

Nexera UC Offline-SFE 萃取香草兰豆荚中香草醛等化合物

SFE-001

摘要：本实验使用岛津 Nexera UC Offline-SFE 和 GCMS-QP2020 系统建立了香草兰中香草醛、对羟基苯甲醛、香草酸、对羟基苯甲酸四种物质萃取及分析方法。本文采用 Nexera UC Offline-SFE 系统萃取，超临界二氧化碳流体作为萃取溶剂进行超临界流体萃取并收集萃取液，GCMS-QP2020 进样定量分析。本文优化了改性剂比例、萃取温度、萃取压力等条件，并在最佳条件下考察了萃取效率和萃取通量。该方法具有萃取速度快、萃取效率高、操作简便等特点。

关键词：Nexera UC Offline-SFE GCMS 香草兰 香草醛

香草兰豆荚通过杀青、发酵、阴干、后熟等工艺加工后的产品香气独特，留香时间长，具有用途广、经济价值高的特点，被广泛应用于高档食品、化妆品、饮料、医药等领域。香草醛是香草兰豆荚中含量最高的香气物质，对整体香气有高达 1/3 的贡献率。此外，有资料表明香草酸、对羟基苯甲醛和对羟基苯甲酸 3 种物质的含量也是衡量整体香气品质的重要指标。香草兰豆荚传统提取方法为乙醇溶剂法，主要有超声法和浸泡法，该方

法不仅需要用到大量的溶剂，且耗时较长。

本文采用 Nexera UC Offline-SFE 系统萃取，超临界二氧化碳流体作为萃取溶剂进行超临界流体萃取并收集萃取液，GCMS-QP2020 进样定量分析。本文优化了改性剂比例、萃取温度、萃取压力等条件，并在最佳条件下考察了萃取效率和萃取通量。该萃取方法具有萃取效率高、重复性好、节省溶剂和操作时间、自动化程度高等特点。

实验部分

1.1 仪器

具体配置为：SFE-30A(超临界流体萃取单元)，LC-30AD_{SF}(CO₂ 输液泵)，LC-20AD_{XR}(输液泵，含 LPGU 低压梯度比例阀)，SFC-30A×2(背压调节单元)，CBM-20A(系统控制器)，LabSolutions Ver5.82(色谱工作站)，GCMS-QP2020(气相色谱串联质谱仪)。



图1 萃取和检测系统

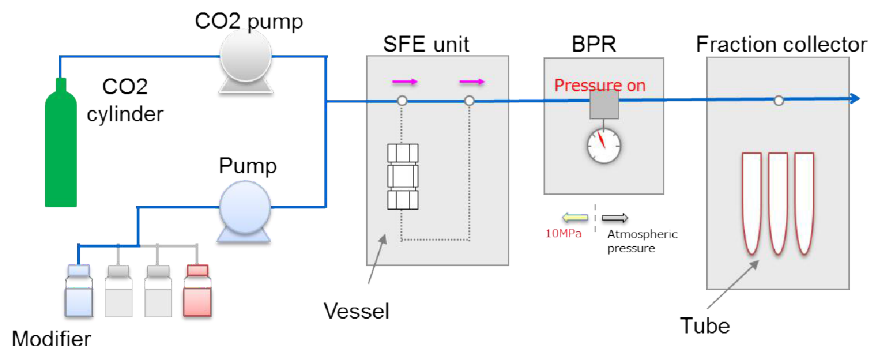


图2 Nexera UC Offline SFE-SFC系统及流路示意图

1.2 仪器条件

SFE 萃取条件:

萃取剂: A-scCO₂; B-EtOH

萃取流速: 5 mL/min

萃取剂比例: A/B=90/10(v/v)

静态萃取: 3 min

动态萃取: 3 min

萃取温度: 50°C

萃取背压: 20 MPa

萃取次数: (静态萃取 + 动态萃取) × 2

GCMS 条件:

色谱柱: Rtx-1701, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm

柱温程序: 60°C (1 min) _ 30°C /min_ 250°C (2 min)

进样口温度: 240°C

载气: 氦气

载气控制方式: 线速度

恒线速度: 52.5 cm/sec

进样方式: 分流进样

分流比: 30:1

进样量: 0.4 μL

离子化方式: EI

离子源温度: 200°C

接口温度: 240°C

采集方式: Scan, 选择离子见表 1

质量数范围: m/z 45~500 amu

1.3 实验方法

称取一定量的香草兰豆荚放在 5 mL 萃取罐中, 按照软件设定的程序进行萃取, 并用适量乙醇吸收萃取流出物, 定溶到 18 mL 后, 取 1 mL 溶液由 GC-MS 分析定量, 测定香草醛含量时需稀释 10 倍后分析, 并计算每种物质的萃取量。

结果讨论

2.1 标准品色谱图

标准品粉末用乙醇溶解并稀释, 由 GCMS-QP2020 进样分析, 得到色谱图。

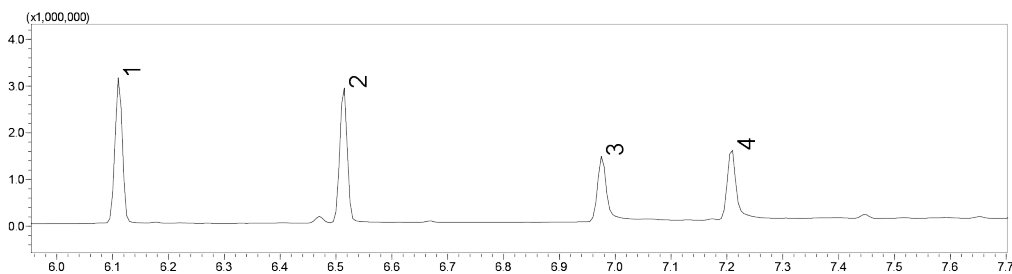


图3 50 mg/L标准品色谱图(1香草醛, 2对羟基苯甲醛, 3香草酸, 4对羟基苯甲酸)

表1 各化合物名称、保留时间及选择离子

No.	化合物名称	保留时间 (min)	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)
1	香草醛	6.115	152	151、81
2	对羟基苯甲醛	6.515	121	122、93
3	香草酸	6.970	168	153、97
4	对羟基苯甲酸	7.205	121	138、93

2.2 标准曲线

分别配制浓度为 5.0、10、20、50 μg/mL 的香草醛、香草酸、对羟基苯甲醛、对羟基苯甲酸混标溶液。以浓度为横坐标, 峰面积为纵坐标, 制作标准曲线, 所得标准曲线见图 4, 回归方程和相关系数见表 2。

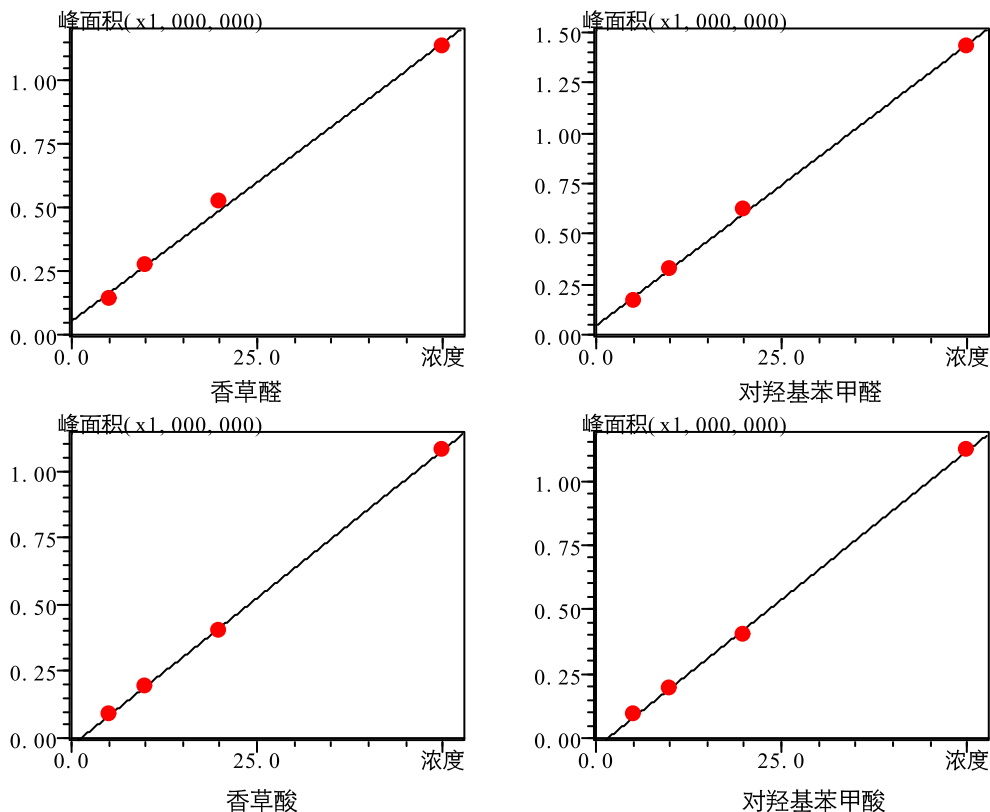


图4 四种化合物标准曲线

表2 四种化合物线性范围、线性曲线方程及相关系数

No.	化合物名称	线性范围($\mu\text{g}/\text{mL}$)	曲线方程	相关系数
1	香草醛	5~50	$Y = 21921.27X + 53500.97$	0.9987
2	对羟基苯甲醛	5~50	$Y = 27933.12X + 45687.29$	0.9996
3	香草酸	5~50	$Y = 22164.53X - 28416.7$	0.9998
4	对羟基苯甲酸	5~50	$Y = 23062.84X - 37319.6$	0.9993

萃取条件优化

3.1 超临界萃取优化

准确称取 1.00 g 样品装入到萃取罐中，放入 SFE-30A 超临界流体萃取单元中进行萃取。液态 CO_2 和改性剂乙醇经由输液泵输入 SFE 单元的萃取罐中，在设定温度和压力下形成超临界流体，改性剂的加入是为了调整超临界流体的溶解性、极性性质以改善萃取效果。在稳定的温度和压力保持超临界流体充满萃取罐 3 min 进行静态萃取，再通过 SFE 单元流路切换阀切换，萃取罐中的萃取物在 3 min 内由流经萃取罐的超临界流体洗脱，完成动态萃取。

3.1.1 改性剂比例

考察超临界流体中改性剂加入的比例对四种物质萃取效果的影响。为了保证分析物的萃取量，选择静态萃取和动态萃取交替进行 4 次，分别考察改性剂比例为 0%、5%、10%、15% 条件下四种分析物的萃取量 (表 3)。

表3 不同改性剂比例下四种分析物的萃取量 (mg/g)

NO.	名称	改性剂比例			
		0%	5%	10%	15%
1	香草醛	6.599	6.623	6.664	6.760
2	对羟基苯甲醛	0.374	0.579	0.582	0.585
3	香草酸	0.338	0.982	1.051	1.084
4	对羟基苯甲酸	0.010	0.278	0.363	0.397

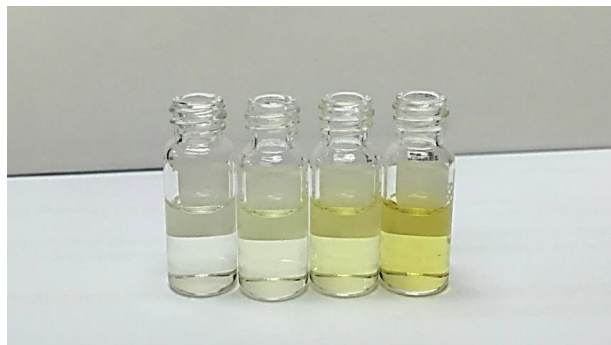


图5 不同比例乙醇萃取液(左→右乙醇比例依次为0%、5%、10%、15%)

随着改进剂比例的加大,极性比较大的化合物的萃取量逐渐提高,但同时也会提取出更多的色素等其他成分(图5)。因此综合考虑,选择改进剂比例为10%。

3.1.2 萃取温度

温度和压力的改变影响超临界流体的密度和溶解性。首先以萃取压力20 MPa、静态动态萃取循环4次为基础条件优化萃取温度,四种目标物萃取量见表4。随着温度增加,四种物质的萃取量略有升高,因此选择50℃作为萃取温度。

表4 不同萃取温度四种分析物的萃取量 (mg/g)

No.	名称	温度		
		40℃	45℃	50℃
1	香草醛	6.413	6.850	6.914
2	对羟基苯甲醛	0.659	0.667	0.694
3	香草酸	1.189	1.173	1.289
4	对羟基苯甲酸	0.421	0.443	0.444

3.1.3 萃取压力

以萃取温度50℃、静态动态萃取循环4次为基础条件优化萃取压力,四种目标物萃取量见表5。随着压力升高,四种物质的提取效率略有升高,因此选择20 MPa作为萃取压力。

表5 不同萃取压力下四种分析物的萃取量 (mg/g)

NO.	名称	压力	
		15 MPa	20 MPa
1	香草醛	6.658	6.914
2	对羟基苯甲醛	0.651	0.694
3	香草酸	1.160	1.289
4	对羟基苯甲酸	0.412	0.444

3.1.4 静动态循环萃取次数

增大压力可在一定程度上增大超临界流体的密度，升高温度则会减小超临界流体密度并减小极性，压力和温度共同变化的结果增大了分析物在超临界流体中的溶解度。在萃取温度 50℃、压力 20 MPa 条件下考察静态和动态萃取循环次数。由表 6 可知，增加萃取循环次数能够有效保证极性化合物的萃取效果，但同时也会导致更多的色素被萃取出来。因此，考虑综合萃取量、萃取时间及色素等杂质的情况，选择静态动态萃取次数为 2 次。

表6 不同静态动态萃取循环次数四种分析物的萃取量 (mg/g)

NO.	名称	循环次数			
		1	2	3	4
1	香草醛	5.612	6.593	6.542	6.914
2	对羟基苯甲醛	0.545	0.693	0.730	0.694
3	香草酸	0.741	1.055	1.285	1.289
4	对羟基苯甲酸	0.225	0.309	0.444	0.444

3.2 萃取效率

考察样品的单次萃取效率。对同一个样品连续萃取三次，将三次萃取得到的分析物色谱图进行比较，如图 6 所示。结果表明大部分化合物均能够一次性被萃取出来。

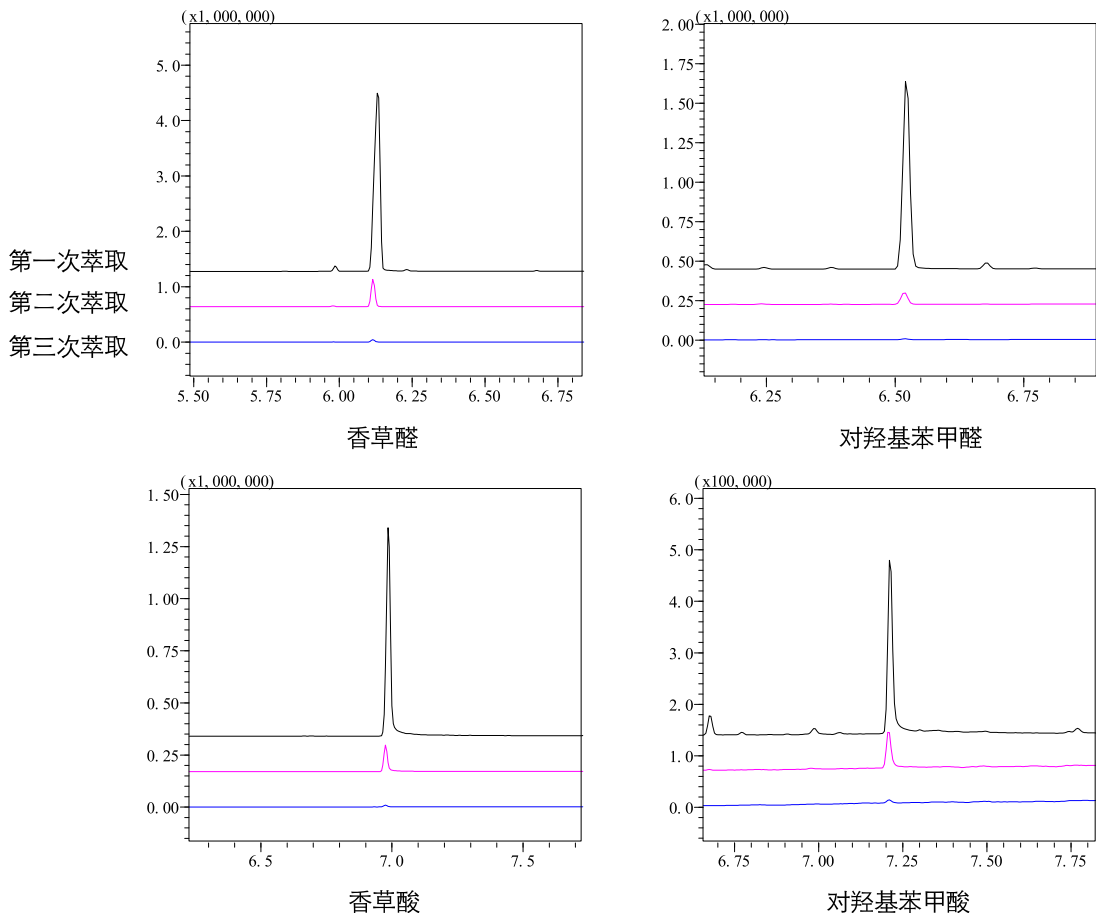


图6 连续三次萃取色谱图比较

3.3 稳定性

平行称取两份 1.00 g 样品, 放在萃取罐中进行萃取, 并计算每次的萃取量。方法萃取效果稳定, 重复性好 (如表 7)。

表7 萃取重复性

NO.	名称	平行 1 (mg/g)	平行 2 (mg/g)
1	香草醛	6.698	6.593
2	对羟基苯甲醛	0.594	0.654
3	香草酸	0.982	0.996
4	对羟基苯甲酸	0.306	0.292

3.4 萃取通量

为了能够增加萃取通量, 根据萃取罐的体积尽量多的加入香草兰豆荚粉末, 同时注意不要填压过紧, 确保超临界流体在样品间流动顺畅。最终加入 2.00 g 香草兰豆荚粉末, 采取相同的萃取方法, 萃取量见表 8。萃取量与 1.00 g 香草兰豆荚粉末萃取量相当。因此, 该方法可以扩展到 2.00 g 样品萃取。



图7 1.00 g和2.00 g样品装填在萃取罐中

表8 取样量2.00 g时萃取量

NO.	名称	萃取量 (mg/g)
1	香草醛	6.829
2	对羟基苯甲醛	0.624
3	香草酸	1.099
4	对羟基苯甲酸	0.339

结论

利用岛津 Nexera UC Offline-SFE 系统和 GCMS-QP2020 气质联用仪, 萃取和检测香草兰豆荚中香草醛、对羟基苯甲醛、香草酸、对羟基苯甲酸四种物质。采用 Nexera UC Offline-SFE 系统萃取, 超临界二氧化碳流体作为萃取溶剂进行超临界流体萃取并收集萃取液, GCMS-QP2020 进样定量分析。本文优化了改性剂比例、萃取温度、萃取压力等条件, 并在最佳条件下考察了萃取效率和萃取通量。该方法萃取速度快、萃取效率高、操作简便、可实现 2.00 g 样品的快速萃取。