

响应面优化回流提取桂花不同品种种子油工艺及脂肪酸组成分析

王苗苗,李桂华,刘嘉琪,张 蝶,何国威,刘 建,唐伟卓*

长沙学院生物与环境工程学院,长沙 410022

摘要:为优选桂花不同品种种子油的提取工艺及分析其脂肪酸组成,本文运用响应面法对桂花种子油的回流提取工艺进行优化,并利用 GC-MS 法测定桂花种子油的脂肪酸组成,同时还考察了桂花种子油的体外抗氧化活性。结果表明,桂花四大品种种子油的最佳提取工艺分别为金桂:回流时间 72.0 min、温度 80.0 °C、料液比 1:13 mL/g;银桂:回流时间 120 min、温度 80.0 °C、料液比 1:12 mL/g;丹桂:回流时间 60.0 min、温度 70.0 °C、料液比 1:13 mL/g;四季桂:回流时间 71.0 min、温度 71.0 °C、料液比 1:13 mL/g。在上述条件下,桂花四大品种种子油的提取率分别为 15.0%、17.8%、18.0% 和 16.0%。进一步的 GC-MS 检测发现丹桂和银桂种子油中不饱和脂肪酸可达 96.0% 以上,且主要以油酸和亚油酸为主。体外抗氧化活性结果显示,当质量浓度为 5 μg/mL 时,桂花种子油对 DPPH 的清除率均大于 79.0%。上述研究结果为桂花种子这种农业废弃资源的再利用和开发提供了参考。

关键词:桂花种子;脂肪酸;响应面;GC-MS;抗氧化

中图分类号:R283.6

文献标识码:A

DOI:10.16333/j.1001-6880.2018.11.022

Response Surface Optimization of Reflux Extraction and Fatty Acid Composition Analysis of *Osmanthus fragrans* Seed Oil

WANG Miao-miao, LI Gui-hua, LIU Jia-qi, ZHANG Die, HE Guo-wei, LIU Jian, TANG Wei-zhuo*

College of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China

Abstract: To optimize the extraction technology of different kinds of *osmanthus fragrance* (OF) seeds oil and to analyze its fatty acid composition, response surface methodology design was employed to optimize the reflux assistance extraction technology of OF seeds oil. Meanwhile, the chemical composition of the fatty acids was analyzed by GC-MS. Moreover, the *in vivo* antioxidant activities of OF seed oils were also evaluated. The results showed that the optimal extraction conditions for OF var. thunbergii Makino seed (OFMS) oil was the ratio of liquid to solid at 1:13 mL/g, the extraction time at 80.0 min, and the extraction temperature at 72.0 °C; the optimal extraction conditions for OF asiaticus Nakai seed (OFNS) oil was the ratio of liquid to solid at 1:12 mL/g, the extraction time at 80.0 min, and the extraction temperature at 120 °C; the optimal extraction conditions for OF var. Auranticaus seed (OFAS) oil was the ratio of liquid to solid at 1:13 mL/g, the extraction time at 60.0 min, and the extraction temperature at 70.0 °C and the optimal extraction conditions for OF var. Semperflorens seed (OFSS) was the ratio of liquid to solid at 1:13 mL/g, the extraction time at 71.0 min, and the extraction temperature at 71.0 °C. Under the above conditions, the oil extraction yields for OFMS, OFNS, OFAS, and OFSS were 15.0%, 17.8%, 18.0%, and 16.0%, respectively. Further GC-MS analysis of OFNS and OFAS oils revealed that both of them were abundant in unsaturated fatty acids with a total content of 96.0%, and oleic acid and linoleic acid were the dominate fatty acids in two oils. When the concentration of OF seed oils were 5 μg/mL, the DPPH scavenging ratio of four OF seed oils were more than 79.0%. These results can provide the reference for further development and utilization of OF seeds.

Key words: *Osmanthus fragrans* seed; fatty acid; response surface analysis; GC-MS; antioxidant activity

收稿日期:2018-05-07 接受日期:2018-09-27

基金项目:湖南省自然科学基金(2018JJ3567);长沙市科技计划(k1705046);长沙学院 2017 年大学生科技创新项目(35)

* 通信作者 Tel:86-018521055135; E-mail:tweizhuo@126.com

桂花(*Osmanthus fragrans* L.),又名木犀,为木犀科(Oleaceae)木犀属(*Osmanthus* Lour)常绿阔叶植物,为我国的十大传统名花之一,主产四川、广西、

湖南、江苏、湖北等地。桂花种子为桂花的干燥果实,成熟时采收,用温水浸泡后,晒干入药。《植物名实图考长编》记载:桂花子,味甘性温,能暖胃驱寒,民间作为止痛剂用于治疗肝胃气痛。脂肪酸包括饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸。其中,不饱和脂肪酸又分为单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。作为人体能量的主要来源^[1],不饱和脂肪酸已被证实具有多种药理活性,包括抑菌^[2-4]、调节免疫功能^[5-7]和抗氧化等^[8-11]。

桂花主要分为金桂(*Osmanthus fragrans* var. *thunbergii* Makino, OFM)、银桂(*Osmanthus fragrans* *asiaticus* Nakai, OFN)、丹桂(*Osmanthus fragrans* var. *Auranticaus*, OFA)和四季桂(*Osmanthus fragrans* var. *Semperflorens*, OFS)四个品种群^[12]。目前,有关桂花的研究主要集中在资源、品种和芳香性等领域,涉及桂花种子脂溶性成分研究较少。赵彩屹等^[13]采用索氏回流提取法对桂花果实中的脂肪酸进行了提取,并初步分析了其组成;毕淑峰等^[14]利用水蒸气蒸馏法提取了桂花果实精油,通过 GC-MS 分析成分后进一步考察了精油的体外抗氧化活性。上述文献对桂花种子脂溶性成分进行了初步的提取及分析,但是未对不同品种桂花种子油的提取工艺进行全面考察和对比研究。

我国作为桂花的主要产区,拥有大量的桂花种子资源。当前桂花种子的利用除了作为种质资源进行育苗和观赏栽培外,多数当做农业废弃物处理,造成了巨大的浪费。桂花种子富含油脂类成分,含油量可达 11.0%。从新型木本植物油开发角度,如何高效获取桂花种子油脂类成分,明确其脂肪酸的种类和含量成为一个值得关注的问题。因此,为了提高桂花种子的二次利用度和附加值,拓展新型木本植物油来源,本文采用响应面实验考察桂花四大品种种子油的回流提取工艺,以油脂的提取率为指标,优选提取过程中各项参数。同时对提取率较高的丹桂和银桂种子中的脂肪酸组成进行 GC-MS 分析,并对桂花四大品种种子油进行抗氧化活性测定,以期对桂花种子这种农业废弃资源的二次利用及开发提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

桂花四大品种金桂、银桂、丹桂和四季桂的成熟干燥种子,2017 年 7 月购自江苏省宿迁市,经长沙

学院陈建荣副教授鉴定为木犀属植物桂花(*Osmanthus fragrans* L.)的成熟种子,标本现保存于长沙学院生物与环境工程学院天然产物研究室(编号 No. OFS001、002、003、004)。

石油醚(60~90℃)、甲醇(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司,中国);甲醇(色谱纯)、正己烷(色谱纯)(Merck,德国);37 种脂肪酸标准品(纯度>98.0%)(青岛科创质量有限检测公司,中国)。

1.2 仪器与设备

ThermoFisher Trace 1310 ISQ 气相色谱质谱联用仪(ThermoFisher,美国);TMT-3 型电子天平(湖南湘仪天平仪器设备有限公司,中国);RE-52AA 型旋转蒸发器(上海荣生化仪器有限公司,中国);103B 型高速中药粉碎机(瑞安市永利制药机械有限公司,中国);HWS-28 型电热恒温水浴锅(上海恒科学仪器有限公司,中国);101A-2B 型电热鼓风干燥箱(上海实验仪器厂股份有限公司,中国);SHZ-D(Ⅲ)循环水式真空泵(巩义市英峪予华仪器厂,中国)。

1.3 实验方法

1.3.1 提取工艺流程

桂花种子→干燥→粉碎→过筛→处理→过滤分离→减压分馏→溶剂回收→干燥→桂花种子油。

1.3.2 桂花种子油提取率计算

$$\text{提取率} = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (1)$$

式中: m_1 为桂花种子油重量,单位:g; m_2 为原料重量,单位:g。

1.3.3 响应面优化试验设计

采用响应面法优化回流提取桂花种子油的提取条件,根据 Box-Behnken 试验设计原理,选取回流时间,回流温度,料液比作为考察变量,采用三因素三水平的响应面分析法,以提取率为响应值,对提取工艺条件进行优化^[15,16]。

1.3.4 桂花种子油的气相色谱-质谱联用分析

1.3.4.1 桂花种子油甲酯化

称取 1.0 g 丹桂桂花种子油样品于圆底烧瓶中,加入 2 mL 5% 氢氧化钾-甲醇溶液,放置于 40℃ 水浴中反应 20 min。待反应完成后,冷却至室温,加入 2 mL 正己烷溶解,并转移到 10 mL 容量瓶中定容。静置 24 h 吸取上层有机相,经 0.45 μm 滤膜过滤,待测^[17-20]。

表 1 响应面法因素水平表

Table 1 Factors and levels design of Box-Behnken design

因素水平 Factor level	回流时间 <i>A</i> Reflux time (min)	回流温度 <i>B</i> Reflux temperature (°C)	料液比 <i>C</i> Solid-liquid ratio (mL/g)
-1	60	70	1:9
0	90	75	1:13
1	120	80	1:17

1.3.4.2 GC-MS 分析条件

气相色谱条件:色谱柱: TG-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm); 载气为高纯氮气 (99.999%), 载气流速 1.2 mL/min。升温程序: 初始温度设为 80 °C, 保持 1 min, 然后以 10 °C/min 的速率升温到 200 °C, 继续以 5 °C/min 升温到 250 °C, 最后以 2 °C/min 的速率升到 270 °C, 保持 3 min; 进样口温度为 290 °C; 样品进样量 1 μL; 不分流进样, 开阀时间 1 min。

质谱条件: 采用 EI 离子源, 离子源温度 280 °C; 溶剂延时 5 min; 电子能量 70 eV; 扫描范围为 30 ~ 400 amu; 分辨率为 1 000。

1.3.5 桂花种子油抗氧化活性的测定^[21]

取金桂、银桂、丹桂、四季桂种子油样品 20 ~ 100 μL 置于不同试管当中, 分别添加 4 mL 25 mg/mL 的 DPPH 乙醇 (95%) 溶液, 室温下避光反应 2

h。反应完成后, 在光径 1 cm 比色皿中测定 DPPH 混合液在波长 517 nm 下的吸光值 (A_i), 以乙醇 (95%) 为空白样, 以不加样品的 DPPH 乙醇 (95%) 溶液为对照, 测定对照组吸光度 (A_0)。以 0.20 mg/mL 的 Vc 作为阳性对照。自由基清除率按下式计算:

$$\text{自由基清除率}(\%) = (1 - A_i/A_0) \times 100\% \quad (2)$$

2 结果与分析

2.1 响应面法分析结果

基于 Box-Behnken 试验设计原理, 采用回流时间 (*A*)、回流温度 (*B*)、料液比 (*C*) 三个因素三水平设计方案 (表 1), 响应面分析共设计 15 组提取方法。以油脂提取率 (*Y*) 为响应值, 记录响应面分析的试验结果 (表 2) 和响应面方差分析结果 (表 3)。

表 2 回流提取桂花种子脂肪酸工艺优化 Box-Behnken 试验设计方案及结果

Table 2 Box-Behnken design and corresponding experimental results

试验号 No.	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	金桂种子 提取率 OFMS Fatty acid extraction rate (%)	银桂种子 提取率 OFNS Fatty acid extraction rate (%)	丹桂种子 提取率 OFAS Fatty acid extraction rate (%)	四季桂种子 提取率 OFSS Fatty acid extraction rate (%)
1	-1	-1	0	14.6	17.0	17.2	15.3
2	1	-1	0	14.6	16.8	17.0	15.0
3	-1	1	0	14.4	16.9	16.9	15.3
4	1	1	0	14.4	17.4	17.1	15.1
5	-1	0	-1	13.6	15.7	15.6	14.3
6	1	0	-1	14.1	15.7	16.0	14.9
7	-1	0	1	14.8	17.3	17.4	15.6
8	1	0	1	14.9	17.1	17.3	15.6
9	0	-1	-1	14.0	15.0	16.2	14.7
10	0	1	-1	13.9	16.1	15.6	14.7
11	0	-1	1	14.6	16.8	17.5	15.8
12	0	1	1	15.0	17.4	17.1	15.4
13	0	0	0	14.6	17.0	16.7	15.4
14	0	0	0	14.5	16.9	16.7	15.3
15	0	0	0	14.5	17.1	16.9	15.6

通过 Design-Expert. V8.0.6.1 软件对表 2 中试验结果进行回归拟合分析,经二次回归拟合后,得桂花四大品种金桂(Y_1)、银桂(Y_2)、丹桂(Y_3)、四季桂(Y_4)桂花种子油提取率的回归方程,如下:

$$Y_1 = 57.74297 - 0.17465A - 1.05656B + 0.74765C + 1.58333 \times 10^{-3}AB - 2.08333AC + 1.5625BC + 5.74074 \times 10^{-4}A^2 + 5.91667 \times 10^{-3}B^2 - 0.020833C^2, R^2 = 0.977 \quad (3)$$

$$Y_2 = -1.06094 - 0.22090A + 0.30875B + 1.7651C + 2.33333 \times 10^{-3}AB - 1.04167 \times 10^{-3}AC - 6.25 \times 10^{-3}$$

$$BC + 4.07407 \times 10^{-4}A^2 - 2.33333 \times 10^{-3}B^2 - 0.039583C^2, R^2 = 0.967 \quad (4)$$

$$Y_3 = 7.84043 + 0.054618A + 0.086563B + 0.098307C - 8.33333 \times 10^{-3}AB - 1.5625AC + 4.6875 \times 10^{-3}BC - 1.62037 \times 10^{-4}A^2 - 9.58333 \times 10^{-4}B^2 - 8.52825 \times 10^{-3}C^2, R^2 = 0.930 \quad (5)$$

$$Y_4 = -17.96582 + 0.096215A + 0.616187B + 0.95326C + 5 \times 10^{-4}AB - 2.8125 \times 10^{-3}AC - 4.375 \times 10^{-3}BC - 6.43519 \times 10^{-4}A^2 - 4.04167 \times 10^{-3}B^2 - 0.011393C^2, R^2 = 0.914 \quad (6)$$

表 3 方差分析

Table 3 Variance analysis for the fitted regression model

方差来源 Source	金桂(OFM)					银桂(OFN)				
	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value
模型 Model	5.38	9	0.600	23.2	0.0015**	6.89	9	0.770	15.7	0.0038**
A	2.00×10^{-2}	1	2.00×10^{-2}	0.680	0.4467	1.00×10^{-2}	1	1.00×10^{-2}	0.100	0.7626
B	0.180	1	0.180	6.98	0.0459*	0.550	1	0.550	11.2	0.0203*
C	4.46	1	4.46	173	<0.0001**	4.58	1	4.58	93.0	0.0002**
AB	6.00×10^{-2}	1	6.00×10^{-2}	2.19	0.1993	0.120	1	0.120	2.49	0.1752
AC	6.00×10^{-2}	1	6.00×10^{-2}	2.42	0.1803	2.00×10^{-2}	1	2.00×10^{-2}	0.320	0.5972
BC	3.90×10^{-3}	1	3.90×10^{-3}	0.150	0.7132	6.00×10^{-2}	1	6.00×10^{-2}	1.27	0.3106
A ²	6.00×10^{-2}	1	6.00×10^{-2}	2.39	0.1830	3.00×10^{-2}	1	3.00×10^{-2}	0.630	0.4629
B ²	8.00×10^{-2}	1	8.00×10^{-2}	3.13	0.1370	1.00×10^{-2}	1	1.00×10^{-2}	0.260	0.6346
C ²	0.410	1	0.410	15.9	0.0105*	1.48	1	1.48	30.1	0.0027**
残差 Residual	0.130	5	3.00×10^{-2}	-	-	0.250	5	5.00×10^{-2}	-	-
失拟 Lank of fit	0.110	3	4.00×10^{-2}	4.13	0.2009	0.230	3	8.00×10^{-2}	13.7	0.0704
纯误差 Pure error	2.00×10^{-2}	2	8.96	-	-	1.00×10^{-2}	2	5.83×10^{-3}	-	-
总回归 Cor total	5.51	14	-	-	-	7.13	14	-	-	-

方差来源 Source	丹桂(OFA)					四季桂(OFS)				
	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F 值 F-value	P 值 P-value
模型 Model	1.74	9	0.190	7.41	0.0200*	2.16	9	0.240	5.91	0.0324*
A	3.00×10^{-2}	1	3.00×10^{-2}	0.970	0.3703	7.03×10^{-3}	1	7.03×10^{-3}	2.00×10^{-2}	0.9004
B	1.25×10^{-3}	1	1.25×10^{-3}	5.00×10^{-2}	0.8356	3.00×10^{-2}	1	3.00×10^{-2}	0.380	0.5658
C	1.58	1	1.58	60.3	0.0006**	1.78	1	1.78	43.9	0.0012**
AB	5.63×10^{-3}	1	5.63×10^{-3}	5.98×10^{-3}	0.9414	5.62×10^{-3}	1	5.62×10^{-3}	0.140	0.7248
AC	4.00×10^{-2}	1	4.00×10^{-2}	1.34	0.2986	0.110	1	0.110	2.81	0.1546
BC	4.00×10^{-2}	1	4.00×10^{-2}	1.34	0.2986	3.00×10^{-2}	1	3.00×10^{-2}	0.760	0.4246

续表(Continued Tab.)

方差来源 Source	丹桂(OFA)					四季桂(OFS)				
	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F值 F-value	P值 P-value	平方和 Quadratic sum	自由度 df	均方 Mean square	F值 F-value	P值 P-value
A^2	4.91×10^{-3}	1	4.91×10^{-3}	0.190	0.682 9	8.00×10^{-2}	1	8.00×10^{-2}	1.91	0.225 6
B^2	2.11×10^{-3}	1	2.11×10^{-3}	8.00×10^{-2}	0.787 3	4.00×10^{-2}	1	4.00×10^{-2}	0.930	0.379 3
C^2	7.00×10^{-2}	1	7.00×10^{-2}	2.63	0.165 8	0.120	1	0.120	3.03	0.142 4
残差 Residual	0.130	5	3.00×10^{-2}	-	-	0.200	5	4.00×10^{-2}	-	-
失拟 Lank of fit	0.130	3	4.00×10^{-2}	15.4	0.061 5	0.140	3	5.00×10^{-2}	1.67	0.396 2
纯误差 Pure error	5.42×10^{-3}	2	2.71×10^{-3}	-	-	6.00×10^{-2}	2	3.00×10^{-2}	-	-
总回归 Cor total	1.87	14	-	-	-	2.36	14	-	-	-

注: * 差异极显著, $P < 0.01$; * 差异显著, $P < 0.05$ 。

Note: ** The difference was very significant, $P < 0.01$; * significant difference, $P < 0.05$.

由表3可知,模型影响均显著($P < 0.05$),而失拟项不显著,预测值与实验值之间有较好的相关性,提示该回归模型有效。此外,各因素对金桂、银桂和四季桂种子油提取率影响大小顺序依次为液料比 > 回流温度 > 回流时间。值得注意的是,各因素对丹桂种子油提取率影响大小顺序依次为液料比 > 回流时间 > 回流温度,其中回流时间对丹桂种子油的提取率影响大于回流温度,与前三个品种种子油的影响因素相反。从回流法提取效率来看,对于热稳定性成分,回流时间的影响要大于回流温度。另外,桂花四个品种种子油的最佳提取工艺中,回流时间和回流温度影响虽然小于料液比,但是各品种之间结论差异明显,是否是由于样本本身或者实验方法误差,有待进一步研究。

2.2 响应面分析与优化

借助 Design-Expert 8.0.6.1 软件对上述回归方程作出交互作用显著双因素的3D曲面图,可以直观反映各因子及其交互作用对响应值的影响。以丹桂为例,由图1-(7)可看出,当料液比一定时,丹桂种子油提取率随回流时间和温度数值的变大呈现先增加后减小趋势。由图1-(8)可知,当回流温度一定时,提取率随着回流时间的增加和料液比的增大,提取率先增加后逐渐平缓。由图1-(9)可看出,当回流温度一定时,油脂提取率随料液比的增大而后逐渐减小。

为了精确计算最佳工艺参数,对回归方程式(3)、(4)、(5)和(6)中4个自变量分别求偏导并使其等于0,得优化工艺参数:金桂:回流时间71.9 min、回流温度80.0℃、料液比1:13 mL/g;银桂:回

流时间120 min、回流温度80.0℃、料液比1:11.9 mL/g;丹桂:回流时间60.0 min、回流温度70.0℃、料液比1:13 mL/g;四季桂:回流时间70.5 min、回流温度71.2℃、料液比1:13 mL/g,在此优化工艺条件下,金桂、银桂、丹桂、四季桂种子脂肪酸理论提取率分别可达14.9%、17.6%、17.8%和15.8%。

2.3 最佳工艺确定与验证试验

为检验响应面法优化桂花种子油提取工艺的可靠性,对优化提取工艺条件进行验证实验,结果取3次平行试验的平均值。考虑到实际操作方便性,将优化工艺参数调整为:金桂:回流时间72.0 min、回流温度80.0℃、料液比1:13 mL/g;银桂:回流时间120 min、回流温度80.0℃、料液比1:12 mL/g;丹桂:回流时间60.0 min、回流温度70.0℃、料液比1:13 mL/g;四季桂:回流时间71.0 min、回流温度71.0℃、料液比1:13 mL/g。在此工艺条件下,四个桂花品种种子中脂肪酸的提取率分别可达15.0%、17.8%、18.0%和16.0%。该结果均与理论预测值相近,说明运用响应面法优化得到的模型工艺参数准确可靠。

2.4 桂花种子油的气相色谱-质谱成分分析

对桂花种子油的提取率进行分析,丹桂种子油提取率最高,银桂次之,二者相差不大。因此,选取上述两种样本进行GC-MS分析。利用NIST05标准谱库进行峰检索,逐个匹配用于定性,采用混合标准品与面积归一法进行定量分析。丹桂和银桂样品的总离子流色谱图如下(图2)。由表4可知,丹桂种子中共检测到19种脂肪酸成分,主要含有顺-10-十五烯酸、亚油酸、油酸、硬脂酸4种脂肪酸。其中,单

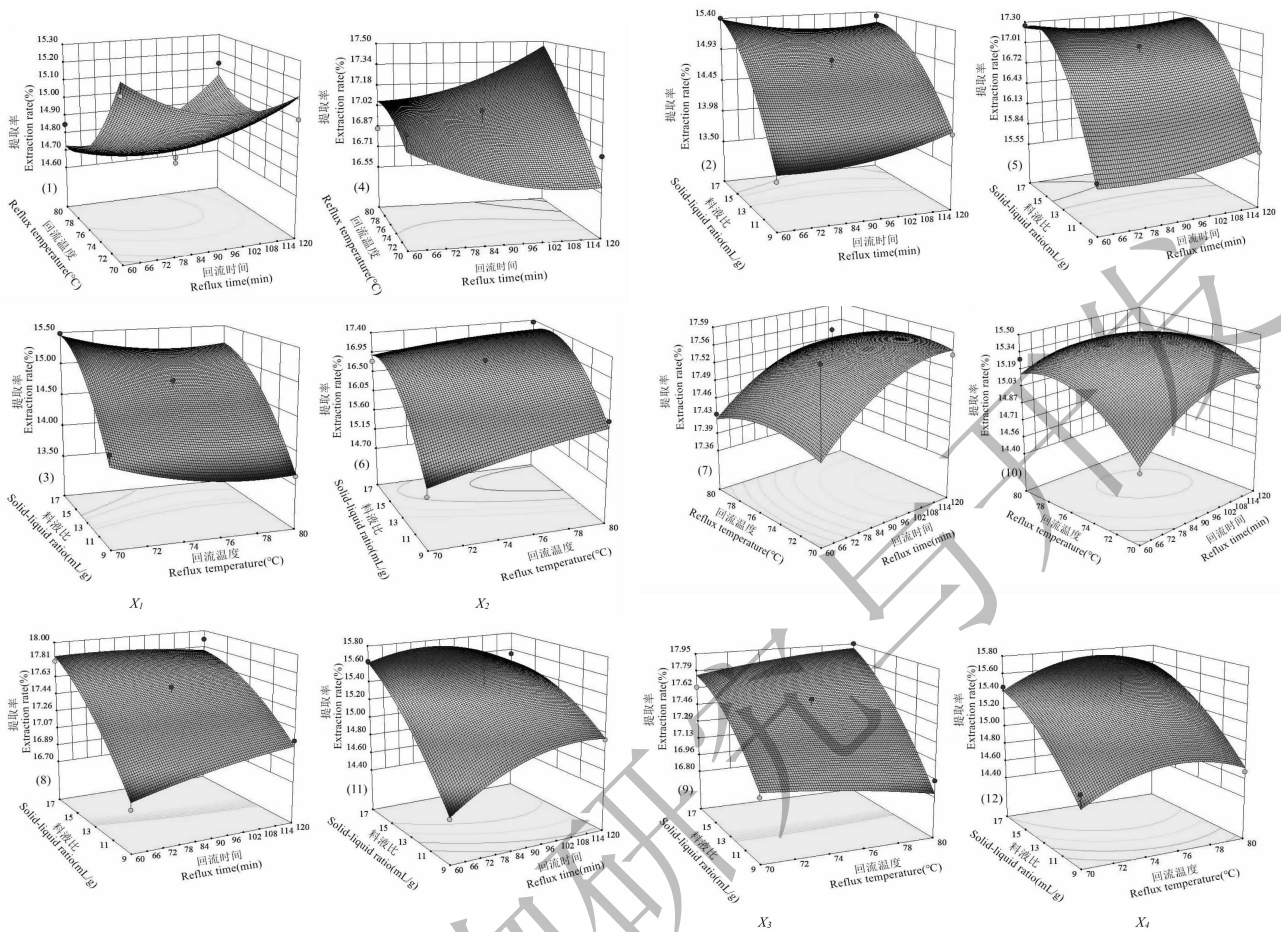


图 1 各两因素交互作用对桂花种子脂肪酸提取率影响的响应面图

Fig. 1 Response surface plots for the interactive effects of four extraction parameters on oil yield.

注: X₁: 金桂; X₂: 银桂; X₃: 丹桂; X₄: 四季桂。

Note: X₁: OFM; X₂: OFN; X₃: OFA; X₄: OFS.

不饱和脂肪酸相对含量达 57.0%, 且以油酸为主 (44.2%); 多不饱和脂肪酸相对含量达 39.1%, 以亚油酸为主 (38.8%)。而银桂种子中共检测到 16 种脂肪酸成分, 主要含有顺-10-十五烯酸、亚油酸、

油酸、硬脂酸 4 种脂肪酸。其中, 单不饱和脂肪酸相对含量达 57.2%, 以油酸为主 (44.2%); 多不饱和脂肪酸相对含量达 38.9%, 以亚油酸为主 (38.6%)。

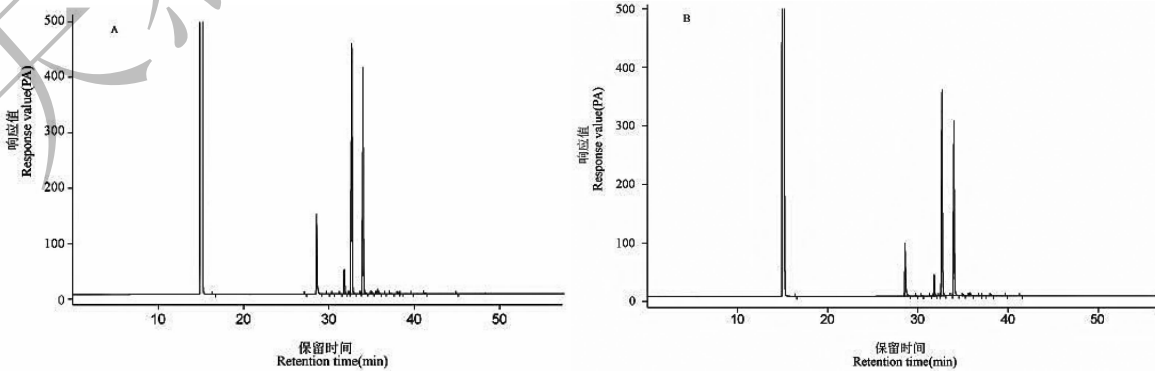


图 2 丹桂 (A) 和银桂 (B) 种子油总离子流色谱图

Fig. 2 Total ion current chromatogram of fatty acids in OFAS (A) and OFNS (B)

表4 丹桂和银桂种子油的组成及相对含量

Table 4 The main components and their relative content of fatty acids in OFAS and OFNS

序号 No.	保留时间 Retention time (min)	脂肪酸名称 Fatty acid name	分子式 Molecular formula	分子 质量 Molecular mass	OFAS 相 对含量 Relative amount (%)	OFNS 相 对含量 Relative amount (%)
1	27.3	十五烷酸 Pentadecanoic acid	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	1.00 × 10 ⁻²	-
2	28.6	顺-10-十五烯酸 10C-pentadecenoic acid	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	240	11.7	11.9
3	29.8	棕榈油酸 Palmitoleic acid	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	3.00 × 10 ⁻²	4.00 × 10 ⁻²
4	30.4	十七烷酸 Margaric acid	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	9.00 × 10 ⁻²	8.00 × 10 ⁻²
5	31.4	顺-10-十七烯酸 Cis-10-heptadecenoic acid	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	2.00 × 10 ⁻²	2.00 × 10 ⁻²
6	31.8	硬脂酸 Stearic acid	C ₁₇ H ₃₅ COOH	284	3.36	3.41
7	32.4	反油酸 Elaidic acid	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	3.00 × 10 ⁻²	4.00 × 10 ⁻²
8	32.7	油酸 Oleic acid	C ₁₇ H ₃₃ COOH	282	44.2	44.2
9	33.7	反亚油酸 Linoelaidic acid	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	3.00 × 10 ⁻²	5.00 × 10 ⁻²
10	34.0	亚油酸 Linolenic acid	C ₁₇ H ₃₁ COOH	280	38.8	38.6
11	35.0	花生酸 Arachidic acid	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	0.350	0.340
12	35.7	顺-11-二十碳烯酸 Cis-11-eicosenoic acid	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	0.970	0.920
13	36.6	二十一碳酸 Heneicosanoic acid	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	1.00 × 10 ⁻²	7.00 × 10 ⁻²
14	37.2	顺-11,14-二十碳二烯酸 11C-14C-eicosadienoic	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	0.100	6.00 × 10 ⁻²
15	38.1	顺-8,11,14-二十碳三烯酸 Cis-8,11,14-eicosatrienoic acid	C ₂₀ H ₃₄ O ₂	306	0.180	0.170
16	38.4	芥酸 Erucic acid	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	338	3.00 × 10 ⁻²	-
17	39.8	二十三碳酸 Tricosanoic acid	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	1.00 × 10 ⁻²	8.00 × 10 ⁻²
18	41.3	顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸 Cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302	8.00 × 10 ⁻²	8.00 × 10 ⁻²
19	45.0	顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸 Cis-4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	328	4.00 × 10 ⁻²	-
Total	-	饱和脂肪酸 Saturated fatty acids	-	-	3.83	3.91
Total	-	单不饱和脂肪酸 Monounsaturated fatty acids	-	-	57.0	57.2
Total	-	多不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acids	-	-	39.1	38.9

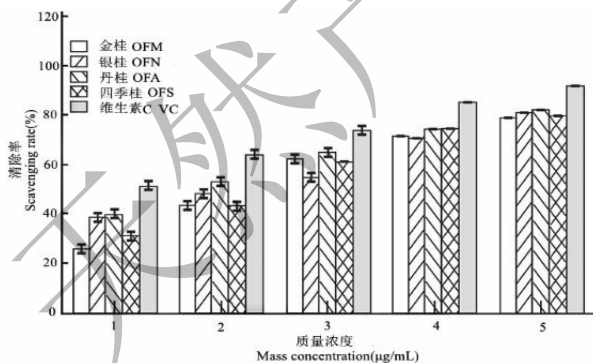


图3 桂花四大品种种子脂肪酸 DPPH 自由基清除活性

Fig.3 DPPH radical scavenging activity of four different kinds of OF seeds

2.5 桂花种子脂肪酸对 DPPH 的清除能力

对按上述工艺制备的桂花四大品种种子油进行体外抗氧化活性评价,结果如图3所示。可以看出,

桂花四大品种种子油具有一定自由基清除效应,且清除率随样品浓度的增加而增加。当质量浓度为 5 μg/mL 时,桂花四大品种种子油对 DPPH 的最大清除率分别可达 79.6%、81.8%、83.0%、80.4%,显示出良好的抗氧化活性。

3 结论

本文采用响应面法优化回流提取桂花四大品种种子油的提取工艺。最终确定了各品种桂花种子的最佳提取工艺:金桂:回流时间 72.0 min、回流温度 80.0 °C、料液比 1:13 mL/g;银桂:回流时间 120 min、回流温度 80.0 °C、料液比 1:12 mL/g;丹桂:回流时间 60.0 min、回流温度 70.0 °C、料液比 1:13 mL/g;四季桂:回流时间 71.0 min、回流温度 71.0 °C、料液比 1:13 mL/g。在此工艺条件下,金桂、银桂、丹桂、四季桂种子脂肪酸提取率分别可达 15.0%、17.8%、18.0%、16.0%。同时,对提取率较

高的丹桂、银桂种子脂肪酸组成进行 GC-MS 分析。结果表明,丹桂种子中共检测到 19 种脂肪酸成分,主要含有顺-10-十五烯酸、亚油酸、油酸、硬脂酸 4 种脂肪酸。其中,单不饱和脂肪酸相对含量达 57.0%,且以油酸为主(44.2%);多不饱和脂肪酸相对含量达 39.1%,以亚油酸为主(38.8%)。而银桂种子中共检测到 16 种脂肪酸成分,主要含有顺-10-十五烯酸、亚油酸、油酸、硬脂酸 4 种脂肪酸。其中,单不饱和脂肪酸相对含量达 57.2%,以油酸为主(44.2%);多不饱和脂肪酸相对含量达 38.9%,以亚油酸为主(38.6%)。另外,对桂花种子油进行体外抗氧化试验,结果当质量浓度为 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,桂花种子油对 DPPH 的清除率均大于 79.0%,显示出良好的抗氧化活性。上述结果为桂花种子这种废弃资源的再利用和二次开发提供了一定的参考。

参考文献

- Li CZ(李昌珠),li ZM(李正茂). Research progress on biosynthesis and physiological functions of plant fatty acids[J]. *Hunan Fore Sci Technol*(湖南林业科技),2009,36(6):45-49.
- Kabara JJ, Vrable R, Jie MS, et al. Antimicrobial lipids; natural and synthetic fatty acids and monoglycerides[J]. *Lipids*, 1977, 12:753-759
- Zhang X(张希), Yang M(杨明), Song F(宋飞), et al. Antimicrobial activity of selected fatty acids and their derivatives[J]. *J Zhejiang Univ: Agric & Life Sci*(浙江大学学报:农业与生命科学版),2013,39:155-160.
- Yang QL(杨巧丽). Fatty acids composition analysis and antimicrobial & anti oxygenic activity of eucalyptus extraction [D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology(中南林业科技大学),2013.
- Calder PC. Dietary modification of inflammation with lipids [J]. *P Nutr Soc*,2002,61:345-358.
- Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity[J]. *Eur J Clin Nutr*,2002,88:109-116.
- Ge CR(葛长荣), Su ZF(苏子峰), Cao ZH(曹正辉). Advances in the immunological function of polyunsaturated fatty acids[J]. *J Feed Technol*(饲料工业),2005,26(8):1-4.
- Wang XQ(王雪青), Miao H(苗惠), Hu P(胡萍). Research progress of nutrition and biological functions of PUFA [J]. *Food Sci*(食品科学),2004,25:337-339.
- Lai WQ(来伟旗), Zhang L(张岭), Liu Z(刘臻), et al. Antioxidant function of polyunsaturated fatty acids in human beings[J]. *Occup and Health*(职业与健康),2011,27:2707-2708.
- Zhu MY(祝美云), Tian WH(田文翰), Liang LS(梁丽松), et al. Fatty acid composition and antioxidant activity of kernel oils from different *Hazelnut* varieties[J]. *Food Sci*(食品科学),2012,33(23):47-50.
- Zhang FW(张福伟). Effect of omega-3 fatty acids postconditioning on antioxidation of rats myocardium during ischemia reperfusion injury[D]. Guangzhou: Southern Medical University(南方医科大学),2012.
- Zang DK(臧德奎), Xiang QB(向其柏), Liu YL(刘玉莲), et al. The studying history and the application to international cultivar registration authority of sweet *Osmanthus*(*Osmanthus fragrans* Lour.) [J]. *J Plant Resources and Environ*(植物资源与环境学报),2003,12(4):49-53.
- Zhao CY(赵彩屹), He QL(何莽玲), Li X(李霞), et al. Analysis of fatty acid composition of *Osmanthus* seed oil by GC-MS [J]. *Chemical Engineer*(化学工程师),2015,29(8):25-26.
- Bi SF(毕淑峰), Zhang LJ(张铃杰), Gao H(高慧), et al. Chemical constituents and antioxidant activities in vitro of essential oils from *Osmanthus fragrans* fruits [J]. *Modern Food Sci and Technol*(现代食品科技),2014,30:238-243.
- Ma CJ(麻成金), Huang W(黄伟), Huang Q(黄群), et al. Response surface optimization of ultrasonic-assisted extraction and fatty acid composition analysis of *Sloanea hemsleyana* seed oil [J]. *Food Sci*(食品科学),2012,33(16):24-29.
- Ma CJ(麻成金), Wu ZQ(吴竹青), Huang W(黄伟), et al. Ultrasound-assisted extraction and fatty acid composition of *Biota Orientalis* seed oil [J]. *Food Sci*(食品科学),2010,31(24):50-55.
- Uranga CC, Beld J, Mrse A, et al. Data from mass spectrometry, NMR spectra, GC-MS of fatty acid esters produced by *Lasiodiplodia theobromae* [J]. *Data in Brief*,2016,8(C):31-39.
- Zhao XE(赵先恩), Liu YJ(刘永军), Wang HL(王洪伦), et al. HPLC and GC-MS analysis of fatty acids in Tibetan medicine *Herpetospermum* seed oil [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2009,21(1):76-83.
- Li GY(李高阳), Ding XL(丁霄霖). Analysis of fatty acids of flaxseed oil with GC-MS [J]. *Food & Machinery*(食品与机械),2005,21(5):30-32.
- Zhang HC(张红城), Dong J(董捷), Qu C(曲臣), et al. GC-MS analysis and determination of fatty acids in bee pollen [J]. *Food Sci*(食品科学),2009,30:419-424.
- Jin YX(金玉霞). Research on the extraction, antioxidant and antibacterial activity of the essential oil of tea (*Camellia sinensis* L.) flower [D]. Hangzhou: Zhejiang University(浙江大学),2010.