

风吹楠种子油萃取工艺研究及其脂肪酸成分分析

薛宝金^{1,2}, 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、乙醚和正己烷-异丙醇($v/v=3:2$)三种不同溶剂对风吹楠种子油进行萃取, 比较了不同溶剂对种子萃出率的影响。结果表明以乙醚为溶剂时萃出率最高; 并考察了萃取时间、超声波以及萃取溶剂体积对萃出率的影响。最终优化的萃取工艺为: 以乙醚为溶剂, 液料比为 $10:1 (v/w)$, 超声波($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 60 W)萃取 2 h , 萃出率达到 $60.27\text{ wt}\%$ 。萃取的种子油经转酯化后, GC-MS分析其脂肪酸组分, 结果表明风吹楠种子油脂中月桂酸(42.58%)和肉豆蔻酸(47.55%)占总脂肪酸的 90.13% , 不饱和脂肪酸不到 3% 。

关键词: 风吹楠; 萃取工艺; 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 *Horsfieldia amygdalina* Seed Oil and Analysis of Its Fatty Acids

XUE Bao-jin^{1,2}, FANG Zhen^{1*}

¹Biomass Group, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China;

²Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: *Horsfieldia amygdalina* oil was extracted using three different solvents of chloroform, ethyl ether and hexane-isopropanol ($3:2$, volume ratio). The results showed ethyl ether was the most efficient solvent for extraction. The effects of extraction time, ultrasonic wave and solvent volume on seed extraction yield were studied. The maximum extraction yield ($60.27\text{ wt}\%$) was achieved with a ratio $10:1 (v/w)$ of ethyl ether to seed kernel for 2 h extraction time under ultrasonic conditions ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 60 W). After transesterification of the seed oil with methanol, its major fatty acid composition was analyzed by GC-MS. The lauric acid (42.58%) and myristic acid (47.55%) accounted for 90.13% of total fatty acids, and unsaturated fatty acids was less than 3% .

Key words: *Horsfieldia amygdalina*; extraction technology; transesterification; fatty acids; GC-MS

风吹楠(*Horsfieldia amygdalina*)属肉豆蔻科风吹楠属^[1]。果实橙黄色, 椭圆形, 具宿存盘状花被裂片, 果皮近木质, 假种皮近橙红色。生长于海拔 $300\sim 700\text{ m}$ 沟谷、坡地林中, 仅分布于云南勐腊、景洪、沧源等县局部地域^[2]。风吹楠分布局限, 繁殖较慢, 资源量稀少, 为国家II级濒危保护植物^[3-4]。风吹楠种子含油量高, 种子油脂肪酸成分主要为肉豆蔻酸和月桂酸^[5]。种子油具有抗凝、增粘作用, 可制成润滑油添加剂, 使油在低温下而不凝固, 因而广泛用于军事、航空、机械等领域^[6]。本研究采用了氯仿、乙醚和正己烷-异丙醇($3:2, V/V$)三种不同溶剂对西双版纳采集的风吹楠种子脂溶性成分进行萃取, 比较了不同溶剂对种子萃出率的影响, 并对萃

取工艺进行了一定的优化。由于其种子油甘油三酯沸点较高, 需在硫酸催化作用下与甲醇发生酯交换反应生成脂肪酸甲酯, 从而符合色谱分析的条件^[7]。目前对风吹楠种子油萃取工艺研究甚少, 本研究确定了风吹楠种子油脂肪酸的萃取工艺, 通过GC-MS分析了其脂肪酸组分, 对风吹楠种子油的开发和风吹楠种质资源的保护具有指导意义。

1 材料、试剂及仪器设备

1.1 材料

风吹楠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)、乙醚(济南佳豪化工有限公司)、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

收稿日期: 2011-12-12 接受日期: 2012-02-23

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) 国家自然科学基金资助项目(21076220)

* 通讯作者 E-mail: zhenfang@xtbg.ac.cn

厂)和无水硫酸钠(上海化学试剂有限公司)均为分析纯。

1.3 主要仪器

电子天平(日本 Shimadzu 公司)、离心机(凯特实验设备有限公司)、真空干燥箱(上海恒科 DZF-6050)、超声波清洗机(AS 10200BDT Ultrasonic cleaner)、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 方法

2.1 风吹楠种子油萃取工艺研究

2.1.1 三种不同溶剂氯仿、乙醚、正己烷-异丙醇(3:2, V/V)对风吹楠种子萃出率的比较

准确称取干燥风吹楠去壳粗磨过的种子 3 份(0.1123、0.1162 和 0.0943 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萃取液,氯仿、乙醚和正己烷-异丙醇(3:2, V/V)震荡萃取 10 min。然后将萃取物分别转入 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,计算萃出率。

风吹楠种子萃出率计算公式为:萃出率(%) = 油脂(g) / 物料(g) × 100%

2.1.2 萃取溶剂体积的优化

准确称取 5 g 干燥风吹楠去壳细磨过的种子 9 份,分别加 40、45、50、55、60、65、70、75 和 80 mL 乙醚,超声波(25 °C, 60 W)萃取 6 h,加入 3 g 无水硫酸钠,过滤、干燥并称重,计算萃出率。

2.1.3 萃取时间的优化

准确称取 5 g 干燥风吹楠去壳细磨过的种子 18 份,分别加 50 mL 乙醚,每 9 份编号为一组,共两组(A 和 B)。A 组在超声波(25 °C, 60 W)协助下分别萃取 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 h, B 组不加超声波萃取 1、2、3、4、5、6、7、8 和 9 h。萃取完毕之后,加入 3 g 无水硫酸钠,过滤、干燥并称重,计算萃出率。

2.2 风吹楠油脂的转酯化

由方法 2.1.1 中乙醚萃取的风吹楠油脂,加入 1 mL 乙醚溶解后取 300 μL,加 500 μL 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 °C 反应 1 h。加 1% 的 KCl 溶液 300 μL 洗涤,混匀,3000 rpm 离心 5 min,去上清,重复两次, N₂ 吹干,加 1 mL 乙醚, GC-MS 分析。

2.3 GC-MS 测定条件

色谱条件: DB-5MS 柱(30 m × 0.25 i. d.),液膜厚度 0.25 μm;载气 He 气,纯度为 99.9995%,流量 1 mL/min;进样量 1 μL,分流比 50:1;进样口温度 225 °C,接口温度 225 °C;起始柱温 90 °C,以 20 °C/min 升至 150 °C,保留 0.5 min,以 10 °C/min 升至 250 °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 °C,离子源温度 250 °C;扫描质量范围 50 ~ 650 amu,扫描速率 3391.1 amu/s。

3 结果

3.1 溶剂对风吹楠种子萃出率的影响

据 2.1.1 的实验方案和数据,结合萃出率计算公式,可得出三种不同溶剂对风吹楠种子萃出率的影响,见表 1。使用乙醚萃取时平均萃出率达到了 60.27 wt%,与胡永华等^[5]报道的种仁含油率为 61.99% 相近,而其它两种溶剂萃取时萃出率则相对较低。三种不同溶剂萃取风吹楠种子萃出率顺序为乙醚 > 正己烷:异丙醇(3:2) > 氯仿,表明乙醚适合于风吹楠种子油脂的萃取。

表 1 三种不同溶剂对风吹楠种子萃出率的影响

Table 1 Effects of solvents on *Horsfieldia amygdalina* seed extraction yield

萃取溶剂 Extraction solvent	萃出率 Extraction yield (n = 3, $\bar{x} \pm s$, wt%)
正己烷:异丙醇(3:2, V/V)	39.85 ± 0.64
氯仿	37.25 ± 0.37
乙醚	60.27 ± 0.87

3.2 不同液料比对萃出率的影响

从液料体比为 8:1 开始至 10:1,萃出率在逐渐增加;当液料比为 10:1 时,萃出率达到了 60.27%,而继续增加液料体积质量比时,萃出率并没有明显增加,表明风吹楠种子油脂最佳萃取液料比为 10:1。

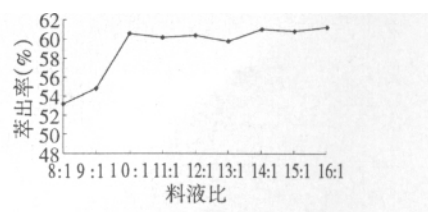


图 1 不同液料比对萃出率的影响

Fig. 1 Effect of extraction solvent volume on extraction yield

3.3 不同萃取时间对萃出率的影响

以乙醚为溶剂, 体积为 50 mL, 在超声波协同下, 达到最大萃出率并且恒定只需 2 h; 在不加超声波的条件下, 达到稳定的最大萃出率需 6 h, 表明超声波有助于风吹楠种子油萃取。原因可能是超声波加快了溶剂与物料的混合程度, 增加了接触比表面积, 能大大缩短达到最大萃出率所需的时间。

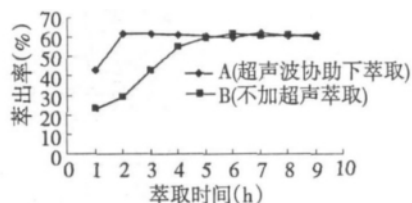


图2 不同萃取时间对萃出率的影响

Fig. 2 Effect of extraction time on extraction yield

3.4 风吹楠油脂脂肪酸成分分析

GC-MS 分析测定风吹楠油脂脂肪酸组分, 与质谱数据库进行比对, 对脂肪酸成分定性和定量分析。总离子流图和质谱数据库对比, 按面积归一法计算, 得风吹楠种子油脂脂肪酸组分结果。

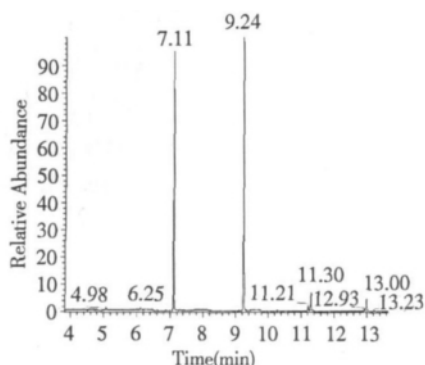


图3 风吹楠种子油转酯化后 GC-MS 色谱图

Fig. 3 GC-MS Chromatogram of *Horsfieldia amygdalina* seed oil after transesterification

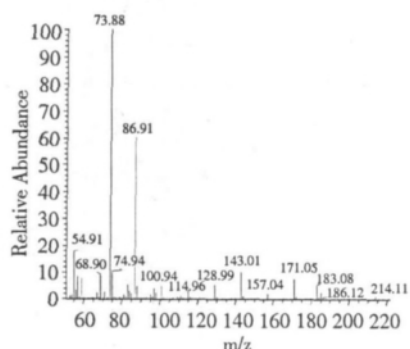


图4 t_R 为 7.11min 的风吹楠种子油转酯化后质谱图

Fig. 4 Mass spectrum of *Horsfieldia amygdalina* seed oil after transesterification at t_R 7.11 min

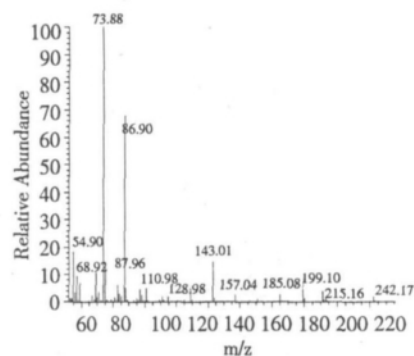


图5 t_R 为 9.24min 的风吹楠种子油转酯化后质谱图

Fig. 5 Mass spectrum of *Horsfieldia amygdalina* seed oil after transesterification at t_R 9.24 min

表2 风吹楠种子油脂脂肪酸组成

Table 2 Fatty acids content in seed oil of *Horsfieldia amygdalina*

保留时间 t_R (min)	脂肪酸 Fatty acid	相对含量 Relative content (%)
4.98	辛酸	0.60
6.25	癸酸	0.42
7.11	月桂酸	42.58
9.24	肉豆蔻酸	47.55
11.21	苯壬酸	1.36
11.30	棕榈酸	3.54
12.93	亚油酸	0.51
13.00	油酸	2.33
13.23	硬脂酸	0.40
-	其他脂肪酸	<1.00

4 结论

本研究采用了三种不同溶剂萃取风吹楠种子油, 结果发现以乙醚为溶剂, 种子油得率最高。风吹楠种子里含部分固体油, 这部分油溶于乙醚而不溶于氯仿等溶剂, 使得用乙醚作溶剂种子萃出率远远高于其他溶剂。风吹楠种子油最佳萃取工艺为种子在常温下风干至恒重, 以乙醚为溶剂, 液料比为 10:1, 超声波 (25 °C, 60 W) 下萃取 2 h。该方法具有操作简单, 萃出率高, 能保护风吹楠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 GC-MS 分析脂肪酸组成, 发现油脂中脂肪酸多为饱和脂肪酸, 不饱和脂肪酸含量很低, 不到 3%。饱和脂肪酸中富含月桂酸 (42.58%) 和肉豆蔻酸 (47.55%), 占总脂肪酸的 90.13%。

参考文献

- 1 《中国植物志》编辑委员会. 1979. 中国植物志: 第 30 卷, 北京: 科学出版社.
 - 2 Xu YL(许玉兰) ,et al. Extraction of oil from *Horsfieldia amygdalina* Seed and Its Analysis of Fatty Acids Components *J Anhui Agri Sci*(安徽农业科学) ,2010 ,38: 3993 , 3999.
 - 3 国家环境保护局 ,中国科学院植物研究所 ,1987. 中国珍稀濒危保护植物名录: 第 1 册. 北京: 科学出版社.
 - 4 Wen B(文彬) ,Song SQ(宋松泉) . A Brief Research into the Rare and Endangered Plants in Xishuangbanna. *J Central South Forestry Univ*(中南林学院学报) ,2005 ,25(2) : 50-54.
 - 5 Hu YH(胡永华) ,et al. Fatty Acids Components of Seed Oil in *Horsfieldia amygdalina*. *Trop Agric Sci & Tech*(热带农业科技) ,2010 ,33(4) : 27-28.
 - 6 Qi ZS(祁振声) . Special oil plant—*Horsfieldia amygdalina*. *Yunnan Forestry*(云南林业) ,2001 ,22: 20-21.
 - 7 Yang Y(阳艳) ,Zhang M(张敏) . Study of the Analysis Method of Fatty acid in Tung oil of western Hunan. *Forest By-Product and Speciality in China*(中国林副特产) ,2007 , (4) : 5-7.
-
- (上接第 197 页)
 - 3 Qi HY(戚欢阳) ,et al. The plant medicine of genus *Polygonum* in GanSu province. *J Chin Med Mater* ,2002 ,25: 164-165.
 - 4 Akira Y ,et al. Antioxidative sulphated flavonoids in leaves of *Polygonum hydropiper*. *Phytochem* ,1994 ,35: 885-887.
 - 5 Ghazal SA ,et al. Antimicrobial activity of *Polygonum* extracts and flavonoids. *Phytotherapy Res* ,1992 ,6: 265-269.
 - 6 Hiroyuki H ,et al. Effect of *Polygonum hydropiper* Sulfated Flavonoids on Lens Aldose Reductase and Related Enzymes. *J Nat Prod* ,1996 ,59: 443-445.
 - 7 Zhao FP ,et al. Antioxidant flavonoids from leaves of *Polygonum hydropiper* L. *Phytochemistry* ,2003 ,62: 219-228.
 - 8 Ono K ,et al. Catechin production in cultured *Polygonum hydropiper* cells. *Phytochemistry* ,1998 ,49: 1935-1939.
 - 9 Silvia NL ,et al. An unusual homoisoflavanone and a structurally-related dihydrochalcone from *Polygonum ferrugineum* (Polygonaceae) . *Phytochemistry* ,2006 ,67: 2152-2158.
 - 10 Yoshiyasu F ,et al. Drimane-type sesqui- and norsesquiterpenoids from *Polygonum Hydropiper*. *Phytochemistry* ,1985 ,24: 1521-1524.
 - 11 Yoshiyasu FA ,et al. A potent cytotoxic warburganal and related drimane-type sesquiterpenoids from *Polygonum Hydropiper*. *Phytochemistry* ,1982 ,21: 2895-2898.
 - 12 Yoshiyasu F ,et al. Hydropiperoside ,a novel coumaryl glycoside from the root of *Polygonum hydropiper* Tsunematsu takemoto. *Phytochemistry* ,1983 ,22: 549-552.
 - 13 Takuya F ,et al. Polygonolide ,an isocoumarin from *Polygonum hydropiper* possessing antiinflammatory activity. *Phytochemistry* ,1986 ,25: 517-520.
 - 14 Lai DM(赖东美) ,Shi LY(施连印) . Determination of gallic acid in *Polygonum flaccidum* Meisn by HPLC. *Strait Pharm J* ,2006 ,18(2) : 51-52.
 - 15 Yao ZF(姚祖凤) ,et al. Study the chemical constituents on essential oil from *Polygonum hydropiper* in xiangxi. *Nat Pro Res Dev* ,1998 ,11: 37-40.
 - 16 Liu YX(刘瑜新) ,et al. Fatty acids from *Polygonum hydroip-er*. *J Henan Univ*. 2009 ,28: 32-34.
 - 17 Ahmed M ,et al. Flavone and α -santalene derivatives from *Polygonum flaccidum*. *Phytochem* ,1991 ,30: 3155-3156.
 - 18 Liu XP(刘信平) ,et al. Study on chemical components for volatile oil from *Polygonum flaccidum* Messin. *Chin J Modern Applied Pharma* ,2009 ,26: 285-288.