

文章编号: 1004 - 1478 (2009) 04 - 0005 - 03

气相色谱法分析冬虫夏草中的脂肪酸

吴 迪^{1,2}, 潘凡达¹, 王 欣^{1,2}, 张峻松¹

(1. 郑州轻工业学院 食品与生物工程学院, 河南 郑州 450002)

2. 内蒙古昆明卷烟有限责任公司, 内蒙古自治区 呼和浩特 010020)

摘要:采用 10% 硫酸 - 甲醇衍生化, 二氯甲烷萃取和气相色谱法对冬虫夏草中的脂肪酸组成及含量进行测定, 结果表明, 该方法的回收率高 (95.83% ~ 99.38%), 重复性好 (RSD < 5%)。冬虫夏草中共分离鉴定了 8 种脂肪酸, 主要有: 油酸 (18.44 mg/g), 亚油酸 (15.32 mg/g), 棕榈酸 (4.82 mg/g), 亚麻酸 (3.66 mg/g) 等, 其中不饱和脂肪酸占 84.78%。

关键词:冬虫夏草; 脂肪酸; 定量分析; 气相色谱

中图分类号: R284.1 **文献标志码:** A

Quantitative analysis of fatty acids in *Cordyceps sinensis* by GC

WU Di^{1,2}, PAN Fan-da¹, WANG Xin^{1,2}, ZHANG Jun-song¹

(1. College of Food and Biology Eng., Zhengzhou Univ. of Light Ind., Zhengzhou 450002, China;

2. Inner Mongolia-Kunming Cigarette Co. Ltd., Hohhot 010020, China)

Abstract: A method was developed for the quantitative analysis of fatty acids in *Cordyceps sinensis* by GC. The *Cordyceps sinensis* containing adipic acid was etherified in 10% H₂SO₄ - CH₃OH, followed by extraction with methylene dichloride, and determined by GC. The results showed that method has high recovery (95.83% ~ 99.38%) and good reproducibility (RSD < 5%). The mainly organic acids in *Cordyceps sinensis* were oil acid (18.44 mg/g), linoleic acid (15.32 mg/g), palmitic acid (4.82 mg/g) and linolenic acid (3.66 mg/g), of which were 84.78% unsaturated fatty acid.

Key words: *Cordyceps sinensis*; fatty acid; quantitative analysis; GC

0 引言

冬虫夏草系麦角菌科虫草属真菌, 冬虫夏草菌寄生于鳞翅目蝙蝠蛾科昆虫幼虫上所形成的子座及幼虫尸体的复合体。冬虫夏草主要分布在我国青海、西藏、四川、云南等地海拔 3 000 ~ 5 100 m 的高

寒草甸区^[1-2]。现代药理研究表明, 冬虫夏草有调节人体免疫系统活性、抗肿瘤活性、调节肾功能、恢复肝功能、抗氧化活性、调节心血管功能等功效^[3-4]。目前对冬虫夏草的腺苷和药理成分已有大量研究报道^[5-6], 但未见对冬虫夏草中脂肪酸研究的报道。近年来的研究发现, 不饱和脂肪酸不仅影

收稿日期: 2009 - 01 - 09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20675073); 河南省高校科技创新人才支持计划资助项目 (2009HASTII026)

作者简介: 吴迪 (1973—), 郑州轻工业学院硕士研究生, 工程师, 主要研究方向为烟草化学。

通信作者: 张峻松 (1971—), 男, 河南省项城市人, 郑州轻工业学院副教授, 博士, 主要研究方向为烟草化学。

响血脂,而且有助于降低高血压病人的血压^[7].本文拟采用 10%硫酸-甲醇衍生化、二氯甲烷萃取和气相色谱法对冬虫夏草中脂肪酸的组成及含量进行研究,以为冬虫夏草进一步利用提供理论依据.

1 实验

1.1 试剂及仪器

试剂:己二酸,月桂酸,肉豆蔻酸,十五酸,十六酸,硬脂酸,油酸,亚油酸,亚麻酸, Sigma公司产;无水硫酸钠,甲醇,洛阳化学试剂厂产;氯化钠,二氯甲烷,浓硫酸,天津市科密欧化学试剂开发中心产.

仪器:安捷伦 GC 6890 气相色谱仪分析仪, FID 检测器,配自动进样器和工作站,安捷伦公司产.

1.2 10%硫酸-甲醇溶液配制

在冰冷和搅拌的条件下,将 20 mL 浓硫酸缓慢加入 180 mL 甲醇溶液中,摇匀,然后移到 500 mL 试剂瓶中,保存备用.

1.3 内标溶液的配制

在 100 mL 烧杯中称量 0.5 g 左右己二酸,加入约 50 mL 甲醇完全溶解,转移到 250 mL 的容量瓶中,加甲醇稀释至刻度.内标溶液储存条件:0℃ 冰箱内可保存 30 d.

1.4 高级脂肪酸储备液

准确称取适量的月桂酸、肉豆蔻酸、十五酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸,用甲醇溶解并定容于 100 mL 的容量瓶中,备用.

1.5 冬虫夏草的甲酯化

称取约 1 g 样品,准确至 0.1 mg,置于 100 mL 平底烧瓶内,再准确加入 40 mL 10%硫酸-甲醇溶液,加入 1 mL 己二酸内标溶液混匀后,放入 35℃ 的摇瓶柜中(转速 120 r/min),恒温振荡,酯化 24 h,将反应液倒入盛有 40 mL 饱和食盐水的分液漏斗中,分别用 10 mL 二氯甲烷萃取 3 次,合并萃取液,用饱和 NaCl 溶液洗涤 2 次,加入 5 g 无水硫酸钠干燥过夜.滤出干燥剂,滤液用二氯甲烷定容至 50 mL 容量瓶中.

1.6 气相色谱条件

HP-NNOWAX 柱型弹性石英毛细管色谱柱(30 m × 250 μm × 0.25 μm),载气为高纯氮气,流速 1 mL/min,进样口温度 280℃,进样量 1 μL,分流比 1:10,检测器温度 280℃,氢气流速 40 mL/min,空气流速 450 mL/min;辅助氮气流速 25 mL/min.程序升温初始温度 50℃,保持 2 min,然后以 4℃/min 的速率升至 240℃,并保持 5 min.

2 结果与讨论

2.1 定性分析

图 1 为冬虫夏草样品的色谱分离图.

2.2 标准曲线的测定

分别取脂肪酸的储备液 0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 3.0 mL, 4.0 mL, 5.0 mL 于 100 mL 平底烧瓶中,各加入 1.0 mL 己二酸内标溶液和 40 mL 10%硫酸-甲醇溶液,进行气相色谱分析.以各脂肪酸相应面积与己二酸相应面积比为横坐标,以各脂肪酸

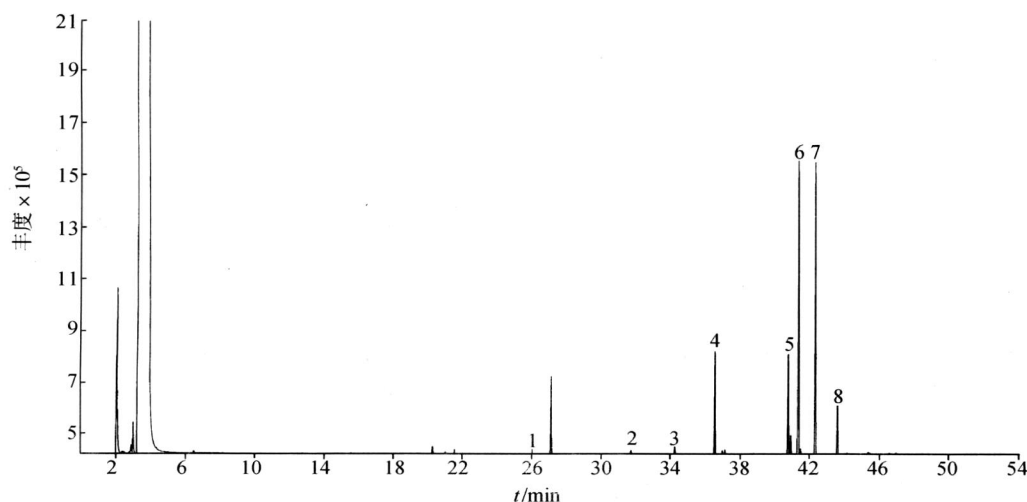


图 1 冬虫夏草样品的气相色谱图

质量与内标质量比为纵坐标绘制标准曲线,脂肪酸的标准曲线见表 1。

表 1 脂肪酸的标准曲线

脂肪酸	标准曲线	相关系数
月桂酸	$y = 0.6321x + 0.0001$	0.9995
肉豆蔻酸	$y = 0.6208x + 0.0003$	0.9998
十五碳酸	$y = 0.6203x - 0.0001$	0.9996
十六碳酸	$y = 0.5975x + 0.0029$	0.9997
硬脂酸	$y = 0.7443x + 0.0009$	0.9999
油酸	$y = 0.7448x + 0.0018$	0.9992
亚油酸	$y = 0.6411x + 0.0089$	0.9994
亚麻酸	$y = 0.6697x + 0.0098$	0.9996

2.3 重复性试验

取 6 组 0.500 g 冬虫夏草样品,在相同条件下甲酯化、萃取和在毛细管色谱柱上进行分析,根据测定结果计算变异系数(见表 2)。可以看出,各有机酸的变异系数均 < 5%,表明方法的重复性较好,可以用于冬虫夏草中脂肪酸的定量分析。

表 2 重复试验结果 ($n = 6$)

脂肪酸	标准偏差	变异系数 / %
月桂酸	0.0183	1.29
肉豆蔻酸	0.0542	0.98
十五碳酸	0.2519	1.31
十六碳酸	0.1271	1.88
硬脂酸	0.1270	0.94
油酸	0.0072	2.01
亚油酸	0.0173	3.26
亚麻酸	0.0594	2.55

2.4 前处理过程中脂肪酸的回收率

将一定量的标样化合物加入 1.0000 g 冬虫夏草中,然后将该混合物与 1.0000 g 冬虫夏草平行进行前处理操作与 GC 分析。根据各有机酸成分的测定值计算回收率,结果见表 3。可以看出,各脂肪酸的回收率都较高,因此认为该方法适于冬虫夏草中

表 3 前处理过程中脂肪酸的回收率

脂肪酸	加入量 / mg	样品含量 / mg	测定值 / mg	回收率 / %
月桂酸	0.24	0.21	0.44	95.83
肉豆蔻酸	0.46	0.32	0.77	97.83
十五碳酸	0.28	0.16	0.43	96.43
十六碳酸	4.22	4.82	8.98	98.58
硬脂酸	1.61	1.21	2.81	99.38
油酸	14.67	18.44	32.92	98.70
亚油酸	14.22	15.32	29.23	97.82
亚麻酸	4.18	3.66	7.68	96.17

脂肪酸的定量分析。

综上所述,在所测定的范围内,各成分的相关系数均在 0.9992 ~ 0.9999 之间,表明内标法标准曲线线性较好,试验重复性好,回收率高,因此选择 10% 硫酸 - 甲醇甲酯化,二氯甲烷萃取和气相色谱法能准确定量测定冬虫夏草中脂肪酸含量。

2.5 冬虫夏草中脂肪酸含量的测定

利用上述方法对冬虫夏草中脂肪酸含量进行测定,结果见表 4。

表 4 冬虫夏草中脂肪酸的测定结果

图 1 峰号	保留时间 / min	脂肪酸	分子式	含量 / %
1	19.46	月桂酸	$C_{12}H_{24}O_2$	0.021
2	25.98	肉豆蔻酸	$C_{14}H_{28}O_2$	0.032
3	31.28	十五酸	$C_{15}H_{30}O_2$	0.016
4	36.21	棕榈酸	$C_{16}H_{32}O_2$	0.482
5	40.71	硬脂酸	$C_{18}H_{36}O_2$	0.121
6	41.14	油酸	$C_{18}H_{34}O_2$	1.844
7	42.22	亚油酸	$C_{18}H_{32}O_2$	1.532
8	43.52	亚麻酸	$C_{18}H_{30}O_2$	0.366

从表 4 可以看出,冬虫夏草中含有 5 种饱和脂肪酸,占脂肪酸总质量的 15.22%,其中以棕榈酸、硬脂酸为主;含有 3 种不饱和脂肪酸,占脂肪酸总质量 84.78%,其中以油酸、亚油酸、亚麻酸为主。

近年来的研究表明^[7-8]:亚麻酸和亚油酸是人体必需的脂肪酸,在人体内可以转变为花生四烯酸,对于合成磷脂,形成细胞结构,维持一切组织的正常功能,以及对于合成前列腺素都是必要的;实验发现部分必需脂肪酸的缺失将引起生长趋缓、皮炎等,补充亚油酸和亚麻酸可预防和改善这些症状。另外,亚油酸和亚麻酸在防治心血管疾病、高血压、过敏症和抑制肿瘤生长方面有一定的功效,亚麻酸也具有营养脑细胞,调节植物神经、抑制肿瘤转移、降低冠心病发病率,提高免疫力等功效。

3 结论

本文采用 10% 硫酸 - 甲醇衍生化,二氯甲烷萃取和气相色谱法对冬虫夏草中的脂肪酸进行了定量分析。结果表明:该法重复性好、回收率高、操作简单,为定量分析冬虫夏草中脂肪酸的含量提供了参考。对实际样品测定结果表明:冬虫夏草中脂肪酸的主要成分是油酸、亚油酸和亚麻酸等不饱和脂

(下转第 43 页)

//8)指定各个列标题

objDg boolEnableInsert = false1 //9)此页面不需要新增操作

objDg bind(); //10)输出数据表格,并自动释放资源

为了美化界面,还可以给 DataGrid 配置样式表属性等.

4 结语

数据展示和维护是各类 B/S 应用系统中的重要组成部分,而数据表格的形式最适合表达数据库中二维数据表的存储信息,本文总结并抽象了传统 B/S 系统开发中数据展示的实现过程,结合了 CBSD 的开发思想,设计并实现了基于 Java 的 DataGrid 组件,专门应用于开发二维数据的展示和维护.具备松耦合特性的 DataGrid 组件可以便捷地应用于各个数据网格页面,只需简单参数配置就能显示数据表格并可进行数据的 DUS 处理,大大缩短了系统的开发周期,降低了后期的维护成本,同时也使得代码变得清晰简洁.该组件在笔者参与的项目中多次

被应用,具有较强的通用性,简单高效.

参考文献:

- [1] 舒红平,刘魁. 基于 Java 的 Web 通用查询组件设计及应用[J]. 成都信息工程学院学报, 2006, 21(3): 359.
- [2] Brian Blake M, Hamilton Gail, Hoyt Jeffrey. Using component-based development and Web technologies to support a distributed data management system[J]. Ann of Softw Eng, 2002, 13: 13.
- [3] 陆声链,林士敏,蒋望东. 基于 PowerBuilder 的动态树型目录技术[J]. 广西工学院学报, 2006, 15(2): 47.
- [4] Roger S. Software Engineering A Practitioner's Approach [M]. 5th ed 北京:清华大学出版社, 2003: 722.
- [5] Cao Min, WANG Yanyan, WU Gengfeng. A reuse approach of description for component-based distributed software architecture[J]. Comp Eng and Appl, 2005, 15: 94.
- [6] Yoshiyuki Shinkawa, Masao J Matsumoto. Software Reuse: Advances in Software Reusability [M]. Heidelberg: Springer, 2000: 9 - 37.

(上接第 7 页)

肪酸,这是人体所必需的成分,冬虫夏草不仅可供食用,还具有较高的医疗、保健价值.

参考文献:

- [1] 魏鑫丽,印象初,郭英兰. 冬虫夏草及其相关类群的分子系统学分析[J]. 菌物学报, 2006, 25(2): 192.
- [2] 靳朝霞,杨少辉. 冬虫夏草的研究进展与发展趋势[J]. 天津医科大学学报, 2005, 11(1): 137.
- [3] 章伟明,李进. 冬虫夏草化学成分研究进展[J]. 海峡药学, 2008, 20(4): 66.
- [4] 刘高强,王晓玲,杨青,等. 冬虫夏草化学成分及其药理活性的研究[J]. 食品科技, 2007(1): 202.
- [5] 梁洪卉,程舟,杨晓伶,等. HPLC 定量分析冬虫夏草的主要核苷类有效成分[J]. 中药材, 2008, 31(1): 58.
- [6] 黄兰芳,郭方道,梁逸曾,等. HPLC - ESI - MS 测定冬虫夏草和蚕蛹虫草中腺苷和虫草素含量[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(8): 761.
- [7] Mattson FH, Grundy SM. Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man [J]. J Lipid Res, 1985, 26(2): 194.
- [8] Akpinar M, Akpinar A. Total lipid content and fatty acid composition of the seeds of some *Vicia L.* species[J]. Food Chem, 2001, 74(4): 449.