

五种大戟科植物种子的脂肪酸的 结构鉴定*

喻学俭 王惠英

(中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

张继跃 刘伯年 虞启涛 黄知恒

(中国科学院上海药物研究所, 上海 200031)

摘 要

对西双版纳地区采集的五种大戟科植物——中平树 (*Mcaranga denticulata* (Bl.) Muell-Arg.)、白楸 (*Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell-Arg.)、木油桐 (*Aleurites montana* (Lour) Wis.)、叶轮木 (*Ostodes paniculata* Bl.) 及滑桃树 (*Trewia nudiflora* L.) 种子中的脂肪酸作了成分分析。长链脂肪酸样品与 2-氨基-2-甲基丙醇 (AMP) 缩合, 生成 2-取代-4, 4-二甲基二氢噁唑 (DMOX) 衍生物, 再进行色谱-质谱分析。根据质谱中特征峰的质量, 可以明确地确定脂肪键上双键及其它取代基的位置。这一方法简便有效, 重现性好, 能在一次分析中同时给出各成分的定性与定量结果, 适合于油脂化学中脂肪酸的鉴定。

关键词 木油桐; 白楸; 叶轮木; 滑桃树; 中平树; 脂肪酸鉴定

STRUCTURAL DETERMINATION OF FATTY ACID COMPONENTS IN THE SEED OILS OF FIVE SPECIES OF EUPHORBIACEAE

Yu Xue-jian and Wang Hui-ying

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

Zhang Ji-yao, Liu Bai-nian, Yu Qi-tao and Huang Zhi-heng

(Shanghai Institute of Materia Medica, Academia Sinica, Shanghai 200031)

Abstract

The fatty acid components of the seed oils of five species of Euphorbiaceae collected in Xishuanbanna district, Yunnan province—*Aleurites montana* (Lour.) Wis., *Mallotus paniculatus* (Lam.) Muell-Arg., *Ostodes paniculata* Bl., *Mcaranga denticulata* (Bl.) Muell-Arg., and *Tre-*

本文 1988 年 11 月收到, 1989 年 4 月收到修改稿。

* 国家自然科学基金资助项目。

wia nudiflora L.- have been analyzed. Long-chain fatty acids were first converted to corresponding 2-substituted 4,4-dimethylxazoline derivatives (DMOX) by condensing with 2-amino-2-methylpropanol (AMP) and subsequently analyzed by GC-MS. The position of unsaturation (double and triple bonds) and substituents (e.g., hydroxyl) in the aliphatic chain can easily be located by interpreting the mass spectra recorded in this way. The qualitative as well as quantitative results can be provided for all constituents in a single GC-MS run. This method proves simple and efficient, with good reliability, and is well suitable for the structure determination without reference specimens.

Key words *Aleurites montana*; *Mallois paniculatus*; *Ostodes paniculata*; *Trewia nudiflora*; *Mcaranga denticulata*; Identification of fatty acids

我国共有大戟科植物 68 属约 365 种^[1,2],仅西双版纳地区就有 100 余种^[3],其中种子含油量 15% 以上的油脂植物我们分析过 20 余种^[4]。长期以来,脂肪酸成分分析一直停留在 GC 保留时间对照或同系物碳数规律对常见的饱和及不饱和酸进行定性分析,在无标样时,无法进行鉴定。近年来,由于色谱、质谱联用的发展,结合化学修饰技术^[4],对长链脂肪酸上的双键定位获得较满意的结果。1986 年以来,又发展了一种简便有效的化学修饰方法:将羧基转化为相应的 2-取代-4,4-二甲基二氢噁唑(4,4-Di-methyl-d-xazoline 简称 DMOX),衍生物的质谱可以直接指示链上的结构变化^[12]。这一新的技术适合于含双键^[12]、叁键^[13]、环丙烷^[11]、环戊烯^[11]和侧链甲基^[9]的长链脂肪酸的结构鉴定。

本文阐述使用 DMOX-修饰法对大戟科的中平树 (*Mcaranga denticulata* Bl.) Muell-Arg.) 白楸 (*Mallois paniculatus* (Lam.) Muell-Arg.)、木油桐 (*Aleurites montana* (Lour.) Wis.) 叶轮木 (*Ostodes paniculata* Bl.) 及滑桃树 (*Trewia nudiflora* L.) 种子油的脂肪酸作了 GC-MS 分析。前人曾对它们(除中平树外)的种子油进行分析^[2,7,8],但对常见酸以外的组成并未作过鉴定。

实 验 部 分

(一) 样品来源

均采自云南省西双版纳傣族自治州勐腊县。

(二) 油的提取及含油量测定

用石油醚(60—90℃)为溶剂,油的理化性质测定按文献^[2]的方法。分析结果列于表 1。

(三) 酯化

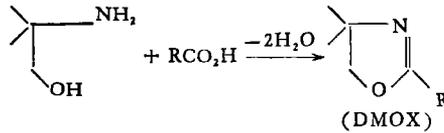
油脂皂化后,用乙醚提取除去非皂化物,碱液用硫酸酸化,再用乙醚提取游离酸,混合酸部分用硫酸-甲醇酯化,产物直接进行 GC 定量分析。

(四) GC 分析条件

气相色谱为 GC-9A (岛津公司), C-R3A 微处理机定量, FID 检测,色谱柱为 SE-54 石英毛细管柱(美国 J & W 公司), 30m × 0.25mm, 柱温 180—220℃, 程序升温 3℃/

min, 进样温度: 230°C, 载气: N₂, 分流比: 15:1。

制备衍生物



按文献^[12]方法混合脂肪酸 (10 μg—10mg) 与约等量的 2-氨基-2-甲基丙醇 (AMP) 混匀, 在 170°C 下回流加热 1 小时, 冷却后, 产物便能直接投入 GC-MS 分析。如需直接作质谱分析, 可将产物加适量二氯甲烷稀释, 以 10% NaOH 水溶液洗涤, 有机层用无水硫酸钠干燥, 浓缩。再经微型硅胶柱 (淋洗液: 石油醚或乙酸乙酯) 精制, 得纯 DMOX 油状物。

衍生化也可在更温和条件下操作^[10]。等量的脂肪酸与 AMP 混合, 加入约相等量的二环己烷在二氯甲烷中的溶液, 室温放 2—4 小时, 滤除不溶物, 溶液稍浓缩后, 加入等体积的氯化亚砷, 0°C 下放置 0.5 小时。加入碳酸钠水溶液, 以二氯甲烷提取。经干燥, 浓缩后, 即得油状的 DMOX。

(五) GC-MS

MAT 44s 色谱-质谱联用仪, SE-54 玻璃毛细管柱, 29m × 0.28mm, 载气: He: 1. ml/min, 分流比 10:1。进样器温度 250°C, 柱温 170°C, 3°C/min 程序升温到 240°C 恒定。接口温度 250°C, 电子能量 70eV, 发射电流 0.60mA。

结果与讨论

各种子油理化性质列于表 1。

表 1 五种大戟科植物油脂的分析数据

Table 1 Analytical data of derived oils from five species of Euphorbiaceae

植 物	木油桐	白 楸	叶轮木	中平树	滑桃树
Species	<i>Aleurites montana</i>	<i>Mallopus paniculatus</i>	<i>Ozododes paniculata</i>	<i>Mcaranga denticulata</i>	<i>Trewia nudiflora</i>
分析部位 Plant part analysed	种仁 Kernel	种子 Seed	种仁 Kernel	种子 Seed	种仁 Kernel
含油量 Oil content (%)	49.41	10.7	53.94	23.46	57.85
碘 值 I.V.	164.7	119.5	165.37	105.7	154.9
皂化值 S.V.	196.66	206.35	200.9	196.5	199.5
酸 值 Acid value	1.07	5.94	9.53	26.21	0.04
折光值 Refractive index	n _D ²⁰ 1.5242	n _D ²⁵ 1.4927	n _D ²⁷ 1.5211	n _D ²⁹ 1.4827	n _D ⁶⁰ 1.5060
比 重 Specific gravity	d ₄ ²⁰ 0.9368	—	d ₄ ²⁰ 0.9392	d ₄ ²⁰ 0.9176	d ₄ ²⁰ 0.9415

以甲酯的 GC (检测: FID) 进行组分定量; 在相仿的条件下, 以样品的 DMOX 衍生物作 GC-MS (以总离子流检测), 进行脂肪酸的结构鉴定。通常, 甲酯与 DMOX 有相似的色谱与大致相同的出峰次序。

(一) 中平树

分析结果见表 2。

表 2 中平树种子脂肪酸组成

Table 2 Seed fatty acid composition of *Mearanga denticulata*

峰号 Peak No.	含量(%) Content (%)	衍生物分子量 Mol. wt. DMOX	确定结构 Structure assigned
1	5.8989	307	16:1(9)
2	17.7568	309	16:0
3	6.4801	333	18:2(9,12)
4	14.6521	335	18:1(9c)
5	4.9913	335	18:1(11)
6	0.8993	337	18:0
7	2.3709	335	18:1(9t)
8	1.3150	363	20:1(9)
9	2.0398	363	20:1(11)
10	1.0436	365	20:0
11	17.0282	391	22:1(13c)
12	3.6223	393	22:0
13	1.5033	391	22:1 (13t)
14	7.3695	419	24:1(15)
15	1.3848	421	24:0

DMOX 的质谱中有相当明显的分子离子峰。可据以判断链上不饱和键 (或其他基团) 的数目与类型。通常, 谱中以 m/z 113 为基峰, m/z 126 为第二大峰; 有一个间隔为 14 个质量单位的同离子系列 (m/z 140 \pm 14x), 一直向高质量区延伸至分子离子峰附近。已经确定, 当酸键中相当于含 $n+1$ 与 n 个碳原子的两个系列离子之间, 相距为 12 个质量单位时, 指示一个双键位于碳 $n-n+1$ 之间。当然, 在链上含有一对叁键时, 质谱的相应部位出现一对相距 10 个质量单位的系列离子, 余类推。

表 3 白椒脂肪酸组成

Table 3 Seed fatty acid composition of *Mallorus paniculatus*

峰号 Peak No.	含量(%) Content (%)	衍生物分子量 Mol. wt. DMOX	确定结构 Structure assigned
1	0.6219	231	14:0
2	34.9108	307	16:1(9)
3	12.0962	309	16:0
4			unidentified
5	21.9145	333	18:2(9,12)
6	9.1861	335	18:1(9)
7	7.7469	335	18:1(11)
8	3.3457	337	18:0

此外, 还有另一对位置异构烯酸: 20:1(9)(#8) 与 20:1(11)(#9), 峰 #7 与 #4 [18:1(9c)] 的质谱相同, 峰 #13 与 #11 [22:1(13c)] 的质谱也相同, 但由出峰顺序经验判断, #7 可能为反式油酸 [18:1(9t)], #13 为反式芥酸 [22:1(13t)]。

(二) 白楸

白楸种子油中, 有大量的棕榈油酸, 其它均为常见的脂肪酸, 分析结果见表 3。

(三) 木油桐

此种子油的脂肪酸组成(表 4) 1—6# 峰分别为常见的 10:0, 11:0, 16:0, 18:0, 18:1(9), 18:2(9, 12) 与 20:1(11)。代表 #9—12 峰的质谱[图 1(a)] 完全相同, 它们是共轭

表 4 木油桐脂肪酸组成

Table 4 Seed fatty acid composition of *Aleurites montana*

峰号 Peak No.	甲酯化衍生物含量(%) Content (%) by Me ester DMOX	衍生物分子量 Mol. wt. of DMOX	衍生物确定的结构 Structure assigned by DMOX
1	0.3073	225	10:0
2	0.1760	239	11:0
3	3.8160	309	16:0
4	13.9750	333	18:2(9,12)
5	15.4435	335	18:1(9)
6	2.8339	337	18:0
7	0.4055	331	18:2 (9,13a)
8	0.2336	331	18:2 (10, 13a)
9	14.7072	331	18:3 (9, 11, 13)
10	10.1646	331	isomer of 18:3
11	16.7327	331	isomer of 18:3
12	19.0821	331	isomer of 18:3
13	1.4761	331	isomer of 18:3
14	0.3612	363	20:1(11)

表 5 叶轮木脂肪酸组成

Table 5 Seed fatty acid composition of *Ostodes paniculata*

峰号 Peak No.	含量(%) Content (%)	衍生物分子量 Mol. wt. DMOX	确定结构 Structure assigned
1	0.1548	239	11:0
2	0.2344	281	14:0
3	0.0933	307	16:1(9)
4	11.6033	309	16:0
5	22.5450	333	18:2(9,12)
6	22.2345	335	18:1(9)
7		337	18:0
8	5.0072	331	18:3(9, 11, 13)
9	4.8667	331	isomer of 18:3
10	8.2573	331	isomer of 18:3
11	9.0757	331	isomer of 18:3
12	2.1318	331	isomer of 18:3
13	0.5410	363	20:1(9)

三烯酸 18:3 (9, 11, 13) 的四种几何异构体,其特征峰在 m/z 196 (C_8), 208 (C_9); 222 (C_{10}), 234 (C_{11}); 与 248 (C_{12}), 260 (C_{13}), 指示 $\Delta^{9,11,13}$ 共轭三烯。

此外, #7 与 #8 为两个炔烯酸,其含量不高[图 1(b), 图 1(c)], 但质谱中有 m/z 196 (C_8), 208 (C_9) 与 m/z 250 (C_{12}), 260 (C_{13}) 则为 18:2 (9, 13a) 与 18:2 (10, 13a)。

(四) 叶轮木

叶轮木种子油中除常见酸外, 还有一组含十八碳共轭三烯的顺反异构体 (#8—12 见表 5)。其脂肪酸或甲酯表现出具有共轭三烯特征的紫外吸收 [λ_{max}^{FtOH} 268nm]^[5], 由于这组共轭酸的存在, 叶轮木油具有干性油的特性, 与桐油近似。

(五) 滑桃树

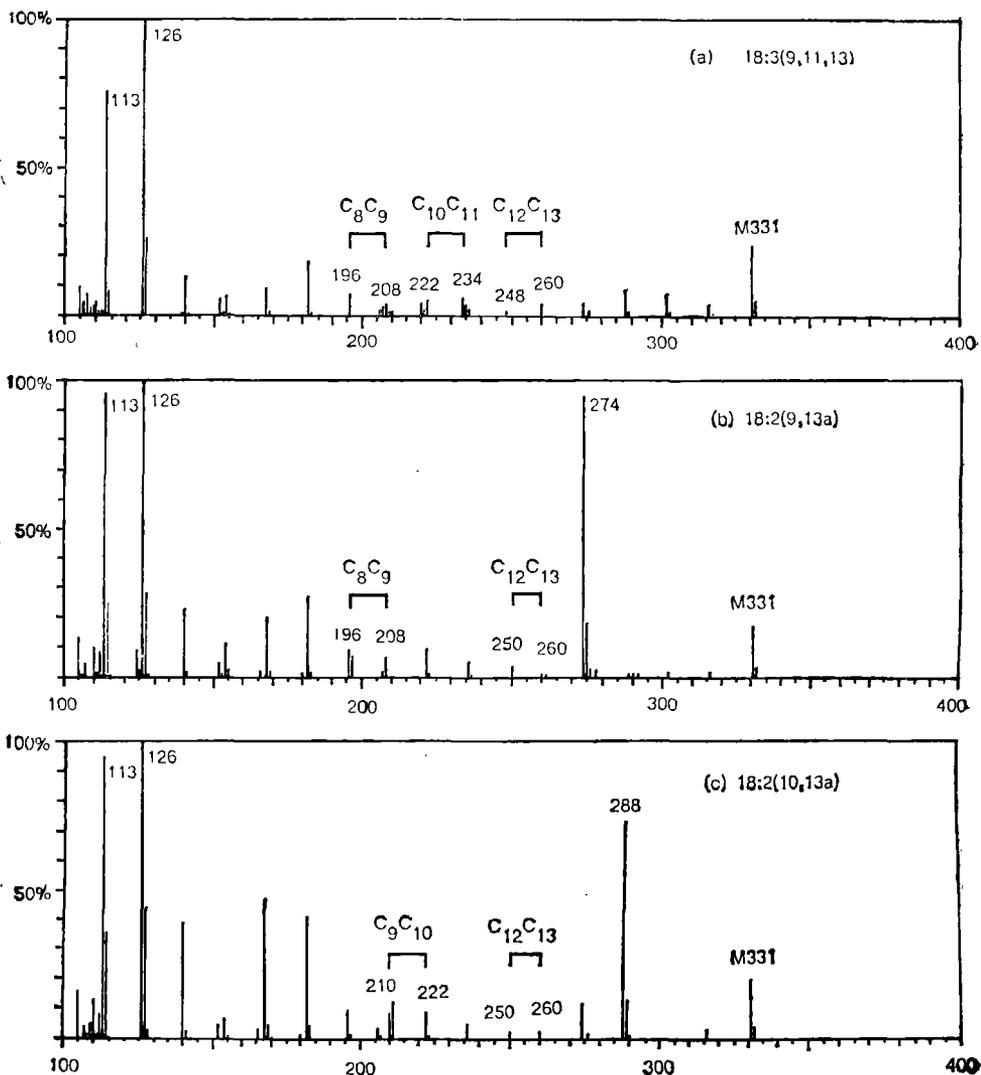


图 1 (a) 18:3 (9, 11, 13); (b) 18:2 (9, 13a); (c) 18:2 (10, 13a) DMOX 衍生物质谱图

Fig. 1 Mass spectra of oxazoline derivatives of component acids.

(a) 18:3 (9, 11, 13); (b) 18:2 (9, 13a); and (c) 18:2 (10, 13a).

种子油中除 16:0, 18:0, 18:1(9), 18:2(9, 12) 外, 文献 [6] 报道还有一种羟基共轭三烯酸。按文献 [6] 方法, 制得总脂肪酸, 再进行甲酯化, 将混合酸甲酯用硅胶 TLC 展开 (CHCl_3 作展开剂) 得二个色带, 下部为羟基酸甲酯, 分出后进行质谱分析, 证明为 18-OH-18:3(9, 11, 13)。m/z 196, 208 (C_8), 222—234 (C_{10}), 248—260 (C_{12}) 指示 $\Delta^{9,11,13}$, m/z 316 [$\text{M}-\text{CH}_2\text{OH}$], 302 [$\text{M}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$] 指示分子的端部有一个 OH 基(图 2)。

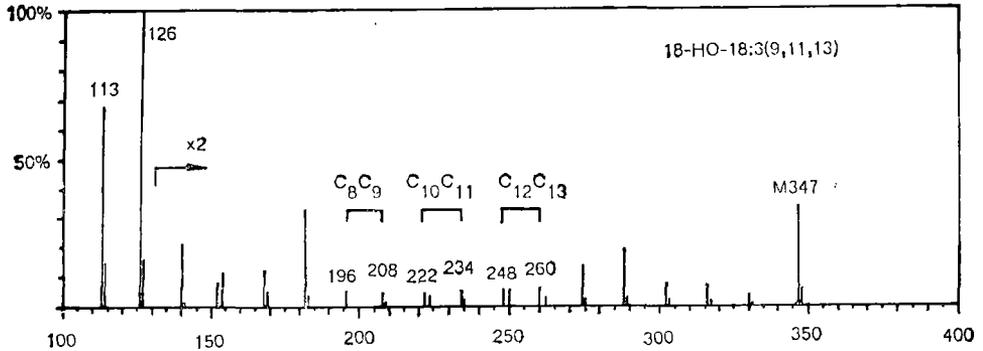


图 2 18-OH-18:3(9, 11, 13) DMOS 衍生物质谱图

Fig. 2 Mass spectra of oxazoline derivative of component acid, 18-OH-18:3(9, 11, 13)。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院植物研究所, 1985: 中国高等植物科属检索表。科学出版社, 北京, 249—257 页。
- [2] 中国油脂植物编委会, 1987: 中国油脂植物。科学出版社, 北京, 257—288 页。
- [3] 中国科学院云南热带植物研究所, 1983: 西双版纳植物名录。云南民族出版社, 昆明, 125—142 页。
- [4] 张继跃、虞启涛、黄知恒, 1987: 质谱法对长链不饱和脂肪酸和其他不饱和化合物的双键定位。质谱学报, 8: 1。
- [5] 喻学俭、李延辉, 1982: 新发掘的一种含桐酸的资源植物——叶轮木。热带植物研究, 22: 31。
- [6] Chisholm. M. J. and C. Y. Hopkins, 1966: Kamolenic acid and other conjugated fatty acids in certain seed oils. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 43: 390。
- [7] Eckey, E. W., 1959: Vegetable Oils and Fats. Reinold, New York, p. 575。
- [8] Hilditch, T. P. and P. N. Willims, 1964: The Chemical Constitution of Natural Fats. 4th ed. Chapman and Hall, London, pp. 255—257。
- [9] Yu, Q. T., B. N. Liu, J. Y. Zhang and Z. H. Huang, 1988: Chemical modification in mass spectrometry. 6. Analysis of branched chain fatty acids in the preen gland wax of Shanghai duck by GC-MS of 2-substituted 4,4-dimethyloxazoline derivatives. *Lipids*, 23: 804。
- [10] Zherg, J. Y., H. Y. Wang, Q. T. Yu, X. J. Yu B. N. Liu and Z. H. Huang, 1989: Chemical modification in mass spectrometry. 9. The structure elucidation of the constituent fatty acids in the seed oil of Flacourtiaceae species by GC-MS of their oxazoline derivatives. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 66: 242—246。
- [11] Zhang, J. Y., Q. T. Yu and Z. H. Huang, 1987: Chemical modification in mass spectrometry. 5. 2-substituted 4,4-dimethyloxazolines as useful derivatives for the localization of cyclopropane ring in long-chain fatty acids. *Shitzuryo Bunseki* (Japan), 35: 23。
- [12] Zhang, J. Y., Q. T. Yu, B. N. Liu and Z. H. Huang, 1988: Chemical modification in mass spectrometry. 4. 2-Substituted 4, 4-dimethyloxazolines as useful derivatives for the location of double bonds in longchain fatty acids. *Biomed. Environ. Mass Spectrom.*, 15: 33。
- [13] Zhang, J. Y., X. J. Yu, H. Y. Wang B. N. Liu, Q. T. Yu and Z. H. Huang, 1989: Chemical modification in mass spectrometry. 10. Location of triple bond in the constituent fatty acids from the kernel oil of *Pyralia edulis* by GC-MS of their oxazoline derivatives. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, 66: 319—323。