

使用 GC/MS 进行水中短链脂肪酸的简单分析

01-00027-CN

中川 裕贵

对用户的好处

- ◆ 可省略繁杂的衍生化等预处理，将水样直接导入 GCMS。
- ◆ 不必使用特殊的耗材，使用标准的隔垫或分流用衬管即可。
- ◆ 由于配备了新的差动排气型涡轮分子泵，因此可稳定测定水样品。

简介

低于 C6 的脂肪酸被称为短链脂肪酸，不仅存在于雨水等环境中，还存在于饮用营养食品和功能性食品等中。据说由人体肠内细菌生成的脂肪酸有 95% 是 C2-C4，这些短链脂肪酸使肠内环境呈弱酸性，以防止增殖病原细菌，抑制肠内炎症。为掌握人体的健康状态，还对唾液、呼吸、尿中的短链脂肪酸进行了分析，粪便等也可通过水蒸气蒸馏法等进行预处理后，分析其中的短链脂肪酸¹⁾。

本文介绍了利用 GCMS-QP2020 NX 测试水中存在的短链脂肪酸的方法。该方法不需要对脂肪酸进行衍生化处理，也不需要使用特殊的耗材。

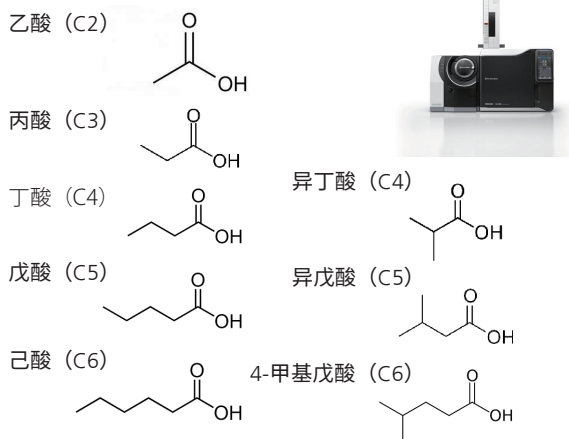


图 1 分析对象化合物的结构一览

装置系统及分析条件

将 10 mM 的挥发性有机酸混合标准液 (MilliporeSigma、P/N: CRM46975) 用纯水稀释至 4、10、40、100 μM。非分析对象的 C1 和 C7 中也包含在内，因此将 10 μM 进行数倍稀释，通过 TIC 确认了分离。

表 1 装置系统

GC-MS	: GCMS-QP2020 NX
自动注射器	: AOC-20i Plus
自动进样器	: AOC-20s Plus
分析柱	: SH-Rtx™-WAX (60 m × 0.25 mm I.D., df=0.5 μm)
玻璃衬管	: 经过惰性化处理的分流用衬管 附带装填有玻璃毛

表 2 GC-MS 的分析条件

GC	
气化室温度	: 240°C
进样方式	: 分流
分流比	: 5
载气	: 氮气
控制模式	: 恒线速度 (34 cm/s)
柱温箱温度	: 80°C (2 分钟) → (40°C / 分钟) → 200°C → (25°C / 分钟) → 240°C (2 分钟) 合计 8.60 分钟
自动注射器	: 3.0 mL / 分钟
自动进样器	: 1 μL
MS	
离子源温度	: 200°C
接口温度	: 240°C
测定模式	: SIM
测定离子 (m/z)	: 参考图 3

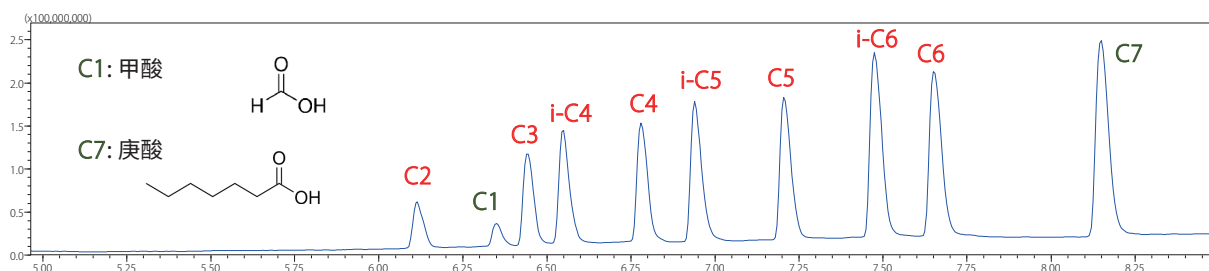


图 2 TIC 色谱图

分析结果

10 μM 溶液的色谱图如图 3 所示。

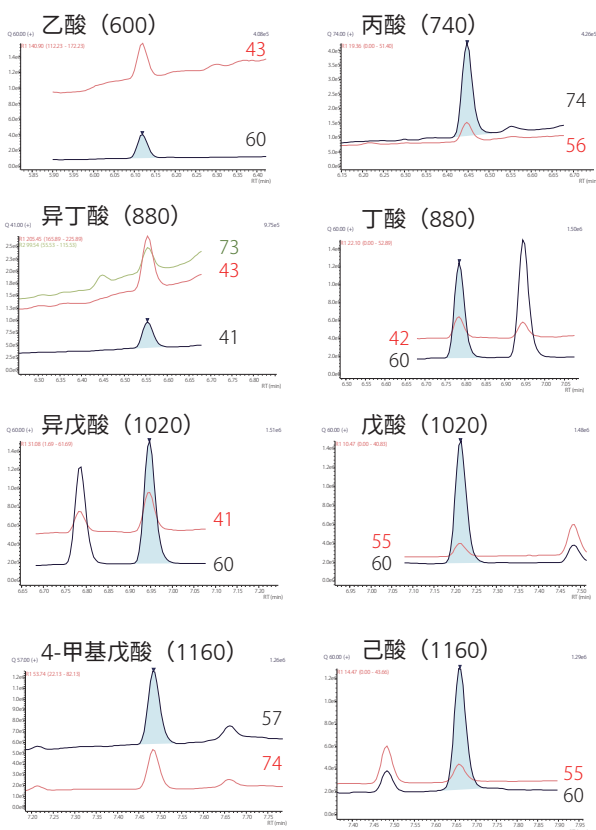


图 3 10 μM 添加水 (ng/mL 转换值)

使用 4、10、40、100 μM 4 个点创建标准曲线 (表 3)。将 4 μM 及 100 μM 换算为 μg/mL 表示。

表 3 标准曲线最小及最大浓度的浓度换算

化合物名称	转换为 μg/mL	
	4 μM	100 μM
乙酸	0.24	6.0
丙酸	0.30	7.4
异丁酸	0.35	8.8
丁酸	0.35	8.8
异戊酸	0.41	10.2
戊酸	0.41	10.2
4-甲基戊酸	0.46	11.6
己酸	0.46	11.6

为考察重复性, 对 10 μM 水样品进行连续 7 次分析, 通过面积值 %RSD 表示 (表 4)。在所有化合物中, 峰面积 RSD 均小于 10%。

表 4 面积值重复性评估结果 (%RSD, n=7)

化合物名称	% RSD
乙酸	6.0
丙酸	4.4
异丁酸	3.9
丁酸	5.3
异戊酸	5.1
戊酸	6.9
4-甲基戊酸	8.5
己酸	9.2

表 5 连续分析浓度

	乙酸	丙酸	异丁酸
1	9.57	11.38	10.29
2	9.71	11.37	10.17
3	10.56	11.91	9.91
4	10.17	11.71	10.10
5	10.82	12.16	10.90
6	10.61	11.49	9.48
7	13.33	13.20	9.81

乙酸和丙酸通过空白扣除法定量 (表 5)。当分析需要达到比表 4 更低的 %RSD 时, 推荐使用同位素内标法 (例如乙酸-d4 作为内标物), 或者改变消耗品。另外, 曲线低浓度范围内定量结果可能偏高, 故需要添加低浓度的内标。如果内标量过高, 其测试结果将无法反映低浓度待测物含量的真实水平。

结论

水中短链脂肪酸是维持人体健康的重要组成部分。据以往报告, 浓度较高时进行稀释, 样品为固形物或需要浓缩时, 采用图 4 所示水蒸气蒸馏法²⁾。

本文中采用 GCMS-QP2020 NX, 在不使用衍生化或内部标准品的情况下完成了 C2-C6 水中短链脂肪酸的分析。该分析法中色谱柱、进样针、玻璃衬管均采用标准规格, 不需要追加进行惰性处理等, 因此易于开展。

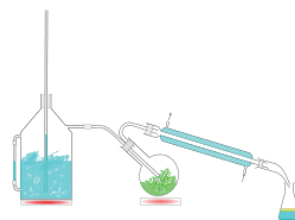


图 4 水蒸气蒸馏

- 1) J.B. Zijlstra, J.Beukema, B.G.Wolthers, B.M.Byrne, A.Groen and J.Dankert, Pretreatment methods prior to gas chromatographic analysis of volatile fatty acids from faecal samples, Volume 78, Issue 2, January 14th 1977, Pages 243-250, ISSN 0009-8981
- 2) D.C.Dyer, A new method of steam distillation for the determination of the volatile fatty acids, including a series of colorimetric qualitative reactions for their identification, J.Biol. Chem. 1917, 28:445-473

岛津应用云



GCMS-QP 及 GCMS-TQ 是岛津制作所株式会社在日本及其他国家的商标。
Rtx 是 Restek Corporation 在美国及其他国家的商标。



岛津企业管理 (中国) 有限公司
岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

用户服务热线电话: 800-810-0439
400-650-0439

免责声明:

* 本资料未经许可不得擅自修改、转载、销售;
* 本资料中的所有信息仅供参考, 不予任何保证。
如有变动, 恕不另行通知。

第一版发行日: 2021 年 3 月