

全二维气相色谱 - 质谱法检验动植物油

GCMS-431

摘要: 为建立动植物油的全二维气相色谱-质谱分析方法, 选用四甲基氢氧化铵(TMAH)的甲醇液(体积比1:50)对样品进行甲酯化衍生, 在调制周期为5 s、冷吹流量3 L/min, DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) 为一维柱, BP20 (2.5 m × 0.1 mm × 0.1 μm) 为二维柱的条件下, 对常见动植物油进行分析, 结果显示动植物油中的脂肪酸成分得到了有效分离和准确检测, 从而可为动植物油的进一步鉴别提供新的分析方法。

关键词: 全二维气相色谱 - 质谱联用法 动植物油 脂肪酸

动植物油是人们生活中必不可少的膳食种类, 和人们的日常生活联系紧密, 因此也成为各类刑事案件中常见的物证, 其常以油渍斑痕、脂肪微粒的形式遗留在案发现场, 或附着在犯罪嫌疑人的衣服、鞋子、作案工具上, 对其进行分析检验, 能够为案件侦查提供线索, 为诉讼提供证据, 具有十分重要的意义。

目前有关动植物油成分的检验, 常见的仪器分析方法有气相色谱法、气相色谱-质谱法、拉曼光谱法、红外光谱法、分子荧光光谱法等。但这些方法只能检测常见的高含量脂肪酸, 对于某些微量脂肪酸无法检测, 且拉曼光谱和分子荧光光谱进行检验时易出现荧光干扰, 影响动植物油的进一步鉴别区分。近年来发

展起来的全二维气相色谱 (GC×GC) 技术具有峰容量大、灵敏度高、定性更准确、能够实现族分离等特点, 与质谱联用, 已被广泛应用于石油化工、食品安全、环境监测及香精香料成分的检验中, 但其在动植物油脂肪酸检验中的应用鲜见报道。本实验利用全二维气相色谱-质谱法分析动植物油中的脂肪酸成分, 优化了分析条件, 实现了脂肪酸的有效分离和准确认定, 与普通气相色谱-质谱法相比, 灵敏度更高, 检测到的脂肪酸成分更丰富, 有利于动植物油的进一步鉴别分析, 从而能够为案件办理提供更多的线索, 帮助办案人员缩小侦查范围, 甚至锁定犯罪嫌疑人。

■ 实验部分

1.1 仪器

GC×GC-qMS 全二维气相色谱 - 质谱仪
(GCMS-QP2010 Ultra + ZOEEX 全二维调制器)

1.2 分析条件

一维色谱柱: DB-5MS, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)

二维色谱柱: BP20, 2.5 m × 0.1 mm × 0.1 μm)

柱温程序: 40°C (2 min)_30°C / min_190°C _2°C / min _280°C (15 min)

进样口温度: 280 °C

进样模式: 分流进样

分流比: 30:1

进样量: 1 μL

离子源温度: 200°C

色谱质谱接口温度: 280°C

采集方式: Scan

扫描范围: 71~385 amu

冷气流: 3 L/min

热气温度: 370°C

调制周期: 5 s

热喷时间: 350 ms

■ 样品前处理

将 25% 的四甲基氢氧化铵 (TMAH) 溶液和无水甲醇按照 1:50 (v/v) 配制成甲酯化试剂, 然后准确量取 20 μL 油脂样品溶于 2 mL 乙醚溶液, 摇匀, 最后分别量取制好的油脂样品乙醚液和甲酯化试剂各 400 μL 于样品瓶中, 振摇, 形成铵盐后进样分析。

■ 结果与讨论

3.1 GC×GC-MS 分析条件的优化

3.1.1 柱系统的选择

本实验选择非极性的 DB-5MS 为一维柱，并分别考察了中等极性柱 BPX50 和强极性柱 BP20 为二维柱时的检验效果，结果表明，两个柱系统均能实现动植物油中常见脂肪酸的分离和检测，但 BP20 为二维柱时脂肪酸出峰更早且成分更丰富。图 1 为猪油在上述两种柱系统条件下得到的二维色谱图，BP20 为二维柱时，脂肪酸的出峰时间从 26 min 提前至 16 min，且比 BPX50 为二维柱时多检出 7 种脂肪酸成分，因此，选择 DB-5MS 为一维柱，BP20 为二维柱为本研究的柱系统。

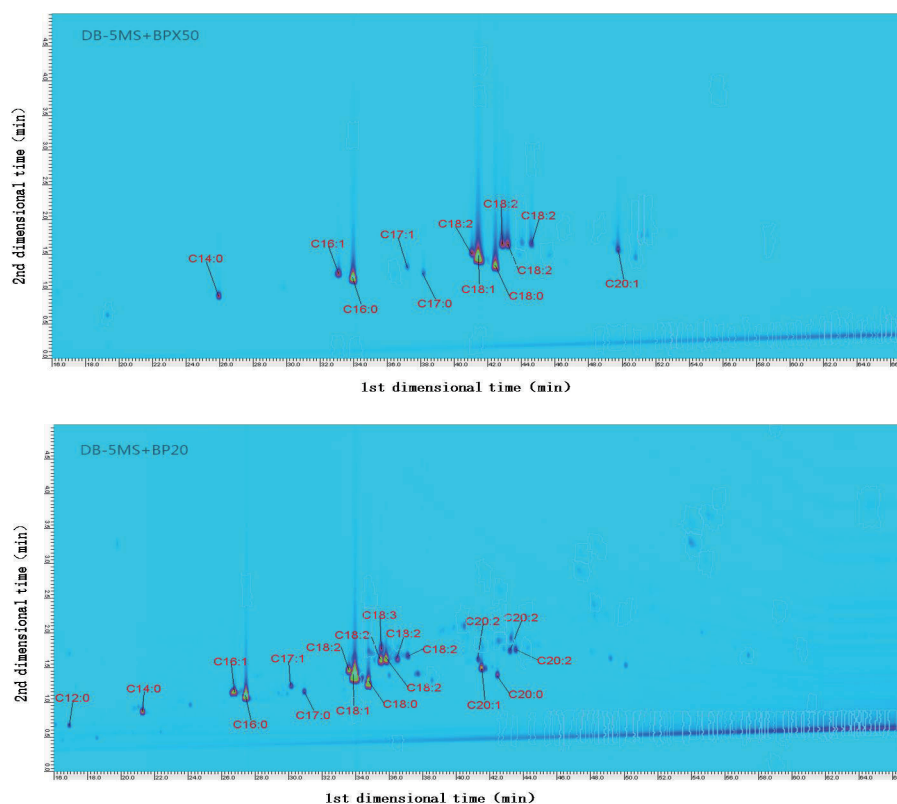


图 1 不同柱系统下猪油中检出脂肪酸成分的二维色谱图

3.1.2 调制周期的优化

调制周期为 GC×GC 体系中两次热吹之间的时间间隔。调制周期过长，某些在一维柱上本已分离的组分会在调制器重新聚集，不但降低了一维色谱的分辨率，而且不利于二维柱的进一步分离；调制周期过短，目标物会被多次切割，信号强度降低，也会使保留时间超过调制周期的化合物不能及时流出二维柱，而和下一个周期的化合物在下一个周期共流出。本实验考察了 3 s、4 s、5 s、6 s 四个调制周期，比较了脂肪酸的信号强度和分离情况，发现调制周期为 6 s 时，脂肪酸的切割次数不足三次，降低了一维色谱的分辨率，调制周期为 3 s 时，脂肪酸的响应信号强度较低，调制周期为 4 s 和 5 s 时，脂肪酸的相应信号在同一数量级，但 5 s 时其分离效果更好，且基本不拖尾，因此，确定调制周期为 5 s。

3.1.3 冷吹流量的优化

冷吹流量的选择需根据待测物的沸点确定。沸点越高，冷吹流量越小，否则，热吹无法将待测物及时释放，会出现二维谱图的斑点拖尾；沸点越低，冷吹流量越大，可将沸点低的低分子化合物有效捕集，从而提高二维柱的分离效率，冷吹流量一般为 1.5 L/min ~15.5 L/min。由于动植物油中的脂肪酸通常为 10~24 个碳原子，沸点相对较高，因此，需选用较小的冷吹流量。本实验考察了 3 L/min、5 L/min、7 L/min 三种冷吹流量，发现冷吹流量加大不能明显改善其分离效果，信号强度虽有所增大，但仍在同一数量级，且柱流失明显增强，因此，选择冷吹流量为 3 L/min。

3.1.4 程序升温条件的优化

为保证目标物质从一维柱流出后能够被有效切割 3 次以上，程序升温的速率不能太大，一般为 0.5 ~ 5°C / min。本实验选择较小的升温速率 2°C / min，并尝试从 40°C 开始，保持 2 min 后升温至 280°C，保持 15 min。检验结果显示，虽然脂肪酸成分分离完全，但整个程序持续 137 min，耗时太长，而动植物油中的脂肪酸成分多大于 9 个碳原子，均在该程序下 40 min 后出峰，并且壬酸甲酯的沸点为 213°C，因此，将升温程序调整为 40°C 开始，保持 2 min 后，以 30°C / min 快速升温至 190°C，然后再以 2°C / min 的速率升温至 280°C，保持 15 min，整个检验过程仅需 67 min，且动植物油中的脂肪酸检测完全，分离效果好。

3.1.5 质量扫描范围的优化

由于二维色谱峰峰形很窄，为提高分析灵敏度及定性定量的准确性，需要较窄的质谱扫描范围。由于 74 是大多数脂肪酸的基峰离子，而 C24:0 的分子离子峰为 382.4，本实验将质量扫描范围优化为 71~385 amu。

3.2 普通 GC-MS 法与 GC×GC-MS 法的比较

3.2.1 灵敏度比较

实验比较了优化条件下肉豆蔻酸 (C14:0) 的 GC×GC-MS 和普通 GC-MS 的信号差异 (见图 2)，发现普通 GC-MS 条件下的 C14:0 峰在 GC×GC-MS 条件下被调制成 5 个碎片峰，且信号强度提高了近 20 倍。

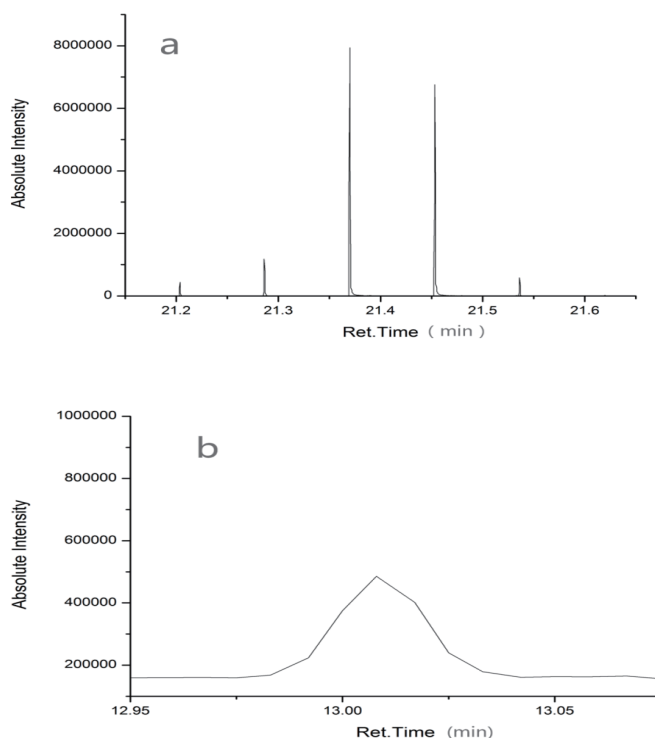


图 2 C14:0 在 GC×GC-MS (a) 和普通 GC-MS (b) 条件下的灵敏度

3.2.2 分离效果比较

实验考察了 37 种脂肪酸甲酯标准品在优化后的 GC×GC-MS 条件下和普通 GC-MS 法检验时的分离情况，结果表明，各脂肪酸甲酯在优化后的 GC×GC-MS 条件下形成了一维按沸点高低、二维按极性大小分离完全的二维色谱图，且呈现明显的族分离特征（见图 3），可为实际样品中脂肪酸的推测和确定提供依据。利用普通 GC-MS 检验时，虽然同样得到了按照沸点高低分离的脂肪酸色谱图，但由图 4 可以看出，C18 仅得到 5 个色谱峰，其中二维色谱中一维保留时间相同的 C18:1、C18:2、C18:3 在普通 GC-MS 中没有得到分离，形成了一个色谱峰，C20 中的 C20:1、C20:3 也呈共流出现象，并且 C22:1、C22:2 亦没有完全分离。因此，GC×GC-MS 法比普通 GC-MS 法的分离效果更好。

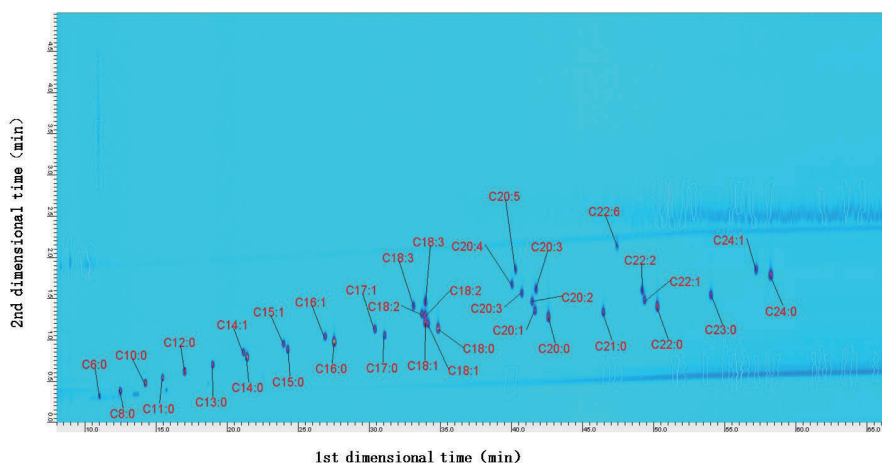


图 3 混合脂肪酸标准品的二维色谱图

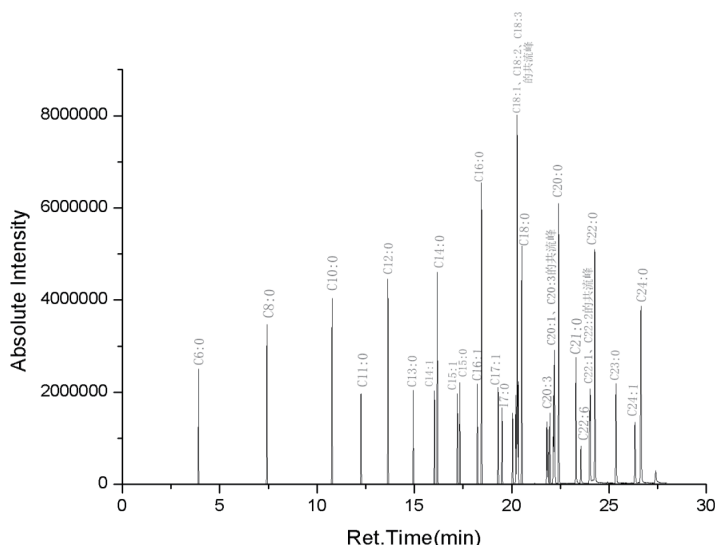


图 4 混合脂肪酸标准品的普通 GC-MS 色谱图

3.3 动植物油样品中脂肪酸的检验

在优化后的 GC×GC-MS 条件下, 对常见动植物油进行了检验, 结果见表 1。

表 1 不同动植物油中的脂肪酸

	一维保留时间 (min)	二维保留时间 (min)	鸡油	猪油	羊油	牛油	大豆油	橄榄油	葵花籽油	玉米油	花生油	山茶油
C14:1	21.17	0.74	1.12	-	-	1.64	-	-	-	-	-	-
C14:0	21.33	0.70	2.85	2.76	3.81	4.11	-	-	0.59	-	-	-
13 甲基十四烷酸	23.17	0.72	-	-	0.56	0.80	-	-	-	-	-	-
12 甲基十四烷酸	23.42	0.74	-	-	0.77	0.97	-	-	-	-	-	-
C15:0	24.25	0.76	-	-	1.79	1.62	-	-	-	-	-	-
14 甲基十五烷酸	26.25	0.80	-	-	0.84	0.69	-	-	-	-	-	-
C16:1	26.83	0.90	9.52	4.57	4.25	5.83	-	3.67	0.86	-	-	-
C16:0	27.58	0.93	16.79	16.40	13.96	16.24	9.14	13.38	7.64	10.48	10.30	11.77
15 甲基十六烷酸	29.75	0.88	-	-	1.26	1.25	-	-	-	-	-	-
14 甲基十六烷酸	30.00	0.90	-	-	2.01	1.99	-	-	-	-	-	-
C17:1	30.25	0.98	-	1.35	3.03	2.37	-	-	0.86	-	-	-
C17:0	31.08	0.92	-	1.31	3.37	2.65	-	-	0.73	-	-	-
16 甲基十七烷酸	33.42	0.94	-	-	1.21	0.76	-	-	-	-	-	-
C18:2	33.67	1.12	4.90	4.81	2.87	2.19	10.82	4.35	16.87	12.49	7.84	5.50
C18:1	34.00	1.16	30.50	28.84	30.92	33.00	14.93	47.85	21.37	22.90	26.11	53.08
C18:3	34.00	1.30	-	-	-	-	5.27	-	-	-	-	-
C18:0	34.92	1.06	6.79	9.65	16.06	13.09	4.77	6.29	6.56	3.73	7.37	6.84
C18:3	34.92	1.32	-	-	-	-	2.88	-	-	-	-	-
C18:2	35.58	1.24	9.05	9.23	4.55	3.63	17.45	3.84	12.77	16.53	9.87	7.03
C18:3	35.58	1.34	-	-	-	-	-	2.46	-	-	-	-
C18:2	35.87	1.24	9.93	8.72	3.74	2.67	15.52	5.70	15.37	16.78	10.70	6.93
C18:2	36.58	1.24	2.89	2.56	1.10	0.71	2.95	1.66	3.88	5.04	3.60	2.11
C18:2	37.25	1.28	3.77	2.62	2.30	1.59	2.68	1.98	4.04	4.04	6.12	3.85
C18:3	39.17	1.54	-	-	-	-	1.16	-	-	-	-	-
C18:3	39.33	1.56	-	-	-	-	1.18	-	-	-	-	-
C18:3	40.00	1.58	-	-	-	-	1.38	-	-	-	-	-
C18:3	40.58	1.60	-	-	-	-	2.40	-	-	-	-	-
C18:3	40.92	1.60	-	-	-	-	1.28	-	-	-	-	-

	一维保留时间 (min)	二维保留时间 (min)	鸡油	猪油	羊油	牛油	大豆油	橄榄油	葵花籽油	玉米油	花生油	山茶油
C20:1	41.67	1.16	1.88	2.61	0.78	1.45	1.19	1.95	1.21	2.16	3.10	2.89
C20:0	42.58	1.10	-	1.32	0.83	0.75	2.00	2.82	1.52	2.64	4.62	-
C20:2	43.33	1.36	-	1.22	-	-	-	-	-	-	-	-
C20:2	43.67	1.36	-	2.04	-	-	-	-	-	-	-	-
C22:0	50.25	1.24	-	-	-	-	1.75	-	2.76	1.65	5.75	-
C23:0	53.83	1.34	-	-	-	-	-	-	1.16	-	-	-
C24:0	58.25	1.56	-	-	-	-	1.25	-	1.81	1.56	4.63	-
角鲨烯	62.08	1.64	-	-	-	-	-	4.04	-	-	-	-

注：表中“-”表示未检出，图中数据保留时间单位为“min”，其余数据表示该油脂中相应脂肪酸的相对百分含量。其中，保留时间不同的5种C18:2和8种C18:3分别为亚油酸和亚麻酸的不饱和键位置异构体和顺反异构体，由于其具体结构尚未进一步探讨，在此只用保留时间加以区分。

由表1可知，利用GC×GC-MS对常见动植物油进行分析，共检出C14~C24的各类脂肪酸36种。其中利用普通GC-MS法在葵花籽油中无法检测到的肉豆蔻酸、十六烯酸（棕榈油酸）、十七烷酸和十七烯酸被检出，同时在大豆油中还检出了5种C18:2、8种C18:3的不饱和键位置异构体和顺反异构体，与普通GC-MS相比，灵敏度更高，分离效果更好，检出成分更丰富。

另外，比较各动植物油中检出的脂肪酸成分，发现动物油中均含有丰富的C14:0（肉豆蔻酸）、C16:1（棕榈油酸）、十七烷酸和十七烯酸，而植物油中仅葵花籽油中被检出，且含量很小，由此可将含量较高的C14:0和C16:1作为区分动物油和植物油的指标物质，这与传统分析方法得到的结论一致。同时，羊油、牛油中均检出C14、C15、C16、C17的甲基烷酸，与鸡油、猪油区分明显，可据此将牛油、羊油与其它动物油区分。最后，大豆油在一维保留时间39 min~41 min的时段范围内，二维柱上分离出了5种不同结构的C18:3，橄榄油中检出了具有多种生理功能的活性物质角鲨烯，可与花生、玉米、葵花籽、山茶等其他植物油加以区分。

■ 结论

本实验通过优化分析条件，建立了全二维气相色谱-质谱法分析动植物油中脂肪酸成分的方法，实现了常见动植物油中脂肪酸的有效分离和准确认定，与普通气相色谱-质谱法的检验结果相比，得到了更多的脂肪酸成分，有助于根据脂肪酸种类及其含量的不同进一步区分动植物油，也可为案件侦破提供更多的线索，发挥更大的作用。

文章来源：时秋娜，刘占芳，朱军，等. 全二维气相色谱-质谱法检测动植物油. 中国油脂, 2017, 42(6):5.

岛津应用云

