

枸杞子脂肪酸成分的 GC/MS 分析

沈宏林^{1,2}, 向能军¹, 高 茜^{1,2}, 倪朝敏¹, 缪明明¹

(1. 红塔烟草集团有限责任公司技术中心, 云南 玉溪 653100; 2. 昆明理工大学化学工程学院, 云南 昆明 650224)

摘要:以 10% 硫酸甲醇-正己烷溶液为甲酯化试剂, 利用微波辅助直接甲酯化药材, 采用气相色谱-质谱 (GC/MS) 联用技术研究中药枸杞子脂肪酸成分。根据 GC/MS 标准质谱数据库检索, 结合有机质谱学规律, 对直链饱和脂肪酸甲酯、单不饱和脂肪酸甲酯和双不饱和脂肪酸甲酯的裂解规律做了分析和归纳, 建立了特征离子确定其碳数及双键数目的方法。运用峰面积归一化法定量分析, 鉴定出枸杞子脂肪酸 21 种, 占总成分的 93.794%。

关键词:气相色谱-质谱; 脂肪酸; 枸杞子

中图分类号:O 657.63 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-2997(2009)02-99-06

Analysis of Fatty Acids Components of Medlar by GC/MS

SHEN Hong-lin^{1,2}, XIANG Neng-jun¹, GAO Qian^{1,2}, NI Chao-min¹, MIAO Ming-ming¹

(1. R&D Center of Hong Ta Tobacco Group Co. Ltd., Yuxi 653100, China;

2. School of Chemical Engineering, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650224, China)

Abstract: The fatty acids components of medlar were studied by gas chromatography-mass spectrometry, using CH_3OH (10% H_2SO_4)- C_6H_{14} as the methyl esterification solvent, the direct methyl esterification of fatty acids components in the Chinese material under the microwave-assisted conditions. According to GC/MS standard mass spectrometry database index combined with the regular patterns of organic spectrometry, the structure elucidation of the straight chain saturated fatty acids, single unsaturated fatty acids and double unsaturated fatty acids were analyzed. The novel method was established that can ascertain carbon atom number and double bond number in fatty acids using characteristic ions. The fatty acids components are quantified by the accuracy of area percent method. 21 fatty acids components are identified, accounting for 93.794% of the total components.

Key words: gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS); fatty acids; medlar

收稿日期: 2008-06-16; 修回日期: 2008-10-07

作者简介: 沈宏林 (1981~), 男 (汉族), 江苏南通人, 硕士研究生。

通信作者: 向能军 (1973~), 男 (土家族), 湖南古丈人, 博士, 工程师, 从事新型烟用添加剂及卷烟辅料研究。

E-mail: xnj3511@sohu.com

有机质谱学是对有机化合物的分子式,相对分子质量和化学结构进行灵敏、准确和快速测定的近代有机分析方法。目前,有机质谱学已经广泛应用于生命科学、医学、药学、环境科学、农林、化学化工、能源、材料食品安全、毒物分析和兴奋剂检测等众多研究领域,并形成一系列交叉学科,为相关研究领域的突破和发展起到了至关重要的作用^[1]。中药化学成分复杂,且许多物质的性质相近,用 GC/MS 法对挥发油成分进行分析测定,得到的是一个有着色谱峰重叠、拖尾等现象的复杂分析体系,仅仅依据检索质谱数据库的结果是不够的,还必须根据有机质谱学的规律来加以确证。本工作拟研究枸杞子脂肪酸成分的 GC/MS 分析和有机质谱学在脂肪酸结构确定中的应用。

枸杞子(*Lycium chinense* Mill)为茄科植物枸杞的干燥成熟种子。其性味甘平无毒,具有滋补肝肾、明目、促进血液循环、防止动脉硬化、预防肝脏内脂肪的囤积之功效,为常用中药^[2]。国内外的研究主要集中在枸杞多糖的分析,而对于枸杞脂肪酸成分的分析,至今没有深入全面的研究^[2-3]。随着我国加入 WTO 及中药现代化进程的加快,对民族中药进行规范化的研究,搞清所含有效成分的结构和含量显得尤为重要。本研究采用硫酸/甲醇-正己烷作为衍生化试剂,利用微波直接甲酯化枸杞中的脂肪酸,使反应、萃取过程成为一体,处理后进行气相色谱-质谱分析。根据计算机谱库检索,结合有机质谱学脂肪酸碎裂特征碎片离子峰鉴定其组分,建立无需标样测定脂肪酸成分的方法,适用于脂肪酸组成的快速研究,对脂肪酸成分的分析具有指导意义。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Clarus500 气相色谱仪,四极杆质谱仪;美国 Perkin Elmer 公司产品;PG503-S 电子天平;瑞士 Mettler 公司产品;MDS-6 型微波消解炉;上海新仪微波化学科技有限公司产品;KQ-700DB 型数控超声波清洗仪;江苏昆山超声仪器有限公司产品;TGL-16G-A 高速冷冻离心机;上海优浦科学仪器有限公司产品。

甲醇、正己烷、硫酸(分析纯):由天津试剂三

厂提供;实验用水为二次蒸馏水;枸杞经中国科学院昆明植物所汤建国博士鉴定。

1.2 实验方法

枸杞样品 60 ℃减压干燥 1 h,粉碎,准确称取 1.0 g 枸杞粉置于聚四氟乙烯瓶中,加入 10 mL 衍生化试剂(10% 硫酸甲醇溶液),5 mL 正己烷。在微波输出功率 600 W,压力 0.2 MPa 条件下,微波 1 min,转移至 25 mL 容量瓶中,加蒸馏水至 25 mL 刻度线,室温下超声 5 min,上层有机相离心,取上清液进行 GC/MS 分析(MS 溶剂迟延 2 min)。

1.3 色谱质谱条件

1.3.1 色谱条件 PE-5MS 毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度:250 ℃;载气:高纯 He;流速:1.0 mL·min⁻¹(恒流);进样量:1 μL;分流比:20:1;程序升温:50 ℃保持 1 min,以 5 ℃·min⁻¹升至 250 ℃,保持 10 min。

1.3.2 质谱条件 EI 离子源,电离能量 70 eV,离子源温度 190 ℃,传输线温度 250 ℃,质量扫描范围 m/z 35~450, Wiley 谱库和 Nist 2005 谱库检索。

2 结果与讨论

2.1 脂肪酸质谱特征

2.1.1 饱和脂肪酸质谱特征 直链饱和脂肪酸甲酯酰氧键的 α 断裂,给出特征的 $[M-31]$ 和 m/z 59(COOCH₃) 碎片离子峰,它们的丰度随相对分子质量的增加而降低,示于图 1。丁酸以上的酯易发生麦氏重排,通过麦氏重排脂肪酸甲酯给出 m/z 74(CH₃OC(OH)=CH₂) 的碎片离子,示于图 2。烷基部分进一步分解产生具有烷烃的碎片离子系列 C_nH_{2n+1} 和 C_nH_{2n-1} (m/z 29, 43, 57, 71... 和 m/z 27, 41, 55, 69...)。以棕榈酸为例,其质谱图示于图 3。质谱断裂机理:棕榈酸甲酯的分子离子峰 m/z 270,通过 α 断裂,麦氏重排,得到离子 m/z 74,此离子在含有 6~26 个碳原子的脂肪酸甲酯中均为基峰;C-C 键断裂失去烷基 C₃H₇,得到 $[M-43]^+$ 的离子 m/z 227;系列离子为 m/z 43, 55, 74, 87, 101, 143, 199, 213, 227, 239, 270, 其碎裂方式示于图 4。由此可得到直链饱和脂肪酸的特征离子: m/z 74, $[M-43]^+$, 分子离子峰 $[M]^+$ 。

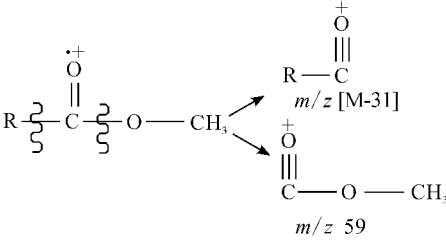


图 1 直链脂肪酸甲酯酰氧键的 α 断裂
Fig. 1 Acyl-oxygen bond α cleavage process of straight chain saturated acids

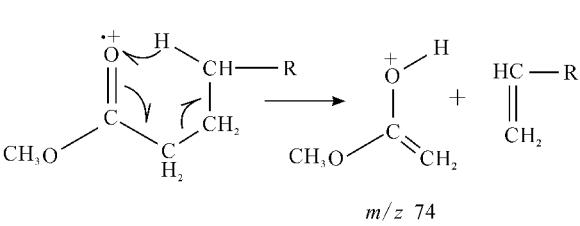


图 2 直链脂肪酸甲酯麦氏重排
Fig. 2 McLafferty recombination process of straight chain saturated fatty acids

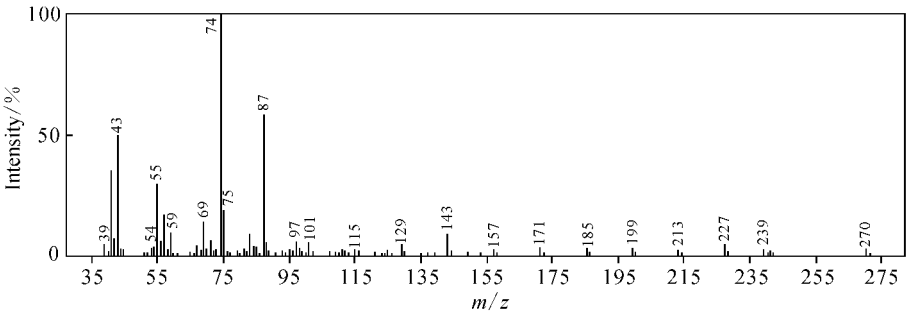


图 3 棕榈酸甲酯质谱图
Fig. 3 Mass spectrum of methyl palmitate

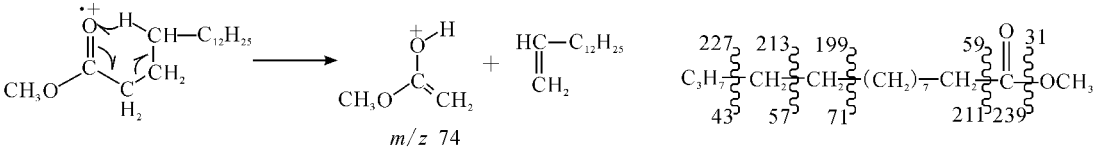


图 4 棕榈酸甲酯碎裂图
Fig. 4 Cleavage process of methyl palmitate

2.1.2 单不饱和脂肪酸质谱特征 以 9-十六烯酸甲酯为例,其质谱图示于 5。质谱断裂机理:9-十六烯酸甲酯的分子离子峰 m/z 268,通过 γ 氢转移、i 诱导断裂,产生 $[M-32]^+$ 离子 m/z 236;双键迁移进行 α 断裂产生 $C_4H_7^+$ 离子 m/z 55;系列离子为 m/z 41、55、69、83、97、111、123、180、222、236、268,其碎裂方式示于图 6。由此可得到单不饱和脂肪酸的特征离子: m/z 55, $[M-32]^+$ 。

2.1.3 双不饱和脂肪酸质谱特征 以亚油酸甲酯为例,其质谱图示于图 7。质谱断裂机理:亚油酸甲酯的分子离子峰 m/z 294,碳基发生 α 断裂,产生 $[M-31]^+$;双键迁移进行 α 断裂产生

$C_5H_7^+$ 离子 m/z 67;系列离子为 m/z 41、55、67、81、95、109、123、263 和 294,其分子碎裂方式示于图 8。由此得到双不饱和脂肪酸的特征离子: m/z 67, $[M-31]^+$, 分子离子峰 $[M]^+$ 。

2.2 脂肪酸质谱定性

综合脂肪酸质谱碎裂机理:①根据脂肪酸质谱碎裂基峰离子确定脂肪酸不饱和度,即:基峰离子 m/z 74 为饱和脂肪酸; m/z 55 为单不饱和脂肪酸; m/z 67 为双不饱和脂肪酸。②根据脂肪酸质谱碎裂分子离子峰 $[M]^+$ 确定脂肪酸碳数,再根据 $[M-43]^+$ 、 $[M-32]^+$ 、 $[M-31]^+$ 等重排、迁移离子作进一步确证。

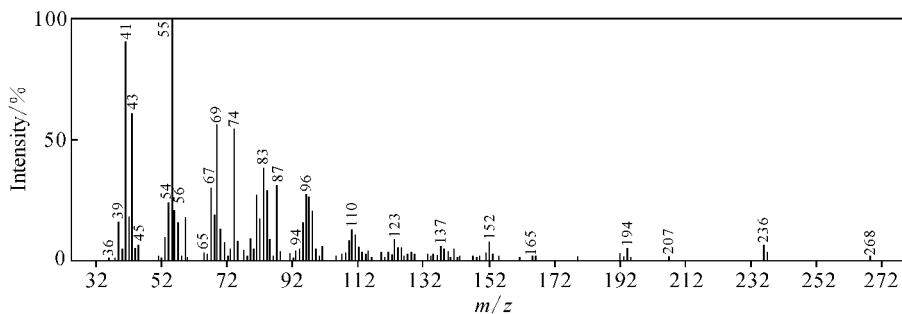


图 5 9-十六烯酸甲酯质谱图

Fig. 5 Mass spectrum of methyl (Z)-hexadec-9-enoate

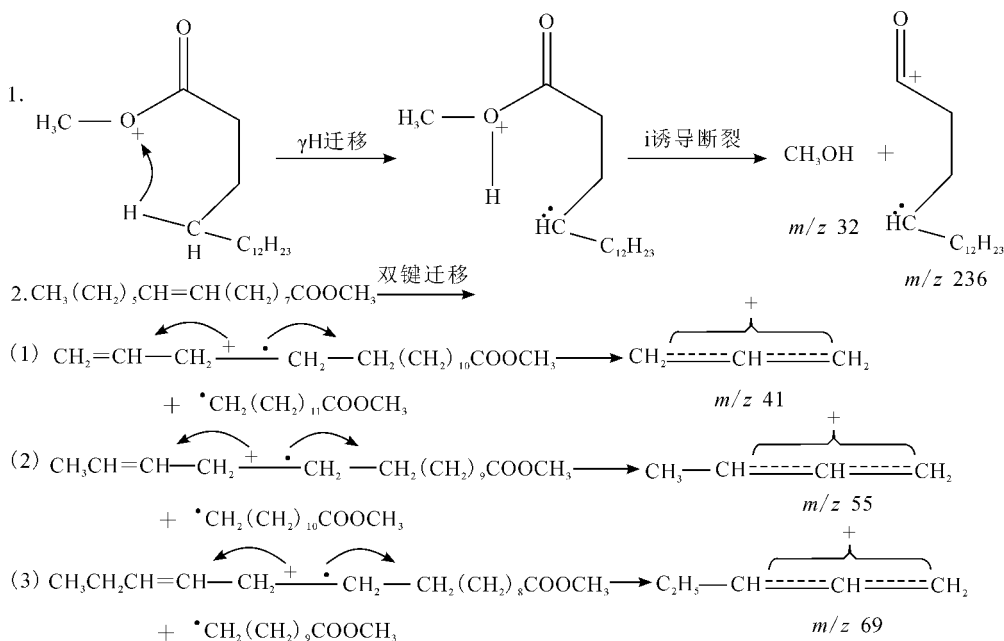


图 6 9-十六烯酸甲酯碎裂图

Fig. 6 Cleavage process of methyl (Z)-hexadec-9-enoate

2.3 脂肪酸鉴定结果

枸杞子脂肪酸成分 GC/MS 总离子流图示于图 9。成分分析是在扣除溶剂峰后,根据 GC/MS 标准质谱数据库 Wiley 谱库和 Nist 2005 谱库检索,结合有机质谱学规律特征碎片离子确定其碳数及双键数目的方法定性分析,按峰面积归一化法进行定量,分别求得各组分的相对百分含量,分析结果列于表 1。

从枸杞的气相色谱-质谱图中共鉴定枸杞子脂肪酸 21 种,占总成分的 93.794%。其中饱和脂肪酸 14 种,占 35.31%,分别为棕榈酸 (25.985%)、硬脂酸 (2.422%)、花生酸 (0.865%)、木蜡酸 (3.401%) 等;不饱和脂肪酸

6 种,占 58.455%,分别为油酸 (29.089%)、亚油酸 (27.385%)、9-十六烯酸 (0.638%)、10-十八碳烯酸 (1.167%) 和 11,12,16-十八碳三烯酸 (0.137%)。

从表 1 可以看出,苦杏仁脂肪酸中不饱和脂肪酸占绝对优势,不饱和脂肪酸具有多种益于人体健康的生理活性,具有抗氧化、抗自由基、抗肿瘤和增强免疫力的作用,可明显降低高密度脂蛋白血清胆固醇含量,进而降低高血压、心脏病及中风等疾病的发病率^[4],是人体必需的。苦杏仁中含有较高的油酸、亚油酸。现代医学研究表明,油酸能够降低低密度脂蛋白胆固醇,预防动脉硬化,而且并不降低对人体有益的高密度脂蛋

白胆固醇水平。亚油酸是人体不能合成的,必须是每天补充的不饱和脂肪酸,亚油酸与其他维生素共同作用,有抗癌作用,能抑制淋巴瘤、腹水癌、乳腺癌的生长;降低血液和肝脏胆固醇的浓

度,抑制动脉粥样硬化;预防高血压;抗氧化和改善肉品质;强化免疫功能;抑制脂肪沉积,减肥增肌等作用^[5]。

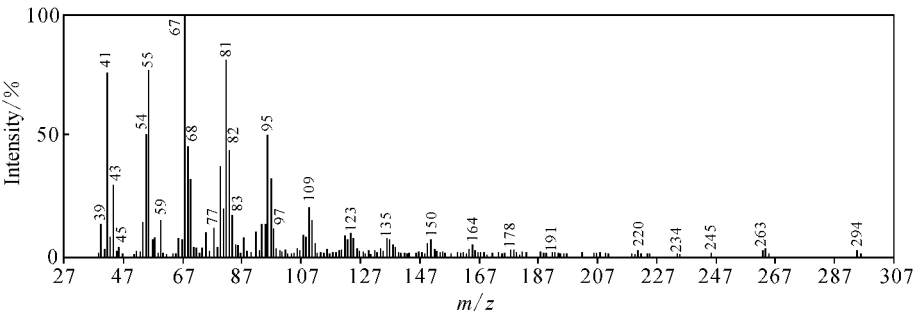


图 7 亚油酸甲酯质谱图

Fig. 7 Mass spectrum of methyl linoleate

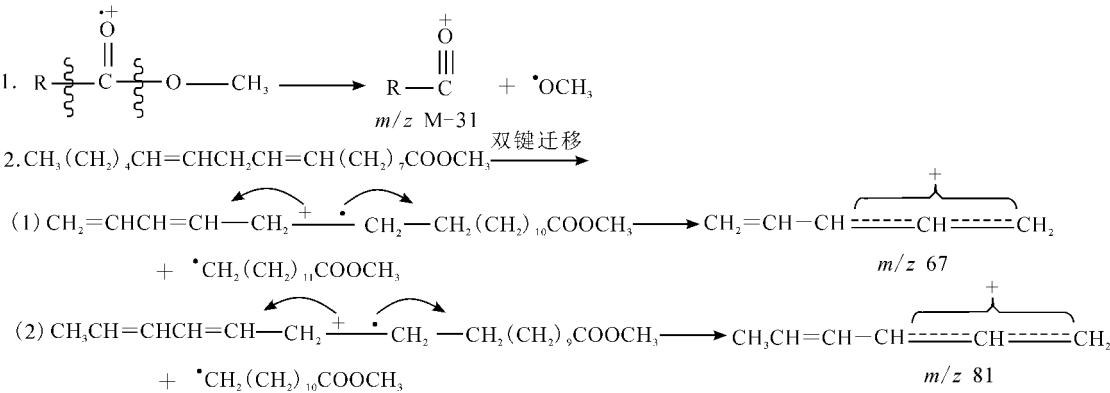


图 8 亚油酸甲酯碎裂图

Fig. 8 Cleavage process of methyl linoleate

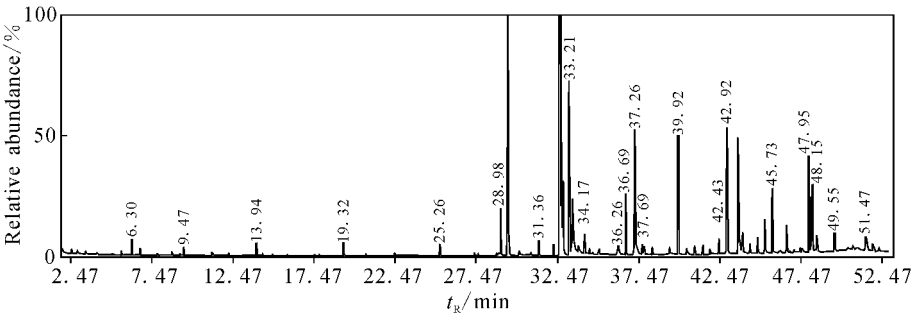


图 9 脂肪酸成分 GC/MS 总离子流图

Fig. 9 Total ion chromatogram (TIC) of fatty acids components by GC/MS

表 1 脂肪酸成分鉴定结果

Table 1 Identified results of fatty acids components

保留时间 <i>t_R</i> /min	化合物	分子式	基峰离子 <i>m/z</i>	特征离子 <i>m/z</i>			相对百分 含量/%
5.101	丁酸甲酯 Methyl- <i>n</i> -butyrate	C ₅ H ₁₀ O ₂	43	43	74	102	0.017
7.851	琥珀酸二甲酯 Dimethyl succinate	C ₆ H ₁₀ O ₄	55	55	115	146	0.023
19.318	柠檬酸三甲酯 Trimethyl citrate	C ₉ H ₁₄ O ₇	101	43	101	143	0.164
20.701	十一酸甲酯 Methyl undecanoate	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	74	74	126	200	0.014
25.264	月桂酸甲酯 Methyl dodecanoate	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	74	74	171	214	0.149
27.388	十三酸甲酯 Methyl tridecanoate	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	74	74	85	228	0.034
28.731	反亚油酸甲酯 Linolelaidic methyl ester	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	67	67	263	294	0.039
28.981	9-十六烯酸甲酯 9-Hexadec methyl enoate	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	55	55	236	268	0.638
29.442	棕榈酸甲酯 Methyl palmitate	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	74	74	227	270	25.985
31.356	十七酸甲酯 Methyl margarate	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	74	74	241	284	0.183
32.278	9,12,16-十八烷三烯酸甲酯 9,12,16-Octadecatrienoic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	79	67	79	292	0.137
32.623	亚油酸甲酯 Methyl linolelaidate	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	67	67	263	294	27.385
32.749	油酸甲酯 Methyl oleate	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	55	55	264	296	29.089
32.829	10-十八碳烯酸甲酯 10-Octadecenoic acid methyl ester	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	55	55	264	296	1.167
33.209	硬脂酸甲酯 Methyl stearate	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	74	74	255	298	2.422
36.691	花生酸甲酯 Methyl eicosanoate	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	74	74	283	326	0.865
38.334	二十一烷酸甲酯 Methyl heneicosanoate	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	74	74	297	340	0.114
39.922	二十二酸甲酯 Methyl docosanoate	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	74	74	311	354	1.77
41.44	二十三碳酸甲酯 Methyl tricosanoate	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	74	74	325	368	0.169
42.918	木蜡酸甲酯 Methyl lignocerate	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	74	74	339	382	3.401
44.095	角鲨烯 Squalene	C ₃₀ H ₅₀	69	41	69	81	0.029

3 结 论

研究了枸杞子的脂肪酸成分,采用硫酸/甲醇-正己烷作为衍生化试剂,利用微波直接甲酯化枸杞子中的脂肪酸,使反应、萃取过程成为一体,应用有机质谱学规律对直链饱和脂肪酸甲酯、单不饱和脂肪酸甲酯和双不饱和脂肪酸甲酯的裂解规律做了分析和归纳,建立了特征离子确定其碳数及双键数目的方法,结合质谱标准数据库鉴定枸杞子脂肪酸成分,得到 21 种成分。该方法无需标准品即可快速测定脂肪酸成分,操作简便、快速、结果可靠。

参考文献:

[1] 曾 志,石建功,曾和平,等. 有机质谱学在中药鱼

腥草研究中的应用[J]. 分析化学, 2003, 31 (4): 399-404.

[2] 李冬生,胡 征,王 芹,等. 枸杞挥发油的 GC/MS 分析[J]. 食品研究与开发, 2004, 25 (4): 133-135.

[3] 晓 冬,缪利英,袁 红,等. 气-质联用法分析枸杞子化学组分[J]. 浙江师大学报:自然科学版, 2001, 24(增刊):194-195.

[4] 白成科,张 媛,王喆之. 莱菔子脂肪酸成分的 GC-MS 分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14 (5):409-412.

[5] 杨继红,李元瑞,蒋 晶. 苹果籽油的超临界 CO₂ 萃取及其脂肪酸含量分析[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007, 35(3):195-199.