

气相保留时间法测定长链脂肪酸

茹天星 杜利萍¹(绍兴 312065 绍兴齐贤人民医院;¹杭州 310013 浙江医院病区药房)

1 仪器与材料

1.1 仪器:岛津 GC-15A、CR-4A 数据处理机。

1.2 样品:夏季鱼油(舟山第二海洋渔业公司)。标准品:月桂酸(C12:0);肉豆蔻酸(C14:0);软脂酸(C16:0);酸脂酸(C18:0);亚油酸(C18:2);亚麻酸(C18:3);油酸(C18:1);花生酸(C20:0)花生四烯酸(C20:4);芥子酸(C22:1)。

2 实验方法

2.1 脂肪酸甲酯的制备:本实验对各脂肪酸以及鱼油样品均经甲酯衍生化处理,采用的方法是盐酸、甲醇法。

2.2 色谱条件:色谱柱:玻璃 2.1m×3.2mm, DEGA 柱;载气:N₂ 回流 60ml/min;柱温:20℃;气化溶和检测器温度:270℃;检测器:氢火焰。

2.3 色谱峰的确定:将上述 10 种标准品经甲酯化后,分别进样,然后以一定比例配成混合液,得色谱图。保留时间如表 1 所示,经 5 次进样后得平均值。

表 1 标准脂肪酸甲酯保留时间

色谱峰号	脂肪酸	保留时间 (min)	色谱峰号	脂肪酸	保留时间 (min)
1	月桂酸	1.27	6	亚油酸	8.33
2	肉豆蔻酸	2.09	7	亚麻酸	10.51
3	软脂酸	3.60	8	花生酸	11.17
4	酸脂酸	6.29	9	花生四烯酸	18.32
5	油酸	6.96	10	芥子酸	22.01

3 讨论

与标准脂肪酸甲酯图谱相比,可知鱼油中含有 C12:0, C14:0, C16:0, C18:, C18:1, C18:2, C18:3, C20:4 等,但对保留时间较长的两峰不能确定。根据碳数规则,对碳链受长的饱和脂肪酸可用经验公式: $\lg t_R = AN$

+c 求得,利用 C12:0 至 C20:0 的 5 个已知饱和脂肪酸的 t_R 值和 n 值进行回归,得回归方程为: $\lg t_R = 0.1193, n = 1.341 (r = 0.9996, n = 5)$ 。由该方程外可推得 C22:0 的 t_R 值为 19.22min, C24:0 和 t_R 值为 35.36min, C26:0 的 t_R 值为 61.99min, 这些 t_R 值与鱼油色谱图中的 t_R 值查对照,两未知峰不是饱和脂肪酸。

对于 $C_n:x$ (其中 $n \geq 18$ 的整数, $x = 1, 2, 3, 4, 5, 6, \dots$) 的未知峰,可用 Jamieson 等人报道的等效碳链长度的方法来确定,其表达式为: $ECL = 2(\lg t_x - \lg t_n) / (\lg t_{n+2} - \lg t_n) + n$ 。其中 t_x 为未知峰的保留时间,且 t_x 在 t_n 与 t_{n+2} 之间, n 为碳原子数。

本实验用与文献报道的极性基本相同的气相色谱柱(DEGA)以 C18:3 的 ECL 值为标准,通过计算鱼油中未知物的 ECL 值,与文献报道值相对照,可推知鱼油中未知物各组分的 ECL 值见表 2。

表 2 鱼油中各组份的 ECL 值及保留时间 t_R 值

ECL	t_R 实验值	t_R 文献值	$C_{n:n}$
10.69	19.80	19.80	18:3
12.23	20.37	20.27	18:4
14.41	20.94	20.94	20:3
18.73	21.85	21.68	20:4
23.07	22.40	22.45	20:5
32.77	23.75	23.62	22:4
40.82	24.51	24.38	22:5
45.33	24.88	24.72	22:6

由表中所示的 ECL 值可知鱼油中的主要成分。其中含量较高,保留时间分别为 23.07 和 45.33min 的未知峰, ECL 值为 22.40, 24.88, 是二十碳五烯酸(C20:5)和二十二碳六烯酸(C22:6)。

收稿日期:1998-05-31