162
WANG Ying, LI Rong, JIANG Zi-tao. Optimization of extraction of essential oil from white pepper (*Piper nigrum* L.) by simultaneous ultrasonic - microwave assisted extraction [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(17): 156-162
- [18] Azmir J, Zaidul I S M, Rahman M M, et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review [J]. Journal of Food Engineering, 2013, 117(4): 426-436
- [19] Sowbhagya H B, Srinivas P, Purnima K T, et al. Enzyme-assisted extraction of volatiles from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1856-1861
- [20] 倪培德,江志炜.高油分油料水酶法预处理制油新技术[J].中国油脂,2002,27(6):5-8
NI Pei-de, JIANG Zhi-wei. New technology for oil production by enzymatic pretreatment of high oil content [J] China Oils and Fats, 2002, 27(6): 5-8
- [21] 辜雪冬,肖娟,周康,等.纤维素酶辅助水蒸气蒸馏提取柠檬果皮精油工艺优化[J].食品与机械,2018,34(8):145-152
GU Xue-dong, XIAO Juan, ZHOU Kang, et al. Optimization on essential oil extraction of lemon peel by cellulase-assisted hydrodistillation [J] Food & Machinery, 2018, 34(8): 145-152
- [22] Huynh Nguyen Thai, Smagghe Guy, Gonzales Gerard Bryan, et al. Enzyme-assisted extraction enhancing the phenolic release from cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. *botrytis*) outer leaves [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(30): 7468-7476
- [23] 张雪松,裴建军,赵林果,等.酶法辅助提取桂花精油工艺优化[J].食品工业科技,2017,38(20):90-97
ZHANG Xue-song, PEI Jian-jun, ZHAO Lin-guo, et al. Optimization of extraction process of *Osmanthus* essential oil by enzyme-assisted [J]. Science and Technology of Food Industry, 2017, 38(20): 90-97
- [24] 周亚军,李圣桡,王淑杰,等.高压脉冲电场协同酶法辅助提取玫瑰精油工艺优化[J].食品科学,2020,41(6):270-277
ZHOU Ya-jun, LI Sheng-rao, WANG Shu-jie, et al. Optimization of extraction of rose essential oil by high intensity pulsed electric field combined with enzymatic treatment-assisted steam distillation [J]. Food Science, 2020, 41(6): 270-277
- [25] H B Sowbhagya, P Srinivas, Kaul T Purnima, et al. Enzyme-assisted extraction of volatiles from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1856-1861
- [26] 陈长锴,樊志国,赵凤翔,等.基于低共熔溶剂法超声辅助蒸馏提取胡椒叶精油的工艺优化及其 GC-MS 分析[J].食品工业科技,2020,41(20):135-141
CHEN Chang-kai, FAN Zhi-guo, ZHAO Feng-xiang, et al. Optimization and GC-MS analysis of extracting pepper leaves essential oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(20): 135-141
- [27] Mónica L Chávez-González, Lluvia I López-López, Raúl Rodríguez-Herrera, et al. Enzyme-assisted extraction of citrus essential oil [J]. Chemical Papers, 2016, 70(4): 412-417
- [28] Nurshazana Mohamad, Norhayati Ramli, Suraini Abd-Aziz, et al. Comparison of hydro-distillation, hydro-distillation with enzyme-assisted and supercritical fluid for the extraction of essential oil from pineapple peels [J]. 3 Biotech, 2019, 9(6): 1-9
- [29] 王花俊,齐海英,张峻松.黑胡椒精油挥发性成分分析[J].中国调味品,2017,42(12):138-140,146
WANG Hua-jun, QI Hai-ying, ZHANG Jun-song. Analysis of volatile components in black pepper essential oil [J]. China Condiment, 2017, 42(12): 138-140, 146
- [30] 房一明,吴桂苹,谭乐和,等.不同处理方式对胡椒精油组成及含量的影响[J].中国食品学报,2017,17(7):109-118
FANG Yi-ming, WU Gui-ping, TAN Le-he, et al. Effect of different treatments on the composition and contents of the pepper's essential oil [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2017, 17(7): 109-118
- [31] 郝静梅,盛冉,孙志高,等.柠檬烯抗菌性研究进展[J].食品与发酵工业,2017,43(2):274-278
HAO Jing-mei, SHENG Ran, SUN Zhi-gao, et al. Research progress in antimicrobial activity of limonene [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 43(2): 274-278

(下转第 86 页)