

华山松籽仁脂肪酸组成及其 Δ^5 型脂肪酸鉴定

王 博, 李 垚, 秦公伟, 李新生, 曹小勇*

(陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西省资源生物重点实验室, 陕西 汉中 723000)

摘 要: 确定华山松籽仁中的脂肪酸组成及 Δ^5 型不饱和脂肪酸。利用岛津 GC-2010 气相色谱仪、DB-WAX 毛细管色谱柱、37 种脂肪酸甲酯混合标准品并结合等效链长(equivalent chain length, ECL)法进行分析。结果表明, 华山松籽仁含有丰富的不饱和脂肪酸(达 92.83%), 主要为亚油酸(46.12%)和油酸(22.68%), Δ^5 型不饱和脂肪酸含量较高, 达 21.70%, 主要为松油酸(16.11%)。使用 ECL 方法可有效确定松科植物种子油脂中的 Δ^5 型不饱和脂肪酸。
关键词: 华山松; 松仁; Δ^5 型不饱和脂肪酸; 等效链长; 气相色谱法

Identification of Fatty Acid Composition and Δ^5 -unsaturated Fatty Acids in *Pinus armandii* Kernel

WANG Bo, LI Yao, QIN Gong-wei, LI Xin-sheng, CAO Xiao-yong*

(Bio-resources Key Laboratory of Shaanxi Province, College of Bioscience and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China)

Abstract : Shimadzu 2010 gas chromatograph equipped with DB-WAX capillary column, 37 fatty acid standards and the equivalent chain length (ECL) method were used to identify the fatty acid composition and Δ^5 -unsaturated fatty acids in *Pinus armandii* kernel. The results indicated that *Pinus armandii* kernel abundantly contained unsaturated fatty acid (92.83%), mainly linoleic acid (46.12%) and oleic acid (22.68%). Moreover, large amounts of Δ^5 -unsaturated fatty acids were also contained, mainly pinolenic acid (16.11%). The ECL method was found to enable effective identification of Δ^5 -unsaturated fatty acids in *Pinus armandii* kernel.

Key words : *Pinus armandii*; pine kernel; Δ^5 -unsaturated fatty acid; equivalent chain length (ECL); gas chromatography

中图分类号: Q547

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)20-0164-03

松籽(pine nut)有时亦称松仁(pine kernel), 是松属(*Pinus*)植物可食用的种子, 世界各地多种文化背景, 尤其是在地中海、中东、亚洲和美国西南部, 都有这种食用习惯^[1]。在中国食用松籽的历史已有 3000 多年, 被视为美味食物, 又作食疗佳品, 倍受医学家、营养学家推崇。中西医药研究证明, 松籽仁具有滋养人体、润五脏、养心安神, 于人体大有益补作用^[2]。

松籽的主要成分包括油脂(23% ~ 68%)、蛋白质(12% ~ 31%)和碳水化合物(2.4% ~ 54%); 松籽油脂的一个显著特点是普遍含有一组不寻常的多不饱和脂肪酸, 它们拥有 18 或 20 个碳, 第一个不饱和双键位于第 5 位碳(Δ^5), 被称为 Δ^5 型不饱和脂肪酸(Δ^5 -unsaturated FA, Δ^5 -olefinic acid); 第二个双键位于 9 或 11,

两个双键之间有一个以上的亚甲基分隔, 因此这些多不饱和脂肪酸被称为 Δ^5 多亚甲基间断多不饱和脂肪酸 (polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acid, PMI PUFA)^[1,3-4]。 Δ^5 型不饱和脂肪酸包括紫杉油酸 (taxoleic, C_{18:2}^{5,9})、麻黄油酸(ephedrenic, C_{18:2}^{5,11})、松油酸(pinolenic, C_{18:3}^{5,9,12})、柏油酸(coniferonic, C_{18:4}^{5,9,12,15})、金松油酸(sciadonic, C_{20:3}^{5,11,14}) 和刺柏油酸(juniperonic, C_{20:4}^{5,11,14,17}); 紫杉油酸最高达 4.5%, 而松油酸含量从 0.1% 变化到 25.3%, Δ^5 型不饱和脂肪酸可达总量的 30% 或更多, 已确定存在于针叶树植物的种子和光合组织中, 以及毛茛科植物种子、动物油脂、苔藓、真菌、微型藻类^[5]。

目前关于华山松籽油的研究已经有所报道^[2,6], 但都

收稿日期: 2010-12-15

基金项目: 陕西省重点实验室重点科研项目(09JS048); 陕西省油脂深加工工程技术研发中心科研项目(2009ZDGC-03-06)

作者简介: 王博(1985—), 男, 硕士研究生, 研究方向为植物多样性与珍稀植物保育。E-mail: 375603678@qq.com

* 通信作者: 曹小勇(1964—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为植物资源开发利用。E-mail: caoxiyong@yahoo.com.cn

未鉴定出 5 型不饱和脂肪酸。ECL 是一个类似柯瓦茨保留指数(Kovats retention index)的概念,在特定的载气、柱子和实验条件下,ECL 值是一个常数,可根据脂肪酸的 ECL 值对未知脂肪酸进行鉴定^[7-8],国外学者许多相关工作都采用了 ECL 方法^[9-11]。本研究除利用脂肪酸混合标准品对未知脂肪酸进行鉴定外,还利用等效链长(equivalent chain length, ECL)方法。

1 材料与方 法

1.1 材料、试剂与仪器

华山松籽 陕西勉县绿源林业开发有限责任公司。

37 种脂肪酸混合标准品 美国 Supelco 公司;石油醚-苯混合溶液(体积比 1:1)、乙醚、氢氧化钾-甲醇溶液(0.8mol/L),以上试剂均为分析纯。

GC-2010 型气相色谱仪(配 GC Real Time Analysis 色谱工作站、FID 检测器) 日本岛津公司;FA2004N 分析天平 上海精密科学仪器有限公司;DZKW-4 型恒温水浴锅 黄骅市渤海电器厂;202 型电热恒温鼓风干燥箱 山东潍坊医药集团股份有限公司医疗器械厂;索氏提取仪 天玻玻璃仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 脂肪酸分析样品制备

松仁从华山松籽中剥出,烘干后利用索氏提取仪提取粗脂肪,甲酯化处理后进行 GC 分析。称取约 0.025g 粗脂肪,置于 10mL 容量瓶中,加入 4mL 石油醚-苯混合液,振荡使油脂充分溶解,然后加入 0.8mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 4mL,振荡 5min,加无离子水至刻度,静置后吸取上层清液作 GC 分析。

1.2.2 气相色谱条件

DB-WAX 弹性石英毛细管色谱柱(30m × 0.25mm, 0.25μm);柱温:120 保持 5min,然后以 5 /min 升至 215 ,保持 38min;进样口温度 280 ;检测器温度;280 ;载气(N₂):49.5mL/min;辅助气(H₂):40mL/min;空气:500mL/min;进样量:1μL。

根据脂肪酸混合标准品确定样品中脂肪酸的种类;采用面积归一化法,计算样品中所脂肪酸的相对含量^[12]。

1.2.3 脂肪酸 ECL 值测定

测定华山松籽仁脂肪酸 ECL 值所采用的色谱条件参照 Wolff 等^[13]的方法,除了柱温为 190 恒温保持 40min 外,其他参数同 1.2.2 节。根据棕榈酸(C₁₆)、硬脂酸(C₁₈)、花生酸(C₂₀)的保留时间的常用对数值,计算出其他脂肪酸的 ECL 值。

2 结果与分析

华山松籽仁脂肪酸色谱图见图 1,其存在 3 种含量较高而根据脂肪酸混合标准品无法确定的脂肪酸(X₁、X₂、X₃)。

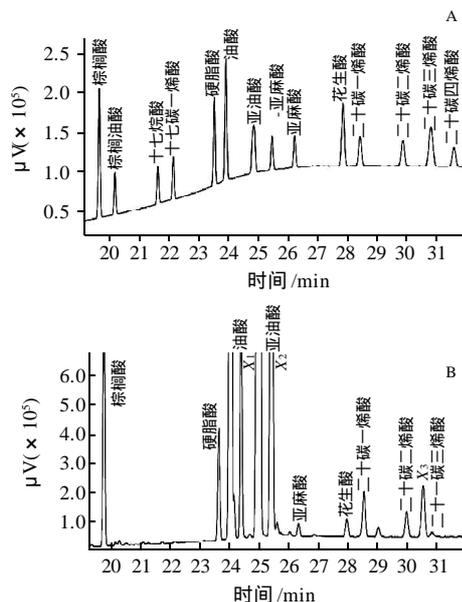


图 1 37 种脂肪酸甲酯混合标准品(A)和华山松籽仁脂肪酸甲酯(B) 色谱图

Fig.1 FAME chromatograms of mixture of 37 fatty acid methyl ester (FAME) standards and FAMES from *P. armandii* kernel

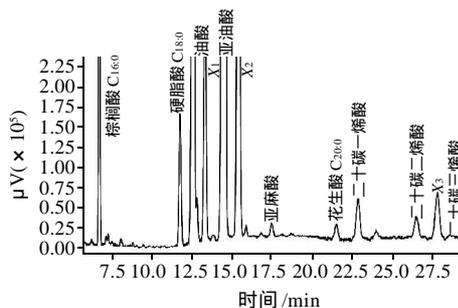


图 2 华山松籽仁脂肪酸 ECL 色谱图

Fig.2 ECL chromatogram of FAMES from *P. armandii* kernel

表 1 华山松仁中脂肪酸的 ECL 值

Table 1 ECL value sof fatty acids in *P. armandii* kernel

脂肪酸	ECL	文献 ECL 值 ^[13]	结构
油酸	18.23	18.23	
X ₁	18.41	18.43	紫杉油酸
- 亚麻酸	19.31	19.37	
X ₂	18.90	18.91	松油酸
二十碳一烯酸	20.20	20.21	
二十碳二烯酸	20.68	20.69	
X ₃	20.84	20.83	金松油酸

测定华山松籽仁脂肪酸 ECL 值的色谱图见图 2, 各种脂肪酸的 ECL 值见表 1。

根据文献 ECL 值^[13], 3 种含量较高的脂肪酸 X₁、X₂、X₃ 分别确定为紫杉油酸、松油酸和金松油酸。

华山松籽仁粗脂肪中主要脂肪酸种类及相对含量见表 2。

表 2 华山松籽仁中主要脂肪酸种类及相对含量

Table 2 Main fatty acid compositions and their relative contents (%) in *P. armandii* kernel

脂肪酸	文献[2]	文献[6]	本实验
棕榈酸	5	5.52	4.00
硬脂酸	2	3.48	1.92
油酸	26	25.82	22.68
6,9-C _{18:2}		2.11	
紫杉油酸			4.25
亚油酸	63	43.78	46.12
- 亚麻酸		16.01	
松油酸			16.11
- 亚麻酸		0.16	0.31
花生酸	1	0.95	0.38
二十碳一烯酸	1	0.96	1.04
二十碳二烯酸			0.62
金松油酸			1.34
二十碳三烯酸			0.13
不饱和脂肪酸			92.83
5 型不饱和脂肪酸			21.70

注: 不饱和脂肪酸包括: 油酸、紫杉油酸、亚油酸、松油酸、- 亚麻酸、二十碳一烯酸、二十碳二烯酸、金松油酸和二十碳三烯酸。

3 讨 论

从本研究结果看, 慕鸿雁等^[6]的研究未能正确确定紫杉油酸和松油酸, 而李建科等^[2]的研究未能分离亚油酸与松油酸。如文献^[14]所述, GC-MS 技术尽管是非常强有力的分析手段, 但在研究不饱和脂肪酸的异构体中还需辅以其他技术, 如核磁共振(nuclear magnetic resonance, NMR)技术^[15-16]。

松籽油(pine-nut oil)广泛地用于医疗以处理灼伤、湿疹、牛皮癣和胃溃疡等疾病, 另外松籽油具有平衡血脂的功效, 具有降低胆固醇活性以及能够辅助性地降低体质量^[16-17], 已有证据说明松籽中的松油酸和金松油酸能有效改变血液中血脂和脂蛋白的状态^[18]。

本实验结果表明, 华山松籽仁含有丰富的亚油酸(46.12%)和油酸(22.68%)等不饱和脂肪酸, 且 5 型不饱

和脂肪酸量较大, 达 21.70%。使用 ECL 方法可有效确定松科植物种子油脂中的 5 型不饱和脂肪酸。

参 考 文 献 :

- [1] ALASALVAR C, SHAHIDI F. Tree nuts: composition, phytochemicals, and health effects[M]. Boca Raton: CRC Press, 2008: 285-293.
- [2] 李建科, 李林强, 冯再平, 等. 华山松籽油脂脂肪酸组成及其理化性质研究[J]. 食品科学, 2004, 25(4): 139-141.
- [3] 荣会, 余元祥, 李庆才, 等. 松籽油脂脂肪酸酯化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(5): 30-34.
- [4] 姜莉, 赵守成, 林颖, 等. 气相色谱法快速测定松籽油中松油酸的含量[J]. 现代科学仪器, 2004(4): 36-37.
- [5] WOLFF R L, PEDRONI F, PASQUIER E, et al. General characteristics of *Pinus* spp. seed fatty acid compositions, and importance of 5-olefinic acids in the taxonomy and phylogeny of the genus[J]. Lipids, 2000, 35(1): 1-22.
- [6] 慕鸿雁, 裘爱泳, 潘秋琴. 华山松籽油中亚麻酸类型的确定及其在甘三酯中的分布[J]. 中国油脂, 2005, 30(2): 59-62.
- [7] AKOH C C, MIN D B. Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology[M]. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 2002: 198.
- [8] CHRISTIE W W. Gas chromatography and lipids: a practical guide[M]. Dundee: Oily Press, 1989: 52-72.
- [9] MAKARENKO S P, KONENKINA T A, PUTILINA T E, et al. The composition of fatty acids in the endosperm and embryo lipids of *Pinus sibirica* and *P. sylvestris* seeds[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2008, 55(4): 480-485.
- [10] WOLFF R L, MARPEAUB A M. 5-olefinic acids in the edible seeds of nut pines (*Pinus cembroides edulis*) from the United States[J]. J Am Oil Chem Soc, 1997, 74(5): 613-614.
- [11] WOLFF R L, BAYARD C C. Fatty acid composition of some pine seed oils[J]. J Am Oil Chem Soc, 1995, 72(9): 1043-1046.
- [12] 李子璇, 秦公伟, 江海, 等. 三种干果中脂肪酸组成比较分析研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 137-140.
- [13] WOLFF R L, DELUC L G, MARPEAU A M. Conifer seeds: oil content and fatty acid composition[J]. J Am Oil Chem Soc, 1996, 73(6): 765-771.
- [14] 曹小勇. 香椿种子中脂肪酸与植物甾醇含量分析[J]. 种子, 2008, 27(1): 77-79.
- [15] GUNSTONE F D, WOLFF R L. Conifer seed oils: distribution of 5 acids between and chains by ¹³C nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. J Am Oil Chem Soc, 1996, 73(11): 1611-1613.
- [16] SKAKOVSKII L, TYCHINSKAYA Y, GAIDUKEVICH O A, et al. NMR analysis of oils from pine nuts (*Pinus sibirica*) and seeds of common pine (*Pinus silvestris* L.)[J]. Journal of Applied Spectroscopy, 2007, 74(4): 584-588.
- [17] 王振宇, 陈小强. 红松籽油有效成分功能评价[J]. 林业研究: 英文版, 2004, 15(3): 215-217.
- [18] WOLFF R, COMPS L, DELUC B, et al. Fatty acids of the seeds from pine species of the *Ponderosa-Banksiana* and *Halepensis* sections. The peculiar taxonomic position of *Pinus pinaster*[J]. J Am Oil Chem Soc, 1998, 75(13): 45-50.