

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202012031

都宏霞, 石巾艺, 王冬娥. 绿色低共熔溶剂提取互叶白千层精油及成分分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(5): 762–771.
DU HX, SHI JY, WANG DE. Extraction and component analysis of essential oil of *Melaleuca alternifolia* by green deep eutectic solvents [J]. *Guihaia*, 2022, 42(5): 762–771.



绿色低共熔溶剂提取互叶白千层精油及成分分析

都宏霞¹, 石巾艺^{1,2}, 王冬娥¹

(1. 南京科技职业学院, 南京 210048; 2. 南京林业大学, 南京 210037)

摘要: 为探究绿色低共熔溶剂提取互叶白千层精油的最佳工艺, 该研究采用四种提取工艺作对比, 并在单因素实验的基础上结合响应面进行了工艺优化, 利用气相色谱-质谱法 (GC-MS) 对四种工艺提取到的互叶白千层精油进行了比较分析。结果表明: (1) 互叶白千层精油最佳提取工艺为干燥原料低共熔溶剂蒸馏, 最优提取条件为氯化胆碱与 1,3-丁二醇摩尔比 1:3、含水量 52 mol、原料干燥时间 9 h、料液比 1:5 g·mL⁻¹、蒸馏时间 60 min, 在此条件下所得提取率为 4.06%, 实验值与响应面模型的预测值有较好的拟合性, 证实模型有效, 提取率比新鲜原料水蒸气蒸馏、干燥原料水蒸气蒸馏和冻融原料水蒸气蒸馏分别提高了 383.33%、290.38% 和 497.06%。(2) 经四种工艺提取所得精油主要成分大致相同, 但含量差距很大, 主要有醇类和烯炔类物质。(3) 干燥原料低共熔溶剂蒸馏的精油提取率和特征组分含量都高于其他工艺, 包括醇类 8 种, 烯炔类 9 种, 其他化合物 3 种; 主要成分为 γ -松油烯、松油烯、 α -蒎烯、 α -松油醇、香树烯, 其中烯炔类化合物相对含量最大, 为 45.31%; 特征组分松油烯-4-醇含量为 30.58%, 桉叶油醇为 0.12%。该研究为互叶白千层的资源开发和天然产物的绿色提取提供了数据支撑。

关键词: 互叶白千层, 精油, 低共熔溶剂, 提取, 成分分析

中图分类号: Q946; R284 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)05-0762-10

Extraction and component analysis of essential oil of *Melaleuca alternifolia* by green deep eutectic solvents

DU Hongxia¹, SHI Jinyi^{1,2}, WANG Donge¹

(1. Nanjing Polytechnic Institute, Nanjing 210048, China; 2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract: In order to explore the best extraction process of essential oil of *Melaleuca alternifolia* by green deep eutectic solvents, four different extraction processes were compared including fresh-steam distillation extraction, dry-steam distillation extraction, freeze thawing-steam distillation extraction and deep eutectic solvents-distillation extraction. The effects of liquid-material ratio, distillation time, molar ratio of deep eutectic solvents, raw material drying time, water content on extraction rate of essential oil of *M. alternifolia* were investigated by single factor test. Based on single-factor tests, the quadratic regression parasitism model was established through the response surface methodology. The essential oil of *M. alternifolia* was determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results were as follows: (1) Deep eutectic solvents-distillation extraction was the best extraction processes. The optimal extraction conditions

收稿日期: 2021-05-20

基金项目: 江苏省高校优秀科技创新团队 (2017-31); 南京科技职业学院科研课题 (NHKY-2020-05) [Supported by Excellent Scientific and Technological Innovation Team of Universities in Jiangsu Province (2017-31); Nanjing Polytechnic Institute Scientific Research Project (NHKY-2020-05)].

第一作者: 都宏霞 (1981-), 博士, 副教授, 主要研究方向为天然产物提取及水处理, (E-mail) hxdu@mail.ustc.edu.cn.

were determined to be molar ratio of choline chlorid to 1,3-Butanediol 1 : 3 (mol : mol), water content 52 mol, drying time of raw materials 9 h, material-liquid ratio 1 : 5 g · mL⁻¹, distillation time 60 min, and the maximum extraction rate of essential oil of *M. alternifolia* reached 4.06%, which was 383.33%, 290.38% and 497.06% higher than that of fresh-steam distillation extraction, dry-steam distillation extraction and freeze thawing-steam distillation extraction, respectively. Response surface methodology was proved to be applicable for extraction of essential oil from *M. alternifolia*, the experimental results were in good agreement with the predicted values of the response surface model. (2) The main components of essential oil of *M. alternifolia* extracted by four different extraction processes were proved to be almost same, while the contents were significantly different. (3) Alcohols and alkenes were confirmed to be the main components in the essential oil of *M. alternifolia*. The extraction yield and characteristic component content of essential oil of *M. alternifolia* extracted by deep eutectic solvents-distillation were indicated much higher than those by other three processes, which including eight alcohols, nine alkenes and three other compounds, with the main components of γ -Terpinene, α -Terpinene, α -Pinene, α -Terpineol and alloaromadendrene, and the relative content of alkenes was 45.31%, the content of Terpinen-4-ol and eucalyptol was 30.58% and 0.12%. This study provides the data supporte for the further utilization of *M. alternifolia* and green extraction of natural products.

Key words: *Melaleuca alterniflora*, essential oil, deep eutectic solvents (DESs), extract, component analysis

植物精油作为一种高附加值的产品,呈现出非常广阔的市场前景。目前,精油的提取方法主要有有机溶剂萃取法、索氏提取法、压榨法、水蒸气蒸馏法、超临界 CO₂萃取、生物酶提取、微波辅助提取和超声波辅助提取等(Gonzalez-mas et al., 2019;段云博, 2020)。这些提取方法都存在着环境污染、高能耗、生产成本低、产率低等缺点。因此,需要一种绿色、高效、环境友好的提取方法。

绿色化学一直是国际学术研究的前沿领域和研究热点。随着人们对绿色环保、健康生活的重视,绿色提取势在必行。低共熔溶剂(deep eutectic solvents, DESs)是 Abbott 等人首次合成的一类绿色新型提取溶剂(Abbott et al., 2003),一经报道立刻引起国际上众多领域的广泛关注(Bajkacz & Adamek, 2017;Liu et al., 2018)。DESs 是由两种或多种安全无毒的成分作为氢键受体(HBAs)和氢键供体(HBDs),通过分子间氢键结合而成。因此,DESs 比传统溶剂的熔点低、密度大、黏度大、表面张力大、溶解度大,并且能够与溶质间形成较强的分子间氢键使其萃取能力远高于传统溶剂(Dai et al., 2014;Dai et al., 2016;陈冉等,2019)。DESs 还具有成本低、易制备、安全无毒、生物可降解、环境友好等特点,目前 DESs 已在天然植物提取分离方面有报道,具有巨大潜力(Fernandez et al., 2018; Chandran et al., 2019;李利芬等,2020),但在精油提取方面研究甚少。将 DESs 这种绿色溶剂用于探索精油提取是一种新的趋势,在保护环境的同时,能够提

高提取效率,同时为 DESs 在绿色提取领域的应用提供新的数据支撑。

互叶白千层(*Melaleuca alternifolia*)是桃金娘科白千层属植物,主产于澳大利亚东南沿海,也叫澳洲茶树,其枝叶可以用来提取精油,即互叶白千层精油(essential oil of *Melaleuca alterniflora*, EOMA),也称茶树精油,研究表明其具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化等方面的活性作用(宋吉明等,2019;石金娥等,2019;Capetti et al., 2020),目前报道的提取方法有水蒸气蒸馏、有机溶剂提取法、超临界提取法(肖凯军等,2000;Kong et al., 2020),这些方法广泛用于医药、日化、生物农药、食品等领域,所以通过绿色低共熔溶剂进一步探索优化其提取工艺非常有意义。

本文基于绿色提取的理念,采用低共熔溶剂提取 EOMA,并通过响应面法对 EOMA 进行优化,旨在开发一种绿色、高效、经济、环保的 EOMA 新型提取方法,更好地促进精油产业的发展,为天然产物的开发提供数据支撑。

1 材料与方 法

1.1 实验原料和试剂

原料:采自浙江丽水,经南京林业大学罗曼博士鉴定为互叶白千层。采集部位为新萌发带叶枝条,采集时间为 2019 年 11 月。

试剂:NaCl(分析纯,国药集团);甜菜碱盐酸

盐(山东优索);蔗糖(分析纯,国药集团);1,3-丁二醇(广州科源);无水甜菜碱(山东优索);氯化胆碱(阿拉丁)。

1.2 主要仪器

ME204E-02型电子天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司];DHG-9075A型鼓风干燥箱(上海鳌珍);Trace1300-ISQ7000 GC-MS联用仪(赛默飞世尔科技公司);调温电热器(通州申通电热器厂);FW177型中草药粉碎机(泰斯特)。

1.3 实验研究方法

1.3.1 DES的制备 参考 Abbott的方法(Crawford et al., 2016),以氯化胆碱为氢键受体、1,3-丁二醇为氢键供体,按摩尔比1:3,在含水量50 mol、80℃水浴加热的条件下搅拌,直至溶液澄清,冷却至室温,得到DES备用。

1.3.2 EOMA提取率计算

$$Y = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%$$

式中:Y为EOMA提取率(%); m_1 为EOMA的质量(g); m_2 为互叶白千层原料质量(g)。

1.3.3 EOMA提取工艺的比较 将新鲜的互叶白千层枝条洗净阴干,摘取枝条尖端5~10 cm枝叶,将原料进行处理,处理条件见表1,粉碎。准确称取原料30.0 g至500 mL圆底烧瓶中,加入溶剂(H_2O 或DES)90.0 mL,搭建蒸馏装置,开启冷凝水,加热至沸腾并保持持续沸腾状态,通过新鲜原料水蒸气蒸馏(fresh-steam distillation extraction, F-SDE)、干燥原料水蒸气蒸馏(dry-steam distillation extraction, D-SDE)(Mokhtarikhah et al., 2020)、冻融原料水蒸气蒸馏(freeze thawing-steam distillation

表1 提取工艺条件

Table 1 Factors of extraction process

提取工艺 Extraction process	提取溶剂 Extraction solvent	料液比 Material to liquid ratio (g · mL ⁻¹)	提取时间 Extraction time (min)	原料处理条件 Processing conditions of raw materials
F-SDE	H ₂ O	1:3	44	—
D-SDE	H ₂ O	1:3	44	干燥:38℃,4 h Dry: 38℃,4 h
FT-SDE	H ₂ O	1:3	44	冻:4%NaCl,-20℃,19 h;室温溶解 Freeze: 4%NaCl,-20℃,19 h;dissolve at room temperature
DES-DE	DES	1:3	44	干燥:38℃,4 h Dry: 38℃,4 h

注:4%NaCl为助剂。

Note: 4%NaCl is additives.

extraction, FT-SDE)(张蕾等,2010)和低共熔溶剂蒸馏(deep eutectic solvents-distillation extraction, DES-DE)4种工艺提取EOMA,时间均为44 min,将馏出液于分液漏斗中静置、分液,取上层液在-5℃下冷冻去除水分,即得EOMA,称重计算。

1.3.4 DES-DE提取EOMA的单因素实验 本研究考察了料液比、蒸馏时间、DES摩尔比、原料干燥时间和DES含水量5个因素对EOMA提取率的影响。

1.3.4.1 料液比对EOMA提取率的影响 在蒸馏时间44 min、氯化胆碱和1,3-丁二醇摩尔比1:3、DES含水量50 mol、原料干燥4 h的条件下,以料液比为1:3、1:5、1:10、1:20 g · mL⁻¹作为变量,研究料液比对EOMA提取率的影响。

1.3.4.2 蒸馏时间对EOMA提取率的影响 在氯化胆碱和1,3-丁二醇摩尔比1:3、料液比1:5 g · mL⁻¹、DES含水量50 mol、原料干燥4 h的条件下,以蒸馏时间30、45、60、90、120 min为变量,探讨蒸馏时间对EOMA提取率的影响。

1.3.4.3 DES摩尔比对EOMA提取率的影响 在蒸馏时间60 min、料液比1:5 g · mL⁻¹、原料干燥4 h、DES含水量50 mol的条件下,以氯化胆碱和1,3-丁二醇摩尔比分别为2:1、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5作为变量,研究摩尔比对EOMA提取率的影响。

1.3.4.4 原料干燥时间对EOMA提取率的影响 在蒸馏时间60 min、料液比1:5 g · mL⁻¹、氯化胆碱和1,3-丁二醇摩尔比1:3、DES含水量50 mol的

条件下,以原料干燥时间 2、4、6、8、10、12 h 作为变量,研究原料干燥时间对 EOMA 提取率的影响。

1.3.4.5 DES 含水量对 EOMA 提取率的影响 在蒸馏时间 60 min、料液比 1 : 5 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、原料干燥时间 8 h、氯化胆碱和 1,3-丁二醇摩尔比 1 : 3 的条件下,以 DES 含水量为 30、40、50、60、70 mol 作为变量,研究 DES 含水量对 EOMA 提取率的影响。

1.3.5 EOMA 提取条件优化 在单因素实验结果的基础上设计响应面实验。利用 BBD 设计原理设计响应面优化实验方法,以摩尔比(A)、干燥时间(B)、含水量(C)三种影响因素为自变量,提取率(Y)为响应值,设计出三因素三水平的响应面进行分析实验与统计分析,实验设计因素与水平如表 2。

表 2 响应面试验分析因素水平表

Table 2 Factors and levels of response surface methodology

因素 Factor	编码 Code	水平 Level		
		-1	0	+1
摩尔比 Molar ratio (mol : mol)	A	1 : 1	1 : 3	1 : 5
干燥时间 Drying time (h)	B	4	8	12
含水量 Water content (mol)	C	40	50	60

1.3.6 EOMA 成分分析

1.3.6.1 色谱条件 色谱柱: TG-5MS 色谱柱 (30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm)。升温程序: 50 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min, 以 10 $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 250 $^{\circ}\text{C}$, 保持 9 min。载气流速: 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 1 μL ; 不分流进样。

1.3.6.2 质谱条件 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度 250 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度 300 $^{\circ}\text{C}$; 质量扫描范围 50~500 $\text{m} \cdot \text{z}^{-1}$, 溶剂延迟 4 min。

2 结果与分析

2.1 EOMA 提取工艺的比较

EOMA 提取工艺的比较结果如图 1。从图 1 可以看出,低共熔溶剂蒸馏相比其他工艺对于 EOMA 的提取率较高,为 2.85%。可能因为 1,3-丁二醇的醇基分支少,内部空间大(黄秀红等, 2020),形成的 DES 体系粘度较小,对细胞壁的渗

透性较好(白有灿, 2018; 孔方等, 2020),所以可以更好地促进精油成分的有效释放,因此本文采用 DES-DE 为提取工艺,进行进一步的优化研究。

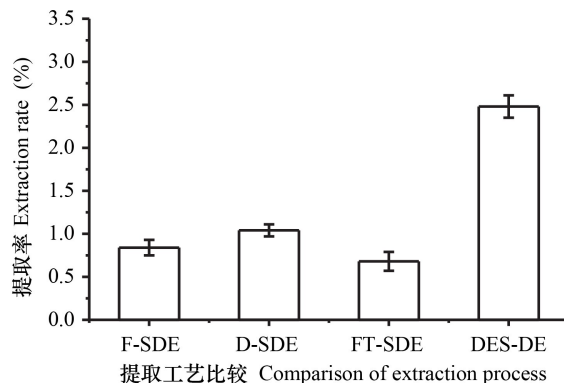


图 1 提取工艺比较

Fig. 1 Comparison of extraction process

2.2 单因素实验结果

2.2.1 料液比对 EOMA 提取率的影响 结果如图 2 所示,料液比在 1 : 5 时, EOMA 提取率最高,为 2.48%。随着溶剂用量不断增大,提取率逐渐减小,因为在料液比为 1 : 5 时足以彻底进行水散作用,随着液料比的升高,其他成分的溶出也相对增多,所以抑制精油有效成分析出,从而导致提取率下降(王会全等, 2018)。因此,最佳料液比为 1 : 5。

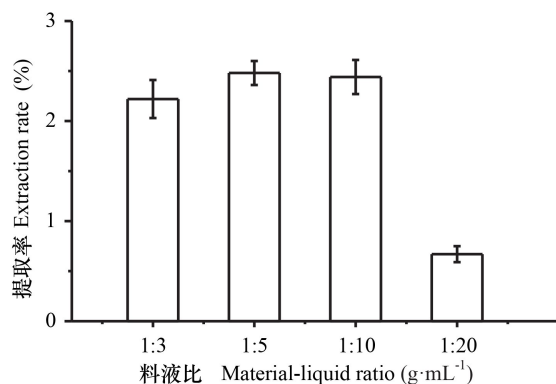


图 2 料液比对 EOMA 提取率的影响

Fig. 2 Effects of material-liquid ratio on extraction rate of EOMA

2.2.2 蒸馏时间对 EOMA 提取率的影响 结果如图 3 所示,随着蒸馏时间增加, EOMA 提取率逐渐上升, 60 min 时,提取率最高,为 2.91%, 随后提取

率下降。刚蒸馏时,原料中易挥发组分快速溶出,提取率不断增加,当蒸馏时间超过 60 min 时,精油有效成分挥发或分解,导致精油提取率下降(张学彬等,2019)。因此,最佳蒸馏时间为 60 min。

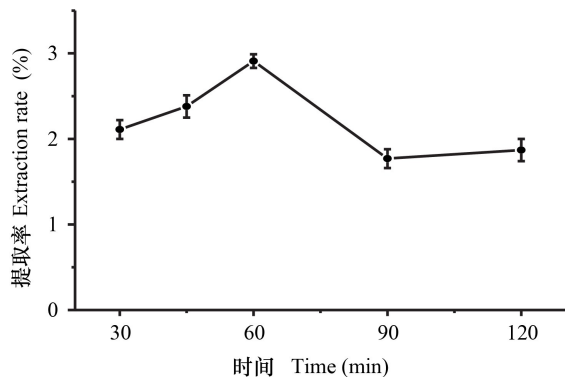


图3 蒸馏时间对 EOMA 提取率的影响

Fig. 3 Effects of distillation time on extraction rate of EOMA

2.2.3 DES 摩尔比对 EOMA 提取率的影响 结果如图 4 所示,随着 HBD 摩尔比增大,EOMA 提取率上升,当 HBA 和 HBD 摩尔比为 1:3 时提取率最高,为 2.91%,之后提取率下降,可能因为 HBD 摩尔比增大,与 HBA 结合产生的氢键增多,溶液体系稳定,所以利于精油提取。因此,最佳摩尔比为 1:3。

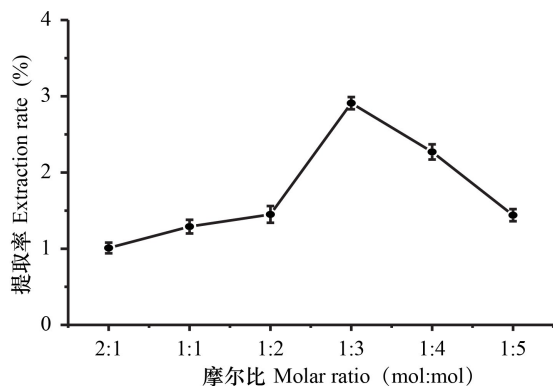


图4 DES 摩尔比对 EOMA 提取率的影响

Fig. 4 Effects of deep eutectic solvent (DES) molar ratio on extraction rate of EOMA

2.2.4 原料干燥时间对 EOMA 提取率的影响 结果如图 5 所示,随着原料干燥时间的增加,EOMA 提取率不断上升,当干燥时间为 8 h 时提取率最高,为 4.75%,干燥时间超过 8 h,EOMA 提取率下降。互叶白千层在前 8 h 干燥过程中散失的是水分,干燥时间增加,相同质量原料用量逐渐增大,EOMA 提取

率提高,之后由于长时间高温导致精油有效成分散失,导致提取率下降。因此,最佳干燥时间为 8 h。

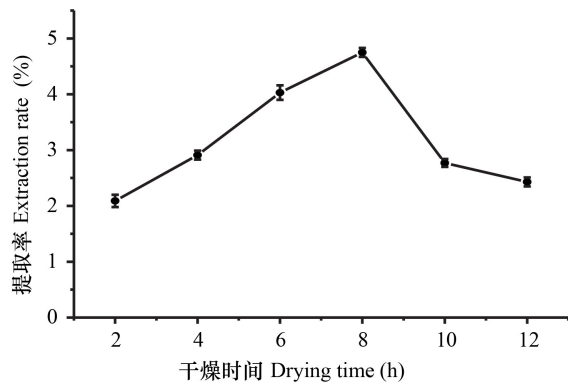


图5 原料干燥时间对 EOMA 提取率的影响

Fig. 5 Effects of raw material drying time on extraction rate of EOMA

2.2.5 DES 含水量对 EOMA 提取率的影响 结果如图 6 所示,EOMA 的提取率随着 DES 含水量的增大而增加,当含水量为 50 mol 时,提取率最高,为 4.75%。主要原因是含水量对 DES 体系的粘度影响很大,少量水可使 DES 粘度降低,从而提取率提高,当含水量超过 50 mol 后,体系粘度过低极性过大,可能导致其分子间氢键断裂,从而使超分子结构丢失,最终导致提取率下降(Dai et al., 2015)。

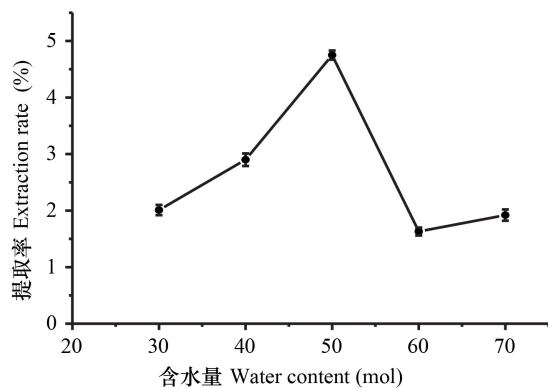


图6 DES 含水量对 EOMA 提取率的影响

Fig. 6 Effects of water content of DES on extraction rate of EOMA

2.3 响应面优化结果分析

2.3.1 响应面优化实验设计结果及方差分析 根据单因素实验结果,把摩尔比(A)、干燥时间(B)、含水量(C)作为优化参数,以提取率为相应值

(Y), 根据 BBD 设计原理进行响应面分析, 结果如表 3 所示。

表 3 响应面设计方案及结果

Table 3 Design and results of the response surface methodology (RSM) and Box-Behnken

试验号 Test number	因素 Factor			提取率 Extraction rate (%)
	A 摩尔比 Molar ratio (mol : mol)	B 干燥时间 Drying time (h)	C 含水量 Water content (mol)	
1	-1	0	-1	1.87
2	-1	0	1	2.25
3	1	1	0	2.30
4	0	1	-1	2.32
5	-1	-1	0	1.29
6	-1	1	0	2.05
7	0	0	0	3.91
8	0	1	1	2.99
9	1	0	1	2.38
10	1	-1	0	1.44
11	0	0	0	3.90
12	0	0	0	4.36
13	0	-1	-1	1.68
14	0	-1	1	2.09
15	1	0	-1	1.49

利用 Design-Expert 软件对实验数据进行分析, 得到二次多项回归方程:

$$R = 4.06 + 0.019A + 0.39B + 0.29C + 0.025AB + 0.13AC + 0.065BC - 1.28A^2 - 1.01B^2 - 0.78C^2$$

式中: R 为提取率; A 、 B 和 C 分别为对应摩尔比、干燥时间和含水量的编码。

由表 4 的数据可知: 模型的 P 值为 0.000 5, 模型极显著 ($P < 0.01$); 失拟项 P 值为 0.838 7, 结果不显著 ($P > 0.05$), 表明拟合状况良好。方程决定系数 $R^2 = 0.984 6$, CV 为 $8.18\% < 10\%$, 能真实地反映本模型, 可用此模型分析响应面的变化。信噪比 (Adeq Precision) 为 16.619, 大于 4, 表示模型合理。

由方差 F 值可知, 各因素对提取率影响为 B (干燥时间) $> C$ (含水量) $> A$ (摩尔比)。由表 4 可知, 因素 B 、 C 、 A^2 、 B^2 、 C^2 的影响极显著 ($P < 0.01$),

而 A 、 AB 、 AC 、 BC 的影响不显著, 该方程可适用。

2.3.2 响应面交互作用分析 各因素间交互作用得到响应面曲线图。图 7、图 8、图 9 分别显示 3 个结果分析, 并绘制响应面曲线图。

响应曲面坡度越大表示因素对响应值影响越大 (鹿浩志等, 2019)。分析图 7、图 8、图 9, 摩尔比和干燥时间响应曲面坡度大, 交互作用显著。摩尔比和含水量响应曲面坡度较大, 交互作用较为显著。含水量与干燥时间响应曲面较为平缓, 交互作用不够显著。这与方差分析结果保持一致。

为进一步优化结果, 根据 Design-Expert 软件得出在摩尔比、干燥时间和含水量交互作用影响下, 最优提取工艺: 摩尔比为 1 : 3.04, 干燥时间为 8.81 h, 含水量为 51.99 mol, 在此条件下模型预测的提取率为 4.13%, 结合实验室实际, 修正条件摩尔比为 1 : 3, 干燥时间为 9 h, 含水量为 52 mol, 提取率为 4.06%, 与预测值相差 0.07%, 实验值与预测值有较好的拟合性, 证实模型有效。

2.4 GC-MS 仪对 EOMA 成分分析

使用 GC-MS 对 DES-DE 与 F-SDE 提取的 EOMA 精油进行成分分析, 利用 NIST 质谱库—计算机联机检索, 确定各组分名称, 其分析结果见表 5。由表 5 可知, DES-DE 与 F-SDE 提取的精油主要成分大致相同, 但含量有差异。DES-DE 提取的 EOMA 中醇类 8 种、烯烃类 9 种、其他化合物 3 种, 其中特征组分松油烯-4-醇含量为 30.58%, 桉叶油醇为 0.12%, 主要成分为 γ -松油烯 (10.78%)、松油烯 (10.06%)、 α -蒎烯 (9.59%)、 α -松油醇 (7.94%)、香树烯 (4.52%), 其中烯烃类化合物相对含量最大, 为 45.31%。F-DES 提取的 EOMA 中, 醇类 6 种、烯烃类化合物 9 种、其他化合物 5 种, 其中特征组分松油烯-4-醇含量为 24.12%、桉叶油醇未检出, 主要成分为 γ -松油烯 (13.91%)、 α -松油醇 (13.36%)、松油烯 (5.47%), 其中烯烃类相对含量较少, 为 31.73%, 醇类相对含量较大, 为 47.03%。FT-SDE 提取的 EOMA 中, 醇类 5 种、烯烃类 6 种、其他化合物 4 种, 其中特征组分松油烯-4-醇为 1.97%、桉叶油醇未检出, 主要成分为双环橡胶 (20.06%)、 β -桉叶醇 (17.49%)、(+)-表古酚 (17.24%), 其中烯烃类相对含量较少, 为 24.95%, 醇类相对含量较大, 为 29.44%。D-SDE 提取的 EOMA 中, 醇类 4 种、烯烃类 7 种、其他化合物 2 种, 其中特征组分松油烯-4-醇为 4.67%、桉叶油醇

表4 提取率响应面拟合回归方程的方差分析结果

Table 4 Variance analysis results of extraction rate response surface fitting regression equation

方差来源 Source of variance	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	方差 Variance	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
回归模型 Regression model	12.56	9	1.40	35.55	0.000 5	**
A	0.002 813	1	0.002 813	0.072	0.799 6	
B	1.25	1	1.25	31.81	0.002 4	**
C	0.69	1	0.69	17.59	0.008 5	**
AB	0.002 5	1	0.002 5	0.064	0.810 8	
AC	0.065	1	0.065	1.66	0.254 4	
BC	0.017	1	0.017	0.43	0.540 6	
A ²	6.05	1	6.05	154.07	< 0.000 1	**
B ²	3.74	1	3.74	95.44	0.000 2	**
C ²	2.24	1	2.24	57.19	0.000 6	**
残差 Residual	0.20	5	0.039			
失拟项 Lack of fit	0.058	3	0.019	0.28	0.838 7	
纯误差 Pure error	0.14	2	0.069			
合计 Total	12.75	14				

注: * 表示差异显著, $P < 0.05$; ** 表示差异极显著, $P < 0.01$; $R^2 = 0.984 6$, $Adj R^2 = 0.956 9$, $Pre R^2 = 0.902 7$ 。

Note: * indicates significant differences, $P < 0.05$; ** indicates extremely significant differences, $P < 0.01$; $R^2 = 0.984 6$, $Adj R^2 = 0.956 9$, $Pre R^2 = 0.902 7$.

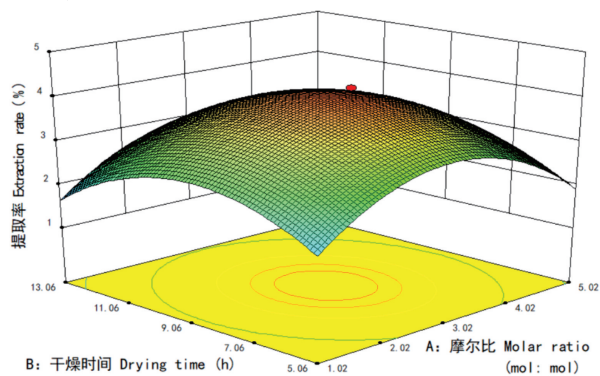


图7 摩尔比和干燥时间交互作用对提取率的影响
Fig. 7 Effects of interaction between molar ratio and drying time on extraction rate

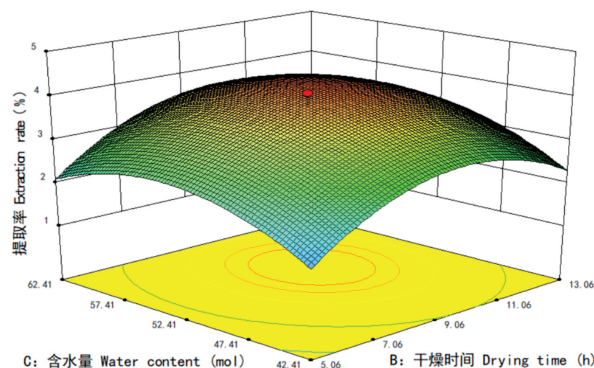


图9 含水量和干燥时间交互作用对提取率的影响
Fig. 9 Effects of interaction between water content and drying time on extraction rate

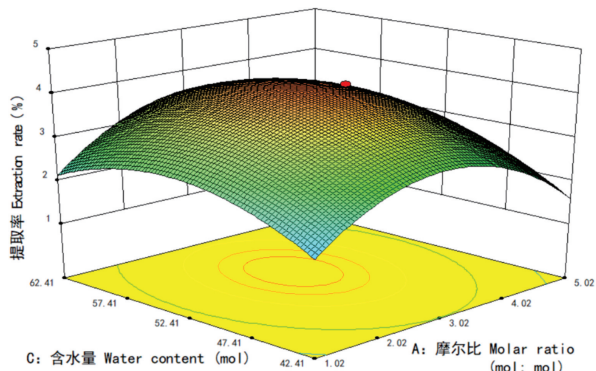


图8 摩尔比和含水量交互作用对提取率的影响
Fig. 8 Effects of interaction between molar ratio and water content on extraction rate

未检出, 主要成分为绿花白千层醇(30.83%)、 β -桉叶醇(18.41%)、香树烯(12.64%), 其中烯烴类相对含量较少, 为 29.61%, 醇类相对含量较大, 为 61.95%。通过 DES-DE 提取所得的特征组分松油烯-4-醇含量均高于其他工艺。因为 DES 的溶解度比水大, 并且能够破坏互叶白千层植物细胞表面上的纤维素结构, 所以在提取过程中能有效促进细胞内更多挥发性化合物释放到 DES 当中, 进而随着蒸馏进入到气相中, 再经冷却和分离得到更多的精油。而且, 经过单因素和响应面优化实验得到的 DES 具有合适的含水量和摩尔比, DES 体

表 5 互叶白千层主要成分比较

Table 5 Main components and comparison of *Melaleuca alternifolia*

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	化合物 Compound	CAS 号 CAS number	分子式 Molecular formula	相对含量 Relative content (%)			
					DES-DE	F-SDE	FT-SDE	D-SDE
1	5.490	α -蒎烯 α -Pinene	80-56-8	C ₁₀ H ₁₆	9.59	0.28	—	1.17
2	6.391	桉烯 Sabinene	3387-41-5	C ₁₀ H ₁₆	2.05	0.19	—	—
3	6.725	1,4-桉叶素 1,4-Cineole	470-67-7	C ₁₀ H ₁₈ O	—	4.35	0.6	6.04
4	6.800	松油烯 α -Terpinene	99-86-5	C ₁₀ H ₁₆	10.06	5.47	1.06	2.54
5	6.820	D-柠檬烯 D-limonene	5989-27-5	C ₁₀ H ₁₆	0.84	0.19	—	—
6	7.191	γ -松油烯 γ -Terpinene	99-85-4	C ₁₀ H ₁₆	10.78	13.91	1.66	5.36
7	9.007	异松油烯 Terpinolene	586-62-9	C ₁₀ H ₁₆	1.72	1.39	—	—
8	9.384	松油烯-4-醇 Terpinen-4-ol	562-74-3	C ₁₀ H ₁₈ O	30.58	24.12	1.97	4.67
9	9.619	4-异丙基苯甲醛 Cuminaldehyde	122-03-2	C ₁₀ H ₁₂ O	—	4.55	—	—
10	10.075	桉叶油醇 Eucalyptol	470-82-6	C ₁₀ H ₁₈ O	0.12	—	—	—
11	10.391	百里酚 Thymol	89-83-8	C ₁₀ H ₁₄ O	—	2.88	7.71	—
12	11.275	α -松油醇 α -Terpineol	98-55-5	C ₁₀ H ₁₈ O	7.94	13.36	0.81	—
13	11.476	环己烯 Cyclohexene	514-95-4	C ₁₀ H ₁₆	3.33	—	—	—
14	12.017	双环橡胶 Bicyclogermacrene	24703-35-3	C ₁₅ H ₂₄	2.96	3.99	20.06	—
15	12.452	β -长叶烯 β -Longipinene	41432-70-6	C ₁₅ H ₂₄	2.42	—	—	—
16	12.415	(-)-异喇叭烯 (-)-Isolatedene	95910-36-4	C ₁₅ H ₂₄	—	1.86	12.3	2.54
17	12.86	香树烯 Alloaromadendrene	25246-27-9	C ₁₅ H ₂₄	4.52	—	5.95	12.64
18	12.900	(+)-环苜蓿烯 (+)-Cyclosativene	22469-52-9	C ₁₅ H ₂₄	—	3.43	1.76	4.12
19	14.123	α -萜澄茄油烯 α -Cubebene	17699-14-8	C ₁₅ H ₂₄	—	5.01	2.22	1.24
20	14.758	蓝桉醇 (-)-Globulol	489-41-8	C ₁₅ H ₂₆ O	2.4	5.47	8.62	8.04
21	15.401	绿花白千层醇 [1aR-(1aalpha, 4beta, 4abeta, 7alpha, 7abeta, 7balpha)]-decahydro-1, 1, 4, 7- tetramethyl-1H-cycloprop [e] azulen-4-ol	552-02-3	C ₁₅ H ₂₆ O	0.28	0.37	0.55	30.83
22	17.425	叶绿醇 3, 7, 11, 5-Tetramethyl-2- hexadecen-1-ol	102608-53-7	C ₂₀ H ₄₀ O	1.16	—	—	—
23	18.110	13-十七炔-1-醇 13-Heptadecyn-1-ol	56554-77-9	C ₁₇ H ₃₂ O	2.52	—	—	—
24	18.577	愈创醇 (-)-Guaiol	489-86-1	C ₁₅ H ₂₆ O	—	2.23	—	—
25	19.122	β -桉叶醇 β -Eudesmol	473-15-4	C ₁₅ H ₂₆ O	—	1.48	17.49	18.41
26	19.618	(+)-表古酚 (+)-Epicubenol	19912-67-5	C ₁₅ H ₂₆ O	—	5.47	17.24	2.4
27	21.700	1-庚烷 1-Heptacosene	15306-27-1	C ₂₇ H ₅₄	0.84	—	—	—
28	22.610	硬脂酸 2-羟基-1-甲基丙酯 Stearic acid 2-hydroxy-1- methylpropyl ester	14251-39-9	C ₂₂ H ₄₄ O ₃	4.26	—	—	—
29	27.580	2-甲基-1-十六烷醇 1-Hexadecanol, 2-methyl-	2490-48-4	C ₁₇ H ₃₆ O	1.63	—	—	—

注: “—”表示未检出。

Note: “—” means not detected.

系的粘度和极性都处于互叶白千层精油提取的最佳条件,同时 DES 又与醇类和烯烃类等精油成分间形成了较强的分子间氢键,使其提取能力远高于传统的水溶剂。

3 讨论与结论

本研究采用低共熔溶剂,建立了一套干燥原

料低共熔溶剂蒸馏提取互叶白千层精油的工艺。基于单因素结合响应面优化实验得到最优提取条件:DES摩尔比1:3,原料干燥时间9 h,DES含水量52 mol,在此条件下EOMA的提取率为4.06%,比F-SDE、D-SDE和FT-SDE分别提高了383.33%、290.38%和497.06%,充分表明了响应面模型的有效性和DES-DE提取工艺的高效性。通过GC-MS对四种工艺提取得到的EOMA进行了分析,精油主要成分大致相同,但含量有差异,主要包含醇类和烯炔类物质。经过优化的DES体系粘度、极性以及对EOMA的溶解度都高于传统的水溶剂,因此通过DES-DE提取的EOMA提取率和特征组分含量都高于其他工艺,包括醇类8种、烯炔类9种、其他化合物3种;主要成分为 γ -松油烯、松油烯、 α -蒎烯、 α -松油醇和香树烯,其中烯炔类化合物相对含量最高,为45.31%;特征组分松油烯-4-醇含量为30.58%,桉叶油醇为0.12%。

目前,不同文献报道的互叶白千层精油提取率和组分差异较大。肖凯军等(2000)通过水蒸气蒸馏法提取,精油提取率为1%,比本研究DES-DE少3.06%;刘义军等(2019)对不同成熟度、干燥方法的互叶白千层精油进行了提取分析,证实嫩叶和老叶的精油提取率分别为4.52%和3.25%,通过GC-MS分析得到15种组分,其中嫩叶和老叶精油组分松油烯-4-醇含量分别为38.34%和38.06%,桉叶油醇分别为0.97%和1.36%,其提取率与DES-DE提取率相近,主要精油组分也一致,但组分种类比DES-DE少5种。贾芬等(1995)采用水蒸汽蒸馏提取结合GC/MS/DS分析,得到25种组分,比本研究多;石金娥等(2019)采用顶空-气相色谱/质谱法测定了互叶白千层精油,得到13种组分,比DES-DE少,松油烯-4-醇和桉叶油醇相对含量为34.9%和4.91%。由此可见,互叶白千层精油提取率和组分的差异与原料、提取方法、实验条件和检测设备都有关系。

互叶白千层资源广泛,已有研究表明其具有抗菌、抗病毒、抗肿瘤、抗氧化作用(宋吉明等,2019;石金娥等,2019;Capetti et al., 2020),而且在医药、日化、生物农药、食品等领域都有着广泛应用,有较大的开发价值。因此,深入分析其活性成分、活性作用及药理作用,对互叶白千层资源开发和利用都有重要意义。本研究为互叶白千层的

开发提供了数据支撑,同时为其他天然产物的绿色开发提供了技术支持。

参考文献:

- ABBOTT AP, CAPPER G, DAVIES DL, et al., 2003. Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures [J]. Chem Commun, 9(1): 70-71.
- BAJKACZ S, ADAMEK J, 2017. Evaluation of new natural deep eutectic solvents for the extraction of isoflavones from soy products [J]. Talanta, 168(6): 329-335.
- BAI YC, 2018. Highly efficient isolation of lignocellulose components by deep eutectic solvents and cellulose utilization [D]. Guangzhou: South China University of Technology: 15-42. [白有灿, 2018. 氯化胆碱类低共熔溶剂高效分离木质纤维素及纤维素组分的利用 [D]. 广州: 华南理工大学: 15-42.]
- CAPETTI F, SGORBINI B, CAGLIERO C, et al., 2020. *Melaleuca alternifolia* essential oil: evaluation of skin permeation and distribution from topical formulations with a solvent-free analytical method [J]. Planta Med, 86(6): 442-450.
- CHANDRAND, KHALID M, WALVEKAR R, et al., 2019. Deep eutectic solvents for extraction-desulphurization: a review [J]. J Mol Liq, 275: 312-322.
- CHEN R, LI DH, RUAN GF, et al., 2019. Green and efficient extraction of flavonoids and saponins from *Abrus cantoniensis* Hance by deep eutectic solvents [J]. Nat Prod Res Dev, 31(9): 1632-1640. [陈冉, 李德慧, 阮桂发, 等, 2019. 基于绿色低共熔溶剂法高效提取鸡骨草中的黄酮和皂苷 [J]. 天然产物研究与开发, 31(9): 1632-1640.]
- CRAWFORDDE, WRIGHT LA, JAMES SL, et al., 2016. Efficient continuous synthesis of high purity deep eutectic solvents by twin screw extrusion [J]. Chem Comm, 52(22): 4215-4218.
- DAI YT, WITKAMP GJ, VERPOORTE, et al., 2015. Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications [J]. Food Chem, 187: 14-19.
- DAI YT, ROZEMA E, VERPOORTE R, et al., 2016. Application of natural deep eutectic solvents to the extraction of anthocyanins from *Catharanthus roseus* with high extractability and stability replacing conventional organic solvents [J]. J Chromatogr A, 1434: 50-56.
- DAI YT, VERPOORTE R, CHOI YH, 2014. Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*) [J]. Food Chem, 159: 116-121.
- DUAN YB, ZHU XZ, HU XH, et al., 2020. Comparison of essential oil components of needles between *Abies ziyuanensis* and *A. yuanbaoshanensis* [J]. Guihaia, 40(5): 663-

672. [段云博, 朱晓珍, 胡兴华, 等, 2020. 资源冷杉与元宝山冷杉针叶精油成分的比较 [J]. 广西植物, 40(5): 663-672.]
- FERNANDEZMD, BOITEUX J, ESPINO M, et al., 2018. Natural deep eutectic solvents-mediated extractions: the way forward for sustainable analytical developments [J]. *Analytical Chimica Acta*, 1038: 1-10.
- GONZALEZ-MAS MC, RAMBLA JL, LOPEZ-GRESA, et al., 2019. Volatile compounds in citrus essential oils: a comprehensive review [J]. *Front Plant Sci*, 10: 1-18.
- HUANG XH, LIU LC, RUAN YH, et al., 2020. Optimization of deep eutectic solvents extraction of polysaccharides from oolong tea by response surface methodology [J]. *Food Res Dev*, 41(11): 96-103. [黄秀红, 刘丽辰, 阮怿航, 等, 2020. 响应面优化低共熔溶剂提取乌龙茶多糖的研究 [J]. 食品研究与开发, 41(11): 96-103.]
- JIA F, HUANG YX, DING SM, et al., 1995. A study on the chemical composition of the aromatic oil of *Melaleuca alternifolia* [J]. *Guihaia*, 15(4): 368-370. [贾芬, 黄宇翔, 丁舒敏, 等, 1995. 互叶白千层油化学成分的研究 [J]. 广西植物, 15(4): 368-370.]
- KONG F, LI L, LIU YJ, 2020. Ultrasonic-assisted deep eutectic solvents extraction of total flavonoids from apple leaves [J]. *Sci Technol Food Ind*, 41(14): 134-139. [孔方, 李莉, 刘言娟, 2020. 超声辅助低共熔溶剂提取苹果叶中的总黄酮 [J]. 食品工业科技, 41(14): 134-139.]
- KONG QJ, AN PP, XU Z, et al., 2020. New insights into the alleviating role of melaleuca alternifolia oil on metabolites pathway disorder of grapes caused by *Aspergillus niger*, verified by corresponding key genes expression [J]. *Food Chem*, 327: 127083.
- LI LF, YU LP, LIANG JK, et al., 2020. Research progress on extraction of plant active components by deep eutectic solvents [J]. *Cereals Oils*, 33(3): 7-10. [李利芬, 余丽萍, 梁坚坤, 等, 2020. 低共熔溶剂提取植物活性成分的研究进展 [J]. 粮食与油脂, 33(3): 7-10.]
- LIU Y, FRIESEN JB, MCALPINE JB, 2018. Natural deep eutectic solvents: properties, applications, and perspectives [J]. *J Nat Prod*, 81(3): 679-690.
- LIU YJ, YUAN Y, LIU YY, et al., 2019. Effect of different factors on chemical composition of *Melaleuca ahemifolia* essential oil [J]. *Sci Technol Food Ind*, 40(1): 1-5. [刘义军, 袁源, 刘洋洋, 等, 2019. 不同因素对互叶白千层精油化学组分的影响 [J]. 食品工业科技, 40(1): 1-5.]
- LU HZ, LIU MX, TIAN YY, et al., 2019. Extraction and GC-MS analysis of ginger essential oil [J]. *Sci Technol Food Ind*, 40(14): 208-21. [鹿浩志, 刘敏轩, 田亚亚, 等, 2019. 生姜精油的提取及 GC-MS 分析 [J]. 食品工业科技, 40(14): 208-213.]
- MOKHTARIKHAHG, EBADI MT, AYYARI M, 2020. Qualitative changes of spearmint essential oil as affected by drying methods [J]. *Ind Crops Prod*, 153: 112492.
- SHI JE, YANG B, WANG Y, et al., 2019. Determination of volatile components in tea tree oil of *Melaleuca ahemifolia* by headspace-gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Food Safe Qual Detec Technol*, 10(6): 1530-1533. [石金娥, 杨波, 王莹, 等, 2019. 顶空-气相色谱/质谱法测定互叶白千层茶树精油中的挥发性成分 [J]. 食品安全质量检测学报, 10(6): 1530-1533.]
- SONG JM, WU JM, ZHU ZH, et al., 2019. Advances in studies on essential oils of *Melaleuca alternifolia* [J]. *J Anhui Univ (Nat Sci Ed)*, 43(6): 85-91. [宋吉明, 吴江敏, 朱泽华, 等, 2019. 互叶白千层精油的研究进展 [J]. 安徽大学学报(自然科学版), 43(6): 85-91.]
- WANG HQ, LIU X, WU YX, et al., 2018. The study on essential oil extraction technology and component analysis of citrus peel [J]. *Food Res Dev*, 39(21): 92-99. [王会全, 刘鑫, 吴英祥, 等, 2018. 柑橘果皮精油提取工艺及成分分析研究 [J]. 食品研究与开发, 39(21): 92-99.]
- XIAO KJ, LI L, GUO SY, et al., 2000. Extraction and application of *Melaleuca alterniflora* oils [J]. *Food Sci Technol*, (1): 12-13. [肖凯军, 李琳, 郭祀远, 等, 2000. 互叶白千层油的提取和应用 [J]. 食品科技, (1): 12-13.]
- ZHANG L, YU W, ZHOU XJ, et al., 2010. Study on the extraction technics of kumquat essential oil by steam distillation [J]. *Jiangxi Food Ind*, (3): 16-19. [张蕾, 余雯, 周晓晴, 等, 2010. 水蒸馏法提取金桔精油的工艺研究 [J]. 江西食品工业, 2010(3): 16-19.]
- ZHANG XB, GUO LP, TIAN ZC, et al., 2019. Optimization of ultrasonic-assisted steam distillation extraction of clove oil by response flour method [J]. *Chin Food Add*, 30(9): 117-124. [张学彬, 郭临佩, 田志聪, 等, 2019. 响应面法优化超声波辅助水蒸气蒸馏提取丁香精油研究 [J]. 中国食品添加剂, 30(9): 117-124.]

(责任编辑 李莉)