

# 快速制备脂肪酸甲酯用于 气相色谱分析\*

黄志斌 李淡秋

(上海水产大学)

**摘要** 在不需从原料中提取脂质,而直接将磨碎原料中的脂质皂化、甲酯化后,进行气相色谱的脂肪酸分析测定。这种方法与通常采用的先提脂质再行甲酯化的方法进行了比较,结果表明,分析测定的数据与普通法极为一致,其优点是快速、操作方便、节省药品;即使样品很少,用普通法不易提取脂质时,此法也能顺利地完成分析工作。

**关键词** 快速制备,脂肪酸甲酯,气相色谱分析

脂肪酸在脂质中主要含存于甘油酯、磷脂、固醇酯和蜡等成分中。如要测定各个成分内的脂肪酸,就需要先自样品将脂质提取,再用薄层层析法将各类脂质分离,最后分别测定不同脂质的脂肪酸组成<sup>[1]</sup>。但在多数情况下,只需测定全部脂质中的脂肪酸,譬如鱼肉脂质的脂肪酸组成就是将全部脂质进行皂化、甲酯化,最后进行气相色谱分析。

水产品脂肪酸组成的分析,通常是按照 Bligh-Dyer<sup>[2]</sup>的方法,在常温条件下用溶剂将脂质自样品中提取,再用 L. D. Metcalfe 等人<sup>[3]</sup>的三氟化硼催化法将脂肪酸甲酯化后进行气相色谱分析。1986年黄志斌在美国罗德岛大学食品科学系从事脂肪酸的研究工作时<sup>(1)</sup>,最初是采用经该系脂肪酸实验室改进的 L. D. Metcalfe 法。鉴于气相色谱测定的脂肪酸是相对含量,尝试将磨碎的样品直接进行皂化和甲酯化,取得了满意的结果,被该实验室所肯定。但由于时间所限,未能进行多种样品的试验。回国后对新鲜的鱼肉、鱼内脏、鱼肝、鱼卵和干制品用直接法和原法进行了比较试验。结果表明,直接法可以代替原法进行脂肪酸的分析测定。

## 材料与方 法

### 一、原材料来源

所用鲜鱼和虾干都购自上海市场。

脂肪酸标准和固定相 SP-2330 购自美国 Supelco INC.

### 二、脂肪酸甲酯的制备

\* 本校本科毕业生张为民和朱先宸参加部分分析工作。

收稿年月:1989年3月,同年9月修改。

(1) 黄志斌等, 1987。将鱼油中的 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸转移到鸡蛋中的研究,曾作为交流论文在中国水产学会第四次全国会员代表大会暨学术年会分组会上宣读。

原法是按照 Bligh-Dyer 和 L. D. Metcalfe 改良法进行甲酯化。

直接法是称取匀浆化的样品 1~2 克(约含脂质 0.1~0.2 克)于具有聚四氟乙烯盖衬的硬质玻璃试管(Teflon tube)中,加 4 毫升 0.5N 氢氧化钾甲醇溶液,充氮,旋紧管盖,置沸水浴中 10 分钟,取出。待冷后加 5 毫升三氟化硼甲醇溶液(或乙醚溶液),充氮,继续置沸水浴中 5 分钟,取出。待冷后加 1~2 毫升石油醚,振荡,使脂肪酰甲酯转入醚层,离心,用吸管细心地吸取石油醚溶液,转移到梨形瓶中,在旋转蒸发器上减压浓缩到所需浓度,即可进行气相色谱分析。

### 三、气相色谱分析条件

气相色谱仪: 日立 663-30 型气相色谱仪,连接日立 833 型微处理机。

检测器: 氢火焰离子化检测器。

色谱柱: 玻璃填充色谱柱  $\phi 2.0$  毫米  $\times 2$  米。

固定相: 10% SP-2330, 100/120 目 Chromosorb-WAW。

氮气流速 50 毫升/分,氢气压力 0.7 公斤/厘米<sup>2</sup>,空气压力 0.7 公斤/厘米<sup>2</sup>。

柱温 190°C,检测器 250°C,气化室 250°C

## 结果与讨论

1. 如所周知,影响气相色谱分析结果的因素既多又敏感,另一方面脂肪酸的测定结果表示为相对百分含量,因而数据不易稳定。从表 1 中的数据可以看出,不论是新鲜鱼的肉、内脏、肝、卵或干制品,两种方法所得的结果是相当接近的。

表 1 几种样品的脂肪酸组织(%)

Table 1 Fatty acid composition of several samples(%)

脂肪酸	蓝圆鲱肉		鲑鱼肉		鲑鱼内脏		鳊肉		草鱼肉		鳊鱼肝		鲫鱼卵		虾干	
	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法	直接法	原法
C14	5.5	5.1	3.6	3.5	4.2	4.2	1.0	0.8	1.6	1.2	2.5	2.5	0.9	0.9	5.2	5.3
C16:0	25.6	24.6	22.4	21.7	20.8	21.1	19.8	19.5	22.4	22.4	19.8	20.3	18.8	20.0	26.1	26.3
C16:1 $\omega$ 7	4.3	3.7	2.5	2.9	3.3	3.3	2.7	2.9	10.5	11.6	9.7	9.6	8.6	8.8	7.3	7.1
C18:0	4.7	4.2	6.0	5.3	5.2	5.3	6.8	4.5	4.7	3.2	8.7	3.8	4.0	3.5	10.7	10.9
C18:1 $\omega$ 9	15.3	17.0	19.8	20.6	21.1	21.1	16.7	18.8	24.1	23.4	22.5	23.5	24.8	28.1	18.1	17.4
C18:2 $\omega$ 6	0.3	0.4	1.7	1.7	1.8	1.7	3.0	3.6	8.1	8.1	0.5	0.6	3.2	3.7	3.7	3.1
C18:3 $\omega$ 3	0.1	0.2	0.8	0.9	0.4	0.4	2.1	2.2	3.2	3.2	0.3	0.2	0.8	0.9	0.7	0.9
C20:1 $\omega$ 9	0.3	0.2	1.1	1.2	1.0	1.0	—	0.2	0.3	0.3	1.8	1.9	1.1	1.4	0.6	0.8
C20:4 $\omega$ 6	2.2	2.2	1.9	1.9	2.1	2.1	10.0	8.0	6.8	6.3	3.7	3.6	6.8	4.5	4.6	4.9
C22:1 $\omega$ 9 $\omega$ 11	0.1	0.1	0.7	0.8	0.8	0.8	0.6	0.6	0.4	0.4	0.1	0.1	0.4	0.6	—	—
C20:5 $\omega$ 3	13.0	13.2	8.0	8.2	9.5	9.1	11.0	10.8	2.1	2.1	8.9	8.0	4.2	3.9	12.2	12.6
C22:4 $\omega$ 6	1.0	1.4	0.2	0.3	0.4	0.3	—	0.3	—	—	0.8	0.8	0.3	0.3	—	—
C22:5 $\omega$ 3	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.7	1.2	1.3	0.8	0.9	1.3	1.3	4.8	4.6	—	—
C22:6 $\omega$ 3	25.1	25.5	26.1	25.7	23.1	23.0	19.5	19.5	9.8	10.4	18.4	17.9	13.4	12.2	8.7	8.5

2. 从图 1 和图 2 鳊鱼肝脂质的脂肪酸分析图谱可以看出,两种方法的结果是令人满意的。

3. 为了检验两法结果的差异性,我们用鲑鱼内脏各做了 5 次实验(表 2)。将所获数

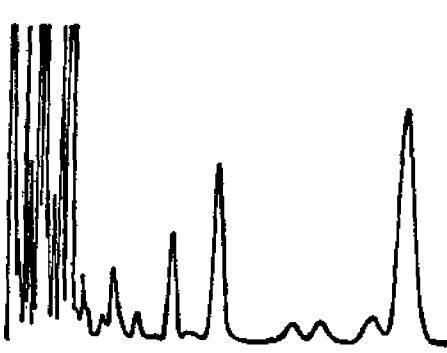


图1 鳕鱼肝脂质的脂肪酸图谱(直接法)

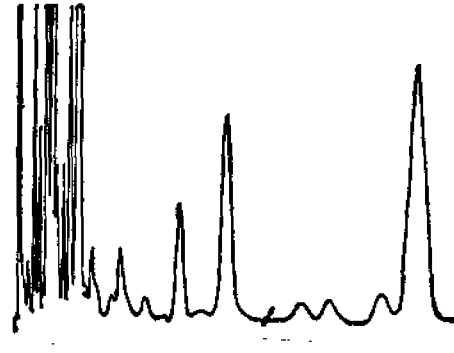
Fig. 1 Chromatogram of fatty acids from liver lipids of *Raja porosa* (by direct method)

图2 鳕鱼肝脂质的脂肪酸图谱(原法)

Fig. 2 Chromatogram of fatty acids from liver lipids of *Raja porosa* (by original method)

表2 两种方法对鳕鱼内脏脂肪酸组成重复分析的结果(%)

Table 2 Repeatedly analytical results of fatty acid composition of mackerel viscera using two methods (%)

脂肪酸	直接法					原法				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
C14	4.4	4.4	4.3	4.2	3.8	4.3	4.3	4.2	4.1	4.3
C16:0	20.6	21.5	20.8	20.6	20.5	21.5	21.0	20.9	21.2	21.1
C16:1 $\omega$ 7	3.3	3.3	3.4	3.3	3.1	3.3	3.4	3.3	3.4	3.2
C18:0	5.1	5.3	5.1	5.2	5.4	5.4	5.4	5.4	5.3	5.2
C18:1 $\omega$ 9	21.1	21.7	21.3	21.0	20.3	21.1	21.2	21.0	21.3	20.9
C18:2 $\omega$ 6	1.8	1.8	1.8	1.7	1.7	1.7	1.7	1.8	1.7	1.8
C18:3 $\omega$ 3	1.0	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.9	0.9	1.0
C20:1 $\omega$ 9	0.9	1.0	1.0	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0	0.9	1.0
C20:4 $\omega$ 6	2.0	1.9	2.0	2.0	2.4	2.0	2.1	2.0	2.1	2.2
C22:1 $\omega$ 9 11	0.9	0.8	0.8	0.8	0.7	0.8	0.8	0.8	0.8	0.9
C20:5 $\omega$ 3	9.4	9.2	9.7	9.6	9.6	8.8	8.9	9.1	9.3	9.2
C22:4 $\omega$ 6	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	0.4	0.3	0.3	0.3
C22:5 $\omega$ 3	0.6	0.7	0.7	0.7	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.6
C22:6 $\omega$ 3	23.0	21.9	22.7	23.2	24.7	22.8	23.0	23.4	22.9	23.0

按下面  $t$  检验公式计算, 然后进行判断。

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{S} \sqrt{\frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2}} \quad S = \sqrt{\frac{\sum(x - \bar{x})^2 + \sum(y - \bar{y})^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

式中,  $x, y$ ——为直接法和原法测定的各个脂肪酸含量的算术平均值;

$n_1, n_2$ ——两法各测定的次数;

$n_1 + n_2 - 2$ ——自由度;

从两法所测各种脂肪酸含量的计算结果表明  $t < t_{0.05}$ , 即两法差别不显著。

4. 采用原法制备脂肪酸甲酯约需 1 小时, 而直接法仅需 25 分钟。

5. 在分析干制品时, 调入的水量及样品磨碎程度至关重要, 将水分调节到 80% 左右

进行均浆,能取得满意的结果。

6. 对于数量很少,或者含脂量极微,形态特殊的样品,用原法不易提取其中的脂质时,采用直接法也能顺利地完成分析工作,因为样品微粒是在隔氧和加热的条件下与试剂作用,即使时间短暂,反应也能达到完全。

### 参 考 文 献

- [1] Bligh, E. G.; W. J. Dyer, 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
- [2] Christie, w. w., 1982. The analysis of simple lipid classes, *Lipid Analysis*, 93-96. Pergamon Press. Oxford.
- [3] Metcalfe, L. D. *et al.*, 1966. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 38: 514-515.

## A RAPID PREPARATION OF FATTY ACID METHYL ESTERS FOR GAS CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS

Huang Zhibin and Li Danqiu

(Shanghai Fisheries University)

**ABSTRACT** A rapid preparation of fatty acid methyl esters by using direct reaction in the ground sample without lipid extraction was developed. Fish flesh, fish viscera, fish liver, fish eggs and dried shrimps were used as samples in comparative experiments. The results of this new direct method were extremely close to those of ordinary method in which lipid was extracted according to Bligh-Dyer's method and fatty acids was esterified according to Metcalfe's method ( $t < t_{0.05}$ ). The advantages of this direct method are rapid, reagent saving, simple and convenient. It can solve the difficulty in extracting lipid from samples of small amount or of less in lipid in the case of ordinary method.

**KEYWORDS** rapid preparation, fatty acid methyl ester, gas chromatographic analysis