

山茱萸果核油提取工艺优化及其成分的研究

周彩荣, 王晓松, 王海峰

(郑州大学 化工与能源学院, 河南 郑州 450001)

摘 要:以山茱萸果核油的提取率为考察指标,对经微波处理的山茱萸果核进行索氏提取,用单因素试验和均匀设计试验法确定提取工艺条件.结果表明,以微波处理6 min的山茱萸果核粉末为原料,丙酮作为提取溶剂,最佳的提取工艺条件为:水浴温度为70.5℃、提取时间为75 min、液固比为12 mL/g.同时,用GC-MS分析鉴定其提取物的主要成分为亚油酸、棕榈酸、油酸及其相关酯类,为山茱萸果核有效成分的开发利用提供了依据.

关键词:山茱萸;微波处理;气相色谱-质谱联用技术

中图分类号:TQ914.1;S58 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1671-6833.2013.03.008

0 引言

山茱萸(*Cornus officinalis*)集中分布于河南、浙江、安徽、陕西、四川等地的山区,是一种重要的野生植物资源.其果肉是一种传统的中药,具有补益肝肾、涩精固脱等功效^[1];其果核大量的都被当成废物而弃之.近年检测证明:山茱萸果核中含有大量有机化学物质,如:还原糖、多糖、有机酸、酚类、苷类、环烯醚萜类、皂类、鞣质、蛋白质、氨基酸、黄酮、蒽醌、甾体、三萜、内酯、香豆素、挥发油、维生素B1、维生素E、脂肪酸及微量元素等^[2],因而山茱萸果核 also 具有很高的保健或药用价值,所以从其中提取这些物质可以达到变废为宝的作用.目前已有文献[1-4]对山茱萸果核中的有效成分进行了简单分析,并对其保健或药用价值进行了研究,但是对于山茱萸果核提取工艺的研究和其主要化学成分的气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)的鉴定均鲜见文献报道.

笔者采用单因素试验和均匀设计试验法对山茱萸果核油的提取工艺条件进行了筛选,优选出最佳的工艺条件,同时用GC-MS分析鉴定提取物的主要化学成分,为以后进行山茱萸果核资源的开发利用提供了主要依据.

1 实验部分

1.1 材料与仪器

山茱萸果核(来自于河南省伏牛山区);正己烷、石油醚(60~90℃)、乙醚、乙酸乙酯、丙酮、乙醇均为天津市永大化学试剂开发中心的分析纯.主要仪器:GH1015超级恒温槽(上海衡平仪器仪表厂),RE52-99旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂),FA-2004电子分析天平(上海科学仪器厂),岛津GCMS-QP2010(日本岛津公司),Galan WD900型微波炉(顺德格兰仕微波炉有限公司),索氏提取器,中药粉碎机(上海淀久中药机械制造有限公司)等.

1.2 提取工艺及分析方法

1.2.1 提取工艺流程

将山茱萸果核晒干、粉碎、过筛(筛孔尺寸0.841 mm),置于微波炉中处理一定时间,然后准确称取15 g左右山茱萸果核粉末,装入自制滤纸筒,再将滤纸筒放入索氏提取器中,从提取器上部加入一定量的提取剂,加入时尽量让溶剂直接进入滤纸筒.在一定的水浴温度(加热媒介)下进行提取,提取结束后将溶液放入旋转蒸发仪浓缩溶液回收溶剂,从而得到粗产品,并按公式(1)计算山茱萸果核油的提取率^[5].

收稿日期:2012-11-01;修订日期:2013-01-11

基金项目:郑州市科技局科技攻关基金项目(0910SGYG23256-6)

作者简介:周彩荣(1958-),女,江苏沐阳人,郑州大学教授,博士,主要从事精细有机合成和基础工程数据的研究,
E-mail:zhoucairong@zzu.edu.cn.

提取率(%) = $\frac{\text{提取物质量}}{\text{样品质量}} \times 100\%$. (1)

1.2.2 山茱萸果核油的成分分析

气相色谱条件:SE-30 石英毛细管柱(30 m × 0.20 mm × 0.25 μm),柱前压 0.05 MPa,分流比 50:1,进样口温度 250 ℃,载气为 He,柱流量 1.0 mL/min⁻¹.柱初温 80 ℃,保持 3 min,程序升温速率为 10 ℃/min,升到 200 ℃,保持 5 min,再以 10 ℃/min 的升温速率,升到 245 ℃,保持 15 min.

质谱条件:EI 源;电离电压 70 eV,离子源温度 230 ℃,扫描范围 10 ~ 500 amu,进样量 1.0 μL.

2 结果与分析

2.1 提取剂的选择

选取 6 种常见的提取剂(石油醚、正己烷、乙醚、乙酸乙酯、丙酮和乙醇)进行实验研究,考察不同提取剂对提取率的影响.称取 6 份各 15 g 山茱萸果核粉末,分别加入上述 6 种提取溶剂 180 mL,然后保持以每小时回流 4 次的提取速率,提取至提取器中溶剂变澄清为止.每种提取溶剂平行测 3 次,取平均值.从试验结果可知,丙酮的提取率最高,可达 29% 左右,明显高于石油醚(5.88%)、正己烷(7.58%)、乙醚(9.91%)、乙酸乙酯(16.70%)和乙醇(26.45%)的提取率,综合经济因素,选取丙酮作为提取剂.

2.2 微波处理时间的确定

以丙酮为较佳提取溶剂,提取器中提取溶剂变澄清所需时间为提取时间,考察微波处理山茱萸果核的时间对提取率的影响.将山茱萸果核粉末置于微波炉中,固定微波功率为 840 W,分别进行微波处理 2,4,6,8,10 min,处理后的山茱萸果核粉末按照 1.2.1 节中的提取工艺进行提取.每组实验平行测 3 次,取平均值,实验所得结果见表 1.

由表 1 可知,随着微波处理山茱萸果核时间的增加,微波对细胞壁破碎的程度也增大,在用溶剂提取时其细胞中的有机物溶出速率增加,因而所需的提取时间缩短.当微波处理时间超过 6 min 后,由于细胞壁破碎基本完全,所以所需的提取时间趋向稳定,但山茱萸果核油的提取率稍微减少,原因在于长时间的微波作用会使得分子键断裂,发生降解作用,进而影响山茱萸果核油的提取率.故选取微波处理时间 t 为 6 min.

表 1 微波处理山茱萸果核的时间对提取率的影响

Tab.1 Effect of on the yield of extraction substances of time of microwave treatment the kernel of Comus officinalis

微波时 间/min	提取时 间/min	提取率 /%	微波时 间/min	提取时 间/min	提取率 /%
0	130	29.03	6	70	30.56
2	115	29.37	8	70	30.28
4	85	29.98	10	70	30.23

2.3 均匀设计法优选提取工艺

2.3.1 均匀试验设计结果

以微波处理 6 min 的山茱萸果核粉末为原料,丙酮作为提取溶剂,选择影响提取效果的 3 个主要因素:水浴温度(X_1)、提取时间(X_2)、液固比(X_3)进行考察.均匀设计试验表^[6]见表 2.按均匀设计试验表中各参数进行提取试验,提取液经过减压蒸馏,称重.按照公式(1)计算提取率.均匀试验结果见表 2.

表 2 均匀试验结果

Tab.2 Results of the uniform design experiments

因素	水浴温度 $X_1/^\circ\text{C}$	提取时间 X_2/min	液固比 $X_3/(\text{mL} \cdot \text{g}^{-1})$	提取率 $Y/\%$
1	58	30	11	13.45
2	58	60	10	14.06
3	63	45	9	21.46
4	63	75	12	25.56
5	68	45	12	25.04
6	68	75	9	26.40
7	73	30	10	20.95
8	73	60	11	26.65

2.3.2 模型拟合

采用 DPS 数据处理软件和 SPSS17.0 统计软件对数据进行分析拟合,得到以山茱萸果核中油脂的提取率(Y)对水浴温度(X_1)、提取时间(X_2)和液固比(X_3)的多元线性逐步回归方程和二次多项式逐步回归方程.

(1)多元线性逐步回归方程: $Y = -35.869\ 2 + 0.646\ 9X_1 + 0.156\ 3X_2 + 0.665\ 5X_3$ ($r = 0.906\ 3$); $P = 0.056\ 2 > 0.05$, $S = 2.986\ 8$, $R_a = 0.829\ 0$, 决定系数为 0.821 3,剩余通径系数为 0.422 7.

结果表明,方程显著性水平太低,相关性差,模型拟合度不好,预测性较差.

(2)二次多项式逐步回归方程: $Y = -369.706\ 4 + 11.989\ 9X_1 - 1.008\ 8X_2 - 0.090\ 4X_1^2 - 0.076\ 4X_3^2 + 0.0107\ X_1X_2 + 0.038\ 8X_2X_3$ ($r = 0.999\ 8$); $P = 0.039\ 9 < 0.05$, $S = 0.300\ 5$, $R_a =$

0.998 4, 决定系数为 0.999 6, 剩余通径系数为 0.021 3.

结果表明, 显著性水平高, 模型拟合度和预测性较好.

2.3.3 工艺优化

根据上述二次多项式模型绘制响应曲面图^[7]如图 1 所示. 从图 1 可知, 随水浴温度的升高, 提取剂挥发越多, 山茱萸果核油的提取率先增大后降低, 在水浴温度为 70.5 ℃, 提取时间 75

min, 液固比为 12 mL/g 时达到最大, 其提取率为 31.11%. 当温度超过 70.5 ℃ 后, 提取率开始降低. 这可能是由于温度过高, 溶剂挥发加快, 浸出过程难以稳定, 从而导致提取率降低^[8]. 当提取时间和液固比增加时, 油脂的提取率也相应增加, 这是因为在一定范围内, 提取时间的延长和提取溶剂用量的加大可以使山茱萸果核与溶剂接触更加充分, 山茱萸果核油能够充分溶解.

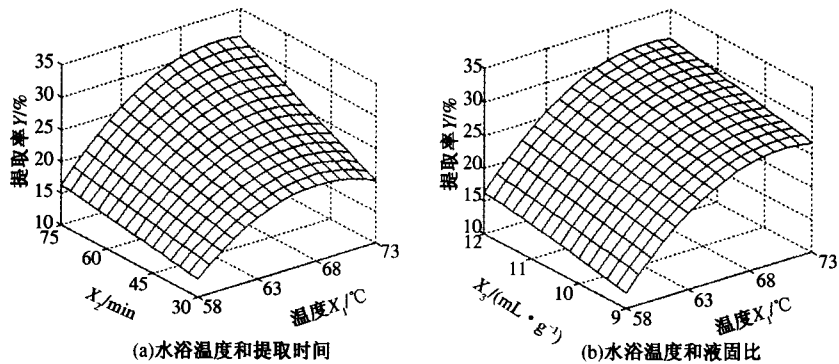


图 1 山茱萸果核中油脂提取率的响应曲面图

Fig.1 Response surface graphy in yiled of substanes

为了考察继续增加提取时间和液固比下油脂提取率的变化趋势, 分别进行了 2 个单点验证试验, 每组实验平行测 3 次, 取平均值, 其结果列于表 3.

表 3 单点验证试验结果

Tab.3 Results of single point of validation experiments

因素	水浴温度 $X_1/^\circ\text{C}$	提取时间 X_2/min	液固比 $X_3/(\text{mL}\cdot\text{g}^{-1})$	提取率 $Y/\%$
1	70.5	90	12	30.83
2	70.5	105	12	31.15
3	70.5	75	12	30.49
4	70.5	75	13	30.67
5	70.5	75	14	31.03

从表 3 可知, 当水浴温度为 70.5 ℃、提取时间为 75 min、液固比为 12 mL/g 时, 提取率较为合适. 因为继续增加提取时间和液固比对油脂的提取率影响不大, 表明山茱萸果核中的大部分油脂已经被溶解出来, 提取率趋于稳定.

综合经济等因素考虑, 优选的工艺为水浴温度为 70.5 ℃、提取时间为 75 min、液固比为 12 mL/g.

2.4 工艺验证试验

通过上面的讨论, 在优化条件下进行了 3 次平行验证性实验. 结果表明: 山茱萸果核中油脂提取率实测值为 30.49%, 预测值(通过方程得到的最大理论值)为 31.11%, 两者相比, 相对误差约

为 0.7%. 显然, 优化结果是可信的, 所选工艺路线和工艺条件是可行的.

2.5 山茱萸果核油的成分分析

由岛津 GCMS-QP2010 分析测定山茱萸果核油的组成, 通过 NIST05 谱库自动检索获得初步鉴定结果. 根据所得质谱图与 EPA/NIH 以及有关文献对照, 再结合相关文献进行人工谱图解析, GC-MS 共分离出 42 个峰, 鉴定了占总组分浓度 92.77% (峰面积归一化) 的 20 种物质, 其余 22 种物质由于含量极少或现有谱图库的限制, 未能解析确认, 结果见表 4. 由表 4 可知, 山茱萸果核油中所含不饱和脂肪酸占总量的 67.75%, 以亚油酸为主 (58.52%); 饱和脂肪酸以棕榈酸为主 (10.27%), 不饱和脂肪酸具有降低血清胆固醇和低密度胆固醇含量等生理功能^[9-10]. 因此, 本研究结果可为从山茱萸果核中开发具有保健或药用功能的油脂产品提供理论依据.

3 结论

(1) 确定了丙酮为山茱萸果核油提取的较佳溶剂, 微波处理山茱萸果核的时间 6 min 为宜.

(2) 通过均匀设计并结合效应曲面优化出了提取山茱萸果核油的工艺条件为: 水浴温度 70.5 ℃、提取时间为 75 min、液固比为 12 mL/g, 油脂提取率为 30.49%.

表 4 山茱萸果核中提取物的 GC-MS 分析结果
Tab.4 GC-MS analysis of extraction substanes
from the kernel of Cornus officnalis

No.	物质	CAS 登记号	分子式	含量/%
1	二碘甲烷	75-11-6	C ₂ H ₂ I ₂	0.43
2	反式-2-庚烯醛	18829-55-5	C ₇ H ₁₂ O	0.48
3	(E,E)-2,4-壬二烯醛	5910-87-2	C ₉ H ₁₄ O	1.26
4	(E,E)-2,4-癸二烯醛	25152-84-5	C ₁₀ H ₁₆ O	1.57
5	肉豆蔻酸	544-63-8	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	0.21
6	正十六烷	544-76-3	C ₁₆ H ₃₄	0.11
7	正十七烷	629-78-7	C ₁₇ H ₃₆	1.31
8	2,6,10,14-四甲基十五烷	1921-70-6	C ₁₉ H ₄₀	0.28
9	硬脂酸	57-11-4	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1.35
10	十九烷	629-92-5	C ₁₉ H ₄₀	2.31
11	棕榈酸甲酯	112-39-0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	2.46
12	棕榈酸	57-10-3	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	10.27
13	二十烷	112-95-8	C ₂₀ H ₄₂	0.41
14	正二十一烷	629-94-7	C ₂₁ H ₄₄	0.62
15	亚油酸甲酯	112-63-0	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	0.45
16	1-溴二十二烷	6938-66-5	C ₂₂ H ₄₅ Br	0.57
17	亚油酸	60-33-3	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	58.52
18	油酸	112-80-1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	8.78
19	二十三烯	27519-02-4	C ₂₃ H ₄₆	0.25
20	正三十五烷	630-07-9	C ₃₅ H ₇₂	1.13
21-42	未知物			7.23
总计				100

(3)用气相色谱-质谱联用技术分析鉴定出了提取物的成分,为从山茱萸果核中开发具有保健或药用功能的油脂产品提供了理论依据.

参考文献:

[1] 尚遂存,刘亚竞,萧学风,等. 山茱萸果核提取物

抗氧化性作用的研究[J]. 林产化学与工业, 1990, 10(4):217-225.

[2] DU Wei-feng, CAI Hao, WANG Ming-yan, et al. Simultaneous determination of six active components in crude and processed fructus corni by high performance liquid chromatography[J]. Journal of Pharmaceutical and Biom edical Analysis, 2008,48(1):194-197.

[3] 张红玉,徐建伟,王利丽. 山茱萸果核与果肉的抗炎药理作用对比性研究[J]. 浙江中医杂志,2007, 42(12):724-725.

[4] 张广强,刘伟,尚遂存,等. 山茱萸核中脂肪酸的测定[J]. 中药材,1991,14(1):38-39.

[5] 梁永海,李凤林,于加平,等. 不同方法萃取大蒜油生产工艺的研究及其成分的分析[J]. 中国粮油学报,2006,21(2):69-71.

[6] 方开泰,马长兴. 正交与均匀试验设计[M]. 北京:科学出版社,2001.

[7] 李博,屠幼英,梅鑫,等. 响应面法优化超临界 CO₂ 提取茶籽多糖的工艺研究[J]. 高校化学工程学报,2010,24(5):897-902.

[8] 范三红,原超,刘艳容,等. 超声波辅助提取南瓜籽油及其脂肪酸组成研究[J]. 食品科学,2010,31(24):107-110.

[9] Warensjö E,Risérus U,VESSBY B. Fatty acid composition of serum lipid predicts the development of metabolic syndrome in men [J]. Diabetologia, 2005, 48(10):1999-2005.

[10] 葛奉娟,王欲晓,周俊,等. 重络酸钾氧化比色法和气相色谱法定量分析发酵液中己醇的比较研究[J]. 徐州工程学院学报:自然科学版,2011,26(2):64-68.

Optimization on Extracting the Organic Substances from the Kernel of Cornus Officnalis and Analysis of Its Ingredients

ZHOU Cai-rong, WANG Xiao-song, WANG Hai-feng

(School of Chemical Engineering and Energy, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Taking the extraction rate as the indexes, the optimal extraction processing conditions were explored by the single-factor experiment and the uniform design experiment. The kernel of cornus officnalis was treated 6min under the condition of microwave radiation before extraction process was done by acetone as the extrac-tion solvent. The optimum conditions were found to be water-bath temperature of 70.5℃, extracting time of 75min and liquid-solid ratio of 12 mL/g. The components extracted were mainly linoleic acid, oleic acid, pal-mitic acid, etc. by GC-MS. The results providle reference for exploiting and utilizing active ingredients for the kernel of cornus officnalis.

Key words: comus officnalis; microwave treatment; GC-MS