

GN 海带新品系脂肪酸的气相色谱-质谱联用分析*

冯小峻¹, 邓舟¹, 陆慧宁², 佘志刚¹, 顾晨曦³, 刘涛³, 陈省平⁴
(1. 中山大学化学与化学工程学院, 广东 广州 510275; 2. 中山大学测试中心, 广东 广州 510275;
3. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266100; 4. 中山大学中山医学院, 广东 广州 510080)

摘要:首次用乙醇提取、甲酯化处理的方法,对GN海带新品系脂肪酸的化学成分采用GC-MS技术进行分析研究。结果表明:海带中含有10种不饱和脂肪酸,占37.98%,其中亚油酸占9.29%, γ -亚麻酸占3.74%,EPA占1.12%,DHA占0.63%,花生四烯酸占4.9%;含有4种饱和脂肪酸,占56.22%,其中棕榈酸(又名软脂酸)的含量高达36.23%。为海带新品系在生物制药和营养保健品领域的深度开发应用提供了科学依据。

关键词:海带;脂肪酸;气相色谱-质谱联用技术

中图分类号:O657.7 文献标志码:A 文章编号:0529-6579(2010)06-0139-04

GC-MS Determination of Fatty Acids in Kelp using GC-MS Analysis

FENG Xiaojun¹, DENG Zhou¹, LU Huining², SHE Zhigang¹, GU Chenxi³, LIU Tao³, CHEN Shengping⁴
(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 51027, China;
2. Instrumental and Analysis Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;
3. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266100, China;
4. Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: The fatty acids were extracted from a new kelp using alcohol, which were esterified in KOH-CH₃OH solution and then analyzed by GC-MS method. The results showed that there were ten polyunsaturated fatty acids (PUFAs) with their contents of 37.98%, including linoleic acid (LA, 9.29%), γ -Linolenic acid (GLA, 3.74%), eicosapentaenoic acid (EPA, 1.12%), docosahexenoic acid (DHA, 0.63%), Arachidonic acid (AA, 4.9%). Besides, there were four saturated fatty acids (SFAs) with their contents of 56.22%, including palmitic acid 36.23%. This work provided scientific evidence for the deeper exploitation of the new kelp in the biological pharmacy and nourishment fields.

Key words: kelp; fatty acid; GC-MS method

海藻含有多种脂肪酸成分,尤其是含有具有独特的生物活性多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, PUFAs)。脂肪酸是构成人体脂肪和类脂的基本物质,是人体重要的营养素之一。其中多不饱和脂肪酸营养保健功能及富含多不饱和脂肪酸产品的生产开发利用则是近几年国际研究热点。海带作为一种重要的海洋生物资源,具有较高的营养价值。具有降血糖、降血脂、抗肿瘤、抗HIV和增强免疫功能,对治疗心脑血管疾病和中、早期慢性

肾衰竭等均有一定作用^[1]。目前对于海带功能成分的研究多集中于海藻多糖类的研究,而对其脂肪酸成分的研究较少。由于食用脂肪对健康的影响及食品标签的要求,对食品原料中的总脂肪含量及其具体组分作定性分析就显得尤为重要^[2]。

本文首次用乙醇提取、甲酯化处理的方法,对GN海带新品系脂肪酸的化学成分采用GC-MS技术进行分析研究,获得了有价值的海带脂肪酸数据,为进一步开发保健品及药物等提供了基础数据。

* 收稿日期:2010-07-07

基金项目:广东省科技计划资助项目(2006B20201056)

作者简介:冯小峻(1986年生),硕士研究生;通讯作者:陈省平;E-mail: chenshp@mail.sysu.edu.cn

1 材料和方法

1.1 实验材料

GN 海带新品系由中国海洋大学培育并提供样品。

1.2 海带脂肪酸的提取及其甲酯化

称取 500 g 干样, 粉碎后在 50 °C 下, 用 1.5 L $\varphi = 95\%$ 酒精温浸 5 h, 过滤, 滤渣重复操作 3 次, 合并滤液并浓缩得浸膏。取 1.3 g 浸膏, 加 0.5 mol · L⁻¹ KOH-CH₃OH 溶液 25 mL, 苯-正己烷(体积比为 1:1) 溶液 25 mL, 室温下超声振荡 5 min 后, 加热至 60 °C, 处理 20 min, 冷却后, 加入饱和 NaCl 溶液 25 mL, 静置分层后取上层清液进行 GC-MS 分析。

1.3 GC-MS 分析条件

仪器: Voyager 气相色谱-质谱分析仪(美国)。

GC 条件: 色谱柱为 INNOWAX (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 石英毛细管柱; 进样口温度 220 °C; 柱起始温度 50 °C, 保持 3 min, 再以 20 °C/min 升至 250 °C, 保持 8 min; 采用不分流进样, 进样量 0.5 μL。

MS 条件: 接口温度 230 °C, 离子源温度 200 °C; 电离方式 EI, 电离能 70 eV; 倍增电压 400 V,

扫描质量范围 19 ~ 435 amu。各组分采用 NIST 谱库检索定性。

2 结果与讨论

2.1 海带脂肪酸甲酯的总离子流图

海带脂肪酸甲酯的 GC-MS 谱图如图 1 所示。

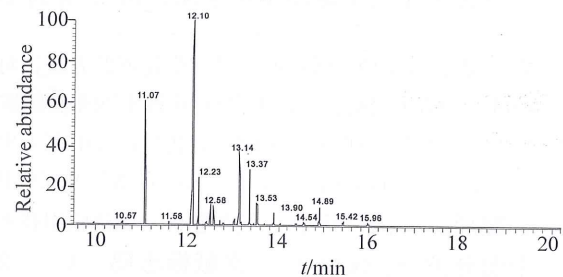


图 1 海带脂肪酸甲酯的 GC-MS 总离子流谱图

Fig. 1 GC-MS total ion chromatogram of fatty acid methyl esters from the kelp

2.2 海带脂肪酸甲酯组成及含量

经美国国家标准局 NIST147 及 WILEY7 谱库检索以及文献参考共检出 24 种成分, 各成分及其相对含量如表 1 所示。

表 1 海带脂肪酸甲酯组成及含量

Table 1 Components and contents of fatty acids methyl esters of the kelp

峰号	t_R /min	化合物名称	分子式	M_r	相对含量/%
1	11.07	Methyl tetradecanoate 十四酸甲酯	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	18.26
2	11.11	4-Allyl-1,2-dimethoxybenzene 丁香酚甲醚	C ₁₁ H ₁₄ O ₂	178	0.12
3	11.58	n-Pentadecanoic acid methyl ester 十五烷酸甲酯	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.34
4	11.65	Hexahydrofarnesyl acetone 6,10,14-三甲基-2-十五烷酮	C ₁₈ H ₃₆ O	268	0.11
5	12.1	n-Hexadecanoic acid methyl ester 棕榈酸甲酯	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	35.10
6	12.23	(Z)-9-Hexadecenoic acid, methyl ester 棕榈油酸甲酯	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	6.83
7	12.41	Ethyl arachidonate 花生四烯酸乙酯	C ₂₂ H ₃₆ O ₂	332	0.62
8	12.58	Unknown 不确定	-	-	2.77
9	12.71	docosahexenoic acid methyl ester DHA 甲酯	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	342	0.63
10	13.02	Octadecanoic acid, methyl ester 硬脂酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	0.96
11	13.14	Methyl cis-octadec-11-enoate 顺-十八碳-11-烯酸甲酯	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	10.84
12	13.37	Methyl (9Z,12Z)-9,12-octadecadienoate 亚油酸甲酯	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	9.10
13	13.53	γ-Linolenic acid, methyl ester γ-亚麻酸甲酯	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	292	3.74
14	13.9	(2E)-3,7,11,15-Tetramethyl-2-hexadecen-1-ol 叶绿醇	C ₂₀ H ₄₀ O	296	2.68
15	14.38	Tetradecanoic acid 肉豆蔻酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.23
16	14.7	7,10,13-Eicosatrienoic acid, methyl ester 二十碳三烯酸甲酯	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	320	0.16
17	14.89	methyl arachidonate 花生四烯酸甲酯	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	318	4.28
18	15.42	eicosapentaenoic acid, methyl ester EPA 甲酯	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	316	1.12
19	15.96	n-Hexadecanoic acid 棕榈酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	1.13
20	16.34	Z-11-Hexadecenoic acid (11E)-11-十六烯酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	0.18
21	17.7	trans-Squalene 角鲨烯	C ₃₀ H ₅₀	410	0.12
22	18.38	Octadecanoic acid 硬脂酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.20
23	18.87	Oleic Acid 油酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	0.29
24	19.77	(E,E)-9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester 亚油酸	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	0.19

2.3 结果与讨论

2.3.1 不同提取方法对脂肪酸分析的影响 海藻脂肪酸提取方法, 主要包括超临界 CO₂ 萃取、索氏抽提器提取、Bligh-Dyer 提取法等。黄俊辉等^[3]对比研究了超临界 CO₂ 萃取和改良 Bligh-Dyer 提取法对海带脂肪酸提取的影响, 认为超临界 CO₂ 萃取有利于多不饱和脂肪酸提取, 但对脂肪酸种类组成产生了较大的影响。而 Bligh-Dyer 提取法采用甲醇溶剂易存在甲醇残留问题。本文采取乙醇提取、甲酯化处理的方法, 较好解决了上述问题, 可检测出脂肪酸种类多达 14 种, 脂肪酸相对质量含量为 94.2%, 提取效果良好。

2.3.2 样品以及提取方法差异对海带饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量的影响 经谱库检索确认 14 种脂肪酸成分, 其中不饱和脂肪酸 10 种。按峰面积归一化法计算含量, 结果表明: 饱和脂肪酸 4 种占 56.22%, 不饱和脂肪酸占 37.98%, 饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸比例为 1.47:1。与文献[4-7]值比较, 不同海域海带中饱和与不饱和脂肪酸的比例差异较大 (2.92 ~ 0.01:1)。Russel-Wells^[8]和 Ito 等^[9]的研究显示海藻脂类含量随着生长水深的增加而降低; Velimirov^[10]对研究了苍白海带不同组织部位脂肪酸含量, 发现柄部和叶片脂肪酸种类和含量存在一定的差异。脂肪酸是生物膜的主要成分, 同时作为贮藏物质起到能量转化和提供代谢前体的作用。因此, 不同环境对其脂肪酸合成以及转化具有重要的内在影响, 这也可能是不同海域海带样品脂肪酸差异的主要因素。

2.3.3 脂肪酸组成及含量 海带 4 种饱和脂肪酸中, 棕榈酸 (又名软脂酸) 的含量高达 36.23%, 可由它产生其他的非必需脂肪酸。棕榈酸酯是一种抗氧化剂, 棕榈酸酯会附于醇型态的维生素 A (即视黄醇) 以稳定在牛奶内的维生素 A。

多不饱和脂肪酸按照从甲基端开始第 1 个双键的位置不同, 可分为 $\omega-3$ 族、 $\omega-6$ 族和 $\omega-9$ 族多不饱和脂肪酸。其中 $\omega-3$ 族、 $\omega-6$ 族在生物学和营养学上有着相当重要的意义。 $\omega-3$ PUFAs 的母体是 α -亚麻酸 (α -Linolenic acid, ALA, C 18: 3 Δ 9, 12, 15), 它在 Δ 5、 Δ 6 去饱和酶作用下转化成二十碳五烯酸 (Eicosapentaenoic acid, EPA, C20: 5) 和二十二碳六烯酸 (Docosahexaenoic acid, DHA, C22: 6)。 $\omega-6$ PUFAs 的母体是亚油酸 (Linoleic acid, LA, C 18: 2 Δ 9, 12), 由它可衍生出 γ -亚麻酸 (γ -Linolenic acid, GLA, C18: 3)、花生四烯酸 (Arachidonic acid, AA,

C20: 4)。

表 1 数据显示, 在海带 10 种不饱和脂肪酸中, $\omega-3$ 和 $\omega-6$ PUFAs 共占海带脂肪酸总量的 26.51%。大多数必需脂肪酸是 $\omega-3$ 和 $\omega-6$ PUFAs, 它对神经元细胞膜的完整性具有重要的作用^[11-12]。Terry 等^[13]报道增加 $\omega-3$ PUFAs 的摄入量能够降低乳腺癌、前列腺癌以及和激素相关的癌症发病率。科学家经研究发现鱼类中富含一种神奇的物质— $\omega-3$ PUFAs (DHA 和 EPA, 俗称鱼油), 明显降低了海边的居民心血管病的发病率。海带含量达 9.29% 的亚油酸是必需脂肪酸, 具有促进血液循环、软化血管、降低血清胆固醇含量、防止动脉硬化的功能。而且亚油酸经人体摄入后, 可在体内转化成人体必需的 γ -亚麻酸和花生四烯酸。另外, 海带也含有 3.74% 的 γ -亚麻酸。Alison Colquhoun^[14]证明 γ -亚麻酸能够抑制肿瘤细胞的生长, 最终引起肿瘤细胞凋亡。花生四烯酸属于半必需脂肪酸, 在海带中含量为 4.9%, 是人体大脑和视神经发育的重要物质, 对提高智力和增强视敏度具有重要作用。

3 结论

检测并确定了 GN 海带新品系含脂肪酸 14 种, 其中不饱和脂肪酸 10 种。在不饱和脂肪酸中, 亚油酸、 γ -亚麻酸、EPA、DHA、花生四烯酸等具有良好的生理活性, 为海带的深度开发提供理论基础。海带新品系含有大量的具有独特生物活性的不饱和脂肪酸, 相对于深海鱼油, 海带具有价格低廉、来源丰富等优点, 显示出海带新品系在生物制药和营养保健品领域的广阔市场应用前景。

参考文献:

- [1] 李福川, 唐志红, 崔博文, 等. 三种海带多糖的降糖作用[J]. 中国海洋药物, 2000(5): 12.
- [2] 何照苑, 张迪清. 保健食品化学及其检测技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 5.
- [3] 黄俊辉, 曾庆孝, 余纲哲. 超临界萃取法提取海带多不饱和脂肪酸的研究[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2001, 29(12): 79-83.
- [4] 邹耀洪. 海带脂肪酸邻氨基苯酚化学修饰气相色谱-质谱分析[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 411-414.
- [5] 罗盛旭, 梁振益, 陈佩. 海带脂肪酸种类及主要成分[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2005, 23(3): 220-223.
- [6] 夏静芬, 汪财生, 钱国英. 羊栖菜和海带脂肪酸组成的比较分析[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(12): 5-8.

(下转第 148 页)

优于 PPM-AFS 算法和 PPM-GA 算法。

3 结 论

1) 从新建立模型的理论和实践价值来看: 无约束投影寻踪模型的建立不仅利于算法优化性能的发 挥, 并且有效避免了因陷入局部最小值, 而错过寻找全局最优解的困扰。

2) 从实际的洪水强度大小比较的应用结果来看: 人工鱼群算法优化的无约束投影寻踪模型所得的洪水强度大小的比较结果与历史洪水实际情况较吻合, 表明该方法对于解决洪水强度大小比较的有效性和合理性。

3) 从所得的历场洪水强度大小的比较结果来看, 北江流域的洪水情况不容轻视, 由于北江流域的地理位置, 即该流域地处亚热带季风气候区域, 受气候的影响, 加之该流域人类活动的作用, 城市化进程的加快, 造成该流域洪水强度大小较大的波动性变化。

因此, 应该加强北江堤围的安全防护工作, 确保北江大堤的行洪能力。

参考文献:

- [1] 马寅午, 周晓阳, 尚金成, 等. 防洪系统洪水分类预测优化调度方法[J]. 水利学报, 1997, 4: 1-8.
- [2] 卢正波, 侯召成. 洪水聚类有效性分析[J]. 南水北调与水利科技, 2007, 5(2): 87-90.
- [3] 邱超. 特征加权 FCM 算法在洪水样本分类中的应用[J]. 水文, 2007, 27(5): 49-51.
- [4] 王顺久, 张欣莉, 候玉, 等. 洪水灾情投影寻踪评估模型[J]. 水文, 2002, 22(4): 1-4.
- [5] 董前进, 王先甲, 艾学山, 等. 基于投影寻踪和粒子群优化算法的洪水分类研究[J]. 水文, 2007, 27(4): 10-14.
- [6] FRIEDMAN J H, Tukey J W. A Projection Pursuit Algorithm for Exploratory Data Analysis[J]. IEEE Transactions on Computers. 1974, 23(9): 881-890.
- [7] FRIEDMAN J H. Projection pursuit regression[J]. Journal of the American Statistical Association, 1981, 76: 817-823.
- [8] WANG Shunjiu, ZHANG Xinli, YANG Zhifeng, et al. Projection pursuit cluster model based on genetic algorithm and its application in Karstic water pollution evaluation[J]. International Journal of Environment and Pollution, 2006, 28(3/4): 253-260.
- [9] XIE Yulong, WANG Jihong, LIANG Yizeng, et al. Robust principal component analysis by projection pursuit[J]. Journal of Chemometrics, 2005, 7(6): 527-541.
- [10] 李晓磊. 一种新型的智能优化方法—人工鱼群算法[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [11] 孙倩, 段春青, 邱林, 等. 基于熵权的模糊聚类模型在洪水分类中的应用[J]. 华北水利水电学院学报, 2007, 28(5): 4-6.
- [12] 杨创鹏, 朱昆鹏. 北江“05.6”与“98.6”暴雨洪水特性比较分析[J]. 中山大学学报论丛, 2006, 26(6): 204-206.
- [13] 谭泳, 谢彪, 潘锦江. “94.6”和“97.7”洪水北江大堤险情探讨[J]. 广东水利水电, 2000, (2): 46-48.
- [7] 卫煜英, 曹艳平. 气相色谱质谱联用法分析海藻脂肪酸及其它成分[J]. 营养学报, 1995, 17(1): 53-55.
- [8] RUSSEL-WELLS B. Fats of brown seaweeds[J]. Nature, 1932, 129: 654-655.
- [9] ITO K, TSUCHIYA Y. Differential fatty acid composition of some marine algae associated with their habit at depths[J]. Tohoku J Agr Res, 1977, 28: 145-150.
- [10] VELIMIROV B. Fatty acid composition of kelp on the West coast of South Africa and some ecological implications[J]. Bot Mar, 1979, 22(4): 237-240.
- [11] YEHUDA S, RABINOVITZ S, MOSTOSKY D I. Essential fatty acids are mediators of brain biochemistry and cognitive functions[J]. J Neurosci Res, 1999, 56: 565-570.
- [12] HENRY E G, MOMIN R A, NAIR M G, et al. Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 2231-2234.
- [13] TERRY P D, ROHAN T E, WOLK A. Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancers of the breast and prostate and of other hormone related cancers: A review of the epidemiologic evidence[J]. Am J Clin Nutr, 2003, 77(3): 532-543.
- [14] COLQUHOUN A. Gamma-linolenic acid alters the composition of mitochondrial membrane subfractions, decreases outer mitochondrial membrane binding of hexokinase and alters carnitine palmitoyl transferase I properties in the Walker 256 rat tumour[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2002, 1583: 74-84.

(上接第 141 页)