

气相色谱-质谱联用法分析罗布麻蜂蜜中脂肪酸

王建梅, 刘河疆, 马玉娥, 安冉, 孙婷, 杨莲*

(新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(乌鲁木齐),
新疆农产品质量安全实验室, 乌鲁木齐 830091)

摘要: **目的** 建立气相色谱-质谱联用法快速测定脂肪酸的方法, 分析新疆罗布麻蜂蜜中组成成分。 **方法** 样品用正己烷乙醚混合提取, 氢氧化钾-甲醇法甲酯化, 归一化法计算含量。 **结果** 罗布麻蜂蜜中含有 28 种脂肪酸成分, 其主要成分是亚油酸(26.57%)、棕榈酸(17.6%)、十七烷酸(7.34%)等。饱和脂肪酸含量为 38.83%, 不饱和脂肪酸为 61.17%。 **结论** 罗布麻蜂蜜中不饱和脂肪酸含量丰富, 可为罗布麻产品的开发利用提供依据, 该方法简便快速, 适合于大批量样品的测定。

关键词: 罗布麻; 蜂蜜; 脂肪酸; 气相色谱-质谱联用法

Determination of fatty acids in *Apocynum* honey by gas chromatography-mass spectrometry

WANG Jiang-Mei, LIU He-Jiang, MA Yu-E, AN Ran, SUN Ting, YANG Lian*

(Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agro-Products, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Laboratory of Quality and Safety Risk Assessment for Agro-Products (Urumqi), Ministry of Agriculture, Key Laboratory of Agroproducts Quality and Safety of Xinjiang, Urumqi 830091, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of fatty acids in *Apocynum* honey by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). **Methods** Fatty acids extracted by the mixture of hexane and aether were converted to methyl esters with KOH-CH₃OH. Then the methyl esters were determined by the area normalizing method. **Result** There were 28 kinds of fatty acids in *Apocynum* honey, with the main components of linoleic acid (26.57%), palmitic acid (17.6%), and heptadecanoic acid (7.34%). The content of saturated fatty acid and polyunsaturated fatty acid were 38.83% and 61.17%, respectively. **Conclusion** *Apocynum* honey was rich in polyunsaturated fatty acid. This study provides scientific basis for exploitation and utilization of *Apocynum* honey.

KEY WORDS: *Apocynum*; honey; fatty acids; gas chromatography-mass spectrometry

基金项目: 新疆维吾尔自治区公益性科研院所基本科研业务经费资助项目 (KY2015082)、新疆维吾尔自治区优秀青年科技创新人才项目 (2013721030)

Fund: Supported by Basic Scientific Research Nonprofit Funds of the Xinjiang Uygur Autonomous Region (KY2015082) and the Project of Technology Innovation Outstanding Talents in Xinjiang Uygur Autonomous Region (2013721030)

*通讯作者: 杨莲, 实验师, 主要研究方向为农产品质量安全与检测技术。E-mail: 2432510959@qq.com

*Corresponding author: YANG Lian, Experimentalist, Institute of Quality Standards & Testing Technology for Agroproducts, Xinjiang Academy of Agricultural Science, No. 403, Nanchang South Road, Urumqi 830091, China. E-mail: 2432510959@qq.com

1 引言

罗布麻(*Apocynum venetum*), 系多年生宿根草本植物, 1952年由我国农业经济学家董正钧教授调研新疆因罗布平原生长极盛而得名。罗布麻又名野麻, 维吾尔族称“克之其干”、“哈拉其干”, 蒙古族称“赛尔力克奥尔斯”, 哈萨克族称“塔拉肯特尔”^[1-3]。全草含黄酮甙、甾体化合物、鞣质、酚性物质、蛋白质及多糖, 对头痛、眩晕、失眠、高血压、心脏病、神经衰弱、肾炎浮肿、肝炎肿胀、咳嗽、感冒等症状均有治疗作用^[4-6]; 罗布麻花蜂蜜具有润肺、强心、降血压的保健作用^[7]。

脂肪酸作为蜂蜜中的营养和药用成分, 不仅使蜂蜜保持酸性抑制微生物的生长繁殖, 更重要的是能以此构建蜂蜜指纹图谱判定蜂蜜的植物来源, 鉴定蜂蜜的真伪^[8], 国内各种单一植物源蜂蜜中脂肪酸物质的气相色谱-质谱检测分析虽有大量报道^[9-11], 但新疆罗布麻蜂蜜中脂肪酸的报道较鲜见, 为此, 本研究通过气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)对新疆罗布麻蜂蜜中脂肪酸的组成和含量进行分析, 建立简便、快捷、稳定性好的气质联用测定方法, 旨在为罗布麻蜂蜜的脂肪酸指纹图谱建立及其产地特征识别技术的积累数据, 同时也为更加全面地评价罗布麻保健和营养价值提供参考。

2 材料与方法

2.1 原材料

罗布麻蜂蜜, 购自新疆巴州绿都养蜂专业合作社。

2.2 试剂

乙醚, 分析纯, 购自天津市富宇精细化工有限公司; 氢氧化钾, 分析纯, 购自天津盛奥化学试剂厂; 正己烷、甲醇, 色谱纯, 购自 Fisher Scientific 公司。

2.3 仪器

Clarus 500 型气相色谱—质谱联用仪(美国 Perkin Elmer 公司), 配电子轰击离子(EI)源; PB303-E 型电子天平(瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司); N-1100 型旋转蒸发仪(上海 EYELA 公司)。

2.4 方法

2.4.1 样品处理

取 2.50 g 左右样品于 10 mL 具塞试管内, 再加入 2.5 mL 正己烷-乙醚(2:1, V:V)的提取液, 漩涡振荡 1 min; 然后加入 2.5 mL 甲醇、2.5 mL 2 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液, 对提取的样品进行甲酯化, 漩涡振荡 1 min, 混匀, 室温下静置 25 min 后, 加入 2.5 mL 蒸馏水。分层后, 取上层有机相加入正己烷稀释至进样瓶, 进样量 1 μ L, 进行 GC-MS 分析。

2.4.2 仪器条件

气相色谱(GC)条件: 色谱柱: HP-5MS 柱(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m); 载气: 氦气(99.999%); 流速: 1.0 mL/min; 进样: 1.0 μ L, 不分流; 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C; 程序升温: 100 $^{\circ}$ C, 以 20 $^{\circ}$ C/min 升温至 280 $^{\circ}$ C, 保持 16 min;

质谱(MS)条件: 离子化方式: 电子轰击(EI); 离子化能量: 70 eV; 离子源温度: 230 $^{\circ}$ C; 传输线温度 220 $^{\circ}$ C; 溶剂延迟: 3 min; 扫描方式: 全离子扫描(SCAN), 扫描范围: 50~450 amu。

2.4.3 脂肪酸组分定性定量分析

用 GC-MS 进行全离子扫描分析。用 NIST2011 谱图库进行谱图查询解析, 根据脂肪酸甲酯在 GC-MS 的断裂规律, 结合人工质谱解析, 对罗布麻蜂蜜中各种脂肪酸甲酯进行鉴定。按照脂肪酸甲酯峰面积归一化法计算各脂肪酸的相对含量。

3 结果与分析

3.1 样品中脂肪酸的成分分析

对甲酯化样品进样后的图谱, 对比有关质谱资料和文献进行分析, 得出罗布麻蜂蜜中脂肪酸组成成分, 色谱工作站得到总离子流图见图 1。

3.2 仪器的重现性

将蜂蜜样品重复测定 3 次, 其中各脂肪酸变异系数(CV)值均低于 10%, 本次实验仪器稳定性较好, 测定数据符合要求。

3.3 方法的重复性

按 2.4.1 方法分别做罗布麻蜂蜜 3 个平行样品的脂肪酸甲酯化试验, 测定其含量及相对标准偏差(RSD)值, 经面积归一法定量计算各脂肪酸的相对含量, 见表 1。

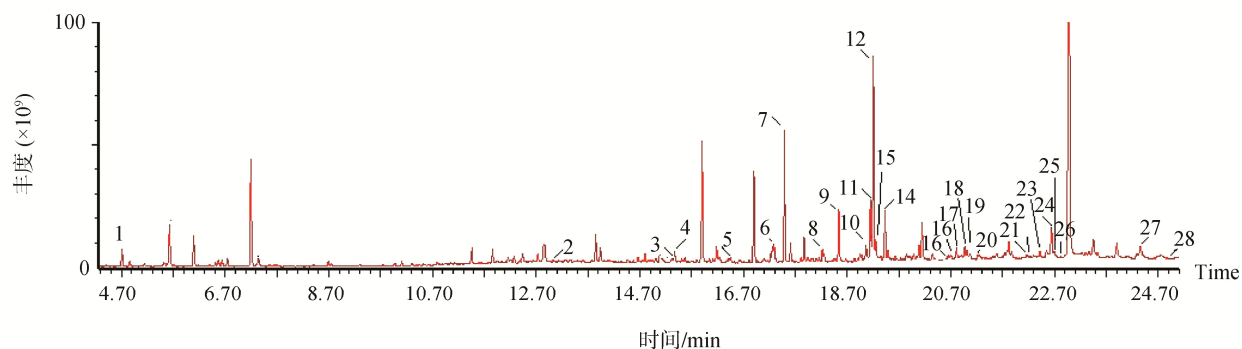


图 1 罗布麻蜂蜜脂肪酸甲酯总离子流图

Fig. 1 Full scan mass chromatogram of fatty acids methyl ester in *Apocynum* honey

注: 1、己酸甲酯(C6:0); 2、月桂酸甲酯(C12:0); 3、肉豆蔻烯酸甲酯(C14:1); 4、肉豆蔻酸甲酯(C14:0); 5、十五烷酸甲酯(C15:0); 6、棕榈油酸甲酯(C16:1); 7、棕榈酸甲酯(C16:0); 8、十七碳烯酸甲酯(C17:1); 9、十七烷酸甲酯(C17:0); 10、 γ -亚麻酸甲酯(C18:3n6); 11、反亚油酸甲酯(C18:2n6t); 12、亚油酸甲酯(C18:2n6c); 13、油酸甲酯(C18:1n9c); 14、硬脂酸甲酯(C18:0); 15、花生四烯酸甲酯(C20:4n3); 16、二十碳五烯酸甲酯(C20:5n3); 17、二十碳三烯酸甲酯(C20:3); 18、二十碳二烯酸甲酯(C20:2); 19、花生一烯酸甲酯(C20:1); 20、花生酸甲酯(C20:0); 21、二十二碳六烯酸甲酯(C22:6n3); 22、二十二碳五烯酸甲酯(C22:5n3); 23、二十二碳四烯酸甲酯(C22:4); 24、顺 13,16-二十二碳二烯酸甲酯(C22:2); 25、芥酸甲酯(C22:1n9); 26、山嵛酸甲酯(C22:0); 27、神经酸甲酯(C24:1); 28、木焦油酸甲酯(C24:0)。

表 1 罗布麻蜂蜜中脂肪酸甲酯化学组分及含量

Table 1 Composition and content of fatty acids methyl ester in *Apocynum* honey

| 峰序号 | 化合物名称 | 饱和度 | CAS 号 | 保留时间 min | 相对含量(%) | | | | RSD % |
|-----|--------------------|----------|------------|-------------|---------|-------|-------|-------|----------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 平均值 | |
| 1 | 己酸甲酯 | C6:0 | 106-70-7 | 4.72 | 2.86 | 2.77 | 2.82 | 2.82 | 1.6 |
| 2 | 十二烷酸甲酯(月桂酸甲酯) | C12:0 | 111-82-0 | 13.03 | 0.29 | 0.28 | 0.29 | 0.29 | 2 |
| 3 | 十四碳烯酸甲酯(肉豆蔻烯酸甲酯) | C14:1 | 56219-06-8 | 15.33 | 0.85 | 0.88 | 0.87 | 0.87 | 1.8 |
| 4 | 十四烷酸甲酯(肉豆蔻酸甲酯) | C14:0 | 124-10-7 | 15.37 | 1.47 | 1.43 | 1.45 | 1.45 | 1.4 |
| 5 | 十五烷酸甲酯 | C15:0 | 7132-64-1 | 16.46 | 0.72 | 0.70 | 0.78 | 0.73 | 5.7 |
| 6 | 十六碳烯酸甲酯(棕榈油酸甲酯)* | C16:1 | 1120-25-8 | 17.26 | 2.81 | 2.74 | 2.78 | 2.78 | 1.3 |
| 7 | 十六烷酸甲酯(棕榈酸甲酯) | C16:0 | 112-39-0 | 17.49 | 17.64 | 17.77 | 17.43 | 17.6 | 1 |
| 8 | 十七碳烯酸甲酯* | C17:1 | 75190-82-8 | 18.22 | 1.80 | 1.76 | 1.78 | 1.78 | 1.1 |
| 9 | 十七烷酸甲酯 | C17:0 | 1731-92-6 | 18.54 | 7.42 | 7.25 | 7.34 | 7.34 | 1.2 |
| 10 | 十八碳三烯酸甲酯(亚麻酸甲酯)* | C18:3n6 | 16326-32-2 | 19.07 | 1.92 | 1.96 | 1.85 | 1.91 | 2.9 |
| 11 | 十八碳二烯酸甲酯(反亚油酸甲酯)* | C18:2n6t | 2566-97-4 | 19.15 | 6.09 | 6.22 | 6.14 | 6.15 | 1.1 |
| 12 | 十八碳二烯酸甲酯(亚油酸甲酯)* | C18:2n6c | 112-63-0 | 19.21 | 26.53 | 26.61 | 26.56 | 26.57 | 0.2 |
| 13 | 十八碳烯酸甲酯(油酸甲酯)* | C18:1n9c | 112-62-9 | 19.26 | 1.70 | 1.92 | 1.79 | 1.79 | 2.5 |
| 14 | 十八烷酸甲酯(硬脂酸甲酯) | C18:0 | 112-61-8 | 19.43 | 7.05 | 6.95 | 7.08 | 7.03 | 1 |
| 15 | 二十碳四烯酸甲酯(花生四烯酸甲酯)* | C20:4n3 | 2566-89-4 | 20.65 | 0.96 | 0.96 | 0.92 | 0.95 | 3 |
| 16 | 二十碳五烯酸甲酯(EPA-M)* | C20:5n3 | 2734-47-6 | 20.69 | 0.85 | 0.83 | 0.90 | 0.86 | 4.2 |
| 17 | 二十碳三烯酸甲酯* | C20:3 | 55682-88-7 | 20.81 | 1.40 | 1.52 | 1.47 | 1.46 | 4.1 |
| 18 | 二十碳二烯酸甲酯* | C20:2 | 2463-02-7 | 20.97 | 1.51 | 1.60 | 1.59 | 1.57 | 3.1 |
| 19 | 二十碳烯酸甲酯(花生一烯酸甲酯)* | C20:1 | 2390-09-2 | 21.01 | 1.53 | 1.57 | 1.53 | 1.54 | 1.5 |

续表 1

| 峰序号 | 化合物名称 | 饱和度 | CAS 号 | 保留时间 min | 相对含量(%) | | | | RSD % |
|-----|--------------------|---------|-------------|-------------|---------|------|------|------|----------|
| | | | | | 1 | 2 | 3 | 平均值 | |
| 20 | 二十烷酸甲酯(花生酸甲酯) | C20:0 | 1120-28-1 | 21.22 | 0.62 | 0.72 | 0.69 | 0.68 | 7.6 |
| 21 | 二十二碳六烯酸甲酯(DHA-M) * | C22:6n3 | 301-01-9 | 22.24 | 0.22 | 0.24 | 0.25 | 0.24 | 6.5 |
| 22 | 二十二碳五烯酸甲酯(DPA) * | C22:5n3 | 108698-02-8 | 22.29 | 0.45 | 0.41 | 0.43 | 0.43 | 4.7 |
| 23 | 二十二碳四烯酸甲酯* | C22:4 | 13487-42-8 | 22.42 | 1.18 | 1.11 | 1.16 | 1.15 | 3.1 |
| 24 | 顺 13,16-二十二碳二烯酸甲酯* | C22:2 | 61012-47-3 | 22.64 | 5.81 | 5.69 | 5.79 | 5.76 | 1.1 |
| 25 | 二十二碳烯酸甲酯(芥酸甲酯)* | C22:1n9 | 1120-34-9 | 22.69 | 1.49 | 1.39 | 1.41 | 1.43 | 3.7 |
| 26 | 二十二烷酸甲酯(山萘酸甲酯) | C22:0 | 929-77-1 | 22.82 | 0.23 | 0.20 | 0.23 | 0.22 | 7.9 |
| 27 | 二十四碳烯酸甲酯(神经酸甲酯)* | C24:1 | 2733-88-2 | 24.36 | 3.99 | 3.80 | 3.99 | 3.93 | 2.8 |
| 28 | 二十四烷酸甲酯(木焦油酸甲酯) | C24:0 | 2442-49-1 | 24.68 | 0.61 | 0.72 | 0.68 | 0.67 | 8.3 |
| 总计 | | | | | | | | 100 | |

注: *代表不饱和脂肪酸

4 讨论

罗布麻蜂蜜中其他非脂肪酸甲酯类挥发性有机成分出峰较多, 脂肪酸出峰面积仅占色谱总出峰面积的 34.75%, 因此为了排除其他非脂肪酸成分对结果的影响。本文采用脂肪酸甲酯峰面积归一化法计算各脂肪酸的含量, 公式如下:

单个脂肪酸相对含量=单个脂肪酸甲酯峰面积/脂肪酸甲酯峰面积总和×100%。

将本文脂肪酸组成与含量的分析结果与朱晓玲等^[8]对荆条蜜、紫云英蜜、柑橘蜜、油菜蜜的研究作比较, 得知罗布麻蜂蜜中的脂肪酸种类更为丰富, 除含有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸等其他不同植物源蜂蜜共有的成分外, 还含有己酸、棕榈油酸、亚麻酸、花生酸、二十二碳二烯酸等多种脂肪酸; 其中己酸、十七烷酸、二十二碳二烯酸、神经酸的相对含量均比其他 4 种蜂蜜的高, 使得罗布麻蜂蜜的脂肪酸具有棕榈酸、亚油酸含量较高, 油酸含量较低的特点; 在多不饱和脂肪酸比较中, 罗布麻蜂蜜多不饱和脂肪酸含量最高, 为 47.05%。

根据质谱图分析显示, 罗布麻蜂蜜还有 2-己基-1-癸醇、对苯二甲酸二甲酯、苯乙醇等物质, 如何排除这些非脂肪酸类物质对脂肪酸测定的影响, 还有待今后做进一步完善前处理方法的研究探讨。本次实验样品中含有少量的 DHA、DPA 等植物中少见的脂肪酸成分, 作者正着手进行蜜蜂蜂蛹及成虫的脂肪

酸分析工作, 是否是由外源引入, 还是此类蜂蜜本身具有, 还有待进一步研究确证。

5 结论

本文建立了 GC-MS 法快速测定罗布麻蜂蜜中脂肪酸含量方法, 同时对罗布麻蜂蜜脂肪酸成分进行鉴定, 结果显示新疆罗布麻蜂蜜中含有 28 种脂肪酸成分, 其主要成分是亚油酸(26.57%)、棕榈酸(17.6%)、十七烷酸(7.34%)等, 其次为硬脂酸、反油酸等; 饱和脂肪酸(SFA)含量为 38.83%, 不饱和脂肪酸为 61.17%, 单不饱和脂肪酸(MUFA)含量为 14.12%, 多不饱和脂肪酸(PUFA)含量相对较高, 为 47.05%, 不饱和脂肪酸具有降低人体血液中胆固醇、调节血脂、预防心脑血管疾病等多种作用^[13-17]; 该罗布麻蜂蜜的 SFA/MUFA/PUFA 比值为 1:0.36:1.21; *n*-6 不饱和脂肪酸占 27.52%, *n*-3 不饱和脂肪酸占 3.01%, 二者比值约为 9.14:1; 反式脂肪酸总量为 6.15%。本文的数据可为罗布麻蜂蜜指纹图谱的建立、产地判别、品质分析、营养保健及其产品研发等工作提供科学依据。

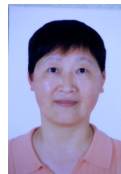
参考文献

- [1] 高双立, 管庆海. 绿色保健植物: 罗布麻[J]. 中国社区医师, 2005, 7(20): 8
Gao SL, Guan QH. Healthcare plants: *Apocynum* [J]. Chin Commun Doct, 2005, 7(20): 8
- [2] 蒋英. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1977.

- Jiang Y. Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 1977.
- [3] 张绍武, 胡瑞林, 钱学射. 我国罗布麻分布区的地理区划[J]. 中国野生植物资源, 2000, 19(4): 20–22
Zhang SW, Hu RL, Qian XS. Division of *Apocynum* in Chian [J]. Chin Wild Plant Resour, 2000, 19(4): 20–22
- [4] 赵秀芳, 赵彦杰. 罗布麻的开发利用价值及栽植技术[J]. 中国水土保持, 2005(10): 42–45
Zhao XF, Zhao JY. Cultivation techniques and exploitation of *Apocynum venetum* L. [J]. Sci Soil Water Conserv, 2005(10): 42–45
- [5] 喻春明. 罗布麻的概况及开发利用前景[J]. 中国麻作, 1996, 18(3): 40–41
Yu CM. General situation, development and utilization prospects of *Apocynum venetum* L. [J]. Chin Fiber Crops, 1996, 18(3): 40–41
- [6] 王宁, 陈斌. 柴达木盆地资源植物—罗布麻的开发利用[J]. 青海科技, 2005, (6): 15–17
Wang N, Chen B. Plant resources in Qaidam Basin—exploitation of *Apocynum venetum* L. [J]. Qinhai Sci Technol, 2005, (6): 15–17
- [7] 任辉丽, 曹君迈, 陈彦云, 等. 罗布麻的研究现状及其开发利用[J]. 北方园艺, 2008, 12(7): 87–90
Ren HL, Cao JM, Chen YY, *et al.* Current research state and exploitation of *Apocynumvenetum* L. [J]. Northern Hortic, 2008, 12(7): 87–90
- [8] 朱晓玲, 朱婕妤, 朱露, 等. 四种蜂蜜中脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J]. 食品科学, 2011, 30(16): 338–341
Zhu XL, Zhu JY, Zhu L, *et al.* GC-MS Analysis of fatty acids in four kinds of honey [J]. Food Sci, 2011, 30(16): 338–341
- [9] GB/T 18796-2005 蜂蜜[S]
GB/T 18796-2005 Honey [S]
- [10] 张坚, 刘凤云, 许子俊, 等. 青海省油菜花蜂蜜营养成分的研究[J]. 营养学报, 1995, 17(2): 234–237
Zhang J, Liu FY, Xu ZJ, *et al.* A study on the nutrition composition of rape honey in Qinghai province [J]. Acta Nutr Sin, 1995, 17(2): 234–237
- [11] 董捷, 孙丽萍, 闫继红. 我国养蜂业的发展及面向 WTO 的机遇与挑战[J]. 养蜂科技, 2004, (1): 4–5
Dong J, Sun LP, Yan JH. Development of Chinese apiculture and challenges and opportunities for the WTO [J]. Apic Sci Technol, 2004, (1): 4–5
- [12] 阎政礼, 杨明生, 李添宝, 等. 蜂蜜中葡萄糖、果糖和蔗糖 NMR 定量分析研究[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 253–255
Yan ZL, Yan MS, Li TB, *et al.* Quantitative analysis of glucose, fructose and sucrose in honey by nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. Food Sci, 2009, 30(14): 253–255
- [13] 马立红, 王晓梅. 多不饱和脂肪酸药理作用研究[J]. 吉林中医药, 2006, 26(12): 69–70
Ma LH, Wang XM. Research progress on pharmacological activities of polyunsaturated fatty acids [J]. Jilin J Trad Chin Med, 2006, 26(12): 69–70
- [14] Suzuki TF, Assies J, Roel MJ, *et al.* Maternal depression and child development after prenatal DHA supplementation [J]. J Am Med Assoc, 2011, 305(4): 359–361
- [15] Hibbeln JR. Depression, suicide and deficiencies of omega-3 essential fatty acids in modern diets [J]. World Rev Nutr Diet, 2009, 99(1): 17–30
- [16] 刘佩, 沈生荣, 阮晖, 等. 共轭亚油酸的生理学功能及健康意义[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(6): 162–163
Liu P, Shen SR, Ruan H, *et al.* Biological effect of conjugated linoleic acid and implication for health [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2009, 24(6): 162–163
- [17] Yamashita T, Oda E, Sano T, *et al.* Varying the ratio of dietary *n-6/n-3* polyunsaturated fatty acid alters the tendency to thrombosis and progress of atherosclerosis in apoE⁻/LDLR⁻ double knockout mouse [J]. Thromb Res, 2005, 116(5): 393–401

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



王建梅, 高级实验师, 主要研究方向为农产品质量安全风险评估。
E-mail: 12631499@qq.com



杨 莲, 实验师, 主要研究方向为农产品质量安全与检测技术。
E-mail: 2432510959@qq.com