

气相色谱质谱联用法测定原奶中脂肪酸的含量

GCMS-118

摘要： 本文建立一种利用岛津气相色谱质谱联用法 (GC/MS QP2010 Ultra) 检测原奶中 37 种脂肪酸含量的方法。结果表明：在 HP-88 的毛细管柱上 37 种脂肪酸得到很好的分离，在 0.2 mg/mL~10 mg/mL 浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均大于 0.999，标样连续 5 次进样，峰面积 RSD 值均小于 6.0%，精密度良好。

关键词： 气相色谱质谱联用仪 脂肪酸 原奶

脂肪是牛奶等食品的重要营养组成成分，脂肪酸作为脂肪中的有效成分，其种类、含量和比例与人体营养需要密切相关；随着食品工业的快速发展，牛奶质量越来越受到人们的关注，脂肪酸是牛奶质量评价的重要指标之一。

本文参照 GB 5413.27-2010 《婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定》第一法乙酰氯-甲醇甲酯化法，其原理为乙酰氯与甲醇反应得到的盐酸-甲醇使试样中的脂肪和游离脂肪酸甲酯化，利用岛津 GC/MS QP2010 Ultra 对原奶中的 37 种脂肪酸进行了定性定量检测，方法操作简单方便，线性关系及仪器精密度良好，满足分析的需求。

实验部分

1.1 仪器与试剂

岛津 GCMS-QP2010 Ultra 气相质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：HP-88 (100 m × 0.25 mm × 0.20 μm)

进样口：220℃

柱温程序：60℃ (1 min) _40℃ /min_140℃ _4℃ / min_240℃ (15 min)

载气控制方式：恒线速度方式

恒线速度：20.0 cm/sec

进样方式：分流

分流比：20:1

离子化方式：EI

离子源温度：200℃

接口温度：240℃

溶剂延迟：5 min

扫描范围：50~500 amu

1.3 样品制备

样品处理方法参照 GB 5413.27-2010 《婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定》第一法乙酰氯-甲醇甲酯化法：

称取试样 0.5 g (精确到 0.1 mg) 于 15 mL 干燥螺口玻璃管中，加入 5.0 mL 甲苯，混匀，加入 10 % 乙酰氯甲醇溶液 6.0 mL，充氮气后，旋紧螺旋盖，振荡混合后于 80℃ ± 1℃ 水浴中放置 2 h，期间每隔 20 min 取出振摇一次，水浴后取出冷却至室温。将反应后的样液转移至 50 mL 离心管中，分别用 3.0 mL 碳酸钠溶液清洗玻璃管三次，合并碳酸钠溶液于 50 mL 离心管中，混匀，5000 转 / 分钟离心约 5 min。取上清液 1 μL 作为试液，气相质谱联用仪测定。

结果与讨论

2.1 标准溶液色谱图

以二氯甲烷为溶剂配制 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液，标准溶液质谱总离子流图见图 1- 图 2，组分表见表 1。

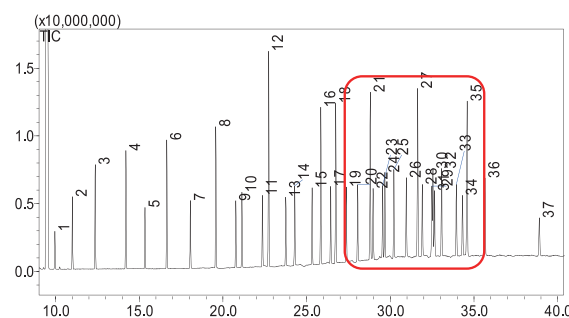


图 1 37 种脂肪酸的总离子流图 (5 mg/mL)

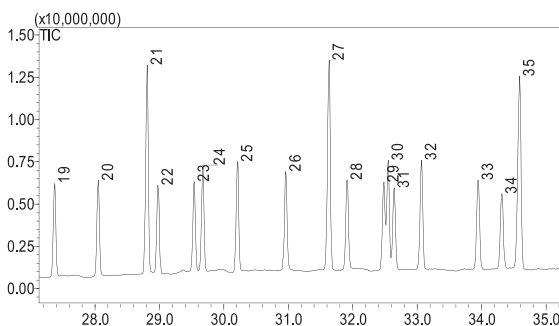


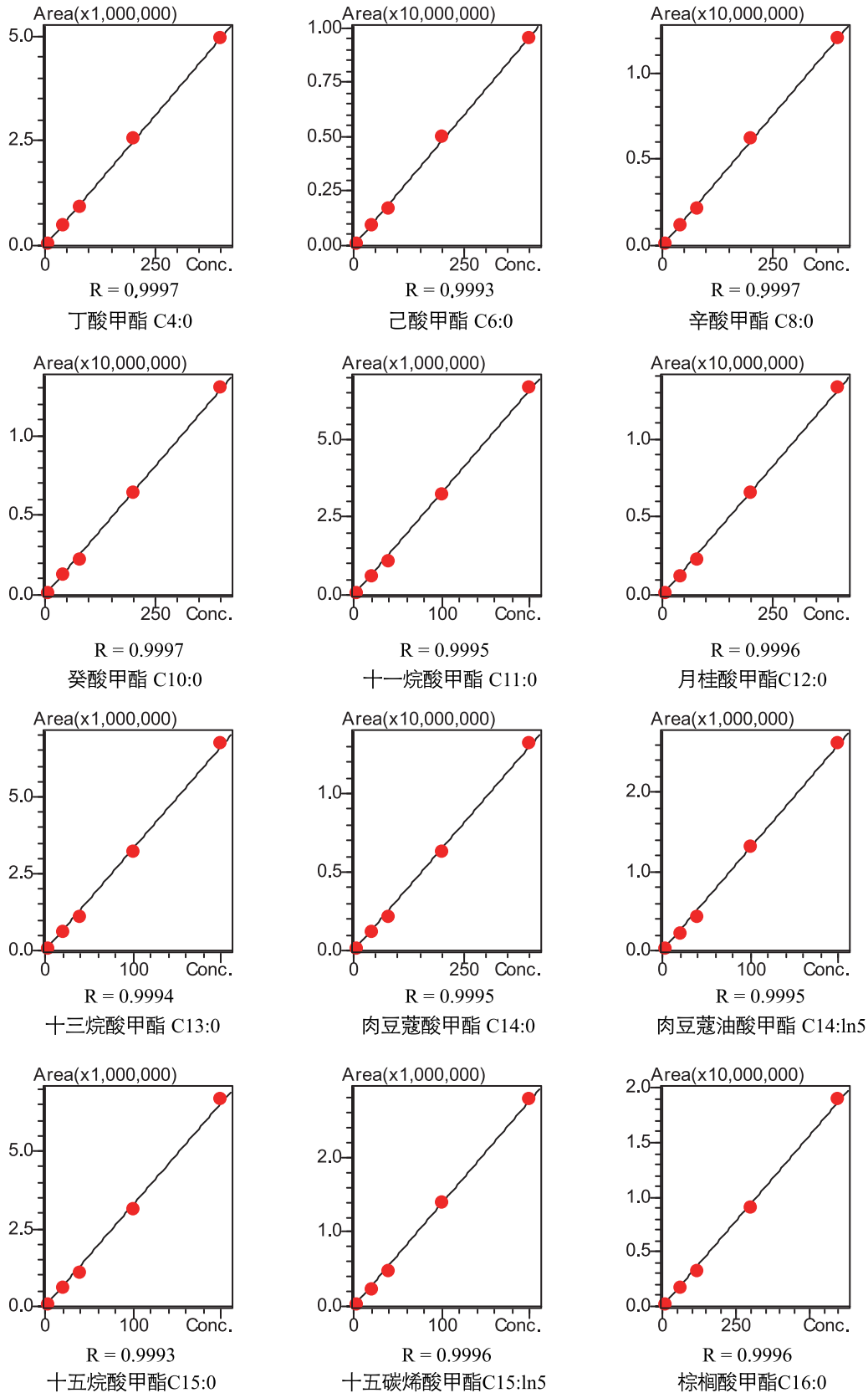
图 2 37 种脂肪酸总离子流图 27.0-35.0 min 放大图

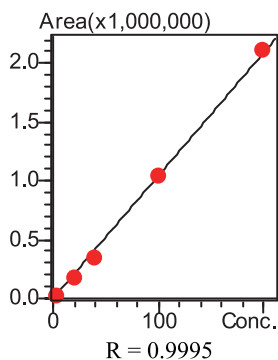
表 1 37 种脂肪酸甲酯的浓度及定性结果 (GCMS)

NO	化合物名称	各组分浓度 (wt.%)	保留时间 (min)
1	丁酸甲酯 C4:0	4	9.958
2	己酸甲酯 C6:0	4	11.008
3	辛酸甲酯 C8:0	4	12.367
4	癸酸甲酯 C10:0	4	14.200
5	十一烷酸甲酯 C11:0	2	15.350
6	月桂酸甲酯 C12:0	4	16.650
7	十三烷酸甲酯 C13:0	2	18.067
8	肉豆蔻酸甲酯 C14:0	4	19.575
9	肉豆蔻油酸甲酯 C14:1n5	2	20.775
10	十五烷酸甲酯 C15:0	2	21.142
11	十五碳烯酸甲酯 C15:1n5	2	22.367
12	棕榈酸甲酯 C16:0	6	22.725
13	棕榈酸烯甲酯 C16:1n7	2	23.758
14	十七烷酸甲酯 C17:0	2	24.292
15	十七碳烯酸甲酯 C17:1n7	2	25.325
16	硬脂酸甲酯 C18:0	4	25.842
17	反式油酸甲酯 C18:1n9t	2	26.433
18	油酸甲酯 C18:1n9c	4	26.742
19	反亚油酸甲酯 C18:2n6t	2	27.375
20	亚油酸甲酯 C18:2n6c	2	28.050
21	花生酸甲酯 C20:0	4	28.792
22	γ -亚麻酸甲酯 C18:3n6	2	28.983
23	α -亚麻酸甲酯 C18:3n3	2	29.542
24	二十碳烯酸甲酯 C20:1	2	29.667
25	二十一烷酸甲酯 C21:0	2	30.200
26	二十碳二烯酸甲酯 C20:2	2	30.958
27	二十二烷酸甲酯 C22:0	4	31.617
28	二十碳三烯酸甲酯 C20:3n6	2	31.917
29	二十碳三烯酸甲酯 C20:3n3	2	32.475
30	芥酸甲酯 C22:1n9	2	32.542
31	花生四烯酸甲酯 C20:4n6	2	32.642
32	二十三烷酸甲酯 C23:0	2	33.058
33	二十二碳二烯酸甲酯 C22:2n6	2	33.942
34	二十碳五烯酸甲酯 C20:5n3	2	34.317
35	二十四烷酸甲酯 C24:0	4	34.567
36	二十四碳烯酸甲酯 C24:1n9	2	35.642
37	二十二碳六烯酸甲酯 DHA	2	38.917

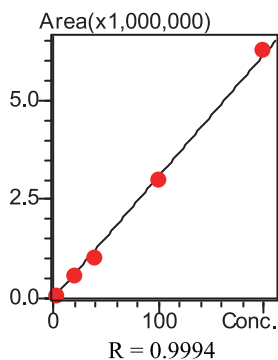
2.2 标准曲线

以二氯甲烷为溶剂配制混合标准溶液，工作溶液系列浓度为 0.2、1、2、5、10 mg/mL。各组分标准曲线及相关系数见图 3。

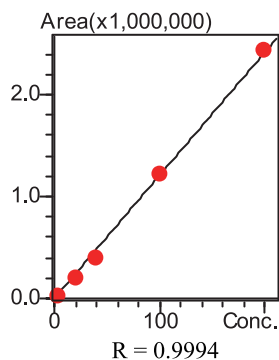




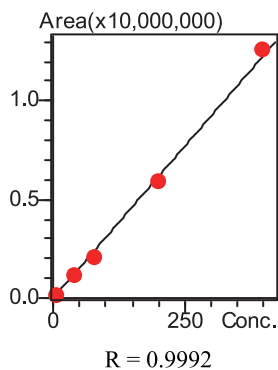
棕榈酸烯甲酯 C16:ln7



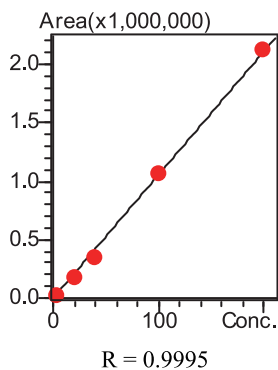
十七烷酸甲酯 C17:0



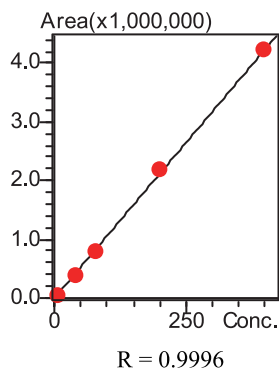
十七碳烯酸甲酯 C17:ln7



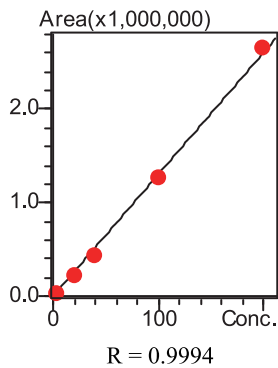
硬脂酸甲酯 C18:0



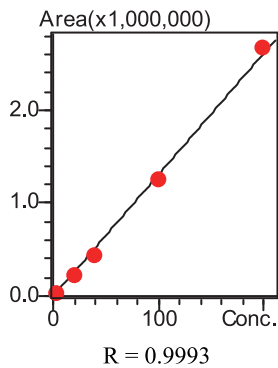
反式油酸甲酯 C18:ln9t



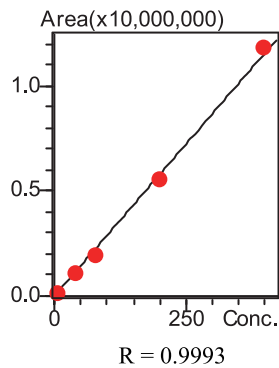
油酸甲酯 C18:ln9c



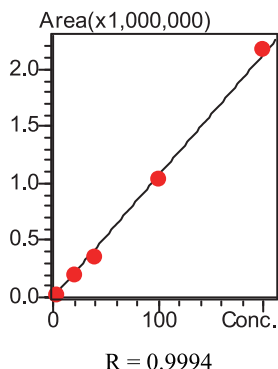
反亚油酸甲酯 C18:ln9c



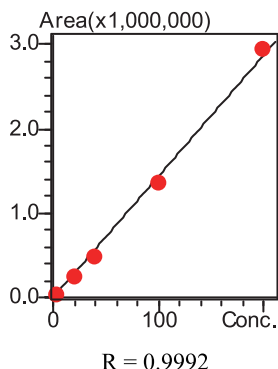
亚油酸甲酯 C18:2n6c



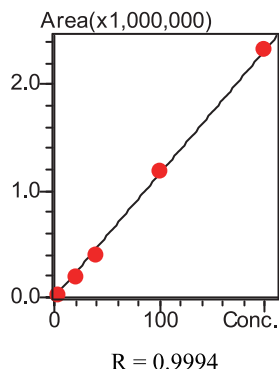
花生酸甲酯 C20:0



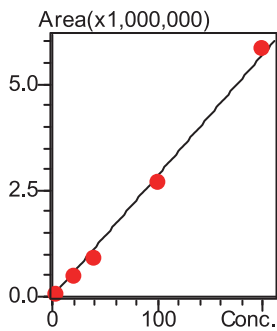
γ-亚麻酸甲酯 C18:3n6



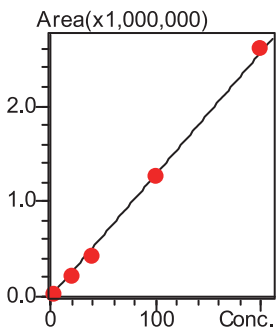
α-亚麻酸甲酯 C18:3n3



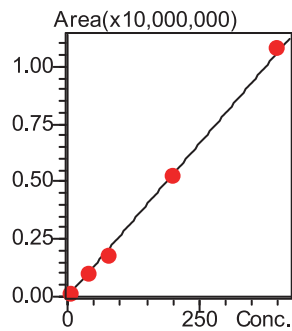
二十碳烯酸甲酯 C20:1



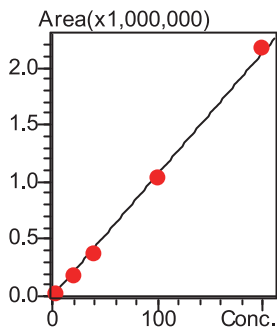
R = 0.9991
 二十一烷酸甲酯 C21:0



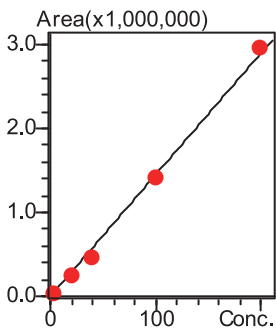
R = 0.9996
 二十碳二烯酸甲酯C20:2



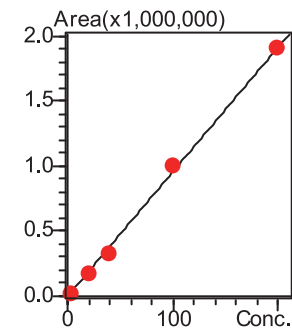
R = 0.9995
 二十二烷酸甲酯C22:0



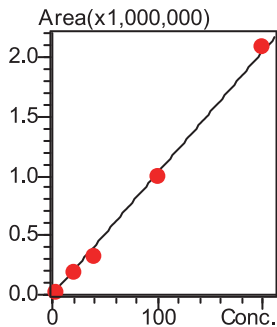
R = 0.9996
 二十碳三烯酸甲酯 C20:3n6



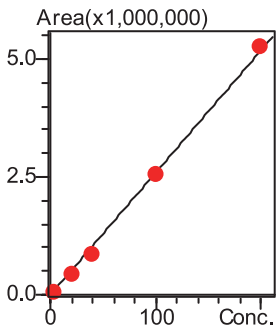
R = 0.9993
 二十碳三烯酸甲酯 C20:3n3



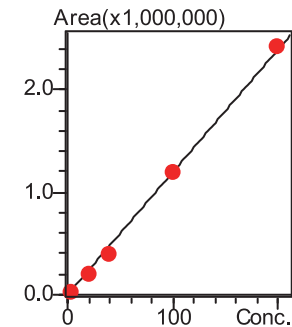
R = 0.9992
 芥酸甲酯 C22:ln9



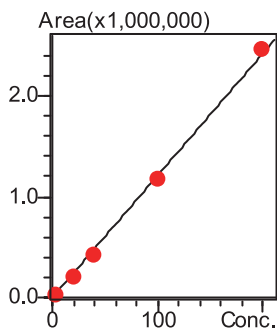
R = 0.9993
 花生四烯酸甲酯 C20:4n6



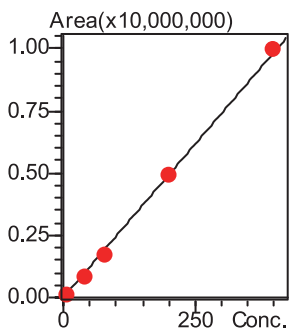
R = 0.9996
 二十三烷酸甲酯 C23:0



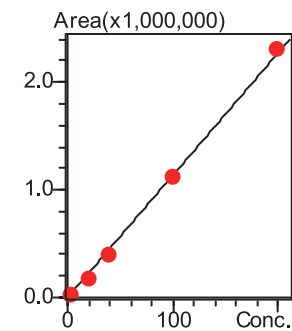
R = 0.9995
 二十二碳二烯酸甲酯 C22:2n6



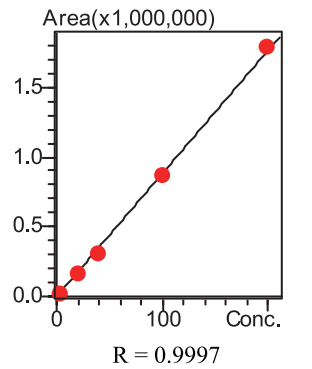
R = 0.9996
 二十碳五烯酸甲酯 C22:2n6



R = 0.9996
 二十四烷酸甲酯 C24:0



R = 0.9997
 二十四碳烯酸甲酯 C24:ln9



二十二碳六烯酸甲酯 C22:6n3

图3 标准曲线及相关系数

2.3 重现性和检出限

取 1 mg/mL 标准溶液，连续进样 5 次，以 5 次进样的组分面积的相对标准偏差（RSD%）考察方法重现性，并以此浓度点数据以 3 倍信噪比计算方法最低检出限（MDL），结果如下表 2 所示。

表 2 重现性测试结果 (n=5)

序号	名称	RSD (%)	MDL (µg/mL)	序号	名称	RSD (%)	MDL (µg/mL)
1	丁酸甲酯	1.46	1.00	20	亚油酸甲酯	2.06	1.00
2	己酸甲酯	3.94	1.00	21	花生酸甲酯	1.45	1.00
3	辛酸甲酯	0.82	1.00	22	亚麻酸甲酯	5.93	1.00
4	癸酸甲酯	0.25	1.00	23	二十碳一烯酸甲酯	4.12	1.00
5	十一碳酸甲酯	2.99	1.00	24	亚麻酸甲酯	0.80	1.00
6	月桂酸甲酯	5.45	1.00	25	二十一碳酸甲酯	4.43	1.00
7	十三碳酸甲酯	2.30	1.00	26	二十碳二烯酸甲酯	3.66	1.00
8	肉豆蔻酸甲酯	5.35	1.00	27	二十二碳酸甲酯	1.90	1.00
9	肉豆蔻油酸甲酯	5.54	1.00	28	二十碳三烯酸甲酯	4.85	1.00
10	十五碳酸甲酯	3.51	1.00	29	芥酸甲酯	5.73	1.00
11	十五碳一烯酸甲酯	2.46	1.00	30	二十碳三烯酸甲酯	2.08	1.00
12	棕榈酸甲酯	2.91	1.00	31	花生四烯酸甲酯	1.20	1.00
13	棕榈油酸甲酯	5.37	1.00	32	二十三碳酸甲酯	2.06	1.00
14	十七碳酸甲酯	4.32	1.00	33	二十二碳酸二烯酸甲酯	5.36	1.00
15	十七碳一烯酸甲酯	3.91	1.00	34	二十四碳酸甲酯	4.56	1.00
16	硬脂酸甲酯	2.73	1.00	35	二十碳五烯酸甲酯	4.69	2.00
17	反式油酸甲酯	1.87	1.00	36	二十四碳一烯酸甲酯	1.80	2.00
18	油酸甲酯	4.62	1.00	37	二十二碳六烯酸甲酯	4.06	2.00
19	反式亚油酸甲酯	1.42	1.00				

2.4 实际样品测试

实际样品色谱图见图 4，测试结果见表 3。

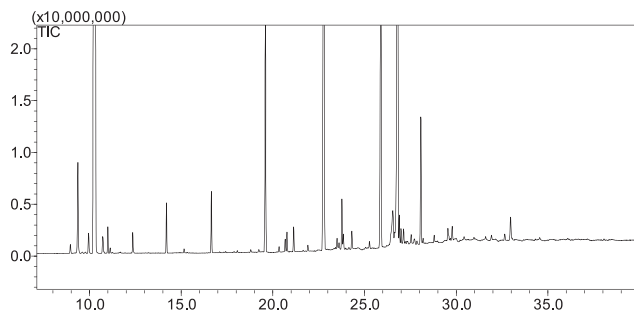


图 4 样品1号 (WT-12-0019-2) 总离子流图

29	二十碳三烯酸甲酯 C20:3n3	ND
30	芥酸甲酯 C22:1n9	6.97
31	花生四烯酸甲酯 C20:4n6	57.25
32	二十三烷酸甲酯 C23:0	14.11
33	二十二碳二烯酸甲酯 C22:2n6	ND
34	二十碳五烯酸甲酯 C20:5n3	6.14
35	二十四烷酸甲酯 C24:0	14.08
36	二十四碳烯酸甲酯 C24:1n9	ND
37	二十二碳六烯酸甲酯 DHA	ND

表 3 牛奶中脂肪酸含量结果

NO	化合物名称	测定结果 ($\mu\text{g/mL}$)
1	丁酸甲酯 C4:0	855.72
2	己酸甲酯 C6:0	497.21
3	辛酸甲酯 C8:0	271.87
4	癸酸甲酯 C10:0	546.60
5	十一烷酸甲酯 C11:0	8.31
6	月桂酸甲酯 C12:0	601.34
7	十三烷酸甲酯 C13:0	18.90
8	肉豆蔻酸甲酯 C14:0	2232.31
9	肉豆蔻油酸甲酯 C14:1n5	187.51
10	十五烷酸甲酯 C15:0	212.96
11	十五碳烯酸甲酯 C15:1n5	2.82
12	棕榈酸甲酯 C16:0	6733.12
13	棕榈酸烯甲酯 C16:1n7	457.16
14	十七烷酸甲酯 C17:0	154.92
15	十七碳烯酸甲酯 C17:1n7	59.64
16	硬脂酸甲酯 C18:0	3585.43
17	反式油酸甲酯 C18:1n9t	117.98
18	油酸甲酯 C18:1n9c	6836.08
19	反亚油酸甲酯 C18:2n6t	12.90
20	亚油酸甲酯 C18:2n6c	1082.07
21	花生酸甲酯 C20:0	49.94
22	γ -亚麻酸甲酯 C18:3n6	14.47
23	α -亚麻酸甲酯 C18:3n3	103.49
24	二十碳烯酸甲酯 C20:1	18.83
25	二十一烷酸甲酯 C21:0	6.71
26	二十碳二烯酸甲酯 C20:2	13.52
27	二十二烷酸甲酯 C22:0	22.98
28	二十碳三烯酸甲酯 C20:3n6	43.13

结论

利用岛津气相质谱联用法 (GC/MS QP2010 Ultra) 对原奶中 37 种脂肪酸进行定性定量分析, 在 0.2 mg/mL~10 mg/mL 浓度范围内标准曲线线性良好, 相关系数均大于 0.999, 标样连续 5 次进样, 峰面积 RSD 值均小于 6.0%, 精密度良好, 满足分析的需求。