太平洋磷虾脂肪酸的气相色谱-质谱法分析

王兰，岳荣岩，卢杰，韩玉谦
（中国海洋大学食品科学与工程学院，山东青岛 266003）

摘要：通过采用 Folch 法从太平洋磷虾（*Euphausia Pacifica*）中提取总脂，通过硅胶柱层析分析了总脂中中性脂、糖脂和磷脂的组成情况，并采用气相色谱-质谱（GC-MS）法对这三类脂质的脂肪酸组成进行了分析和比较。结果表明，太平洋磷虾的总脂含量为15.16%，其中中性脂占总脂含量的 70.19%，磷脂占 25.15%，糖脂占 4.66%。通过气相色谱-质谱分析从太平洋磷虾的总脂中共鉴定出 20 种脂肪酸，其中不饱和脂肪酸 11 种，占总脂肪酸总量的 55.54%。对中性脂、糖脂和磷脂的脂肪酸组成进行的分析比较表明，不同脂质中脂肪酸组成及其含量存在一定的差异。本文旨在为太平洋磷虾的营养评价和高值化利用提供一定的基础数据。

关键词：太平洋磷虾；磷脂；气相色谱-质谱；脂肪酸
文章篇号：1673-9078(2012)10-1407-1410

Analysis of Fatty Acids in *Euphausia Pacifica* by Gas Chromatograph-Mass Spectrometry

WANG Lan, YUE Rong-Yan, LU Jie, HAN Yu-Qian
(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The total lipids of *Euphausia Pacifica* were extracted by Folch method, Silica column chromatography method was used to separate total lipids into neutral lipid, glycolipid and phospholipid. The fatty acids were analyzed by Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) after derivatized. The results showed that the content of total lipid was 15.16%, 70.19% was neutral lipid which was the main lipid, phospholipid was 25.15% while glycolipid was 4.66%. 20 fatty acids were identified in the total lipid extracted from *Euphausia Pacifica*, including 11 unsaturated fatty acids, the total content of EPA and DHA was 23.36%. According to the comparison and analysis of fatty acids in neutral lipid, glycolipid and phospholipid, the compositions and contents of fatty acids had definite difference. This thesis is intended to provide theory basis for nutritional evaluation and optimum exploitation of *Euphausia Pacifica*.

Key words: *Euphausia Pacifica*; phospholipid; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS); fatty acids

太平洋磷虾（*Euphausia Pacifica*）隶属于节肢动物门甲壳纲，为北太平洋亚北极区的优势种磷虾，游泳和摄食能力较强，广泛分布于远东海域、黄海及台湾海峡附近[1]。磷虾已经作为渔业的直接捕捞对象，有相当大的开发潜力。但目前太平洋磷虾主要应用在水产动物的饵料及添加剂方面[2]，只有很小一部分被用于制成食品。近年来，由于过度捕捞，鱼群数量大幅减少，而作为鱼类饵料的太平洋磷虾数量大幅增加，我国太平洋磷虾的渔获量也因此快速增大，因此有必要对太平洋磷虾的高值化利用进行更多的研究。

对太平洋磷虾进行脂质分析，可评价其营养价值，丰富和完善磷虾类加工利用理论体系。从海洋生物中提取多不饱和脂肪酸一直是科学家们的研究热点。EPA、DHA是人体的必需脂肪酸，具有防治心血管疾病，益智，增强视力等多种功能[3,4]。卵磷脂是一种具有独特生理活性的天然物质，是生命的基础物质之一，国内外需求很大。太平洋磷虾中富含多不饱和脂肪酸和磷脂，但目前对太平洋磷虾的研究主要集中在蛋白质和生态学方面，关于脂质方面的报道较少。

本文通过采用Folch法从太平洋磷虾（*Euphausia Pacifica*）中提取总脂，经过硅胶柱层析分离出中性脂、糖脂和磷脂后，采用气相色谱-质谱（GC-MS）法对太平洋磷虾的脂肪酸组成进行了分析，为今后太平洋磷虾油的进一步开发利用提供基础数据。

1 实验部分

1.1 材料、仪器及试剂

太平洋磷虾（*Euphausia Pacifica*）由山东科芮儿生物制品有限公司提供，经测定含水率低于 7%。太

收稿日期：2012-05-27
基金项目：山东省科技发展计划项目（2012GHY11528）
作者简介：王兰，在读硕士
通讯作者：韩玉谦，教授，研究方向为超/亚临界流体萃取技术及应用、食品质量及安全、海洋生物资源的高效利用技术

平洋磷虾整虾打碎后，过 100 目筛，将干粉用真空包装袋密封放入干燥器中备用。

美国 Agilent 公司 6890N 型气相色谱仪、5973 型质谱仪；层析柱（30cm×2.1cm i.d.），ZC-Ⅱ型层析硅胶（100-200 目）购自青岛海洋化工厂。

甲醇、石油醚为色谱纯，其他试剂均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 总脂提取

取 10 g 太平洋磷虾干粉，采用 Folch[5]法提取总脂，做三个平行样。

1.2.2 脂肪组分测定

采用硅胶柱层析法[6]。称取 45 g 硅胶，装入层析柱（30 cm×2.1 cm i.d.），将含 200~300 mg 总脂的少量氯仿溶液上样，依次用 250 mL 氯仿洗脱中性脂，100 mL 丙酮洗脱糖脂，400 mL 甲醇洗脱磷脂，分别收集后旋转至干、称重。

1.2.3 脂肪酸组成的 GC-MS 分析

1.2.3.1 样品甲酯化

取各脂质样品 20~30 mg，用氮气吹干，加入 1 mL 2M NaOH-甲醇溶液，混合均匀后于 60 ℃水浴保温 2 min，再加入 1 mL 2M HCl-甲醇溶液，混匀，水浴中继续放置 5 min，然后取出，在室温下加入 2 mL 石油醚，振荡摇匀后静置。待分层后取含脂肪酸甲酯的上层石油醚，加入一定量无水硫酸钠脱除水分，使用 0.22 μm 孔径有机相滤膜过滤后进行气相色谱-质谱（GC-MS）分析，进样量 1 μL。

1.2.3.2 色谱条件

分析柱使用 Agilent 公司的 HP-5MS（30 m×0.25 mm×0.25 μm），高纯氦气为载气，采用恒压模式，压力为 16 psi。进样口温度为 250 ℃，检测器温度为 150 ℃，柱温以 2 ℃/min 由 150 ℃升到 210 ℃，然后在 210 ℃下保持 15 min，整个分析过程为 45 min。

1.2.3.3 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。

2 结果与分析

2.1 总脂含量

采用 Folch 法提取总脂，可以将磷脂等极性脂提取完全，而索氏抽提法只能提取出部分磷脂。太平洋磷虾干粉中测得的总脂肪平均含量为 15.16%（n=3），低于 Pierce 等[7]所测得的太平洋磷虾总脂肪含量（23.8%）。Se-Jong Ju 等[8]报道的太平洋磷虾中总脂肪含量随季节变化范围为 5%~20%。所以，上述太平洋磷虾总脂肪含量差别的原因可能与样品的取样地点、季节、虾龄、样品贮存与处理方式以及总脂的提取方法等有关。

2.2 总脂的组成

表 1 太平洋磷虾的中性脂和极性脂组成情况

Table 1 Neutral Lipid and Polar Lipid of *Euphausia Pacifica*

太平洋磷虾	中性脂/%	极性脂/%	
		糖脂	磷脂
	70.19	4.66	25.15

总脂是由中性脂和极性脂组成，中性脂的主要成分是甘油三酯，易溶于极性小的有机溶剂，而不溶于水。极性脂的主要成分是糖脂和磷脂，易溶于极性大的有机溶剂。根据此性质，可通过采用不同极性的洗脱剂将中性脂和极性脂分开。从表 1 的结果可以看出，中性脂占太平洋磷虾总脂含量的 70.19%，极性脂占 29.81%。其中，磷脂在极性脂中占 84.4%，在总脂中占 25.15%。Joseph 等[9]报道的南极磷虾中性脂占总脂的 64%~77%，磷脂占总脂的 20%~33%。可以看出，太平洋磷虾和南极磷虾总脂的组成差别不大。目前，关于太平洋磷虾的脂质组分分析还未见报道。

2.3 脂肪酸组成分析

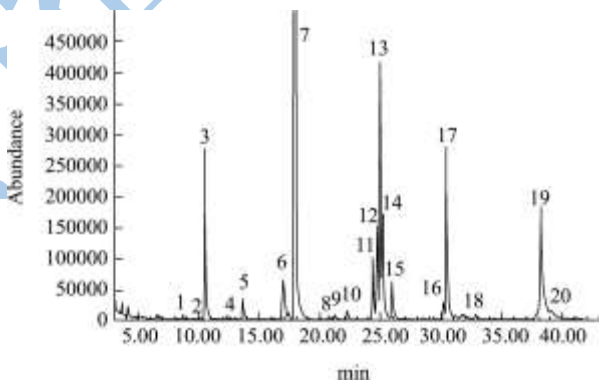


图 1 太平洋磷虾总脂中脂肪酸的 GC-MS 总离子流色谱图

Fig.1 Total ion current chromatogram of fatty ac id components in *Euphausia Pacifica* by GC /MS

太平洋磷虾总脂中脂肪酸成分的 GC-MS 总离子流色谱图见图 1。太平洋磷虾脂肪酸通过标准质谱数据库检索，同时结合特征离子和出峰时间、顺序进行定性分析，按峰面积归一法进行定量。总脂、中性脂、糖脂和磷脂中脂肪酸分析结果见表 2。从 GC-MS 图中可以看出，太平洋磷虾总脂中共鉴定出 20 种脂肪酸，其中主要的脂肪酸为十六碳酸 $C_{16:0}$（31.20%）、二十二碳六烯酸 $C_{22:6\ (n-3)}$（13.05%）、十八碳烯酸 $C_{18:1\ (n-9)}$（11.12%）、二十碳五烯酸 $C_{20:5\ (n-3)}$（10.31%）。中性脂中共鉴定出 17 种脂肪酸，未检测到 14-甲基十六碳酸（$C_{16:0}$）、二十碳酸（$C_{20:0}$）和二十二碳五烯酸（$C_{22:5}$）。糖脂中共鉴定出 17 种脂肪酸，未检测出十四碳烯酸

（$C_{14:1}$）、二十碳酸（$C_{20:0}$）和二十二碳五烯酸（$C_{22:5}$）。磷脂中共鉴定出 19 种脂肪酸，未检测出十四碳烯酸（$C_{14:1}$）。中性脂、糖脂和磷脂中的主要脂肪酸组成与总脂基本一致。

太平洋磷虾总脂中饱和脂肪酸占 44.46%，高于 Se-Jong Ju 等[8]报道的太平洋磷虾（24.4%~30.8%），楼乔明等[10]报道的南极磷虾（27.83%）和刘安军等[11]报道的鱿鱼肝脏（22%），低于赵传凯等[12]报道的南极大磷虾（65.26%）。太平洋磷虾总脂中主要饱和脂肪酸为十六碳酸 $C_{16:0}$（31.57%），高于 Se-Jong Ju 等[8]报道的太平洋磷虾（17.9±8.7%~25.6±2.0%），与 Se-Jong Ju 等[8]报道的北方磷虾 Thysanoessa spinifera（24.8±0.8%~33.8±5.0%）比较接近。文献报道[10,12]的南极磷虾中十六碳酸 $C_{16:0}$ 的含量为 20.51%，南极大磷虾中十六碳酸 $C_{16:0}$ 的含量为 29.3%。可见不同产地和种属的磷虾总脂中，饱和十六碳酸均为主要的饱和脂肪酸。

表 2 太平洋磷虾总脂、中性脂、糖脂和磷脂中脂肪酸组成及其含量

Table 2 Fatty acid components in total lipid, neutral lipid, glycolipid and phospholipid in Euphausia Pacifica

序号	脂肪酸	特征离子	总脂/%（n=3）	中性脂/%（n=3）	糖脂/%（n=3）	磷脂/%（n=3）
1	tridecanoic acid, methyl ester($C_{13:0}$)	74^a,185,197,228^d	0.20(0.05)	0.14(0.2)	0.21(0.09)	0.06(0.13)
2	Z-11-tetradecenoic acid($C_{14:1}$)	55^a,97,166^c,208,226^d	0.12(0.09)	0.13(0.06)	-	-
3	methyl tetradecanoate($C_{14:0}$)	74^a,199,211,242^d	7.75(1.21)	8.60(0.27)	9.01(0.92)	4.13(2.74)
4	9-methyltetradecanoate ($C_{14:0}$)	74^a,213,225,256^d	0.19(0.12)	0.25(0.17)	0.33(0.15)	0.15(0.09)
5	pentadecanoic acid($C_{15:0}$)	74^a,213,225,256^d	1.37(0.34)	1.33(0.41)	1.48(0.21)	1.11(0.16)
6	9-hexadecenoic acid($C_{16:1}$)	55^a,194,236,268^d	3.27(0.1)	4.65(1.17)	4.84(0.32)	2.99(1.23)
7	hexadecanoic acid($C_{16:0}$)	74^a,227,239,270^d	31.20(4.92)	30.60(4.26)	34.31(3.81)	31.41(2.88)
8	hexadecanoic acid, 14-methyl-($C_{16:0}$)	74^a,241,255,284^d	0.22(0.14)	-	0.23(0.1)	0.24(0.21)
9	E-11-hexadecenoic acid($C_{16:1}$)	55^a,208,250,282^d	0.25(0.09)	0.29(0.11)	0.34(0.02)	0.37(0.2)
10	heptadecanoic acid($C_{17:0}$)	74^a,241,253,284^d	0.81(0.33)	0.51(0.24)	0.60(0.16)	0.63(0.12)
11	9,12,15-octadecatrienoic acid($C_{18:3}$)	79^a,108^b,236^c,261,292^d	3.94(1.03)	4.97(1.52)	3.59(0.28)	3.02(0.59)
12	9,15-octadecadienoic acid($C_{18:2}$)	41^a,220,263,294^d	4.62(1.21)	3.88(0.89)	6.38(1.42)	3.63(1.34)
13	9-octadecenoic acid($C_{18:1}$)	55^a,222,264,296^d	11.12(1.13)	11.72(2.02)	13.35(1.81)	12.80(1.98)
14	11-octadecenoic acid($C_{18:1}$)	55^a,222,264,296^d	7.32(1.72)	9.18(0.92)	9.41(1.21)	6.40(1.99)
15	octadecanoic acid($C_{18:0}$)	74^a,255,267,298^d	2.42(0.7)	1.59(0.26)	2.46(0.51)	1.31(0.79)
16	5,8,11,14-eicosatetraenoic acid($C_{20:4}$)	79^a,91,150^b,180^c,289,318^d	0.69(0.35)	0.81(0.27)	0.50(0.19)	1.11(0.88)
17	5,8,11,14,17- eicosapentaenoic acid($C_{20:5}$)	79^a,91,150^b,180^c,287,316^d	10.31(2.02)	12.38(1.75)	5.95(1.23)	13.56(2.14)
18	eicosanoic acid($C_{20:0}$)	74^a,283,295,326^d	0.29(0.09)	-	-	0.15(0.14)
19	4,7,10,13,16,19- docosahexaenoic acid($C_{22:6}$)	79^a,91,108^b,166^c,313,342^d	13.05(1.87)	9.18(2.01)	7.01(1.45)	16.02(2.19)
20	ethyl 5,8,11,14,17-icosapentaenoate($C_{22:5}$)	79^a,234,315,330^d	0.85(0.18)	-	-	0.91(0.33)

表 3 为太平洋磷虾总脂、中性脂、糖脂和磷脂中主要脂肪酸种类的组成情况。可以看出，总脂和中性脂的主要脂肪酸种类的组成差别不大，但极性脂中糖脂和磷脂的主要脂肪酸种类的组成差别较大。磷脂中不饱和脂肪酸含量明显高于糖脂，尤其是 EPA 和 DHA 的含量达到 29.58%，是糖脂中 EPA 和 DHA 的含量的 2.28 倍。含多不饱和脂肪酸的磷脂兼具多不饱和脂肪酸和磷脂的生物活性，具有重要的生理功能。目前市场上商品化的磷脂主要来源于大豆和蛋黄，大豆磷脂的 EPA+DHA 含量仅为 1.4%[13]，蛋黄磷脂的 EPA+DHA 含量仅为 5.6%~10.1%[14]，远低于太平洋磷虾，可见太平洋磷虾磷脂具有重要的开发和利用价值。

表 3 太平洋磷虾总脂、中性脂、糖脂和磷脂中不饱和脂肪酸含量的比较

Table 3 Comparison of unsaturated fatty acid contents in total lipid, neutral lipid, glycolipid and phospholipid in Euphausia Pacifica

种类	总脂/%	中性脂/%	糖脂/%	磷脂/%
EPA+DHA	23.36	21.56	12.96	29.58
不饱和脂肪酸	55.54	57.19	51.37	60.81
多不饱和脂肪酸	33.46	31.22	23.43	38.25
饱和脂肪酸	44.46	42.81	48.63	39．19

3 结论

采用硅胶柱层析分析太平洋磷虾中中性脂占总脂含量的 70.19%，磷脂占 25.15%，糖脂占 4.66%。并用气相色谱-质谱（GC-MS）法检测太平洋磷虾脂肪酸组成，通过质谱库检索和特征离子对脂肪酸进行定性分析，操作简单快速，结果准确可靠。根据 GC-MS 检测，总脂中共鉴定出 20 种脂肪酸，其中 EPA 和 DHA 含量占总脂肪酸的 23.36%。中性脂中鉴定出 17 种脂肪酸，EPA 和 DHA 的含量占 21.56%，糖脂中鉴定出 17 种脂肪酸，EPA 和 DHA 的含量占 12.96%，磷脂中鉴定出 19 种脂肪酸，EPA 和 DHA 的含量占 29.58%。通过对太平洋磷虾进行脂质和脂肪酸组成分析，表明太平洋磷虾在脂质方面具有较高的营养价值，具有磷虾油等产品的开发潜能。本实验为太平洋磷虾的营养评价和高值化利用提供了一定的基础依据和参考。

参考文献

[1] 杨德渐,王永良编著.中国北部海洋无脊椎动物[B].北京:高等教育出版社,1996

[2] HAIG-BROWN A. Going for the krill [J]. In National Fisherman, 1994, 5: 18-19

[3] 李璇,郑建仙.脂肪与心血管疾病相互关系最新进展及对食品工业的指导意义[J].食品与发酵工业,1998,24(1):74-79

[4] 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):180-183

[5] FOLCH J, LEES M, SLOANE S G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues [J]. J Biol Chem, 1956, 218(1): 497-509

[6] 林洪,吕青,KHALID J.贻贝等软体动物磷脂的比较[J].水产学报,2000,24(2):175-179

[7] PIERCE R W, VEEN J V, OLCOTT H S. Proximate and Lipid Analyses of Krill (*Euphausia Species*) and Red Crab (*Pleuroncodes Planipes*) [J], MAR-APR, 1969, 17(2): 367-369

[8] SE-JONG J, KANG H, KIM W S, HARVEY H R, Comparative lipid dynamics of euphausiids from the Antarctic and Northeast Pacific Oceans [J]. Marine Biol, 2009, 156(7): 1459-1473

[9] GIGLIOTTIA J C, DAVENPORTB M P, BEAMERA S K. Extraction and Characterisation of lipid from Antarctickrill (*Euphausia superba*)[J], Food Chem, 2011, 125: 1028-1036

[10] 楼乔明,王玉明,刘小芳,等.南极磷虾脂肪酸组成及多不饱和脂肪酸质谱特征分析[J].中国水产科学,2011,18(2):929-935

[11] 刘安军,朱晓芳,郑捷,等.鱿鱼肝脏鱼油成分及其体外抗氧化性的研究[J].现代食品科技,2010,26(1):18-21

[12] 赵传凯,姜国良,赵静,等.南极大磷虾油脂的提取及其脂肪酸组成分析[J].食品工业科技,2012,33(3):207-209

[13] 温光源.磷脂的特性和用途[J].商业科技开发,1994,5(3):11-16

[14] 范兴华,裘爱泳.卵黄中磷脂提取及纯化之研究[J].无锡轻工业学院学报,1993,12(4):298-305

现代食品科技