

两种海藻物提取物的制备及 脂肪酸 GC-MS 分析

梁 惠¹, 冷凯良², 贺 娟¹, 董春景¹, 史大永³

(1. 青岛大学医学院, 山东 青岛 266021; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 3. 中国科学院海洋研究所生物工程中心, 山东 青岛 266071)

摘 要: 制备三列凹顶藻和松节藻醇提取物, 采用气相色谱-质谱联用仪 (GC/MS) 对这两种海藻提取物脂肪酸进行了分析, 各分离出 17 个和 18 个峰, 鉴定了 12 种脂肪酸。用峰面积归一化法得出各类脂肪酸的相对百分含量。凹顶藻提取物中含饱和脂肪酸 4 种, 总体百分含量为 18.095%; 单不饱和脂肪酸 2 种, 总百分含量为 3.910%; 多不饱和脂肪酸种类较多, 共有 6 种, 总百分含量为 7.437%。松节藻醇提取物中 4 种饱和脂肪酸的含量为 51.842%, 2 种单不饱和脂肪酸含量为 13.124%, 6 种多不饱和脂肪酸含量为 27.375%。

关键词: 凹顶藻; 松节藻; 提取; 脂肪酸

Preparation of Fatty Acids Extraction of Two Kinds of Seaweeds and Analysis on the Fatty Acids of Them by GC-MS

LIANG Hui¹, LENG Kai-liang², HE Juan¹, DONG Chun-jing¹, SHI Da-yong³

(1. Medical College, Qingdao University, Qingdao 266021, China

2. Yellow Sea Fishes Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China

3. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: To extract the fatty acids compounds from *Laurencia tristicha* and *Rhodomela confervoides*, the fatty acid contents of the two kinds of seaweeds were separated and identified by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) method. 17 and 18 peaks were separated respectively and 12 kinds of fatty acids were identified. The contents of the fatty acids were determined by using the normalization method. *Laurencia* ethanolic extraction contained 4 kinds of saturated fatty acids, 2 kinds of monounsaturated fatty acids and 6 kinds of polyunsaturated fatty acids with the contents as 18.095%, 3.910% and 7.437%,

收稿日期: 2004-12-17

基金项目: 山东省卫生厅项目(2001CAICBA5); 青岛市科技局项目(04-2-HH-75)

作者简介: 梁惠(1964-), 女, 教授, 硕士生导师, 在读博士, 研究方向为营养与食品卫生。

从结果可以看出, NH_4^+ 的回收率偏低, 其原因有待进一步研究。几种水果中的阳离子含量各不相同, 其中 Na^+ 、 NH_4^+ 的含量均较少, 而 K^+ 的含量相对较高。

参考文献:

- [1] 高樱红. 离子色谱法同时测定降水中多种阳离子[J]. 安徽化工, 2002, (4): 45.
- [2] 郭岩. 乌龙茶中浸出碱金属和碱土金属离子的离子色谱

分析[J]. 现代科学仪器, 2002, (6): 20-21.

- [3] 高建国, 高建民, 崔鹤, 等. 离子色谱法测定浴盐中的阴、阳离子[J]. 化学分析计量, 2003, 12(1): 36-38.
- [4] 戴纪翠, 滕祥国, 马培华. 离子色谱法测定高纯氯化锂中微量的钾、钙、钠、镁、铵离子[J]. 色谱, 2003, 21(6): 629.
- [5] 於岳峰. 离子色谱法测定降水中的阳离子[J]. 干旱环境监测, 2002, 16(4): 14-16.

respectively. Rhodomela ethanolic extraction contained the same types of fatty acids with the contents as 51.842%, 13.124% and 27.375%, respectively.

Key words: Laurencia tristicha; Rhodomela confervoides; extract; fatty acid

中图分类号: Q949.29.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0184-03

三列凹顶藻(*Laurencia tristicha*)属红藻门(Rhodophyta), 红藻纲(Rhodophyceae), 仙菜目(Ceramiales), 松节藻科(Ceramiaceae), 凹顶藻属(*Laurencia*), 是海洋萜类化合物的重要来源。松节藻(*Rhodomela confervoides*), 属红藻门(Rhodophyta), 红藻纲(Rhodophyceae), 仙菜目(Ceramiales), 松节藻科(Rhodomelaceae), 富含溴酚类化合物^[1,2]。凹顶藻和松节藻广泛分布于中国、日本、朝鲜半岛及大西洋北岸, 研究表明这两种海藻的提取物均具有抗肿瘤、抗氧化、降脂、抑菌等广泛的生物活性^[3,4], 本文对这两种海藻提取物中的脂肪酸含量进行了分析。

1 材料与方法

1.1 材料

三列凹顶藻(*Laurencia tristicha*)于2003年4月采自广东省湛江市硇洲岛(东经110° 35' 北纬22° 55')附近海域。松节藻(*Rhodomela confervoides*) 2003年4月采于山东青岛市太平角海湾, 由中国科学院海洋研究所邵魁双博士鉴定。

1.2 仪器

Bchi R-200型旋转蒸发仪; 药物粉碎机; 惠普6890/5973气相色谱-质谱联用仪(GC/MS); 索氏提取器。

1.3 方法

1.3.1 凹顶藻醇提物和松节藻醇提物的制备

采集的海藻除尽砂杂, 在现场用海水洗净, 于避光处晾干。取干品约15kg, 药物粉碎机粉碎。倒入95%乙醇40L, 液面高度大约高出海藻样品5cm。浸泡60h, 浸泡过程中搅拌, 尽可能使样品中有效成分溶出。20目筛网及纱绢各过滤一次, 真空泵抽滤, 除去微细沙土, 得棕绿色清亮滤液, 至入旋转蒸发仪在40℃条件下减压蒸发, 浓缩得浸膏; 滤渣以95%乙醇反复浸泡3次, 后以甲醇40℃浸泡2次, 甲醇55℃浸泡2次, 滤液均减压蒸发得浸膏, 最后一次尽量蒸干, 合并浸膏。用约10倍体积的水溶解浸膏, 用足量的乙酸乙酯萃取水相至无色为止, 分成乙酸乙酯相和水相。乙酸乙酯相减压蒸发得海藻醇提物。

1.3.2 脂肪酸的测定 采用气相色谱-质谱联用色谱仪(GC/MS)测定。

1.3.2.1 样品处理

将海藻提取物100g于索氏提取器中, 用石油醚(60~90℃)200ml回流提取6h, 冷却过滤, 于旋转蒸发仪上回收溶剂至干得浅黄色脂肪油。取脂肪油0.5g, 加入0.5mol/L KOH-CH₃OH溶液4ml, 置60℃水浴上皂化30min(油珠完全消失), 冷却后加入150g/LBF₃-CH₃OH溶液2ml, 于60℃水浴上酯化5min, 冷却后加正己烷和饱和氯化钠水溶液各2ml, 取上清液供GC-MS分析^[5]。

1.3.2.2 气相色谱-质谱联用条件

气相色谱条件: HP 6890/5973 GC/MS(气/质联用色谱仪), 色谱柱为HP25MS型弹性石英毛细管分析柱(30m×250μm×0.25mm), 载气为高纯氦气(99.9999%), 恒流模式, 流速为1ml/min, 进样口温度250℃, 不分流进样, 进样量为1μl, 柱温为程序升温: 150~210℃, 3℃/min(hold1min), MSD检测器。

质谱条件: 接口温度250℃, 电离方式EI, 电子能量70eV, 电子倍增器电压1929EM, 用质量数扫描范围: 30.0~600.00amu, 扫描周期1.33周期/s。

2 结果与分析

经HP25MS凹顶藻醇提物共分离出17个峰, 松节藻醇提物共分离出18个峰, 鉴定了其中的12种脂肪酸, 采用峰面积归一化法得到各组分相对含量。各色谱峰的相应质谱图检索采用NIST98标准库进行检索, 并逐个解析各峰相应的质谱图, 定性定量结果见表1。

脂肪酸分析结果显示, 凹顶藻醇提物中含饱和脂肪酸4种, 分别为肉豆蔻酸(3.646%)、棕榈酸(13.00%)、硬脂酸(1.278%)、花生酸(0.171%), 总体百分含量为18.095%。单不饱和脂肪酸2种, 分别为棕榈油酸(1.177%)、油酸(2.733%), 总百分含量为3.910%。多不饱和脂肪酸种类较多, 共有6种, 分别为亚油酸(0.610%)、α-亚麻酸(0.520%)、γ-亚麻酸(0.110%)、花生四烯酸(2.657%)、二十碳五烯酸(3.487%)、二十二碳六烯酸(0.053%), 总百分含量为7.437%。松节藻醇提物中4种饱和脂肪酸肉豆蔻酸(8.900%)、棕榈酸(41.16%)、硬脂酸(1.358%)、花生酸(0.424%)的含量为51.842%, 2种单不饱和脂肪酸棕榈油酸(3.902%)、油酸(9.222%)含量为13.124%, 6种多不饱和脂肪酸含量亚油酸(1.652%)、α-亚麻酸(0.769%)、γ-亚麻酸(2.188%)、花生四烯酸(8.655%)、二十碳五烯酸(13.918%)、二十二碳六烯酸(0.193%)含量为27.375%。

表1 两种海藻提取物脂肪酸含量
Table 1 The contents of two kinds of seaweeds

脂肪酸	编号	保留时间(min)		相对百分含量(%)	
		凹顶藻醇提取物	松节藻醇提取物	凹顶藻醇提取物	松节藻醇提取物
肉豆蔻酸(myristica.)	C _{14:0}	5.493	5.457	3.646	8.900
棕榈酸(palmitica.)	C _{16:0}	8.663	8.545	13.00	41.16
棕榈油酸(palmitoleica.)	C _{16:1(n-7)}	9.026	8.942	1.177	3.902
硬脂酸(stearica.)	C _{18:0}	12.671	12.467	1.278	1.358
油酸(Oleica.)	C _{18:1(n-9)}	12.895	12.885	2.733	9.222
亚油酸(linoleica.)	C _{18:2(n-6)}	13.844	13.821	0.610	1.652
Δ-亚麻酸(linolenica.)	C _{18:3(n-3)}	14.491	14.477	0.520	0.769
Γ-亚麻酸(linolenica.)	C _{18:3(n-6)}	15.251	15.258	0.110	2.188
花生酸(arechidica.)	C _{20:0}	19.047	19.037	0.171	0.424
花生四烯酸(arachidonica.)	C _{20:4(n-6)}	19.586	19.567	2.657	8.655
二十碳五烯酸(eicosapentacenoica.)	C _{20:5(n-3)}	21.118	21.103	3.487	13.918
二十二碳六烯酸(docosahexenoica.)	C _{22:6(n-3)}	22.735	22.687	0.053	0.193

这两种海藻醇提取物都含有人体必需的脂肪酸亚油酸(18:2 n-6)和α-亚麻酸(18:3 n-3)。海洋生物脂肪酸与陆地生物的区别之一就是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)含量丰富,这两种海藻多不饱和脂肪酸也以花生四烯酸、EPA及DHA为主。必需脂肪酸是磷脂的重要组成部分,与细胞膜的结构和功能直接相关。DHA是胎儿和婴幼儿生长发育过程中形成神经系统和视觉器的重要组成部分,DHA还具有增强思维和记忆、延缓衰老等作用^[6]。EPA和DHA等n-3系列多不饱和脂肪酸更具有降血压、降血脂、抗血凝、抗血栓、抗动脉粥样硬化等作用,可以预防和治疗心血管疾病;它还可以抑制肿瘤的生长和转移,降低癌症的死亡率^[7];对糖尿病、风湿性关节炎、肾炎等疾病也具有一定的预防和治疗作用^[8]。

凹顶藻和松节藻提取物所具有的抗肿瘤、抗氧化、降脂、抑菌等生物活性可能与其含有的各类脂肪酸有关,这两种海藻提取物值得进一步研究和开发利用。

参考文献:

- [1] 徐年军, 范晓, 曾呈奎. 海洋红藻松节藻 *Rhodomela confervoides* 化学成分研究[J]. 中国海洋药物, 2003, (2): 1-5.
- [2] M Pederson, Marianne Pedersen. Bromochlorophenols and a brominated diphenylmethane in red algae[J]. *Phytochemistry*, 1978, 17(2): 291-293.
- [3] 徐年军, 范晓, 韩丽君, 等. 山东沿海海藻抗肿瘤活性的筛选[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(4): 409-413.
- [4] Martina K Pec, Amable Aguirre, Karin Moser-Thier, et al. Induction of apoptosis in estrogen dependent and independent breast cancer cells by the marine terpenoid dehydrothysiferol[J]. *Biochem Pharmacol*, 2003, 65: 1451-1461.
- [5] 张学杰, 李法曾, 程传格. 栎树种油中脂肪酸组成地气相色谱-质谱分析[J]. 分析测试学报, 2000, 19: 46-47.
- [6] 余纲哲. 鳗骨油的提取与分析[J]. 食品工业科技, 1994, (3): 66-69.
- [7] Hung P, Kaku S, Yunoki S, et al. Dietary effect of EPA-rich and DHA-rich fish oils on the immune function of Sprague-Dawley rats[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1999, 63 (1): 135-140.
- [8] Ergas D, Eilat E, Mendlovic S, et al. n-3 fatty acids and the immune system in autoimmunity [J]. *Isr Med Assoc*, 2002, 4 (1): 34.

中国科学引文数据库核心库收录期刊