

四角蛤蜊软体中脂肪酸成分的 GC-MS 分析

程建明^{1,2}, 嵇晶^{1,2}, 刘睿^{1,2}, 王令充^{1,2}, 吴皓^{1,2*}

(1. 南京中医药大学药学院, 南京 210046; 2. 江苏省海洋药物研究开发中心, 南京 210029)

[摘要] 目的: 分析四角蛤蜊软体中脂肪酸类成分。方法: 以 Bligh-Dyer 法萃取四角蛤蜊软体中脂肪酸, 经甲酯化后利用气相色谱-质谱联用技术对其脂肪酸组成进行了分析和鉴定。结果: 共分离鉴定出 22 种脂肪酸, 占总脂肪酸含量的 82.51%。其中饱和脂肪酸的相对含量为 24.35%, 主要为十八酸、十六烷酸; 不饱和脂肪酸的相对含量为 58.16%, 主要为 9-十六烯酸、11-二十烯酸、十四烯酸及 5,8,11,14-二十碳四烯酸。结论: 四角蛤蜊软体中含有丰富的脂肪酸类物质, 具有较好的开发价值。

[关键词] 四角蛤蜊; 脂肪酸; 气相色谱法-质谱联用

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0114-04

[doi] 10.11653/syjf2013190114

GC-MS Analysis of Fatty Acid from *Macra veneriformis*

CHEN Jian-ming^{1,2}, JI Jing^{1,2}, LIU Rui^{1,2}, WANG Ling-chong^{1,2}, WU Hao^{1,2*}

(1. College of Pharmaceutical Science, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;
2. Research Center of Marine Drug in Jiangsu Province, Nanjing 210029, China)

[收稿日期] 20120511(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30900293); 南京中医药大学青年自然科学基金项目(11XZR10); 南京中医药大学科技创新风险基金项目(CX201105)

[第一作者] 程建明, 副研究员, 中药学博士, 从事新药研发研究, Tel:025-86798011, E-mail: cjm7895@163.com

[通讯作者] * 吴皓, 博士生导师, E-mail: whao5795@vip.sina.com

[参考文献]

- [1] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准. 藏药. 第 1 册[S]. 北京: 中华人民共和国卫生部, 1995: 165.
- [2] 谭睿, 张良. 藏药二十味肉豆蔻丸中丁香酚的 HPLC 测定[J]. 中国药事, 2003, 17(4): 224.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 142.
- [4] 赵启苗, 远志, 贾天柱. HPLC 测定长形肉豆蔻及其不同炮制品挥发油中甲基丁香酚、异甲基丁香酚及黄樟醚含量[J]. 中成药, 2009, 31(5): 801.
- [5] 袁子民, 陈剑锋, 贾天柱. RP-HPLC 测定麸煨肉豆蔻中去氢二异丁香酚的含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(18): 60.
- [6] 王冬冬, 阿萍, 王曙, 等. 藏药二十五味马宝丸中药材的鉴别与丁香酚的测定[J]. 华西药学杂志, 2011, 26(1): 70.
- [7] 王旭梅, 庞玉华. 肉蔻五味丸质量标准研究[J]. 中国药事, 2008, 19(30): 2382.
- [8] 董海彦. 七味螃蟹丸质量标准研究[J]. 中成药, 2012, 34(6): 1100.
- [9] 郭亚红, 倪健, 邵爱新, 等. 痰喘消胶囊质量标准的研究[J]. 中成药, 2002, 24(2): 146.
- [10] 巢志茂, 张楠, 唐春风, 等. 36 种油性中药不皂化物的薄层色谱鉴别研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3): 226.
- [11] 袁玲艳, 赵永慧, 赵嘉琳, 等. 续断通络胶囊质量标准研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(2): 96.
- [12] 田伟刚. 肉豆蔻提取物的药理作用[J]. 中国社区医师: 医学专业, 2012, 14(16): 44.

[责任编辑 顾雪竹]

[Abstract] Objective: The purpose of this study was to analyze the fatty acid from *Mactra veneriformis*.

Method: The fatty acid in flesh was extracted by the method of Bligh-Dyer. Fatty acid was methyl esterified and then analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. **Result:** Twenty-two components were identified, representing 82.51% of the total constituents, in which the saturated fatty acid represent 24.35% and the unsaturated fatty acid represent 58.16%. The major components in saturated fatty acid were octadecanoic acid and hexadecanoic acid, the major components in unsaturated fatty acid were 9, 12-hexadecanoic acid, 11-eicosenoic acid, tetradecenoic acid and 5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic acid. **Conclusion:** *M. Veneriformis* is rich in fatty acid and can be developed in the future.

[Key words] *Mactra veneriformis*; fatty acid; GC-MS

四角蛤蜊(*Mactra veneriformis*)属于软体动物门瓣鳃纲真瓣鳃目蛤蜊科,是一种广泛分布于我国南北各海区的较大型低值经济贝类。其贝壳和软体部分在中医理论中均有记载可药用,明代李时珍《本草纲目》记载:蛤蜊肉“止消渴,开胃,治老癖,能为寒热及妇人血块”。现代研究表明四角蛤蜊具有免疫调节、辅助降低血糖、抗氧化等功效。目前已报道蛤蜊中含有多糖类、蛋白质类、氨基酸类、脂类等物质^[1-3]。海洋软体贝类中含有丰富的饱和和脂肪酸类物质,如二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)等^[4-5],这些物质具有降低血中胆固醇、促进细胞生长发育、提高学习记忆能力、预防老年痴呆等作用^[6-10]。然而对于江苏省丰富的低值贝类资源,四角蛤蜊中含有的脂肪酸类成分研究未见报道,本文采用 GC-MS 联用技术,对四角蛤蜊软体中的脂肪酸组成进行了分析并确定了各成分的相对含量,为综合开发利用四角蛤蜊资源提供科学依据。

1 材料

1.1 药材 四角蛤蜊,江苏省海洋水产研究所提供(批号 20100706),经江苏省海洋水产研究所万夕和研究员鉴定为蛤蜊科动物四角蛤蜊 *Mactra veneriformis* Reeve。

1.2 试剂 三氯甲烷(中国医药集团上海化学试剂公司,批号 20010306);色谱甲醇(国药集团化学试剂有限公司,批号 F20080215),三氟化硼乙醚(南京凯基生物科技发展有限公司,批号 0411S05);正己烷(南京化学试剂厂,批号 0628S04);其余试剂为国产分析纯。

1.3 仪器 FA1104 型电子分析天平(上海精密科学仪器有限公司),组织绞碎机(广东南海德丰电热设备厂),725BASIC 型高速匀浆机(IKA 公司),202 型电热恒温干燥箱(上海索谱仪器有限公司),HH-4 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司),R114 型

薄膜旋转蒸发器(BUCHI Rotavapor),80-2B 型台式离心机(上海安亭科学仪器厂制造),Agilent5975 型 GC-MS 气质联用仪。

2 方法

2.1 Bligh-Dyer 法萃取四角蛤蜊软体中脂肪酸^[11]

称取 8.15 g 四角蛤蜊软体的真空干燥样品,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,加入一定量的三氯甲烷和水,使提取液的最终浓度保持为甲醇-三氯甲烷-水(1:1:0.5),分离有机相,真空旋转蒸发除去有机溶剂得油状物。

2.2 脂肪酸萃取物的甲酯化^[12-14]

取适量 2.1 项下萃取获得的脂肪酸置于 10 mL 的具塞试管中,分别依次加入 10% 的 KOH-MeOH 溶液 2 mL,在 60 °C 条件下皂化 30 min,待油珠完全消失后,冷却,加入 2 mL 三氟化硼乙醚-甲醇(三氟化硼乙醚-甲醇 = 1:3)溶液并于 60 °C 水浴甲酯化 30 min,冷却后,加正己烷 4 mL,离心分层,取上清加等体积的水,洗至有机层呈中性。加无水硫酸钠静置过夜,过滤加正己烷稀释 2 倍体积,进行 GC-MS 分析。

3 GC-MS 分析

3.1 气相条件^[15-17] 色谱柱 Agilent hp-5,石英毛细管色谱柱(0.25 mm × 30 m,0.25 μm);进样口温度 200 °C,检测器温度 250 °C;程序升温(初始温度 180 °C,保持 40 min,以 5 °C·min⁻¹的速率升温至 200 °C 保持 10 min,以 2 °C·min⁻¹的速率升温至 210 °C 保持 20 min),进样量 1 μL;载气氦气,流速 1.0 mL·min⁻¹。

3.2 质谱条件 EI 离子源,电离电压 70 eV,离子源温度 220 °C,加速电压 200 eV,扫描质量 m/z 35 ~ 550。

4 结果与讨论

按照上述条件对四角蛤蜊脂肪酸进行分析,得到 GC-MS 总离子流图,见图 1。通过检索 NIST05 谱

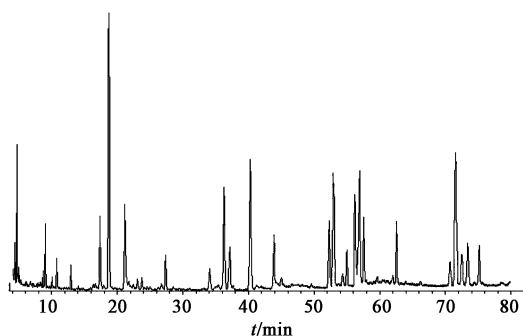


图 1 Bligh-Dyer 法萃取四角蛤蜊总提取物中
脂肪酸 GC-MS 总离子流

图库,并结合标准质谱谱图,从四角蛤蜊中确定了

22 种脂肪酸。运用峰面积归一化法,通过 G1701BA 化学工作站数据处理系统测得各化学成分的相对百分含量结果见表 1。

由结果看出,四角蛤蜊中含有饱和脂肪酸 10 种,占脂肪酸总量的 24.35%,其中以十八酸(9.66%)、十六烷酸(4.06%,3.25%)为主;含有不饱和脂肪酸 12 种,占脂肪酸总量的 58.16%,其中以 9-十六烯酸(12.15%)、11-二十烯酸(11.60%)、十四烯酸(6.55%)、5,8,11,14-二十碳四烯酸(5.18%)为主,此外还含有 EPA(4.75%)和 DHA(4.27%)两种重要的不饱和脂肪酸。

表 1 四角蛤蜊中脂肪酸成分及相对百分含量

No.	t/min	英文名	中文名	分子式	相对分子质量	相对含量 /%
1	3.91	octanedioic acid	辛二酸	C ₈ H ₁₄ O ₄	174	0.16
2	4.68	undecanoic acid	十一烷酸	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	186	1.18
3	9.02	nonanedioic acid	壬二酸	C ₉ H ₁₆ O ₄	188	0.91
4	17.37	tetradecanoic acid	十四烷酸	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	0.74
5	18.67	tetradecenoic acid	十四烯酸	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226	6.55
6	21.29	tridecanoic acid	十三烷酸	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	214	1.23
7	27.39	pentadecanoic acid	十五烷酸	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	1.32
8	34.12	9,12,15-octadecatrienoic acid	9,12,15-十八碳三烯酸	C ₁₈ H ₃₀ O ₂	278	3.48
9	36.34	9-hexadecanoic acid	9-十六烯酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	254	12.15
10	37.14	hexadecanoic acid	十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	4.06
11	40.35	n-hexadecanoic acid	正十六烷酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	3.25
12	43.91	heptadecanoic acid	十七烷酸	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	1.53
13	52.32	9,12-octadecadienoic acid	9,12-十八碳二烯酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280	2.12
14	53.09	8-octadecenoic acid	8-十八烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	3.32
15	54.41	9-octadecenoic acid	9-十八烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282	2.11
16	56.40	10-hydroxyhexadecanoic acid	10-OH-十六酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₃	272	1.22
17	56.98	octadecanoic acid	十八酸	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	9.66
18	57.62	5,8,11,14-eicosatetraenoic acid	5,8,11,14-二十碳四烯酸	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304	5.18
19	62.63	5,8,11,14,17-eicosatetraenoic acid	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸(EPA)	C ₂₀ H ₃₀ O ₂	302	4.75
20	71.65	10,13-eicosadienoic acid,	10,13-二十碳二烯酸	C ₂₀ H ₃₆ O ₂	308	1.72
21	72.53	11-eicosenoic acid	11-二十碳烯酸	C ₂₀ H ₃₈ O ₂	310	11.60
22	75.78	4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid	4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸(DHA)	C ₂₂ H ₃₂ O ₂	328	4.27
		the other substances	其他物质			17.46
		total fatty acid	总脂肪酸含量			82.51
		unsaturated Fatty Acid	不饱和脂肪酸含量			58.16

不饱和脂肪酸是一类具有特殊功能的活性物质,特别是 EPA 和 DHA 在营养和医学领域有着重要作用^[8-9],EPA 被称为是“血管清道夫”,可使血液

黏度降低,增加红细胞可塑性,改善冠状动脉血液循环,有疏导清理心脏血管的作用;DHA 是大脑细胞形成发育及运作不可缺少的物质基础,能抑止脑细

胞老化,活化脑细胞,具有补脑健脑的作用。海洋贝类中含有丰富的不饱和脂肪酸,具有调节血脂、降低血中胆固醇、降低甘油三酯的水平、升高高密度脂蛋白水平等功效^[5-8]。本文研究结果表明,四角蛤蜊中含有较多不饱和脂肪酸,这可能与其传统功效密切相关。

[参考文献]

- [1] Wang L C, Zhang K, Di L Q, et al. Isolation and structural elucidation of novel homogenous polysaccharide from *Macraa veneriformis*[J]. Carbohydr Polym, 2011, 86(2):982.
- [2] Luan H M, Wang L C, Wu H, et al. Antioxidant activities and antioxidative components in the surf clam, *Macraa veneriformis* [J]. Nat Prod Res, 2011, 25(19):1838.
- [3] 栾合密,吴皓,方东,等. 蛤蜊化学成分及其生物活性研究进展[J]. 中国海洋药物, 2008, 27(6):57.
- [4] 陈晓萌,陈畅,李德凤,等. 中药有效成分辨识的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):249.
- [5] 郝颖,汪之和. EPA,DHA 的营养功能及其产品安全性分析[J]. 现代食品科技, 2006, 22(3):180.
- [6] Kew S, Mesa M D, Tricon S, et al. Effects of oils rich in eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on immune cell composition and function in healthy humans [J]. Am J Clin Nutr, 2004, 79(4):674.
- [7] Wallace F A, Miles E A, Calder P C. Comparison of the effects of linseed oil and different doses of fish oil on mononuclear cell function in healthy human subjects [J]. Br J Nutr, 2003, 89(5):679.
- [8] 朱路英,张学成,宋晓金,等. n-3 多不饱和脂肪酸 DHA、EPA 研究进展[J]. 海洋科学, 2007, 31

(11):78.

- [9] Thies F, Miles E A, Nebe-von-Caron G, et al. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults[J]. Lipids, 2001, 36(11):1183.
- [10] Swamy M V, Citineni B, Patlolla J M, et al. Prevention and treatment of pancreatic cancer by curcumin in combination with omega-3 fatty acids[J]. Nutr Cancer, 2008, 60(1):81.
- [11] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification [J]. Can J Biochem and Physiol, 1957(37):911.
- [12] 秦建平,陆艳芹,罗雪磊,等. HPLC 同时测定火麻仁中 α -亚麻酸、亚油酸和油酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012,18(7):71.
- [13] 余红,张小平,邓明强,等. 多花黄精挥发油 GC-MS 分析及其生物活性研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2008,14(5):4.
- [14] 陈永星,黄爱云,李峰. 车前子中脂溶性成分的气相色谱质谱联用分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3):55.
- [15] 张生潭,王兆玉,汪铁山,等. 中药砂仁挥发油化学成分及其抗菌活性[J]. 天然产物研究与开发, 2011, 17(23):464.
- [16] 张辰露,吴三桥,秦文娟,等. GC-MS 法分析中药索骨丹中脂肪酸成分[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(3):100.
- [17] 韩娜,赵建邦,宋平顺. 气相色谱法测定牛蒡子脂肪油中 3 种脂肪酸含量[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(3):83.

[责任编辑 顾雪竹]

欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)、“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于 1995 年 10 月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16 开本,350 页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价 35 元,全年 840 元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街 16 号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfxjx_2010@188.com,网址:www.syfxjzz.com。