

千年桐种子油提取工艺研究及其主要脂肪酸成分分析

薛宝金^{1,2} 郭峰¹ 方真^{1*}¹中国科学院西双版纳热带植物园生物能源组, 昆明 650223; ²中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要: 本文以氯仿、石油醚和正己烷-异丙醇(3:2, v/v) 三种不同溶剂对千年桐种子油进行提取, 比较了不同溶剂对种子出油率的影响, 结果表明以氯仿为溶剂时出油率最高, 达到了 35%; 并考查了提取时间和提取溶剂体积对出油率的影响。最终优化的提取工艺为: 以氯仿为溶剂, 液料比为 12:1 (v/w), 提取时间 6 h, 出油率达到了 37%。提取的种子油经转酯化后, GC-MS 分析其主要脂肪酸组分, 结果表明千年桐种子油中总脂肪酸占总油酯的 90.55%, 其中棕榈酸 3.87%, 硬脂酸 4.11%, 亚油酸 12.15%, 油酸 13.31%, 亚麻酸 12.09%, 共轭亚麻酸 51.20% 和 EPA(二十碳五烯酸) 3.30%。千年桐种子油中富含不饱和脂肪酸, 是一种良好的干性油。

关键词: 千年桐; 提取工艺; 转酯化; 脂肪酸; GC-MS

中图分类号: TQ646; R284.1; Q946.91

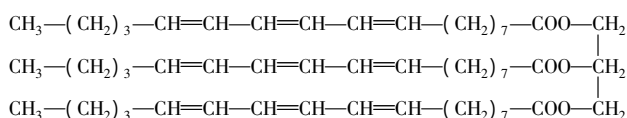
文献标识码: A

Extraction of *Aleurites montana* Seed Oil and Analysis of Its Fatty AcidsXUE Bao-jin^{1,2}, GUO Feng¹, FANG Zhen^{1*}¹Biomass Group, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223;²Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Abstract: *Aleurites montana* oil was extracted using three different solvents of chloroform, petroleum ether, and hexane-isopropanol (3:2, v/v). The results showed chloroform was the most efficient solvent. The effects of extraction time and solvent volume on the seed oil yield were studied. The maximum oil yield (37%) was achieved with a ratio 12:1 (v/w) of chloroform to seed kernel for 6 h extraction time. After transesterification of the seed oil, its major fatty acid composition was analyzed by GC-MS. The total fatty acids content was up to 90.55%, including 3.87% palmitic acid, 4.11% stearic acid, 12.15% linoleic acid, 13.31% oleic acid, 12.09% linolenic acid, 51.20% conjugated linolenic acid, and 3.30% EPA (eicosapentaenoic acid). *Aleurites montana* oil was an excellent drying oil that is rich in unsaturated fatty acids.

Key words: *Aleurites montana*; extraction technology; transesterification; fatty acid; GC-MS

千年桐, 大戟科油桐属植物。其果实为核果, 产量高, 盛果期可达上百年; 其种子出油率高, 从中提取的油脂俗称木油。木油与桐油类似, 也叫桐油, 气味清香但不能食用。桐油是一种很好的干性油, 用途广泛, 是渔业、农业、军工、塑料机械、电器、皮革、印染、医药人造橡胶, 人造汽油等工业和家具、美术工艺行业不可缺少的原料^[1], 桐油的主要成分是桐油酸甘油三酯, 其含量可达 50% 以上, 分子式可表示为^[2]:



收稿日期: 2011-05-16 接受日期: 2011-06-31

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KSCX2-YW-G-075); 国家自然科学基金项目(21076220)

* 通讯作者 E-mail: zhenfang@xtbg.ac.cn

桐油酸具有成膜性好、干燥快、涂膜坚韧、耐水、耐光、耐碱等特点^[3]。桐油酸容易与某些化合物反应, 产生成千上万个桐油的衍生物, 制备出多种桐油化学制品, 广泛应用于电子行业、高级印刷油墨、热敏性复印材料、集成电路板材、船舶漆和电流积涂料、电绝缘涂料、化工行业、表面活性剂、消泡剂、杀菌剂、粘合剂、合成树脂、塑料行业和橡胶行业等领域^[4-6]。

本研究采用了氯仿、石油醚和正己烷-异丙醇(3:2, v/v) 三种不同溶剂对西双版纳采集的千年桐种子油酯进行提取, 比较了不同溶剂对种子出油率的影响, 并对提取工艺进行了一定的优化。桐油酸三甘油酯沸点比较高, 需在硫酸催化作用下与甲醇发生酯交换反应以降低沸点和粘度, 从而符合色谱分析的条件^[7]。主要脂肪酸成分通过气质联用(GC-MS) 方法进行分析。目前千年桐种子油脂脂肪酸组分

尚未有过报道,本研究确定了千年桐种子油脂脂肪酸的组分,对千年桐种子油的开发和利用具有指导意义。

1 材料、试剂及仪器设备

1.1 材料

使用的千年桐种子采自云南西双版纳州。

1.2 试剂

氯仿(上海申博化工有限公司)、甲醇(汕头市西陇化工厂有限公司)、浓硫酸(遵义师范学院化学试剂厂)、石油醚(西陇化工股份有限公司)、正己烷(天津市标准科技有限公司)、异丙醇(天津风船化学试剂科技有限公司)、氯化钾(汕头市西陇化工厂)和无水硫酸钠(上海化学试剂有限公司)均为分析纯。液氮购自深圳市华特鹏特种气体有限公司。

1.3 仪器

使用的仪器为电子天平(日本 Shimadzu 公司)、离心机(凯特实验设备有限公司)、研钵、真空干燥箱(上海恒科 DZF-6050)、通风处理设备、250 mL 三角瓶(蜀牛)、N₂ 吹干仪(东方金华苑科技有限公司)、冰箱(青岛海尔)和 GC-MS(Thermo Fisher, Trace DSQ)。

2 实验部分

2.1 千年桐种子油提取工艺研究

2.1.1 三种不同溶剂氯仿、石油醚、正己烷-异丙醇(3:2, v/v)对千年桐种子出油率的比较

准确称取干燥千年桐去壳粗磨过的种子 3 份(0.1250 g、0.1174 g 和 0.1113 g),分别放入预冷的研钵中加液氮研磨 5 min 后,转入 5 mL 磨口玻璃管。然后分别加入三种不同提取液[氯仿、石油醚和正己烷-异丙醇(3:2, v/v)]震荡提取 10 min。然后将提取物分别转入 3 支 1.5 mL 离心管,3000 rpm 离心 5 min 后,分别收集上清液, N₂ 吹干上清液,称重,重复以上实验 3 次,计算出油率。

千年桐种子出油率计算公式为:

$$\text{出油率}(\%) = \frac{\text{油脂}(\text{g})}{\text{物料}(\text{g})} \times 100\%$$

2.1.2 提取时间的优化

准确称取 5 g 干燥千年桐去壳粗磨过的种子 9 份,加 60 mL 氯仿,提取时间分别为 2、3、4、5、6、7、8、9 和 10 h。加入 3 g 无水硫酸钠,过滤、干燥并称重,计算出油率。

2.1.3 提取溶剂体积的优化

准确称取 5 g 干燥千年桐去壳粗磨过的种子 9 份,分别加 40、45、50、55、60、65、70、75 和 80 mL 氯仿,提取时间 6 h,加入 3 g 无水硫酸钠,过滤、干燥并称重,计算出油率。

2.2 千年桐油脂的转酯化

由方法“2.1.1”中氯仿提取的千年桐油脂,加入 1 mL 氯仿溶解后,取 300 μ L 后,加 500 μ L 的 2% 的硫酸甲醇(0.2 mL 硫酸加入到 9.8 mL 的甲醇配制),于真空干燥箱中 90 $^{\circ}$ C 反应 1 h。加 1% 的 KCl 溶液 300 μ L 洗涤,混匀,3000 rpm 离心 5 min,去上清,重复两次, N₂ 吹干,加 1 mL 氯仿,GC-MS 分析。

2.3 GC-MS 测定条件

色谱条件:DB-5MS 柱(30 m $\times$ 0.25 i. d.)、液膜厚度 0.25 μ m;载气 He 气,纯度为 99.9995%,流量 1 mL/min;进样量 1 μ L,分流比 50:1;进样口温度 260 $^{\circ}$ C,接口温度 260 $^{\circ}$ C;起始柱温 90 $^{\circ}$ C,以 20 $^{\circ}$ C/min 升至 150 $^{\circ}$ C,保留 0.5 min,以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 250 $^{\circ}$ C,保留 1 min。

质谱条件:电离方式为电子轰击(electron impact ionization, EI),电子能量 70 eV,传输线温度 250 $^{\circ}$ C,离子源温度 250 $^{\circ}$ C;扫描质量范围 50 ~ 650 amu,扫描速率 3391.1 amu/s。

3 结果

3.1 溶剂对千年桐种子出油率的影响

根据“2.1.1”的实验方案和数据,结合出油率计算公式,可得出三种不同溶剂对千年桐种子出油率的影响,见表 1。从表中可以看出,使用氯仿提取时平均出油率达到了 35%,而其它两种溶剂提取时出油率则相对较低。三种不同溶剂提取千年桐种子出油的能力顺序为氯仿 > 石油醚 > 正己烷:异丙醇(3:2)。这表明,氯仿更适合用于千年桐种子油酯的提取。

表 1 三种不同溶剂对千年桐种子出油率的影响($n=3$, $\bar{x} \pm s$, %)

提取溶剂 Extraction solvent	出油率 Oil yield(%)
氯仿	34.99 $\pm$ 0.14
石油醚	31.60 $\pm$ 0.33
正己烷:异丙醇(3:2)	28.22 $\pm$ 0.22

3.2 提取时间对出油率的影响

以氯仿为溶剂, 体积为 60 mL, 通过改变提取时间来讨论提取时间对出油率的影响(实验 2.1.2)。从提取时间为 2 h 开始至 6 h, 千年桐种子出油率在逐渐升高; 提取时间为 6 h 时, 出油率达到了 37%, 而随着提取时间的增加至 10 h, 出油率并没有明显增加, 表明千年桐种子油酯最佳提取时间为 6 h。

3.3 不同液料比对出油率的影响

以氯仿为溶剂, 提取时间为 6 h, 通过改变液料比(本文中为液料体积质量比)来讨论液料比对出油率的影响(实验 2.1.3)。本实验液料比梯度范围设为从 8:1 至 16:1。从液料体比为 8:1 开始至 12:1, 出油率在逐渐增加; 当液料比为 12:1 时, 出油率达到了 36%, 而继续增加液料体积质量比时, 出油率并没有明显增加, 表明千年桐种子油脂最佳提取液料比为 12:1。

3.4 千年桐油脂脂肪酸成分分析

使用 GC-MS 分析鉴定千年桐油脂脂肪酸组分,

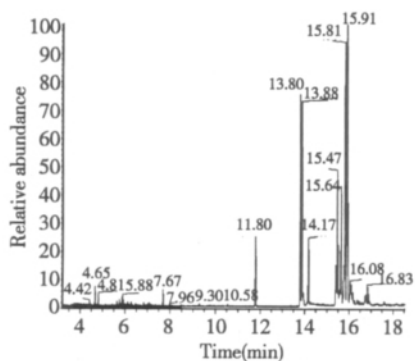


图 1 千年桐种子油转酯化后 GC-MS 色谱图

Fig. 1 GC-MS chromatogram of *A. montana* seed oil after transesterification

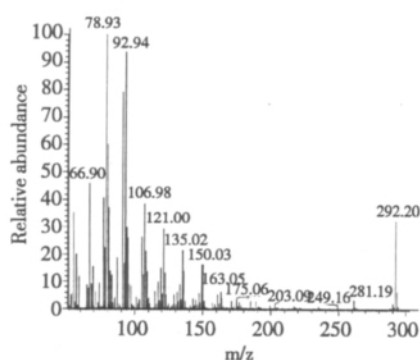


图 2 t_R 为 15.91min 的千年桐种子油转酯化后质谱图

Fig. 2 Mass spectrum of *A. montana* seed oil after transesterification at t_R 17.99 min

通过与质谱数据库进行比对, 从而对脂肪酸成分定性分析。

根据总离子流图和质谱数据库对比, 第 11.80 min 以前出的峰是带苯环的烯烃物质等。从 15.47 min 至 16.06 min 的峰均为亚麻酸, 但相似度仅有 22.90%, 这是由于转酯化过程会对 18C 共轭三烯酸的双键位置造成影响(电子转移影响双键定位), 即转酯化过程中电子转移造成双键 π 电子发生迁移而导致质谱定位不饱和脂肪酸双键位置不准确。根据桐油的脂肪酸组成及性质, 确定第 15.47 min 为亚麻酸, 第 15.64、15.81、15.91 和 16.06 min 的峰为 18C 共轭亚麻酸。总离子流图和质谱数据库对比分析, 按面积归一法计算, 可得千年桐种子油酯脂肪酸组分结果, 见表 2。

表 2 千年桐种子油酯脂肪酸组成

Table 2 Fatty acids content in seed oil of *A. montana*

保留时间 t_R (min)	脂肪酸 Fatty acid	相对含量 Relative content (%)
4.42 ~ 10.56	非脂肪酸	—
11.8	棕榈酸	3.87
13.8	亚油酸	12.15
13.88	油酸	13.31
14.17	硬脂酸	4.11
15.47	亚麻酸	12.09
15.64	共轭亚麻酸	9.48
15.81	共轭亚麻酸	17.4
15.91	共轭亚麻酸	21.83
16.06	共轭亚麻酸	2.49
16.83	EPA	3.3

从表 2 可以看出, 千年桐种子油中总脂肪酸占总油酯的 90.55%; 饱和脂肪酸占总油酯的 7.98%, 其中棕榈酸 3.87%, 硬脂酸 4.11%; 不饱和脂肪酸占总油酯的 82.21%, 不饱和脂肪酸中 18C 三烯酸占总油酯的 63.29%, 其中亚麻酸 12.09%, 共轭亚麻酸 51.2%, 共轭亚麻酸是共轭十八碳三烯酸的一组位置和几何异构体的混合物, GC/MS 法可以分开但不能鉴别共轭亚麻酸的顺反异构体^[8]。亚油酸和油酸分别占总油酯的 12.15% 和 13.31%; 不饱和脂肪酸中还含有少量的脑黄金 EPA(5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸)。

4 结论

本研究采用了三种不同溶剂提取千年桐种子油, 结果发现以氯仿为溶剂, 种子油得率最高。千年桐种子油最佳提取工艺为种子在常温下风干至恒重, 以氯仿为溶剂, 液料比为 12:1, 常温下提取 6 h。该方法具有操作简单, 成本低, 得油率高, 能保护千年桐种子油中各脂肪酸成分等优点。本研究以 2% 的硫酸-甲醇进行转酯化, 经气质联用分析脂肪酸组成, 油脂中富含不饱和脂肪酸, 饱和脂肪酸含量很低, 这表明了千年桐种子油是良好的干性油。本研究建立的提取法工艺及转酯化方法适用于千年桐种子油研究。同时研究表明, 千年桐种子油中富含不饱和脂肪酸, 这对利用千年桐资源开发植物多不饱和脂肪酸具有重要的指导意义。

参考文献

- Liao YZ(廖燕珍), Tan D(谭东). Processing and utilization of tung oil. *Guangxi Chem Eng*(广西化工), 1991, (1): 7-12.
- Huang K(黄坤), Xia JL(夏建陵). Progress of modification of tung oil and its derivatives in the application of polymer materials. *Chem Ind Eng Prog*(化工进展), 2008, 27: 1588-1592.
- Wei XZ(魏绣枝), Wang Y(王颖). Depth development and utilization of the tung oil resources. *Guangxi Forest Sci*(广西林业科学), 1994, 23: 105-106.
- Zhang PF(张平夫), Wang Q(王强), Liu HL(刘海林) *et al.* Study on the preparation of dimeric fatty-acid polyamide resin from Tung oil. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 1992, 12: 287-292.
- Xia JL(夏建陵), Huang H(黄焕), Li J(李健) *et al.* Synthesis and characterization of the adduct of methyl eleostearate with phenols. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 2000, 21: 1-3.
- Xia JL(夏建陵), Huang H(黄焕), Wang DX(王定选). Study on auto-oxidation and polymerization of methyl eleostearate. *Chem Ind Forest Prod*(林产化学与工业), 2000, 20: 25-29.
- Yang Y(阳艳), Zhang M(张敏). Study of the analysis method of fatty acid in tung oil of western hunan. *Forest By-Prod Special China*(中国林副特产), 2007, (4): 5-7.
- Fu CW(傅伟昌), Gu XH(顾小红), Tao GJ(陶冠军). A-nalysis of fatty acids and the structure identification of triacylglycerols in tung oil. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2008, 20: 964-968.
- (上接第 789 页)
- Zuo AL(左安连), Cai BG(蔡宝国), Li Q(李琼) *et al.* Research on the compositions of three different rose oils from China. The 7th Proceedings of the Seminar on Fragrance and Flavor China(第七届中国香料香精学术研讨会论文集), 2008, 16-25.
- Li B(李斌), Meng XJ(孟宪军), Yan TC(颜廷才) *et al.* Extracting rose essential oil with Supercritical Carbon Dioxide Fluid and analysing by GC/MS. *J Shenyang Agric Univ*(沈阳农业大学学报), 2007, 38: 170-173.
- Reverchon E, Porta GD. Rose concrete fractionation by supercritical CO₂. *J Supercrit Fluids*, 1996, 9: 199-204.
- Umez T, Ito H, Nagano K *et al.* Anticonflict effects of rose oil and identification of its active constituents. *Life Sci*, 2002, (72): 91-102.
- Jalali-Heravi M, Parastar H, Sereshti H. Development of a method for analysis of Iranian damask rose oil- Combination of gas chromatography-mass spectrometry with Chemometric techniques. *Anal Chim Acta*, 2008, 623: 11-21.
- Guo YL(郭永来), Zhang HY(张海云), Liu SM(刘泗明). 蒸馏法提取玫瑰油的工艺介绍. *Flavour Frag Cosmet*(香料香精化妆品), 2005(4): 34-35.
- Baydar H, Baydar NG. The effects of harvest date, fermentation duration and Tween 20 treatment on essential oil content and composition of industrial oil rose (*Rosa damascene* Mill.). *Ind Crops Prod*, 2005, 21: 251-255.
- Babu KGD, Singh B, Joshi VP *et al.* Essential oil composition of Damask rose(*Rosa damascene* Mill.) distilled under different pressures and temperatures. *Flavour Frag J*, 2002, 17: 136-140.
- Özel MZ, Göğüş F, Lewis AC. Comparison of direct thermal desorption with water distillation and superheated water extraction for the analysis of volatile components of *Rosa damascene* Mill. using GCxGC-TOF/MS. *Anal Chim Acta*, 2006, 566: 172-177.
- Bayrak A, Akgul A. Volatile oil composition of Turkish rose (*Rosa damascene*). *J Sci Food Agric*, 1994, (64): 441-448.
- Kováts ES. Composition of essential oils: Part 7. Bulgarian oil of rose(*Rosa Damascene* mill.). *J Chromatogr A*, 1987, 406: 185-222.