

江篱中类菌孢素氨基酸(MAAs)分离纯化及其成分分析

金宁宁, 张朝辉*, 李八方, 严芳芳, 孙京沙

(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003)

摘要: 存在于海洋生物中,尤其是藻类中的类菌孢素氨基酸(mycosporine-like amino acids, MAAs),是一种吸收紫外线的物质,可用于紫外线防护品的原料,具有商业开发的前景。对湛江沿海产江篱中MAAs进行了分离和结构鉴定,确定江篱MAAs的主要组成及比例。利用C-18 Sep-Pak固相萃取柱和半制备型HPLC对湛江产江篱中MAAs成分进行分离纯化。根据化合物的特征、紫外吸收波长和波谱数据鉴定其主要成分的结构,并结合参考文献确定湛江产江篱MAAs的4种主要成分是palythine、shinorine、palythanol和porphyra-334,其比例约为4.9:1:1.2:9.9。同时,比较了UV法和HPLC法对湛江产江篱MAAs主要成分porphyra-334含量检测的准确度,建立了两种检测方法的拟合曲线,并通过试验验证,最终确立了HPLC对MAAs主要组成成分的检测方法。

关键词: 江篱; 类菌孢素氨基酸; ESI-TOF/MS; 检测方法

中图分类号: Q 517; S 917.3

文献标志码: A

江篱(*Gracilaria changii*)隶属于红藻门(Rhodophyta),真红藻纲(Florideophyceae),杉藻目(Gigartinales),江篱科(Gracilariaceae)^[1],广泛分布于热带、亚热带和温带海区,在我国主要分布于广东、海南沿海地区。类菌孢素氨基酸(mycosporine-like amino acids, MAAs)是以环己烯酮为基本骨架,与不同类型氨基酸通过胺缩合作用形成的一大类水溶性物质^[2]。由于共轭双键和不同侧链上活性基团的存在,在310~360 nm的紫外光区具有强的吸收能力,可以作为紫外防护用品的原材料,具有广阔的开发价值和应用空间。

到目前为止,从海洋生物中发现了大约有21种MAAs,而已经检测出含有这一紫外吸收物质的藻类更多达152种^[3],其中红藻和褐藻含量较高,密度较大。MASAHIRO等^[4]发现条斑紫菜生长的5个阶段中含有不同MAAs成分且其含量在不同生长阶段发生了明显变化。FIGUEROA等^[5]通过进一步研究发现紫菜MAAs提取物中

porphyra-334为抗脂质氧化活性成分。YUAN等^[6]研究发现掌状红皮藻(*Palmaria palmata*)的MAAs提取物对小鼠黑色素瘤细胞B16-F10的扩散有明显抑制作用,这一发现与THOMAS等^[7]提出的shinorine和porphyra-334与其他MAAs成分转化过程中可能产生抗氧化因子进而抑制癌细胞的推测相一致。

本研究以湛江沿海人工养殖新鲜江篱为原料,对江篱中MAAs的成分进行了分析,同时利用紫外扫描、高效液相色谱纯化及质谱技术鉴定出江篱MAAs中porphyra-334、palythine、shinorine和palythanol 4种成分,然后利用计算机拟合出了检测主要组分porphyra-334含量的曲线方程,并通过试验进行了验证。

1 材料与方法

1.1 试验材料与仪器

取2010年6月份收获于湛江沿海人工养殖江篱10 kg, -20℃冷冻保存。试剂:甲醇、乙酸

收稿日期:2011-05-26 修回日期:2011-10-10

资助项目:国家自然科学基金项目(30771674);教育部重点项目(109099)

通讯作者:张朝辉, E-mail: zhangzh@ouc.edu.cn

等分析用试剂均为色谱纯,其它试剂均为分析纯。仪器:高速冷冻离心机 GL-20G-II,上海飞鸽科学仪器厂;电子精密天平:AR2140型,Ohaus Corp. Pine Brook, NJ, USA;冷冻干燥机:ALPHA1-4LD Germany,上海斯高勒生物科技有限公司;水浴摇床:SHA-B型,常州国华电器有限公司;旋转蒸发器:RE-52AA型,上海亚荣生化仪器厂;C-18 Sep-Pak柱:Waters Sep-pak C18固相萃取小柱,美国沃特世公司;紫外-可见光谱仪:Shimadzu UV-2550 Japan,日本岛津公司;高效液相色谱仪 HPLC,配有二极管阵列检测器(DAD),四元泵,自动进样器等:Agilent-1100,美国安捷伦公司;电喷雾飞行时间质谱仪 ESI-TOF/MS:Agilent-1969A,美国安捷伦公司;分析碾磨机-A11,德国 IKA。

1.2 MAAs 成分的提取

原料预处理 取适量冻藏的新鲜江蓠,4℃条件下自然融化后,洗净、沥干水分,立即在-60℃条件下冻干36h,粉碎至20到60目。

粗提工艺 在原料预处理完成后,用25%甲醇在45℃水浴浸提2h。冷却至常温,8000 r/min,冷冻离心3次。上清液加无水乙醇调乙醇最终浓度为80%, -20℃条件下醇沉2h^[8],蛋白质、核酸及其他大分子变性沉淀后以10000 r/min,冷冻离心20min,上清液40℃减压蒸干。超纯水复溶后过C-18 Sep-Pak柱,除去色素和悬浮脂质^[9]。最后在-60℃条件下冷冻干燥36h,获得冻干粗品,备用。

1.3 MAAs 成分分析

高效液相色谱及质谱分析 取冻干粗品2.50g,定容于25mL容量瓶中,0.22μm无机膜过滤,滤液于液相色谱进行检测。

液相色谱(HPLC)条件^[10]:色谱柱为Zorbax SB-C18柱(5μm packing;250×4mm I.D);流动相为0.2%乙酸溶液(A相),色谱纯甲醇(B相),梯度洗脱t为0~30min,B%为20%~80%;流速1.0mL/min;柱温25℃;进样量100μL。

质谱(ESI-TOF/MS)条件^[11]:正离子电离模式,喷雾气压45psi,干燥气(N₂)流速10.0L/min,干燥气温度350℃,毛细管电压4500V,破碎电压(Fragmentor)100V,全扫描(Scan),参比离子质荷比:121.0509,922.0098,为参比离子对测定结果进行时时校正,以保证结

果的准确性,分辨率m/z在922.0098处为11300全扫描(Scan)质荷比(m/z)范围为120~1000。

紫外光谱扫描分析 收集MAAs液相吸收峰,收集液减压冷冻干燥。冻干样品超纯水复溶后分别在310~360nm范围内进行紫外扫描,确定不同保留时间成分的特征吸收波长。

1.4 MAAs 主要组分检测方法的建立

紫外检测方法的建立 (1)标准曲线的制备^[12]。称取MAAs主要成分porphyra-334标准品5mg(精确至0.0001g),用超纯水定容到50mL,摇匀后,取0.5,0.75,1.0,1.25,1.50,1.75,2.0,2.25,2.5mL分别置于10mL容量瓶中,稀释到刻度。以超纯水为参比液,在334nm处测定各浓度的吸光值A。以标准品浓度为横坐标,其吸光度为纵坐标绘图,得回归方程。

(2)回收率的测定。采用加样回收法^[13],取适量已知含量的样品,精密加入一定量的Porphyra-334对照品,在最大吸收波长334nm处测定OD值,同法重复试验5次,测得平均回收率。根据回归方程计算回收率, $R = R_1/R_2$ (R回收率, R_1 实测量, R_2 加入量)。

高效液相色谱检测方法的建立 (1)标准曲线方程。称取MAAs主要组分porphyra-334标准品0.02g(精确至0.0001g)于100.0mL容量瓶中,加流动相溶解并定容至刻度,混匀,吸取此标准使用液,用流动相稀释并在容量瓶中定容的浓度分别为2.0、10.0、20.0、40.0、80.0μg/mL标准系列,以标准品浓度为横坐标,峰高响应值为纵坐标绘图,得回归方程。(2)回收率试验。采用加样回收法测定回收率。

1.5 拟合方程的建立

以不同浓度的porphyra-334标准溶液为检测样品,同时采用UV法和HPLC法检测,然后运用Origin 8.0数据处理分析软件,建立UV测定结果与HPLC测定结果之间的相关性数学模型^[14]。

2 结果

2.1 江蓠中 MAAs 成分分析

检测MAAs成分的通常方法是HPLC结合紫外光谱扫描(310~360nm),而该方法最大的困难是标准品的制备,所以大多数MAAs成分的

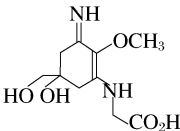
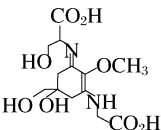
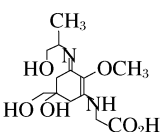
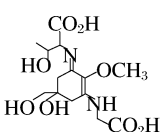
鉴定都是只根据其特定的紫外吸收波长。若在没有标准品且几种 MAA 成分特征紫外吸收波长又相近的情况下,用该法鉴定就比较困难^[15]。通过 C-18 Sep-Pak 固相萃取柱和半制备型 HPLC 进行分离纯化,然后利用 ESI-TOF/MS 得到各成分母离子 $[M+H]^+$ 的 m/z 和离子碎片图谱,根据高分辨质谱结果即可推测分子式。根据参考文献^[16]和特征紫外吸收波长可以准确确定江蓠 MAAs 主要成分。

江蓠 MAAs 液相色谱图中含有 4 个明显的主峰,通过半制备 HPLC 柱进一步纯化,得到保留时间分别为 3.567、5.624、6.373、9.471 min 的组分(表 1),说明 MAAs 提取物可能含有 4 种紫外吸收物质,而且通过各组分峰面积的比较可以发现保留时间为 3.567 和 9.471 min 的组分含量较高。由 4 种组分的一级质谱图(图 1)可以看出主要质谱峰 $[M+H]^+$ 的 m/z 分别是 245、333、303、347。利用 ESI-TOF/MS 系统配备的 Analyst QS

软件根据 4 种组分的母离子 $[M+H]^+$ 和碎片离子谱图(图 2)对其分子式进行推测,得到江蓠中 4 种活性物质的结构式(表 1),结合参考文献^[16]对分离所得 4 种化合物进行比较鉴别。最后利用紫外吸收光谱扫描检测到 4 种组分在 310~360 nm 的特征吸收波长分别为 320、334、330 和 334 nm(表 1),与各成分紫外特征吸收波长相符^[17]。

贺庆梅^[18]研究发现广东产江蓠 MAAs 的主要成分为 porphyra-334 和 shinorine,本试验中的湛江产江蓠中在 334 nm 处有特征吸收峰的 porphyra-334 含量最高,而 shinorine 含量较低,说明不同种江蓠中 MAAs 成分及含量均有差别。GRONIGER 等^[19]从海南沿海自然生长江蓠中检测出了 7 种 MAAs 成分,本试验从湛江人工养殖江蓠中只检测到了 4 种成分,但含量较高,两者差别可能是由于养殖条件及生长环境的影响。

表 1 MAAs 主要成分保留时间、分子结构、荷质比及相对峰面积
Tab. 1 Retention time, molecular structures, ESI/MS values and relative peak area of mycosporine-like amino acids

编号 no.	保留时间/min retention time	MAA 种类 mycosporine-like amin acid	分子结构式 molecular structure	$[M+H]^+$	mass	λ_{\max}/nm	相对峰面积/% relative peak area
1	3.567	palythine		245.0	244.11	320	28.6
2	5.624	shinorine		333.1	332.12	334	5.9
4	6.373	palythanol		303.1	302.15	330	6.9
5	9.471	porphyra-334		347.7	346.14	334	58.6

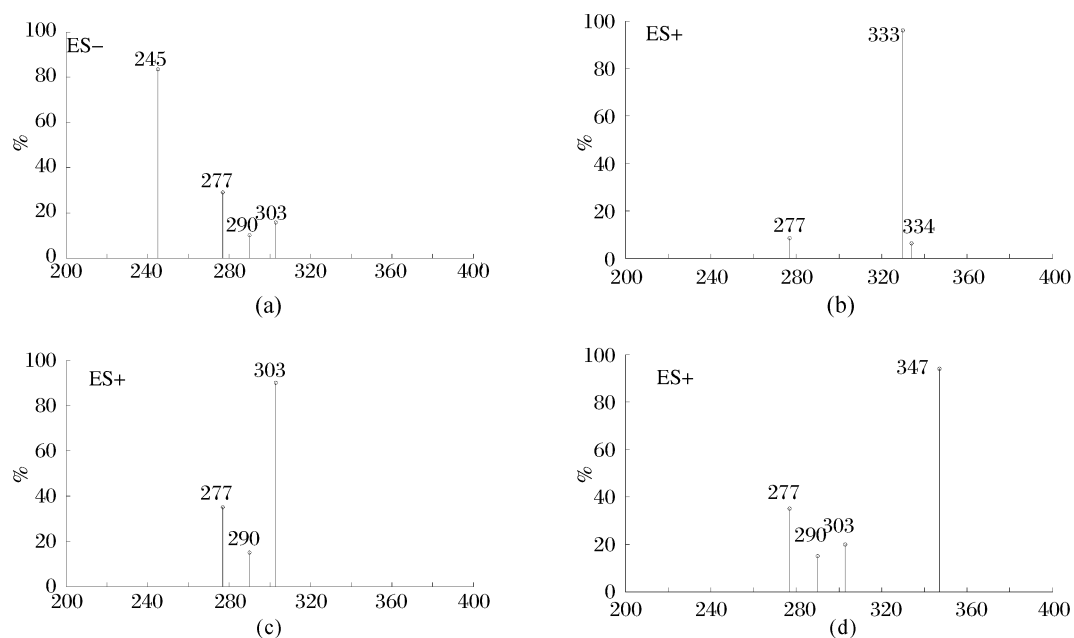
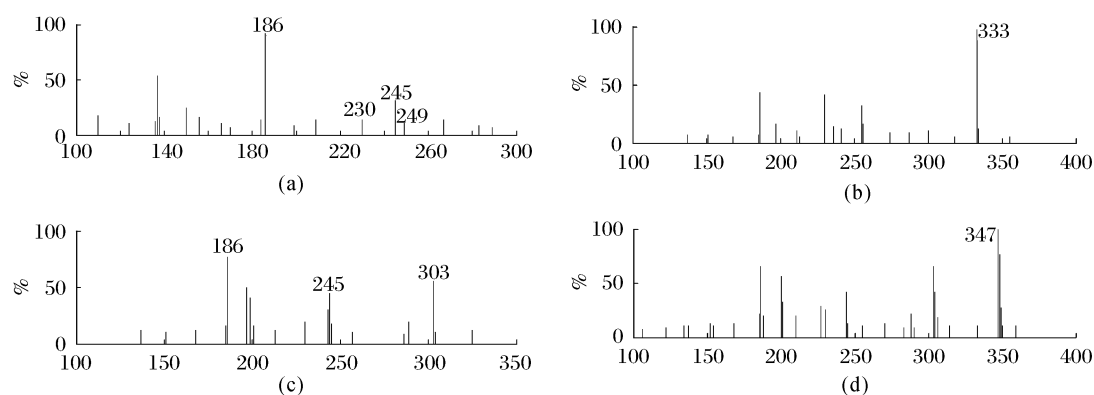


图1 MAAs 主要成分一级质谱图

Fig.1 First class scanning mass spectrum showing the $[M + H]^+$ peak of the main MAAs图2 MAAs 主要成分碎片离子和 MH^+ 准分子离子图Fig.2 Mass spectra showing the fragmentation pattern and MH^+ peak for each of the MAAs component

2.2 porphyra-334 检测方法的建立

UV 法对 porphyra-334 组分的测定 根据朗伯比尔定律 (Lambert-beer's Law), 在一定浓度范围内吸光度值与样品浓度成正比^[20]。由图 3 可知, porphyra-334 浓度在 0.005 ~ 0.06 mg/mL 时有良好的线性关系, 并求得线性回归方程为 $Y=17.128X+0.0571$, $R^2=0.9964$ 。通过表 2 可知, UV 法的平均加样回收率为 1.14%, 具有较好的准确度^[21]。

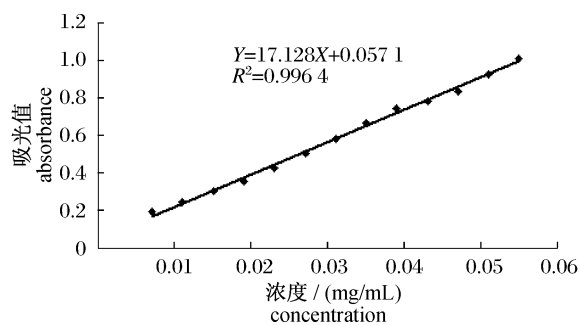


图3 UV 法测 porphyra-334 的标准曲线

Fig.3 Porphyra-334 standard curve of UV method

表 2 UV 法 porphyra-334 回收率表
Tab. 2 Porphyra-334 recovery of UV method

编号 no.	实测量/ μg actual measurement	porphyra-334 量/ μg dosage	回收率/% recovery
1	6.5	6	1.08
2	8.6	8	1.075
3	15	11	1.36
4	26	25	1.04
5	30	26	1.154

HPLC 法对 porphyra-334 组分的测定 通过计算得 HPLC 法测定江菘中 MAAs 主要组分 porphyra-334 线性回归方程为 $Y = 5065.9X + 7.0440$, $R^2 = 0.9994$, 方程显著性水平是 0.0001。porphyra-334 在 0.008 ~ 0.056 mg/mL 的浓度范围内是线性相关的,并且具有良好的线性关系(图 4)。通过表 3 可知 HPLC 法的平均加样回收率为 95.87%,说明 HPLC 法是准确和可信的^[21]。

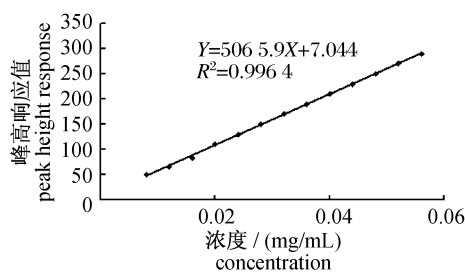


图 4 HPLC 法测 porphyra-334 标准曲线

Fig. 4 Porphyra-334 standard curve of HPLC method

表 3 HPLC 法 porphyra-334 回收率表
Tab. 3 Porphyra-334 recovery of HPLC method

编号 no.	实测量/ μg actual measurement	porphyra-334 量/ μg dosage	回收率/% recovery
1	5.732	6	95.53
2	9.643	10	96.43
3	22.867	24	95.28
4	27.109	29	93.48
5	38.473	39	98.65

拟合曲线的建立 为了分析 HPLC 法和 UV 法测定结果之间的关系,采用了线性拟合和多项式拟合的方法^[22],拟合方程为 $Y = 0.9348X - 2.5918$, $R^2 = 0.9878$ 。其中, X 轴为 UV 测定结果, Y 轴为 HPLC 测定结果(图 5)。多项式拟合见图 6,其方程为 $Y = A + BX + CX^2 + DX^3$, $A =$

-6.2091 , $B = 1.2786$, $C = -0.0073$, $D = 2.4 \times 10^{-5}$, $R^2 = 0.9918$ 。从上述拟合结果可以看出,在一定的范围内,UV 所测得结果要大于 HPLC 所测得的结果,其主要原因是在 UV 测量的过程中,除了 porphyra-334 以外其他的酚类物质在 334 nm 处也有吸收,从而为 UV 测定带来了误差^[23]。多项式拟合的相关系数 ($R^2 = 0.9918$) 略高于线性拟合 ($R^2 = 0.9878$),由此选定 $Y = -6.2091 + 1.2786X - 0.0073X^2 + (2.4 \times 10^{-5})X^3$ 为最佳拟合方程。

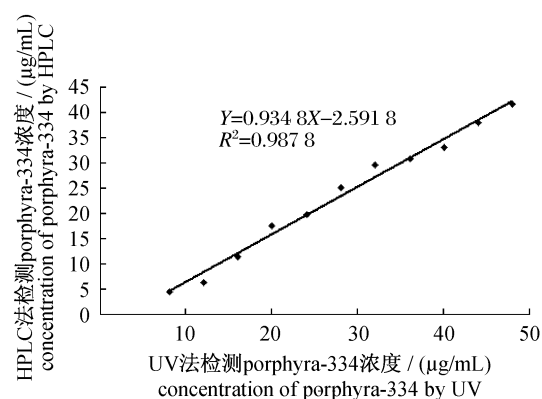


图 5 线性拟合图

Fig. 5 Linear fitting

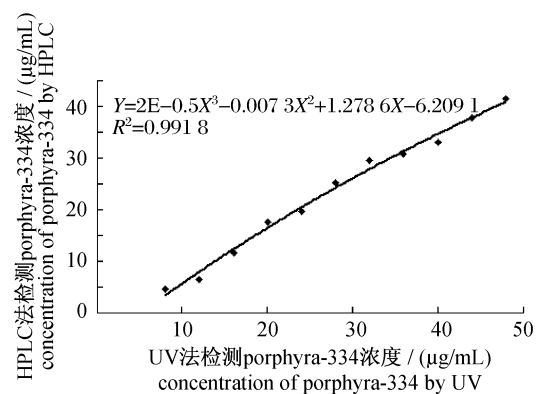


图 6 多项式拟合图

Fig. 6 Cubic polynomial fitting

拟合方程的验证 利用 UV 法对样品溶液中的 porphyra-334 进行测定,经拟合方程校正 porphyra-334 的含量,并通过 HPLC 对计算结果进行验证,结果表明在一定的浓度范围内(8 ~ 50 $\mu\text{g/mL}$),样品经拟合方程校正的浓度值与 HPLC 法所测得的结果相近, t 检验的结果表明,在 0.05 水平下,两组数据之间没有显著差异 ($P =$

0.672 2)(表4)。UV法是一般常规实验室常采用的检测方法,若样品溶液中成分比较复杂,则UV法误差较大。虽然利用HPLC检测需要时间较长,成本高,但高效液相色谱法灵敏度高。国内对紫外可见分光光度法和高效液相色谱法对

MAAs含量的测定比较研究较少,而且没有对UV测定进行校正,本研究建议在实际操作中,使用HPLC法测MAAs主要组分含量,若使用UV法则要保证样品纯度及适宜浓度,以确保试验结果的准确性。

表4 多项式拟合实验结果
Tab.4 Verification of cubic polynomial fitting results

编号 no.	UV 法测定结果/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) results by UV	拟合结果/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) fitting results	HPLC 测定结果/ ($\mu\text{g}/\text{mL}$) results by HPLC	标准偏差 SD	对照相对 标准偏差 RSD
1	8.0	3.565	2.459	0.7821	0.318
2	12.0	8.124	7.087	0.7331	0.103
3	15.5	11.945	10.897	0.7410	0.068
4	21.9	18.543	15.653	2.0435	0.131
5	25.0	21.568	20.747	0.5805	0.028
6	38.8	33.813	32.998	0.5763	0.017
7	44.9	38.656	36.845	1.2805	0.035
8	48	41.000	38.238	1.9530	0.051

3 讨论

通过紫外光谱扫描、高效液相色谱及级质谱技术对江蓠中MAAs提前物进行了成分鉴定和含量检测,发现主要有4种紫外吸收成分,根据ESI-TOF/MS结果分析推测4种成分分子量及分子结构,结合参考文献[16]判断4种成分分别是playthine, shinorine, playthiol 和 porphyra-334,其中 porphyra-334 和 playthine 的含量较高,相对峰面积分别是58.6%和28.6%。

选择江蓠MAAs中含量较高的成分 porphyra-334 建立MAA的检测方法。通过试验得到UV法和HPLC法检测 porphyra-334 含量的标准曲线及回收率,并建立了两种方法的线性拟合和多项式拟合曲线。然后试验验证拟合方程, t 检验的结果表明, HPLC法较UV法检测结果准确性更高。

该类物质在海藻生长发育及渗透调节^[24]、抗氧化功能、紫外屏障^[25]及对无脊椎动物胚胎和幼虫发育的保护上均具有重要作用。本试验虽然分离鉴定出4种纯度较高的MAAs成分,但所使用的纯化方法仅仅适用于实验室获得少量产物,若要获得大量纯度较高的MAAs成分,纯化方法有待进一步改进。贺庆梅^[18]对MAAs在防晒产品中的应用进行了初步研究,但要实现MAAs防晒产品的真正开发和应用,还需要进行产品工艺改

进、细胞毒理及动物模型等方面的深入研究。

参考文献:

- [1] 夏邦美,张峻甫.中国海藻志 第二卷 红藻门 第五册 伊谷藻目 杉藻目 红皮藻目[M].北京:科学出版社,1999.
- [2] 陈小兰,邓国宾,刘开庆,等.水生生物的紫外光防护剂——类菌胞素氨基酸[J].植物学通报,2006,23(1):78-86.
- [3] KLICH M, SINHA R P, RICHTER P R, *et al.* Mycosporine-like amino acids (MAAs) protect against UV-B-induced damage in *Gyrodinium dorsum* Kofoid[J]. Journal of Plant Physiology, 2001, 158(11):1449-1454.
- [4] MASAHIRO Y, KEISUKE T, YUMI T, *et al.* Production of new antioxidant compound from mycosporine-like amino acid, porphyra-334 by heat treatment [J]. Food Chemistry, 2009, 113(4): 1127-1132.
- [5] FIGUEROA F, ESCASSI L, PEREZ-RODRIGUEZ E, *et al.* Effects of short-term irradiation on photoinhibition and accumulation of mycosporine-like amino acids in sun and shade species of the red algal genus *Porphyra* [J]. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 2003, 69(1): 21-30.
- [6] YUAN Y V, WESTCOTT N D, HU C, *et al.* Mycosporine-like amino acid composition of the edible red alga, *Palmaria palmata* (Dulse) harvested

- from the west and east coasts of Grand Manan Island, New Brunswick [J]. *Food Chemistry*, 2009, 112(2):321-328.
- [7] THOMAS H C, DENEK K, STEVEN C P, *et al.* Distribution of mycosporine-like amino acids in the sea hare *Aplysia dactylomela*: effect of diet on amounts and types sequestered over time in tissues and spawn [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Pharmacology, Toxicology & Endocrinology*, 2000, 126(1):91-104.
- [8] 许志恒. 紫菜中抗紫外线活性物质的提取及其性质的研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2010.
- [9] 陈永平,张素青,李连庆,等. 固相萃取柱的实验方法和技巧[J]. *天津水产*, 2010, 32(4):39-41.
- [10] 高昕,贺庆梅,张朝辉,等. 两种海藻中 MAAs 抗氧化活性的研究[J]. *海洋环境科学*, 2010, 29(1):76-79.
- [11] 杜宁,高天翔,缪锦来,等. 4 种南极冰藻中抗紫外辐射活性化合物类菌胞素类氨基酸(MAAs)的初步研究[J]. *中国海洋药物*, 2007, 26(4):5-10.
- [12] 司学芝. 分析化学[M]. 北京:化学工业出版社,2010.
- [13] 韦丁,陈健. 香菇多糖含量测定过程中加样回收率的比较[J]. *食品研究与开发*, 2010, 31(10):155-157.
- [14] 唐启义. DPS 数据处理系统:实验设计、统计分析及数据挖掘[M]. 北京:科学出版社,2010.
- [15] STUART J N, WALTER C D, STEPHEN N, *et al.* Antarctic krill (*Euphausia superba*) acquire a UV-absorbing mycosporine-like amino acid from dietary algae[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, 255(1):93-110.
- [16] AHARON O. Mycosporine-like amino acids as osmotic solutes in a community of halophilic cyanobacteria[J]. *Geomicrobiology Journal*, 1997, 14(3):231-240.
- [17] KENIA W, JOHN I H. Photodegradation and photosensitization of mycosporine-like amino acids [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2005, 80(2):115-121.
- [18] 贺庆梅. 海藻中紫外线吸收物质的制备及特性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2008.
- [19] GRÖNIGER A, SINHA R P, KLISCH M, *et al.* Photoprotective compounds in cyanobacteria, phytoplankton and macroalgae—a database [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2000, 58(2-3):115-122.
- [20] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 二部. 北京:化学工业出版社,2005.
- [21] 沈祖庭. 朗伯比尔定律在兽药检验中的具体应用[J]. *中国兽药杂志*, 1998, 32(4):39-40.
- [22] 刘俊荣,薛长湖,佟长青,等. 鱼肉蛋白质在双轴湿挤压过程中系统运行稳定性的拟合模型[J]. *水产学报*, 2005, 29(2):258-262.
- [23] 胡鲜宝. 葵花粕中绿原酸的提取纯化及其抗氧化特性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2010.
- [24] CONDE F R, CHURIO M S, PREVITALI C M. The photoprotector mechanism of mycosporine-like amino acids. Excited-state properties and photostability of porphyrin-334 in aqueous solution [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 2000, 56(2-3):139-144.
- [25] RAJESHWAR P S, MANFRED K, DONAT P H. Induction of a mycosporine-like amino acid (MAA) in the rice-field cyanobacterium *Anabaena* sp. by UV irradiation [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 1999, 52(1-3):59-64.

Study on the isolation, purification and composition analysis of mycosporine-like amino acids (MAAs) in *Gracilaria changii*

JIN Ning-ning, ZHANG Zhao-hui*, LI Ba-fang, YAN Fang-fang, SUN Jing-sha

(Laboratory of Marine Bioactive Substances, Institute of Food Science and Technology,
Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Mycosporine-like amino acids (MAAs) found in marine organisms, especially in the algae were a class of ultraviolet absorption substances. To study the constituents and proportion of MAAs from *Gracilaria changii* of Zhanjiang, MAAs were separated and purified by C-18 Sep-Pak SPE and semi-preparative HPLC. Four mycosporine-like amino acids were found and were identified as palythine, shinorine, palythanol and porphyra-334, with an approximate ratio of 4.9:1.2:9.9, based on the characteristics UV absorption and spectral data. This paper compared the accuracy of UV and HPLC determination for the content of porphyra-334 which was the main component of *G. changii*, and established fitting curves of two methods. Verified by experiment, the HPLC detection for the main components of MAAs was ultimately determined. This research laid the foundation for the development and use of the UV radiation and anti-oxidative substances in the economic algae produced in our country.

Key words: *Gracilaria changii*; mycosporine-like amino acids; ESI-TOF/MS; detection

Corresponding author: ZHANG Zhao-hui. E-mail: zhangzh@ouc.edu.cn