

# 黑海参脂肪酸的气相色谱/质谱法分析

楼乔明<sup>1</sup>, 王玉明<sup>1</sup>, 薛长湖<sup>1</sup>, 徐杰<sup>1</sup>, 杨文鸽<sup>2</sup>, 李国云<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学 食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003; 2. 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:** 黑海参(*Holothuria atra*)体壁经 Folch 法提取总脂, 用 HCl-甲醇进行甲酯化处理, 以气相色谱/质谱法分析总脂中的脂肪酸组成。从黑海参中共分析出 28 种化合物, 包括 25 种脂肪酸甲酯和 3 种脂肪醛二甲基缩醛。黑海参体壁中的饱和脂肪酸含量为 22.93%, 以 C<sub>16:0</sub>(5.49%)和 C<sub>18:0</sub>(4.38%)为主; 不饱和脂肪酸含量为 65.19%, 其中单不饱和脂肪酸 33.86%, 主要为 C<sub>20:1(n-9)</sub>(15.90%); 多不饱和脂肪酸为 31.33%, 主要为 C<sub>20:4(n-6)</sub>(19.57%)和 C<sub>20:5(n-3)</sub>(5.86%)。脂肪醛二甲基缩醛含量为 7.28%, 表明黑海参体壁总脂中含有较丰富的缩醛型甘油酯。

**关键词:** 黑海参(*Holothuria atra*); 脂肪酸; 气相色谱/质谱法

中图分类号: TS254.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2011)06-0035-04

海参(Holothurian, sea cucumber)归属无脊椎动物棘皮动物门(Echinodermata), 是海参纲(Holothuroidea)动物的泛称, 是海洋中重要的食物和药物资源<sup>[1-2]</sup>。近几年研究表明: 海参可用于治疗或辅助治疗某些疾病, 如对肺结核、神经衰弱、阳痿、胃及十二指肠溃疡、糖尿病和再生障碍性贫血的治疗效果较为明显<sup>[3-5]</sup>。

黑海参(*Holothuria atra*)又名黑怪参、黑狗参, 主要分布于印度-西太平洋海域、中国的台湾岛以及海南岛、西沙群岛等地; 其产量大, 售价低, 具有很大的经济价值。然而, 目前对黑海参的化学成分研究报道很少, 黑海参中脂肪酸的分析尚未见报道。本研究采用气相色谱/质谱法对黑狗参中的脂肪酸进行测定分析, 旨在黑海参相关功能食品的开发提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

6890N 型气相色谱仪、5973 型质谱仪: 美国 Agilent 公司; Laborota 4000 efficient 旋转蒸发器: 德国海道尔夫公司; AB135-S 型精密电子分析天平, 瑞士梅特勒-托利多公司; Milli-Q Synthesis 超纯水系统: 美国 Millipore 公司。

脂肪酸甲酯标准品购于 Sigma 公司; 甲醇、三氯甲烷、正己烷等购于由天津市科密欧化学试剂有限公司提供。

## 1.2 实验方法

### 1.2.1 总脂提取

黑海参体壁经冷冻干燥后, 将样品粉碎, 取 10 g, 用氯仿-甲醇(2:1, V:V)混合液 200 mL 超声 30 min, 然后浸提 24 h。过滤后, 浸提液用 70 mL 的 0.9%氯化钠溶液洗涤, 倒入分液漏斗中静置分层。收集氯仿层, 用无水硫酸钠干燥后, 蒸发浓缩, 得黑海参总脂。

### 1.2.2 样品的甲酯化

取黑海参总脂 5~10 mg, 加入 1 mL 2mol/L HCl-甲醇溶液, 于 60℃水浴中甲酯化 15 min, 冷却后加入正己烷和饱和氯化钠溶液各 1 mL 振荡, 静置分层。取上清液供 GC/MS 分析。

## 1.3 分析条件

### 1.3.1 色谱条件

HP-INNOWax 石英毛细管柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm), 高纯氦气为载气, 采用恒压模式, 压力为 54 kPa, 分流比为 25:1。进样口温度为 230℃, 检测器温度为 250℃, 柱温以 3℃/min 由 170℃升到 210℃, 然后在 210℃下保持 20 min, 整个分析过程为

收稿日期: 2010-06-10; 修回日期: 2010-07-20

基金项目: 国家科技支撑计划项目资助(2008BAD94B05)

作者简介: 楼乔明(1981-), 男, 浙江宁波人, 博士研究生, 主要从事海洋生物活性物质研究, E-mail: louqm2005@163.com; 薛长湖, 通信作者, 电话: 0532-82032468, E-mail: xuech@ouc.edu.cn

33 min.

### 1.3.2 质谱条件

GC/MS 接口温度 280℃, EI 离子源, 电离能量 70 eV, 离子源温度 230℃, 扫描周期 2.84 次/s, 质量扫描范围  $m/z$  50 ~ 500  $u_0$ .

## 2 结果与讨论

黑海参体壁脂肪酸成分的 GC/MS 总离子流色谱图见图 1。黑海参体壁脂肪酸通过标准品对照, 质谱数据库检索和特征离子进行定性分析, 同时, 按峰面积归一法进行定量, 分析鉴定结果和百分含量见表 1。

从黑海参体壁脂肪酸的气相色谱/质谱图中共鉴定出 28 个化合物, 其中脂肪酸甲酯 25 种, 脂肪醛二甲基缩醛 3 种。黑海参体壁脂肪酸组分中不饱和脂肪酸占 65.19%, 其中多不饱和脂肪酸为 31.33%, 略低于单不饱和脂肪酸(33.86%), 但明显高于饱和脂肪酸(22.93%)。饱和脂肪酸主要为  $C_{16:0}$ (5.49%) 和  $C_{18:0}$ (4.38%), 同时饱和脂肪酸还含有丰富的奇数碳链脂肪酸(5.87%), 如  $C_{15:0}$ 、 $C_{17:0}$ 、 $C_{19:0}$ 、 $C_{21:0}$  和  $C_{23:0}$ 。单不饱和脂肪酸主要为  $C_{20:1(n-9)}$ (15.90%)、 $C_{24:1(n-9)}$ (3.92%) 和  $C_{23:1(n-9)}$ (3.83%); 其中  $C_{24:1(n-9)}$  又名神经酸, 是一种高生理活性的单烯脂肪酸, 具有促进神经细胞生长发育的作用, 其在黑海参中的相对含量远高于鳕鱼等海洋鱼类<sup>[6]</sup>; 而  $C_{23:1(n-9)}$  是  $C_{24:1(n-9)}$  的  $\alpha$  氧化降解产物, 为海参特有脂肪酸, 是区别于其他棘皮

动物和海产动物的一种标志性脂肪酸<sup>[1,7]</sup>。多不饱和脂肪酸主要为  $C_{20:4(n-6)}$ (19.57%) 和  $C_{20:5(n-3)}$ (5.86%), 但  $C_{22:6(n-3)}$  含量较低(0.68%)。而一般鱼贝类的主要多不饱和脂肪酸为  $C_{22:6(n-3)}$  和  $C_{20:5(n-3)}$ ,  $C_{20:4(n-6)}$  含量相对较低<sup>[8-9]</sup>。海参等棘皮动物的  $C_{20:4(n-6)}$  和  $C_{20:5(n-3)}$  含量相对较高,  $C_{22:6(n-3)}$  较低, 且富集  $C_{20:4(n-6)}$  的能力被认为是棘皮动物的一个重要特征<sup>[3,10]</sup>。同时温带海参如日本刺参(*Apostichopus japonicus*)<sup>[3]</sup> 和极地海参如冰岛刺参(*Cucumaria frondosa*)<sup>[11]</sup>, 其脂肪酸中  $C_{20:5(n-3)}$  的含量高于  $C_{20:4(n-6)}$ , 而作为热带海参的黑海参其脂肪酸中  $C_{20:4(n-6)}$  的含量远高于  $C_{20:5(n-3)}$ , 这是温带海参与热带海参的一个重要差异, 可能与它们的饵料来源有关<sup>[1,3]</sup>。 $C_{20:4(n-6)}$  具有改善记忆力和视力、调节血脂和血糖、降低血清胆固醇、预防心血管疾病、辅助抑制肿瘤、预防癌变、神经功能调节等作用<sup>[12]</sup>; 黑海参含有较高的  $C_{20:4(n-6)}$ , 因此其可以成为  $C_{20:4(n-6)}$  的重要膳食来源。

从黑海参体壁中鉴定出 3 种脂肪醛二甲基缩醛, 占总含量的 7.28%, 主要为  $C_{18:0}$  DMA (4.19%) 和  $C_{19:0}$  DMA (2.18%); 脂肪醛二甲基缩醛主要为缩醛磷脂上的烯醚键在酸性条件下断裂后的甲酯化产物, 黑海参体壁中脂肪醛二甲基缩醛的含量为 7.28%, 表明黑海参体壁总脂中含有相对较丰富的缩醛磷脂。

综合黑海参体壁脂肪酸分析表明, 黑海参可成为一种很好的功能食品, 其可作为  $C_{20:4(n-6)}$  等功能性脂肪酸和缩醛磷脂的重要膳食来源。

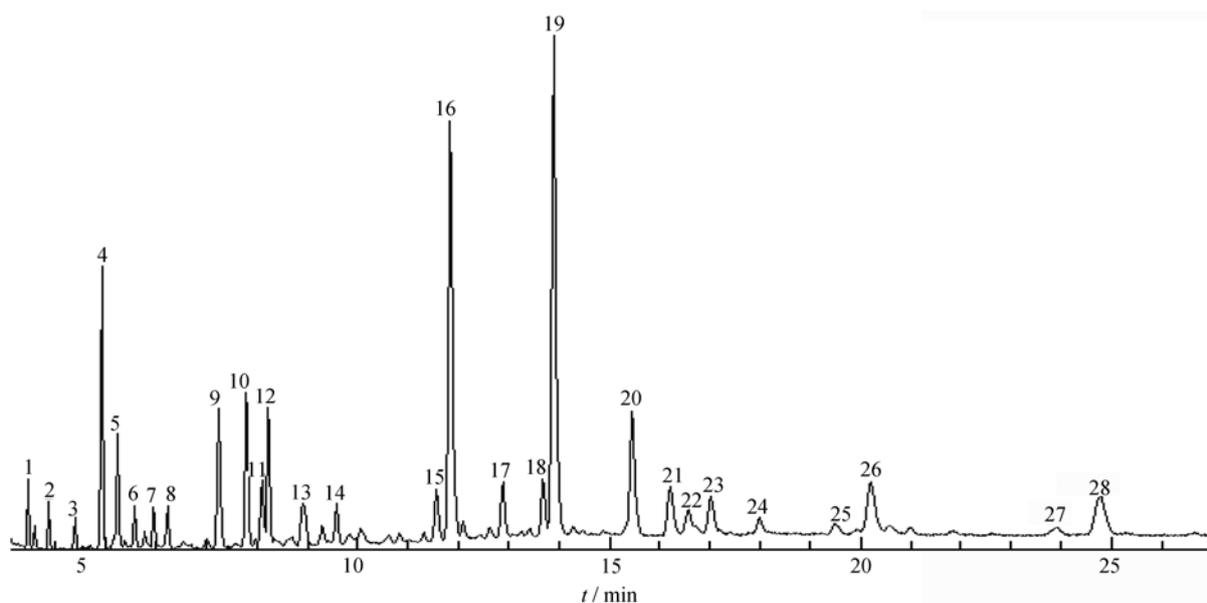


图 1 黑海参体壁脂肪酸成分的 GC/MS 总离子流色谱图

Fig. 1 GC/MS total ion chromatogram of fatty acids in the *Holothuria atra* body wall

表 1 黑海参体壁脂肪酸成分的 GC/MS 鉴定结果及其含量

Tab. 1 Fatty acids in the *Holothuria atra*'s body wall by characterized by GC-MS

序号	保留时间(min)	化合物	特征离子	相对含量(%)
1	3.45	十四碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 199, 211, 242 <sup>d</sup>	1.03
2	3.86	十五碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 213, 225, 256 <sup>d</sup>	0.74
3	4.39	14-甲基-十五碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 227, 239, 270 <sup>d</sup>	0.60
4	4.92	十六碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 227, 239, 270 <sup>d</sup>	5.49
5	5.23	9-十六碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 194, 236, 268 <sup>d</sup>	2.55
6	5.57	14-甲基-十六碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 241, 253, 284 <sup>d</sup>	0.86
7	5.95	十七碳醛二甲基缩醛	75 <sup>a</sup> , 269	0.91
8	6.22	十七碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 241, 253, 284 <sup>d</sup>	1.00
9	7.24	十八碳醛二甲基缩醛	75 <sup>a</sup> , 283	4.19
10	7.80	十八碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 255, 267, 298 <sup>d</sup>	4.38
11	8.10	9-十八碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 222, 264, 296 <sup>d</sup>	2.00
12	8.23	11-十八碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 222, 264, 296 <sup>d</sup>	3.77
13	8.94	十九碳醛二甲基缩醛	75 <sup>a</sup> , 297	2.18
14	9.59	十九碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 269, 281, 312 <sup>d</sup>	1.21
15	11.57	二十碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 283, 295, 326 <sup>d</sup>	1.97
16	11.85	11-二十碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 250, 292, 324 <sup>d</sup>	15.90
17	12.89	8,11-二十碳二烯酸甲酯	67 <sup>a</sup> , 248, 291, 322 <sup>d</sup>	2.09
18	13.69	二十一碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 297, 309, 340 <sup>d</sup>	2.21
19	13.90	5,8,11,14-二十碳四烯酸甲酯	79 <sup>a</sup> , 91, 150 <sup>b</sup> , 180 <sup>c</sup> , 289, 318 <sup>d</sup>	19.57
20	15.47	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸甲酯	79 <sup>a</sup> , 91, 108 <sup>b</sup> , 180 <sup>c</sup> , 287, 316 <sup>d</sup>	5.86
21	16.22	二十二碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 311, 323, 354 <sup>d</sup>	2.73
22	16.58	13-二十二碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 278, 320, 352 <sup>d</sup>	1.89
23	17.03	7,13-二十二碳二烯酸甲酯	67 <sup>a</sup> , 276, 319, 350 <sup>d</sup>	2.27
24	17.99	7,10,13-二十二碳三烯酸甲酯	79 <sup>a</sup> , 192 <sup>b</sup> , 208 <sup>c</sup> , 317, 348 <sup>d</sup>	0.86
25	19.51	二十三碳酸甲酯	74 <sup>a</sup> , 325, 337, 368 <sup>d</sup>	0.71
26	20.21	14-二十三碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 292, 334, 366 <sup>d</sup>	3.83
27	23.87	4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸甲酯	79 <sup>a</sup> , 91, 108 <sup>b</sup> , 166 <sup>c</sup> , 313, 342 <sup>d</sup>	0.68
28	24.78	15-二十四碳烯酸甲酯	55 <sup>a</sup> , 306, 348, 380 <sup>d</sup>	3.92

a.基峰离子; b.ω离子; c.α 离子; d.分子离子

参考文献:

- [1] 樊绘曾. 海参: 海中人参——关于海参及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001, 4: 37-44.
- [2] McElroy S. Beche-de-mer species of commercial value, an update [J]. SPC Beche-de-mer Information Bulletin, 1990, 2: 2-7.
- [3] 高菲, 杨红生, 许强. 刺参体壁脂肪酸组成的季节变化分析[J]. 海洋科学, 2009, 33(4): 14-20.
- [4] 李丹彤, 宋亮, 钟莉, 等. 刺参凝集素的分离纯化及其性质[J]. 水产学报, 2005, 29(5): 654-658.
- [5] 苏秀榕, 娄永江, 常亚青, 等. 海参的营养成分及海参多糖的抗肿瘤活性的研究[J]. 营养学报, 2003, 25(2): 181-182.
- [6] 冯大伟, 李八方, 赵雪, 等. 鲤鱼、鲑鱼和鳕鱼皮中脂肪酸的气相色谱-质谱(GC/MS)分析与比较[J]. 水利渔业, 2006, 26(5): 21-23.
- [7] Kaneniwa M, Itabashi Y, Endo S, et al. Fatty acids in Holothuroidea: occurrence of cis-14-tricosenoic acid [J]. Comparative Biochemistry Physiology B, 1986, 84(4): 451-455.
- [8] Ventrella V, Pirini M, Pagliarani A, et al. Effect of temporal and geographical factors on fatty acid composition of *M. galloprovincialis* from the Adriatic sea [J]. Comparative Biochemistry and Physiology B, 2008, 149(2): 241-250.

- [9] 薄海波, 王霞, 翟宗德, 等. 碱催化法衍生气相色谱/质谱法分析青海湖裸鲤鱼油中的脂肪酸[J]. 色谱, 2006, 24(2): 181-184.
- [10] Howell K L, Pond D W, Billett D S M, et al. Feeding ecology of deep-sea seastars (Echinodermata: Asteroidea): a fatty-acid biomarker approach. Marine Ecology Progress Series [J]. Marine Ecology Progress Series, 2003, 255: 193-206.
- [11] Zhong Y, Khan M A, Shahidi F. Compositional characteristics and antioxidant properties of fresh and processed sea cucumber (*Cucumaria frondosa*) [J]. Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 1188-1192.
- [12] 詹现璞, 吕银德, 赵俊芳. 花生四烯酸在乳制品中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2009, 4: 155-159.

## Analysis of fatty acid composition of *Holothuria atra* by gas chromatography/mass spectrometry

LOU Qiao-ming<sup>1</sup>, WANG Yu-ming<sup>1</sup>, XUE Chang-hu<sup>1</sup>, XU Jie<sup>1</sup>, YANG Wen-ge<sup>2</sup>, LI Guo-yun<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Jun., 10, 2010

**Key words:** *Holothuria atra*; fatty acids; gas chromatography/mass spectrometry

**Abstract:** The total lipids of *Holothuria atra* body wall was extracted according to the Folch method and esterified by HCl-CH<sub>3</sub>OH solvent. The derivatives were analyzed by gas chromatography/mass spectrometry. Twenty-eight compounds were identified, including twenty-five fatty acid methyl esters and three fatty aldehyde dimethyl acetals. Saturated fatty acids were 22.93%, and the main components were C<sub>16:0</sub> (5.49%) and C<sub>18:0</sub> (4.38%). Unsaturated fatty acids were 65.19%, and monounsaturated fatty acids and polyunsaturated fatty acids accounted for 33.86% and 31.33%, respectively. The major component of monounsaturated fatty acids was C<sub>20:1(n-9)</sub> (15.90%), and polyunsaturated fatty acids were mainly composed of C<sub>20:4(n-6)</sub> (19.57%) and C<sub>20:5(n-3)</sub> (5.86%). The content of fatty aldehyde dimethyl acetals was 7.28%, and the principal components were octadecanal dimethyl acetal (4.19%), and nonadecanal dimethyl acetal (2.18%), indicating that plasmalogen was relatively rich in *Holothuria atra*'s body wall.

(本文编辑: 康亦兼)