

# 2 种海藻中半挥发性物质的成分分析

王秀娟, 徐继林, 严小军

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 选择孔石莼(*Uva pertusa*)和蜈蚣藻(*Grateloupia filicina*)两种海藻在挥发油测定器中用乙酸乙酯通过循环蒸馏萃取, 浓缩后用电子轰击(electron impact, EI)源在全扫描检测模式下进行检测。各分离组分采用美国国家标准局 NIST147 及 WILEY7 谱库检索定性, 采用色谱峰面积归一法进行相对定量。从两种海藻中共鉴定出 61 种半挥发性化合物, 以醛类物质种类最多, 半挥发性组分主要是醛类、脂肪酸类和醇类物质。两种海藻中含量最高的均是棕榈酸和十五醛。烘干对鉴定出的半挥发性物质种类没有影响, 但对同一类物质, 保留时间短的组分烘干后质量分数有增加的趋势, 而保留时间长的组分质量分数有减少的趋势。该方法是一种灵敏、准确的分析方法, 可以为海洋微藻中半挥发性成分的研究提供科学依据。

**关键词:** 海藻; 半挥发性物质; 气相色谱质谱联用

中图分类号: Q58

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)01-0025-04

海藻是生活在海洋里没有根、茎、叶之分的低等植物, 利用阳光、海水中的二氧化碳、营养盐生产有机物, 可食用海藻是处于无公害食品—绿色食品—有机食品之顶的纯天然食品。现代医学研究表明<sup>[1]</sup>, 多种海藻具有抗心血管病、抗病毒、提高免疫力、延缓衰老的保健功效; 它的提取物对病毒病、伤风感冒、肿瘤、支气管病、心血管病及放射性锶病等都有一定的抑制或防治作用; 所含的烯酸类物质具有抗菌、抗病毒的功效; 海藻中许多半挥发性成分, 具有清热解毒、软坚散结、消肿利水和祛痰之功效。研究海藻的半挥发性成分, 对研究天然产物化学多样性、进一步开发海藻天然产品和寻找新的药用成分或先导化合物, 具有重要意义。作者对两种海藻中半挥发性成分进行了分析, 为这类海藻产品的进一步开发研究提供了依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 半挥发性成分的提取

孔石莼(*Uva pertusa*)和蜈蚣藻(*Grateloupia filicina*)于2006年3月采自浙江省象山县。挥发油测定器的蒸馏烧瓶中, 加入300 mL 蒸馏水和15 g 左右新鲜样品或者5 g 左右干品(烘干过的海藻先浸泡2 h), 加入沸石和1.2 mL 浓硫酸, 挥发油测定器的收集器部分预先加入20 mL 色谱纯乙酸乙酯, 在电热煲上回流蒸馏3 h, 取乙酸乙酯相过无水硫酸钠柱去水, 真空浓缩到小于0.5 mL, 再用乙酸乙酯定容到1.00 mL, 进行GC/MS分析。

### 1.2 GC-MS 分析条件

仪器: QP2010 气相色谱-质谱分析仪, 带AOC-20自动进样器(日本SHIMADZU公司), 30 m×0.25 mm×0.25 μm SPB-50 色谱柱(美国SPELCO公司)。

GC 条件: 进样口温度250℃, 载气为99.999%的高纯氮, 总流速53.5 mL/min, 柱流速1.00 mL/min, 柱前压60.5 kPa, 柱起始温度70℃, 保持4 min, 以12℃/min 升至300℃, 保持20 min。分流进样1 μL, 分流比为50:1。

MS 条件: 用电子轰击(electron impact, EI)源分析, 电子能量为70 eV, 离子源温度200℃, 接口温度300℃, 选取全程离子碎片扫描(SCAN)模式, 质量扫描范围(质核比)为40~500, 溶剂延迟3.5 min。

### 1.3 数据处理及质谱检索

样品经GC-MS分析, 各分离组分采用美国国家标准局NIST147及WILEY7谱库检索定性, 采用色谱峰面积归一法进行相对定量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 海藻中半挥发性物质的鉴定

通过计算机质谱库检索并与标准图谱对照, 从两

收稿日期: 2009-05-12; 修回日期: 2009-08-10

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(Y506131); 教育部长江学者与创新团队项目(IRT0734)

作者简介: 王秀娟(1984-), 女, 山东临沂人, 硕士研究生, 研究方向: 海藻化学; 严小军, 通信作者, 电话: 0574-87600458; E-mail: xiaojunyan@hotmail.com

种海藻中共鉴定出 61 种半挥发性化合物(表 1)。比较两种藻的半挥发性物质组成, 虽然从孔石莼中检出了 58 种化合物, 而从蜈蚣藻中只检出 47 种, 但在两种藻中, 不同类型化合物所占的比例类似, 主要组分也很接近。两种海藻中, 含量最高的组分都是棕榈酸(新鲜藻中分别占到 37.21%和 29.92%), 其次都是十五醛(分别占 19.51%和 17.24%)。两种海藻中, 醛类物质种类最多, 从两种海藻中共鉴定出 21

表 1 孔石莼和蜈蚣藻中半挥发性物质的鉴定

Tab. 1 The identification of SVOCs in *Uva pertusa* and *Grateloupia filicina*

| 序号 | $t_R$ (min) | 分子式                                            | 化合物名称                      | 质量分数(%)     |             |             | 相似度(%) |
|----|-------------|------------------------------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|--------|
|    |             |                                                |                            | 孔石莼<br>(鲜品) | 蜈蚣藻<br>(鲜品) | 蜈蚣藻<br>(干品) |        |
| 1  | 4.98        | C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> O <sub>2</sub>   | 糠醛                         | 3.80        | 1.79        | 10.96       | 99     |
| 2  | 5.83        | C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   | 5-甲基-2(3H)-呋喃酮             | -           | 1.26        | 5.23        | 97     |
| 3  | 6.30        | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O               | 2-正戊基呋喃                    | 0.48        | 0.27        | 0.59        | 96     |
| 4  | 6.92        | C <sub>9</sub> H <sub>12</sub> O               | 反-2-(2-戊基)呋喃               | 0.40        | 0.09        | 0.27        | 91     |
| 5  | 7.40        | C <sub>6</sub> H <sub>6</sub> O <sub>2</sub>   | 5-甲基呋喃醛                    | -           | 0.09        | 1.17        | 97     |
| 6  | 7.76        | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> S <sub>3</sub>   | 二甲基三硫                      | 0.12        | 0.03        | 0.30        | 73     |
| 7  | 7.92        | C <sub>7</sub> H <sub>10</sub> O               | 3-乙基-2-环戊烯-1-酮             | 2.40        | 0.09        | 0.37        | 84     |
| 8  | 8.24        | C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O               | 2-辛烯醛                      | 0.20        | 0.15        | 0.27        | 94     |
| 9  | 8.658       | C <sub>9</sub> H <sub>18</sub> O               | 壬醛                         | 0.26        | -           | -           | 91     |
| 10 | 8.746       | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O               | 4-壬烯醛                      | 0.48        | -           | -           | 91     |
| 11 | 9.40        | C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O                | 苯乙醛                        | 0.11        | 0.08        | 0.14        | 86     |
| 12 | 9.53        | C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O               | 2,6-二甲基环己醇                 | 0.44        | 0.11        | 0.29        | 84     |
| 13 | 9.76        | C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O               | 2-壬烯醛                      | 1.02        | 0.19        | 0.29        | 94     |
| 14 | 10.01       | C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> O               | 反,顺-2,6-壬二烯醛               | 0.19        | 0.08        | 0.17        | 94     |
| 15 | 10.14       | C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O              | 癸醛                         | 0.09        | -           | -           | 94     |
| 16 | 10.96       | C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O              | 2-(2-乙烯基-2-甲基环丙烷)-呋喃       | 0.36        | -           | -           | 86     |
| 17 | 11.16       | C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O              | 藏花醛                        | 0.24        | 0.27        | 0.41        | 89     |
| 18 | 11.91       | C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O               | 3-辛酮                       | 0.26        | 0.46        | 0.19        | 86     |
| 19 | 12.10       | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O              | 2,4-癸二烯醛                   | 0.36        | 0.40        | 0.40        | 92     |
| 20 | 12.13       | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>                | 1-亚丁烯基环己烷                  | 0.39        | 0.13        | 0.11        | 84     |
| 21 | 12.32       | C <sub>14</sub> H <sub>30</sub>                | 十四烷                        | 0.35        | 0.27        | 0.17        | 88     |
| 22 | 12.59       | C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O              | 十二醛                        | 0.08        | 0.24        | 0.14        | 94     |
| 23 | 12.82       | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> | 二氧柠檬烯                      | 0.27        | -           | -           | 82     |
| 24 | 12.90       | C <sub>13</sub> H <sub>16</sub>                | 1,5,8-三甲基-1,2-二氢萘          | 0.20        | 0.04        | 0.29        | 91     |
| 25 | 13.01       | C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>  | 4-乙氧基苯甲醛                   | 0.30        | -           | -           | 83     |
| 26 | 13.52       | C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O              | $\alpha$ -紫罗兰酮             | 0.24        | 0.44        | 0.74        | 95     |
| 27 | 13.66       | C <sub>13</sub> H <sub>26</sub> O              | 十三醛                        | 0.64        | 2.89        | 1.91        | 96     |
| 28 | 13.70       | C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> O              | 1-甲基-2-乙酰基-3-(1-甲基乙烯基)-环戊烷 | 0.12        | -           | -           | 83     |
| 29 | 13.77       | C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O               | 2,7-辛二烯-1-醇                | 0.16        | 0.15        | 0.41        | 84     |
| 30 | 13.87       | C <sub>13</sub> H <sub>18</sub> O              | 2,3-脱氢- $\alpha$ -紫罗兰酮     | 0.46        | 0.34        | 1.26        | 80     |
| 31 | 14.33       | C <sub>13</sub> H <sub>20</sub> O              | $\beta$ -紫罗兰酮              | 0.52        | 0.20        | 0.59        | 96     |
| 32 | 14.37       | C <sub>17</sub> H <sub>36</sub>                | 十七烷                        | 0.16        | 0.54        | 1.03        | 95     |

种醛类物质,但其含量占总半挥发性物质的 1/3 以上(新鲜孔石莼和新鲜蜈蚣藻中分别占总量的 36.74%和 32.53%);虽然脂肪酸仅检出 C14:0、C14:0(n-5)及 C16:0 三种,但其含量也占到总量的 1/3 以上(新鲜藻分别占总量的 38.30%和 37.52%);除上述两类化合物外,醇类物质检出 8 种,新鲜藻含量分别占总量的 12.67%和 19.40%;另外,还检出了 9 种酮类物质、11 种烃类物质及 9 种其他物质,但它们总体含量都很低。

表 1 续

| 序号 | $t_R$ (min) | 分子式                                             | 化合物名称                      | 质量分数(%)     |             |             | 相似度(%) |
|----|-------------|-------------------------------------------------|----------------------------|-------------|-------------|-------------|--------|
|    |             |                                                 |                            | 孔石纯<br>(鲜品) | 蜈蚣藻<br>(鲜品) | 蜈蚣藻<br>(干品) |        |
| 33 | 14.45       | C <sub>17</sub> H <sub>34</sub>                 | 3-十七烯                      | 1.72        | -           | -           | 96     |
| 34 | 14.57       | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub>                 | 8-甲基-六氢萘                   | 0.51        | -           | -           | 86     |
| 35 | 14.66       | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O               | 十四醛                        | 1.68        | 2.39        | 1.11        | 97     |
| 36 | 15.11       | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>  | 9-甲基-顺-1, 8-二酮萘            | 0.19        | 0.44        | 1.40        | 81     |
| 37 | 15.61       | C <sub>15</sub> H <sub>30</sub> O               | 十五醛                        | 17.24       | 19.51       | 11.67       | 96     |
| 38 | 15.71       | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O               | 7-十四烯醛                     | 0.87        | 1.06        | 1.01        | 96     |
| 39 | 15.78       | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O               | 3, 11-十四碳-二烯醇              | 0.17        | -           | -           | 91     |
| 40 | 15.96       | C <sub>14</sub> H <sub>24</sub> O               | 13-烯-11-炔-十四碳-1-醇          | 0.15        | 0.19        | 0.26        | 88     |
| 41 | 16.02       | C <sub>11</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>  | 二氢猕猴桃内酯                    | 0.17        | 0.20        | 0.34        | 90     |
| 42 | 16.22       | C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>  | 十四酸                        | 0.77        | 6.75        | 13.37       | 97     |
| 43 | 16.33       | C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>  | 9-十四烯酸                     | 0.32        | 0.86        | 1.90        | 92     |
| 44 | 16.50       | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O               | 棕榈醛                        | 0.15        | -           | -           | 95     |
| 45 | 16.58       | C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O               | 环十五烷酮                      | 0.51        | 0.59        | 0.73        | 80     |
| 46 | 16.76       | C <sub>14</sub> H <sub>22</sub>                 | 12-甲基-1, 5, 9, 11-十三烯      | 0.28        | 0.54        | 0.97        | 84     |
| 47 | 17.14       | C <sub>6</sub> H <sub>3</sub> Br <sub>3</sub> O | 2, 4, 6-三溴苯酚               | 0.30        | 0.13        | 0.29        | 91     |
| 48 | 17.21       | C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O               | 3, 5, 11, 15-四甲基-1-十六烯-3-醇 | 0.71        | 1.08        | 1.40        | 97     |
| 49 | 17.43       | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O               | 7-十六烯醛                     | 3.86        | 1.49        | 0.64        | 92     |
| 50 | 17.59       | C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> O               | 7, 10-十六二烯醛                | 5.05        | 1.89        | 0.84        | 95     |
| 51 | 17.67       | C <sub>16</sub> H <sub>26</sub> O               | 7, 10, 13-十六三烯醛            | 0.12        | -           | -           | 95     |
| 52 | 17.84       | C <sub>16</sub> H <sub>28</sub> O               | 7, 10, 13-十六碳三烯-1-醇        | 10.08       | 0.69        | 1.67        | 91     |
| 53 | 17.95       | C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>  | 棕榈酸                        | 37.21       | 29.92       | 28.34       | 93     |
| 54 | 18.48       | C <sub>16</sub> H <sub>22</sub> O <sub>4</sub>  | 邻苯二甲酸二异丁酯                  | 1.32        | 3.49        | 1.31        | 96     |
| 55 | 19.33       | C <sub>25</sub> H <sub>52</sub>                 | 9-辛基十七烷                    | 0.12        | 0.38        | 0.16        | 82     |
| 56 | 19.97       | C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>  | 5-十二烷基-二氢-2(3H)-呋喃酮        | 0.15        | -           | -           | 91     |
| 57 | 20.03       | C <sub>23</sub> H <sub>48</sub>                 | 二十三烷                       | 0.00        | 0.32        | 0.20        | 91     |
| 58 | 20.63       | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O               | 1-十八醇                      | 0.28        | 7.30        | 2.23        | 92     |
| 59 | 20.73       | C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O               | 9-十八烯-1-醇                  | 0.67        | 9.89        | 2.64        | 90     |
| 60 | 22.00       | C <sub>29</sub> H <sub>60</sub>                 | 二十九烷                       | -           | 0.31        | 0.10        | 88     |
| 61 | 24.71       | C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>                 | 反-鲨烯                       | 0.13        | -           | -           | 93     |

## 2.2 实验条件的选择

半挥发性物质的测定以前大多采用水蒸气蒸馏法<sup>[2, 3]</sup>收集馏液, 再通过液液萃取后进行 GC 分析。但采用此方法时, 方法回收率较低(均低于 70%), 从海藻中检出的挥发性物质较少(大多低于 30 种)而要将蒸馏出的半挥发性物质萃取完全, 需萃取剂量太大(超过 1 L), 稳定性也太差; Whitfield 等<sup>[4]</sup>采用了一种水蒸气蒸馏-溶剂萃取联合装置(combined steam distillation - solvent extraction, SDE), 可以使蒸馏和萃取两个过程循环进行; 作者采用普通的挥发油测定器, 在收集器部分预先加入 20 mL 乙酸乙酯, 蒸馏过程中冷凝液可以通过乙酸乙酯相再回流到蒸馏瓶中, 同样可以实行蒸馏和萃取的循环。

结果表明, 方法的回收率较高(大于 85%), 而且大多海藻可检出的挥发性组分都在 50 种以上。

由于海藻在蒸馏过程中产生的大量泡沫可能会溢到收集器中, 故在蒸馏瓶中需加入一定量的消泡剂。比较了甲基硅油、氢氧化钠和硫酸的消泡效果, 虽然甲基硅油最好, 但由于该成分会一同进入有机相影响测定结果, 最后选择硫酸作为消泡剂, 效果良好。

## 2.3 烘干过程对海藻半挥发性组成的影响

实际生产中海藻均是干燥保存, 将 40 °C 下烘干的蜈蚣藻与新鲜样品进行了比较(表 1), 可以发现, 两种条件下的蜈蚣藻样中可鉴定出的半挥发性化合物的种类完全一致, 不同的只是组成质量分数的变化。除 3-辛酮外, 其他所有酮类在烘干过程中质量

分数均有增加的趋势,从而使总酮类物质质量分数从新鲜样品中的 3.83%增加到干样品中的 10.50%。其他物质,大多具有同样的变化规律:即同一类物质,保留时间较短的质量分数增加,而保留时间较长的物质质量分数减少。例如种类最多的醛类物质,保留时间小于 11.16 min 的醛质量分数均明显增加,而保留时间大于 12.10 min 的醛质量分数均明显减少;7 种醇类物质,保留时间大于 20 min 的 2 种醇质量分数大幅度减少,而其他 5 种醇质量分数均有不同程度的增加;3 种酸中,保留时间 17.95 min 的棕榈酸含量减少,而保留时间在 16 min 左右的两种酸则含量增加;即使不属于同一类的物质,也是大多遵循保留时间短的物质含量增加保留时间长的含量减少的原则。所以在海藻的实际应用中一定要注意这个原则。

## 参考文献:

- [1] 黄知清, 严兴洪. 海藻研究开发的发展概述 [J]. 海洋技术, 2002, 3: 22-25.
- [2] Negueruela A V, Alonso M J P, Paz P L P, *et al.* Analysis by gas chromatography-mass spectrometry of the essential oil from the aerial parts of *Pimpinella junoniae* Ceb. & Ort., gathered in La Gomera, Canary Islands, Spain [J]. *J Chromatog A*, 2003, 1011: 241-244.
- [3] Loziene K, Vaiciuniene J, Venskutonis P R. Chemical composition of the essential oil of different varieties of thyme (*Thymus pulegioides*) growing wild in Lithuania [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2003, 31: 249-259.
- [4] Whitfield F B, Helidoniotis E, Shaw K J, *et al.* Distribution of bromophenols in Australian wild-harvested and cultivated prawns [J]. *J Agric Food Chem*, 1997, 45: 4398-4405.

## Analysis of the semivolatile organic compounds of two seaweeds

WANG Xiu-juan, XU Ji-lin, YAN Xiao-jun

(Key Laborator of Marine Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: May, 12, 2009

**Key words:** seaweed; semivolatile organic compounds; GC/MS

**Abstract:** The SVOCs in *Uva pertusa* and *Grateloupia filicina* can be extracted by essential oil analyzer effectively, and determined using EI-SCAN-MS after concentration based on mass spectra and similarity retrieval from the two mass spectral databases (NIST98 ~ 147 and Wiley7 Mass Spectral Library). Sixty-one SVOCs were identified and their relative contents were determined. It was found that the main SVOCs in the two seaweeds were aldehydes, fatty acids and alcohols. The high concentrations of SVOCs in these seaweeds were palmitic acid and pentadecanal. After being dried, the kinds of SVOCs were unchangeable and the SVOCs percentages with short retention time increased and those with long retention time decreased. A sensitive method for the determination of SOVCs in seaweeds was established and may provide a scientific basis for the study of SVOCs in seaweeds.

(本文编辑: 张培新)