

用大孔树脂层析法和水提法 分离金银花中的致香组分

孙胜南, 卢真保, 黄艳, 周仲良, 王学娟

(华芳烟用香料有限公司, 广东 广州 510530)

摘要:结合水提法和大孔树脂层析法对金银花进行提取分离,通过单因素试验,确定了最佳水提工艺,即料液比1:9,提取温度90℃,提取次数2次;并采用气相色谱/质谱仪联用对此金银致香组分进行分析,共鉴定出38种成分,主要含有芳樟醇、棕榈酸甲酯、棕榈酸乙酯、十八酸乙酯、8,11-十八碳二烯酸甲酯、亚油酸乙酯、亚麻酸甲酯、亚麻酸乙酯、棕榈酸、油酸、亚油酸、(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇等.将此致香组分0.05%添加于卷烟中,具有丰富烟香、增加清香香韵、掩盖卷烟杂气、柔和烟气等作用.

关键词:金银花水提液;大孔树脂层析法;致香组分;卷烟

中图分类号:TS264.3 **文献标志码:**A **DOI:**10.3969/j.issn.2095-476X.2013.04.005

Study on separation of aromatic components from honeysuckle by macroporous resin column chromatography and water extraction method

SUN Sheng-nan, LU Zhen-bao, HUANG Yan, ZHOU Zhong-liang, WANG Xue-juan
(Huafang Tobacco Flavors Co., Ltd., Guangzhou 510530, China)

Abstract: The aromatic components of honeysuckle was prepared by using water extraction method and macroporous resin column chromatography, and the optimal conditions of water extraction process were obtained by single factor experiment: ratio of solid to liquid 1:9, extraction temperature 90℃, extraction 2 times. There were 38 components were identified by GC/MS, the main components were linalool, methyl hexadecanoate, hexadecanoic acid ethyl ester, octadecanoic acid ethyl ester, 8, 11-octadecadienoic acid methyl ester, linoleic acid ethyl ester, methyl linolenate, linolenic acid ethyl ester, hexadecanoic acid, oleic acid, (Z,Z)-9, 12-octadecadienoic acid, (Z,Z,Z)-9, 12, 15-octadecatrien-1-ol, etc. The 0.05% aromatic components was added into cigarettes as a flavor. The results showed that it could enrich the smokey, enhance the notes of fresh aroma, reduce offensive odor and make the cigarette smoke soft.

Key words: water extracts of honeysuckle; macroporous resin column chromatography; aromatic components; cigarette

收稿日期:2013-05-25

作者简介:孙胜南(1983—),男,河南省南召县人,华芳烟用香料有限公司助理工程师,主要研究方向为天然香料的制备与应用.

0 引言

金银花为忍冬科植物忍冬 (*Lonicera japonica* Thunb) 的干燥花蕾或带初开的花,具有清热解毒、疏散风热等疗效^[1],除主要应用在医药行业外,还广泛应用在保健食品、香料、化妆品等行业^[2]。目前,对金银花的研究主要集中在挥发性成分的提取及总黄酮化学物质的萃取方面。文献[3-4]使用CO₂超临界萃取方法进行金银花挥发油的提取;文献[5-7]采用同时蒸馏萃取技术从金银花中得到挥发性提取物;吕大树等^[8]以正己烷作为提取剂,使用闪式提取法制备金银花挥发油,并对工艺优化进行了研究;许永等^[9]使用加速溶剂萃取法和索氏提取法提取金银花醇膏,并对其中的黄酮含量进行了对比分析。这些研究以金银花中挥发性成分及醇溶性成分为研究目标,但未对金银花中的水溶性成分及其在卷烟中的应用进行研究。本文拟从金银花的水溶性初提物中分离制备适于卷烟加香的致香组分,以期对金银花的深入开发研究和更好地应用于卷烟制备提供一定的参考和思路。

1 实验

1.1 材料、试剂与仪器

材料:金银花(干品,产地河南),购于广州市清平药材市场;未加香加料烟丝叶组,广东中烟提供。

试剂:去离子水,华芳烟用香料有限公司制;乙醇(食用级),广西贵港丹化酒精有限公司产。

仪器:中药粉碎机,温岭市曙光机械厂;5L圆底烧瓶、蛇形冷凝管,蜀牛公司产;水浴锅、R502B型旋转蒸发器、SHB-3型循环水真空泵,上海申生科技有限公司产;LXJ-II B型离心机,上海安亭科学仪器厂;玻璃层析柱(直径6 cm,高100 cm);气质联用仪,安捷伦 6890—5973。

1.2 金银花水提液中致香组分制备工艺

取金银花 400 g,经中药粉碎机粉碎后置于 5 L 圆底烧瓶中,按照一定的料液比、提取温度和提取次数在热水浴锅中回流浸提数次,合并提取液。将水提液进行离心,离心后的上清液收集合并,得到金银花供试液,将供试液平均分开,其中一半直接减压浓缩,得到金银花水提物;另一半供试液进行大孔树脂柱吸附并洗脱,将洗脱液减压浓缩,得到金银花水提液中的致香组分,在浓缩的过程中调整金银花致香组分与金银花水提物的相对密度使之相同,误差范围为 0.005 ~ 0.007。

1.3 金银花提取工艺优化试验

在传统水提法对金银花提取的过程中,确定了料液比、提取温度、提取次数 3 个影响因素,在固定其他工艺参数的情况下,进行对比试验,以分析研究不同的提取工艺参数对最终得到的金银花水提液中致香组分得率的影响,进而确定最佳提取工艺。

1.4 金银花供试液大孔树脂层析条件

经过对不同大孔树脂吸附材料的初步对比试验研究,确定大孔树脂层析的工艺条件为:使用 HPD—600 大孔树脂作为固定相,湿法装柱,在吸附之前,使用 95% 的乙醇浸泡树脂 48 h,后用大量的去离子水洗尽乙醇;在金银花供试液的吸附过程中,控制吸附流速为 25 ~ 30 mL/min,待吸附结束之后,用 2 L 的去离子水继续上柱,清洗柱体;以 2.5 L 95% 的乙醇作为洗脱剂,洗脱流速控制在 20 mL/min 左右。

1.5 GS-MS 测定条件

安捷伦 6890—5973 气质联用仪,INNOWAX 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)。

色谱条件:载气 N₂;进样口温度 240 °C;程序升温,起始温度 60 °C,以 2 °C/min 升至 240 °C,保持 20 min;分流进样,分流比 1:1;流速 1.0 mL/min;进样量 1 μL。

质谱条件:EI 离子源 70 eV;离子源温度 200 °C;倍增电压 0.7 kV;扫描范围 40 ~ 400 aum;利用 NIST05 和 Wiley275 双库检索。

1.6 金银花水提液中致香组分和金银花水提物的卷烟加香对比应用

将金银花水提物和金银花水提液中致香组分以 70% 乙醇稀释,分别喷加于未加香加料的烟丝叶组上,将 2 组烟丝叶组分别卷制成烟支,并在相对湿度(60 ± 2)%、温度(22 ± 1)°C 的环境下平衡 48 h,然后请 10 人评吸小组进行感官评价。

2 结果与讨论

2.1 金银花水提工艺参数的确定

经过对金银花水提工艺中 3 个因素进行单因素实验,并分析讨论各因素对金银花水提液中致香组分得率的影响,最终确立了最优的水提取工艺条件。

料液比对金银花水提液中致香组分得率的影响如图 1 所示。由图 1 可以看出,随着料液比的增加,金银花水提液中致香组分的最终得率也在增加。料液比 > 9 倍体积比之后,得率趋于平缓,故选择金银花提取的适宜料液比为 9 倍体积比,此时致香组分的最终得率为 13.29%。

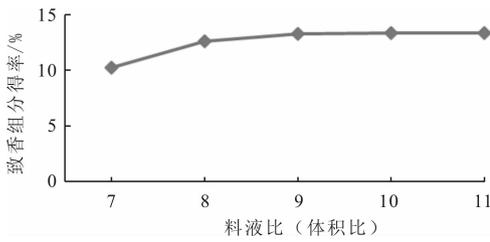


图1 料液比对金银花水提液中致香组分得率的影响

提取温度对金银花水提液中致香组分得率的影响如图2所示.由图2可以看出,随着提取温度的增加,金银花水提液中致香组分的最终得率也在增加.在提取温度 $>90^{\circ}\text{C}$ 以后,得率趋于平缓,故选择金银花提取的适宜温度为 90°C ,此时致香组分的最终得率为13.34%.

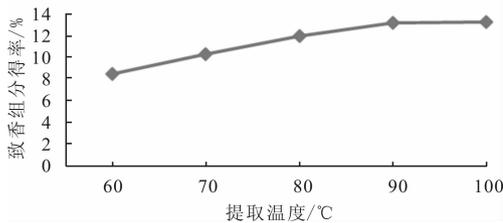


图2 提取温度对金银花水提液中致香组分得率的影响

提取次数对金银花水提液中致香组分得率的影响如图3所示.由图3可以看出,随着提取次数的增加,金银花水提液中致香组分的最终得率也在增加.在2次提取次数以后,得率虽然还有上升趋势,但趋势较缓,而且从降低能耗及成本的角度考虑,应选择金银花提取次数2次,此时致香组分的最终得率为13.14%.通过对提取料液比、提取温度、提取次数对金银花水提液中致香组分得率的影响的研究,可以得出最佳的提取工艺条件:金银花与水的投料体积比为1:9,提取温度为 90°C ,提取次数为2次,在此条件下得到的金银花水提液中致香组分的最终得率达到13.53%.

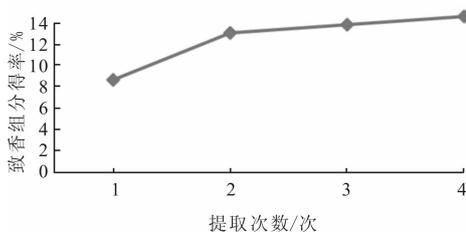


图3 提取次数对金银花水提液中致香组分得率的影响

2.2 金银花水提液中致香组分的化学成分分析

按照前述分析方法进行金银花水提液中致香组分的GC/MS分析,最终鉴定出38种化学成分(见表1).

表1 金银花水提液中致香组分化学成分分析结果

序号	保留时间/min	化学成分	相对含量/%	相似度/%
1	6.402 5	2-甲基丁酸	0.029 5	98
2	6.595 4	糠醛	0.059 5	97
3	21.481 8	1-己醇	0.040 2	94
4	21.557 9	芳樟醇氧化物	0.016 4	91
5	25.988 8	芳樟醇	5.533 4	98
6	35.236 3	月桂酸乙酯	0.021 3	93
7	36.215 9	苯甲醇	0.075 8	92
8	37.834 9	苯乙醇	0.044	93
9	43.128 6	肉豆蔻酸甲酯	0.033 2	91
10	45.087 8	肉豆蔻酸乙酯	0.135 3	92
11	52.563 9	棕榈酸甲酯	1.272 6	93
12	53.112 1	2-十七烷酮	0.060 5	90
13	54.452 0	棕榈酸乙酯	5.430 2	91
14	54.898 6	2-乙基环己酮	0.055 4	90
15	55.771 6	3-羟基丁酸乙酯	0.023 7	93
16	56.705 5	二十烷	0.047 8	89
17	58.644 3	正十七烷酸乙酯	0.078 8	91
18	61.293 7	硬脂酸甲酯	0.179 2	96
19	61.638 8	苯甲酸	0.066 3	98
20	61.933 2	油酸甲酯	0.251 7	95
21	62.897 6	十八酸乙酯	1.075 5	91
22	63.460 9	十八烯酸乙酯	0.667 3	93
23	63.821 3	8,11-十八碳二烯酸甲酯	1.713 7	94
24	64.359 3	月桂酸	0.157 2	96
25	65.333 8	亚油酸乙酯	3.342 8	97
26	66.384 4	亚麻酸甲酯	1.18	95
27	66.947 8	苯乙酸	0.154 3	93
28	67.876 6	亚麻酸乙酯	3.82	90
29	68.983 1	植醇	0.826 7	99
30	69.444 9	二十酸甲酯	0.110 6	91
31	72.119 7	肉豆蔻酸	0.545 4	93
32	75.804 5	正十五酸	0.203	94
33	77.093 6	肉桂酸	0.279	96
34	79.687 2	棕榈酸	20.224 6	97
35	86.574 6	硬脂酸	3.577 6	92
36	87.427 3	油酸	3.004 6	93
37	89.244 3	亚油酸(Z,Z)-9,12-Octadecadienoic acid	13.558 5	94
38	91.406 5	(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇	14.287	98

对金银花水提液中致香组分进行分析共检索得到38种成分,占总峰面积的82.1826%。主要化学成分有芳樟醇(5.5334%)、棕榈酸甲酯(1.2726%)、棕榈酸乙酯(5.4302%)、十八酸乙酯(1.0755%)、8,11-十八碳二烯酸甲酯(1.7137%)、亚油酸乙酯(3.3428%)、亚麻酸甲酯(1.18%)、亚麻酸乙酯(3.82%)、棕榈酸(20.2246%)、硬脂酸(3.5776%)、油酸(14.287%)、亚油酸(13.5585%)、(Z,Z,Z)-9,12,15-十八碳三烯-1-醇(3.0046%)。

2.3 金银花水提液中致香组分和金银花水提物的卷烟感官评价

将金银花水提液中致香组分和金银花水提物用70%乙醇溶解,按照不同的用量喷洒到空白烟丝叶组中,卷成烟支,进行评吸,结果见表2。

表2 金银花水提液中致香组分和金银花水提物应用于卷烟的评吸效果

用量%	评吸结果	
	金银花水提物	金银花水提液中致香组分
0	香气质中,香气浓度中等,杂气稍有,刺激性稍有,余味尚舒适	
0.02	烟气浓郁,香气量微有提升,杂气稍有,刺激微有,余味尚舒适	烟气柔和,香气量有所增加,烟香提升,刺激微有,杂气微有,余味较舒适
0.05	烟气稍显粗犷,清香、药草香韵明显,协调性稍有降低,余味较舒适	烟气细腻,香气质提高,香气丰富,清甜香韵明显,刺激、杂气较少,余味舒适
0.08	烟气稍显粗糙,香气量高,协调性较差,烟香被压抑,余味尚舒适	烟气饱满,香气量较高,烟气微粗,刺激微有,杂气较少,余味较舒适

由表2可知,在进行卷烟感官评价其应用效果的过程中,金银花水提液中致香物相比金银花水提物在卷烟中效果更好,有效地规避了金银花水提物易带来的烟气粗糙和掩盖烟香的缺点,具有协调烟香、明显提升卷烟香气质和改善吃味等功效;金银花水提液中致香组分在卷烟中的添加量为0.05%时对卷烟的品质提升较为明显,可起到丰富烟香、赋予卷烟清甜香韵、细腻烟气和改善吃味等作用。

3 结论

本文利用水提法和大孔树脂层析法对金银花中的致香成分进行分离提取,通过单因素试验,确定了最佳水提工艺,即料液比1:9,提取温度90℃,提取次数2次;并使用气相色谱质谱联用仪对制备得到的金银花水提液中致香组分进行了定性、定量分析,将金银花水提液中致香组分0.05%应用于未加香加料烟丝叶组中,得到了良好的应用效果。此项研究不仅开发出一种效果良好、天然无害的烟用添加剂,更为天然烟用香料的制备创新出一种易于产业化、成本较低和安全的工艺路线,为更好地开发利用金银花和其他类似的天然植物提供了一定的技术参考,进一步提升了天然植物在卷烟应用中的价值和使用范围。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 一部. 北京:化学工业出版社,2010:205-206.
- [2] 焦守国. 金银花研究现状及综合利用[J]. 齐鲁药事, 2009,28(8):487.
- [3] 万强,许志杰,杨靖. 超临界CO₂流体萃取金银花的工艺研究[J]. 香料香精化妆品,2011(5):19.
- [4] 舒云波,张建荣,马晓伟,等. 超临界提取金银花挥发油及在卷烟中的应用[J]. 安徽农学通讯,2008,14(22):76.
- [5] 林凯. 福建金银花挥发油成分分析[J]. 江西农业学报,2009,21(5):102.
- [6] 许永,向能军,孙川,等. 金银花浸膏挥发性成分分析及在卷烟中的应用[J]. 广州化工,2007,35(4):53.
- [7] 景延秋,全琳,罗辉,等. 金银花中挥发性及半挥发性成分的测定及其在烟草中的应用展望[J]. 江西农业学报,2010,22(12):120.
- [8] 吕大树,孟祥东,张学杰. 金银花挥发油闪式提取工艺优化及在卷烟中的应用研究[J]. 中国农学通报,2011,27(5):483.
- [9] 许永,向能军,桂永发,等. 金银花总黄酮的萃取对比研究及其在卷烟中的应用[J]. 烟草化学,2008(3):39.