

GCMS 法检测尿液中 8 种短链脂肪酸含量

GCMS-317

摘要：本文利用岛津公司 GCMS-QP2020 NX 气相色谱 - 质谱联用仪，建立了一种人尿液中 8 种短链脂肪酸的测定方法。在 0.1~400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度范围内各组分线性关系良好，各组分相关系数均达到 0.999 以上，方法检出限在 1.98~5.81 ng/mL 。取浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 2.35%。以此方法测得实际人尿液样品中 8 种短链脂肪酸浓度为 254.1~1421.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。该方法简单方便，能够有效的检测人尿液中 8 种短链脂肪酸的含量。

关键词：气相色谱质谱联用仪 短链脂肪酸 尿液

短链脂肪酸主要包括乙酸、丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸、戊酸、2-乙基丁酸和己酸等，作为重要的代谢产物广泛存在于人体的体液环境中。短链脂肪酸通常是由蛋白质和碳水化合物在厌氧环境下经肠道菌群发酵而产生的，其中乙酸、丙酸、丁酸等由碳水化合物经肠道菌群发酵产生；异丁酸、异戊酸、戊酸等主要由蛋白质经肠道菌群发酵产生。对短链脂肪酸进行精确高效的测定对于人体内代谢组学研究有十分重要

的意义，但通常的液相色谱 - 质谱方法，由于其流动相包含甲酸和乙酸，无法有效地对体液中的短链脂肪酸进行有效检测。

本文利用岛津 GCMS-QP2020 NX 气相色谱 - 质谱联用仪建立了一种快速测定人尿液中短链脂肪酸含量的方法，该方法前处理过程简单、分离度好，可用于短链脂肪酸含量的测定，可对人体内代谢组学的研究提供重要参考。

■ 实验部分

1.1 仪器与试剂

仪器：岛津 GCMS-QP2020 NX 气相色谱 - 质谱联用仪

1.2 分析条件

GCMS 参数：

色谱柱：InertCap FFAP, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm
(岛津 (上海) 实验器材有限公司)

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) _10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _
240 $^{\circ}\text{C}$ (4 min)

流量控制方式：恒压

载气压力：43.6 kPa

进样方式：不分流进样

进样量：1 μL

进样口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

离子源温度：200 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：240 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.1 kV

采集方式：SIM

■ 样品前处理

取 100 μL 人尿液样品，加入 400 μL 甲醇，经 3min 震荡混合后，以 12000r/min 离心 6min。将离心后所得上清液取出，待测。

说明：由于短链脂肪酸具有较强的挥发性，为避免实际样品中的成分因前处理过程损失过多，本实验未对离心后的溶液进行氮吹复溶和重复处理。

■ 结果讨论

3.1 短链脂肪酸标准溶液谱图

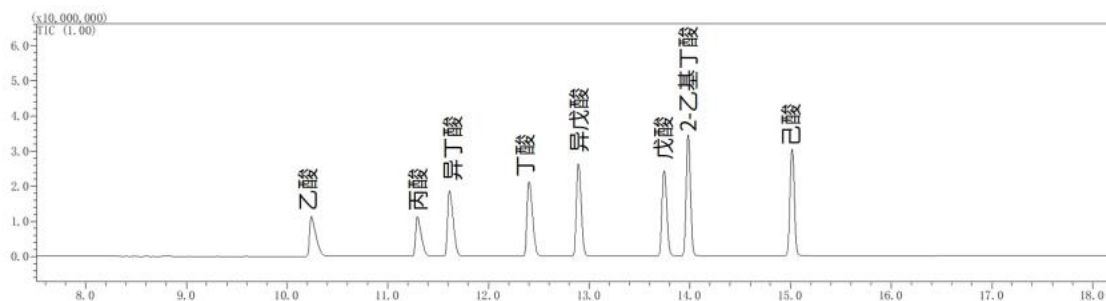


图 1 短链脂肪酸标准溶液色谱图 (1000 µg/mL)

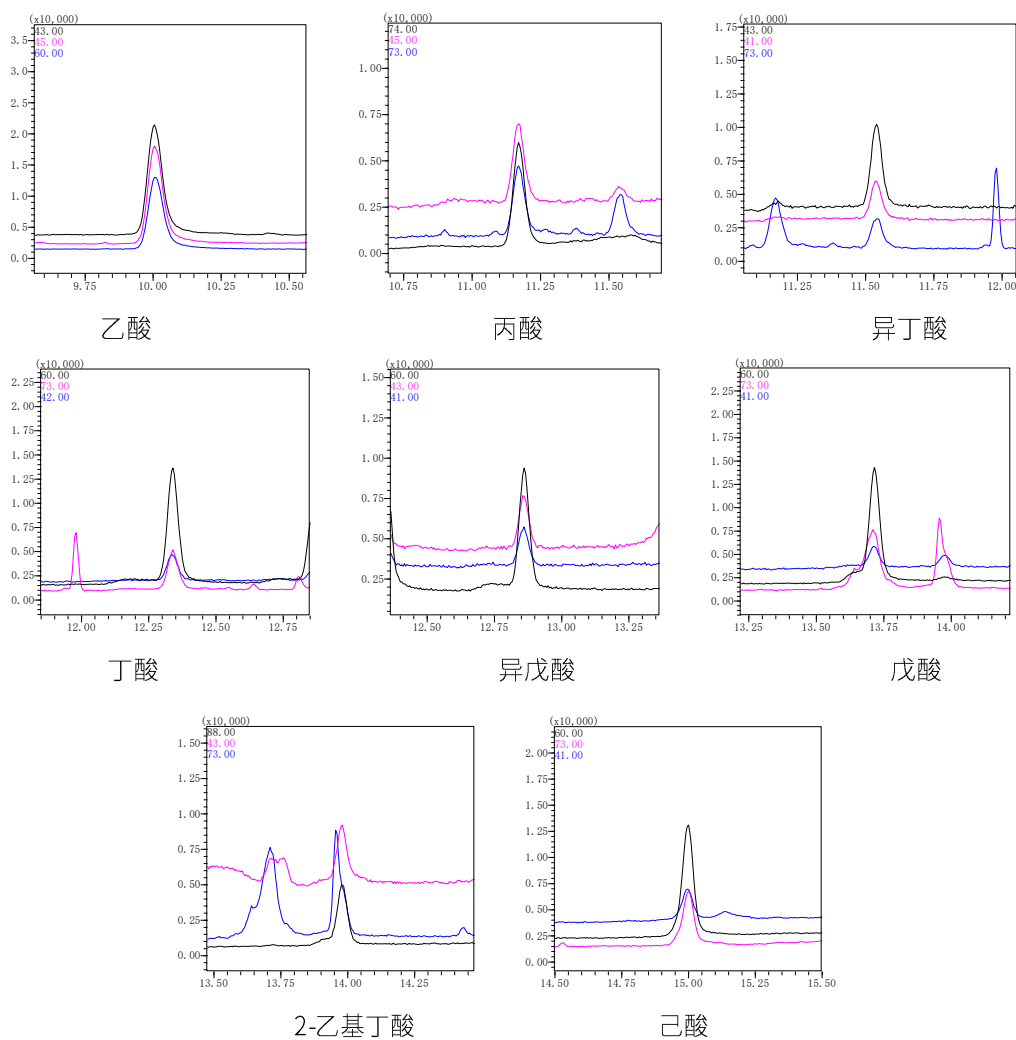


图 2 8 种短链脂肪酸标准品溶液质量色谱图 (100 ng/mL)

表 1 短链脂肪酸各组分信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	乙酸	Acetic acid	64-19-7	10.065	43.00	45, 60
2	丙酸	Propionic acid	79-09-4	11.195	74.00	45, 73
3	异丁酸	Isobutyric acid	79-31-2	11.555	43.00	41, 73
4	丁酸	Butyric acid	107-92-6	12.350	60.00	73, 42
5	异戊酸	Isovaleric acid	503-74-2	12.865	60.00	43, 41
6	戊酸	Valeric acid	109-52-4	13.720	60.00	73, 41
7	2-乙基丁酸	2-Ethylbutyric acid	88-09-5	13.975	88.00	43, 73
8	己酸	Hexanoic acid	142-62-1	15.000	60.00	73, 41

3.2 标准曲线及检出限

分别以甲醇配制 0.1、1.0、5.0、10、50、100、200、400 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的短链脂肪酸混合标准溶液，取 1 μL 进样，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标做标准曲线，全部化合物标准曲线如图 3 所示。根据 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标样数据，以 3 倍信噪比（峰至峰）计算 8 种短链脂肪酸方法检出限，各化合物检出限以及线性相关系数如表 2 所示。

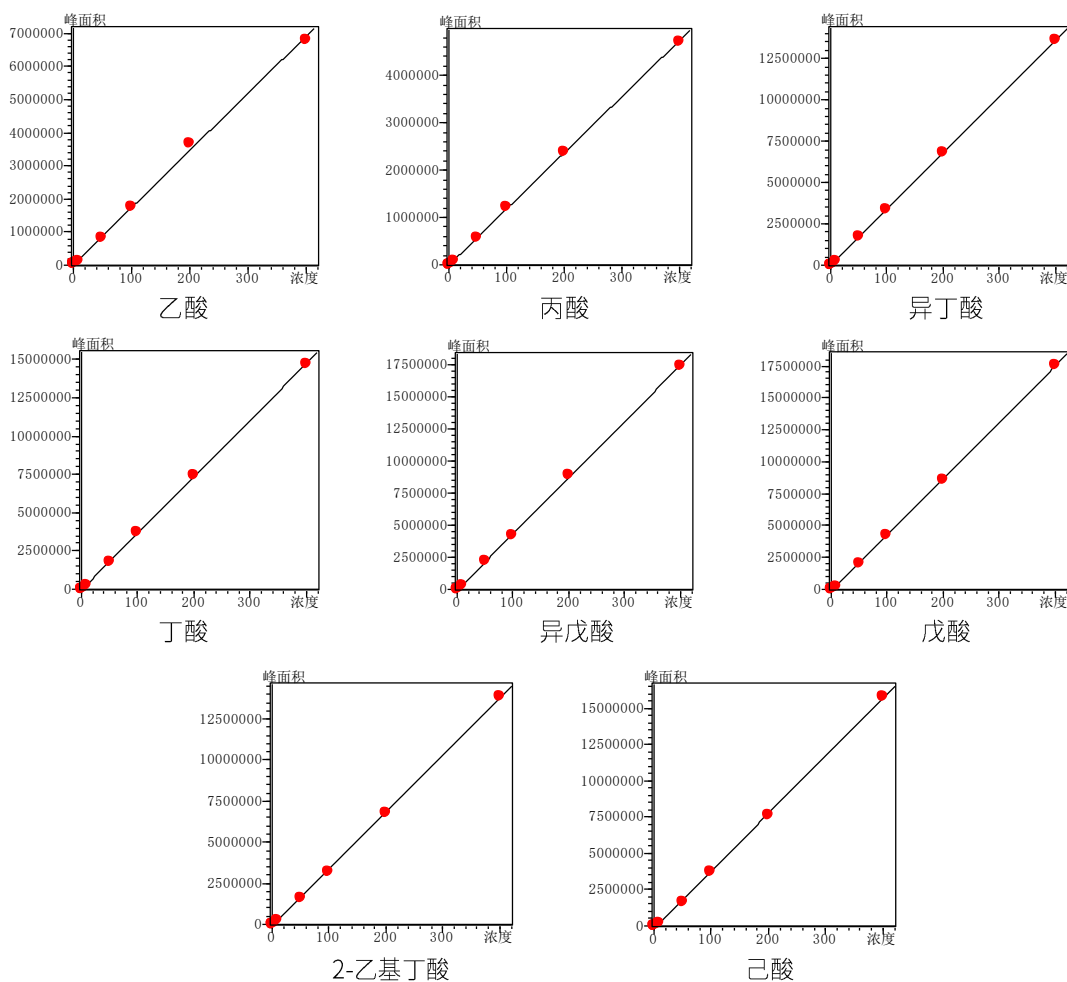


图 3 8 种短链脂肪酸标准曲线

表 2 各组分相关系数及检出限

No.	组分名称	相关系数 (R)	检出限 (ng/mL)
1	乙酸	0.9991	1.98
2	丙酸	0.9997	3.15
3	异丁酸	0.9999	5.81
4	丁酸	0.9999	2.36
5	异戊酸	0.9998	3.87
6	戊酸	0.9999	2.01
7	2-乙基丁酸	0.9998	4.41
8	己酸	0.9997	2.28

3.3 重复性实验

取浓度为 10 µg/mL 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 3。

表 3 8 种短链脂肪酸峰面积重复性结果

No.	组分名称	RSD(%)
1	乙酸	1.79
2	丙酸	2.22
3	异丁酸	1.13
4	丁酸	1.35
5	异戊酸	2.35
6	戊酸	1.58
7	2-乙基丁酸	1.52
8	己酸	1.82

3.4 实际样品实验

实际尿液样品按照上述前处理方法处理，上机测试，测得结果如表 4 所示。

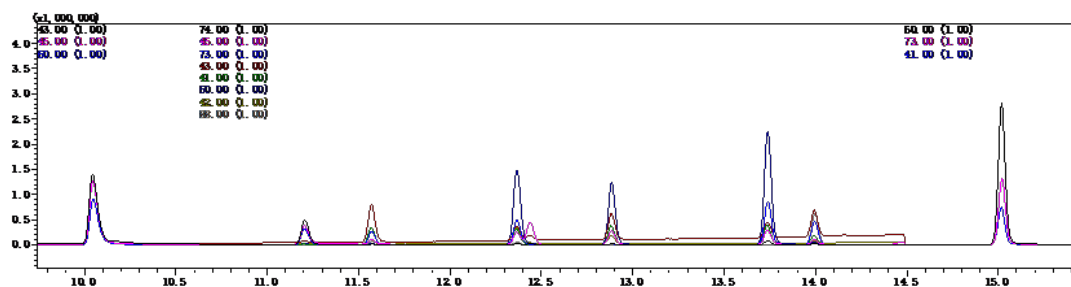


图 4 尿液中 8 种短链脂肪酸 TIC 图

表 4 实际尿液样品中各短链脂肪酸浓度

No.	组分名称	浓度 (µg/mL)
1	乙酸	1421.1
2	丙酸	620.3
3	异丁酸	309.1
4	丁酸	571.1
5	异戊酸	381.6
6	戊酸	715.7
7	2-乙基丁酸	254.1
8	己酸	973.7

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-QP2020 NX 检测人尿液中 8 种短链脂肪酸，在 0.1~400 µg/mL 浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均在 0.999 以上，方法检出限在 1.98~5.81 ng/mL。取浓度为 10 µg/mL 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD 均小于 2.35%，精密度良好。以此方法测得实际人尿液样品中 8 种短链脂肪酸浓度为 254.1~1421.1 µg/mL。该方法简单方便，能够有效的检测人尿液中 8 种短链脂肪酸的含量。