第64卷第2期
2024年3月

大连理工大学学报
Journal of Dalian University of Technology

Vol. 64, No. 2
Mar. 2024

文章编号：1000-8608(2024)02-0111-07

基于微波/超声两步法的咖啡渣中油脂和酚类提取

葛　璇，马德笑，李爱民*

（大连理工大学 环境学院，辽宁 大连　116024）

摘要： 富含油脂和酚类的咖啡渣通过生物发酵产生的有毒有害物质将会危害生态环境和人类健康，同时油脂和酚类也是能源、化工等领域的重要原料. 因此，提出采用微波/超声两步法提取咖啡渣中咖啡油和酚类，对咖啡油和酚类的提取率均达到90%. 通过GC-MS鉴定咖啡油中脂肪酸，表明咖啡油在得到较好保留的同时富含不饱和脂肪酸. 通过HPLC-MS鉴定提取的酚类，其主要组分为绿原酸、没食子酸，并且得到了较为完整的保留. 研究同时对酚类进行体外抗氧化性分析，结果表明其抗氧化性优于目前广泛应用的原料. 因此，研究为实现咖啡渣中咖啡油和酚类的高效提取及高生物活性保留提供了参考依据.

关键词： 两步法；咖啡渣；酚类；咖啡油；抗氧化性

中图分类号： X712　　**文献标识码：** A　　**doi：** 10.7511/dllgxb202402001

0　引　言

咖啡渣(SCG)是咖啡经冲泡和过滤后产生的固体残渣，富含的油脂和酚类在能源、化工、食品等领域具有重要的应用价值. 例如，咖啡油中脂肪酸可用于生产生物柴油，可作为燃料行业的补充资源[1]；咖啡油转化为可生物降解的聚3-羟基丁酸酯，为解决白色污染提供了可能性[2]；咖啡渣中酚类具有抗氧化活性，可作为人体所需酚类的食物来源. 然而，当咖啡渣被任意堆放或简易填埋时，富含的油脂、酚类通过生物发酵等作用产生的有毒有害物质将会危害环境和人类健康. 因此有必要进行咖啡渣的开发利用研究.

研究者对咖啡渣中油脂和酚类的提取开展了广泛研究. 传统提取技术(浸渍法、索氏提取法)提取时间长、提取率较低的缺点阻碍了其进一步应用[3-4]. 新兴提取技术(超临界 CO_2 提取、亚临界水提取、微波提取、超声波提取)[5-6]是通过改变溶剂极性、压力、温度等破坏咖啡渣细胞壁，增强传质，促进物质提取. 然而，超临界 CO_2 提取和亚临界水提取所需的高温高压条件带来的安全问题限制了其在未来工业上的应用. 相比之下，微波和超声波提取具有提取率高、提取时间短、环境友好等优点，备受研究者青睐. 此外，目前研究多是针对咖啡渣单一物质提取，较少考虑多种物质的提取，不利于目前广泛认同的生物精炼工厂的应用(多产品生物炼制，几乎不产生废物). 因此，本研究提出微波/超声两步法提取咖啡渣中咖啡油和酚类. 研究首先对咖啡渣溶液进行微波反应，然后加入有机溶剂进行超声处理，得到三相体系(上层为含咖啡油的有机相，中层为固体残留物，下层为含酚类的水相). 为获得咖啡油和酚类最佳提取率，优化两步法工艺参数(微波反应提取温度和提取时间、超声反应提取时间、固液比、乙醇体积分数和正己烷体积分数). 另外，对咖啡油中脂肪酸、酚类种类和含量、酚类体外抗氧化性开展研究，探究微波/超声两步法提取咖啡油和酚类机理，为将来利用咖啡渣生产油脂和酚类提供思路和参考. 此外，后续将对本研究使用后的溶剂进行相关咖啡渣提取实验，以探究溶剂重复利用价值.

收稿日期： 2023-02-10；　**修回日期：** 2023-12-28.
基金项目： 国家科技重大专项资助项目(2018ZX07601-004)；“兴辽英才计划”高水平创业团队基金资助项目(XLYC200812).
作者简介： 葛　璇(1999—)，男，硕士生，E-mail：gxeverystep@mail.dlut.edu.cn；李爱民*(1968—)，男，教授，博士生导师，E-mail：leeam@dlut.edu.cn.

1 原料和方法

1.1 原 料

咖啡渣取自中国江苏省一家咖啡店，在 60 ℃下干燥 8 h，用研磨机研磨并过 60 目筛后备用.

1.2 微波/超声两步法

微波处理：将咖啡渣和水按照 1 g∶20 mL 的比例配制成溶液进行微波反应(MDS-6G，Sineo). 为获得最佳提取率，优化微波反应提取温度(80～180 ℃)和提取时间(10～50 min). 微波反应后，溶液经离心(6 000 r/min，10 min)和微滤(0.45 μm)得到滤液.

超声处理：微波反应产生的滤液与溶剂乙醇、正己烷混合进行超声反应(VCX800，Sonics，美国). 为获得咖啡油和酚类的最佳提取率，优化超声反应提取时间(5～30 min)、固液比(1 g∶10 mL～1 g∶50 mL)、乙醇体积分数(0%～70%)、正己烷体积分数(10%～50%). 超声处理后，溶液经离心(6 000 r/min，10 min)得到三相体系(图 1). 取上层有机相进行旋蒸(50 ℃，0.8 MPa)后获得咖啡油. 取下层的水相通过微滤(0.45 μm)获得含有酚类的滤液. 此外，整体流程如图 2 所示.

图 1 微波/超声两步法所得三相体系

Fig. 1 Three-phase system by microwave/ultrasonication two-step method

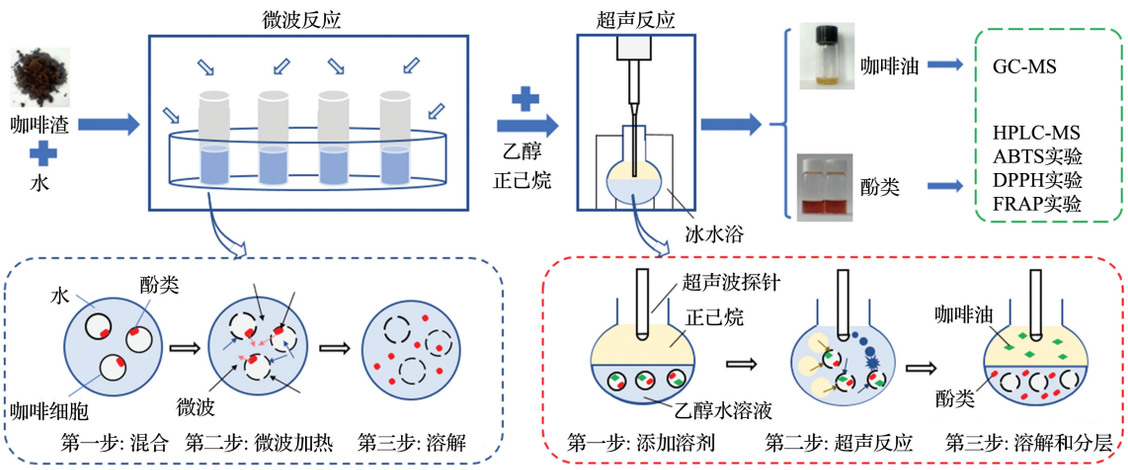


图 2 整体流程图

Fig. 2 Overall flow chart

1.3 原料表征

采用 Ac 2-41(AOCS)[7] 和 Am 2-93(AOCS)[8] 分别测定咖啡渣中水分和咖啡油含量；采用范氏洗涤纤维分析法测定咖啡渣中木质纤维素含量.

通过多次提取法提取咖啡渣中酚类. 咖啡渣与甲醇水溶液(V(甲醇)∶V(水)=70∶30)按 1 g∶40 mL 的比例混合并搅拌 2 h. 通过离心(6 000 r/min，10 min)和微滤(0.45 μm)获得滤液. 滤渣继续与甲醇水溶液混合 2 h，离心和过滤后得到滤液. 如上所述，连续提取滤渣中酚类，直至在滤液中没有检测到酚类.

参照 Pinto 等方法[9] 测定咖啡渣中酚类质量分数. 将上清液、Folin-Ciocalteu 试剂和 Na_2CO_3 溶液按等比例混合，避光放置 1 h 后测定其在 765 nm 波长下的吸光度. 以没食子酸(GAE)为标准，绘制校准曲线(线性范围：5～30 mg/L，R^2=0.999)，结果以 mg(GAE)/g(SCG)表示.

1.4 咖啡油和酚类提取率计算

对微波/超声两步法获得的咖啡油进行称重并计算其提取率. 计算方法如下：

$$咖啡油提取率\eta_o=\frac{提取的咖啡油质量}{咖啡渣内咖啡油质量}\times 100\%$$

取下层水相按 Pinto 等方法[9]测定酚类提取率. 计算方法如下：

$$酚类提取率\eta_p=\frac{提取的酚类质量}{咖啡渣内酚类质量}\times 100\%$$

1.5　脂肪酸组成分析

参照 Gao 等方法[10]测定咖啡油中脂肪酸的组分.

1.6　酚类组成与抗氧化性分析

1.6.1　酚类组成分析　通过 HPLC-MS 测定提取酚类的组分. 系统温度保持在 35 ℃，流动相由 0.1%甲酸水溶液(溶剂 A)和甲醇(溶剂 B)组成. N_2 作为雾化气体(276 kPa，9.0 L/min)，雾化器温度为 350 ℃，毛细管电压维持在 4 000 V，在 m/z 为 100～1 000 的质谱扫描范围内测量酚类组分.

1.6.2　酚类抗氧化性分析　参照 Pinto 等方法[9]评估酚类 ABTS·$^+$清除活性. 使用已知浓度的抗坏血酸(AAE)溶液作为标准品绘制校准曲线(线性范围：0.5～4 μg/mL，R^2=0.999 5). 结果以 mg(AAE)/g(SCG)表示.

通过 DPPH 实验测定酚类清除 DPPH·的能力. 将 5 mg DPPH 与 24 mL 无水乙醇混合并微滤(0.45 μm). 随后，将溶液稀释至 517 nm 处吸光度为 0.8～1.0. 最后，记录使稀释后DPPH乙醇溶液变色的样品溶液的体积. 根据体积设置合适梯度，并记录吸光度的加标体积. 最终表示为 DPPH·清除率.

通过 FRAP 实验评估酚类的总抗氧化能力. 将 0.35 mL 的提取物与 2.65 mL FRAP 试剂混合(37 ℃，10 min)，然后确定其在 595 nm 波长下的吸光度. 使用已知浓度的 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 溶液(FSE)作为标准品绘制校准曲线(线性范围：2.78～11.12 mg/L，R^2 = 0.999 3). 结果以 mg(FSE)/g(SCG)表示.

2　结果和讨论

2.1　原料表征分析

干燥后咖啡渣分析结果见表 1，各组分质量分数与 Kovalcik 等所得咖啡渣组分质量分数范围一致[11]. 结果表明咖啡渣富含咖啡油和酚类，为后续提取提供了条件.

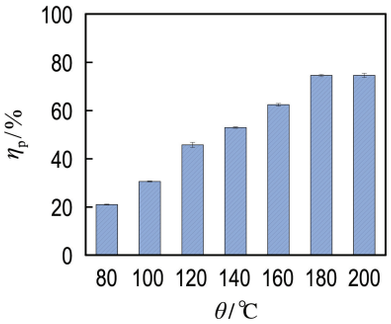
表 1　原料表征

Tab.1　Raw material characterization

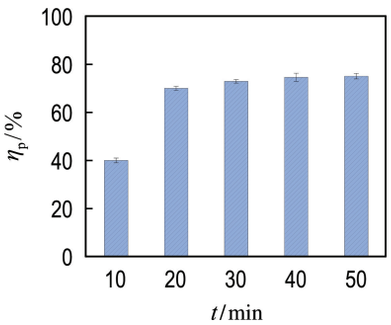
组分	质量分数/%
水	6.39
咖啡油	15.10
酚类	2.40
半纤维素	31.40
纤维素	11.99
木质素	22.70

2.2　微波反应提取温度和提取时间对酚类和咖啡油提取率的影响

本研究探究微波反应提取温度和提取时间对酚类提取率的影响. 微波反应提取温度、提取时间的范围选择参考预实验确定，预实验微波反应提取温度为 40、80、120、160 和 200 ℃，提取时间为 5、10、20、35、50 min，结果表明微波反应提取温度与提取时间分别低于 80 ℃和 10 min 时，酚类提取率小于 20%和 40%，提取率较低，但随温度和时间增加快速提高，因此选择相关范围开展研究(图 3(a)). 当微波反应提取温度从 80 ℃升高到 180 ℃时，酚类的提取率从 20.95%提高至 74.56%. 表明微波辐射促进溶液局部快速升温，破坏咖啡渣细胞壁，促进酚类释放[12]. 同时，温度提高也有助于溶剂黏度和表面张力降低[13]，减小传质阻力，促进溶剂流入和酚类流出. 研究同时考察微波反应提取时间对酚类提取率的影响. 如图 3(b)所示，当微波反应提取时间从 10 min 增加到 20 min 时，酚类提取率从 39.95%提高到 75.01%. 咖啡渣表面酚类的溶解以及对流传质和溶质扩散作用[14-16]，导致酚类提取率大幅升高. 然而，在微波反应 20 min 后，酚类提取率没有太大变化. 由于未提取的酚类需克服与细胞的结合，并且溶液酚类浓度较高，因此传质阻力增大. 此外，微波条件下咖啡油的最高提取率仅为 31.53%. 因微波难以作用于非极性物质，同时由于相似相溶原理，溶剂水的极性高于咖啡油的极性导致提取效果较差.



(a) 微波反应提取温度



(b) 微波反应提取时间

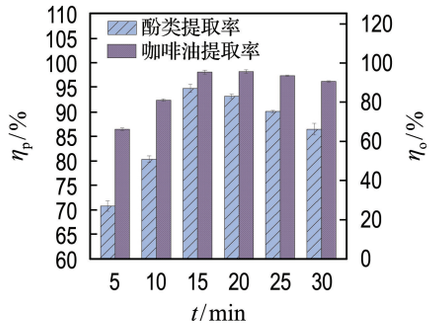
图 3 不同参数对两步法提取酚类的影响

Fig. 3 Effects of different parameters on the extraction of phenolics using two-step method

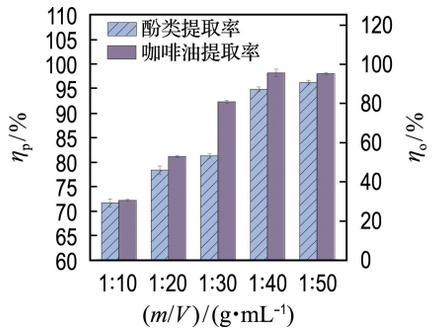
2.3 超声反应提取时间和固液比对酚类和咖啡油提取率的影响

如图 4(a)所示,当超声反应提取时间从 5 min增加到 15 min,酚类提取率从 70.80%提高到 93.21%,咖啡油提取率从 66.17%提高到 95.37%.由于超声诱导的微泡尺寸增大,在咖啡渣周围内爆导致细胞壁破裂,促进传质.然而,在超声反应 15 min 后,提取率随时间增加而略微减小.表明超声引起的空化作用导致强氧化剂·OH的产生,将不饱和脂肪酸和抗氧化性酚类氧化[17].

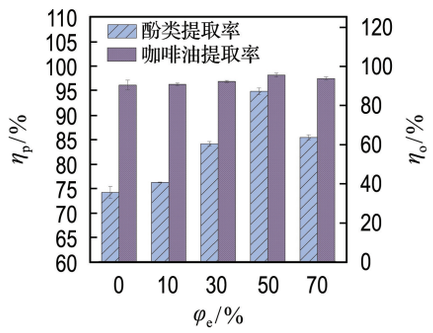
研究同时探究固液比对酚类和咖啡油提取率的影响.如图 4(b)所示,当固液比 m/V 从 1 g∶10 mL降低到 1 g∶40 mL 时,酚类提取率从 71.64%提高到 94.83%,咖啡油提取率从 30.35%提高到 95.41%.这是由于当超声能量一定时,随着固体质量的减少,单位固体接收的能量也随之增加.而且空化效应的延长导致细胞破碎程度加大,传质增强.



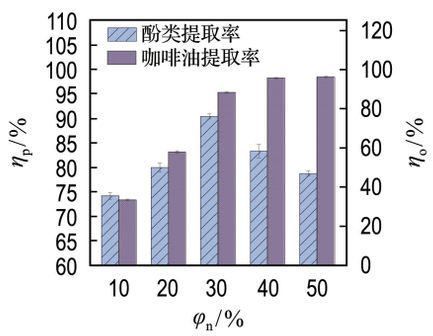
(a) 超声反应提取时间



(b) 固液比(m/V)



(c) 乙醇体积分数(φ_e)



(d) 正己烷体积分数(φ_n)

图 4 不同参数对两步法提取酚类和咖啡油的影响

Fig. 4 Effects of different parameters on the extraction of phenolics and coffee oil using two-step method

2.4 乙醇体积分数和正己烷体积分数对酚类和咖啡油提取率的影响

研究乙醇体积分数φ_e 对酚类和咖啡油提取

率的影响(图 4(c)). 当乙醇体积分数从 0%增加到 50% 时，酚类提取率从 74.15% 提高到 94.83%，咖啡油提取率几乎不变. 相对于单一溶剂，二元溶剂极性范围更广，可提取多种极性不同的酚类. 同时，乙醇打破咖啡渣中酚类与蛋白质和纤维素之间的连接，降低传质阻力，促进酚类溶出. 然而，乙醇体积分数从 50%增加到 70%时，酚类提取率从 94.83%下降至 85.38%. 由于乙醇体积分数的增加导致溶剂极性降低，偏离被提取物酚类极性，同时乙醇促进蛋白质的凝固[18-19]，增强酚类和蛋白质之间的结合，因此酚类提取率下降.

研究正己烷体积分数φ_n 对酚类和咖啡油提取率的影响(图 4(d)). 正己烷体积分数的增加促进溶液表面张力的降低，从而增强空化效应，提高胞内物质提取率. 但过高的正己烷体积分数抑制酚类的提取. 例如，当正己烷体积分数从 10%增加到 30% 时，酚类提取率从 74.14% 提高到 90.37%，咖啡油提取率从 33.33% 提高到 88.21%. 然而，当正己烷体积分数从 30%增加到 50%时，酚类提取率从 90.37%下降至 78.72%，这是因为正己烷极性低于酚类，因此正己烷体积分数的增加将会阻碍乙醇对酚类的提取.

2.5　脂肪酸分析

通过 GC-MS 探究原料咖啡油中脂肪酸组成和两步法对咖啡油组分的影响. 原料咖啡油中主要脂肪酸为亚油酸和棕榈酸，占比分别为38.14%和 32.12%(表 2). 同时 m(不饱和脂肪酸)/m(饱和脂肪酸)为 1.27，说明咖啡油具有良好的抗氧化性. 相较于原料，两步法所得咖啡油的亚油酸和油酸含量降低，因为微波作用和超声空化效应部分不饱和脂肪酸被氧化. 此外，本方法所得咖啡油中 m(不饱和脂肪酸)/m(饱和脂肪酸)为 1.08，大于 1，说明其可作为聚羟基烷酸酯的原料[2]；咖啡油富含长链脂肪酸，可作为生物柴油原料.

表 2　原料中咖啡油和两步法所得咖啡油中脂肪酸组成

Tab. 2　Fatty acid composition of coffee oil in raw materials and coffee oil obtained by two-step method

脂肪酸	w/%	
	原料	两步法
棕榈酸 (C16∶0)	32.12	34.05
硬脂酸 (C18∶0)	8.47	9.46
油酸 (C18∶1)	16.25	14.70
亚油酸 (C18∶2)	38.14	36.92
饱和脂肪酸	44.09	48.10
不饱和脂肪酸	55.91	51.90

2.6　酚类组成、含量和抗氧化性能

通过 HPLC-MS 探究酚类组成和两步法对酚类组分的影响. 咖啡渣中酚类主要为绿原酸和没食子酸，分别占比 46.88%和 31.25%(表 3). 结果与 Kovalcik 等所得结果接近[11]. 同时原料酚类组成比例与两步法相似，验证两步法对咖啡渣中酚类组成影响较小，咖啡渣中酚类得到很好的保留. 此外，两步法酚类提取量达到 22.77 mg(GAE)/g(SCG)，远高于黑麦麸皮的 2.46 mg (GAE)/g(DW)、石榴皮的 1.44 mg(GAE)/g(DW)和芒果皮的 14.93 mg(GAE)/g(DM)[20]，咖啡渣中酚类可作为抗氧化物质的食物来源.

表 3　咖啡渣所含酚类和两步法所得酚类组成

Tab. 3　Composition of phenolics in SCG and phenolics obtained by two-step method

酚类	w/%	
	原料	两步法
绿原酸	46.88	43.56
没食子酸	31.25	34.43
槲皮素	12.50	15.21

此外，酚类具有较高抗氧化活性. 例如，两步法所得酚类 ABTS·$^+$清除活性、DPPH·清除率和总抗氧化能力分别为 49.34 mg(AAE)/g(SCG)、86.60%和 59.95 mg(FSE)/g(SCG). 研究证明酚类的自由基清除能力在两步法中得到了较好保留. 另外，其抗氧化值远高于李子的 2.61 mmol(FSE)/100 g(FM)和苹果的 2.42 mmol(FSE)/100 g(FM)[21]. 因此，两步法提取的酚类将促进咖啡渣未来在抗氧化剂领域的应用.

3　结　语

咖啡渣中油脂和酚类在工业生产中具有重要

应用价值,然而随意堆放的咖啡渣将产生严重的环境问题,因此本文采用微波/超声两步法对咖啡渣中咖啡油和酚类进行提取.研究表明,酚类的提取主要受微波反应提取温度、提取时间和乙醇体积分数的影响.这是因为微波作用使得细胞壁被破坏,溶剂黏度降低,50%乙醇水溶液利于多种酚类的提取.咖啡油的提取主要受固液比和正己烷体积分数的影响,合适的溶剂组成和固体含量将促进溶质的提取.此外,研究结果表明咖啡油和酚类的提取率均达到90%,同时其组分被完整保留且具有良好的抗氧化活性,这为未来利用咖啡渣生产油脂和酚类以及扩大应用范围提供了可能.

参考文献:

[1] GEBREEYESSUS G D. Towards the sustainable and circular bioeconomy: Insights on spent coffee grounds valorization [J]. **Science of the Total Environment**, 2022, **833**: 155113.

[2] GANESH SARATALE R, CHO S-K, DATTATRAYA SARATALE G, *et al*. A comprehensive overview and recent advances on polyhydroxyalkanoates (PHA) production using various organic waste streams [J]. **Bioresource Technology**, 2021, **325**: 124685.

[3] BATTISTA F, ZULIANI L, RIZZIOLI F, *et al*. Biodiesel, biogas and fermentable sugars production from spent coffee grounds: A cascade biorefinery approach [J]. **Bioresource Technology**, 2021, **342**: 125952.

[4] TODA T A, BARREIRO M M, DA CUNHA G B, *et al*. Performance of alcoholic solvents in the continuous countercurrent spent coffee grounds oil extraction [J]. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2023, **118**: 268-279.

[5] COELHO J P, FILIPE R M, PAULA ROBALO M, *et al*. Supercritical CO_2 extraction of spent coffee grounds. Influence of co-solvents and characterization of the extracts [J]. **Journal of Supercritical Fluids**, 2020, **161**: 104825.

[6] PETTINATO M, CASAZZA A A, PEREGO P. The role of heating step in microwave-assisted extraction of polyphenols from spent coffee grounds [J]. **Food and Bioproducts Processing**, 2019, **114**: 227-234.

[7] American Oil Chemists' Society. Moisture and Volatile Matter: AOCS Official Method Ac 2-41 [S]. Champaign: American Oil Chemists' Society, 2009.

[8] American Oil Chemists' Society. Determination of Oil Content in Oilseeds: AOCS Official Method Am 2-93 [S]. Champaign: American Oil Chemists' Society, 2009.

[9] PINTO D, VIEIRA E F, PEIXOTO A F, *et al*. Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from chestnut shells by subcritical water extraction using response surface methodology [J]. **Food Chemistry**, 2021, **334**: 127521.

[10] GAO Pan, LIU Ruijie, JIN Qingzhe, *et al*. Comparative study of chemical compositions and antioxidant capacities of oils obtained from two species of walnut: *Juglans regia* and *Juglans sigillata* [J]. **Food Chemistry**, 2019, **279**: 279-287.

[11] KOVALCIK A, OBRUCA S, MAROVA I. Valorization of spent coffee grounds: A review [J]. **Food and Bioproducts Processing**, 2018, **110**: 104-119.

[12] ALARA O R, ABDURAHMAN N H. Microwave-assisted extraction of phenolics from *Hibiscus sabdariffa* calyces: Kinetic modelling and process intensification [J]. **Industrial Crops and Products**, 2019, **137**: 528-535.

[13] CASSOL L, RODRIGUES E, ZAPATA NORENA C P. Extracting phenolic compounds from *Hibiscus sabdariffa* L. calyx using microwave assisted extraction [J]. **Industrial Crops and Products**, 2019, **133**: 168-177.

[14] SANCHEZ-CAMARGO A D P, BALLESTEROS-VIVAS D, BUELVAS-PUELLO L M, *et al*. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds with antioxidant and anti-proliferative activities from supercritical CO_2 pre-extracted mango peel as valorization strategy [J]. **LWT**, 2021, **137**: 110414.

[15] CHEN Qiyu, DONG Wenjiang, WEI Changqing, *et al*. Combining integrated ultrasonic-microwave technique with ethanol to maximise extraction of

green coffee oil from Arabica coffee beans [J]. **Industrial Crops and Products**, 2020, **151**: 112405.

[16] KADERIDES K, PAPAOIKONOMOU L, SERAFIM M, *et al*. Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction [J]. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, 2019, **137**: 1-11.

[17] SPIGNO G, TRAMELLI L, DE FAVERI D M. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics [J]. **Journal of Food Engineering**, 2007, **81**(1): 200-208.

[18] SOLOMAKOU N, LOUKRI A, TSAFRAKIDOU P, *et al*. Recovery of phenolic compounds from spent coffee grounds through optimized extraction processes [J]. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, 2022, **25**: 100592.

[19] DAI Yuntao, VAN SPRONSEN J, WITKAMP G-J, *et al*. Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology [J]. **Analytica Chimica Acta**, 2013, **766**: 61-68.

[20] MARTINEZ R T, BENEDITO J V, WATSON N J, *et al*. Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mango peels (*Mangifera indica* L.) [J]. **Food and Bioproducts Processing**, 2020, **122**: 41-54.

[21] STRATIL P, KLEJDUS B, KUBAN V. Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals [J]. **Talanta**, 2007, **71**(4): 1741-1751.

Extraction of oil and phenolics from spent coffee grounds by using microwave / ultrasonication two-step method

GE Xuan, MA Dexiao, LI Aimin*

(School of Environmental Science and Technology, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

Abstract: Spent coffee grounds rich in oil and phenolics produce toxic and harmful substances through biological fermentation, which harm the ecological environment and human health. Meanwhile, oil and phenolics are also important raw materials in energy, chemical industry and other fields. Therefore, microwave/ultrasonication two-step method is proposed to extract coffee oil and phenolics from spent coffee grounds and the extraction yields of coffee oil and phenolics by the two-step method all reach 90%. The identification of fatty acids in coffee oil by GC-MS shows that coffee oil is well retained and rich in unsaturated fatty acids. The extracted phenolics are identified by HPLC-MS, the main components are chlorogenic acid and gallic acid, and they are completely preserved. The antioxidant capacity of phenolics is also identified through external antioxidant capacity analysis, and the results show that it is better than that of widely used raw materials. Therefore, the study provides a reference for the efficient extraction and retention of high bioactivity of coffee oil and phenolics from spent coffee grounds.

Key words: two-step method; spent coffee grounds; phenolics; coffee oil; antioxidant capacity