

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取无籽刺梨挥发油及 GC-MS 分析

吴小琼<sup>1</sup>, 罗会<sup>2\*</sup>, 金吉林<sup>2</sup>, 解璞<sup>2</sup>, 王松松<sup>2</sup>, 杨胜杰<sup>3</sup>

(1. 安顺职业技术学院, 贵州 安顺 561000; 2. 贵州省农业科学院果树科学研究所, 贵阳 550006;  
3. 扬子江药业集团有限公司中药研究院, 江苏 泰州 225321)

**[摘要]** 目的:分析黔产无籽刺梨挥发油的化学成分,为其质量评价提供科学依据。方法:采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取无籽刺梨挥发油,并通过气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪对其化学成分进行分析和鉴定,用色谱峰面积归一化法计算各组分相对含量。结果:从超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法提取得到的挥发油中分离出 39 个组分,鉴定了其中 33 个化合物,已鉴定的组分占挥发油总量的 91.48%,主要成分为 β-谷甾醇(14.49%)、三十一烷(13.82%)、二十八烷(7.57%)、己酸(6.80%)、11-(戊烷-3-基)二十一烷(6.75%)、四十四烷(6.56%)等,另外还发现了少量的具有多种生物活性的角鲨烯(3.19%)和羽扇豆醇(1.18%)。结论:黔产无籽刺梨挥发油中含有酯、醇、烷烃、甾体等多种化学成分,分析结果为其质量控制提供依据。

**[关键词]** 无籽刺梨;超临界 CO<sub>2</sub> 萃取;挥发油;气质联用

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)10-0098-04

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014100098

## GC-MS Analysis of Volatile Oil from *Rosa sterilis* by Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction

WU Xiao-qiong<sup>1</sup>, LUO Hui<sup>2\*</sup>, JIN Ji-lin<sup>2</sup>, XIE Pu<sup>2</sup>, WANG Song-song<sup>2</sup>, YANG Sheng-jie<sup>3</sup>

**[收稿日期]** 20140104(002)

**[基金项目]** 贵州省黔科合院所创能项目(20104009);贵州省黔科合重大专项项目(20126006)

**[第一作者]** 吴小琼,副教授,从事化学教学及相关研究,Tel:18785320126,E-mail:1619554820@qq.com

**[通讯作者]** \*罗会,博士,副教授,从事中药化学成分和质量标准研究,Tel:13985542913,E-mail:luohui8732@163.com

- [7] Liu T, Zhu P, Cheng K D, et al. Molecular cloning, expression and characterization of hyoscyamine 6β-hydroxylase from hairy roots of *Anisodus tanguticus* [J]. *Planta Med*, 2005, 71 (3):249.
- [8] 徐端正. 生物统计在实验和临床药理学中的应用 [M]. 北京:科学出版社,2004:144.
- [9] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular cloning, a laboratory manual [M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989:16.
- [10] Fanger B O. Adaptation of the Bradford protein assay to membrane-bound proteins by solubilizing in glucopyranoside detergents [J]. *Anal Bio Chem*, 1987, 162(1):11.
- [11] Matthew L H, Xu M M, Tomonobu T, et al. Domain loss has independently occurred multiple times in plant terpene synthase evolution [J]. *Plant J*, 2011, 68 (6):1051.
- [12] Michael J W, Maria P, Shawn R C, et al. Stabilization of apoglobin by low temperature increases yield of soluble recombinant hemoglobin in *Escherichia coli* [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1997, 63 (11):4313.
- [13] Baneyx F. Recombinant protein expression in *Escherichia coli* [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1999, 10 (5):411.
- [14] 余光清,蒋诗琴,李雍龙. 可溶性重组日本血吸虫 26 kDa GST 的优化表达 [J]. *中国人兽共患病学报*, 2006, 22 (8):770.
- [15] Yasukawa T, Kanei I C, Maekawa T, et al. Increase of solubility of foreign proteins in *Escherichia coli* by coproduction of the bacterial thioredoxin [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (43):25328.
- [16] Li J L, Chen Q Q, Jin Q P, et al. CPS2 is potentially involved in the biosynthesis of pharmacologically active Isodon diterpenoids rather than gibberellin [J]. *Phytochemistry*, 2012, 76 (4):32.
- [17] Hans P S, Kim K M. Advanced genetic strategies for recombinant protein expression in *Escherichia coli* [J]. *J Biotechnol*, 2005, 115 (2):113.

[责任编辑 邹晓翠]

(1. Vocational and Technical College of Anshun, Anshun 561000, China; 2. Guizhou Fruit Institute, Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China; 3. Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Yangtze River Pharmaceutical Group Co. Ltd, Taizhou 225321, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the chemical constituents of volatile oil from *Rosa sterilis* by GC-MS.

**Method:** The volatile oil was extracted from *R. sterilis* by supercritical CO<sub>2</sub> extraction. Its chemical constituents and relative contents were analyzed and identified by GC-MS. **Result:** Thirty-three compounds were identified, representing 91.48% of the total composition. The main components of the oil were  $\beta$ -sitosterol (14.49%), hentriacontane (13.82%), octacosane (7.57%), hexanoic acid (6.80%), 11-(pentan-3-yl) henicosan (6.75%), tetratetracontane (6.56%). In addition, squalene (3.19%) and lupeol (1.18%) were also detected. **Conclusion:** The study provide a scientific basis for the further exploitation and utilization of the fruit.

[Key words] *Rosa sterilis*; supercritical carbon dioxide extraction; volatile oil; GC-MS

刺梨 *Rosa roxburghii* Tratt. 又称送春归,是一种蔷薇科多年生落叶丛生灌木,主要生长于云南、四川、贵州等西南山区,尤以贵州资源最为丰富,并且是我国特有的药食两用植物<sup>[1-5]</sup>。民间应用其果实及根入药,用于消食健脾、收敛止泻与解暑,《本草纲目拾遗》有载<sup>[6-7]</sup>。刺梨含有丰富的维生素 C、超氧化物歧化酶(SOD)、刺梨黄酮、刺梨多糖及多种人体必须氨基酸<sup>[8]</sup>。现代医学表明刺梨中的一些活性成分还具有抗肿瘤、调节机体免疫功能、解毒、镇静、延缓衰老及抗动脉粥样硬化等功能<sup>[9]</sup>。研究发现刺梨汁对拘束负荷诱发的小鼠肝损伤具有一定的保护作用,对卵巢癌细胞株 COC<sub>2</sub> 体外增殖具有较好的抑制作用,刺梨中的刺梨黄酮具有保护胰脏、预防糖尿病的作用<sup>[10]</sup>。无籽刺梨也属蔷薇科,多年生落叶攀援性灌木,成熟果实为暗橙黄色,果面皮刺基本脱落,种子败育,故名无籽刺梨,鲜果的口感比刺梨好,香气更浓郁,为贵州的特有种系<sup>[11-12]</sup>。

超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取技术是利用 CO<sub>2</sub> 在高压下处于超临界状态而萃取分离各种有机物的一种先进技术,由于无毒、无污染、分离简单,因而广泛应用于挥发油物质的分离应用<sup>[13-15]</sup>。马林等采用超临界流体萃取得到刺梨挥发油,利用毛细管气相色谱仪对其化学成分进行了定量分析<sup>[16]</sup>。付慧晓等采用固相微萃取技术提取无籽刺梨的挥发性成分<sup>[17]</sup>,但尚未见采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术提取无籽刺梨挥发油的研究报道。本文采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取技术提取其挥发性成分,并应用气相色谱-质谱联用(GC-MS)技术对其化学成分进行分析,用色谱峰面积归一化法计算各组分相对含量,为无籽刺梨的开发提供科学依据。

## 1 材料

HA231-50-013 型超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取仪(江苏省南通市华安超临 CO<sub>2</sub> 萃取仪有限公司),ISQ 型气相色谱-质谱联用仪(美国 Thermo 公司),金刺梨果实采自贵州安顺市平坝县,由贵州大学黄荣茂教授鉴定为蔷薇科植物无籽刺梨 *R. sterilis* S. D. Shi 的果实。

## 2 方法

**2.1 挥发油的提取** 称取干燥黔安无籽刺梨 100 g,采用超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取的方法提取其挥发成分,萃取条件为萃取压力 40 MPa,温度 43 °C,萃取时间 90 min,CO<sub>2</sub> 流速 35 L·h<sup>-1</sup>。获得具有特殊气味的淡黄色油状液体,得油率为 1.8%。

### 2.2 色谱条件

**2.2.1 气相色谱** HP-5 MS 5% Phenyl Methyl Siloxane(0.25  $\mu$ m  $\times$  0.25 mm  $\times$  30 m)弹性石英毛细管柱,柱温 35 °C(保留 2 min),以 1 °C·min<sup>-1</sup>升温到 80 °C,保持 10 min,以 3 °C·min<sup>-1</sup>升温到 270 °C,保持 15 min;汽化室温度 250 °C,载气为高纯 He(99.999%),载气流量 1 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 1  $\mu$ L(用将样品稀释的溶液),不分流。

**2.2.2 质谱** 离子源为 EI 源,离子源温度 250 °C,电子能量 70 eV,接口温度 280 °C,溶剂延迟 2 min,质量范围  $m/z$  40 ~ 550。

## 3 结果与讨论

取 2.1 项下黔安无籽刺梨挥发油的提取项下的挥发油适量,用正己烷稀释后得供试样品液,按 2.2 气相色谱-质谱条件项下方法分析得到总离子图,见图 1。再经 Nist5 谱图库自动检索,人工谱图解析,按各色谱峰的质谱裂片图与文献核对,查阅有关质谱及其他有关天然活性成分解析的文献,比较基峰、质荷

比和相对丰度等,对各色谱峰加以确认,并采用面积归一化法确定各组分的相对百分含量,结果见表 1。

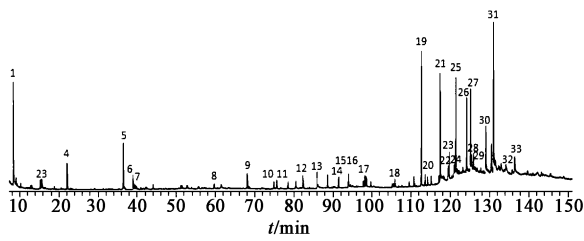


图 1 黔安无籽刺梨挥发油总离子流

由表 1 研究结果可知,从黔安无籽刺梨挥发油中分析出 39 种成分,鉴定出其中的 33 种成分,所鉴定成分占挥发油总流出面积的 91.48%。化学成分中相对含量超过 5% 的成分有 6 种,含量从高到低依次为  $\beta$ -谷甾醇(14.49%)、三十一烷(13.82%)、二十八烷(7.57%)、己酸(6.80%)、11-(戊烷-3-基)二十一烷(6.75%)、四十四烷(6.56%)。其中  $\beta$ -谷甾醇具有降低血清胆固醇的作用<sup>[18]</sup>,还具有较好的抗肿瘤作用,可抑制肿瘤的发生、发展并诱导肿瘤细

表 1 黔安无籽刺梨挥发油成分及相对含量

No.	化合物	相对分子质量	分子式	符合度 /%	相对含量 /%
1	己酸 hexanoic acid	116	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	94	6.80
2	苯甲酸乙酯 benzoic acid, ethyl ester	150	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	97	1.49
3	(Z)-2-辛烯酸 (Z)-2-octenoic acid	142	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	98	1.05
4	十二甲基环六硅氧烷 cyclohexasiloxane, dodecamethyl	444	C <sub>12</sub> H <sub>36</sub> O <sub>6</sub> Si <sub>6</sub>	87	2.94
5	十四甲基环庚硅氧烷 cycloheptasiloxane, tetradecamethyl	518	C <sub>14</sub> H <sub>42</sub> O <sub>7</sub> Si <sub>7</sub>	88	4.72
6	2-异丙基基-4a,8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘-2-异丙基-4a,8-二甲基-1,2,3,4,4a,5,6,7-八氢萘	204	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	86	2.53
7	$\alpha$ -愈创木烯 $\alpha$ -guaiene	207	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	93	0.96
8	正十三醇 1-tridecanol	200	C <sub>13</sub> H <sub>28</sub> O	92	0.85
9	十八甲基环壬硅氧烷 cyclononasiloxane, octadecamethyl	666	C <sub>18</sub> H <sub>54</sub> O <sub>9</sub> Si <sub>9</sub>	87	1.55
10	9(Z)-十六碳烯酸 9(Z)-hexadecenoic acid	254	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	93	1.32
11	棕榈油酸 palmitoleic acid	254	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	94	1.48
12	十六醇 1-hexadecanol	242	C <sub>16</sub> H <sub>34</sub> O	98	1.22
13	二十甲基环十硅氧烷 cyclodecasiloxane, eicosamethyl	740	C <sub>20</sub> H <sub>60</sub> O <sub>10</sub> Si <sub>10</sub>	87	1.29
14	十六酸乙酯 hexadecanoic acid, ethyl ester	284	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	93	1.76
15	1-二十一烷基醇 1-heneicosanol	312	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub> O	95	1.37
16	1-十九烯 1-eicosanol	266	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub>	98	2.30
17	9(Z),11(E)-乙基十八碳二烯酸酯 9(Z),11(E)-ethyl-octadecadienoate	308	C <sub>20</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	92	0.81
18	油酸乙酯 ethyl oleate	310	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>	96	1.61
19	三十一烷 hentriacontane	436	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	97	13.82
20	1,2-二(2-丙基戊基)甲酸酯 phthalic acid, di(2-propylpentyl) ester	390	C <sub>24</sub> H <sub>38</sub> O <sub>4</sub>	98	0.78
21	二十八烷 octacosane	394	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	96	7.57
22	11-癸烷基二十四烷 11-decyl-tetracosane	478	C <sub>34</sub> H <sub>70</sub>	95	1.21
23	角鲨烯 squalene	410	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	92	3.19
24	1,6,10,14-十六碳四烯-3-醇 1,6,10,14-hexadecatetraen-3-ol	290	C <sub>20</sub> H <sub>34</sub> O	95	1.57
25	11-(戊烷-3-基)二十一烷 11-(pentan-3-yl) heneicosane	366	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	96	6.75
26	1,2-环氧十八烷 hexadecyl oxirane	268	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O	90	4.27
27	四十四烷 tetratetracontane	618	C <sub>44</sub> H <sub>90</sub>	95	6.56
28	二十八烷醇 octacosanol	410	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub> O	97	1.21
29	维生素 E vitamin E	430	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O <sub>2</sub>	90	1.06
30	(Z)-2-(9-十八碳烯基氧基)乙醇 (Z)-2-(9-Octadecenyloxy) ethanol	312	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>	98	4.73
31	$\beta$ -谷甾醇 $\beta$ -sitosterol	414	C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O	90	14.49
32	十六烷酸十八烷酯 hexadecanoic acid, octadecyl ester	508	C <sub>34</sub> H <sub>68</sub> O <sub>2</sub>	93	0.86
33	羽扇豆醇 lupeol	426	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub> O	95	1.18

胞的分化,对肿瘤细胞的抗增殖活性与激活鞘磷脂循环、细胞周期阻滞、刺激肿瘤细胞凋亡、抗氧化活性和免疫功能的调节等相关,因此可作为治疗肿瘤的有效化学预防药物<sup>[19-20]</sup>。另外还发现了少量的角鲨烯(3.19%)和羽扇豆醇(1.18%)。角鲨烯是一种脂质不皂化物,最初是从鲨鱼的肝油中发现的,具有提高体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、增强机体免疫能力、改善性功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤等多种生理功能<sup>[21-22]</sup>。羽扇豆醇具有较强的抗炎、抗关节炎、抗基因突变和抗疟疾的作用<sup>[23]</sup>。同时研究发现羽扇豆醇是某些抗癌植物抑制肿瘤的主要有效成分,因此具有一定的抗肿瘤作用<sup>[24]</sup>。

本文研究表明,黔安无籽刺梨挥发油的化学成分较为复杂,除含有大量的酯、醇、烷烃、甾体以外,还含有少量的有机酸、烯、萜、维生素 E 等化合物,从而构成其独特的营养食用价值。而对黔安无籽刺梨挥发油的药理作用需要进行深入研究,为其开发利用提供充分的科学依据。

#### [参考文献]

- [1] 张春妮,周毓,汪俊军. 刺梨药理研究的新进展[J]. 医学研究生学报,2005,18(11):1049.
- [2] 李小鑫,罗昱,梁芳,等. 浑油型刺梨果汁饮料配方及其稳定性研究[J]. 食品与发酵工业,2013,39(7):216.
- [3] 戴支凯,余丽梅. 刺梨的药理作用[J]. 中国药房,2007,18(21):1668.
- [4] 胡明月,孙开理,李士会,等. 刺梨丰产栽培技术[J]. 现代农业科技,2013(13):99.
- [5] 谢国芳,谭书明. 刺梨糕的研制[J]. 食品工业,2011(7):4.
- [6] 张晓玲,瞿伟菁,孙斌,等. 刺梨黄酮对实验性糖尿病的预防作用[J]. 营养学报,2004,26(6):474.
- [7] 王慧,黄聪,杜薇. 均匀设计法优化刺梨多糖的提取工艺[J]. 中国药业,2012,21(13):41.
- [8] 刘春梅,代亨燕,谭书明. 刺梨果醋加工技术研究[J]. 中国调味品,2009,34(6):56.
- [9] 肖竦. RP-HPLC 法测定刺梨中的 Vc 含量[J]. 安徽农业科学,2011,39(3):1356.
- [10] 于丽伟,王聪智,何蓉蓉. 刺梨果汁对拘束负荷诱发小鼠肝损伤的保护作用[J]. 食品与生物技术学报,2010,29(5):730.
- [11] 韦景枫,钟漫,程友忠. 无籽刺梨试管苗移栽及其影响因素的探讨[J]. 中国林副特产,2010(1):30.
- [12] 郑元,吴月圆,辛培尧,等. 环境因子对无籽刺梨光合生理日变化进程的影响研究[J]. 西部林业科学,2013,42(3):21.
- [13] 孟舒献,温晓娜,冯亚青. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术在提取中草药有效成分中的应用[J]. 广东药学院学报,2004,20(6):663.
- [14] 张印俊,杨培全. 超临界二氧化碳流体萃取技术提取中草药成分的进展[J]. 华西药学杂志,1998,13(4):242.
- [15] 方岩雄,吕钱江,张永成,等. 超临界二氧化碳流体萃取分离技术[J]. 精细与专用化学品,2002(6):17.
- [16] 马林,李光照,黄鸿勋,等. 刺梨挥发油香味成份毛细管气相色谱法定量分析[J]. 中国农学通报,2007,23(6):203.
- [17] 付慧晓,王道平,黄丽荣,等. 刺梨和无籽刺梨挥发性香气成分分析[J]. 精细化工,2012,29(9):875.
- [18] Zawistowski J,胡春,Kitts D D. 植物甾醇和植物甾烷醇:来源、安全性以及在保健食品中的应用[J]. 中国食品学报,2002,2(2):48.
- [19] 王莉,归绥琪.  $\beta$ -谷甾醇抗肿瘤作用研究[J]. 国际肿瘤杂志,2009,36(9):676.
- [20] 李庆勇,姜春菲,张黎,等.  $\beta$ -谷甾醇、豆甾醇诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡[J]. 时珍国医国药,2012,23(5):1173.
- [21] 张忠泉,邢煜君,胡国强,等.  $\beta$ -谷甾醇诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡机制研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(15):2145.
- [22] 荣维广,刘华良,李莉,等. 超高效液相色谱法测定保健食品中角鲨烯[J]. 预防医学情报杂志,2013,29(8):734.
- [23] 张琳,张有成. 三萜类化合物羽扇豆醇的抗肿瘤作用[J]. 国际肿瘤学杂志,2012,39(2):113.
- [24] 梁勇,胡命宝,刘景. 羽扇豆醇对肝细胞肝癌的抑制作用研究[J]. 安徽医药,2013,17(5):738.

[责任编辑 邹晓翠]