

气相色谱法系统分析植物叶中多种脂肪酸

胡兹苓

(南京林业大学, 210037)

[提要] 用毛细管气相色谱和色谱-质谱联用对植物叶中多种脂肪酸进行了系统分析, 其中除了常见的 C_{12} — C_{22} 的饱和与不饱和脂肪酸外, 还有以前报道不多的有取代基的脂肪酸。

用气相色谱研究植物体中常见的脂肪酸已有很多报道^[1-4], 在鉴别方法上, 大都采用等价碳链长度等保留值对照的方法。但是, 在碳链数相同而同时存在多种双键位置异构体的情况下, 往往因保留值十分接近而难以准确判别; 在分析的样品方面, 多局限于植物油含量丰富的器官, 而对其它部位, 如叶、茎、皮层等脂肪酸含量少但成分复杂的部位研究不多; 并且在所测定的成分上, 多侧重于常见的 C_{12} — C_{22} 的饱和与不饱和脂肪酸, 而对有取代基的脂肪酸研究较少。为了更全面地研究植物脂肪酸成分, 作者在前人工作的基础上^[5], 采用了系统测定和鉴别植物脂肪酸的方法, 特点是柱色谱分离极性小的脂肪酸甲酯(组分 1)和极性大的脂肪酸甲酯(组分 2), 用毛细管程序升温气相色谱分别测定以上两部分, 配合以质谱鉴定, 可以得到植物叶、皮层等部位脂肪酸成分的较丰富的资料。

实验部分

(一)原理 将混合脂肪酸甲酯用柱色谱分离为极性小的和极性大的两部分。极性小的组分 1 可直接用气相色谱测定。极性大的组分 2 在羧基甲酯化、羟基硅烷化后再用气相色谱分析。

(二)样品处理 低温真空干燥后的植物样品加入十九烷酸 $C_{19,0}$ 和 α -OHC_{14,0} 分别作为组分 1 和组分 2 的内标, KOH-甲醇皂化后, 有机溶剂除去不皂化物, 碱性硅胶柱除去甾醇等中性类脂, 所得脂肪酸经与 BF_3 -甲醇起甲酯化反应后, 将所得甲酯化产物过压力硅酸柱 (Silicagel, 230—400 目; N_2 压力), 用二氯甲烷: 正己烷 = 1: 3 (V/V) 洗出第一组分, 用二氯甲烷: 乙酸乙酯 = 7: 3 (V/V) 洗出第二组分。组分 1 直接色谱分析, 组分 2 经(双-三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)硅烷化反应后色谱分析。

(三)GC 条件 组分 1 和 2 在相同色谱条件下分别进样分析。CARLO ERBA HRGC 5300 型色

谱仪; Spectra Physics 处理系统; OV-73 玻璃毛细管柱, $\phi 0.32\text{mm} \times 25\text{m}$; 程序升温: $60\text{C}(1\text{min})$ 以 $10\text{C}/\text{min}$ 升至 $150\text{C}(1\text{min})$ 再以 $4\text{C}/\text{min}$ 升至 $290\text{C}(10\text{min})$; He 载气; FID 检测, 300C ; 不分流进样。内标法求出所有经鉴定确认为脂肪酸的成分, 再计算出各脂肪酸成分在总脂肪酸中的重量百分含量 (W%)。

(四)GC-MS 条件 Finnigan 4021 色-质联用仪; 电子轰击源 (EI), 70eV ; 扫描范围 $45-645$ (m/z), 扫描周期 2s。

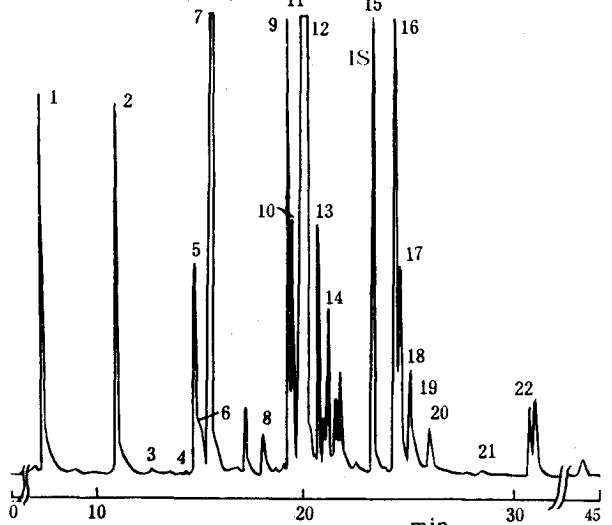


图 1 松针中的常见脂肪酸甲酯色谱图

(IS 为内标 $C_{19,0}$, 各峰所示组分见表 1)

结果与讨论

用上述方法测定了四种针叶和阔叶树的树叶脂肪酸, 从图 1 和表 1 的结果看, 在所分析阔叶中亚麻酸 $C_{18,3}(9,12,15)$ 的含量占总脂肪酸总量的一半左右, 为第一大组分, 其次是棕榈酸 $C_{16,0}$, 亚油酸 $C_{18,2}(9,12)$ 。图 2 以榛子树为例表示了树叶的常见的脂肪酸中各成分的百分含量。与阔叶树不同, 针叶脂肪酸中亚油酸含量较高, 而亚麻酸、棕榈酸占的比例

相对较低。

表 1 四种树叶常见脂肪酸中各主要成分的分布* (W%)

等价碳链长度 ECL号(图 1)	色谱峰	组分	杨	榛	柏	松
1200	1	C _{12:0}	—	—	4.1	4.3
1400	2	C _{14:0}	0.2	—	2.2	2.3
1566	5	C _{16:3(?)}	—	0.8	0.7	0.4
1577	6	C _{16:1(9)}	—	—	—	0.5
1600	7	C _{16:0}	25.6	29.2	18.5	13.8
1745	9	C _{18:3(5,9,12)}	—	—	—	4.3
1762	11	C _{18:2(9,12)}	15.5	17.7	19.6	26.5
1770	12	C _{18:1(9)}	2.5	2.3	3.1	2.4
1772	12	C _{18:3(9,12,15)}	47.9	44.0	27.4	27.7
1800	13	C _{18:0}	1.4	1.7	2.0	2.2
1940	16	C _{20:3(5,11,14)}	—	—	—	5.6
1945	17	C _{20:4(5,11,14,17)}	—	—	4.0	1.3
1962	18	C _{20:2(11,14)}	—	—	—	1.8
1972	19	C _{20:3(8,11,14)}	—	—	—	1.0
2000	20	C _{20:0}	0.6	0.8	2.2	1.1
2200	22	C _{22:0}	1.7	0.8	2.2	1.7

* 表中略去了 C_{22:0}—C_{34:0} 的长链脂肪酸以及其它一些含量低、只在个别树叶存在的脂肪酸成分。

各样品拉丁学名: 杨 — *P. nigra*, 榛 — *C. avellana*, 柏 — *J. communis*, 松 — *P. sylvestris*.

从表 1 的结果还看出, 针叶脂肪酸中含有较多的月桂酸(C_{12:0})和肉豆蔻酸(C_{14:0}), 并且针叶中含有一系列二十碳烯酸: C_{20:2(11,14)}, C_{20:3(5,11,14)} 和 C_{20:4(5,11,14,17)}; 在松科植物中含有不常见的 C_{18:3(5,9,1,2)} 和 C_{20:3(5,11,14)}, 这些结果都与文献资料中所报道的一致^[6]。

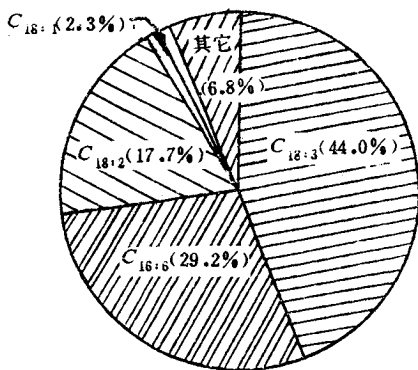


图 2 榛子树叶常见脂肪酸中各主要组分的分布 (W%)

用以上方法又比较了不同季节树叶中常见脂肪酸成分的变化, 观察到占脂肪酸中绝大部分的短链常见脂肪酸(十八碳以下)在阔叶中从春到秋呈下降趋势, 而针叶则相反, 如图 3 所示。

组分 2 有取代基的脂肪酸, 其分析结果列于表 2。不论针叶还是阔叶, 有取代基的脂肪酸中, 二羟基棕榈酸(9,16-diOH C_{16:0})都是第一大成分, 所不同

的是在针叶中几乎不存在 α -OH 取代的脂肪酸, 而阔叶中此成分的含量却不可忽视。相反, 在针叶中 ω -OH 系列的取代脂肪酸 ω -OH_{12:0}、 ω -OHC_{14:0} 和 ω -OHC_{16:0} 等的含量很高, 而在阔叶中只有少量的 ω -OHC_{16:0}, 这些结果都与文献资料中报道的一致^[7-9]。

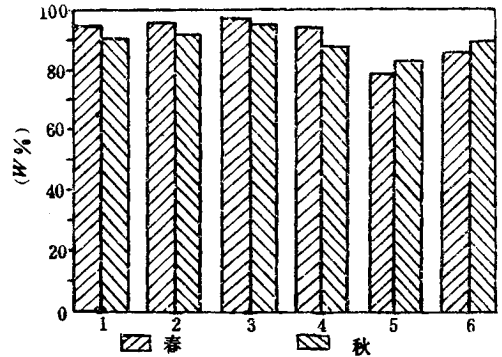


图 3 六种树叶常见脂肪酸中短链脂肪酸含量 (W%) 随季节的变化

(1,2,3,4 分别为阔叶树种: 1. 杨 (*P. nigra*), 2. 榛 (*Q. petraea*), 3. 榛 (*C. avellana*), 4. 桦 (*B. verrucosa*), 5. 柏 (*J. communis*), 6. 松 (*P. sylvestris*).

表 2 四种树叶中主要的有取代基的脂肪酸成分与分布* (W%)

等价碳链长度 ECL	组分	杨	榛	柏	松
1573	ω -OH-C _{12:0}	—	—	11.8	17.6
1770	ω -OH-C _{14:0}	—	—	4.9	11.0
1963	ω -OH-C _{16:0}	4.5	7.2	23.6	20.9
2033	7-OH- α , ω -diacid-C _{15:0}	1.5	—	4.0	1.0
2132	7-OH- α , ω -diacid-C _{16:0}	2.1	9.7	4.7	3.2
2166	9,16-diOH-C _{16:0}	56.1	28.6	47.3	29.1
2392	α -OH-C _{22:0}	3.3	1.2	—	—
2425	9,10-epoxy-18-OH-C _{18:0}	—	—	—	10.9
2495	α -OH-C _{23:0}	0.9	0.4	—	—
2588	α -OH-C _{24:0}	3.3	2.7	—	—
2690	α -OH-C _{25:0}	—	0.3	—	—
2786	α -OH-C _{26:0}	—	0.6	—	—
2884	α -OH-C _{28:0}	0.5	—	—	—
2980	α -OH-C _{30:0}	0.9	—	—	—

* 表中略去了一些含量低、只在个别树叶中存在的脂肪酸成分。各样品拉丁学名同表 1。

虽然这一方法比通常分析植物油脂脂肪酸的常规方法复杂一些, 但对深入研究植物脂质成分是有必要的, 以上的测定为植物的化学分类提供了依据, 特别是组分 2 中的特殊成分有较高的分类学价值^[6]。植物中的有取代基的脂肪酸成分可作为生物标记化合物存在于古代沉积物中, 它们的分析和鉴别为地质化学研究地质的形成环境提供了丰富的资料^[5]。植物生物膜脂中脂肪酸不饱和度的测定为研究植物的抗性也是很重要的一个方面^[10]。这一套系统的脂肪

酸分析法是以上各学科研究的有用手段。

本方法虽然配合了质谱鉴别,判断了较多的脂肪酸成分,但由于OV-73柱仍不能将所有的相同碳链数的不饱和脂肪酸完全分开,所以质谱鉴别也受到了限制。例如图1中第12号峰包含了 $C_{18,3(9,12,15)}$ 和 $C_{18,1(9)}$ 两个成分,这是在采用OV-17中等极性柱后才使它们分开,并求出量的比例的。另外也还有一些未鉴别出双键位置和取代基位置的脂肪酸成分,还必须参考其它的衍生化反应和配合其它手段来确定^[11]。

参 考 文 献

[1] 李霞冰,植物分类学报,23(4),259(1985).
 [2] 郭煜、王红斗等,植物学报,26(3)290(1984).
 [3] 田文荣、余仲健,色谱,8(6),393(1990).
 [4] 郭秀兰、吴英敏、葛全庭,色谱,8(6),396(1990).
 [5] Y. A. Mendoza et al., Inter., J. Environ. Anal. Chem., 31,107(1987).
 [6] 周荣汉,《药用植物化学分类学》,上海科学技术出版社,上海,P. 162,1988.

[7] G. Eglintonl et al., Science., 156,1322(1967).
 [8] P. E. Kolattukudy, Lipids., 5,259(1970).
 [9] P. E. Kolattukudy, Science., 208,990(1980).
 [10] 鲍风等,植物学报,26(1),60(1984).
 [11] 喻学俭、王惠英,植物学报,33(3),199(1991).

(收稿日期:1992年4月5日,修回日期:7月13日)

Systematic Anslsysis of Various Fatty Acids in Plants by Gas Chromatography (GC) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Hu Ziling, Nanjing Forestry University, 210037

This paper describes a systematic method of analysis for the fatty acids in plants. With an OV-73 capillary column, more than forty fatty acid components in the leaves of plants, including the C_{12} - C_{22} saturated and unsaturated, unsubstituted and substituted hydroxyl, epoxy and dicarboxylic fatty acids were identified and quantified by means of GC and GC-MS.

多工作模式液相色谱电化学检测系统Ⅲ. 双工作电极检测*

陈 寿 吴守国 蒲国刚

汪尔康

(中国科技大学应用化学系,合肥,230026)

(中国科学院长春应用化学研究所,130022)

[摘要] 本文讨论了串行和平行相对两种双工作电极检测方式,测定了流通池的收集效率,介于文献理论值和测定值之间。研究了收集效率与流动相流速、进样量、组分的化学稳定性和池通道厚度的关系。探讨了复杂样品中多组分的同时检测和峰纯度鉴定。指出平行相对方式只适用于微径柱色谱。

双工作电极安培检测器有三种电极配置方式:串行式(Series)、平行相邻式(Parallel-adjacent),和平行相对式(Parallel-opposite)。串行方式主要是使流动相在上流电极(upstream electrode)上得到改善,而在下流电极(downstream electrode)上得到选择性更好的检测^[1]。平行相邻方式可同时预置两个电位,高电位用于检测难氧化的组分,低电位用于检测易氧化的组分。也可用于检测氧化组分和还原组分同时存在或都是还原组分的情况^[2],类似于紫外-可见双波长检测器。平行相对方式可以通过氧化-还原可逆性

组分在两电极间多次氧化-还原循环以增加灵敏度^[3,4]。串行和平行相邻式还可用于差分检测^[1]。目前文献报道多为串行方式^[6-10]。

我们设计的多工作模式电化学流通池具有串行和平行相对两种双工作电极配置方式。

实 验 部 分

(一) 色谱系统 YSB-I型平流泵(上海科仪厂), K501六通进样阀, 20 μ l进样环, 200mm \times 4.6mm i. d. C_{18} 不锈钢色谱柱. XWT-204台式平衡双

* 国家自然科学基金资助项目