

文章编号: 1004—5570(2012)02—0075—04

# 新疆尼勒克蜂胶超临界 CO<sub>2</sub> 萃取 脱蜡及 GC-MS 分析

叶菲菲<sup>1</sup> 李 岗<sup>1</sup> 余德顺<sup>1,2\*</sup> 冯新斌<sup>2</sup> 杨秀群<sup>2</sup>(1. 贵州大学 化学化工学院, 贵州 贵阳 550003; 2. 中国科学院地球化学  
研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵州 贵阳 550002)

**摘要:** 对新疆尼勒克县产蜂胶用超临界 CO<sub>2</sub> 流体进行萃取脱蜡, 脱蜡率为 22.5%, 用气相色谱—质谱联用仪 (GC-MS) 对萃取物进行分析, 检测到 53 个化合物并进行了鉴定, 用峰面积归一化法确定了这些物质的相对含量, 主要化学组成为以长链正构烷烃为主的烃类蜡质化合物, 占 89.13%, 蜂胶中主要功效成分, 如黄酮类化合物等所占比例很小, 显示在此工艺条件下主要分离的是蜂胶中蜡质。对其中正构烷烃的碳数及奇偶比进行了比较分析, 结合蜂胶的产生过程和当地的自然生态环境进行了讨论, 显示蜂胶中所含各种碳数正构烷烃数量及比例有一定的生态学意义, 值得进一步深入研究。

**关键词:** 蜂胶; 超临界 CO<sub>2</sub>; 脱蜡; GC-MS; 正构烷烃; 生态

中图分类号: O652.62 文献标识码: A

## A study on GC-MS analysis and dewaxed by supercritical CO<sub>2</sub> for propolis from Nileke Xinjiang

YE Fei-fei<sup>1</sup>, LI Gan<sup>1</sup>, YU De-shun<sup>1,2\*</sup>, FENG Xin-bin<sup>1</sup>, YANG Xiu-qun<sup>2</sup>

(1. College of Chemistry and Chemical Engineering, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550003, China;

2. The State Key of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, Chinese  
Academy of Sciences, Guiyang, Guizhou 550002, China)

**Abstract:** The propolis of Xinjiang was extracted by supercritical CO<sub>2</sub> and dewaxed, the extraction rate of propolis was 22.5%, then analyzed by GC-MS, the results showed there were 53 compositions were detected and identified, determining the relative content of these substances by peak area normalization method, the main chemical compositions were hydrocarbon wax compounds which based long-chain n-alkanes, the rate of long-chain n-alkanes was 89.13%, the proportion of the main effect of propolis components such as flavonoids and other were very small, it was shown that in this process of separation were the main propolis wax. The carbon number and parity ratio of n-alkanes were analyzed, dis-

\* 收稿日期: 2011-12-08

基金项目: 中国科学院“科技支黔”项目(2009) 科技部科技人员服务企业项目(2009GJF20039); 贵州省优秀科技教育人才省长专项资金资助项目(黔省专合字(2009)78号); 贵州省院地合作科技计划项目(黔科合院地合(2009)700105)资助

作者简介: 叶菲菲(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 生物资源开发与精细化工。

\* 通讯作者: 余德顺(1963-), 男, 中国科学院地球化学研究所研究员, 研究方向: 天然产物提取分离及环境科学, E-mail: yudeshun@tom.com.

cussed with propolis production process and the local natural environment ,display the number and the proportion of n-alkanes which were contained by the propolis have some ecological significance ,it deserves further study.

**Key words:** propolis; supercritical CO<sub>2</sub>; Dewax; GC-MS; n-alkanes; ecology

## 0 引言

蜂胶是蜜蜂从植物芽孢和树干处采集的树脂 ,混入蜜蜂上颚腺分泌物和蜂蜡等形成的一种具有芳香味的粘性胶状同形物。其化学成分复杂 ,含有酚、酸、醇、酯、酚、醚、萜、烯、甾醇及多种微量元素<sup>[1]</sup>。近年来国内外学者所做的大量研究表明 ,蜂胶具有治疗心血管、糖尿病、皮肤病、胃肠疾病、抗癌、增强免疫、抗菌消炎等重要的生理功效<sup>[2]</sup> ,因而在现代医学及保健食品研究领域得到越来越多的研究和应用。

粗蜂胶中往往混杂着蜂蜡 ,蜂蜡会微溶于乙醇 ,影响蜂胶黄酮的提取、分析测定 ,并且食用后不被人体吸收 ,故应先去除蜂蜡<sup>[3]</sup>。传统上蜂胶除蜡工艺主要为水提除蜡、水蒸汽除蜡及有机溶剂除蜡(如石油醚)<sup>[3,4,5]</sup>。

超临界流体技术在医药和食品工业中的应用发展迅速 ,其中超临界二氧化碳因其临界温度和临界压力低(31.06℃ ,7.39MPa) ,对中、低分子量和非极性的天然产物 ,如挥发油及脂溶性物质有较强的亲和力 ,且具有无色、无味、无毒、不易燃、不易爆、低膨胀性、低黏度、低表面张力、易于分离、价廉、易制得高纯气体等特点 ,是应用最为广泛的超临界流体<sup>[6]</sup> ,在蜂胶的提取分离中也有不少研究<sup>[7]</sup> ,但尚未见用于蜂胶脱蜡的报道。

本文对产至新疆尼勒克县的蜂胶进行了超临界 CO<sub>2</sub> 流体脱蜡工艺的初步探索 ,并对脱蜡物进行了 GC-MS 分析。

## 1 材料与设备

### 1.1 原料与试剂

粗蜂胶: 产至新疆尼勒克县 ,黄绿色块状 ,冷冻后粉碎至 20 目待用; 二氧化碳: (CO<sub>2</sub> ≥99.9%) ,贵阳申建气体有限公司。

### 1.2 仪器与设备

HA-05-1A 超临界流体萃取设备: 江苏省南通华安超临界萃取公司; 气相色谱-飞行时间质谱联

用仪(GC-TOF-MS): 英国 Micromass 公司

## 2 试验方法

### 2.1 蜂胶的超临界 CO<sub>2</sub> 脱蜡

蜂胶蜡质主要来源于蜜蜂采集的植物花苞及树干上的蜡质及树胶 ,参照研究文献<sup>[8,9]</sup> 及我们以往的研究 ,取经粉碎后蜂胶原料 45g ,在 CO<sub>2</sub> 流速为 25L/h ,萃取压力 30MPa ,萃取温度 50℃ ,萃取时间 90min 进行脱蜡萃取 ,收集分离釜中萃取物 ,称重 ,平行试验 3 次。按: 脱蜡率 = 萃取物/蜂胶投料量 ,计算脱蜡率 ,取平均值 ,脱蜡率为 22.5%。

### 2.2 GC-MS 检测条件

气相色谱条件: 色谱柱为 DB-5ms (30m × 0.25mm φ, 25μm) ,载气为高纯 He 0.8ml/min ,柱箱温度为 60℃ 保持 2min。程序升温: 以 8℃/min 从初始温度 60℃ 升至 300℃ 保持 3min。进样方式: 进样口 260℃ ,分流比 10:1 进样 1μL。

质谱条件: 源温为 200℃ ,扫描范围: 10 ~ 800amu ,全扫面方式。软件: Masslynx SP1 ,谱库: NIST02。

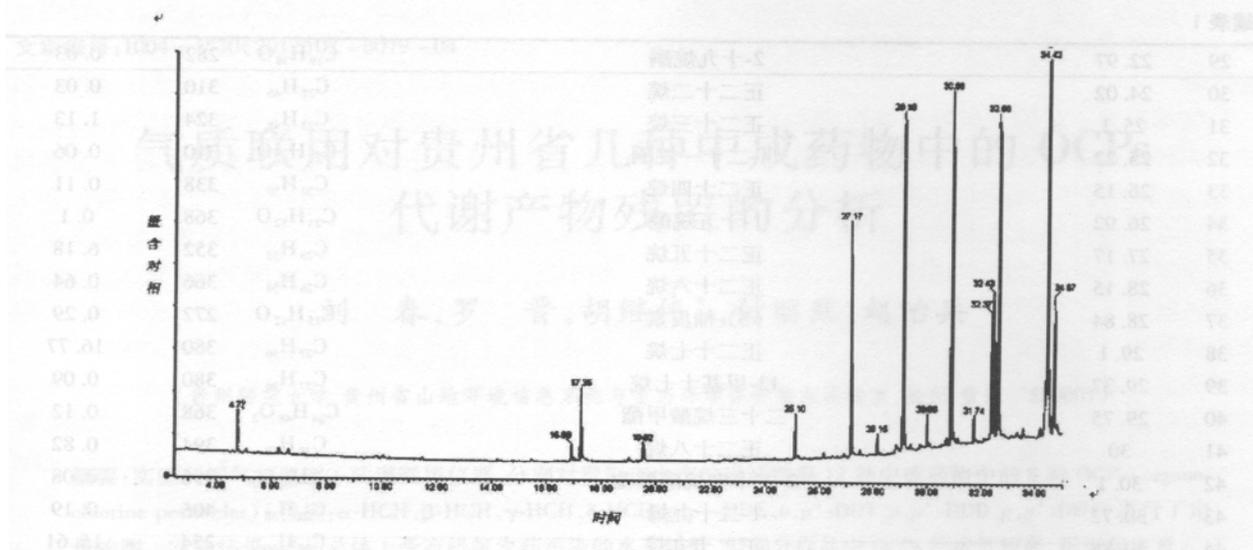
## 3 结果与分析

### 3.1 蜂胶超临界 CO<sub>2</sub> 脱蜡

在实验条件下 ,运用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法对产至新疆尼勒克的蜂胶进行脱蜡 ,平均脱蜡率为 22.5% ,在相关研究<sup>[3,4]</sup> 报道的较高范围(20% ~ 30%) 内 ,显示超临界 CO<sub>2</sub> 萃取脱蜡的有效性。

### 3.2 脱蜡物的 GC-MS 分析

对超临界 CO<sub>2</sub> 法所得脱蜡物进行 GC-MS 分析 ,图 1 为超临界 CO<sub>2</sub> 法蜂胶萃取产物的总离子流图 ,化学组成的分析结果见表 1。从图 1 和表 1 可以看出 ,鉴定出的 53 种成分中 ,主要以正构烷烃为主的烃类物质 ,占 89.13% ,蜂胶最主要生物活性成分之一——黄酮类物质<sup>[10]</sup> ,仅见 (S)-柚皮素 ,占 0.29% ,其它含氧化合物 ,如醇、酯及烷酮类物质 7 个 ,总含量仅占 0.75%。

图1 超临界 CO<sub>2</sub> 脱蜡物的总离子流图Fig.1 Total ion chromatogram of dewaxed compounds extracted by supercritical CO<sub>2</sub>表1 超临界 CO<sub>2</sub> 脱蜡物化学组成及相对含量Tab.1 Chemical components and relative contents in dewaxed compounds extracted by supercritical CO<sub>2</sub>

编号	保留时间	名称	分子式	分子量	相对含量/%
1	4.77	α-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	1.18
2	5.08	蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.17
3	6.15	3-蒎烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.06
4	6.28	1,4-桉叶素	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0.17
5	6.33	对伞花烃	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0.12
6	6.57	柠檬烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.06
7	6.62	桉树醇	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0.19
8	7.65	异松油烯	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0.01
9	8.33	1,3-二甲基金刚烷	C <sub>12</sub> H <sub>20</sub>	164	0.02
10	9.25	2,6-二甲基十氢萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166	0.03
11	9.45	2,3-二甲基十氢萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	150	0.03
12	9.67	1,5-二甲基十氢萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	130	0.03
13	9.82	1,6-二甲基十氢萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	150	0.08
14	9.92	顺,反-3,6-二甲基螺[4.5]癸烷	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	156	0.04
15	9.98	1,2-二甲基(Z)-环癸烯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	172	0.02
16	10.05	1-甲基-环癸烯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	178	0.07
17	10.3	1,1-二甲基(十氢)萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	166	0.04
18	10.4	2,2-二甲基(十氢)萘	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub>	180	0.05
19	15.45	[6.2.1.1(3,6).0(2,7)]十二-4,9-二烯-11-异丙基四环烷	C <sub>15</sub> H <sub>18</sub>	184	0.06
20	16.38	愈创烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.03
21	16.6	α-柏木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.01
22	16.9	1,2,4,5,8,8-六氢-4,7-二甲基-1-(1-甲基乙基)-(1S,4aR,8AS)-萘	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.64
23	17.03	(+)-γ-古芸烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.06
24	17.25	1,1,3-甲基-7-甲基十氢-1H-环[A]萘	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	2.3
25	19	愈创木烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.12
26	19.52	芹子烯	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>	204	0.87
27	22.52	4,4-二甲基-3-(3-甲基-3-亚乙基)-2-甲基烯双环[4.1.0]庚烷	C <sub>15</sub> H <sub>22</sub>	202	0.03
28	22.87	正二十一烷	C <sub>21</sub> H <sub>44</sub>	296	0.07

续表 1

29	22.97	2-十九烷酮	C <sub>19</sub> H <sub>38</sub> O	282	0.03
30	24.02	正二十二烷	C <sub>22</sub> H <sub>46</sub>	310	0.03
31	25.1	正二十三烷	C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>	324	1.13
32	25.22	11-二十一烷酮	C <sub>21</sub> H <sub>42</sub> O	310	0.06
33	26.15	正二十四烷	C <sub>24</sub> H <sub>50</sub>	338	0.11
34	26.92	1-十五烷醇	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub> O	368	0.1
35	27.17	正二十五烷	C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>	352	6.18
36	28.15	正二十六烷	C <sub>26</sub> H <sub>54</sub>	366	0.64
37	28.84	(S)-柚皮素	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O	272	0.29
38	29.1	正二十七烷	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	16.77
39	29.37	13-甲基十七烷	C <sub>27</sub> H <sub>56</sub>	380	0.09
40	29.75	二十三烷酸甲酯	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>	368	0.12
41	30	正二十八烷	C <sub>28</sub> H <sub>58</sub>	394	0.82
42	30.1	2-二十四烷醇酸酯	C <sub>26</sub> H <sub>52</sub> O <sub>2</sub>	396	0.08
43	30.72	1-二十九烯	C <sub>29</sub> H <sub>58</sub>	406	0.19
44	30.88	正二十九烷	C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>	254	15.61
45	31.74	正三十烷	C <sub>30</sub> H <sub>62</sub>	422	0.84
46	32.37	1-三十一烯	C <sub>31</sub> H <sub>62</sub>	309	3.17
47	32.43	2-三十一烯	C <sub>31</sub> H <sub>62</sub>	408	4.19
48	32.58	正三十一烷	C <sub>31</sub> H <sub>64</sub>	436	16.2
49	33.34	1-三十二烯	C <sub>32</sub> H <sub>64</sub>	270	0.21
50	33.55	正三十二烷	C <sub>32</sub> H <sub>66</sub>	450	0.33
51	34.16	1-三十三炔	C <sub>33</sub> H <sub>64</sub>	270	0.32
52	34.42	1-三十三烯	C <sub>33</sub> H <sub>66</sub>	284	21.01
53	34.67	正三十三烷	C <sub>33</sub> H <sub>68</sub>	464	4.92

## 4 结论

(1) 通过对新疆尼勒克蜂胶的超临界 CO<sub>2</sub> 流体萃取实验研究,从萃取产物的 GC-MS 分析可看出,在本实验研究条件下,萃取出来的主要为蜂胶中蜡质成分,且萃取率即脱蜡率较高,结果表明超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术是一个有效的蜂胶脱蜡技术。

(2) 由蜜蜂经从植物采集并分泌而来的蜂胶是一种兼具植物性和动物性的纯天然物质,来源方式决定了其化学组成主要依赖于胶源树种,而胶源树种受到地理位置、气候、季节、植被等生态因素影响<sup>[11,12]</sup>,因此不同地区,必然导致包括蜂胶蜡质在内的化学组成不同。

正构烷烃是植物类脂的重要组成部分,主要用来维持叶片表面的水分平衡,其平均碳链长度(ACL)作为植物对水分胁迫程度的生理性反映,与植物进化程度存在表观上的联系,并具备粗略的植物分类学意义<sup>[13]</sup>。

超临界 CO<sub>2</sub> 萃取是一种能最大程度保留被提取物原物质活性成分的提取分离技术,因此可以认

为本研究中得到的蜂胶蜡质成分代表了原状态蜂胶的蜡质成分。由 GC-MS 分析知,在本研究分离得到的新疆尼勒克蜂胶蜡质成分中,正构烷烃占了绝大部分,且为二十一碳数以上,尼勒克县地处新疆北疆西部的中天山西段,属大陆性北温带气候,这种高纬度冬季寒冷漫长地区植物趋向于合成更多较长链的烷烃<sup>[14]</sup>。正构烷烃中又以高碳数 C<sub>27</sub>、C<sub>29</sub>、C<sub>31</sub>、C<sub>33</sub> 为主,具明显的奇偶优势,显示其蜜蜂采集地植物多为陆地高等植物,其中又以 C<sub>31</sub>、C<sub>33</sub> 占优,显示主要为草本植物<sup>[15]</sup>,是当地蜜蜂主要的蜜源植物,草原生态是当地的主要生态环境,与相关文献<sup>[16]</sup>报道一致。因此经过进一步深入研究,如结合碳、氢同位素分析,除有可能通过蜂胶的蜡质成分判定蜂胶的来源与品质,还克了解当地的生态环境,具有一定的生态学意义。

## 参考文献:

- [1] 王亚群,任永新. 蜂胶的化学成分及其保健作用[J]. 食品与药品, 2006, 8(12): 75-76.
- [2] 刘青云,徐先祥. 蜂胶的药理作用研究进展[J]. 安徽医药, 2007, 11(1): 1-3.

(下转第 89 页)

- [2] Ouiddir A, Planès C, Fernandes I, et al. Hypoxia upregulates activity and expression of the glucose transporter GLUT1 in alveolar epithelial cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1999, 21: 710-718.
- [3] 黄碱, 高钰琪, 张国斌, 等. 大鼠缺氧习服后骨骼肌葡萄糖摄取的特点 [J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(1): 5-7.
- [4] 黄碱, 黄庆愿, 高钰琪, 等. 缺氧习服大鼠骨骼肌葡萄糖转运体特点研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(18): 1607-1610.
- [5] 黄碱, 范有明, 高钰琪, 等. 慢性缺氧对大鼠骨骼肌胰岛素受体的影响及其在增强葡萄糖摄取能力中的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(1): 9-11.
- [6] 查冬青, 吴小燕, 徐联芳, 等. 两种 2 型糖尿病肾病动物模型的比较 [J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2006, 27(2): 253-255.
- [7] 孙桂菊, 王少康, 张小强, 等. II 型糖尿病大鼠模型的建立及糖尿病并发症相关指标测定 [J]. *上海实验动物科学*, 2003, 23(2): 79-82.
- [8] 杨宏莉, 张宏馨, 李兰会, 等. 山药多糖对 2 型糖尿病大鼠 HKSDH 及 MDH 活性的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2010, 12(1): 38-39.
- [9] 成细华, 喻嵘, 吴勇军, 等. 左归降糖舒心方对转基因 2 型糖尿病 MKR 鼠心肌损伤的保护作用 [J]. *中草药*, 2011, 42(2): 343-345.
- [10] 李晓晔, 吴红, 姜茹, 等. 糖尿病和贫血患者血浆中乳酸质量浓度的测定 [J]. *第四军医大学学报*, 2000, 21(4): 460-461.
- [11] Belin de Chantemèle EJ, AliM I, Mintz J, et al. Obesity induced-insulin resistance causes endothelial dysfunction without reducing the vascular response to hind limb ischemia [J]. *Basic Res Cardiol*, 2009, 104(6): 707-717.
- [12] 朱承太. 糖尿病的根本原因是胰岛细胞缺氧—与胰岛素抵抗无关 [J]. *中国医药导报*, 2006, 3(12): 24-25.
- [13] 王茂叶. 间歇性低氧训练对小鼠机体细胞色素氧化酶和琥珀酸脱氢酶的影响 [J]. *天津体育学院学报*, 2005, 20(6): 26-28.
- [14] 李世昌, 邹飞, 断桂波. 低氧和长时间游泳运动对小鼠骨骼肌低氧诱导因子 1 $\alpha$  和糖代谢酶活性的影响 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(28): 82-84.
- [15] 苏艳红, 王瑞元. 低氧、耐力训练对大鼠代谢酶及肌球蛋白 Ca-ATPase 的影响 [J]. *体育科学*, 2005, 25(6): 67-69.
- [16] Mao Shan-shan, Pan Tong-bin, Wang Rui-yuan. Enhanced activity of succinate dehydrogenase in rat's gastrocnemius under hypoxic living with normoxic training [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation*, 2005, 9(36): 142-144.
- [17] 李玉兰. 低氧对动物的骨骼肌 LDH 活性影响 [J]. *青海师范大学学报: 自然科学版*, 2001(3): 80-82.

(上接第 78 页)

- [3] 杨芙莲, 王伟娜. 蜂胶总黄酮半仿生提取工艺研究 [J]. *粮食与油脂*, 2009(5): 42-44.
- [4] 梁宝军, 陈绍民, 田景. 温浸醇提除蜡蜂胶总黄酮的工艺研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(10): 15-18.
- [5] 魏强华, 张继平, 刘润好, 等. 蜂胶水提除蜡工艺的研究 [J]. *食品研究与开发*, 2007, 28(5): 72-74.
- [6] 徐响. 高新技术在蜂胶保健食品中的应用进展 [J]. *中国食物与营养*, 2009, (1): 35-37.
- [7] 邵兴军, 马海燕, 毛日文. 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取技术在蜂胶提取加工中的应用进展 [J]. *中国蜂业*, 2010, 61(10): 8-10.
- [8] 张冲, 罗仓学, 张敏. 优化漆籽漆蜡(油) 萃取工艺研究 [J]. *粮食与油脂*, 2010, (10): 24-26.
- [9] 吴音, 司文捷, 金元生, 等. 陶瓷热压铸成型的超临界 CO<sub>2</sub> 流体脱蜡 [J]. *硅酸盐学报*, 2003, 31(6): 586-590.
- [10] 王秀清, 申树芳, 张英锋, 等. 蜂胶的有效成分与功效 [J]. *渤海大学学报: 自然科学版*, 2010, 31(3): 219-224.
- [11] BONVEHI J S, COLLF V. Phenolic composition of propolis from China and from South America [J]. *Zeitschrift für Naturforschung C-A Journal of Biosciences*, 1994, 49(11/12): 712-718.
- [12] NIEVAM M I, ISLAM I, SAMPIETO A R, et al. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2000, 71(1/2): 109-114.
- [13] 张杰, 贾国东. 植物正构烷烃及其单体氢同位素在古环境研究中的应用 [J]. *地球科学进展*, 2009, 24(8): 874-881.
- [14] SICRE M A, PELTZER E T. Lipid geochemistry of remote aerosols from the southwestern Pacific Ocean sector [J]. *Atmospheric Environment*, 2004, 38(11): 1615-1624.
- [15] CRANWELL P A. China-length distribution of n-alkanes from lake sediments in relation to postglacial environment change [J]. *Freshwater Biology*, 1973, 3(3): 259-265.
- [16] 马玉宝, 徐柱, 赵来喜, 等. 新疆北疆地区野生牧草种质资源的考察与搜集 [J]. *草业与畜牧*, 2007, (11): 29-34.