

酸枣仁油中脂溶性成分的研究

张敏, 杨茜, 王妮辰, 刘娟, 姜涛, 楼阁, 王伟*

(天津出入境检验检疫局动植物与食品检测中心, 天津 300461)

摘要: **目的** 研究酸枣仁的脂溶性化学成分。 **方法** 采用索氏提取法提取酸枣仁中的酸枣仁油, 测定不皂化物用 GB/T 5535.1-2008 方法处理, 测定脂肪酸用甲酯化方法处理, 最后用气相色谱-质谱联用仪测定不皂化物和脂肪酸。 **结果** 检出 9 种不皂化物和 6 种脂肪酸, 其中不皂化物分别为叶绿醇、亚油酸乙酯、油酸乙酯、香叶基醇、角鲨烯、菜油甾醇、豆甾醇、 γ -谷甾醇、桦木酸甲酯, 其相对含量最多的是 γ -谷甾醇和叶绿醇; 脂肪酸分别为棕榈酸、松油苯二甲酸、硬脂酸、油酸、十八碳二烯酸、花生油酸, 其中油酸和十八碳烯酸的含量最高。 **结论** 该方法快速、准确、简便, 为进一步研究酸枣仁药用价值提供依据。

关键词: 酸枣仁油; 不皂化物; 脂肪酸; 气相色谱-质谱联用仪

Analysis of liposoluble components from the oil of Semen Ziziphi Spinose

ZHANG Min, YANG Xi, WANG Wei-Chen, LIU Juan, JIANG Tao, LOU Ge, WANG Wei*

(Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin 300461, China)

ABSTRACT: Objective To Study the fat-soluble chemical composition of Semen Ziziphi Spinose. **Methods** The oil of Semen Ziziphi Spinose in samples were extracted by Soxhlet extraction method. The GB/T 5535.1-2008 method was applied to detect the unsaponifiable matter and methyl ester method processing was used to determine fatty acid. The contents of fatty acid and unsaponifiable matter were detected by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Results** Totally 9 kinds of unsaponifiable matter and 6 kinds of fatty acid was detected in the samples, including unsaponifiable material such as phytol, linoleic acid ethyl ester, ethyl oleate, geranyl alcohol, squalene, campesterol, stigmasterol, gamma sitosterol, and birch acid methyl ester, with the most two of gamma sitosterol and phytol. Fatty acid included palmitic acid phthalate, pine oil, stearic acid, oleic acid, 18 carbon diene acid, arachidic acid, and oleic acid. And the content of 18 carbon olefine and oleic acid were of the highest. **Conclusion** The method is rapid, accurate, and convenient, and it provides the basis for further study on medicinal value of Semen Ziziphi Spinose.

KEY WORDS: the oil of Semen Ziziphi Spinosa; unsaponifiable matter; fatty acid; gas chromatography-mass spectrometry

1 引言

酸枣树, 鼠李科植物, 为果药兼用野生树种, 主

产于河北、陕西、辽宁、河南等省份。其果实为酸枣仁(Semen Ziziphi Spinosa), 具有补肝、宁心、敛汗、生津的功能, 用于虚烦不眠、惊悸多梦、津伤口渴等

*通讯作者: 王伟, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: wangw@tjciq.gov.cn

*Corresponding author: WANG Wei, Senior Engineer, Animal, Plant and Foodstuffs Inspection Center, Tianjin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.158 Jingmen Road, Free Trade Zone, Tianjin Port, Tianjin 300461, China. E-mail: wangw@tjciq.gov.cn

症^[1], 属于卫生部颁布的第一批药食同源两用品^[2]。陈藏器谓:“其枣圆小而味酸, 其核微圆而仁稍长, 色赤如丹”, 说明古今用药基本一致, 《本草纲目》曾记载“主烦心不得眠”, 将其列为本部类, 《中药学》列为养心安神类药^[3]。酸枣仁不论生用、熟用都有安神催眠作用, 在炮制过程中久炒油枯会使疗效降低^[4], 说明酸枣仁油在疗效中起着重要作用。

酸枣仁中含有脂肪酸类(约占 32%)^[5]、黄酮、皂苷类、生物碱, 还含有维生素 C、植物甾醇及罗珠子酸甲酯(alphitolic acid methylester)^[6]、酸枣多糖、胡萝卜苷^[7]、阿魏酸^[8]、白桦酯酸(betulinic acid)、白桦酯醇(betutin)、美洲茶酸(ceanothic acid)、麦珠子酸(alphitoolic acid)等三萜化合物^[7]; 微量元素有 K、Na、Ca、Zn、Fe、Cu、Mn、Ni、Mo、Se、Cd 等^[8]; 磷脂类成分磷脂酰胆碱、LPC、PC、PE 及 PA 等以及重要的生物信息物质 cAMP 及 cGMP^[9]。

目前, 有关酸枣仁的研究较多。赵秋贤等^[10]利用浮动法和落砂法研究了酸枣仁油剂对小鼠自主活动的影响, 结果表明用 1.4 mL/kg 或 0.35 mL/kg 酸枣仁油剂灌胃给药, 每天 2 次, 连续 3 d 可使小鼠自主活动减少; 酸枣仁油乳剂与戊巴比妥钠合用, 可延长小鼠的睡眠时间。说明酸枣仁油可能是酸枣仁镇静催眠作用的有效成分。张雪等^[11]以羟基自由基、超氧自由基清除能力、抗蛋白质糖基化反应及 D-半乳糖氧化模型小鼠血液和肝脏中的 MDA 含量和 GSH—Px 活力的影响为指标, 考察了酸枣仁油体内外抗氧化活性, 结果表明酸枣仁油具有较好的体内抗氧化作用。纪姝晶等^[12]采用索式提取法提取相同产地 32 种酸枣仁中的皂苷 A、B, 并以高效液相色谱(HPLC)法测定其含量。结果表明, 不同品种酸枣仁皂苷 A 及 B 含量有一定差异, 酸枣仁皂苷 A 和 B 能够较为全面评价酸枣仁的皂甙水平。本研究通过对酸枣仁油的脂溶性成分分析, 确定了酸枣仁油中的脂肪酸组和不皂化物的成分, 为酸枣仁油的开发、酸枣仁药用机制研究和综合利用提供了基础数据。

2 材料与方法

2.1 原料与试剂

酸枣仁(河北农业大学中国枣研究中心提供); 乙醇(分析纯)、乙醚(分析纯)、石油醚(分析纯)购于天津市天力化学试剂有限公司; 丙酮(分析纯)、甲醇(色谱

纯)、正己烷(色谱纯)购于天津市科密欧化学试剂有限公司; 氢氧化钾(分析纯)购于天津市凯通化学试剂有限公司; 所用水均为蒸馏水。

2.2 主要仪器设备

7890A 气相色谱—质谱仪(美国安捷伦公司); 电子天平 BS.214.D(北京赛多利斯仪器系统有限公司); HH-2 型数显恒温水浴锅; 101C-3 型电热鼓风干燥箱; 索氏提取器(上海申迪玻璃仪器有限公司); 回流提取装置: MYB 型调温电热套 500 mL, 500 mL 圆底烧瓶, 冷凝管, 天津市中环实验电炉有限公司; 离心机: Ank TDL-5。

2.3 酸枣仁油提取

提取酸枣仁油用索氏提取的方法进行。

酸枣仁 → 烘干 → 粉碎 → 称量
→ 索氏提取 → 回收石油醚 → 烘干

首先把酸枣仁在烘干箱中烘干, 然后用粉碎机进行粉碎成粉末状, 称取 5 g 样品装滤纸斗中, 把滤纸斗的开口处折起来封死, 将索氏提取仪安装好, 倒入石油醚, 在水浴锅中虹吸 2 h 后, 当石油醚在提取管中的液面即将达到虹吸管的上弯头处时, 从水浴锅中取出索氏提取装置, 室温冷却 5~10 min; 之后继续放入恒温水浴锅中加热直至冷凝管下端无石油醚滴下, 表明平底烧瓶中的石油醚已经蒸干, 再将平底烧瓶放入 120 °C 的电热鼓风干燥箱中烘 15 min, 取出后即为其所提取的酸枣仁油。

2.4 酸枣仁油的不皂化物的测定

测定流程: 酸枣仁油 → 称量 → 皂化
→ 不皂化物的提取 → 乙醚提取液的洗涤
→ 蒸发溶剂 → 残留物的处理 →
气相色谱-质谱联用仪分析。

2.4.1 不皂化物的提取及分离

酸枣仁油不皂化物的测定参照 GB/T 5535.1-2008^[13]方法提取。准确称取约 5 g 酸枣仁油于圆底烧瓶中, 加 1 mol/L 氢氧化钾—乙醇溶液 50 mL 及几粒沸石, 连接回流冷凝管, 在水浴锅上回流加热 1 h, 如溶液不透明则需继续回流至溶液透明为止。用 2 mL 95%乙醇冲洗冷凝管内壁, 取下冷凝管, 在磨口锥形瓶中加水 100 mL, 摇匀。稍冷后趁热转移皂化液至 500 mL 分液漏斗中, 用 100 mL 石油醚分几次洗涤烧瓶和沸石, 洗液倒入分液漏斗, 盖好塞

子,用力摇动 1 min,倒转分液漏斗并小心打开活塞,间歇释放内压。静止分层后,尽量将下层皂化液放入第二支分液漏斗中。如果形成乳化液,可加少量乙醇或浓氢氧化钾或氯化钠溶液进行破乳。采用相同的方法,每次用 100 mL 乙醚再提取皂化液两次,收集 3 次乙醚提取液放入装有 40 mL 水的分液漏斗中。轻轻转动装有提取液和 40 mL 水的分液漏斗。等完全分层后弃去下面水层。用 40 mL 水再洗涤乙醚溶液两次,每次都要剧烈震摇,且在分层后弃去下面水层。排出洗涤液时需留 2 mL,然后沿轴线旋转分液漏斗,等待几分钟让保留的水层分离。弃去水层,当乙醚溶液到达旋塞口时关闭旋塞。用 40 mL 氢氧化钾水溶液、40 mL 水相相继洗涤乙醚溶液后,再用 40 mL 氢氧化钾水溶液进行洗涤,然后用 40 mL 水洗涤至少两次以上。继续用水洗涤,直到加入 1 滴酚酞溶液至洗涤液后,不再呈粉红色为止。通过分液漏斗的上口,将乙醚溶液完全转移至 250 mL 烧瓶中,在沸水浴上蒸馏回收溶剂。

2.4.2 气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)条件

气相色谱条件:色谱柱: HP-MS19091S-433(30 m×0.25 mm, 0.25 μm), 进样口温度 260 °C, 柱温 180 °C, 保持 3 min, 升温速率 10 °C/min 升至 260 °C, 保持 1 min, 再以 25 °C/min 升温速率升至 280 °C, 保持 20 min; 载气: 高纯氦气, 氦气流速 1 mL/min, 柱前压 64 kPa, 分流比 15 : 1。

质谱条件: 接口温度 280 °C, 电离方式 EI, 电子能量 70 eV, 离子源温度 250 °C, 四极杆温度 130 °C;

调谐方式: 标准调谐; 质量扫描方式: SCAN。溶剂延迟: 3 min。扫描范围: 50~550 amu。

2.5 酸枣仁油脂肪酸的测定

2.5.1 甲酯化

取 0.1 g 油样于 10 mL 容量瓶中用正己烷定容, 振荡摇匀, 即为样品。取 10 mL 离心管加入 2 mL 样品和 0.2 mL 氢氧化钾-甲醇溶液, 手心温度振荡, 充分反应 10 min。在离心机中以 4000 r/min, 离心 5 min 左右, 取上层清液(正己烷层) 过 0.45 μm 的有机膜上机检测。

2.5.2 GC-MS 条件

气相色谱条件: 色谱柱: Agilent 119091N-133 极性柱(30 m×250 μm, 0.25 μm); 程序升温: 180 °C 保持 5 min, 2 °C 升温至 230 °C, 进样口温度 250 °C; 分流比 20:1; 溶剂延迟 3 min; 载气: He, 流速: 2 mL/min。

质谱条件: EI 离子源, 离子源温度 230 °C; 电子能量: 70 eV; 发射电流 34.6 μA; 电子倍增器电压 1200 V; 质量范围 20~500 amu。

3 结果

3.1 酸枣仁油的不皂化物的组成

将酸枣仁油中的不皂化物进行气相色谱-质谱分析, 不皂化物的 GC-MS 离子流图如图 1 所示, 各色谱峰相应的质谱图检索采用 NIST02.L 标准谱库进行检索, 并逐个解析各峰相应的质谱图, 结果见表 1。

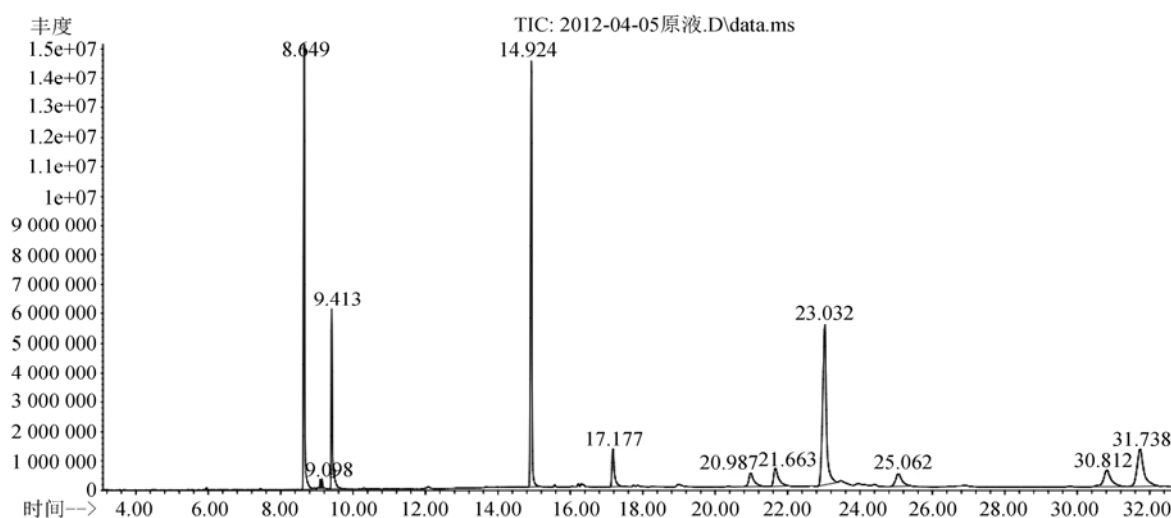


图 1 酸枣仁油中不皂化物 GC-MS 总离子色谱图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of unsaponifiables in Semen Ziziphi Spinosae oil

表 1 酸枣仁中的不皂化物成分

Table 1 Components from the oil of Semen Ziziphi Spinose

峰号	保留时间(min)	对应不皂化物	相对分子量	匹配度(%)
1	8.649	叶绿醇	296	91
2	9.098	亚油酸乙酯	308	99
3	9.143	油酸乙酯	310	99
4	9.413	香叶基醇	290	91
5	14.924	角鲨烯	410	99
6	20.987	菜油甾醇	400	97
7	21.663	豆甾醇	412	99
8	23.032	γ -谷甾醇	414	96
9	30.812	桦木酸甲酯	470	

从酸枣仁油中共检测出 9 种不皂化物, 分别为叶绿醇、亚油酸乙酯、油酸乙酯、香叶基醇、角鲨烯、

菜油甾醇、豆甾醇、 γ -谷甾醇、桦木酸甲酯, 其匹配度都达 90% 以上, 其相对含量最多的是 γ -谷甾醇和叶绿醇, 分别占到 23.237%、18.144%, 含量最少的是亚油酸乙酯和油酸乙酯, 其含量都小于 0.5%。

3.2 酸枣仁油中脂肪酸的组成

实验室提取的酸枣仁油呈澄黄色。将酸枣仁油进行甲酯化后, 进行气相色谱-质谱分析, GC-MS 离子流图如图 2, 所示采用不做校正的峰面积归一化法得出各组分的相对含量, 各色谱峰相应的质谱图检索采用 NIST02.L 标准谱库进行检索, 并逐个解析各峰相应的质谱图。

由表 2 可知, 共检测出 6 种脂肪酸, 分别是: 棕榈酸、松油苯二甲酸、硬脂酸、油酸、十八碳二烯酸、花生油酸。其中油酸和十八碳二烯酸的含量最高, 都占到 40% 以上, 最少的是松油苯二甲酸, 含量小于 1%。

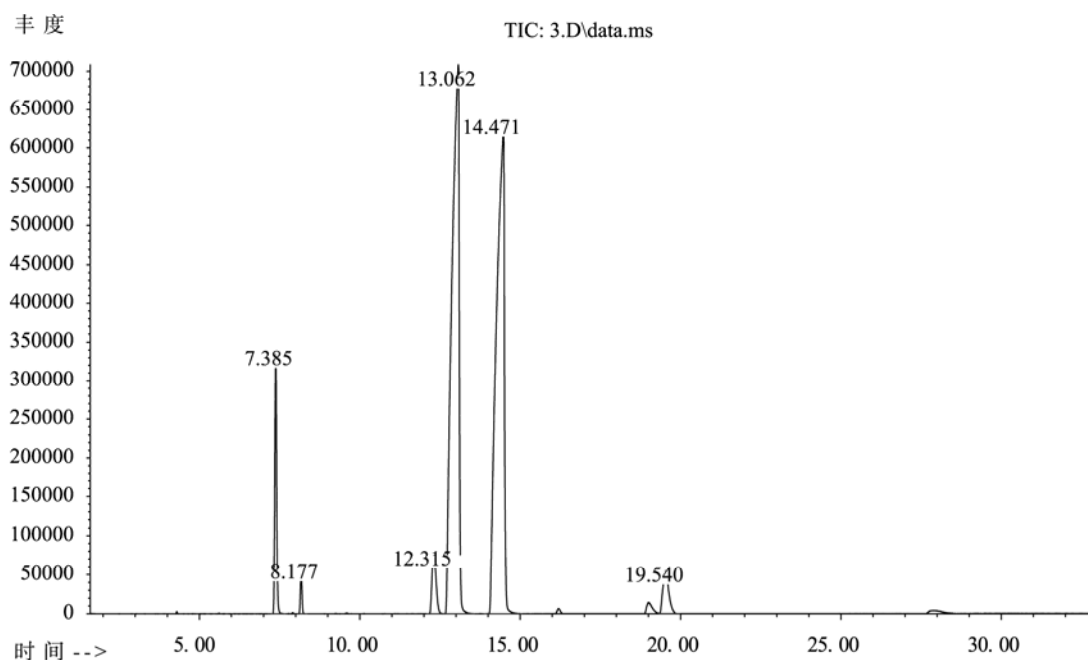


图 2 酸枣仁油中脂肪酸的 GC-MS 总离子色谱图

Fig. 2 GC-MS Total ion chromatogram of fatty acid in Semen Ziziphi Spinose oil

表 2 酸枣仁油中的脂肪酸成分

Table 2 Fatty acid composition of semen Ziziphi Spinose oil

峰号	保留时间(min)	对应脂肪酸	相对分子量	匹配度(%)
1	7.385	棕榈酸	270	99
2	8.177	松油苯二甲酸	194	97
3	12.315	硬脂酸	298	99
4	13.062	油酸	296	99
5	14.471	8、10-十八碳二烯酸	294	99
6	19.540	花生油酸	324	99

4 结论

用 GC-MS 测定酸枣仁油中不皂化物油中共检测出 9 种不皂化物, 分别为叶绿醇、亚油酸乙酯、油酸乙酯、香叶基醇、角鲨烯、菜油甾醇、豆甾醇、 γ -谷甾醇、桦木酸甲酯, 其相对含量最多的是 γ -谷甾醇和叶绿醇。其中叶绿醇又称植醇, 链形二萜类含氧化合物, 广泛存在于植物中, 是维生素 E 和 K1 的前体; 香叶基则是许多二萜类物质的前体; 角鲨烯是所有动植物均可产生的天然物质, 具有增强免疫、抗衰老、抗癌等多种生理功能, 属于直链三萜; 菜油甾醇是生物体内重要的天然活性物质, 具有预防心血管疾病, 抗肿瘤, 促进新陈代谢, 调节激素水平等作用; 豆甾醇是甾体激素合成的原料; 桦木酸甲酯除有抗炎抑菌、降血脂及抗疟疾等活性外, 对黑素瘤、神经外胚层及恶性脑肿瘤等多种肿瘤有强烈的毒杀效应, 而对正常细胞无杀伤力, 同时其抗 HIV-1 病毒活性强于某些现有临床应用药物, 为治疗艾滋病、肿瘤的新物质。这些成分可能对酸枣仁油的风味及生理活性具有一定的作用。

从酸枣仁油中共检测出 6 种脂肪酸, 分别是: 棕榈酸、松油苯二甲酸、硬脂酸、油酸、十八碳二烯酸、花生油酸, 其中油酸和十八碳烯酸的含量最高。与卢奎等^[14]、周永红等^[15]的研究的结果相同。油酸为无色油状液体, 有动物油或植物油气味, 久置空气中颜色逐渐变深, 它的功能涉及的范围很广, 可降低血液总胆固醇和有害胆固醇, 却不降低有益胆固醇营养界把油酸称为“安全脂肪酸”。因此, 酸枣仁油可作为营养和保健用油开发。

本研究首次单独研究酸枣仁油中的脂溶性成分, 为今后酸枣仁的药用价值以及工业生产提供了一定的理论基础。

参考文献

- [1] 丘明明, 黎有新. 酸枣仁研究近况[J]. 中医药研究, 1995, 4: 60-62.
Qiu LM, Li YX. The recent study of Semen Ziziphi Spinosae [J]. Res Tradit Chin Med, 1995, 4: 60-62.
- [2] 张雪, 李云芳, 张晓根, 等. 酸枣仁油提取工艺优化研究[J]. 郑州牧业工程高等专科学校学报, 2012, 34(4): 8-9.
Zhang X, Li YF, Zhang XG, et al. Study on the extraction process of fat oil from Semen Ziziphi Spinosae[J]. J Zhengzhou Coll Anim Husb Eng, 2012, 34(4): 8-9.
- [3] 任风芝, 栾新慧, 赵毅民. 酸枣仁药理作用及其化学成分的研究进展[J]. 基层中药杂志, 2001, 15(1): 46-47.
Ren FZ, Luan XH, Zhao YM. Advance in studies on Semen Ziziphi Spinosae pharmacological effects and chemical constituents [J]. Prim J Chin Mater Med, 2001, 15(1): 46-47.
- [4] 何明勋. 资源植物学[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 1996.
He MX. Resource botany [M]. Shanghai: East China Normal University Press, 1996.
- [5] 李家富, 高嵩学, 肖伯森. 野果开发与综合利用[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1989.
Li JF, Gao SX, Xiao BX. The development and comprehensive utilization of wild plants [M]. Beijing: Scientific and Technological Literature Publishing House, 1989.
- [6] 曲泽洲, 王永蕙. 中国果树志(枣卷)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993.
Qu ZZ, Wang YH. Chinese Guo Shuzhi (dates roll) [M]. Beijing: Chinese Forestry Press, 1993.
- [7] 靳涉英, 魏英占. 酸枣[M]. 北京: 中国林业出版社, 1987.
Jin SY, Wei YZ. Sour Jujube [M]. Beijing: Chinese Forestry Press, 1987.
- [8] 谢晓亮. 河北省太行山区野生酸枣资源及利用的调查[J]. 河北林业科技, 1989, 3: 40-42.
Xie XL. Investigation of wild jujube resources and utilization in mountainous areas of Hebei province [J]. J Hebei Forestry Sci Technol, 1989, 3: 40-42.
- [9] 王冰, 孙永久. 野生经济植物—酸枣[J]. 生物学通讯, 1990, 4: 35.
Wang B, Sun YJ. The wild economic plants-Ziziphus jujuba Mill [J]. Bull Biol, 1990, 4: 35.
- [10] 赵秋贤, 王清莲, 黄建华. 酸枣仁油对小鼠中枢神经系统的影响[J]. 西安医科大学学报, 1995, 16(4): 432-434.
Zhao QX, Wang QL, Huang JH. Effects of oil of Ziziphus Jujuba mill seeds on central nervous system of mice [J]. J Xi'an Med Univ, 1995, 16(4): 432-434.
- [11] 张雪, 陈复生, 张红. 酸枣仁油抗氧化活性研究[J]. 河南科学, 2014, 3: 347-351.
Zhang X, Chen FS, Zhang H. The antioxidant activity of active polypeptide from Semen Oil [J]. Henan Sci, 2014, 3: 347-351.
- [12] 纪姝晶, 王洋, 崔同. 高效液相色谱法测定酸枣仁样品中的皂苷 A 和 B 的含量[J]. 湖北农业科学, 2013, 10: 2405-2407.
Ji SJ, Wang Y, Cui T. Determination of Jujubaside A and B in the seed of Ziziphus jujube by HPLC [J]. Hubei Agric Sci, 2013, 10: 2405-2407.

- [13] GB/T 5535.1-2008. 动植物油脂 不皂化物测定[S].
GB/T 5535.1-2008. Animal and vegetable fats and oils-determination of unsaponifiable matter [S].
- [14] 卢奎, 张玲丽, 王萌, 等. 酸枣仁油的理化性质及成分分析[J]. 中国油脂, 2006, 31(8): 70-72.
Lu K, Zhang LL, Wang M, *et al.* Physicochemical properties and fatty acid compositions of jujube kernel oil [J]. China Oils Fats, 2006, 31(8); 70-72.
- [15] 周永红, 王立升, 李伟光. 酸枣仁油理化特性及脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2005, 30(9): 68-69.
Zhou YH, Wang LS, Li WG. Analysis of physico-chemical properties and fatty acid composition of Semen Ziziphi Spinosa oil [J]. China Oils Fats, 2005, 30(9): 68-69.

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



张 敏, 工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: zhangm@tjciq.gov.cn



王 伟, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。

E-mail: wangw@tjciq.gov.cn

“食品绿色加工”专题征稿函

营养与健康的概念随着人们生活水平的提高越发受到消费者的重视, 消费者在关注食品的感官与风味的同时更加注重食品的营养和安全, 结合人们逐渐增强的环保意识, 在食品的加工过程中, 在保证食品的功能、质量、成本的同时, 综合考虑环境影响、食品安全和资源利用效率的现代加工模式成为了研究热点。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品绿色加工”专题, 由江南大学的杨瑞金教授担任专题主编。杨教授现任江南大学食品学院教授、博士生导师、食品酶学方向学科带头人。同时兼任江南大学中国食品产业发展战略研究中副主任、江苏省高校青蓝工程中青年学术带头人、国家发展改革委员会产业司轻纺工业专家、中国农学会农产品贮藏加工分会理事、中国食品科学技术学会非热加工分会副理事长。本专题主要围绕食品生物加工和食品物理加工等方面或者您认为在食品绿色加工方面有意义的内容进行论述, 计划在 2015 年 6 月出版。

鉴于您在该领域的成就, 本刊编辑部及杨瑞金教授特邀请您为本专题撰写稿件, 以期进一步提升该专题的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可, 请在 2015 年 5 月 20 日前通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与和支持!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsqa@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部