

油茶子的超临界萃取及其萃取物的组分分析

崔朋¹, 方红霞^{1*}, 吴有娣², 韩信², 刘良欢²

(1. 黄山学院应用化学研究所, 安徽黄山 245041; 2. 黄山学院化学化工学院, 安徽黄山 245041)

摘要 [目的]探索分析油茶子萃取物的组分。[方法]以油茶子为原料,采用超临界 CO₂ 萃取法对油茶子进行萃取,并采用高效液相色谱(HPLC)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析萃取物的组分。[结果]油茶子的超临界 CO₂ 萃取率几乎不受温度的影响,与萃取压力呈正相关,在同等条件下压力越大,产率越高。从 HPLC 和 GC-MS 图谱分析,不同方法萃取的油茶子的化学组分没有明显的区别。[结论]通过对油茶子的超临界萃取物进行测试,为油茶子中有效成分的提取分离提供参考。

关键词 油茶子;超临界;高效液相色谱;气质联用

中图分类号 S789.7 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2016)09-145-02

Supercritical Extraction of Oil-tea Camellia Seeds and Component Analysis of Its Extracts

CUI Peng¹, FANG Hong-xia^{1*}, WU You-di² et al (1. Applied Chemistry Institute of Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041; 2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Huangshan University, Huangshan, Anhui 245041)

Abstract [Objective] To explore the main components of oil-tea camellia seeds. [Method] With oil-tea camellia seeds as the raw materials, CO₂ supercritical extraction was carried out. The components of extracts were analyzed by HPLC and GC-MS. [Result] The extraction yield was not affected by temperature, but had positive correlation with extraction pressure. Under the same conditions, the extraction yield enhanced with the increase of extraction pressure. Analysis of HPLC and GC-MS spectra showed that there were no obvious differences in the chemical components of oil-tea camellia seeds by different methods. [Conclusion] Supercritical extraction of oil-tea camellia seeds provides references for the extraction and isolation of effective components in oil-tea camellia seeds.

Key words Oil-tea camellia seeds; Supercritical; HPLC; GC-MS

油茶子油是从山茶科油茶树的种子中获得,该植物油是我国特有的木本类植物油资源。相关研究表明,油茶子油是一种优质的食用油,富含各种不饱和脂肪酸,被誉为“东方橄榄油”^[1-2]。

压榨和化学浸出法是提取植物油脂常用的方法,出油率低和存在溶剂污染限制着上述两种方法的进一步开发。超临界萃取技术是近年备受青睐的一种新型提取分离技术,广泛应用于天然产物的提取分离^[3-4]。目前超临界萃取主要采用 CO₂ 流体做溶剂,CO₂ 的超临界条件温和,且容易渗透到被萃取的原料基体中达到萃取分离的效果^[5-7],萃取的过程中不接触任何有机溶剂,因此萃取物中无有毒溶剂物质残留,杜绝了提取过程中产生对人体有毒的物质,亦不会造成环境污染,从而保证了 100% 的纯天然。国产超临界 CO₂ 萃取设备的精度多为工业级别,萃取釜体积通常为数升,手动操作阀门较多,操作繁琐。该试验采用全自动超临界萃取仪萃取油茶子,萃取釜的体积为 25 mL,全程软件自动控制,无人操作因素影响;不采用任何改性剂和补偿液,从而保证萃取物的纯天然。萃取物及萃取物的甲酯化产物分别经无水硫酸钠脱水后进样做高效液相色谱(HPLC)和气相色谱-质谱联用(GC-MS)分析。笔者通过对油茶子的超临界萃取产物进行测试,与前期的茶叶子提取物的测试结果做对比^[8],比较黄山市油茶子和茶叶子油组分的异同点,为油茶子油中有益成分的提取分离及制备提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料及主要试剂。油茶子采摘于安徽黄山市,去壳后得油茶子果实,经 50 °C 鼓风机干燥箱干燥 2 h 后直接粉碎过 80 目筛装棕色瓶,备用。CO₂ 为食品级,无水硫酸钠为分析纯。

1.1.2 主要仪器设备。MV-10 全自动超临界萃取仪,美国 Waters 公司;HP7890A-5975C 气相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦公司;A1260 高效液相色谱仪,美国安捷伦公司。

1.2 方法

1.2.1 萃取装置。CO₂ 和萃取物由泵注入萃取釜,随后萃取物在超临界的 CO₂ 中被带入背压调节器中调整压力,从背压调节系统流出后进入热补偿系统(CO₂ 从超临界态到常规气态会吸收大量的热,热补偿系统防止萃取物在管道中结冰),经热补偿完成后萃取物在 CO₂ 气体的吹扫作用下进入收集系统,如图 1 所示。

1.2.2 油茶子的超临界萃取。将粉碎过筛后的油茶子果实分别称取 10 g 装入萃取釜,共 6 组装有油茶子果实的萃取釜,分别调整萃取釜的温度和压力进行萃取。具体萃取条件如下:其中 1#、2#、3# 这 3 组的萃取温度依次为 30、40 和 50 °C,随后以 15 mL/min CO₂ 流速、20 000 kPa 压力、动态萃取过程 1 为 5 min、静态萃取为 2 min、动态萃取过程 2 为 5 min 的条件进行全自动超临界 CO₂ 萃取;另外 3 组(4#、5#、6#)的萃取压力依次为 10 000、20 000 和 30 000 kPa,以 15 mL/min CO₂ 流速、温度为 40 °C、动态萃取过程 1 为 5 min、静态萃取为 2 min、动态萃取过程 2 为 5 min 的条件进行萃取。

1.2.3 油茶子的超临界萃取物的组分分析。取适量的萃取物溶解于乙腈和异丙醇的混合液中(V/V=1:1),用无水硫酸

基金项目 国家级大学生创新创业训练计划项目(15362)。

作者简介 崔朋(1988-),男,安徽蒙城人,助理实验师,硕士,从事天然产物分离分析研究。*通讯作者,教授,博士,从事天然高分子分离工程及其应用研究。

收稿日期 2016-02-11



图1 超临界萃取流程示意

Fig.1 Process of supercritical extraction

钠干燥后取上清液进行高效液相色谱分析。

甲酯化条件:取约0.1 g 萃取产物溶于5 mL 1% KOH - CH₃OH 溶液中(W/W),于50 °C 水浴中加热30 min,待自然冷却至室温后加入5 mL 的水和5 mL 的正己烷,振荡5 min 后静置过夜,取上清液由无水硫酸钠除水后经0.22 μm 针孔过滤器过滤后即可进样做GC-MS。

液相色谱条件:以异丙醇-乙腈(40%:60%)做流动相,流速1 mL/min,色谱柱为XBridge C₁₈(5 μm,4.6 × 150 mm),检测波长210 nm。

气相色谱条件:HP-5MS 弹性石英毛细管柱(0.25 μm,30 m × 250 μm);升温程序为40 °C 保持3 min,以4 °C/min 升到160 °C 并保持3 min,随后再以6 °C/min 升温到285 °C 并保持10 min。载气为高纯氦气(99.999%),流速为1.0 mL/min;进样口温度290 °C,进样量1 μL,不分流。

质谱条件:电子轰击(EI)离子源,电子能量70 eV;溶剂延迟3 min;离子源温度230 °C,四级杆温度150 °C;采集模式为全扫。

2 结果与分析

2.1 油茶子油的HPLC分析 取各条件提取的油茶子油等量分散于异丙醇-乙腈(40%:60%)中,经0.22 μm 针孔过滤后采用20 μL 的定量环进行进样测试,测试图谱如图2、3 所示。

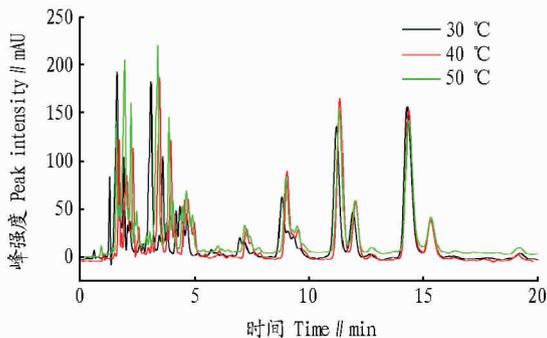


图2 不同温度下萃取物的液相色谱

Fig.2 Liquid chromatogram of the extracts under different temperatures

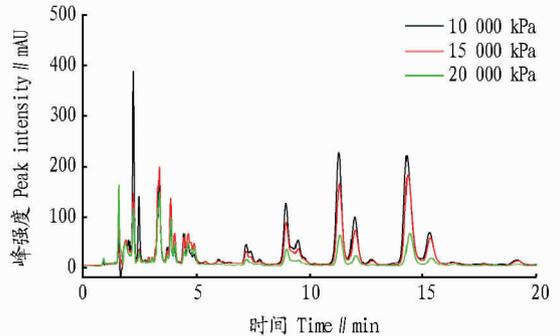


图3 不同压力下萃取物的液相色谱

Fig.3 Liquid chromatogram of the extracts under different pressures

由图2、3 可知,液相色谱图色谱峰基线平稳、峰型尖锐且测试图谱实现了较好的分离,该图谱在20 min 内出峰完毕。在不同萃取条件下萃取的油茶子油经高效液相色谱测试,其组分没有明显的区别,组分间相对含量有着微弱的区别。图1 中的红线图谱与图2 中的红线图谱的萃取条件相同,通过对比二者的峰型和出峰时间完全一致。通过组分的液相色谱图亦可看出,提取率受温度的影响不大,与提取压力呈正相关。在油茶子的超临界萃取中,其他条件一致,萃取温度30、40、50 °C 条件下,油茶子油的产率依次为39.8%、40.1% 和39.6%;其他条件一致,萃取压力10 000、20 000、30 000 kPa 条件下,油茶子油的产率依次为35.6%、40.1% 和43.2%,试验产率与液相色谱的测试结果一致。

2.2 油茶子油的易挥发组分的分析 为了充分探讨油茶子油的易挥发组分,试验将未甲酯化的和甲酯化的油茶子油分别按照上述GC-MS 条件做了测试。

未甲酯化的油茶子油的GC-MS 测试主要检出多酚类、角鲨烯等沸点低的物质,由于大部分的油脂是以三酸甘油酯的形式存在的,导致沸点较高,因此未甲酯化油茶子油的GC-MS 测试仅限于测试低沸点物质,未检出以三酸甘油酯存在的油酸、亚油酸、棕榈酸等物质。

甲酯化的油茶子油的GC-MS 测试结果如表1 所示,从

表1 不同条件下萃取物甲酯化后的GC-MS 测试结果

Table 1 GC-MS detection results after methyl esterification of extracts under different conditions

萃取组 Extraction group	棕榈酸 Palmitic acid	油酸 Oleic acid	亚油酸 Linoleic acid	硬脂酸 Stearic acid	顺-13-二十烯酸 cis-13-Eicosenoic acid
1#	13.20	71.81	4.83	4.27	0.95
2#	13.50	74.19	5.85	4.33	1.00
3#	13.23	73.26	6.44	3.21	0.76
4#	11.79	74.06	6.03	2.95	0.38
5#	14.43	72.68	5.61	3.74	0.76
6#	11.42	74.63	7.67	2.93	0.76

- [43] 栾庆祥,赵杨,周欣,等.单因素试验结合响应面分析法优化杜仲最佳提取工艺[J].药物分析杂志,2013,33(5):859-865.
- [44] 罗丽芳,吴卫华,欧阳冬生,等.杜仲的降压成分及降压机制[J].中草药,2006,37(1):150-152.
- [45] 宁康健,郑淑红,吕锦芳,等.杜仲叶水提醇沉液降压作用的实验研究[J].中国中医药科技,2009,16(4):283-285.
- [46] 唐志晗,彭娟,姜金兰.杜仲叶提取物对清醒大鼠血压的影响[J].中国医院药学杂志,2007(7):901.
- [47] 刘静,濮智颖,李爱玲,等.杜仲叶黄酮降血脂及抗氧化作用的研究[J].安徽农业科学,2010(11):5631.
- [48] 张琪朝.复方杜仲叶提取液对大鼠血脂的调节作用实验研究[J].中成药,2000,22(4):291-292.
- [49] 吴卫华,康楨,欧阳冬生,等.绿原酸的药理学研究进展[J].天然产物研究与开发,2006,18(4):691-694.
- [50] 季志平,苏印泉.杜仲叶提取物的抑菌活性研究(英文)[J].林产化学与工业,2008,28(1):64-67.
- [51] 杨津,董文宾,许先猛,等.杜仲叶黄酮苷抗疲劳和抗氧化活性的研究[J].陕西科技大学学报,2010,28(3):60-63.
- [52] 周海珠,陈翠华,孙立,等.杜仲叶提取物对衰老小鼠抗氧化功能的影响[J].徐州医学院学报,1998,18(6):463-464.
- [53] 张强,苏印泉,张京芳.杜仲叶不同萃取物抗氧化活性比较分析[J].食品科学,2011,32(13):23-27.
- [54] HUNG J Y, YANG C J, TSAI Y M, et al. Antiproliferative activity of aucubin is through cell arrest and apoptosis in human non-small cell lung cancer A549 cells[J]. Clin Exp Pharmacol P, 2008, 35:995-1001.
- [55] 辛晓明,王大伟,赵娟,等.杜仲总多糖抗肿瘤作用的实验研究[J].医药导报,2009,28(6):719-721.
- [56] 范景,吕圭源,李恒辉,等.杜仲提取物对雌二醇致肾虚小鼠的影响[J].浙江中西医结合杂志,2009,19(1):1-4.
- [57] 黄武光,曾庆卓,潘正兴,等.杜仲叶冲剂主要药效学及急性毒性研究[J].贵州医药,2000,24(6):325-326.
- [58] 程郁昕,宁康健,吕锦芳.杜仲叶对小鼠中枢镇静作用的实验研究[J].中国中医药科技,2007,14(2):98-99.
- [59] 孙宇章,许建阳,刘文,等.复方杜仲片镇静催眠的实验研究[J].药学实践杂志,2004,22(4):212-214.
- [60] KIM H Y, MOON B H, LEE H J, et al. Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommia ulmoides* Oliv. with glycation inhibitory activity[J]. J Ethnopharmacol, 2004, 93(2/3):227-230.
- [61] 刘国荣,邱立朋,周延萌,等.杜仲多糖对糖尿病小鼠降血糖作用及其机制研究[J].泰山医学院学报,2010,31(9):659-661.
- [62] 孙燕荣,董俊兴,吕秋军,等.杜仲对脂肪细胞糖代谢的影响[J].中医药学刊,2004,22(8):1552-1553.
- [63] 蔡险峰,徐贤柱,郁晖晖,等.杜仲叶活性部位 I 调控骨代谢平衡作用研究[J].中国骨质疏松杂志,2008,14(7):498-501.
- [64] 陈贤均,赵红刚.杜仲对小鼠蛋白质代谢及 SOD 活性的影响[J].山东中医杂志,2004,23(12):745-747.
- [65] 何心,赵铁敏,郭修德,等.绿原酸的药代动力学研究[J].中成药,1999,21(4):3-4.
- [66] 李杨.杜仲籽中桃叶珊瑚苷的生物转化及药代动力学研究[D].西安:西北大学,2008.
- [67] 李杨.桃叶珊瑚苷及其衍生物的分子结构与药理活性研究[D].西安:西北大学,2011.

(上接第 146 页)

甲酯化的油茶子油中主要鉴定出 4 种脂肪酸,分别是棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸。饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量分别约为 18% 和 80%。

油茶子油中含量丰富的油酸可有效降低低密度脂蛋白胆固醇的含量,且不影响人体高密度脂蛋白胆固醇含量^[9]。亚油酸作为人体必需的一种脂肪酸参与胆固醇在人体内的运转代谢,若人体缺乏亚油酸,胆固醇则与饱和脂肪酸结合后沉积于血管壁,可能导致动脉粥样硬化并引发心脑血管疾病^[10-11]。富含亚油酸的油茶子油可有效预防和减少心脑血管疾病的发病率,可有效防治高血脂、高血压、老年型肥胖症等。棕榈酸作为人体血液中含量最高的饱和脂肪酸起着重要的调节平衡作用;棕榈酸可抑制肝星状细胞的增殖从而缓解肝纤维化,同时能抑制肠道对胆固醇的吸收,从而达到降低血清和肝脏中胆固醇的效果。

3 结论

本研究尝试采用全自动超临界萃取对油茶子进行萃取并对萃取物进行了 HPLC 和 GC-MS 分析。与已有研究^[12-13]相比,该试验采用的全自动超临界萃取操作简单,CO₂ 用量少,尤其适用于超临界萃取工艺的开发与研究。该试验同时也表明,采摘于安徽黄山地区的油茶子,其超临界萃取物中油脂主要由油酸、亚油酸、棕榈酸、硬脂酸等脂肪酸组成,同时其含有茶多酚、V_E、角鲨烯等对人体有益的物质。

油茶子油的主要成分与被誉“植物油皇后”的橄榄油相比,基本一致。安徽黄山地区油茶子产量丰富,且该地区油茶子油脂肪酸比例均衡,适于人体的吸收,具有大力的推广和开发应用的价值。

参考文献

- [1] 马力. 茶油与橄榄油营养价值的比较[J]. 粮食与食品工业, 2007, 14(6):19-21.
- [2] 毛方华,王鸿飞,周明亮. 山茶油的功能特性[J]. 食品科技, 2010, 35(1):181-185.
- [3] 樊红秀,刘婷婷,刘鸿斌,等. 超临界萃取人参皂苷及 HPLC 分析[J]. 食品科学, 2013, 34(20):121-126.
- [4] 李跃金,胡晋昭. 超临界萃取花椒中主要成分[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(11):50-53.
- [5] 陈明,熊琳媛,袁城. 茶叶中多糖提取技术进展及超临界萃取探讨[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(8):4770-4771.
- [6] 赖锡湖,黄卓,李坚,等. 超临界 CO₂ 萃取茶叶籽油及其成分分析[J]. 食品与机械, 2011, 27(2):38-40.
- [7] 董海胜,臧鹏,陈斌,等. 超临界 CO₂ 萃取茶叶籽油及其分子蒸馏馏出物抗氧化成分分析[J]. 河北科技师范学院学报, 2014(3):29-33, 75.
- [8] 崔朋,燕磊,李佩玉,等. 全自动超临界二氧化碳萃取茶叶籽及其萃取物的分析[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(31):186-187.
- [9] 刘刚,努尔买买提·阿不都克里木,吾满江艾力,等. 油酸及其衍生物的应用[J]. 新疆师范大学学报(自然科学版), 2004, 23(1):32-35.
- [10] UAUY R, DANGOUR A D. Nutrition in brain development and aging: Role of essential fatty acids[J]. Nutr Rev, 2006, 64(S5):24-33.
- [11] 李迎春,潘晓辉,俞力,等. 软脂酸和亚油酸对肝星状细胞增殖的影响[J]. 实用肝脏病杂志, 2013, 16(2):152-154.
- [12] 沈佳奇,徐俐,张彦雄,等. 响应面优化超临界 CO₂ 萃取油茶籽油工艺研究[J]. 食品科技, 2014, 39(1):187-192.
- [13] 李莉,陈爱政,王士斌,等. 超临界二氧化碳流体萃取油茶籽油及其 GC/MS 分析[J]. 广州化工, 2011, 39(11):49-52.