

狭果茶藨种子脂肪酸的分析

刘 梅, 杨月琴, 胡凤祖, 师治贤*

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

摘 要:用超临界萃取技术对产于青藏高原上的狭果茶藨种子中脂肪酸进行萃取, 其萃取率为 12%。用毛细管气相色谱对萃取的脂肪酸进行了分离和分析。结果表明不饱和脂肪酸的质量分数在 90% 以上。其中 α -亚麻酸(α -Linolenic acid)为 27.4%, γ -亚麻酸(γ -Linoleic acid)为 4.93%, 亚油酸(Linoleic acid)为 32.61%。

关键词:狭果茶藨; 气相色谱; 超临界萃取; 脂肪酸

中图分类号: O657.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-0720(2004)11-0036-03

狭果茶藨(*Ribes Stenocarpum*)是虎耳草科茶藨属植物^[1]。是青藏高原产的 13 种茶藨植物中资源最丰富, 果实繁多而饱满。青藏高原各族人民在长期的生活实践中, 用狭果茶藨防治心脑血管疾病, 是一种常用的单味保健药。茶藨属植物全世界约 150 种。我国分布 45 种, 青藏高原产 13 种。生长在海拔 2600 ~ 3700 m 的山坡林下, 河谷灌丛。主要分布在青海互助北山林场, 以及祁连和玉树等地。茶藨属植物在“晶珠本草”中记载: 甘、微寒、滋补止泻; 有敛毒, 除黄水之功效, 并能收敛各种脉管病等^[2]。是一种藏医常用藏药。因此, 对青藏高原产的狭果茶藨果实种子深层次、系统的研究, 找出防止心脑血管和提高人体免疫功能的生理活性, 这不但为青藏高原茶藨植物药学的研究和开发提供科学的理论和实践基础, 而且为藏药现代化研究增加新内容和新思路。

青藏高原的两种特有的门源茶藨(*Ribes Meyuanense*)^[3]和青藏茶藨(*Ribes qingzangense*)^[4]种子中的脂肪酸组成已有报道。狭果茶藨尚未研究过。植物种子中的脂肪酸组成一般比较复杂, 多采用高效、快速毛细管气相色谱法分离分析比较理想。

1 实验部分

1.1 材料

狭果茶藨于 2001 年 8 月份采自海拔 3000 m 以上的青海互助北山林场。果实采集后保存在阴凉处, 半阴干后剥去果肉, 晾干, 干燥保存, 以备实验用。

1.2 仪器和试剂

CO₂ 超临界萃取仪(广州轻工业研究所生产容量 10 kg); GC-9A 毛细管气相色谱仪(日本岛津公司); 带氢火焰离子化检测(FID); C-R2A 数据处理机; 旋转蒸发器(瑞士公司 Buehli); 各种脂肪酸标准品均采自美国 Sigma 公司, 乙醚(A.R.)(30 ~ 60 °C)(西安化学试剂厂), KOH(A.R.)。

2 结果与讨论

2.1 脂肪酸萃取方法

2.1.1 溶剂萃取法 将剥去果肉后的籽粒精选去杂后, 加相当于籽粒质量 8% ~ 10% 的水。在 80 °C 下软化 4 h, 粉碎均匀。

准确称取 10.0 g 粉碎后的籽粒, 用 20 mL 的乙醚浸泡过夜后, 索氏法提取 8 h, 然后冷却, 用无水 Na₂SO₄ 干燥 4 h 过滤, 回收乙醚。得深绿色的脂肪酸混合物, 脱色后得亮黄色的脂肪酸混合物 1.1 g, 其萃取率为 11.0%。

2.1.2 CO₂ 超临界萃取法 超临界流体既有与气

收稿日期: 2003-11-11; 修订日期: 2004-03-18

基金项目: 青海省自然科学基金资助

作者简介: 刘 梅(1955-), 女, 工程师

体相当的高渗透能力和低的粘度,又具有与液体相近的密度和对物质优良的溶解能力,比起溶剂萃取法,超临界萃取法比较理想。具体运行过程如下:选用剥果肉的籽粒去杂后,加相当于籽粒质量8%~10%的水,在80℃下软化4~5 h。然后粉碎至1~1.5 mm,在萃取床中加料10 kg,按以下萃取条件进行运行:压力15 MPa,温度41℃,动态流量45 L/h,经过8~10 h的萃取,得清亮棕色的脂肪酸混合物1195 g,其萃取率12.0%。

溶剂萃取法完全除去残留溶剂比较困难,操作步骤比较多,在运行的过程中不但脂肪酸油有损失,更重要的是多种不饱和脂肪酸容易被氧化,使生物活性降低。而选用CO₂超临界萃取技术不但避免了上述的不足,如果增加循环时间即可保证了萃取脂肪酸的质量,又能提高萃取率。

2.2 脂肪酸的分析

2.2.1 脂肪酸衍生物的制备 称取萃取的脂肪酸混合物0.8 g,置10 mL的试管中,小心用新配的石油醚-乙醚溶剂(V(石油醚):V(乙醚)=4:3)溶解,然后加入4 mL含0.5 mol/mL的新配置的KOH的甲醇溶液,振荡5 min,在室温下放置20 min后,加入少许蒸馏水,静置1.5 h,小心取上清液进行毛细管气相色谱分析。

2.2.2 脂肪酸色谱条件的选择 弹性毛细管柱FFAP(50 m×0.22 mm),柱温150~240℃,程序升温,升温速率5℃/min,在240℃时,保持50 min,检测器温度280℃,汽化室温度280℃,载气(高纯N₂)42 mL/min, H₂的压力0.1 MPa,空气0.08 MPa,尾气流速49 mL/min,火焰离子化检测器FID,衰减×10⁴,进样量1 mL。其脂肪酸甲酯色谱分离图如图1。

2.2.3 脂肪酸的定性定量 按照2.2.1制备标准脂肪酸甲酯,然后在同一色谱条件下,利用标准脂肪酸甲酯保留时间与样品中脂肪酸甲酯比较确定脂肪酸的定性分析。用标准混合脂肪酸甲酯外标法定量,在时间程序上删除溶剂峰后,采用面积归一化法,在数据处理机上进行计算,其结果如表1。

3 结论

狭果茶藨是产于青藏高原上资源丰富,成熟期果实丰满的茶藨属植物。经用毛细管气相色谱分离和分析其不饱和脂肪酸的质量分数在90%以上,其中属 ω -3多不饱和脂肪酸的 α -亚麻酸质

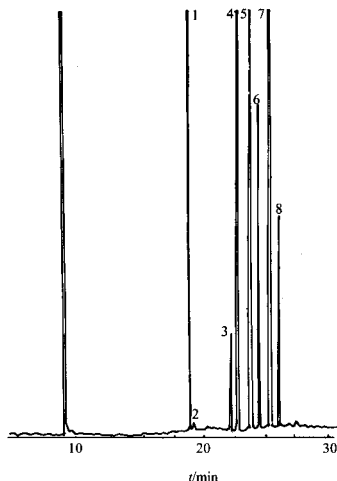


图1 脂肪酸甲酯色谱分离图

Fig.1 Chromatograms for separation of fatty acids by CGC
1-软脂酸; 2-棕榈油酸; 3-硬脂酸; 4-油酸; 5-亚油酸; 6- γ -亚麻酸; 7- α -亚麻酸; 8-十八碳四烯酸

表1 狭果茶藨果实油脂中脂肪酸组成

Tab.1 Contents of fatty acids in ribes stenocarpum

峰号	脂肪结构	质量分数 w/ %	脂肪酸
1	C ₁₆ :0	6.06	软脂酸
2	C ₁₆ :1	0.08	棕榈油酸
3	C ₁₈ :0	1.99	硬脂酸
4	C ₁₈ :1(9)	21.03	油酸
5	C ₁₈ :2(9,12)	32.61	亚油酸
6	C ₁₈ :3(6,9,12)	4.93	γ -亚麻酸
7	C ₁₈ :3(6,9,15)	27.40	α -亚麻酸
8	C ₁₈ :4	3.8	十八碳四烯酸

量分数占27.40%,属 ω -6的多不饱和脂肪酸的亚油酸质量分数为32.61%和 γ -亚麻酸质量分数为4.93%,这些脂肪酸不仅是人体重要必须的脂肪酸,而且具有明确的功效。药理和临床证明^[5,6], α -亚麻酸可经酶转化成二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),它具有改善心脑血管疾病和高血脂疾病的作用;亚油酸和 γ -亚麻酸是活性很强的脂肪酸,在足够酶的作用下,可提供正常代谢功

能的前列腺素,可抗血栓,降低胆固醇,改善血液循环。

狭果茶藨种籽中脂肪酸采用现代化 CO₂ 超临界萃取技术,减少了操作过程中的污染,保证了药用多不饱和脂肪酸生理活性。用高效毛细管气相色谱对各脂肪酸进行了分离和分析,由色谱分离图可以看出,峰形对称,清晰,主峰含量高,杂质峰含量很底,这不但确保了分析数据的准确性,也保证了狭果茶藨种籽中萃取出的脂肪酸质量。

参考文献

- [1] 潘金堂. 高原生物学集刊, 1994, 12: 1
- [2] 杨永昌, 何廷农, 卢生莲等. 藏药志, 1991. 404
- [3] 师治贤, 刘梅, 胡凤祖等. 分析试验室, 2002, 21(5): 23
- [4] 师治贤, 刘梅, 胡凤祖等. 西北植物学报, 2004, 24(1): 149
- [5] 赵淑春, 富力, 于英. 营养学报, 1994, 16(2): 232
- [6] 范文洵. 生理科学进展, 1988, 19(2): 110

Analysis of the fatty acids in seeds of *ribes stenocarpum* LIU Mei, YANG Yue-qin, HU Feng-zu and SHI Zhi-xian (Northwest Plateau Institute of Biology, The Chinese Academy of Sciences, Xining 810001), Fenxi Shiyanshi, 2004, 23(11): 36 ~ 38

Abstract: This paper dealt with constitution of fatty acids in the seed of *Ribes stenocarpum* in Qinghai-Tibetan Plateau. A method based on SFE and CGC was applied to the qualitative and quantitative analysis of the fatty acids in the seeds of *Ribes stenocarpum*. The extraction efficiency was 12.5%. The results showed that the contents of unsaturated acid were about 90.0%. Among them, α -linolenic acid, γ -linolenic acid and linoleic acid were 27.40%, 4.93% and 32.61%, respectively.

Keywords: *Ribes stenocarpum*; Capillary gas chromatography; Fatty acids; Supercritical fluid extraction

仪 器 信 息

我单位有一台 95 年启用的 ICP 全谱直读光谱仪, 今年即将更新此台仪器。有对此仪器感兴趣者, 请将您的联系方式用 E-mail 发送到 shihj@aphy.iphy.ac.cn。并欢迎到本单位来考察仪器。