

文章编号 :1000-4025(2005)08-1669-03

糖茶藨子种子脂肪酸含量分析

师治贤, 刘梅, 杨月琴, 胡凤祖

(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糖茶藨子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 -linolenic acid)为 2.70%。亚油酸(linoleic acid)40.0%, 油酸(oleic acid)21.0%。

关键词 糖茶藨子; 气相色谱; 超临界萃取; 脂肪酸

中图分类号 Q946.81 Q949.751.2 文献标识码 A

Determination of the Fatty Acids in *Ribes himalaense*

SHI Zhi-xian, LIU Mei, YANG Yue-qin, HU Feng-zu

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xi'ning 810001, China)

Abstract The supercritical fluid extraction was adopted to extract the fatty acids in *Ribes himalaense* seeds produced in the Qinghai-Tibetan plateau with its extraction rate standing at 12%. The capillary gas chromatography was used to isolate and analyze the extracted fatty acids. The results indicated that the unsaturated fatty acids occupied more than 90%; α -linolenic acid and γ -linolenic acid accounted for 27.4% and 2.70% respectively; linoleic acid and oleic acid covered 40.0%, and 21.0%, respectively.

Key words *Ribes himalaense*; gas chromatography; supercritical fluid extraction; fatty acids

糖茶藨子(*Ribes himalaense*)是虎耳草科茶藨子属植物^[1],在青藏高原产的 13 种茶藨子植物中资源丰富,分布广泛,且果实繁多而饱满。青藏高原各族人民在长期的生活实践中,用糖茶藨子果实防治心脑血管疾病,增加人体免疫功能,是一种常用的单味保健药。茶藨子属植物全世界约 150 种,我国分布 45 种,青藏高原产 13 种,生长在海拔 2 600 m~3 700 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。每年 5~6 月为花期,7~8 月为果期。茶藨子属植物在《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

产的糖茶藨子果实种子深入系统的研究,找出预防心脑血管和提高人体免疫功能的生理活性成分,这不但为青藏高原茶藨子属植物药学的研究和开发提供科学的理论依据和实践基础,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子(*Ribes menyuanense*)^[3]和青藏茶藨子(*Ribes qingzangense*)^[4]种子中的脂肪酸组成含量已有报道,但糖茶藨子尚未研究过。为使糖茶藨子种子中的脂肪酸避免损失和氧化,采用 CO₂ 超临界萃取技术。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。

收稿日期 2005-01-06 修改稿收到日期 2005-04-14

基金项目 青海省自然科学基金资助项目(200207)

作者简介 师治贤(1940-),男(汉族),研究员,博士生导师。

1 实验部分

1.1 材料

糖茶藨于 2001 年 8 月份采自海拔 3 000 m 以上的青海高原互助北山林场。果实采集后存放在阴凉处,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)·GO-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 Buehler 公司)·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 脂肪酸萃取方法

2.1 溶剂萃取法

将剥去果肉后的籽粒精选去杂后,加 8%~10% 的水。在 80 °C 下软化 4 h,粉碎(过 80~100 目筛)。然后准确称取 20.0 g 粉碎后的籽粒,用 40 mL 的乙醚浸泡过夜后,采用索氏法提取 8 h,冷却,将提取液用无水 Na₂SO₄ 干燥 4 h 过滤,除去乙醚,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 2.2 g,其萃取率为 11.0%。

2.2 CO₂ 超临界萃取法

超临界流体既有与气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,超临界萃取法的结果较为理想。具体操作过程:选用剥果肉的籽粒去杂后,加 8%~10% 的水,在 80 °C 下软化 4~5 h。然后粉碎(1~1.5 mm),在萃取釜中加料 10 kg,按以下步骤萃取:CO₂ 净化-冷却-加压-进萃取釜-选择的工艺条件-压力 15 MPa,温度 41 °C,动态流量 45 L/h,经过 8~10 h 的萃取,得到清亮棕色的脂肪酸混合物 1.195 g,其萃取率为 12.0%。

3 脂肪酸含量的分析

3.1 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(4:3)溶剂溶解,然后加入 4 mL 含 0.5 mol/L 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,小心取上清进行毛细管气相色谱分析。

3.2 脂肪酸色谱条件的选择

毛细管柱弹性 FFA P(50 m × 0.22 mm),柱温 150~240 °C,程序升温,升温速率 5 °C/min,在 240 °C 时保持 50 min,检测器温度 280 °C,汽化室温度 280 °C,载气(高纯 N₂)42 mL/min, H₂ 的压力 0.1 MPa,空气压力 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见图 1。

3.3 脂肪酸的定性定量分析

按照 3.1 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。定量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,其结果见表 1。

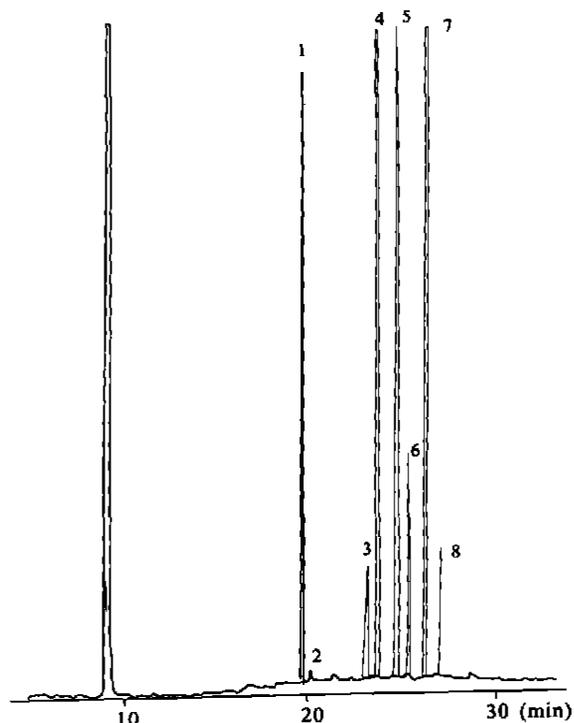


图 1 脂肪酸甲酯色谱分离图

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。

Fig. 1 Isolation chromatogram of the fatty acids by CGC
1. Palmitic acid; 2. Palmitic acid; 3. Stearic acid; 4. Oleic acid; 5. Linoleic acid; 6. γ -linolenic acid; 7. α -linolenic acid; 8. Parinaric acid

4 结果与讨论

(1) 糖茶藨是产于青藏高原资源丰富、成熟期

果实丰满的茶藨属植物。用毛细管气相色谱分离和分析其不饱和脂肪酸含量在 90% 以上,其中属 ω 3 多不饱和脂肪酸的 α -亚麻酸含量占 27.40%,属 ω 6 的多不饱和脂肪酸的亚油酸含量为 40.0%、 γ -亚麻酸为 2.70%,这些脂肪酸不仅是人体重要必需的脂肪酸,而且具有明确的功效。药理和临床证明^[5,6]这些不饱和脂肪酸能有效调节血脂,降低血清胆固醇

甘油三酯和低密度脂蛋白,降低血液粘度,防止血栓形成。其中 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),可进一步发挥调节血脂的作用,具有改善心脑血管疾病和高血脂疾病的作用;而油酸和 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。

表 1 糖茶藨果实油脂中脂肪酸含量

Table 1 Contents of the fatty acids in *Ribes himalaense* seeds

峰号 Peak No.	脂肪酸结构 Composition of the fatty acids	含量 Contents of fatty acids(%)	脂肪酸 Fatty acids
1	C ₁₆ 0	4.7	软脂酸(palmitic acid)
2	C ₁₆ 1	0.05	棕榈油酸(palmitic acid)
3	C ₁₈ 0	1.62	硬脂酸(stearic)
4	C ₁₈ 1(9)	21.0	油酸(oleic acid)
5	C ₁₈ 2(9,12)	40.0	亚油酸(linoleic acid)
6	C ₁₈ 3(6,9,12)	2.7	γ -亚麻酸(γ -linolenic acid)
7	C ₁₈ 3(6,9,15)	27.40	α -亚麻酸(α -linolenic acid)
8	C ₁₈ 4	1.7	十八碳四烯酸(parinaric acid)

(2)糖茶藨种子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,保证了药用的多不饱和脂肪酸的活性。因为,CO₂ 的临界温度为 31.1,临界压力为 7.2 MPa,在选择操作条件下,完全有效地防止多不饱和脂肪酸的氧化和分解。得到的脂肪酸是天然的,无污染。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,杂质峰含量很低,这不但确保了分析数据的准确性,也保证了糖茶

藨种子中萃取出的脂肪酸质量。

(3)溶剂萃取法完全去除残留溶剂比较困难,操作步骤比较多,在萃取的过程中不但脂肪酸油有损失,更重要的是多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,如果增加循环时间既可保证脂肪酸萃取的质量,又能提高萃取率。

致谢 潘锦堂研究员鉴定标本,特此致谢。

参考文献:

- [1] PAN J T (潘锦堂). New taxa of the genus *Ribes* L. from Qingzang Plateau [J]. *Acta Biologica Sinica* (高原生物学集刊), 1994, 12: 1-7 (in Chinese).
- [2] 杨永昌, 何廷农, 卢生莲, 等. 藏药志 [M]. 西宁: 青海人民出版社, 1991: 404-405.
- [3] SHI ZH X (师治贤), LIU M (刘梅), HU F Z (胡凤祖). A nalysis on fatty acids in seeds of *Ribes qingzangense* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2004, 24(1): 149-151 (in Chinese).
- [4] SHI ZH X (师治贤), LIU M (刘梅), HU F Z (胡凤祖). A nalysis of the fatty acids in *Ribes qingzangense* seed [J]. *Chinese Journal of A nalysis Laboratory* (分析试验室), 2002, 21(5): 23-24 (in Chinese).
- [5] ZHAO SH CH (赵淑春), FU L (富力), YU Y (于英). A study on nutrients in the seed of six kind of *Ribes* in Plateau [J]. *Acta Nutriments Sinica* (营养学报), 1994, 16(2): 232-235 (in Chinese).
- [6] FAN W X (范文洵). α -linolenic acid and metabo lite EPA and DHA [J]. *Progress in Physiological Sciences* (生理科学进展), 1988, 19(2): 110-113 (in Chinese).