

场解吸质谱分析天然油脂的研究

苏克曼 何亦华 王 复

(华东化工学院分析测试中心)

〔摘要〕 本文利用场解吸电离质谱 (FDMS) 直接测定天然油脂中混合脂肪酯甘油酯的分子量, 为甘油三酸酯的组成提供了最基础的数据, 并通过对数据分析的方法计算出甘油三酸酯中不同碳数脂肪酸的分布, 不同碳数脂肪酸的比例和平均双键数。但是这一方法不能提供各种脂肪酸在甘油酯中的具体位置。

一、引 言

天然油脂的主要成份是脂肪酸甘油三酸酯。由于天然油脂中一般含有 5~8 种不同的脂肪酸, 各种脂肪酸以不同的比例和不同的排列方式可能构成几十种不同的甘油三酸酯, 这些组份性质相近, 分离分析相当困难。目前广泛采用气相色谱 (GC) 分析方法即通过酯交换反应将脂肪酸甘油酯转化为相应的甲酯, 然后用气相色谱法或气相色谱/质谱联用法 (GC/MS) 进行分离、分析。该方法的主要缺点是不能描述各种脂肪酸在甘油酯中的分布情况, 而这一分布情况直接影响油脂的性质和用途, 这就引起了人们对直接分离、分析油脂方法的重视。传统的分离方法^[1]基本上是利用各种组份凝固点和溶解度的细微差别, 将不同类型的甘油酯分成几组, 然后再用 GC 法测定其中的脂肪酸, 这种方法操作复杂, 分离效果不理想, 且甘油三酸酯的组成确定仍然是间接的。近年来色谱技术开始用于直接分析甘油三酸酯^[2,3], 特别是薄层色谱与高压液相色谱结合的分析方法取的较好结果^[4], 但定性鉴定所需的标样很难获得。本工作是基于不同组份分子量的差别, 用质谱的场解吸电离技术 (FDMS) 直接测定未经分离或其它处理的八种天然油脂, 然后用数据分析方法获得其组成信息。并用 GC 和 GC/MS 分析结果以及文献值^[1,5]加以验证。

二、实验和数据分析方法

(一) 仪器及试剂

1. 仪器: 日立 M-80 型色质联用仪 (及配套的 M-003 计算机); 上海分析仪器厂 102G 气相色谱仪 (配有岛津公司 CE-1B 数据处理器); APPLE-II 微机。

2. 油脂样品: 豆油、菜油、麻油、橄榄油 (商品食用油); 猪脂、鸡脂 (分别用相应动物脂肪熬制); 核桃仁油 (用正己烷和苯萃取核桃仁所得); 米糠油 (中国科技大学提供)。

1987年5月19日收

3. 试剂: 正己烷、苯、甲醇、正庚烷、氢氧化钾均为分析纯试剂。

(二) 实验方法及条件

1. 油脂的场解吸质谱分析 (FDMS)

用日立M-80型色质联用仪的FD电离技术直接测定上述八种天然油脂, 实验条件如下:

离子源温度: 室温; 质量范围: 58-1200;

电子倍增器电压: 1.8—1.9KV;

FD发射丝: 经8—10小时苯甲腈活化处理的10 μ 钨丝;

FD发射丝电流: 20-30mA。

每个样品从开始解吸到完毕全部扫描所得的质谱由M-003计算机进行积分处理, 并以质谱数据表及棒图的形式输出。

2. 油脂的GC和GC/MS分析

(1) 油脂的甲酯化:

1g油脂加10ml正庚烷溶解。加入0.5ml 2N KOH甲醇溶液, 用力摇动至溶液变清, 约20秒钟后, 溶液由澄清变浑, 又复澄清, 甘油沉淀在溶液下面, 缓慢倒出上层的甲酯清液进行GC分析。

(2) GC分析条件

色谱柱: 5%OV-225/Chromosorb W AW DMCS 80~100目 2m $\times$ 3mm;

温度: 柱温 187 $^{\circ}$ C, 气化 300 $^{\circ}$ C, FID 250 $^{\circ}$ C;

流量: 载气 (N₂), 1.6kg/cm², 18ml/min;

Hz 40ml/min, Air 400ml/min。

(3) GC/MS分析条件

色谱条件: SE-52 40m玻璃毛细管柱, 气化、接口温度250 $^{\circ}$ C, 柱温170 $^{\circ}$ C (保持5 min), 以3 $^{\circ}$ C/min升至220 $^{\circ}$ C, 载气流量10ml/min (He)。

质谱条件: 电离电压20eV, 磁场扫描范围1—400, 磁场扫速8 $\times$ 1秒/全程, 离子源温度180 $^{\circ}$ C。

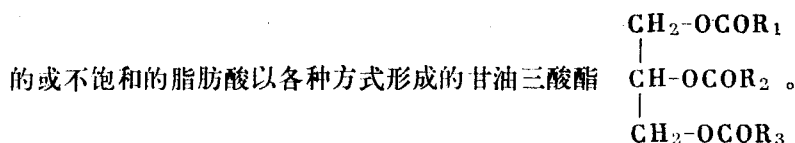
(三) 油脂的FDMS数据分析方法

各样品的FDMS数据分析是在APPLE-II微机上进行的。计算公式附录于后。

三、实验结果与讨论

(一) 油脂的FDMS特征

实验结果表明, 在FD条件下, 甘油三酸酯只生成分子离子 (M⁺) 和准分子离子 ((M + H)⁺) 峰。本工作所测定油脂的FDMS谱图具有明显的特征, 在m/z800—900 (对菜油来说是800—1100) 范围内, 数个m/z连续的峰形成几乎是等距离间隔的簇峰组, 相邻两个峰组间相差28个质量数 (见图1)。这真实反应了天然油脂的组成和结构特点——双碳数饱和



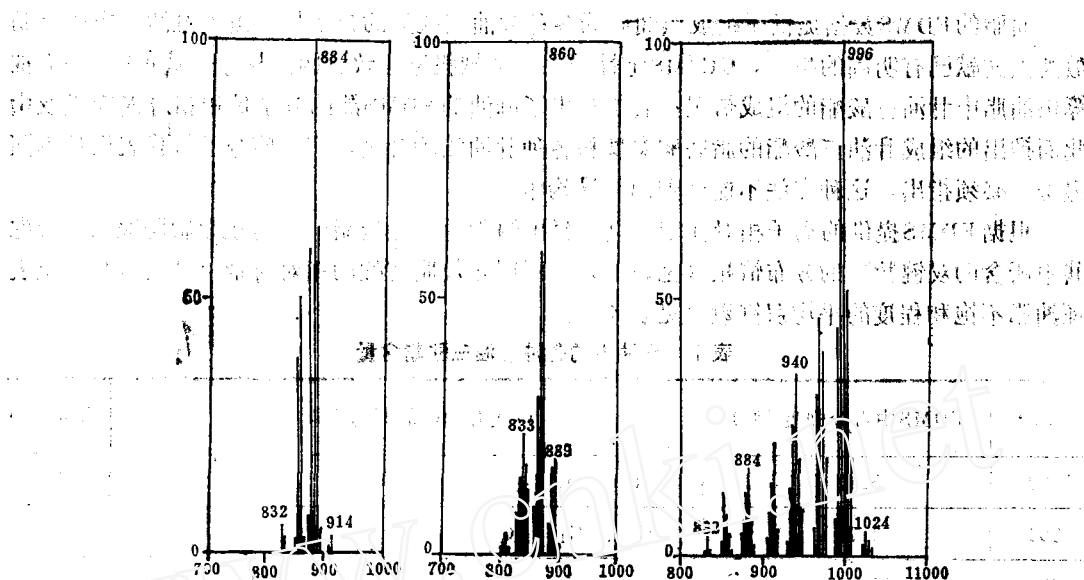


图1 各种油脂的FDMS谱图
(a) 麻油 (b) 猪脂 (c) 菜油

从FDMS谱图中峰组的位置和相对强度可以直观了解油脂中的甘油三酸酯的组成情况。例如, 豆油和麻油在 m/z 831—834, m/z 852—861, m/z 876—889有三个峰组, 它们分别对应于不同饱和程度的 $2C_{16} \cdot C_{18}$ 、 $C_{16} \cdot 2C_{18}$ 和 $3C_{18}$ 生成的甘油三酸酯, 其中以 $3C_{18}$ 脂肪酸生成的甘油三酸酯峰的强度为最大。在 m/z 914左右还有强度很低的峰组, 估计是由 $2C_{18} \cdot C_{20}$ 生成的甘油三酸酯。GC/MS测定证实了豆油、麻油中含少量的饱和二十碳酸。猪脂和鸡脂的FDMS谱图中有四个峰组 m/z 803—806, m/z 828—836, m/z 854—863, m/z 880—890, 分别对应 $3C_{16}$ 、 $2C_{16} \cdot C_{18}$ 、 $C_{16} \cdot 2C_{18}$ 、 $3C_{18}$ 构成的甘油三酸酯, 其中第三组峰, 即 $C_{16} \cdot 2C_{18}$ 最大。由此可以推断这两种动物油脂中 C_{16} 酸的含量高于上述两种植物油。在相应的组峰中, 豆油、麻油的 m/z 范围比动物油脂偏低, 这是由于植物油中含较多双键的缘故。菜油中由于大量芥酸($C_{22:1}$)的存在, 在FDMS中显示了明显的特征, 在 m/z 996附近有强的 $C_{18} \cdot 2C_{22:1}$ 生成的强峰组。

(二) 甘油三酸酯分子离子峰的确定和各种组份含量的表征

天然油脂中的甘油三酸酯一般含有几十个碳原子, 上百个氢原子, 以 ^{12}C 、 1H 、 ^{16}O 计算所得的分子量与以精密原子量计算所得的实际分子量有较大的差别。例如, 三棕榈酸甘油酯和三芥酸甘油酯的精密分子量分别为806.7338和1052.9678。因此在质谱低分辨条件下, 它们的分子离子峰的 m/z 应为807和1053。其它由 C_{16} 至 C_{22} 构成的甘油三酸酯情况相同。

混合甘油三酸酯中某一组份的含量应与该组份分子离子峰的相对强度有关。由于FDMS易生成 $(M+H)^+$, 因此应以 M^+ 和 $(M+H)^+$ 相对强度之和表征分子量为 M 的组份含量。碳的稳定天然同位素 ^{13}C 丰度约是 ^{12}C 的1.1%, 当分子中含有许多个碳原子时必须考虑 ^{13}C 对 $(M+1)^+$ 峰的贡献, 尤其是当脂肪酸的结构只相差一个双键时, ^{13}C 的贡献将影响另一组份分子离子峰的相对强度。因此, 本工作以扣除 ^{13}C 同位素贡献后的 M^+ 和 $(M+H)^+$ 峰相对强度之和表征某一组份的含量。

(三) FDMS提供的油脂组成信息

油脂的FDMS数据提供了组成该油脂的各种甘油三酸酯的分子量,由于对油脂中的脂肪酸类型文献已有明确的报道,GC/MS定性结果与文献报道一致。因此从分子量可以直接推算出油脂中甘油三酸酯的组成情况。表1列出了麻油的FDMS测的分子量和相对强度以及由此而推出的组成甘油三酸酯的脂肪酸类型和各种甘油酯的含量。有一些分子量代表两种不同组份。必须指出,这种方法不能区别同分异构体。

根据FDMS提供的离子相对强度可以计算出油脂甘油三酸酯中不同碳数脂肪酸(不考虑其中所含的双键数)的分布情报(见表2)、不同碳数脂肪酸的相对含量(见表3)以及表征油脂不饱和程度的平均双键数(见表4)。

表1 麻油中的各种甘油三酸酯含量

m/z	FDMS中百分强度(%)	构成甘油酯的脂肪类型	含量(%)
832	5.13	2C _{16:0} C _{18:2} *	1.1
854	3.76	C _{16:0} C _{18:1} C _{18:3}	0.8
855	15.35	C _{16:0} 2C _{18:2} 或C _{16:0} C _{18:1} C _{18:3}	9.4
856	39.75		
857	28.63	C _{16:0} C _{18:1} C _{18:2} 或C _{16:0} C _{18:0} C _{18:3}	11.4
858	50.43		
859	22.56	C _{16:0} 2C _{18:1} 或C _{16:0} C _{18:0} C _{18:2}	3.7
860	17.53		
861	8.08	C _{16:0} C _{18:0} C _{18:1}	0
878	8.38	2C _{18:2} C _{18:3}	1.8
879	20.37	3C _{18:2} 或C _{18:1} C _{18:2} C _{18:3}	13.1
880	56.42		
881	60.56	C _{18:1} 2C _{18:2}	22.39
882	94.87		
883	70.06	2C _{18:1} C _{18:2} 或C _{18:0} 2C _{18:2}	22.8
884	100.00		
885	63.65	3C _{18:1} 或C _{18:0} C _{18:1} C _{18:2}	9.4
886	41.23		
887	21.42	2C _{18:0} C _{18:2} 或C _{18:0} 2C _{18:1}	3.2
888	15.23		
889	9.87	2C _{18:0} C _{18:1}	0.1
914	4.13	2C _{18:1} C _{20:0} 或C _{18:0} C _{18:2} C _{20:0}	0.9

* C_x:y x—碳数 y—双键数

(四) 实验结果的可靠性

FDMS的重复性较差,为检查实验结果的可靠程度,本工作以橄榄油为样品作重复性试验。

表2 油脂的甘油三酸酯中不同碳数脂肪酸分布情况

脂肪酸分布 含量 %	3 C ₁₆	2 C ₁₆ C ₁₈	C ₁₆ 2 C ₁₈	3 C ₁₈	2 C ₁₈ C ₂₀ 或 C ₁₆ C ₁₈ C ₂₂	2 C ₁₈ C ₂₂	C ₁₆ 2 C ₂₂ 或 C ₁₈ C ₂₀ C ₂₂	2 C ₁₈ 2 C ₂₂	2 C ₂₀ 2 C ₂₂
油脂									
豆 油	0	5.89	29.28	64.84					
麻 油	0	1.1	25.3	72.79	0.9				
橄榄油	0	1.76	28.85	69.39					
米糠油	0.26	10.72	40.07	48.94					
核桃油	0	0	25.56	74.44					
菜 油	0	0.87	6.05	11.80	8.51	14.96	20.69	34.72	2.39
猪 脂	1.81	19.32	64.08	14.78					
鸡 脂	1.73	16.36	54.86	27.05					

表3 油脂的甘油三酸酯中不同碳数脂肪酸相对含量

含量 (%)	脂 肪 酸	C ₁₆ (或 C ₂₂ *)			C ₁₈		
		FD测定	GC测定	文献值	FD测定	GC测定	文献值
油 脂							
	豆 油	13.7	11.3	11.5	86.3	88.2	88.5
	麻 油	10.3	12.0	7.2—12.3	89.7	88.0	89.8—92.7
	橄榄油	10.8	14.0	9.5—13.9	89.2	86.0	86.1—90.5
	米糠油	20.8	23.4	~15	79.2	76.6	81.3—84.6
	核桃油	8.5	—	~8	91.5	—	~92
	菜 油	44.9	44.6	46.9—57.9	55.1	55.4	42.1—53.1
	猪 脂	36.1	39.3	32.6	63.9	60.7	67.4
	鸡 脂	30.9	32.3	—	69.1	67.7	—

* 对于菜油是C₂₂。

表4 油脂的甘油三酸酯中的平均双键数

油 脂	不饱和程度	实 验 结 果		文 献 值
		平均双键数	折合碘值	碘 值
豆 油		4.86	123	120—137
麻 油		4.57	116	102—117
橄榄油		3.61	92	75—88
米糠油		4.51	115	98—110
核桃油		5.26	134	143—162
菜 油		4.48	114	97—108
猪 脂		2.4	61	46—66
鸡 脂		2.8	71	—

1. 重复性试验的实验设计:

第一步, 在仪器状态不变条件下, 连续三次测定同一样品, 测定结果为一组。

第二步, 改变仪器状态后重新测定。仪器状态改变, 包括清洗、重装电离盒, 更换发射丝以及由于分析日期不同仪器其它部分的漂移。

2. 实验结果及误差

重复试验共做三组九个数据。计算结果不同碳数脂肪酸的分布情况,平均方差为2.84%,其中最大误差为5.8%;不同碳数脂肪酸的相对含量平均方差为1.27%,其中最大误差为2%

3. 关于误差来源及改善办法

FDMS的灵敏度低,样品涂布困难,不易增加进样量而造成信噪比较差是实验重复性不好的主要原因。因此,选用活化质量高的FD发射丝是关键,并尽可能采用低的电子倍增电压。按过去结果和本工作多次反复试验结果的比较,我们认为在倍增器电压低于1.8KV时,如果测得基峰离子信号的绝对强度大于 $3-5 \times 10^4$ 时,一般可得到较满意的结果。

四、结 论

1. 利用场解吸电离质谱(FDMS)可以直接获得组成油脂的各种甘油三酸酯的分子量,由此可直观地了解油脂的组成情况。

2. 对FDMS数据进行必要的处理后,可以获得油脂甘油三酸酯中不同碳数的脂肪酸分布情况;不同碳数的脂肪酸相对含量以及不饱和程度等组成和结构信息。

3. FDMS的重复性较差,因此必须通过控制适当的条件,提高灵敏度,改善信噪比才能获得较为满意的结果。

4. 本文提出的用FDMS分析油脂的方法是建立在测定分子量的基础上的,是一个直接获得甘油三酸酯组成信息的方法。它的不足之处是不能区别甘油三酸酯的同分异构体,即不能提供各种脂肪酸在甘油酯中的具体位置。

致谢: 在使用APPLE-Ⅱ微机处理数据时,得到分析测试中心马国荣同志的帮助,在此鸣谢。

附录 计算公式

1. ^{13}C 同位素贡献的扣除

$$X_m = I_{m-1} + I_m - (I_m + I_{m+1}) \times y \times 0.011$$

其中: I_{m-1} 、 I_m 、 I_{m+1} 分别代表质荷比为 $(m/z-1)$ 、 m/z 、 $(m/z+1)$ 离子的实测强度; y 是分子中碳原子数目; X_m 是扣除了 ^{13}C 同位素贡献后,质荷比为 m/z 离子的强度。

$$2. \text{C}_{16} \text{ 脂肪酸含量 } (\%) = \frac{\sum(\text{TI})_{\text{C}_{16}}}{\sum(\text{TI})_{\text{C}_{16}} + \sum(\text{TI})_{\text{C}_{18}}} \times 100\%$$

$$\text{C}_{18} \text{ 脂肪酸含量 } (\%) = \frac{\sum(\text{TI})_{\text{C}_{18}}}{\sum(\text{TI})_{\text{C}_{16}} + \sum(\text{TI})_{\text{C}_{18}}} \times 100\%$$

$$\text{其中: } \sum(\text{TI})_{\text{C}_{16}} = \frac{1}{3}(\text{TI})_{(m/z845-863)} + \frac{2}{3}(\text{TI})_{(m/z817-835)} + (\text{TI})_{(m/z789-807)}$$

$$\sum(\text{TI})_{\text{C}_{18}} = (\text{TI})_{(m/z873-891)} + \frac{2}{3}(\text{TI})_{(m/z845-863)} + \frac{1}{3}(\text{TI})_{(m/z817-835)}$$

$(\text{TI})_{(m/zx_1-x_2)}$ 表示 m/zx_1-x_2 的离子强度之和。

$$3. \text{平均双键} = \sum_{n=0}^n n(\text{TI})_n \%$$

其中: n ——油脂分子中的双键数

$(TI)_n$ ——双键数为 n 的离子强度之和

$$(TI)_n\% = \frac{(TI)_n}{\sum_{n=0}^{\infty} (TI)_n} \times 100\%$$

碘值 = 均匀双键 $\times$ 碘的分子量

参 考 文 献

- [1] T. P. Hilditch and P. N. Willams, "The Chemical Constitution of Natural Fat", 4th ed., CHAPMAN & HALL, LONDON, 1964
- [2] Shimadzu Gas Chromatograph CA180—930A, Analysis of Triglycerides.
- [3] D. D. Wong, J. Amer. Oil Chem. Soc., 88, 789 (1983)
- [4] Shwn WADA, et al., 油化学, 第34卷, 第8号 (1985)
- [5] 商业部教材编写组, 《油料生物化学及油脂化学》, 黑龙江科学技术出版社, 1984

Study on Determination of Natural Oil and Fats by Field Desorption Mass Spectrometry

Su Keman He Yihua Wang Fu

(Analysis and Research Centre, The East
China Institute of Chemical Technology)

Received 19, May 1987

Abstract

Field desorption mass spectrometry has been used to determine the molecular weight of complex triglycerides in natural oils and fats. This method provides the basic information about components of the oils and fats. The distribution and content of fat acids which are made of different number on carbon atoms and the number of average double bonds in the triglycerides can be calculated by means of data processing. But this method can not provide the position of these fat acids in triglycerides.