

· 制剂与工艺 ·

## 锁阳籽油的超临界 CO<sub>2</sub> 萃取及其成分分析

邓娟<sup>1,2</sup>, 王旭<sup>3</sup>, 甘霖<sup>3</sup>, 王劼<sup>1,2</sup>, 孙菁<sup>1</sup>, 周玉碧<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院藏药研究重点实验室/青海省青藏高原特色生物资源研究重点实验室, 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810008; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 阿拉善盟科技局信息研究所, 阿拉善 750399)

**摘要** 目的: 优化锁阳籽油的萃取条件并分析成分。方法: 通过响应面设计优化超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取锁阳籽油的试验条件, 采用 GC-MS 方法对锁阳籽油进行成分分析。结果: 优化的锁阳籽油超临界流体萃取最佳条件为压力 29 Pa、温度 37 °C、CO<sub>2</sub> 流量 20 mL/min、萃取时间 2.5 h, 在此条件下萃取率为 4.71%。同时, 对最优条件下所获萃取物进行了 GC-MS 分析, 共鉴定出 34 种化合物, 鉴定率达 98.87%。锁阳籽油中脂肪酸含量达 97.69%, 主要成分为反式油酸(35.59%)、十六烷酸(14.99%)、8,10-二甲氧基十八烷酸(11.63%)。结论: 应用优化所得萃取条件萃取锁阳籽油, 萃取率相对较高。锁阳籽油中以不饱和脂肪酸和甲氧基酸为主, 二者含量共占提取物的 66.61%。

**关键词** 锁阳; 籽油; 超临界流体萃取; GC-MS; 成分分析; 响应面优化;

中图分类号: R283.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-4454(2017)05-1152-04

DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2017.05.034

### Optimization of Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction and Composition Analysis of *Cynomorium songaricum* Seed Oil

DENG Juan<sup>1,2</sup>, WANG Xu<sup>3</sup>, GAN Ling<sup>3</sup>, WANG Jie<sup>1,2</sup>, SUN Jing<sup>1</sup>, ZHOU Yu-bi<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Tibetan Medicine Research and Qinghai Key Laboratory of Qinghai-Tibet Plateau Biological Resources, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; 3. Information Institute of Alxa Science and Technology Bureau, Alxa 750399, China)

**Abstract** Objective: To optimize the process of supercritical CO<sub>2</sub> extraction and to analyze the composition of *Cynomorium songaricum* seed oil. Methods: The process of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Cynomorium songaricum* seed oil was optimized by response surface methodology, and the chemical composition of the seed oil was analyzed by GC-MS method. Results: The optimal and viable condition of extraction were as follows, the extraction pressure was 29 MPa, the extraction temperature was 37 °C, the CO<sub>2</sub> flowrate was 20 mL/min and the extraction time was 2.5 h. The yield of *Cynomorium songaricum* seed oil was 4.71%. In addition, 34 compositions were identified by GC-MS by from *Cynomorium songaricum* seed oil, the identification rate was 98.87%. Content of fatty acid in *Cynomorium songaricum* seed oil is up to 97.69%. The main composition was (Z)-9-octadecenoic acid (35.59%), hexadecanoic acid (14.99%) and 8,10-dimethoxyl octadecanoic acid (11.63%). Conclusion: In the optimization condition of extraction can increase the yield of *Cynomorium songaricum* seed oil. *Cynomorium songaricum* seed oil have high content in unsaturated fatty acids and methoxy acid.

**Key words** *Cynomorium songaricum* Rupr.; Seed oil; Supercritical CO<sub>2</sub> extraction; GC-MS; Composition analysis; Response surface methodology

锁阳为锁阳科植物锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr. 的干燥肉质茎, 具有补肾阳、益精血、润肠通便之功效<sup>[1]</sup>。研究表明, 锁阳中含有多种活性成分, 具有抗氧化、增强免疫力、保护神经等药理作用<sup>[2-4]</sup>。

植物油脂是人体必需脂肪酸的重要来源之一, 具有诸多生理功能和作用。锁阳籽较为细小, 含油率较低, 传统的方法难以萃取。与传统的方法比较, 超临界流体萃取法具有萃取率高、无溶剂残留等优点。目

前, 响应面分析法在中药领域的应用主要集中在中药提取及制备工艺的优化<sup>[5]</sup>。本文采用响应面分析法优化超临界流体萃取锁阳籽油的萃取条件, 并采用 GC-MS 对锁阳籽油成分进行分析, 以期对锁阳籽油的进一步开发利用提供基础依据。

#### 1 仪器与材料

1.1 仪器 SFT-100 超临界萃取系统(美国 SFT 公

收稿日期: 2016-08-23

基金项目: 青海省基础科学研究计划项目(2016-ZJ-765); 阿拉善盟科技计划项目(A-4); 青海省重点实验室发展建设专项(2017-ZJ-Y10)

作者简介: 邓娟(1992-), 女, 在读硕士研究生, 专业方向: 中药资源; E-mail: dengjuan@nwipb.cas.cn.

\* 通讯作者: 周玉碧, E-mail: ybzhou@nwipb.cas.cn.

司);5890N 气相色谱/5973N 四级杆质谱仪(美国安捷伦科技公司)。

1.2 材料 样品于 2014 年 8 月采自内蒙古阿拉善盟,经由卢学峰研究员鉴定为锁阳科植物锁阳 *Cynomorium songaricum* Rupr.。将锁阳籽收集,经除杂、晾干后,粉碎,过 80 目筛后得到。实验所用正己烷、二氯甲烷、甲醇(均为分析纯,由天津试剂三厂生产,且经过二次蒸馏后待用);CO<sub>2</sub>(纯度>99.9%);He(纯度 99.999%)。

## 2 方法

### 2.1 锁阳种子超临界流体萃取的响应面优化设计

在前期预试验的基础上,选定萃取压力、温度、CO<sub>2</sub> 流量及萃取时间为考察因素,以锁阳籽油的萃取率为考察指标,采用 Design-Expert 8.0 统计软件设计响应面分析试验(表 1),研究超临界流体萃取锁阳籽油的<sup>1</sup>最优萃取工艺参数。

表 1 响应面试验因素编码及水平表

因素	编码值		
	-1	0	1
X <sub>1</sub> 萃取压力/MPa	20	25	30
X <sub>2</sub> 萃取温度/℃	35	40	45
X <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> 流量/(mL/min)	12	16	20
X <sub>4</sub> 萃取时间/h	1.5	2	2.5

2.2 GC-MS 分析条件 GC 条件:气化室温度 280℃;载气为高纯氦气;载气流速为 1.2 mL/min;载气线速度为 40 cm/s;程序升温:80℃起始以 4℃/min 升至 290℃后恒温 20 min。MS 条件:离子源为 EI 源,离子源温度 230℃;四极杆温度 150℃;离子源电离能 70 eV;成分鉴定使用美国 NIST05L 谱库。

## 3 结果与分析

3.1 响应面分析优化超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取及结果分析 根据表 1 及 Box-Behnken 试验设计原理,按照设定的萃取条件,通过超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取锁阳籽油,试验结果见表 2。

根据表 2 结果,以 Y 萃取率为响应值,经 Design-Expert 8.0 软件进行分析,得到的回归方程为: $Y = -23.62516 + 0.85682X_1 + 0.589X_2 - 0.1258X_3 + 2.37423X_4 - 0.0037725X_1X_2 + 0.00671285X_1X_3 + 0.025256X_1X_4 - 0.00258454X_2X_3 - 0.037116X_2X_4 - 0.028381X_3X_4 - 0.015665X_1^2 - 0.00455023X_2^2 + 0.0060832X_3^2 + 0.072761X_4^2$ 。

对回归方程进行方差分析(表 3)。由表 3 可以看出,模型的  $P < 0.0001$ ,因此回归模型极显著。失拟项  $P$  为  $0.0533 > 0.05$ ,表明失拟项不显著,模型与实际拟合较好。由方差分析结果可得,一次项中

表 2 响应面分析实验设计及结果

序号	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	Y/%
1	0	-1	1	0	3.86
2	0	0	-1	-1	2.47
3	-1	0	-1	0	2.84
4	1	0	1	0	3.87
5	1	1	0	0	3.30
6	0	0	-1	1	3.93
7	0	0	1	-1	3.38
8	1	0	0	-1	3.05
9	0	-1	0	-1	2.58
10	0	0	0	0	3.47
11	0	0	0	0	3.46
12	0	1	1	0	3.73
13	0	0	0	0	3.67
14	-1	1	0	0	2.94
15	0	1	-1	0	3.29
16	1	0	0	1	4.61
17	-1	0	1	0	3.07
18	0	0	0	0	3.42
19	0	1	0	1	4.08
20	0	1	0	-1	2.96
21	-1	0	0	1	3.15
22	-1	0	0	-1	1.85
23	1	0	-1	0	3.11
24	0	0	0	0	3.53
25	0	-1	-1	0	3.21
26	1	-1	0	0	3.20
27	0	0	1	1	4.61
28	0	-1	0	1	4.07
29	-1	-1	0	0	2.47

影响显著的因素为萃取压力(X<sub>1</sub>)、CO<sub>2</sub> 流量(X<sub>3</sub>)、萃取时间(X<sub>4</sub>),且影响萃取率的主次为:萃取时间>萃取压力>CO<sub>2</sub> 流量。二次项中,萃取压力(X<sub>1</sub>)的平方对萃取率影响显著。4 个影响因素中,各个因素之间的交互作用不显著。运用软件 Design-Expert 8.0 求解方程的得到最佳萃取条件为:萃取压力为 28.65 MPa、萃取温度为 37.55℃、CO<sub>2</sub> 流量为 19.52 mL/min、萃取时间 2.48 h,最佳萃取率为 4.72%。

实际操作中,选择萃取压力 29 MPa、萃取温度 37℃、CO<sub>2</sub> 流量 20 mL/min、萃取时间为 2.5 h,在此条件下,重复 3 次,锁阳籽油的平均萃取率为 4.71%,与理论值基本一致。说明该方程与实际情况拟合度高,验证了该模型准确、可靠。

3.2 锁阳籽油的 GC-MS 分析 将实际最优萃取条件下所得锁阳籽油经 BF<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH 甲酯化后,进行

表 3 方差结果分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	10.120	14	0.720	17.610	<0.0001	***
X <sub>1</sub>	1.950	1	1.950	47.500	<0.0001	***
X <sub>2</sub>	0.068	1	0.068	1.600	0.2179	
X <sub>3</sub>	1.120	1	1.120	27.410	0.0001	
X <sub>4</sub>	5.530	1	5.530	134.780	<0.0001	***
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	0.036	1	0.036	0.870	0.3677	
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	0.072	1	0.072	1.760	0.2063	
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	0.016	1	0.016	0.390	0.5431	
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	0.011	1	0.011	0.260	0.6178	
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	0.034	1	0.034	0.840	0.3752	
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	0.013	1	0.013	0.310	0.5841	
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	0.990	1	0.990	24.240	0.0002	
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	0.084	1	0.084	2.040	0.1747	
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	0.061	1	0.061	1.500	0.2413	
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	2.15 × 10 <sup>-3</sup>	1	2.15 × 10 <sup>-3</sup>	0.052	0.8224	
残差	0.570	14	0.041			
失拟项	0.540	10	0.054	5.740	0.0533	
纯误差	0.037	4	9.35 × 10 <sup>-3</sup>			
总和	10.69	28				

GC-MS 分析。共鉴定出 34 种化合物,并按照峰面积归一法得到各组分的相对含量。其 GC-MS 总离子流图如图 1 所示,分析鉴定结果见表 4。从表 4 可得锁阳籽油中脂肪酸系列的含量达到 97.69%,醛系列化合物仅占 1.18%。锁阳籽油脂肪酸系列中不饱和酸(51.10%)、甲氧基酸(15.51%)、羧基酸(4.61%)和二元酸(0.85%)为主要成分,而且均为有强活性的脂肪酸,因而锁阳种子有较强的生物活性。锁阳种子萃取物脂肪酸中含有庚酸、壬酸、十一酸、十一烷二酸、十三烷酸、十五烷酸、十七烷酸等 7 种奇数碳链脂肪酸,奇数碳链脂肪酸具有较强的抗癌活性<sup>[6]</sup>。锁阳籽油含有较高含量的不饱和脂

肪酸(51.10%),其中主要为油酸(40.66%),对人体健康有利的顺式油酸占总脂肪酸的 35.59%。研究报告,不饱和脂肪酸具有防治心脑血管疾病、促进脑组织发育等生理作用,且改善机体代谢和免疫功能,是人体必需的脂肪酸<sup>[7,8]</sup>。

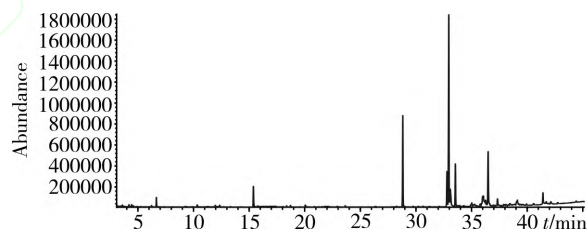


图 1 锁阳籽油的 GC-MS 总离子流图

表 4 锁阳籽油的 GC-MS 分析结果

峰号	化合物名称	分子式	分子量	相对含量/%
1	2,4-庚二烯醛 2,4-Heptadienal(E,E)	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	110	0.259
2	2,4-庚二烯醛 2,4-Heptadienal(Z,Z)	C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O	110	0.321
3	庚酸 Heptanoic acid	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	144	0.139
4	壬醛 Nonanal	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O	142	0.203
5	辛酸 Octanoic acid	C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	158	1.226
6	壬酸 Nonanoic acid	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	172	0.099
7	2-癸烯醛 2-Decenal	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	154	0.397
8	癸酸 Decanoic acid	C <sub>11</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	186	0.084
9	8-羰基-辛酸 8-oxo-Octanoic acid	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>	172	0.289
10	庚二酸 Heptanedioic acid	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>	188	0.155
11	十一酸 Undecanoic acid	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>	200	0.069
12	9-羰基-壬酸 9-oxo-Nonanoic acid	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	186	3.674

续表 4

峰号	化合物名称	分子式	分子量	相对含量/%
13	辛二酸 Octanedioic acid	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>4</sub>	202	0.267
14	十二酸 Dodecanoic acid	C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>	214	0.075
15	10-羰基-癸酸 10-oxo-Decanoic acid	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub>	200	0.222
16	壬二酸 Anchoic acid	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>4</sub>	216	0.290
17	10-羰基-8-癸烯酸 10-oxo-8-Decenoic acid	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>	198	0.424
18	十三酸 Tridecanoic acid	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	228	0.085
19	癸二酸 Decanedioic acid	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>	230	0.142
20	十四烷酸 Tetradecanoic acid	C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	242	0.233
21	十一烷二酸 Undecandioic acid	C <sub>13</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub>	244	0.043
22	十五烷酸 Pentadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	256	0.296
23	十六烷酸 Hexadecanoic acid	C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	270	14.993
24	十七烷酸 Heptadecanoic acid	C <sub>16</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	284	0.137
25	亚油酸 9,12-Octadecadienoic acid	C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	294	6.236
26	反-油酸 9-Octadecenoic acid(E)	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	35.589
27	顺-油酸 9-Octadecenoic acid(Z)	C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	296	5.071
28	十八烷酸 Octadecanoic acid	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	398	7.682
29	9,10,12-三甲氧基-十八烷酸 Octadecanoic acid,9,10,12-trimethoxyl	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	388	1.521
30	10,11,13-三甲氧基-十八烷酸 Octadecanoic acid,10,11,13-trimethoxyl	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>5</sub>	388	2.357
31	8,10-二甲氧基十八烷酸 Octadecanoic acid,8,10-dimethoxyl	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>4</sub>	358	11.633
32	11-二十烯酸 11-Eicosenoic acid	C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	324	1.700
33	二十烷酸 Eicosanoic acid	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>	326	0.451
34	芥酸 13-Docosenoic acid	C <sub>23</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>	352	2.507

锁阳茎超临界萃取物成分的 GC-MS 分析鉴定得到 48 种成分,主要脂肪酸为油酸、 $\alpha$ -亚油酸、棕榈酸<sup>[9]</sup>。而在锁阳籽油中检测出的 34 种化合物与锁阳茎中共有的化合物为 9 种。锁阳籽油中主要脂肪酸为油酸、十六烷酸、8,10-二甲氧基十八烷酸,且十六烷酸、8,10-二甲氧基十八烷酸在锁阳茎脂肪酸中未检测出。说明锁阳茎和种子中超临界萃取物均以脂肪酸类成分为主,但其所含脂肪酸种类及含量差别较大。

#### 4 结论

本研究采用响应面分析法优化了锁阳籽油超临界流体萃取的萃取条件,得到实际操作中最佳萃取条件为:萃取压力为 29 MPa、萃取温度为 37 °C、CO<sub>2</sub> 流量为 20 mL/min、萃取时间 2.5 h,在此条件下萃取率为 4.71%。对萃取条件的优化较大提高了超临界萃取率。对超临界流体萃取的锁阳籽油进行 GC-MS 分析,共鉴定出 34 种化合物,其成分以脂肪酸系列占绝对优势。锁阳籽油脂脂肪酸系列中主要以不饱和酸、甲氧基酸、羧基酸等具有强活性的脂肪酸为主,可见锁阳种子有较强的生物活性,且脂肪酸中对人体健康有益的不饱和酸的含量较高。

#### 参 考 文 献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S].一部.北京:中国医药科技出版社,2015:346.
- [2] Meng HC, Wang S, Li Y, et al. Chemical constituents and pharmacologic actions of *Cynomorium* plants[J]. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 2013, 11(4): 0321? 0329.
- [3] 陶晶,屠鹏飞,徐文豪,等. 锁阳茎的化学成分及其药理活性研究[J].中国中药杂志,1999,74(5):292-294.
- [4] Wang JL, Zhang J, Zhao BT. Structural features and hypoglycaemic effects of *Cynomorium songaricum* polysaccharides on STZ-induced rats [J]. *Food Chemistry*, 2010(120):443 - 451.
- [5] 余小翠,刘高峰. 响应面分析法在中药提取和制备工艺中的应用[J].中药材,2010,10:1651 - 1655.
- [6] 苏宜香. 脂肪酸与健康概要[J].中国卫生标准管理,2010,01:8 - 10.
- [7] 毛峰,秦振华. 长链多不饱和脂肪酸与人体健康[J].医药产业资讯,2006,3:40 - 41.
- [8] 熊正英,张崇旭,郑毅. 多不饱和脂肪酸与运动[J].青海师范大学学报(自然科学版),2002,(3):67 - 70.
- [9] 危晴,杨国伟,刘俊英,等. 锁阳超临界萃取物成分的 GC-MS 分析[J].江苏农业科学,2012,06:300 - 302.