

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.01.031

# 提取工艺对山茶油活性成分及抑菌效果的影响

## Effect of extraction technology of Camellia oil on its active ingredients and the related antibacterial effect

张美娜

ZHANG Mei-na

(吉林工业职业技术学院, 吉林 吉林 132013)

(Jilin Vocational College of Industry and Technology, Jilin, Jilin 132013, China)

**摘要:**研究了冷榨、热榨、浸出、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取、水酶法 5 种加工工艺制取的山茶油中 V<sub>E</sub>、多酚、山茶皂苷、植物甾醇、黄酮 5 种活性成分含量, 以及其抑菌效果。结果表明, 冷榨工艺制取的山茶油中 V<sub>E</sub>、山茶皂苷含量最高, 分别达到了 786.3, 3 789.0 mg/kg; 热榨油植物甾醇含量最高, 达到了 3 962.0 mg/kg; 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取油多酚含量最高, 达到了 21.32 mg/kg; 浸出油黄酮含量最高, 达到了 38.9 mg/kg; 冷榨油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌、白色念珠菌 4 种常见菌抑制率分别达到了 95.9%, 92.2%, 95.2%, 94.6%, 具有较强的抑制作用。综合抑菌活性成分含量和抑菌效果考虑, 5 种工艺中冷榨工艺制取的山茶油最佳, 热榨工艺制取的次之。

**关键词:**山茶油; 活性成分; 抑菌效果; 加工工艺

**Abstract:** In order to study the content of non-fat active components and the antibacterial effect of oil-tea camellia oil. The changes of vitamin E, polyphenols, Camellia saponins phytosterols and flavone content in Camellia oil and the effect of its bacteriostasis from 5 different processing technologies, cold pressing, hot pressing, leaching, supercritical CO<sub>2</sub> extraction and water enzyme method were studied. The content of vitamin E and Camellia saponin extracted by cold pressing technology was the highest, reaching 786.3 mg/kg and 3 789.0 mg/kg respectively; The phytosterol content of hot pressed oil was the highest, reaching 3 962 mg/kg; The content of polyphenols in supercritical CO<sub>2</sub> extraction was the highest, reaching 21.32 mg/kg; The content of flavonoids in the leach oil was the highest, reaching 38.9 mg/kg. The inhibitory rates of cold pressed oil to four common bacteria, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*, reached respectively

95.9%, 92.2%, 95.2%, 94.6%, showing quite strong fungistatic activities on bacteria. The Camellia oil produced by the cold pressing process of the 5 kinds of preparation process was the best from the content of antibacterial active components and the bacteriostasis, and the crude oil produced by the hot pressing process was the second. It provided a reference for the application of Camellia oil in infant skin care and other antibacterial efficacy cosmetics.

**Keywords:** camellia oil; active ingredient; bacteriostasis; processing technology

山茶油中的不饱和脂肪酸含量高达 90% 以上, 其中油酸 74%~87%, 亚油酸 7%~14%, 单不饱和脂肪酸含量是目前食用油中最高的, 脂肪酸组成与橄榄油相似, 有“东方橄榄油”之称<sup>[1]</sup>。此外, 山茶油中还含有丰富的 V<sub>E</sub>、黄酮、甾醇、多酚、角鲨烯、山茶皂甙等其他生物活性成分, 是一种优质的保健食用油<sup>[2-4]</sup>。

同时也因为高油酸含量以及丰富的活性成分, 与皮肤的亲和性好, 渗透性强, 易于被皮肤吸收, 具有抗氧化、抗衰老、清爽、保湿等功效作用, 山茶油在化妆品方面的应用也越来越多。与橄榄油、葡萄籽油等其他化妆品基础油相比, 山茶油富含多酚、山茶皂甙、植物甾醇、黄酮等一些独特的活性成分。研究<sup>[5-7]</sup>表明, 茶多酚的抗氧化作用较强, 而且能抑制多种细菌、真菌、酵母菌, 尤其对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌等常见致病细菌的抑制能力较强, 山茶皂甙具有光谱抑菌作用, 特别是对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、酵母菌有非常强的抑制作用<sup>[8]</sup>。植物甾醇是一种结构上与动物性胆固醇相似而功能完全不同的植物活性成分, 与 V<sub>E</sub> 有非常好的协同增效效果, 能够清除自由基、抗氧化, 且具有独特的消炎作用, 对大肠杆菌、金黄色葡萄菌等均具有很好的抑制作用<sup>[9-11]</sup>。

随着对两千年来山茶油用于婴儿红屁股(尿布疹)、口腔溃疡、痤疮、皮炎等方面的传统的认知, 山茶油在功效化妆品上的应用也越来越广, 但目前尚未见报道不同工

**基金项目:**国家自然科学基金项目(编号:51609100)

**作者简介:**张美娜(1981—), 女, 吉林工业职业技术学院讲师, 硕士。E-mail: 83766955@qq.com

**收稿日期:**2018-09-11

艺制取的山茶油中抑菌活性成分含量的变化以及抑菌效果的研究。本研究拟比较热榨、冷榨、超临界萃取、浸出、水酶法提取 5 种工艺制取的山茶油的抑菌活性成分含量以及抑菌功效,以期为不同工艺制取的山茶油在功效化妆品特别是在孕妇及婴童化妆品上的应用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料与仪器

油茶籽:采摘于湖南博邦农林科技股份有限公司太平桥基地,及时自然晒干至水分 10%~11%;

$V_E$  标准品: HPLC $\geq$ 98%,阿拉丁试剂(上海)有限公司;

植物甾醇混合标准品(GC $\geq$ 98%)、山茶皂苷标准品(UV $\geq$ 90%)、多酚标准品(UV $\geq$ 98%):上海源叶生物科技有限公司;

CO<sub>2</sub> 气体:纯度 99.99% (食品级),吉林佰成气体有限公司;

其他试剂均为分析纯;

水为蒸馏水;

双螺旋榨油机:YZZX-120 $\times$ 2 型,武汉粮农机械制造有限公司;

超临界萃取装置:HA221-50-06-C 型,江苏南通华安超临界萃取有限公司;

冷榨机:DD85G 型,德国 IBG MONFORTS 公司;

恒温磁力加热搅拌器:85-2 型,天津泰斯特仪器有限公司;

pH 计:DELTA 320 型,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;

分析天平:Practum224-1CN 型,岛津有限公司;

离心机:L-550 型,湖南湘仪离心机仪器有限公司;

高效液相色谱仪:E2695 型,美国沃特世科技有限公司;

气相色谱仪:7890B 型,美国安捷伦科技有限公司;

紫外可见分光光度计:UV-1780 型,岛津仪器(苏州)有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 山茶油的制备

(1) 冷榨工艺:取一定量的油茶籽筛选除杂后,脱除 90% 的茶壳,采用冷榨机直接进行压榨,静置过滤,得到冷榨山茶油样。

(2) 热榨工艺:取一定量的油茶籽筛选除杂后,脱除 90% 的茶壳,置于 120 $^{\circ}$ C 烘箱中 15 min,然后采用双螺旋榨油机进行压榨,静置过滤,得到热榨山茶油。

(3) 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺:参考吴雪辉等<sup>[12]</sup>的方法,取一定量的油茶籽筛选除杂后,脱除 90% 以上的茶壳,油茶籽仁粉碎过 80 目,在萃取压力 25 MPa,温度 40 $^{\circ}$ C 条件

下萃取 2.5 h,然后过滤得到超临界 CO<sub>2</sub> 萃取山茶油。

(4) 浸出工艺:取一定量的油茶籽筛选除杂后,脱除 90% 以上的茶壳,油茶籽仁粉碎过 80 目,在温度 60 $^{\circ}$ C 条件下,加入油茶籽仁粉 3 倍的正己烷溶剂浸提 6 h,然后取混合液 120 $^{\circ}$ C 旋转蒸发分提,直至无液滴流出,过滤得到浸出山茶油。

(5) 水酶法工艺:根据文献<sup>[13]</sup>的方法,取一定量的油茶籽筛选除杂后,脱除 90% 以上的茶壳,油茶籽仁粉碎过 80 目,料液比 1:5.58 (g/mL),酶添加量 2.62% (蛋白酶和纤维素酶的质量比为 4:1),在 52.1 $^{\circ}$ C、pH 6.47 条件下酶解 5 h,然后低温干燥过滤得到水酶法山茶油。

1.2.2 植物甾醇测定 按 GB/T 25223—2010 执行。

1.2.3  $V_E$  测定 按 GB 5009.82—2016 执行。

1.2.4 多酚测定 按 LS/T 6119—2017 执行。

1.2.5 山茶油抑菌效果测定 按 QB/T 2738—2012 悬液定量法执行。

1.2.6 油脂中黄酮含量提取与测定

(1) 提取:称取 10.000 0 g 山茶油于烧瓶中,加入 60% 乙醇溶液 20 mL,在 70 $^{\circ}$ C 下搅拌萃取 1 h,5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,将油脂按上述条件再次萃取,合并 2 次上清液并转移至 50 mL 容量瓶中,用 60% 乙醇溶液定容,待测<sup>[14]</sup>。

(2) 标准曲线制作:将芦丁标准样品用 60% 乙醇溶液溶解,并制备 20,40,80,120,160  $\mu$ g/mL 的标准梯度溶液,吸取 1 mL 各标准梯度溶液分别置于不同的 25 mL 容量瓶中,分别用 60% 乙醇溶液添至 10 mL,加入 5% 亚硝酸钠溶液 1 mL,摇匀,放置 6 min,再加入 10% 硝酸铝溶液 1 mL,6 min 后加入 4% 氢氧化钠溶液 10 mL,混匀,再用 60% 乙醇溶液定容,摇匀,放置 15 min 后,于波长 510 nm 处测定吸光度,标准系列浓度由低到高对应的吸光度为 0.013,0.017,0.041,0.061,0.078,以吸光度为纵坐标,芦丁标准梯度浓度为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为: $A=0.000 5X+0.001 2(R^2=0.993 1)$ 。

(3) 样品检测:吸取 3 mL 待测溶液,按照标准曲线的测定方法进行测定,测定其在波长 510 nm 处的吸光度,根据吸光度在标准曲线上找出对应的浓度并计算含量。

1.2.7 油脂中山茶皂苷含量提取与测定

(1) 提取:称取 5 g 油脂于烧瓶中,加入 50% 乙醇溶液 20 mL,在 70 $^{\circ}$ C 下搅拌萃取 1 h,5 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,将油脂按上述条件再次萃取,合并 2 次上清液并转移至 50 mL 容量瓶中,用 50% 乙醇溶液定容,待测<sup>[15]</sup>。

(2) 标准曲线制作:将山茶皂苷标准样品用 50% 乙醇溶液溶解,并制备 10,100,400,800,1 000  $\mu$ g/mL 的标准梯度溶液,吸取 1 mL 各标准梯度溶液分别置于不同的 10 mL 具塞比色管中,分别加入 8% 香兰素溶液(8 g 香兰

素溶于100 mL无水乙醇)1 mL,混匀,再置于冰水浴中缓慢加入 77% 硫酸溶液 3 mL,混匀,置 60 °C 水浴反应 15 min,取出迅速于冰水浴放置 2 min,室温放置 10 min 于波长 545 nm 处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,山茶皂甙标准梯度浓度为横坐标,绘制标准曲线。回归方程为: $A=0.000\ 3X+0.016\ 6(R^2=0.988\ 7)$ 。

(3) 检测:吸取 1 mL 待测溶液,按照标准曲线的测定方法进行测定,测定其在波长 545 nm 处的吸光度,根据吸光度在标准曲线上找出对应的浓度并计算含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 对山茶油活性成分的影响

2.1.1  $V_E$  含量 由图 1 可以看出,冷榨工艺制取的山茶油中  $V_E$  含量最高,达到 786.3 mg/kg,超临界  $CO_2$  萃取油次之,经过常规五脱精炼工艺处理的精炼山茶油  $V_E$  含量最低,显著低于其他几种工艺制取的。不同工艺的处理温度对山茶油中  $V_E$  的含量影响显著,高温热处理对山茶油中  $V_E$  的破坏较大,冷榨茶油由于压榨温度较低  $V_E$  保留较多。

2.1.2 植物甾醇含量 由图 2 可以看出,5 种工艺制取的山茶油原油,总植物甾醇含量变化不大,热榨工艺制取的山茶油中总植物甾醇含量最高,达到 3 962.0 mg/kg,浸出油次之,低温处理的冷榨油和水酶法油反而更低,说明适当的温度处理有利于甾醇在制油过程中从油茶籽中随油脂游离出来,与李志晓等<sup>[16]</sup>的研究一致。

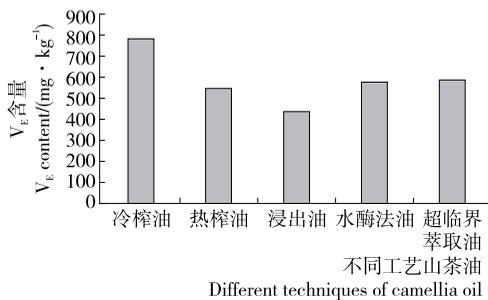


图 1 提取工艺对山茶油  $V_E$  含量的影响

Figure 1 Effects of different processing techniques on vitamin E content in Camellia Oil

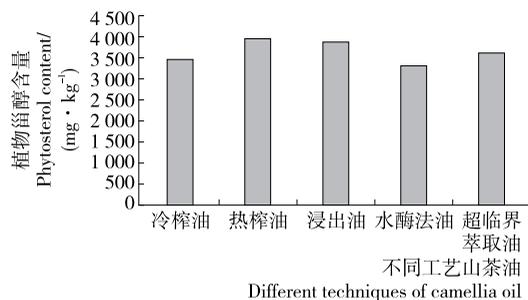


图 2 提取工艺对山茶油植物甾醇含量的影响

Figure 2 Effects of different techniques on phytosterol content in Camellia Oil

2.1.3 多酚含量 由图 3 可以看出,超临界  $CO_2$  萃取工艺制取的山茶油中多酚含量最高,达到了 21.32 mg/kg,冷榨油次之,达到了 16.11 mg/kg,水酶法油最低,只有 1.14 mg/kg,可能是多酚为水溶性物质,在水酶法制油过程中,油茶籽中的多酚首先溶于水,造成水酶法油中多酚含量显著低于其他几种制油工艺的。

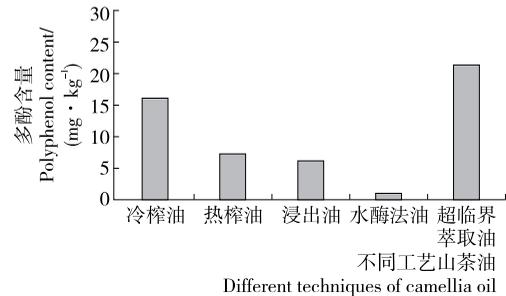


图 3 提取工艺对山茶油多酚含量的影响

Figure 3 Effects of different techniques on polyphenol content in Camellia Oil

2.1.4 山茶皂苷含量 由图 4 可以看出,冷榨工艺制取的山茶油中山茶皂苷含量最高,达到 3 789.0 mg/kg,热榨油次之,经过超临界萃取的山茶油含量最低,可能是山茶皂甙极性较高,不易溶于非极性的超临界状态的二氧化碳中。

2.1.5 黄酮含量 由图 5 可以看出,浸出工艺制取的山茶油中黄酮含量最高,达到 38.9 mg/kg,冷榨油次之,经

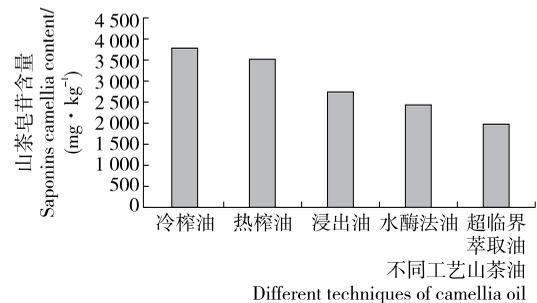


图 4 提取工艺对山茶油山茶皂苷含量的影响

Figure 4 Effects of different techniques on saponins of camellia content in Camellia Oil

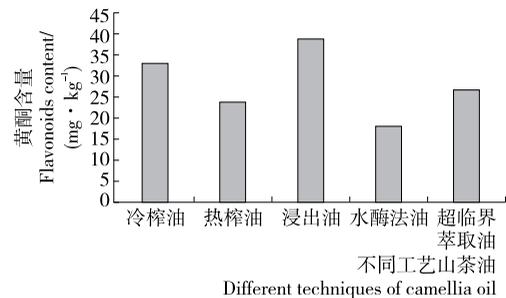


图 5 提取工艺对山茶油黄酮含量的影响

Figure 5 Effects of different techniques on total flavonoids content in Camellia Oil

过水酶法提取的山茶油含量最低,可能是黄酮溶于水降低油中含量。

## 2.2 对山茶油抑菌效果的影响

由表 1 可知,冷榨油对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌 3 种菌的抑制效果最好,热榨油对白色念珠菌的抑制效果最好。整体来看,5 种不同工艺制取的山茶油均对 4 种常见的细菌有一定的抑制作用,且冷榨山茶油和热榨山茶油对 4 种常见的细菌都达到了较强的抑制作用。这是由于山茶油中富含含有山茶皂苷、多酚、植物甾醇以及黄酮等多种抑菌活性成分,组成了一个复杂而高效的抑菌体系,起到非常好的抑菌、消炎功效。

表 1 不同工艺山茶油的抑菌效果<sup>†</sup>

Table 1 Results of different techniques on Camellia Oil bacteriostatic effect %

名称	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌	铜绿假单胞菌	白色念珠菌
冷榨油	95.9	92.2	95.2	94.6
热榨油	90.2	89.4	90.5	95.1
浸出油	86.1	84.6	73.5	75.5
水酶法油	89.1	75.8	62.1	75.9
超临界萃取油	88.9	91.3	84.8	71.2

<sup>†</sup> 50%~90%表示产品对某种菌有抑制作用;≥90%表示产品对某种菌有较强抑制作用。

## 3 结论

(1) 山茶油中富含多种活性成分,其中冷榨工艺制取的山茶油中 V<sub>E</sub>、山茶皂苷含量最高,分别达到了 786.3, 3 789.0 mg/kg;热榨油植物甾醇含量最高,达到了 3 962.0 mg/kg;超临界 CO<sub>2</sub> 萃取油多酚含量最高,达到了 21.32 mg/kg,浸出油总黄酮含量最高,达到了 38.9 mg/kg。

(2) 5 种不同工艺制取的山茶油均对 4 种常见的细菌有一定的抑制作用,其中冷榨山茶油和热榨山茶油对 4 种常见的细菌都达到了较强的抑制作用。

(3) 本试验对 5 种不同工艺制取的山茶油抑菌效果及主要功效成分做了系统的分析,后续将对其添加到化妆品中的实际效果及添加比例作进一步研究。

### 参考文献

[1] 柏云爱,宋大海,张富强,等.油茶籽油与橄榄油营养价值的比较[J].中国油脂,2008,33(3):39-41.  
 [2] 龙伶俐,薛雅琳,张东,等.油茶籽油主要特征成分的研究分析[J].中国油脂,2012,37(4):78-81.  
 [3] 邓小莲,谢光盛,黄树根.保健茶油的研制及其调节血脂的作用[J].中国油脂,2002,27(5):96-98.  
 [4] 柏云爱,宋大海,张富强,等.油茶籽油与橄榄油营养价值

的比较[J].中国油脂,2008,33(3):39-41.

[5] 董璐,代增英,韩晴,等.茶多酚对大肠杆菌抑制机理研究[J].生物学杂质,2015,32(1):72-75.  
 [6] 钱丽红,陶妍,谢晶.茶多酚对金黄色葡萄球菌和铜绿假单胞菌的抑制机理[J].微生物学通报,2010,37(11):1 628-1 633.  
 [7] ALMAJANO M P, CARBÓ R, JIMÉNEZ J A L, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions [J]. Food Chemistry, 2016, 108(1): 55-63.  
 [8] 文莉,芦苇,蒋倩,等.茶皂素毒性刺激试验及抑菌作用研究[J].中国油脂,2011,36(6):58-60.  
 [9] 徐雅琴,庞丽萍,齐会娟,等.南瓜籽植物甾醇的抗氧化性及抑菌研究[J].农产品加工,2012(5):14-26.  
 [10] 田丹丹,李艳,梅晓宏.牛油果中植物甾醇的鉴定及抗氧化、抑菌活性研究[J].食品科学,2018(2):1-10.  
 [11] DAVID K T, SHIRLEY C. Phytosterols-health benefits and potential concerns: a review[J]. Nutrition Research, 2005, 25: 413-428.  
 [12] 苗苗,杨立刚,荣莹,等.12 种市售食用花卉中总黄酮与总甾体的含量测定[J].食品研究与开发,2009,30(12):122-125.  
 [13] 陈莹,刘松柏,何良兴,等.油茶籽粕和茶皂素中皂苷的定量检测方法研究[J].中国粮油学报,2012,27(2):105-111.  
 [12] 吴雪辉,陈北光,黄永芳,等.超临界 CO<sub>2</sub> 萃取茶油的工艺条件研究[J].食品科技,2007(2):139-141.  
 [13] 刘瑞兴,张智敏,吴苏喜,等.水酶法提取油茶籽油的工艺优化及其营养成分分析[J].中国粮油学报,2012(12):54-61.  
 [16] 李志晓,金青哲,叶小飞,等.制油工艺对油茶籽油品质的影响[J].中国油脂,2008,40(4):47-51.

(上接第 85 页)

[16] JARITEH M, EBRAHIMZADEH H, NIKNAM V, et al. Developmental changes of protein, proline and some antioxidant enzymes activities in somatic and zygotic embryos of Persian walnut (*Juglans regia* L.) [J]. Plant Cell Tis-sue & Organ Culture, 2015, 122(1): 101-115.  
 [17] 杨永涛,潘思源,靳欣欣,等.不同品种核桃的氨基酸营养价值评价[J].食品科学,2017,38(13):207-208.  
 [18] 王新平,孙慧英,茹慧玲,等.核桃的营养药用价值及加工利用[J].现代园艺,2017(4):20.  
 [19] ASTERMARK J, HOGG P J, BJÖRK I, et al. Effects of gamma-carboxyglutamic acid and epidermal growth factor-like modules of factor IX on factor X activation: Studies using proteolytic fragments of bovine factor IX [J]. Journal of Biological Chemistry, 1992, 267(5): 3 249-3 256.  
 [20] 王建华.药用氨基酸[J].世界临床药物,1982(4):37-40.