



# 超临界提取菱角与菱仁挥发性成分及其比较研究

李静, 许维国, 牛凤兰\*

(吉林大学 公共卫生学院, 吉林 长春 130021)

[摘要] 目的: 为了更好地利用菱角资源, 本文对菱角(皮加仁)与菱仁的挥发性成分进行提取和比较。方法: 利用超临界  $\text{CO}_2$  流体 (SFE- $\text{CO}_2$ ) 萃取技术对菱角和菱仁进行提取, 采用气相色谱-质谱 (GC-MS) 联用技术分析鉴定。结果: 菱角和菱仁的提取率分别为 5.96%, 0.23%, 主要成分均为亚油酸, 但含量不同。结论: GC-MS 鉴定分析, 菱角与菱仁中亚油酸含量最高, 其次是棕榈酸; 且菱角(皮加仁)比菱仁提取率高。

[关键词] 菱角; 菱仁; 挥发性成分; SFE- $\text{CO}_2$ ; GC-MS

菱 *Trapa bicomis* Osbeck, 别名菱角、水菱角、风菱, 为菱科菱属植物乌菱的种子, 其果壳、果柄、果、茎及叶柄均可入药<sup>[1]</sup>, 有健胃止痢、抗癌等作用; 还可用于治疗胃溃疡、痢疾、食道癌、子宫颈癌及乳腺癌等, 因此有学者称菱角为果中之佳品。为了解其成分及解释其药效学物质基础, 本文前期工作对菱角的化学成分和药效学进行了一定的试验研究<sup>[2-4]</sup>, 通过传统的水蒸气蒸馏法对菱角挥发性成分进行了提取, 但其提取率较低。SFE- $\text{CO}_2$  法是现代的提取方法, 具有提取率高、速度快等优点, 国内外文献未见使用该方法对菱角挥发性成分萃取的报道。为了充分利用菱资源, 开发研究新药, 本文用 SFE- $\text{CO}_2$  方法对菱角(皮加仁)和菱仁的挥发性成分进行提取, 采用 GC-MS 方法<sup>[5]</sup> 分析化学成分并作初步研究比较。

## 1 材料

HA 221-50-06 超临界流体萃取仪 (江苏南通华安超临界萃取有限公司); TRACE-MS 型气相色谱-质谱联用仪 (美国 Finnigan 公司); AB104 型电子天平 (瑞士 Mettler Toledo 公司)。

菱角采自吉林省大安县, 经吉林农业大学樊绍钵教授鉴定为东北菱 *T. manshurica* Fr.  $\text{CO}_2$  (食用级, 液态纯度为 99.99%)、乙醚、无水硫酸钠等均为分析纯。

## 2 方法

**2.1 菱角、菱仁的预处理** 将完整菱角置于室温晾干, 粉碎, 过筛备用; 分离菱皮和菱仁, 将菱仁粉碎, 过 40 目筛备用。

**2.2 SFE- $\text{CO}_2$  萃取** 根据相关文献确定超临界  $\text{CO}_2$  萃取法萃取中药挥发性成分最适条件范围, 然后采用正交试验设计法确定最佳的萃取菱角挥发性成分的条件。称取菱角粉碎物 1 600 g 与菱仁粉碎物 2 590 g 置于 5 L 萃取釜内。萃取压力 30 MPa 萃取温度 40 °C; 第一级分离压力 12 MPa 分离温度 45 °C, 第二级分离压力 10 MPa 分离温度 35 °C;  $\text{CO}_2$  流量 15~20  $\text{kg} \cdot \text{h}^{-1}$ 。待各条件稳定后开始等压循环萃取, 共萃取 4 h 每小时接取 1 次萃取物。最后将萃取物溶于 50 mL 乙醚, 无水硫酸钠干燥, 4 °C 冰箱存放, 用于 GC-MS 检测。

**2.3 挥发油 GC-MS 检测** HP-5MS 弹性石英毛细管柱 (0.25 mm  $\times$  30 m, 0.25  $\mu\text{m}$ ); 进样口温度 280 °C; 起始柱温 80 °C, 保持 1 min 以 20 °C  $\cdot$  min<sup>-1</sup> 升至 280 °C, 保持 15 min 载气氮气, 流量 1.0 mL  $\cdot$  min<sup>-1</sup>; 分流比 30:1; 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。EI 离子源; 电子能量 70 eV; 界面温度 280 °C; 离子流温度 180 °C。扫描范围  $m/z$  33~600。

## 3 结果

**3.1 萃取率** 超临界萃取 4 h 菱角组共收集 90.7 g 淡黄色透明油状液体 (以前 1 h 出油最多), 得油率为 5.96%。菱仁组共收集 6.056 g 淡黄色透明油状液体 (以前 1 h 出油最多), 得油率为 0.23%。

**3.2 GC-MS 检测结果** 分别将菱角和菱仁萃取物采用 GC-MS 进行定量分析, 得出菱角和菱仁的总离

[稿件编号] 20101128005

[基金项目] 吉林省科技厅重点项目 (20100905); 吉林省高技术产业发展项目 (2010014)

[通信作者] \* 牛凤兰, 教授, 主要从事药食同用植物与健康研究, Tel (0431) 85619441, Email jhnl@163.com

[作者简介] 李静, 教授, 主要从事天然植物与健康研究, Tel (0431) 85619441 Fax (0431) 85645486, Email lj@jlu.edu.cn

子流图见图 1 并对图中的各峰进行质谱扫描,在标准质谱图库中进行检索并结合有关文献[7]进行人工谱图解析,鉴定结果见表 1,2

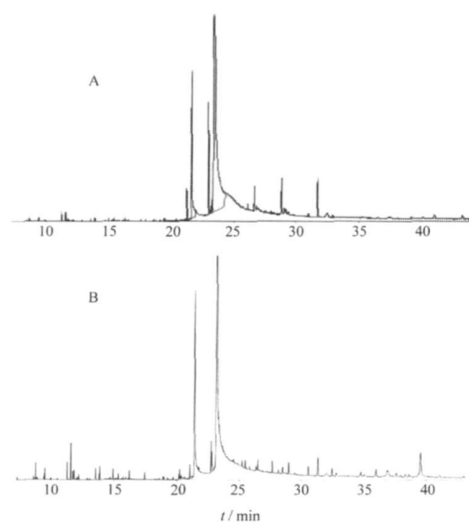


图 1 菱角挥发油(A)和菱仁挥发油(B)的总离子流图

4 讨论

4.1 挥发性成分提取方法比较 菱角中含有大量挥发性成分,主要成分为亚油酸。此前文献报道多采用水蒸气蒸馏法提取植物挥发性成分,但是水蒸气蒸馏法提取时间长,温度高,容易造成有效成分的损失,且在实验过程中,挥发油与水有严重的乳化现象。超临界 CO<sub>2</sub> 提取(SFE)是近年来发展较快的一种提取技术,此项技术提取效率高,速度快,温度低,尤其适用于热不稳定物质和挥发性成分的提取。

通过本试验可知超临界流体萃取法较适合菱角挥发性成分的提取,可以得到量多质好的挥发油;该方法对菱角的提取率是水蒸气蒸馏法提取法的 86 倍,对菱仁的提取率是水蒸气蒸馏法的 3 倍。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术对含有挥发性成分的中药来说,是一种有效的新型分离技术,整个操作过程耗时短,效率高,操作温度低,大量保存了药材的有效成分,可广泛地运用于中药的有效成分的提取<sup>[6]</sup>。

表 1 菱角中挥发性成分的鉴定

| No | t <sub>R</sub> /min | 化合物                                                                                | 分子式                                                            | 质量分数 /% |
|----|---------------------|------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------|
| 1  | 5.860               | ethanol-1,1-dithioxy                                                               | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>                  | 3.898   |
| 2  | 9.474               | D-limonene                                                                         | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                                | 0.154   |
| 3  | 11.545              | cyclohexanone-5-methyl-2-(1-methylethyl)                                           | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                              | 0.474   |
| 4  | 11.721              | cyclohexanone-5-methyl-2-(1-methylethyl)-(2R-cis)                                  | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O                              | 0.119   |
| 5  | 12.187              | benzoic acid-2-hydroxy-methyl ester                                                | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>                   | 0.082   |
| 6  | 13.532              | 2,4-decadienal                                                                     | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                              | 0.103   |
| 7  | 13.868              | 2,4-decadienal                                                                     | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O                              | 0.108   |
| 8  | 14.915              | tetradecane                                                                        | C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>                                | 0.187   |
| 9  | 15.351              | 2H-pyran-2-one-tetrahydro-4-(2-methyl-1-propen-3-yl)                               | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> NO <sub>2</sub>                 | 0.167   |
| 10 | 16.222              | pentadecane                                                                        | C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>                                | 0.160   |
| 11 | 16.505              | cyclohex-1-methyl-4-(5-methyl-1-methylethyl-4-hexenyl)                             | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>                                | 0.079   |
| 12 | 17.453              | hexadecane                                                                         | C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>                                | 0.076   |
| 13 | 17.827              | carota                                                                             | C <sub>15</sub> H <sub>26</sub> O                              | 0.070   |
| 14 | 18.492              | asarone                                                                            | C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub>                 | 0.058   |
| 15 | 19.287              | 4'-nitrobenzo-15-crown-5                                                           | C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> NO <sub>7</sub>                | 0.121   |
| 16 | 20.181              | 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecanol                                                | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O                              | 0.102   |
| 17 | 21.060              | hexadecanoic acid-methyl ester                                                     | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 | 1.202   |
| 18 | 21.457              | n-hexadecanoic acid                                                                | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                 | 11.908  |
| 19 | 22.764              | 9,12-octadecadienoic acid(Z,Z)-methyl ester                                        | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>                 | 4.064   |
| 20 | 22.810              | 9-octadecadienoic acid(Z)-methyl ester                                             | C <sub>19</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>                 | 1.606   |
| 21 | 23.008              | octadecadienoic acid-methyl ester                                                  | C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>                 | 0.471   |
| 22 | 23.260              | 9,12-octadecadienoic acid(Z,Z)                                                     | C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>                 | 67.384  |
| 23 | 26.363              | hexadecanoic acid-3-[(trimethylsilyl)oxy]propyl                                    | C <sub>22</sub> H <sub>46</sub> O <sub>3</sub> Si              | 1.752   |
| 24 | 28.510              | 9-octadecadienoic acid-2-[(trimethylsilyl)oxy]-1-[(trimethylsilyl)oxy]methyl ester | C <sub>27</sub> H <sub>56</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>2</sub> | 2.682   |
| 25 | 31.330              | 2,6,10,15,19,23-tetracosahexaene-2,6,10,14,18,22-hexamethyl-(allE)                 | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>                                | 2.974   |

表 2 菱仁中挥发油的 GC-MS 分析

| No | <i>t<sub>R</sub></i> /min | 化合物                                                            | 分子式                                            | 相对质量分数 /% |
|----|---------------------------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------|
| 1  | 4.263                     | —                                                              | —                                              | 2.419     |
| 2  | 4.775                     | acetic anhydride                                               | C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>   | 0.177     |
| 3  | 4.815                     | ethane-1,1-diethoxy                                            | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>  | 0.251     |
| 4  | 5.363                     | toluene                                                        | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub>                  | 0.486     |
| 5  | 5.738                     | hexanal                                                        | C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O               | 0.286     |
| 6  | 5.890                     | trimethylsilylmethanol                                         | C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> OSi             | 15.262    |
| 7  | 6.723                     | ethylbenzene                                                   | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>                 | 0.191     |
| 8  | 6.838                     | <i>p</i> -xylene                                               | C <sub>8</sub> H <sub>10</sub>                 | 0.078     |
| 9  | 8.557                     | phenol                                                         | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O                | 0.166     |
| 10 | 9.398                     | benzene-1-methyl-3-(1-methylethyl)                             | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>                | 0.227     |
| 11 | 9.475                     | <i>D</i> -limonene                                             | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 0.500     |
| 12 | 9.948                     | 1,4-cyclohexadiene-1-methyl-4-(1-methylethyl)                  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 0.107     |
| 13 | 11.538                    | cyclohexanone-5-methyl-2-(1-methylethyl)-trans                 | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 1.582     |
| 14 | 11.714                    | cyclohexanone-5-methyl-2-(1-methylethyl)                       | C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O              | 0.396     |
| 15 | 11.805                    | cyclohexanol-1-methyl-4-(1-methylethyl)                        | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O              | 0.486     |
| 16 | 12.180                    | benzoic acid-2-hydroxymethyl ester                             | C <sub>8</sub> H <sub>18</sub> O <sub>3</sub>  | 0.252     |
| 17 | 13.525                    | 2,4-decadienal ( <i>E</i> , <i>E</i> )                         | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 0.621     |
| 18 | 13.861                    | 2,4-decadienal                                                 | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 0.619     |
| 19 | 14.908                    | tetradecane                                                    | C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>                | 0.448     |
| 20 | 15.344                    | cyclopentanone-3-(3-hydroxy-1-propenyl)                        | C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>  | 0.257     |
| 21 | 15.741                    | heptadecane-2,6-dimethyl                                       | C <sub>19</sub> H <sub>40</sub>                | 0.111     |
| 22 | 16.215                    | pentadecane                                                    | C <sub>15</sub> H <sub>32</sub>                | 0.364     |
| 23 | 17.445                    | hexadecane                                                     | C <sub>16</sub> H <sub>34</sub>                | 0.292     |
| 24 | 18.905                    | dodecan-1-cyclopentyl-4-(3-cyclopentylpropyl)                  | C <sub>25</sub> H <sub>48</sub>                | 0.126     |
| 25 | 18.973                    | 1-undecene-5-methyl                                            | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub>                | 0.117     |
| 26 | 19.722                    | octadecane                                                     | C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>                | 0.113     |
| 27 | 20.173                    | 3,7,11,15-tetramethyl-2-hexadecene-1-ol                        | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O              | 0.241     |
| 28 | 20.250                    | 2-pentadecanone-6,10,14-trimethyl                              | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O              | 0.431     |
| 29 | 20.349                    | pentadecanoic acid                                             | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> | 0.177     |
| 30 | 21.052                    | hexadecanoic acid-methyl ester                                 | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | 0.613     |
| 31 | 21.228                    | hexadecanoic acid- <i>Z</i> -11                                | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub> | 0.159     |
| 32 | 21.449                    | <i>n</i> -hexadecanoic acid                                    | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub> | 19.229    |
| 33 | 22.756                    | 9,12-octadecadienoic acid ( <i>Z</i> , <i>Z</i> )-methyl ester | C <sub>19</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | 1.380     |
| 34 | 22.794                    | —                                                              | —                                              | 1.303     |
| 35 | 23.238                    | 9,12-octadecadienoic acid ( <i>Z</i> , <i>Z</i> )              | C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub> | 47.166    |
| 36 | 25.225                    | 4,8,12,16-tetramethylheptadecan-4-olide                        | C <sub>21</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub> | 0.787     |
| 37 | 25.477                    | tetracosane                                                    | C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>                | 0.518     |
| 38 | 26.501                    | octadecane                                                     | C <sub>18</sub> H <sub>38</sub>                | 0.605     |
| 39 | 27.647                    | heneicosane                                                    | C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>                | 0.680     |
| 40 | 28.977                    | —                                                              | —                                              | 0.780     |

4.2 菱角与菱仁挥发性成分比较 在此分析条件下,利用 GC-MS 分离分别得出 25 和 40 个组分,鉴定了这些化合物并通过面积归一化法计算各个组分的相对百分含量<sup>[7]</sup>。菱角中质量分数最高者为亚油酸 (67.384%),其次有棕榈酸 (11.908%),由表 1 可见菱角挥发性成分中主要含有脂肪酸及其酯类物质,占挥发性成分的 93.59%,其余成分多是萜烯类、烷烃类及酮类物质,但含量还不及总含量的

7%。菱仁中质量分数最高者为亚油酸 (47.166%),其次有棕榈酸 (19.229%),由表 2 可见菱仁挥发油中主要含有脂肪酸类物质,占挥发油的 66.395%,其余成分多是醇类、烷烃类、酮类及萜烯类物质。  
菱角自古就是人们热衷的药食两用植物,能够用来药补及食补,具有很多应用价值。亚油酸 (LA) 为人体必需脂肪酸,是共轭亚油酸 (CLA) 的前体物,

而共轭亚油酸具有抗癌、抗动脉粥样硬化<sup>[8]</sup>等生理功能,是现代营养学研究的热点,因此可以作为抗癌物质来开发研究。但这些是否为民间用菱角来治疗胃癌、肝腹水等疾病的活性基础还有待深入研究。

[参考文献]

- [1] 李永春,王树歧,刘汝琛,等. 中医大辞典中药分册[M]. 北京:人民卫生出版社,1980:313.  
[2] 董威严,牛凤兰,程舸. 高效液相色谱法测定菱角中的没食子酸含量[J]. 食品科学,2005,26(8):334.  
[3] 牛凤兰,尹建元,董威严,等. 菱角中抗肿瘤活性成分的分离、提纯及结构鉴定[J]. 高等学校化学学报,2005,26(5):852.  
[5] Niu F L, Wang X D, Wang Y L, et al. Trihydroxybenzoic acid di-

mer induced apoptosis effects *in vitro*[J]. Chin Res Chinese U, 2005, 21(4): 463.

- [5] 罗添,周志荣,杜业刚,等. 饮用水中半挥发性有机物气相色谱质谱法测定[J]. 中国公共卫生,2007,23(2):216.  
[6] 胡浩斌,郑旭东. 气相色谱-质谱法测定超临界流体二氧化碳萃取东紫苏挥发油的化学成分[J]. 理化检验——化学分册,2006,42(9):712.  
[7] 方惠群,于俊生,史坚. 仪器分析[M]. 北京:科学技术出版社,2003:440.  
[8] 张根旺,杨天奎,郭净. 生物活性物质共轭亚油酸(CLA)的研究——CLA的生理活性和应用前景[J]. 中国油脂,2000,25(6):13.

## Extraction and comparison of volatile oil components from water caltrop and kernel by supercritical carbon dioxide extraction

LI Jing XU Weiguang NU Fenghan\*

(School of public Health, Jilin University, Changchun 130021, China)

**[Abstract]** **Objective** To extract the volatile components of water caltrop and kernel and to analyze them. **Method** The volatiles were separated by supercritical fluid extraction (SFE) and determined by GC-MS. **Result** The extraction rates of water caltrop and kernel were 5.96% and 0.23%, respectively. The components determined by normalization method were mainly 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z), but the content was different. **Conclusion** The researches showed that the components in the volatile components of water caltrop and kernel were mainly 12-octadecadienoic acid (Z,Z), and then palmitic acid, with a higher extraction rate of caltrop.

**[Key words]** water caltrop and kernel; volatile oil; SFE-CO<sub>2</sub>; GC-MS

doi 10.4268/cjmm.20111308

[责任编辑 马超一]