

文章编号:1673-1689(2005)02-0107-04

海狗油中脂肪酸的组成成分

孙素玲¹, 顾小红², 汤坚², 袁身淑², 王利平², 刘扬岷²

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214036; 2. 江南大学 分析测试中心, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 研究了两种不同的衍生化方法对海狗油中脂肪酸成分分析的影响. 分别用杂环化法和甲酯化法衍生化海狗油, 应用气相色谱-质谱联用法对海狗油中含有的脂肪酸成分进行分析, 结果发现: 用杂环化法衍生化海狗油, 再经 GC/MS 分析可分离鉴定出 30 个峰, 30 种成分, 并能对长链多不饱和脂肪酸的双键位置进行准确地定位; 用甲酯化法衍生化海狗油, 再经 GC/MS 分析只能分离出 25 个峰, 15 种成分得到鉴定(有的峰为同一种成分), 有两个峰未确定, 且双键数目相同而位置不同的脂肪酸的色谱峰分离不够理想. 总体而言, 杂环化衍生化法优于甲酯化衍生化法.

关键词: 海狗油; 多不饱和脂肪酸; 气相色谱-质谱; 杂环化法; 甲酯化法

中图分类号: O 623. 61

文献标识码: A

The Analysis and Study of Fatty Acid Components in Seal Oil

SUN Su-ling¹, GU Xiao-hong², TANG Jian², YUAN Shen-shu², WANG Li-ping², LIU Yang-min²

(1. School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China; 2. Testing & Analysis Center, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: Seal oil was derivated with heterocyclicization method and methyl esterization method respectively, and analyzed with GC/MS. The result showed that, Ge profill had 30 peaks, 30 compounds were indentified, and the double bonds in long-chain polyunsaturated fatty acids could be accuratoly loeated, under the case of derivating seal oil with heterocyclicization method. On the other hand, when using methyl esterization method, the GC profile showed 25 peaks, 15 compounds were indentified, same numbers of chromatogram peaks for double bond fatty acids were found but with different position and bad isolation. In summary, heterocyclicization method is better than methyl esterization method.

Key words: seal oil; polyunsaturated fatty acids; GC/MS; heterocyclicization; methyl esterization

海狗油富含二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, 简称 EPA)、二十二碳五烯酸(docosapentaenoic acid, 简称 DPA)、二十二碳六烯酸(docosa-

hexaenoic acid, 简称 DHA)等多种 ω -3 系多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acids, 简称 PUFA), 其中 DPA 是海狗油所独有的特征性成分之一. 国

收稿日期: 2004-02-24; 修回日期: 2004-04-24.

作者简介: 孙素玲(1978-), 女, 安徽阜阳人, 食品科学硕士研究生.

万方数据

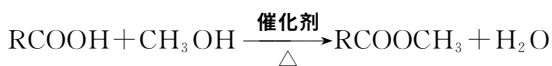
际医学研究表明,DPA也是一种人体必需脂肪酸且人体自身无法合成。海狗油中含有的多不饱和脂肪酸具有促进大脑及神经系统生长发育,降低血脂浓度,软化血管,增强免疫力,抗炎,降血压等功效^[1~3]。但海狗油中的脂肪酸成分极其复杂,尤其是含有多种长链多不饱和脂肪酸,因此必须使用一种很好的分析方法才能准确地测定各种脂肪酸的成分。

有机酸类一般极性较强,且大多数有机酸的挥发性、热稳定性较低。对样品进行衍生化处理,不仅增加了试样的挥发性和稳定性,而且扩大了气相色谱的应用范围,还改进了固定相组分吸附特性,提高了分离效果、检测灵敏度和定量可靠性^[4]。国内对海狗油脂肪酸成分分析的报道很多^[5,6],但他们在用GC/MS分析海狗油之前,一般使用将其甲酯化或乙酯化衍生化法,将其转变成相应的甲酯型或乙酯型,从而确定脂肪酸的碳原子数和双键数。而关于烯属脂肪酸的双键位置的分布的详细分析,国内尚未见报道。作者采用杂环化法衍生处理方法处理海狗油,应用GC/MS对海狗油脂肪酸中的多不饱和脂肪酸的结构进行准确分析,并比较了甲酯化和杂环化两种不同的衍生化方法对脂肪酸成分分析的影响。

1 材料与方法

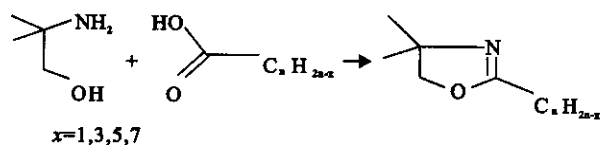
1.1 实验原理

脂肪酸的衍生处理以甲酯化法简单、快速、方便。可用氢氧化钠-甲醇溶液皂化海狗油,然后加入酯化剂三氟化硼-甲醇溶液,进行酯化反应。反应式如下:



甲酯化衍生处理样品时要尽量使样品酯化反应完全,以确保分析结果的准确性。

除此之外,另外一种衍生化方法是杂环化法。2-氨基-2-甲基丙醇易与脂肪酸(即使是长链脂肪酸)发生缩合反应,生成相应的2-烯基-4,4-二甲基噁唑啉。反应如下:



在用杂环化方法衍生化样品时必须保证2-氨基-2-甲基丙醇(AMP)适当过量^[7],这样可以防止N,O-二酰基化合物的产生。因为AMP只在质谱图

的 m/z 为58处显示一个单峰,经过毛细管分辨,AMP对分析结果的影响也最小。另外温度也要足够高,因为反应如在低温下进行时,会产生少量不纯的非完全环化的N-酰基中间体,也会干扰图谱。

1.2 仪器与试剂

GC-2000/Trace MASS型气相色谱-质谱连用仪(GC-MASS);美国FINNIGAN公司产品;2-氨基-2-甲基丙醇;Fluka Chemie AG产品;氢氧化钠,二氯甲烷,氯化钠,甲醇,正己烷:AR,中国医药(集团)上海化学试剂公司产品;三氟化硼-乙醚溶液:分析测试中心王林祥老师馈赠;海狗油:纳米比亚出产。

1.3 样品处理

1.3.1 海狗油的杂环化反应 根据参考文献^[7]进行。

1.3.2 海狗油的甲酯化反应 取海狗油样品约0.1 g于10 mL具塞试管中,加入0.5 mol/L氢氧化钠-甲醇溶液2 mL,60℃水浴中加热至油珠完全消失(约30 min)。冷却后加入质量分数为25%的三氟化硼-甲醇溶液2 mL,70℃水浴酯化15 min,冷却后加入2 mL正己烷,振摇均匀,再加入2 mL饱和氯化钠溶液振摇均匀,供分析用。

1.4 实验条件

色谱条件:OV-1701毛细管色谱柱,柱长30 m,内径0.25 mm,液膜厚度0.25 μm,载气He,分流比30:1,进样口温度250℃,接口温度250℃,起始柱温1(杂环化衍生化方法)180℃,保留2 min,以4.0℃/min升至210℃,再以3.0℃/min升至255℃,保留15.0 min,起始柱温2(甲酯化衍生化方法)180℃,保留1.5 min,再以3℃/min升至240℃,保留10 min。质谱条件:电离方式EI,电子能量70 eV,离子源温度250℃,扫描质量范围33~450。

2 结果与讨论

用杂环化衍生处理海狗油,应用GC/MS分析,测定的脂肪酸成分见表1,其总离子色谱图见图1。用甲酯化衍生处理海狗油,应用GC/MS分析,测定的脂肪酸成分见表2,其总离子色谱图见图2。

由表1可看出:用杂环化衍生化法共鉴定30种不同碳链长度、双键位置和双键数目的脂肪酸成分;由峰面积归一化法计算各成分质量分数,多不饱和脂肪酸达21.04%,其中EPA为4.61%,DHA为8.83%,DPA为3.30%。

由表2可看出:用甲酯化衍生化法共分离25个峰,15种脂肪酸成分得到鉴定(有些峰为同一种成

分),其中有两个峰未确定;由峰面积归一化法计算各成分质量分数,多不饱和脂肪酸达 27.27%,其中 EPA 为 7.24%,DPA 为 5.22%,DHA 为10.31%.

表 1 杂环化衍生处理海狗油所测定的脂肪酸成分
Tab.1 Components of fatty acids in seal oil with heterocyclization

峰号	脂肪酸名称	保留时间/ min	质量分数* /%
1	十四碳酸	16.79	9.73
2	十五碳酸	19.13	0.47
3	十六碳酸	21.52	18.83
4	4-十六烯酸	21.70	0.38
5	5-十六烯酸	21.81	0.54
6	9-十六烯酸	22.14	11.32
7	9,12-十六二烯酸	23.59	0.83
8	十七碳酸	23.71	0.48
9	7-十七碳烯酸	24.25	0.85
10	6,9,12-十六碳三烯酸	25.53	0.72
11	十八碳酸	25.97	3.29
12	7-十八碳烯酸	26.12	1.36
13	9-十八碳烯酸	26.40	22.89
14	11-十八碳烯酸	26.60	4.71
15	9,12-十八碳二烯酸	27.46	0.98
16	5,14-十八碳二烯酸	27.98	0.54
17	8,11,14-十八碳三烯酸	28.66	0.31
18	6,9,12,15-十八碳四烯酸	29.47	0.43
19	8,11,14,16-十八碳四烯酸	29.89	0.37
20	二十碳酸	30.10	0.31
21	9-二十碳烯酸	30.35	0.45
22	11-二十碳烯酸	30.53	1.45
23	8,11-二十碳二烯酸	31.12	0.34
24	5,8,11,14-二十碳四烯酸	32.51	0.42
25	8,11,14,17-二十碳四烯酸	33.55	0.34
26	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	33.95	4.61
27	4-二十二碳烯酸	34.29	0.61
28	5-二十二碳烯酸	35.91	0.33
29	5,10,13,16,19-二十二碳五烯酸	37.78	3.30
30	4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	38.16	8.83

* 质量分数按峰面积归一化计算.

表 2 甲酯化衍生处理海狗油所测定的脂肪酸成分
Tab.2 Components of fatty acids in seal oil with methyl esterization

峰号	脂肪酸名称	保留时间/ min	质量分数* /%
1	十四碳酸	5.06	8.77
2	未定出	5.36	0.47
3	十五碳酸	6.49	0.49
4	9-十六碳烯酸	7.97	0.40
5	9-十六碳烯酸	8.06	10.53
6	十六碳酸	8.23	17.40
7	9,12-十六二烯酸	8.31	1.72
8	十七碳酸	9.42	0.40
9	十七碳酸	9.94	0.49
10	十七碳酸	10.20	0.49
11	9-十八碳烯酸	12.08	21.85
12	9-十八碳烯酸	12.19	5.31
13	十八碳酸	12.40	4.89
14	9,12-十八碳二烯酸	12.53	0.62
15	5,8,11,14-二十碳四烯酸	16.33	0.53
16	8,11-二十碳二烯酸	16.53	0.38
17	11-二十碳烯酸	16.65	0.65
18	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	16.73	6.81
19	11-二十碳烯酸	16.87	0.32
20	9,12-十八碳二烯酸	17.03	0.97
21	5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	19.23	0.43
22	5,8,11,14-十八碳四烯酸	20.93	0.28
23	4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	21.36	10.31
24	5,8,11,14,17-二十二碳五烯酸	21.59	5.22
25	未定出	27.73	0.26

* 质量分数按峰面积归一化计算.

比较表 1 和表 2 可看出:用杂环化衍生处理海狗油比用甲酯化衍生处理海狗油多分离 15 种脂肪酸,如十六碳三烯酸、十七碳一烯酸、十八碳三烯酸和十八碳四烯酸等;并且用甲酯化衍生处理海狗油时,有些碳链长度和双键数目相同而双键位置不同的脂肪酸分离不够理想,例如十六碳一烯酸、十八碳二烯酸、二十碳一烯酸等.从质谱图也可看出,用甲酯化衍生处理海狗油时,其分子离子峰信号没有用杂环化衍生处理海狗油的强,可鉴定峰也相对较少.即使国内其它文献报道的用甲酯化衍生处理海狗油,应用 GC/MS 分析也只分离 25 种脂肪酸,没有对脂肪酸的双键位置进行定位.这是因为脂肪酸

遭受高能电子轰击时双键电子容易沿着脂肪链迁移^[7],造成键断裂后形成的碎片离子出现多种可能,双键位置的判定有相当的困难.而甲酯衍生物不能阻止电子迁移,故这种转变只能用于分析简单的含单、双烯脂肪酸样品,而不适用于分析含多不

饱和脂肪酸样品.而杂环化衍生法将脂肪酸转变成与其相应的 2-烯基-4,4-二甲基噁唑啉,从而提高电荷的稳定性,并减小氢键形成的趋势,因此可以阻止双键的迁移(其具体原因尚待进一步探讨),并且能获得更多关于脂肪链上双键位置的质谱图信息.

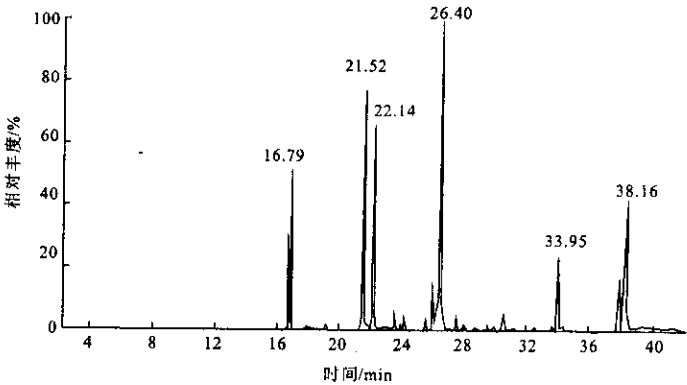


图 1 杂环化衍生法测定的脂肪酸成分的总离子色谱图

Fig. 1 Reconstructed ion chromatogram of fatty acids components in seal oil with methyl esterization

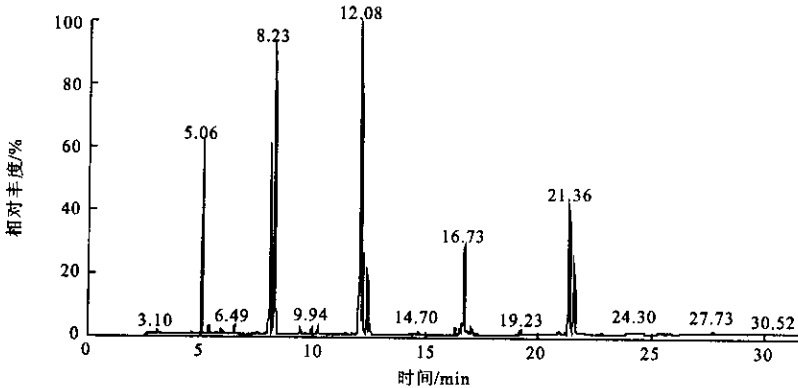


图 2 甲酯化衍生法测定的脂肪酸成分的总离子色谱图

Fig. 2 Reconstructed ion chromatogram of fatty acids components in seal oil with heterocyclization

3 结 论

从分析结果可以看出,在用不同衍生化方法处理海狗油,再联合 GC/MS 分析其中脂肪酸成分时,

杂环化衍生法明显优于甲酯化衍生法.利用杂环化衍生法衍生化海狗油时,不仅反应简单,而且能较准确地测定其多不饱和脂肪酸的双键位置.

参考文献:

[1] 林兰,忻余,徐康森.海狗油多烯脂肪酸的开发利用[J].药学进展,2002,(1):30—32.
[2] Leaf A. Cardiovascular effects of n-3 fatty acids[J]. JAOCS,1988,(3):318—349.
[3] Bente Deutch. N-3 PUFA from fish-or seal oil reduce atherogenic risk indicators in danish[J]. Nutrition Research,2002,20(8):1065—1077.
[4] 史景江,马熙中.色谱分析法[M].重庆:重庆大学出版社,1995.
[5] 汪成东,卫煜英,袁培林,等.海狗油脂脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J].分析化学,2002,30(5):634—634.
[6] 林兰,徐康森. GC/MS 法测定海狗油中不饱和脂肪酸[J]. 药学进展,2002,26(4):229—231.
[7] J Y Zhang, Q T Yu, B N Liu, et al. Chemical modification in mass spectrometry IV-2-alkenyl-4,4-dimethyloxazolines as derivatives for the double bond location of long-chain olefinic acids[J]. Biomedical and Environmental Mass Spectrometry, 1988,(15):33—44.