

斑头雁脂肪酸的气相色谱-质谱分析^①

杨乐^{a,b,c} 张唐伟^{a,b} 杨敏^{a,b} 纪托^{a,b} 操胜^a 李来兴^{②a}

^a(中国科学院西北高原生物研究所 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室 西宁市西关大街 59 号 810001)

^b(中国科学院研究生院 北京市 100049)

^c(西藏自治区高原生物研究所 拉萨 850001)

摘要 采用冷冻干燥和改进的 Bligh-Dyer 方法提取脂肪酸,用 GC-MS 测定了斑头雁腿肌、胸肌组织和卵的脂肪酸组成情况,含有脂肪酸 27 种,均为长链脂肪酸(C₁₄以上)。其中饱和脂肪酸 19 种,占总含量的 80.577%—87.701%;不饱和脂肪酸 8 种,占脂肪酸总含量的 12.298%—19.423%。在斑头雁的腿肌、胸肌和卵组织中,脂肪酸组成差异不大($P < 0.05$)。肌肉中含有的脂肪酸种类要多于卵组织中含有的脂肪酸种类。在斑头雁组织含有 10 种带有甲氧基的脂肪酸,分别占腿肌脂肪酸总量的 36.175%,胸肌脂肪酸的 10.401%,卵脂肪酸的 45.339%。

关键词 斑头雁;肌肉;卵;脂肪酸;气相色谱-质谱

中图分类号:O657.63 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-8138(2012)01-0399-05

1 引言

斑头雁(*Anser indicus*)隶属雁形目(Anseriformes)鸭科(Anatidae)雁属(*Anser*)^[1]。主要分布在青海、西藏、新疆西部的高山湖泊区以及东北的呼伦池和克鲁伦河一带;迁徙及越冬时见于云南、贵州、东北海拉尔、陕西、湖南、四川等地。国外繁殖于克什米尔地区、中亚地区及蒙古;在印度及缅甸北部越冬^[2]。

斑头雁具备药用价值。据《千金,食治》、《本草纲目》等多部古代医学典籍中记载,雁肉性味甘平,归经入肺、肾、肝。祛风寒、壮筋骨、益阳气、暖水脏、长发鬓须眉;治顽麻痺、拘挛、偏枯。雁肪活血祛风、清热解毒;治中风偏枯、手足拘挛、心胸结热、痞塞呕逆、疮痛、发脱不长、耳聋等;兼有补劳瘦,肥白人之功;毛烧存性,研末,可治小儿惊痫。斑头雁还具有较好的营养功效,每百克斑头雁肉中含蛋白质 20.98g、脂肪 11.62g、磷 196.5mg、钙 48.04mg、铁 8.71mg、无机盐 1.17mg,人体必需的矿物质元素钙、磷、铁含量高,是传统的上等野味珍品及理想的保健品,为高蛋白低脂肪的良好食物^[3]。

国内外鲜见对于斑头雁脂肪酸组成方面的研究,本文采用冷冻干燥和改进的 Bligh-Dyer 方法^[4]提取脂肪酸,用 GC-MS 测定了斑头雁肌肉组织和卵的脂肪酸组成情况,为进一步对斑头雁资源进行开发利用奠定基础。

① 国家重点基础研究发展计划(2010CB530301)“候鸟非连续式传播与家禽连续式传播要素演变规律分析”;国家自然科学基金项目(31071936)“斑头雁羽毛稳定性同位素地理信息标签研究”

② 联系人,手机:(0)13897403516;(0)13519706838;E-mail:llee58@msn.com;yangletibet@126.com

作者简介:杨乐(1982—),男,湖南省怀化市人,助理研究员,在读硕士,主要从事鸟类生物学研究工作。

收稿日期:2011-02-10;接受日期:2011-03-11

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

GC6890N/MSD5973N 联用仪(美国惠普公司);EYELA FDU1100 冷冻干燥机(东京理化器械株式会社);RE-52A 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

甲醇、三氯甲烷、三氟化硼、氢氧化钾、正己烷均为分析纯。实验用水为超纯水。

2.2 材料的制备

从西宁动物园获得斑头雁一只,卵数枚。取斑头雁胸肌和腿肌各 5—10g,超纯水清洗后去除结缔组织,组织匀浆机匀浆后冷冻干燥;卵内容物充分搅匀后冷冻干燥。材料冷冻干燥后低温保存待用。

2.3 脂肪酸的提取及甲酯化

采用改进的 Bligh-Dyer 方法提取斑头雁脂肪酸。称取 5g 组织样品,按照体积比 3 : 1 : 1 加入三氯甲烷、甲醇和超纯水配制混合溶液,电磁搅拌下室温过夜,提取液以 5000r/m 转速离心分离 10min,加入一定量的甲醇和水,使提取液的最终浓度保持为甲醇 : 氯仿 : 水 = 1 : 1 : 0.9 (V/V/V),分离有机相,30℃下真空旋转蒸发脱溶剂得淡黄色油状粗脂肪样品。

取上述油状物 0.3g,加入 5% NaOH(m/V)水溶液和 10%(V/V)的甲醇溶液各 5mL,在 60℃条件下皂化 3h(油珠完全消失)。冷却后加入过量乙醚后萃取水相,用过量 6mol/L 的盐酸酸化完全后加入过量氯仿,分离有机相后 30℃旋转蒸发得较纯脂肪酸。加入 5mL 17%—20%(V/V) BF₃-CH₃OH 溶液并于 60℃水浴甲酯化 5min,冷却后,加正己烷和饱和氯化钠溶液各 2mL,离心分层,取上清液进行 GC-MS 分析^[5]。

2.4 气相色谱-质谱分析

色谱条件:GC 汽化室温度 250℃,美国 J&W. HP-5(30m×0.25mm×0.25μm)弹性石英毛细管柱,以 4℃/min 升温速率由 80℃程序升温至 290℃,恒温 30min,载气为 99.999%高纯氦。质谱条件:MSD 离子源为 EI 源,离子源温度 230℃,电子能量 70eV;使用美国 NIST 02 谱库。

3 结果与讨论

3.1 GC-MS 结果分析

用 GC-MS 技术对斑头雁肌肉和卵内容物中脂肪酸的化学成分进行分析,得到斑头雁腿肌脂肪酸甲酯的总离子流图(图 1)。共分离到脂肪酸 27 种,面积归一法测得各组分的相对含量,所得质谱图经 NIST 02 质谱数据库检索,并与标准图谱核对,鉴定了斑头雁肌肉和卵内容物中的脂肪酸组分(表 1)。

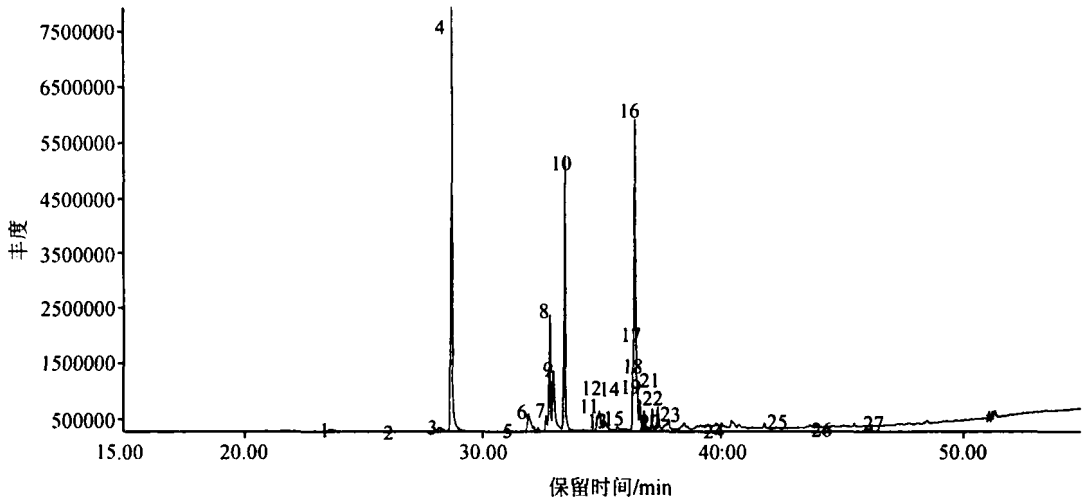


图 1 斑头雁腿肌脂肪酸甲酯总离子流色谱图

脂肪酸 27 种,按照标号分别为:1—十四烷酸(甲酯);2—十五烷酸(甲酯);3—十六碳烯(9)酸(甲酯);4—棕榈酸(甲酯);5—十七烷酸(甲酯);6—二甲氧基十六烷酸(甲酯);7—亚油酸(甲酯);8—反式油酸(甲酯);9—顺式油酸(甲酯);10—硬脂酸(甲酯);11—反式-10-甲氧基-11-十八烯酸(甲酯);12—反式-11-甲氧基-12-十八烯酸(甲酯);13—顺式-10-甲氧基-11-十八烯酸(甲酯);14—顺式-11-甲氧基-12-十八烯酸(甲酯);15—十九烷酸(甲酯);16—8,10-二甲氧基-十八烷酸(甲酯);17—12-甲氧基-十八烷酸(甲酯);18—13-甲氧基-十八烷酸(甲酯);19—15-甲氧基-十八烷酸(甲酯);20—14-甲氧基-十八烷酸(甲酯);21—16-甲氧基-十八烷酸(甲酯);22—17-甲氧基-十八烷酸(甲酯);23—二十烷酸(甲酯);24—二十一烷酸(甲酯);25—二十二烷酸(甲酯);26—二十三烷酸(甲酯);27—二十四烷酸(甲酯)。

表 1 斑头雁脂肪酸的组成及相对含量

峰号	分子式	分子量	相对含量			峰号	分子式	分子量	相对含量			
			腿肌(%)	胸肌(%)	卵(%)				腿肌(%)	胸肌(%)	卵(%)	
1	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242	0.519	0.688	0.479	15	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	312	0.460	0.417	0.061	
2	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	0.206	1.138	0.041	16	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	358	20.378	4.331	25.239	
3	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	268	0.380	0.417	0.374	17	C ₂₀ H ₄₀ O ₃	328	3.033	0.685	4.051	
4	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	28.412	37.160	35.006	18	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	328	2.516	0.331	2.526	
5	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284	0.385	0.811	0.148	19	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	328	1.623	0.339	2.480	
6	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	300	1.799	0.622	1.489	20	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	328	1.151	0.252	2.118	
7	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	294	0.992	2.044	0.335	21	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	328	1.261	0.494	2.441	
8	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	7.353	8.055	6.396	22	C ₂₁ H ₄₂ O ₄	328	1.347	1.431	4.021	
9	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	296	6.115	6.990	4.219	23	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	326	0.627	0.853	0.913	
10	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	298	16.892	28.834	6.310	24	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	340	0.387	0.386	0.378	
11	C ₂₀ H ₃₈ O ₃	326	1.122	0.709	0.307	25	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	354	0.510	0.834	—	
12	C ₂₀ H ₃₈ O ₃	326	0.807	0.472	0.330	26	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	368	0.208	0.424	—	
13	C ₂₀ H ₃₈ O ₃	326	0.644	0.371	0.165	27	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	382	0.380	0.549	—	
14	C ₂₀ H ₃₈ O ₃	326	0.495	0.365	0.172							
									SFA	82.093	80.577	87.701
									UFA	17.907	19.423	12.298

注:样品经 BF₃-CH₃-OH 甲酯化处理,其脂肪酸均以甲酯形式检测出。SFA—饱和脂肪酸;UFA—不饱和脂肪酸。

从分析结果看,斑头雁体内的脂肪酸种类较为丰富,30 种检出组分中含有脂肪酸 27 种,均为长链脂肪酸(C₁₄以上)。其中饱和脂肪酸 19 种,占总含量的 80.577%—87.701%,主要包括棕榈酸(28.412%—37.160%)、硬脂酸(6.310%—28.834%)、8,10-二甲氧基-十八烷酸(4.331%—25.239%);不饱和脂肪酸 8 种,占脂肪酸总含量的 12.298%—19.423%,主要包括反

式油酸(6.396%—8.055%)、顺式油酸(4.219%—6.990%)等。在斑头雁的腿肌、胸肌和卵组织中,脂肪酸组成差异不大($P < 0.05$)。肌肉中含有的脂肪酸种类要多于卵组织中含有的脂肪酸种类,主要是 $C_{21,0}$ 以上的二十二烷酸、二十三烷酸和二十四烷酸。在斑头雁脂肪酸中的亚油酸属于必需脂肪酸,在腿肌、胸肌和卵组织中分别占脂肪酸总量的 0.992%、2.044% 和 0.335%。在斑头雁组织含有的 27 种脂肪酸中,有 10 种带有甲氧基的脂肪酸,分别占腿肌脂肪酸总量的 36.175%,胸肌脂肪酸的 10.401%,卵脂肪酸的 45.339%。

3.2 讨论

3.2.1 关于 Bligh-Dyer 法和石油醚-乙醚索式抽提的对比

刁全平等^[6]曾采用 Bligh-Dyer 法和乙醚索式抽提进行对比,发现 Bligh-Dyer 法提取率较高。作者在确定方法之前,用 Bligh-Dyer 法和石油醚-乙醚索式抽提进行了抽提效率的对比,对于斑头雁卵样品,Bligh-Dyer 法提取粗脂肪样品重量占原重的 15.8% 优于石油醚-乙醚索式抽提的 13.8%,故采用 Bligh-Dyer 提取法。

3.2.2 脂肪酸含量可以作为动物食性研究指标

$C_{18,1}$ 也被做为肉食性动物的一个指标^[7,8],在斑头雁的脂肪酸中, $C_{18,1}$ 并没有检出,说明斑头雁的主要食物来源为植物。这也为借助脂肪酸进行动物食性研究提供了思路。

3.2.3 甲氧基脂肪酸含量丰富

白艳等^[9]在青藏高原东南的研究发现,在以阔叶林和针叶林为主的贡嘎山表土样品中,广泛存在甲氧基脂肪酸化合物,并在 6 种树叶中都能检测到甲氧基脂肪酸化合物,推测该系列化合物可能来源于某种类型或数种类型的木本植物。在斑头雁组织中 10 种带有甲氧基的脂肪酸,分别占腿肌脂肪酸总量的 36.175%,胸肌脂肪酸的 10.401%,卵脂肪酸的 45.339%。我们很好奇占如此大比例的含甲氧基脂肪酸是来自食物链前端某一个特定植物类群还是由斑头雁自身合成,它们是否在斑头雁的生化循环体系中起到某些作用。尤其是联系到斑头雁多在高海拔区域生活,面临高寒、低氧和食物不足等环境压力。但由于目前对于甲氧基的研究尚比较少,甲氧基脂肪酸的作用有待进一步试验和观察。

4 结论

(1) 通过 Bligh-Dyer 方法提取斑头雁腿肌、胸肌组织和卵的脂肪酸,并用 GC-MS 测定其组成情况,发现斑头雁含有脂肪酸 27 种,均为长链脂肪酸($C_{14,0}$ 以上)。其中饱和脂肪酸 19 种,不饱和脂肪酸 8 种。

(2) 在斑头雁的腿肌、胸肌和卵组织中,脂肪酸含量差异不显著($P < 0.05$)。肌肉中含有的脂肪酸种类要多于卵组织中含有的脂肪酸种类。

(3) 在斑头雁组织含有 10 种带有甲氧基的脂肪酸,分别占腿肌脂肪酸总量的 36.175%,胸肌脂肪酸的 10.401%,卵脂肪酸的 45.339%。甲氧基脂肪酸的作用值得关注。

致谢 中国科学院兰州地质所孟仟祥老师对试验测试提供帮助,在此表示感谢!

参考文献

- [1] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海经济动物志[M]. 西宁:青海人民出版社,1989. 252—254.
- [2] 郑光美. 中国鸟类分类与分布名录[M]. 北京:科学出版社,2005. 20.

- [3] 王亚超,夏学强,段美玲. 斑头雁的饲养及管理[J]. 中国禽类导刊, 2006, 23(12): 23.
- [4] Bligh E G, Dyer W J. A Rapid Method of Total Lipid Extraction and Purification[J]. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 1959, 37: 911—917.
- [5] Sargent J R, Parkes R J, Mueller-Harey I *et al.* *Lipid Biomarkers in Marine Ecology*[M]. Chichester: Ellis Horwood, 1987. 119—138.
- [6] 刁全平,侯冬岩,回瑞华等. 不同方法提取黄花鱼中脂肪酸的研究[J]. 鞍山师范大学学报, 2009, 11(6): 32—34.
- [7] 刘希光,于华,赵增芹等. 海蜇不同部位脂肪酸的组成研究[J]. 分析化学研究简报, 2004, 32(12): 1635—1638.
- [8] 张越华,曾和平. 脂肪酸在生命过程中的作用研究进展[J]. 中国油脂, 2006, 31(12): 11—16.
- [9] 白艳,方小敏,聂军胜等. 贡嘎山和昆仑山表土中甲基酯脂肪酸的生态指示意义[J]. 2010, 55(15): 1499—1509.

Analysis of Fatty Acids in *Anser indicus* by GC-MS

YANG Le^{a,b,c} ZHANG Tang-Wei^{a,b} YANG Min^{a,b} Ji Tuo^{a,b} CAO Sheng^a LI Lai-Xing^a
a(Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Science, Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota (AEPB), Xining 810001, P. R. China)
b(Graduate University, Chinese Academy of Science, Beijing 100049, P. R. China)
c(Tibet Plateau Institute of Biology, Lasa 850001, P. R. China)

Abstract The fatty acids were extracted by modified Bligh-Dyer method and freeze drying, and the components of fatty acids in the leg muscles, chest and eggs of *Anser indicus* were determined by GC-MS, and there were 27 kind of fatty acids, that were long chain fatty acids (above C₁₄, 0), 19 kind of saturated fatty acids were 80. 577%—87. 701% of total fatty acids content, then 8 kind of unsaturated fatty acids were 12. 298%—19. 423% of total fatty acids content. The fatty acids components in the leg muscles, chest and eggs of *Anser indicus* had no significant difference ($P < 0.05$). Muscles contained the fatty acids species more than that of eggs. The 10 varieties fatty acids with oxygen radicals were obtained in organization of *Anser indicu*, and leg muscles contained myo-fatty acid 36. 175%, while chest muscle contained myo-fatty acid 10. 401% and eggs had myo-fatty acid 45. 339%.

Key words *Anser indicus*; Muscle; Egg; Fatty Acids; GC-MS

版面费和赠书(刊)招认启事

1. 本刊到帐的版面费,现有多笔不知道是谁的,因为没有收到作者的《版面费已经汇出的通知》。不知道是谁交的版面费,就无法使这些作者的稿件进入编辑出版程序,从而影响论文出版。因此,请没有发出《版面费已经汇出的通知》的作者,尽快发出《版面费已经汇出的通知》,以便本刊确认。

本刊在收到作者的《版面费已经汇出的通知》和版面费后,会立即回复《版面费已经收到的通知》。因此,没有收到本刊发出的《版面费已经收到的通知》的作者,请再次发出《版面费已经汇出的通知》,一直到收到本刊发出的《版面费已经收到的通知》为止。

发出《版面费已经汇出的通知》的重要性,本刊在《录取通知》的附件《版面费已经汇出的通知》中就已声明。因为有的银行只通知汇款人的汇款日期和汇款金额,不告知汇款人的姓名,所以没有收到作者发出的《版面费已经汇出的通知》,本刊就不知道来款是谁的。特此再次说明。

2. 本刊收到多份赠书(刊)邮寄所需的邮票,但作者未告知收件人的姓名,或详细地址,或赠书(刊)的种类,无法邮寄。因此,凡没有收到赠书(刊)的作者请速与编辑部联系(邮箱: gpsys@periodicals.net.cn)。

《光谱实验室》编辑部