

刺五加果实中种子油的提取方案优化及油的成分分析

张晓南,张秀玲*,王 婧,程 雪,陈少华,赵天彤,隋晓楠,王中江,齐宝坤
(东北农业大学食品学院,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:对刺五加果实中种子油提取的最佳方案进行了初步探讨,对刺五加果实中种子油及挥发油的成分进行了气相色谱分析。确定刺五加种子油的最佳提取条件为:料液比1:15,超声功率150 W,超声时间20 min,即在此提取条件下种子油得率最高为14.83%。对所获的刺五加种子油进行气相色谱分析,鉴定出了其中的13种成分,主要成分及含量为18.81%油酸,14.70% α -红没药醇,14.67%反式角鲨烯,14.04%正二十九烷。对刺五加挥发油进行气相色谱分析,鉴定出了其中的16种成分,主要成分及含量为20.52% α -红没药醇,18.63%石竹烯,7.93%环己烯。

关键词:刺五加果实,种子油,挥发油,气相色谱

Extraction scheme optimization and component analysis of the seed oil in the fruit of *Acanthopanax*

ZHANG Xiao-nan, ZHANG Xiu-ling*, WANG Qiang, CHENG Xue, CHEN Shao-hua, ZHAO Tian-tong, SUI Xiao-nan, WANG Zhong-jiang, QI Bao-kun

(School of Food College, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract: This article had a preliminary discussion on the best scheme of the extraction of the seed oil in the fruit of *acanthopanax*, and carried out the gas chromatographic analysis on the components of the seed oil and volatile oil in the fruit of *acanthopanax*. The best extraction conditions of the seed oil in *acanthopanax* were determined as follows: feed liquid proportion 1:15, ultrasonic power 150 W, ultrasonic time 20 min. The highest extraction rate of the seed oil under such extraction conditions was 14.83%. The gas chromatographic analysis is carried out on the acquired seed oil in *acanthopanax* to identify its 13 components, and the key components included 18.81% of oleic acid in content, 14.70% of α -bisabolol, 14.67% of Trans squalene, 14.04% of nonacosane. The gas chromatographic analysis was carried out on the volatile oil in *acanthopanax* to identify its 16 components, and the key components include 20.52% of α -bisabolol in content, 18.63% of caryophyllene, 7.93% of cyclohexene.

Key words: *acanthopanax* fruit; seed oil; volatile oil; gas chromatography

中图分类号: TS201.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2016)04-0309-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2016.04.053

刺五加 (*Acanthopanax senticosus*) 是主产于黑龙江小兴安岭的五加科 (*Araliaceae*) 刺五加属 (*Acanthopanax*) 的落叶灌木, 别名刺拐棒^[1], 春、秋两季采挖, 其性温, 味微苦、辛、甘, 归脾、肾、心经^[2]。其根、茎、叶均有药用价值, 据我国古代医籍记载刺五加具有“补中益精、坚筋骨、强意志”的作用。现代药理学研究表明, 刺五加具有益气健脾、补肾安神的功效^[3], 主要用于脾肾阳虚、体虚乏力、食欲不振、腰膝酸痛、失眠多梦等病症^[4], 也是对神经衰弱会产生良好效果的药物^[5]。

刺五加是一种被世界认可的中草药, 已被列为

WHO药用植物专著中^[6]。目前刺五加产品名目繁多^[7], 虽然民间对刺五加的功效普遍认可, 但是由于刺五加粗提物成分复杂, 有效成分制备标准模糊, 生产工艺传统, 导致刺五加产品的市场份额依然较低^[8]。关于刺五加种子油更是鲜有文献对其进行深入研究, 所以进一步研究刺五加各个部分的有效成分, 为刺五加产品提供新思路显得尤为必要^[9]。超声波提取方法是中草药成分分析的常用方式, 本文采用超声波提取法对刺五加果实中种子油的提取进行优化, 并对种子油和挥发油的成分进行气相色谱分析, 旨在开发新的药用部位, 提高对天然资源的综合率, 为刺

收稿日期: 2015-06-30

作者简介: 张晓南(1982-), 男, 博士, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: xiaonanzhang@neau.edu.cn。

* 通讯作者: 张秀玲(1969-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: 1457945201@qq.com。

五加的物质基础研究^[10]和进一步开发应用提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

干燥的刺五加果实 黑龙江省哈尔滨市三棵树药材市场;正己烷、正己烷色谱纯 天津化工厂。

KQ-250DB型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;安捷伦GC6890气相色谱分析仪 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 刺五加种子油提取的工艺流程

刺五加果实→筛选→粉碎→60目过筛→称重→超声浸提→减压过滤→水浴(70℃)旋转蒸发至不再有石油醚挥出→种子油→称重。

石油醚



1.2.2 单因素实验

1.2.2.1 料液比的确定 称取30 g短梗刺五加果粉,在超声功率250 W,超声时间30 min,温度为12℃的提取条件下,以石油醚为溶剂,料液比为1:5、1:10、1:15、1:20、1:25,研究料液比对刺五加种子油得率的影响。

种子油的得率(%)=旋蒸后获得的种子油克数/刺五加果实克数×100

1.2.2.2 超声功率的确定 称取30 g短梗刺五加果粉,在料液比为1:15,超声时间30 min,温度为12℃的提取条件下,以石油醚为溶剂,超声功率为100、150、200、250、300 W,研究超声功率对刺五加种子油得率的影响。

1.2.2.3 超声时间对种子油得率的影响 称取30 g短梗刺五加果粉,在料液比为1:15,超声功率在250 W,温度为12℃的提取条件下,以石油醚为溶剂,超声时间分别为10、20、30、40、50 min,研究超声时间对刺五加种子油得率的影响。

1.2.3 种子油提取最佳方案的正交实验设计 根据单因素实验结果,选取对种子油得率影响较显著的三个因素:料液比、超声功率、超声时间进行正交实验。以种子油得率为考察指标。选用正交设计表 $L_9(3^4)$ 安排实验,因素水平表见表1。

表1 实验因素及水平表

Table 1 Experimental factors and levels of the table

水平	因素		
	A 物料比	B 功率(W)	C 时间(min)
1	1:10	150	20
2	1:15	200	30
3	1:20	250	40

1.2.4 刺五加种子油成分分析

1.2.4.1 种子油的甲酯化 准确称取200 mg种子油,先后加入0.6 mol/L氢氧化钾溶液、甲醇和正己烷各4 mL,将混合液振荡摇匀,于60℃水浴加热反应30 min后,加入10 mL蒸馏水,静置分层。取正己烷层

作为样液1。

1.2.4.2 GC-MS检测 气相色谱条件:25 m×0.2 mm石英毛细管柱OV-101,柱前压0.8 kg/cm²,柱温40~200℃,10℃/min,气化温度250℃,载气为氦气,分流为60:1,进样量为1 μL;质谱条件:电离方式EI,电子能量70 eV,离子源温度250℃。

将所获样液1中加入无水硫酸钠除水后,用正己烷稀释500倍后,进行GC-MS检测。

1.2.5 刺五加挥发油的制备与成分分析

1.2.5.1 挥发油的制备 用天平量取60目的刺五加果粉100 g于2000 mL的圆底烧瓶中,加入1000 mL去离子水,将圆底烧瓶置于电加热套内,连接好提取装置,接通冷凝水,于冷凝管口加入5 mL石油醚,开启加热套至2500 W,加热5 h后,将精油提取器内的呈油状的石油醚与挥发油的混合液体放入锥形瓶内,用无水硫酸钠除水既得样液2。

1.2.5.2 刺五加挥发油提取的工艺流程

刺五加果→挑选→粉碎→60目过筛→称重→蒸馏提取5 h→油状液体→除水→含挥发油的样液2。

石油醚



1.2.5.3 刺五加挥发油的GC-MS分析 将所获的样液2用石油醚稀释500倍后,进行GC-MS分析。

1.3 数据处理

气相色谱分析图由气相色谱计算机联用仪给出的数据用Origin作图软件作出。

2 结果与讨论

2.1 不同因素对种子油得率的影响结果

2.1.1 不同料液比对种子油得率的影响 由图1可知,种子油的得率随着料液比的增加而增加,但当料液比达到1:15后,种子油得率的增长趋于平缓,这是因为对于一定量的刺五加果粉,增加溶剂用量会降低油的浓度,增大刺五加果粉与溶剂接触面的浓度差,增大渗透压,从而提高了油脂到溶剂的扩散速度使提取率增大^[11];当溶剂用量达到一定值以后,由于物料中油脂含量逐渐减少,越来越难以溶出,提取率趋于稳定,同时过大溶剂用量会造成浪费^[12]。料液比在1:15时,种子油的提取率最大,因此确定该比例为提取种子油的最佳料液比。

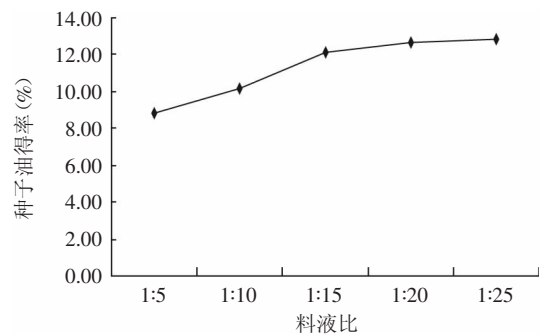


图1 料液比对种子油得率的影响

Fig.1 Effect of solid-liquid ratio for seed oil yield

2.1.2 超声功率对种子油得率的影响 由图2可以

看出随着超声功率的增加,种子油的得率也在增多,但当超声功率达到250 W后种子油得率的增长趋于平缓。因为在其他条件不变的情况下,超声波功率越大,空化和机械作用越强烈,分子扩散速度越大,油脂渗出越快,出油率越大^[13];当超声功率达到一定值时出油率达到最佳,功率再增加对提取得率提高难以起到很大的作用^[14]。因此,确定250 W为最佳超声功率,选择150、200、250 W来进行正交实验。

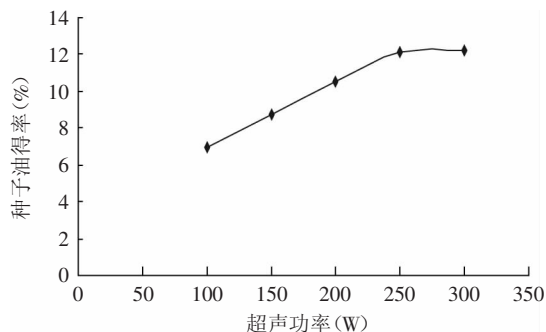


图2 超声功率对种子油得率的影响

Fig.2 Effect of ultrasonic power for seed oil yield

2.1.3 超声时间对种子油得率的影响 图3表明,超声时间越长种子油得率越高,但超声时间达到30 min后,种子油得率的增长趋于平缓,近乎没有增长。这是因为超声时间越长,超声波对物料作用的越充分,种子油浸出率越高,当达到一定时间后,溶液体系渗透压达到平衡,浸出率趋于平稳^[15]。因此确定30 min为最佳超声时长,选择20、30、40 min来进行正交实验。

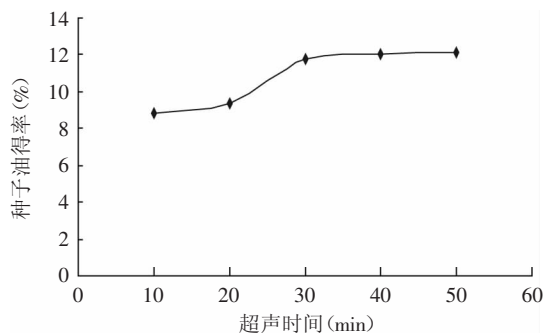


图3 超声时间对种子油得率的影响

Fig.3 Effect of ultrasonic time for seed oil yield

2.2 刺五加种子油提取条件的正交实验结果

当料液比为1:15,超声功率150 W,超声时间20 min,经过多次单因素实验并进行多次实验对比,分别从三个水平中选三个因素进行正交实验。正交实验结果见表2。

由表2可得,超声功率是影响刺五加种子油得率的主要因素,其次是料液比,最后是超声时间。由表2还可以看出刺五加种子油提取的最佳方案是A₂B₁C₁。在此提取条件下种子油得率为14.83%。

2.3 刺五加种子油的GC-MS分析结果

从图4和表3可得,已鉴定的成分占种子油总成分93.60%左右,基本上确定了刺五加果实的种子油

表2 正交实验结果

Table 2 Orthogonal experiment

实验号	A	B	C	种子油得率(%)
1	1	1	1	10.77
2	1	2	2	8.87
3	1	3	3	8.77
4	2	1	2	10.87
5	2	2	3	9.33
6	2	3	1	13.32
7	3	1	3	12.13
8	3	2	1	9.87
9	3	3	2	10.57
k ₁	9.47	11.26	11.32	
k ₂	11.18	9.36	10.10	
k ₃	10.86	10.89	10.07	
R	1.71	1.9	1.25	

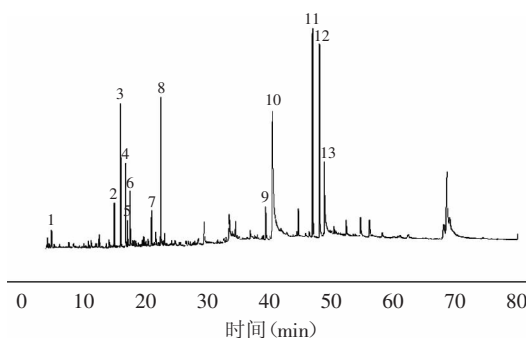


图4 刺五加果实种子油总离子图

Fig.4 Acanthopanax fruit seed oil total ion FIG

表3 刺五加果实中种子油成分

Table 3 Chemical composition of fruit in Acanthopanax seed oil

峰号	化合物名称	分子式	相对含量(%)
1	邻异丙基甲苯	C ₁₀ H ₁₄	1.23
2	二环[5.2.0]-4-乙烯基-4,8,8-三亚甲基壬烷	C ₁₅ H ₂₄	2.63
3	β-石竹烯	C ₁₅ H ₂₄	8.17
4	萜澄茄油萜	C ₁₅ H ₂₄	4.61
5	2,6-二甲基-1-6-二环[3.1.1]庚-2-烯	C ₁₅ H ₂₄	1.49
6	6-甲基-2-庚-1,5-二烯	C ₁₅ H ₂₄	1.43
7	10,12-二十三碳二炔酸	C ₂₄ H ₄₀ O ₂	2.08
8	α-红没药醇	C ₁₅ H ₂₆ O	14.70
9	2,2'-双亚甲基石碳酸	C ₂₃ H ₃₂ O ₂	2.04
10	油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	18.81
11	反式角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	14.67
12	正二十九烷	C ₂₉ H ₆₀	14.04
13	麦角甾-22-烯-3-醇	C ₂₈ H ₄₈ O	7.71

成分。在已鉴定的13种成分中,主要成分是油酸约占18.81%,α-红没药醇约占14.70%,反式角鲨烯约占14.67%,正二十九烷约占14.04%。

2.4 刺五加挥发油的成分的GC-MS分析结果

从图5和表4可知,已鉴定的成分占挥发油总成

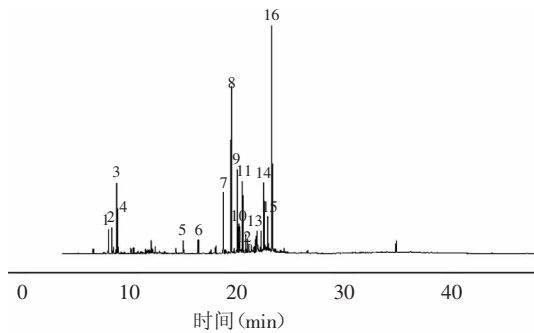


图5 刺五加果实挥发油总离子图

Fig.5 *Acanthopanax* volatile oils total ion FIG

表4 刺五加果实中挥发油成分

Table 4 Volatile composition in fruit of *Acanthopanax*

峰号	化合物名称	分子式	相对含量(%)
1	5-甲基-2-(1-甲基乙基)-4-己烯-1-醇乙酸酯	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1.79
2	2-甲基-5-(1-甲基乙基)-1,3-环己二烯(α-水芹烯)	C ₁₀ H ₁₆	1.92
3	3-异丙基甲苯(间伞花烃)	C ₁₀ H ₁₄	4.93
4	1-甲基-5-(10-甲基乙基)-环乙烯	C ₁₀ H ₁₆	3.52
5	百里香酚	C ₁₀ H ₁₄ O	1.39
6	δ-榄香烯	C ₁₅ H ₂₄	1.52
7	4,11,11-三甲基-8-亚甲基二环[7.2.0]十一-4-烯(石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	5.62
8	4,11,11-三甲基-8-亚甲基二环[7.2.0]十一-4-烯(石竹烯)	C ₁₅ H ₂₄	13.01
9	双环倍半水芹烯	C ₁₅ H ₂₄	6.97
10	2,6-二甲基-6-(4-甲基-3-戊烯基)二环[3.1.1]庚-2-烯	C ₁₅ H ₂₄	1.98
11	1-甲基-4-(1-亚甲基-5-甲基-4-乙基)环己烯	C ₁₅ H ₂₄	7.93
12	香树烯	C ₁₅ H ₂₄	1.36
13	长叶醛	C ₁₅ H ₂₄ O	1.82
14	γ雪松烯	C ₁₅ H ₂₄	4.50
15	百秋李醇	C ₁₅ H ₂₆ O	2.27
16	α-没药醇	C ₁₅ H ₂₆ O	20.52

分的81.04%左右,基本上确定了刺五加果实的挥发油成分。在已鉴定的16种成分中,主要成分是α-红没药醇约占20.52%,石竹烯约占13.01%,环己烯约占7.93%。

3 结论

本研究分析了不同提取条件对刺五加种子油得率的影响,并对刺五加种子油及挥发油进行了GC-MS分析。结果表明,提取刺五加种子油的最佳条件是:料液比为1:15,超声功率150 W,超声时间20 min,此时的种子油得率为14.83%。

从刺五加果实中提取的种子油的定性及定量分析结果可知,已鉴定的成分占种子油总成分93.60%左右,基本上确定了刺五加果实的种子油成分。在已

鉴定的13种成分中,主要成分是油酸约占18.81%,α-红没药醇约占14.70%,反式角鲨烯约占14.67%,正二十九烷约占14.04%。

从刺五加果实中提取的挥发油的定性及定量分析可知,已鉴定的成分占挥发油总成分81.04%左右,基本上确定了刺五加果实的挥发油成分。在已鉴定的16种成分中,主要成分是α-红没药醇约占20.52%,石竹烯约占13.01%,环己烯约占7.93%。

参考文献

- [1] 李丽辉,张鹏,牟晓燕. 刺五加的研究进展[J]. 国土与自然资源研究,2008(3):95-96.
- [2] 卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:人民卫生出版社,2005,附录57.
- [3] 涂正伟,周涓涓,单洪. 刺五加的研究进展[J]. 药物评价研究,2011,34(3):213-216.
- [4] 马洪芳,叶朝兴. 刺五加注射液治疗神经衰弱80例临床分析[J]. 中医药研究,2000,16(4):16-17.
- [5] Jin Hwan Lee, Jung Dae Lim, Myoung-Gun Choung. Studies on the anthocyanin profile and biological properties from the fruits of *Acanthopanax senticosus* (Siberian Ginseng)[J]. Journal of Functional Foods, 2013(5):380-388.
- [6] 闫兆威,周明娟,卢丹,等. 刺五加果肉化学成分的研究[J]. 天然产物研究与开发,2009(10):1-2.
- [7] 李化,陈丽,唐琳,等. 西南部分地区麻疯树种子油的理化性质及脂肪酸组成分析[J]. 应用与环境生物学报,2006,12(5):643-646.
- [8] 张晶,刘芳芳,陈彦池,等. 刺五加化学成分及药理学研究进展[J]. 中国野生植物资源,2008,27(2):6-10.
- [9] 万益群,肖丽凤. 柚子种子油的提取工艺及其脂肪酸的气相色谱法测定[J]. 食品科学,2008,29(3):438-440.
- [10] Huan Cheng, Jianle Chen, Shiguo Chen, et al. Characterization of aroma-active volatiles in three Chinese bayberry (*Myrica rubra*) cultivars using GC-MS-olfactometry and an electronic nose combined with principal component analysis[J]. Food Research International, 201(72):8-15.
- [11] Sue-Siang Teh, Gertrud E Morlock. Effect-directed analysis of cold-pressed hemp, flax and canola seed oils by planar chromatography linked with (bio) assays and mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2015(187):460-468.
- [12] Mohamed Koubaa, Houcine Mhemdi, Eugène Vorobiev. Seed oil polyphenols: Rapid and sensitive extraction method and high resolution - mass spectrometry identification[J]. Analytical Biochemistry, 2015(476):91-93.
- [13] 王艳萍,薛兴亚,章飞芳,等. 正相液相-气相-质谱联用技术分离分析金银花挥发油化学成分[J]. 世界科学技术中医药现代化基础研究,2008,10(6):45-55.
- [14] 鲍忠定,秦志荣,许荣年,等. 杭白菊挥发油化学成分的气相色谱-质谱联用技术分析[J]. 食品科学,2003,24(6):120-121.
- [15] 王计平,史华平,李润植. 植物种子油合成的调控与遗传修饰[J]. 植物遗传资源学报,2006,7(4):488-493.