

海蜇不同部位脂肪酸的组成研究

刘希光^{1,2} 于华华^{1,2} 赵增芹^{1,2} 李智恩¹ 李鹏程^{*1}

¹(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071) ²(中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘 要 报道了黄海海域成熟海蜇不同部位脂肪酸的研究结果。利用 GC-MS 技术测定海蜇皮、海蜇头、海蜇生殖腺的脂肪酸组成。结果表明:海蜇含有 30 多种脂肪酸,3 个部位的脂肪酸组成差别不大;海蜇中含有丰富的多不饱和脂肪酸,含量在 36.2%~38.7%之间,其中二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳四烯酸(AA)和二十碳五烯酸(EPA)含量较高。

关键词 海蜇,脂肪酸,气相色谱-质谱,冷冻干燥

1 引 言

海蜇(*Rhopilema esculentum* Kishinouye)隶属于钵水母纲,根口水母科^[1]。广泛分布于我国 4 个海区沿海近岸,是我国渔业传统的捕捞对象,具有很高的经济价值。我国医药对海蜇的应用历史悠久,据《本草纲目》所述“主治妇人劳损、积血带下,小儿风疾丹毒,烫火伤等”,有清热解毒、化痰软坚、降压消肿等功效,对气管炎、哮喘、高血压、胃溃疡、甲状腺肿大、颈淋巴结核等症均有疗效^[2]。

国内外尚未见关于新鲜海蜇(*R. esculentum*)脂肪酸组成方面的研究报道。腌制海蜇由于加工过程造成了损失,仅发现为数不多的几种脂肪酸,并且未检测出多不饱和脂肪酸^[3]。研究新鲜海蜇的脂肪酸组成不仅有助于海蜇资源的开发和利用。还有助于了解它们的食性行为,海蜇的脂肪酸组成与它们的主要捕食对象的脂肪酸组成有关^[4~6]。

本实验采用冷冻干燥和改进的 Bligh-Dyer 方法^[7]提取脂肪酸,避免了多不饱和脂肪酸(PUFA)的氧化分解,利用 GC/MS 分析测定了海蜇皮、海蜇头、海蜇生殖腺脂肪提取物中的脂肪酸组成,并首次报道了海蜇中含有二十四碳多不饱和脂肪酸。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

PD-5N 型冷冻干燥仪(日本东京理化株式会社);HP6890 气相色谱-MSD5973 质谱仪(美国惠普公司);RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。甲醇、三氯甲烷(使用前重新蒸馏)、三氟化硼、氢氧化钾、正己烷均为分析纯。

2.2 材料与方法

2.2.1 材料的制备 新鲜海蜇于 2002 年 8 月捕于青岛沙子口附近海域,均为成熟的海蜇。海蜇捕获后,加入冰块立即运送到实验室处理。将所有新鲜海蜇剥分为海蜇头、海蜇皮和海蜇生殖腺 3 部分,用自来水冲洗干净表面杂质,用搅碎机均浆,然后冷冻干燥,冻干的样品装于密封袋中低温保存。

2.2.2 脂肪酸的提取及甲酯化 采用改进的 Bligh-Dyer^[7]方法提取海蜇中的脂肪酸。称取一定量的冻干样品,加入一定体积的甲醇-三氯甲烷-水混合溶液(体积比为 2:1:0.8),电磁搅拌下室温过夜,离心分离提取液,加入一定量的氯仿和水,使提取液的最终浓度保持为甲醇氯仿水 = 110.9 (V/V),分离有机相,30℃下真空旋转蒸发脱溶剂得淡黄色油状物。取上述油状物 0.3 g,加入 0.5 mol/L 的 KOH-MeOH 溶液 3 mL,在 60℃条件下皂化 15~30 min(油珠完全消失)。冷却后加入 14%的 BF₃-MeOH (W/V) 溶液并于 60℃水浴甲酯化 5 min,冷却后,加正己烷和饱和氯化钠溶液各 2 mL,离心分层,取上清液进行 GC-MS 分析。

2003-11-19 收稿;2004-01-05 接受

本文系中国科学院知识创新工程重要方向性项目(No. KZCX3-SW-215)和青岛市科技计划(No. 02-1-KI-SHN-24)

2.3 气相色谱-质谱分析条件

色谱条件:色谱柱为 HP-5 弹性石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),柱温采用程序升温,130 (3 min) $\xrightarrow{3^\circ/\text{min}}$ 210。载气为氦气,流量 0.9 mL/min,进样口温度 250。质谱条件:EI 离子源,电子能量 70 eV,倍增器电压 1624V,质量扫描范围 30 ~ 500 amu。

2.4 脂肪酸甲酯的定性定量分析

利用气相色谱-质谱-计算机联用仪进行分析鉴定,通过数据处理系统检索美国 NBS 标准质谱图库,并与标准谱图相对照,匹配率大于 90%。对于图库中不存在的 EPA 和 DHA,则是利用标准 EPA 和 DHA 物质(Sigma 公司)所建立的新质谱图库并与其相对照鉴定得到。按峰面积归一化方法作定量分析。

3 结果与讨论

3.1 脂肪酸提取方法的选择

依据脂类物质的不稳定性及新鲜海蜇的高水质、易分解和自溶的特点,选择了冷冻干燥的样品处理方法。冻干的样品密封保存在 - 25 的冰箱中,两个月内进行脂肪酸提取。为了避免提取溶剂中含有过氧化物,甲醇和氯仿使用前被重新蒸馏。由于海蜇样品中含有大量蛋白质,能与脂类分子形成复合物,因此选择氯仿和甲醇体系提取脂肪酸,用甲醇裂开脂质-蛋白质复合物,同时加入适量的水,使样品中的多糖、氨基酸、盐类等物质溶于甲醇-水相中。提取结束,调整溶剂比例,形成易于分离的二相体系,避免形成难于处理的乳浊液。

3.2 海蜇脂肪酸的分析

海蜇脂肪酸甲酯的总离子流色谱图见图 1。表 1 列出了分析结果。从分析结果来看,海蜇 3 个部位的脂肪酸组成差别不大。在 3 个部位中饱和脂肪酸主要为 C16 0 (13.3% ~ 20.2%)、C18 0 (13.4% ~ 15.6%) 和 C14 0 (2.08% ~ 4.74%),另外还含有 9 种奇数碳的脂肪酸,它们的含量占总脂肪酸的 5.65% ~ 8.67%,其中 C17 0 (2.51% ~ 4.32%)、C15 0 (1.55% ~ 1.67%) 和 C19 0 (0.84% ~ 1.58%) 含量最高,这些奇数碳脂肪酸的存在可能与海蜇特殊的生理活性有关。海蜇皮、海蜇头和海蜇生殖腺中单不饱和脂肪酸的含量分别为 15.5%、14.3%、16.1%,其中 C16:1 (*n*-7)

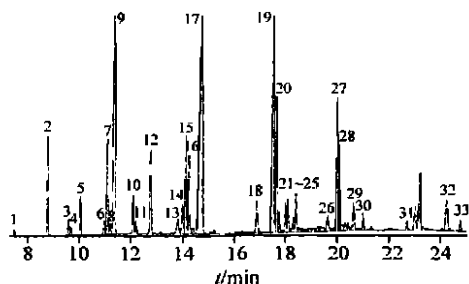


图 1 海蜇脂肪酸甲酯的总离子流色谱图

Fig. 1 Total ion chromatogram of methylated fatty acids from *Rhopilema esculentum* jellyfish

(2.89% ~ 3.49%)、C18:1 (*n*-9) (4.03% ~ 4.47%) 和 C18:1 (*n*-7) (1.77% ~ 3.04%) 含量较高,C18:1 (*n*-9) 也被做为肉食性动物的一个指标,不太高的 C18:1 含量说明这个季节海蜇的主要食物来源可能以浮游植物和有机碎屑为主;另外,含量较高的是 C24:1 (*n*-15) (1.44% ~ 1.49%),又名神经酸,是人体必需的脂肪酸,具有促进神经细胞生长发育的功能。C22:6 (DHA, 7.05% ~ 12.06%), C20:4 (AA, 7.68% ~ 15.2%) 和 C20:5 (EPA, 6.12% ~ 8.01%) 是 3 种主要的多不饱和脂肪酸,在海蜇 3 个部位中,生殖腺中具有重要生理功能的 AA 含量最高(15.2%),EPA 含量较低(6.12%),而其余两个部位则是 DHA 含量最高(分别为 10.55% 和 12.06%)。在 C24:1 和 C23:0 之间有两个色谱峰,根据出峰规律应为二十四碳的多不饱和脂肪酸。从两个化合物的 EI 质谱图来看,基峰为 m/z 79,其次为 m/z 91 离子峰,这是多不饱和脂肪酸的两个最具代表性的峰, m/z 91 峰可能是由多不饱和脂肪链的环化和重排产生的卓离子峰^[8],另外还有 m/z 67、93、105、119、131 等多不饱和脂肪酸的特征峰,这与 Nelson 等^[9]的描述相同。离子峰 m/z 74 (丰度为基峰的 10% 左右,在饱和脂肪酸甲酯中为基峰) 为 γ H 的重排峰($\text{CH}_3\text{COOCH}_3$),表明两个化合物均为脂肪酸甲酯。Fellenberg^[10] 和 Řezanka 等^[11] 认为利用 m/z 108、150 的离子强度可以辨别 *n*-3 系和 *n*-6 系的多不饱和脂肪酸,在第 1 个化合物(23.0 min)中, m/z 108/150 < 1,该化合物应为 *n*-6 系的多不饱和脂肪酸,而第 2 个化合物(23.2 min)的 m/z 108/150 > 1,应为 *n*-3 系的多不饱和脂肪酸。曾有文献报道在海绵和甲壳类动物中含有二十四碳及其它超长链多不饱和脂肪酸^[12,13],而在海蜇中发现还属首次。

表 1 海蜇皮、海蜇头及海蜇生殖腺的脂肪酸组成和含量
Table 1 The compositions and contents of fatty acids in umbrella , oral and arms and gonads of jellyfish

峰号 Peak No.	保留时间 Retention time (min)	碳数及饱和度 Carbon No. and saturation	海蜇皮脂肪酸含量 Fatty acids in jellyfish umbrella (%)	海蜇头脂肪酸含量 Fatty acids in jellyfish oral and arms (%)	海蜇生殖腺脂肪酸含量 Fatty acids in jellyfish gonads (%)
1	7.48	C130	0.05		
2	8.77	C140	4.26	4.74	2.08
3	9.58	C150 iso	0.47	0.29	0.37
4	9.68	C150 iso	0.21	0.20	0.17
5	10.05	C150	0.99	1.08	1.01
6	10.99	C161 (<i>n</i> -9)	0.46	0.21	0.40
7	11.09	C161 (<i>n</i> -7)	3.49	2.89	3.45
8	11.17	C161 (<i>n</i> -11)	0.34	0.24	0.20
9	11.37	C160	19.0	20.2	13.3
10	12.08	C171 (<i>n</i> -8) iso	0.93	1.00	0.95
11	12.16	C170 iso	0.47	0.66	0.49
12	12.76	C170	2.04	2.15	3.83
13	13.80	C183 (<i>n</i> -3)	0.94	0.95	0.83
14	13.99	C182 (<i>n</i> -6)	1.79	1.51	1.23
15	14.13	C181 (<i>n</i> -9)	4.35	4.47	4.03
16	14.24	C181 (<i>n</i> -7)	2.08	1.77	3.04
17	14.75	C180	13.59	13.4	15.6
18	16.88	C190	0.84	0.65	1.58
19	17.57	C204 (<i>n</i> -6)	7.68	8.25	15.2
20	17.64	C205 (<i>n</i> -3)	8.01	7.95	6.12
21	17.76	C203 (<i>n</i> -6)	0.86	0.36	0.62
22	18.01	C202 (<i>n</i> -6)	0.48	0.38	0.98
23	18.08	C201 (<i>n</i> -11)	0.78	0.87	1.43
24	18.29	C201 (<i>n</i> -9)	0.24	0.34	0.25
25	18.40	C200	0.75	0.75	1.70
26	19.63	C210	0.38	0.32	0.92
27	20.01	C226 (<i>n</i> -3)	10.55	12.06	7.05
28	20.18	C225 (<i>n</i> -3)	2.91	2.96	3.11
29	20.65	C221 (<i>n</i> -9)	1.34	1.01	1.19
30	21.01	C220	0.94	0.38	0.68
31	22.72	C230	0.42	0.30	0.25
32	24.25	C241 (<i>n</i> -15)	1.49	1.46	1.44
33	24.77	C240	0.53	0.26	0.41
C ₂₄ 多不饱和脂肪酸					
C ₂₄ polyunsaturated fatty acid (PUFA) (<i>n</i> -6)			0.42	0.30	1.14
C ₂₄ 多不饱和脂肪酸 C ₂₄ PUFA (<i>n</i> -3)			2.59	2.36	2.46
饱和脂肪酸 Saturated fatty acids (%)			44.9	45.4	42.4
单不饱和脂肪酸 Monounsaturates (%)			15.50	14.3	16.4
多不饱和脂肪酸 Polyunsaturates (%)			36.23	37.1	38.7

研究结果表明 ,海蜇中脂肪酸组成丰富 ,具有很高的营养价值和药用价值。本研究为海蜇资源的进一步开发和利用及探讨其化学成分与生物活性之间的关系提供了依据。

References

1 Jiang Fengwu (姜凤吾) , Zhang Yushun (张玉顺) . *Chinese Marine Pharmaceutic Dictionary* (中国海洋药物辞典) . Beijing (北京) : Ocean Press (海洋出版社) , 1994 : 269

2 Hong Huixin (洪惠馨) . *Bulletin of Biology* (生物学通报) , 2002 , 37 (2) : 13 ~ 16

3 Wang Guangya (王光亚) . *Food Ingredient List* (食物成分表) . Beijing (北京) : Public Health Press (人民卫生出版社) , 1998 : 222 ~ 223

4 Sargent J R , Parkes R J , Mueller-Harvey I , Henderson R J . *Lipid Biomarkers in Marine Ecology* . Chichester : Ellis Horwood ,

1987: 119 ~ 138

- 5 Graeve M, Hagen W, Kattner G. *Deep-Sea Res.*, **1994**, 41: 915 ~ 924
- 6 Kharlamenko V I, Zhukova N Z, Khotimchenko S V, Svetashev V I, Kamenev GM. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **1995**, 120: 231 ~ 241
- 7 Bligh E G, Dyer W J. *Can. J. Biochem. Physiol.*, **1959**, 37: 911 ~ 917
- 8 Hallgren B, Ryhage E, Stenhagen E. *Acta. Chem. Scand.*, **1959**, 13: 845 ~ 847
- 9 Nelson M M, Mooney B D, Nicols P D, Phleger C F. *Marine Chemistry*, **2001**, 73: 53 ~ 64
- 10 Fellenberg A J, Johnson D W, Poulos A, Sharp P. *Biomed. Environ. Mass Spectrom*, **1987**, 14: 127 ~ 129
- 11 Řezanka T. *LC GC International Magazine of Separation Science*, **1990**, 3: 46 ~ 48
- 12 Dembitsky V M, Řezanka T, Kashin A G. *Comp. Biochem. Physiol.*, **1993**, 106: 825 ~ 834
- 13 Řezanka T. *Biochemical Systematics and Ecology*, **2000**, 28: 847 ~ 856

Study on the Fatty Acid Composition of Jellyfish *Rhopilema Esculentum*

Liu Xiguang^{1,2}, Yu Huahua^{1,2}, Zhao Zengqin^{1,2}, Li Zhien¹, Li Pengcheng^{*1}

¹ (Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

² (The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

Abstract The fatty acids composition in different parts of full-grown *Rhopilema esculentum* jellyfish from Yellow Sea was investigated. The lipids, extracted from the umbrella and oral arms and gonads of *R. esculentum* jellyfish, respectively were analysed by combined capillary gas chromatography/mass spectrometry. The results show that there are more than thirty kinds of fatty acids in jellyfish, and the fatty acid compositions of three parts of *R. esculentum* are almost the same. In the three parts, percentages of polyunsaturated fatty acids (PUFA) are high, and range from 36.23 % to 38.74 %. Docosahexaenoic acid (DHA), eicosatetraenoic acid (AA) and eicosapentaenoic acid (EPA) are three major PUFA.

Keywords Jellyfish, fatty acid, gas chromatography-mass spectrometry, lyophilization

(Received 19 November 2003; accepted 5 January 2004)

2005 年度《理化检验——化学分册》杂志征订启事

《理化检验——化学分册》杂志创刊于 1963 年,系由上海材料研究所与机械工程学会理化检验分会联合主办的技术类刊物。主要报道材料的化学分析与仪器分析专业领域中的新方法、新技术、新设备以及国内外的研究方向。“面向生产、注重实用、反映动向、兼顾普及”是刊物的编辑方针,旨在最大程度地满足不同层次读者的需要。涉及的领域为机械、冶金、石油化工、环境科学、生命科学等。主要栏目有“试验与研究”、“工作简报”、“知识与经验介绍”、“综述”、“专题讲座”、“读者园地”、“动态与信息”等。

《理化检验——化学分册》为国内理化检验行业权威刊物,中国期刊方阵中双效期刊。已被列为全国中文核心期刊、中国科技论文统计用期刊、美国“CA 千种表”中我国化学化工类核心期刊、中国学术期刊(光盘版)和中国期刊网全文数据库及美国工程信息公司 Ei Page One 数据库收录期刊。

为扩大期刊信息量,缩短发稿周期,以适应科技发展的需要,应广大读者、作者的要求,从 2005 年起,本刊内页增至 80 页。

本刊为月刊,大 16 开本,每月 18 日出版,由邮局征订向国内外公开发行,邮发代号:4-182,每册定价:8.00 元,全年 12 期共 96.00 元。

欲订阅本刊的单位与个人,请尽快到当地邮政局(所)办理订阅手续,切勿贻误。

本刊地址:上海市邯郸路 99 号,邮编:200437,电话:021 - 65556775 - 263, 021 - 55882970,传真:021 - 65544911,

E-mail:ptca - ca @mat - test.com 或 mppnc @81890.net,网址:www.mat - test.com。