

文冠果油中脂肪酸成分的色-质谱法鉴定

李 军 李霞冰 姚家彪**

(中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110015)

摘要 本文采用远端(羧基端)化学修饰新技术, 将脂肪酸制成其 2-烷基取代-4,4-二甲基噁唑啉衍生物, 用气相色谱-质谱法结合尿素包合法对中国特有植物文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bge.)种仁油中脂肪酸进行了深入研究, 鉴定了 12 种脂肪酸组分。其中, 廿碳二烯-11,14-酸和廿四碳烯-15-酸被首次确定了双键位置, 为不常见的不饱和脂肪酸, 其他 10 种与常规分析结果相符。本文还对制备衍生物的方法进行了探讨。

关键词 气相色谱-质谱; 文冠果; 脂肪酸; 2-烷基-4,4-二甲基噁唑啉

Identification of fatty acids in the kernel oil of *Xanthoceras sorbifolia* Bge. with GC-MS

Li Jun, Li Xia-Bing and Yao Jia-Biao (Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shenyang 110015), *J. Plant Resour. & Environ.* 1993, 2(2): 28~32

The fatty acid constituents of the kernel oil from *Xanthoceras sorbifolia* Bge. have been analyzed with GC-MS combined with urea adducts formation. Before analysis, the fatty acids in their mixture were synthesized to their 2-alkyl-substituted 4,4-dimethyl-oxazoline derivatives with a new technique of remote functional group (carboxyl group) chemical modification. Twelve kinds of fatty acids were identified locating the position of the double bonds in the unsaturated fatty acids. The structure of eicosa-11, 14-dienoic acid and tetracos-15-enoic acid were determined for the first time, and are uncommon unsaturated acids. This method possesses the advantages of accuracy, directness and rapidity. Two derivatizing methods were used and the results indicated that they had provided exactly the same information for the GC-MS analysis of structure of the derivatives.

Key words gas chromatography-mass spectrometry; *Xanthoceras sorbifolia* Bge.; fatty acids; 2-alkyl-4,4-dimethyl-oxazoline

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bge.)系无患子科文冠果属植物, 又名文官果、崖木瓜和温且革子等, 是我国特有植物, 原产黄土高原, 现广泛分布于北方地区。它除有很强的防风固沙、改善干旱地区生态环境的作用外, 也是优质的食用油料植物; 蒙药中用其治疗风湿性关节炎, 民间用于治疗遗尿症, 我们正将其研制成国家一类新药及制剂。文冠果种仁含油量高达 60%, 经药理试验证明具有较强的抗胆固醇的活性。为更好地利用这一珍贵的植物资源, 本文对其种仁油中脂肪酸组分进行了较深入的研究。前人曾用气相色谱法⁽¹⁾和双柱色谱分析

收稿日期 1992-12-12

* 本文承蒙邓玉斌先生审阅, 郭煜、张丽珊、胡连生、王红斗先生及王世成等同志大力支持, 特此感谢。

** 王颜红同志参加部分工作。

法^[2]进行研究,方法比较间接,因没有标准品而未能确定双键位置,且仅限于推测廿碳二烯酸和廿四碳烯酸的存在,而无法下定论。本文用气相色谱-质谱法克服了以上方法的不足,另外也不需将各脂肪酸组分分离出来,避免了繁杂的操作及脂肪酸结构的破坏;而远端化学修饰技术^[3]保证了脂肪酸分子在常规质谱中具有较高的电荷稳定性,双键位置固定不变。色谱-质谱法与远端化学修饰技术二者的结合使混合脂肪酸的分析鉴定快速而准确。本文还应用尿素包合法^[3]富集某些含量低的脂肪酸以利其检出。

实 验 部 分

1. 样品、主要试剂和仪器

文冠果种子采自内蒙古昭盟乌丹经济林场,种仁油经氢氧化钾-甲醇溶液皂化、稀盐酸酸化后得游离脂肪酸混合物。

2-氨基-2-甲基丙醇(AMP,瑞士产);其余试剂均为分析纯;实验用水为去离子水。

KYKY-7070E-HF 色谱-质谱-计算机联用仪(中国科学院科学仪器厂);100型气相色谱仪(上海分析仪器厂);岛津C-R1B数据处理机。

2. 实验方法与条件

(1) 通过远端(羧基端)基因修饰(加入AMP)将脂肪酸(RCH_2COOH)制备为其噁唑啉衍生物($RCH_2CONHC(CH_3)_2CH_2OH$),反应中生成少量副产物 ester amide ($RCH_2CONHC(CH_3)_2CH_2OCOCH_2R$)。方法有:

1) 分馏催化法 使游离脂肪酸混合物与足量AMP在 $170^\circ C$ 下反应并使分馏柱支管口处温度在 $100\sim 105^\circ C$ 间,持续1h后加入少量10%氢氧化钾-乙醇溶液,0.5h后终止^[4]。检查反应完全程度,纯化,得样品1。

2) 回流法 反应物在 $170^\circ C$ 下回流反应1h后终止^[5]。检查,纯化,得样品2。

(2) 气相色谱-质谱法结合气相色谱法和尿素包合法分析混合脂肪酸的噁唑啉衍生物,鉴定脂肪酸各组分结构。

1) 将样品1和2分别用氯仿溶解,进行色谱-质谱分析。

2) 制备混合脂肪酸甲酯,进行气相色谱分析。尿素包合法富集出峰时间为41.33min的脂肪酸(见图5),将组成改变了的混合脂肪酸衍生化,得样品3,进行色谱-质谱分析。

色谱-质谱联用条件:载气He,柱前压为 0.8 kg/cm^2 (对样品1分析时,第一次为 0.5 kg/cm^2),分流 20 ml/min ;进样温度 $280^\circ C$,进样量 $2\text{ }\mu\text{l}$;色谱柱为SE-52石英毛细管柱, $25\text{ m}\times 0.2\text{ mm}$;程序升温 $170^\circ C\ \frac{5^\circ C}{\text{min}}\ 220^\circ C$ (对样品3分析时为 $30^\circ C\ \frac{10^\circ C}{\text{min}}\ 220^\circ C$), $220^\circ C$ 稳定14min, $220^\circ C\ \frac{6^\circ C}{\text{min}}\ 250^\circ C$;质谱电离方式EI,离子源温度 $200^\circ C$,电离电压70eV;加速电压6kV;分辨率800;扫描范围 $m/z\ 50\sim 450$;扫描速度 1.6435 sec/全程 ;扫描间隔1sec。

气相色谱条件:色谱柱为不锈钢柱, $2\text{ m}\times 3\text{ mm}$;固定液为10%DEGS;担体为80~100目酸洗硅烷化铬姆沙伯W;柱温 $176^\circ C$;汽化室和检测室温度 $200^\circ C$;载气 N_2 , 40 ml/min ;氢气 20 ml/min ;空气 450 ml/min ;进样量 $5\text{ }\mu\text{l}$ 。

结果与讨论

1. 根据各脂肪酸组衍生物的质谱图鉴定其结构的原理如下: (1) 若在相应原脂肪酸 n 和 $n-1$ 碳原子碎片的二相邻偶数质量系列离子间, 质量差始终为 14 质量单位, 则此酸为饱和脂肪酸; 若此质量差为 12 质量单位, 则原脂肪酸的 n 和 $n+1$ 碳原子间存在双键; (2) 若双键位于原脂肪酸的第 n 和 $n+1$ 碳原子间, 则相应原脂肪酸 $n-2$ 和 $n+2$ 碳原子碎片的离子峰都比较大幅度地强于周围峰^[5]。

2. 脂肪酸组分的鉴定结果: 分析样品 1 和样品 2 的总离子流图(图 1~图 3)及各质谱图, 两者所得结果基本相同(见表 1)。

表1 色谱-质谱法鉴定文冠果油脂肪酸组分

Tab 1 Identification of fatty acids in the kernel oil of *Xanthoceras sorbifolia* with GC-MS

色谱峰号 GC peak No.	2-烷基-4,4-二甲基噁唑啉 2-alkyl-4,4-dimethyl-oxazoline		质量数相差12单位的 碎片离子质谱峰对 MS peaks of fragmentary ions in pairs with 12-mass spaced	相应的脂肪酸 Corresponding fatty acid	
	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight		通用名称 Common name	符号 Symbol
1	$C_{20}H_{39}NO$	309		棕榈酸	16:0
2	$C_{22}H_{39}NO$	333	196与208, 236与248	亚油酸	18:2 $\Delta^{9,12}$
3	$C_{22}H_{41}NO$	335	196与208	油酸	18:1 Δ^9
3'	$C_{22}H_{37}NO$	331	196与208, 236与248, 276与288	亚麻酸	18:3 $\Delta^{9,12,15}$
4	$C_{22}H_{43}NO$	337		硬脂酸	18:0
5'	$C_{24}H_{43}NO$	361	224与236, 264与276	廿碳二烯-11,14-酸	20:2 $\Delta^{11,14}$
5	$C_{24}H_{45}NO$	363	224与236	廿碳烯-11-酸	20:1 Δ^{11}
6	$C_{24}H_{47}NO$	365		花生酸	20:0
7	$C_{26}H_{49}NO$	391	252与264	芥酸	22:1 Δ^{13}
8	$C_{26}H_{51}NO$	393		山萘酸	22:0
9	$C_{28}H_{53}NO$	419	280与292	廿四碳烯-15-酸	24:1 Δ^{15}
10	$C_{28}H_{55}NO$	421		木焦油酸	24:0

表中9号和10号两峰是在分析样品1时加大了柱前压(0.8 kg/cm²)条件下检出的(见图1, 图2)。另外, 表中3'号和5'号峰分别埋于3号和5号大峰中, 通过计算机的特征质谱峰检索而鉴定, 其中亚麻酸衍生物(3'号峰)的特征质谱峰检索图见图7。而对5'号峰的特征质谱峰检索发现, 相应于图5中41.33 min 色谱峰的脂肪酸为廿碳二烯-11, 14-酸, 但因其埋入含量较高的廿碳烯-11-酸衍生物峰内而质谱信息较弱, 见图6(a)。为确证其存在, 对样品3进行特征质谱峰检索分析。样品3的总离子流图(图4)上 scan 534处与样品1的总离子流图上 scan 742处的质谱图中, 都同时具有廿碳烯-11-酸衍生物和廿碳二烯-11, 14-酸衍生物的两套系列离子峰, 并且在这两处, 廿碳二烯-11, 14-酸衍生物的总离子强度都最强(图8)。比较两者中廿碳二烯-11, 14-酸衍生物与廿碳烯-11-酸衍生物的相对质谱峰强, 发现此峰强比在富集了廿碳二烯-11, 14-酸的样品3中比样品1中要高几倍[图6(d)和(a)]。这进一步说明廿碳二烯-11, 14-酸存在。

3. 分馏催化法在反应完全程度和衍生物色谱-质谱分析所得质谱图的典型性方面优于回流法, 但由回流法制备的衍生物在色谱-质谱分析中显示与分馏催化法相同的脂肪酸定性方面的信息, 同时具有简便易行的优点。

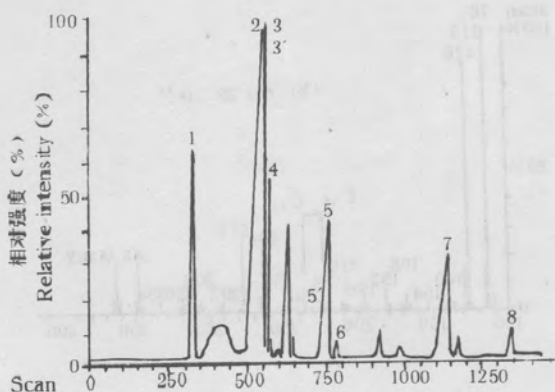


图1 样品1的总离子流图(柱前压0.5 kg/cm²)

Fig 1 TIC tracings of sample 1 (pressure before the column is 0.5 kg/cm²)

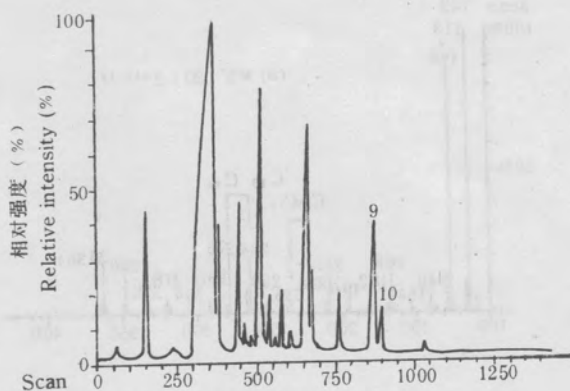


图2 样品1的总离子流图(柱前压0.8 kg/cm²)

Fig 2 TIC tracings of sample 1 (pressure before the column is 0.8 kg/cm²)

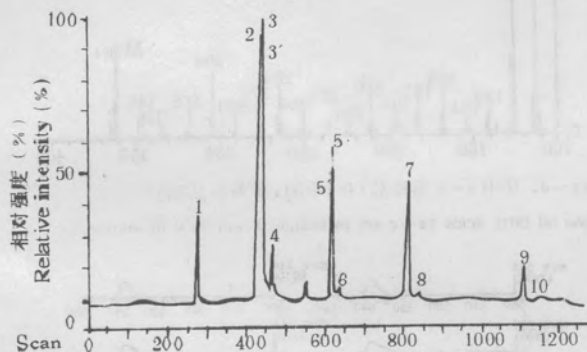


图3 样品2的总离子流图

Fig 3 TIC tracings of sample 2

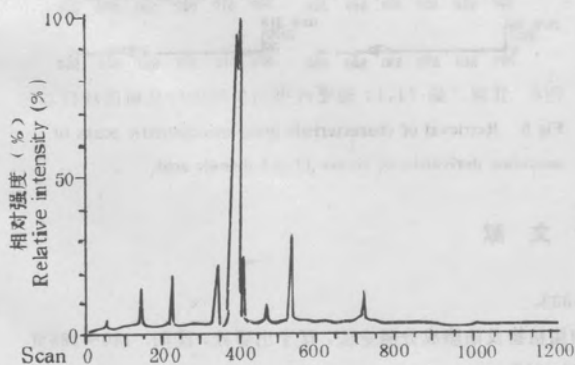


图4 样品3的总离子流图

Fig 4 TIC tracings of sample 3

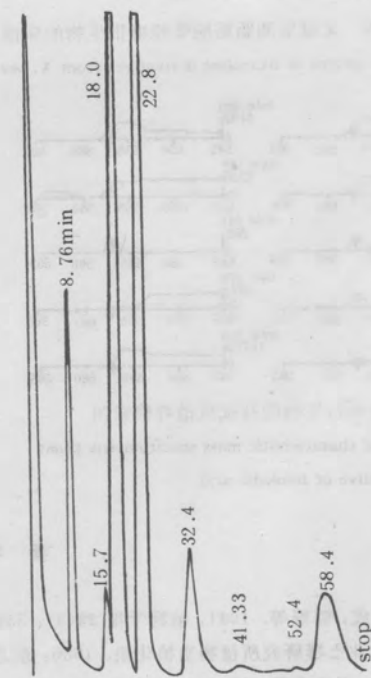


图5 文冠果油混合脂肪酸甲酯的气相色谱图

Fig 5 Gas liquid chromatography of fatty acid methyl ester mixture of *Xanthoceras sorbifolia* oil

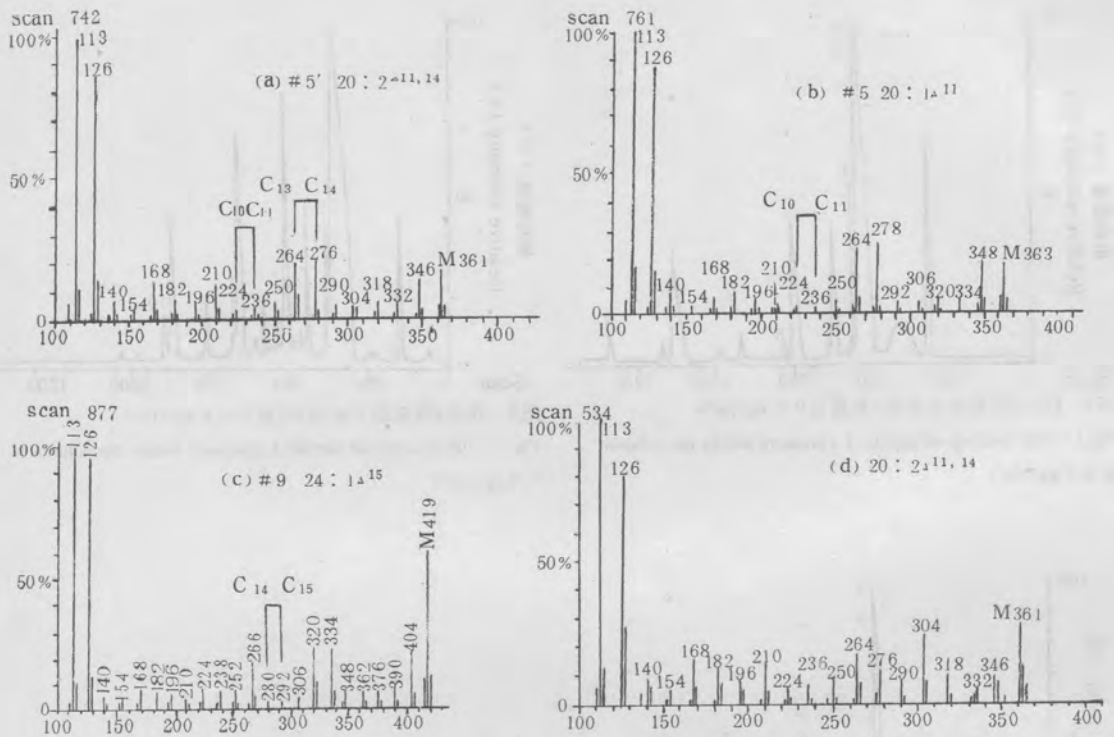


图6 文冠果油脂脂肪酸噁唑啉衍生物的质谱图(a~d, 其中a~c为样品1和2中的; d为样品3的)

Fig 6 Mass spectra of oxazoline derivatives from *X. sorbifolia* oil fatty acids (a~c are in sample 1 and 2; d in sample 3)

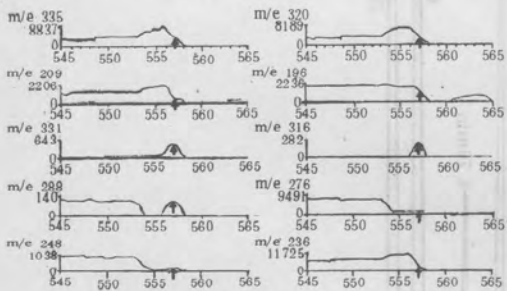


图7 亚麻酸噁唑啉衍生物的特征质谱峰检索图
Fig 7 Retrieval of characteristic mass spectrometric peaks of oxazoline derivative of linolenic acid

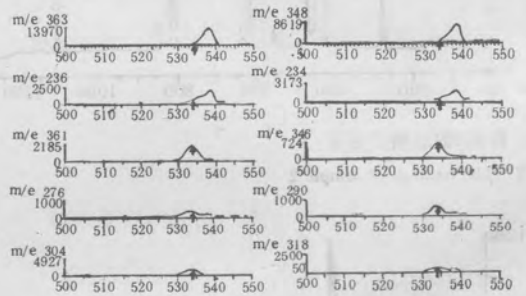


图8 廿碳二烯-11,14酸噁唑啉衍生物的特征质谱峰检索图
Fig 8 Retrieval of characteristic mass spectrometric peaks of oxazoline derivative of eicosa-11,14-dienoic acid

参 考 文 献

- 1 王红斗, 韦业成, 郭煜等. 1981: 植物学报 23(4): 331~333.
- 2 中国科学院林业土壤研究所植物室植化组. 1980: 东北油脂植物及油脂成分测定法, 辽宁出版社, 沈阳. 180~186页.
- 3 郭煜, 王红斗, 王亚杰等. 1982: 云南植物研究 4(3): 302, 312.
- 4 Serota S, J R Simon, E B Murray et al. 1981: *J. Org. Chem.* 46: 4147~4151.
- 5 Zhang J Y, Q T Yu, B N Liu et al. 1988: *Biomedical and Environmental Mass Spectrometry* 15: 33~44.

(责任编辑: 邱敬萍)