

自动化样品前处理平台结合 GCMSMS 同时测定植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量

GCMSMS-394

摘要： 本文使用岛津 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了同时测定植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量的定量分析方法。利用自动化样品前处理平台，植物油仅需称量后即可自动完成皂化、甲酯化等前处理过程，并直接上 GCMSMS 分析，利用外标法进行定量。分析结果表明：37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，其相关系数 R 均大于 0.999，线性关系良好；同时按照 3 倍信噪比（峰到峰计算方式）计算其最低检出限在 0.001~0.243 $\mu\text{g/mL}$ ；10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度标样重复进样 5 次，其峰面积的 RSD% 小于 6.03%；选用有证植物油质控标物进行了脂肪酸准确度及精密度验证实验，结果满足标准要求；同时对前处理进行了重复性实验（ $n=6$ ），测定结果的相对标准偏差（RSD%）小于 6%。结果表明该方法操作简单、稳定性好，准确度高，可适用于植物油及食品中脂肪酸含量的自动化分析。

关键词： 自动化样品前处理平台 三重四极杆气质联用仪 植物油 脂肪酸 反式脂肪酸

技术特点：

- ❖ 利用 AOC-6000 自动化样品前处理平台，可自动实现：皂化、甲酯化等前处理过程，样品无需处理即可完成分析，节省人力；
- ❖ 避免接触剧毒物质三氟化硼，保护实验人员安全；
- ❖ 自动化程度高，避免人员误差，结果重复性好；
- ❖ 利用三重四极杆气质联用仪可同时分析脂肪酸和反式脂肪酸，且采用 MRM 采集方式可减少色谱分离对结果的影响；

植物油脂具有很高的营养和保健功能，脂肪酸组成和含量是植物油脂的特征指标。营养学和临床医学研究表明，脂肪酸种类及含量与肿瘤、老年痴呆症和心脑血管病等很多疾病的发病呈相关性。比如，植物油脂中常见的豆蔻酸比棕榈酸有更强的致高胆固醇血症的作用，过量食用棕榈酸会使体内脂肪沉积；亚油酸能够降低胆固醇利于心血管疾病的防治等。因此，准确地检测脂肪酸组成有利于评价植物油脂的品质和营养价值，对于新品种植物油脂的开发研究也具有重要意义。

目前报道的植物油脂中脂肪酸的检测主要有气相色谱法、气相色谱 - 质谱法、液相色谱法及高效液相

色谱 - 质谱法。《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》（GB 5009.168 征求意见稿）中采用气相色谱仪器分析，为准确定量需考虑脂肪酸和反式脂肪酸的完全分离。而三重四极杆气质联用仪的 MRM 方式，即使保留时间相同，其定量离子对无相互干扰时，也可准确定量。

本文采用 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合三重四极杆气质联用仪（GCMS-TQ8050 NX）建立了植物油中脂肪酸及反式脂肪酸含量同时分析的自动化方法，该方法操作简单、自动化程度高，可为植物油及食品中脂肪酸快速监测提供借鉴。

■ 实验部分

1.1 仪器

AOC-6000 自动化样品前处理平台

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪

1.2 分析条件

色 谱 柱：SK-FAME, 100 m×0.25 mm×0.20 μm

柱 温 条 件：100℃ (4 min)_ 3℃ /min_ 250℃ (2 min)

进 样 口 温 度：250℃

离 子 化 方 式：EI

载 气 控 制 模 式：恒线速度

离 子 源 温 度：230℃

线 速 度：30 cm/sec

接 口 温 度：280℃

进 样 方 式：分流进样 (5:1)

采 集 方 式：MRM, 化合物信息见表 1

表 1 37 种脂肪酸甲酯及 6 种反式脂肪酸甲酯的化合物信息

序号	脂肪酸甲酯	简称	出峰时间 (min)	定性离子对 (CE)	定量离子对 (CE)
1	丁酸甲酯	C4:0	6.501	74>43 (9)	87>55 (9)
2	己酸甲酯	C6:0	7.637	87>55 (9)	99>71 (6)
3	辛酸甲酯	C8:0	9.840	115>59 (9)	127>57 (9)
4	癸酸甲酯	C10:0	13.423	155>71 (9)	143>101.1 (9)
5	十一碳酸甲酯	C11:0	15.621	169>95 (6)	157>101.1 (9)
6	十二碳酸甲酯	C12:0	17.967	214.2>171.1 (6)	183>109.1 (6)
7	十三碳酸甲酯	C13:0	20.362	228.2>185.1 (9)	197>109.1 (6)
8	十四碳酸甲酯	C14:0	22.746	242.2>199.1 (6)	199>109.1 (9)
9	顺-9-十四碳一烯酸甲酯	C14:1	24.598	242.2>141.1 (9)	208>111.1 (9)
10	十五碳酸甲酯	C15:0	25.079	256.2>213.2 (9)	203>101.1 (9)
11	顺-10-十五碳一烯酸甲酯	C15:1	26.884	180>124.1 (6)	222>111.1 (9)
12	十六碳酸甲酯	C16:0	27.341	270.3>227.2 (9)	227>101.1 (9)
13	反-9-十六碳一烯酸甲酯	C16:1T	28.262	268.2>141.1 (9)	236>111.1 (9)
14	顺-9-十六碳一烯酸甲酯	C16:1	28.776	268.2>141.1 (9)	236>111.1 (9)
15	十七碳酸甲酯	C17:0	29.521	284.3>241.2 (9)	241>101.1 (9)
16	顺-10-十七碳一烯酸甲酯	C17:1	30.904	250>221.2 (9)	282.3>141.1 (9)
17	十八碳酸甲酯	C18:0	31.624	298.3>255.3 (9)	255>101.1 (9)
18	反-6-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n6t	32.263	264>221.2 (6)	222>138.1 (3)
19	反-9-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n9t	32.350	264>235.2 (9)	296.3>141.1 (6)
20	反-11-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n11t	32.472	264>235.2 (9)	296.3>141.1 (6)
21	顺-9-十八碳一烯酸甲酯	C18:1n9c	32.761	264>235.2 (9)	296.3>141.1 (6)
22	反,反-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6t	33.609	294.3>262.3 (6)	294.3>178.1 (6)
23	顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6c	34.609	294.3>262.3 (6)	294.3>178.1 (6)
24	二十碳酸甲酯	C20:0	35.591	326.3>283.3 (9)	283>101.1 (9)

25	顺, 顺, 顺 -6,9,12- 十八碳三烯酸甲酯	C18:3n6	35.973	292.2>135.1 (9)	194>120.1 (9)
26	反 -11- 二十碳一烯酸甲酯	C20:1T	36.239	250>138.1 (6)	292>111.1 (9)
27	顺 -11- 二十碳一烯酸甲酯	C20:1	36.626	250>138.1 (6)	292>111.1 (9)
28	顺, 顺, 顺 -9,12,15- 十八碳三烯酸甲酯	C18:3n3	36.719	236>175.1 (6)	292.2>135.1 (9)
29	反, 顺 -10,12- 十八碳二烯酸甲酯	C18:2n6t	37.295	294.3>262.3 (6)	294.3>178.1 (6)
30	二十一碳酸甲酯	C21:0	37.466	340.3>297.3 (9)	297>101.1 (12)
31	顺, 顺 -11,14- 二十碳二烯酸甲酯	C20:2	38.327	290>149.1 (9)	322.3>290.3 (6)
32	二十二碳酸甲酯	C22:0	39.286	354.3>311.3 (9)	311>101.1 (12)
33	顺, 顺, 顺 -8,11,14- 二十碳三烯酸甲酯	C20:3n6	39.591	320.3>135.1 (9)	222>148.1 (6)
34	反 -13- 二十二碳一烯酸甲酯	C22:1T	39.878	278>124.1 (9)	320>291.3 (9)
35	顺 -13- 二十二碳一烯酸甲酯	C22:1	40.235	278>124.1 (9)	320>291.3 (9)
36	顺 11,14,17- 二十碳三烯酸甲酯	C20:3n3	40.317	320.3>121.1 (12)	264>136.1 (9)
37	顺 -5,8,11,14- 二十碳四烯酸甲酯	C20:4n6	40.584	175>147.1 (6)	203>133.1 (9)
38	二十三碳酸甲酯	C23:0	41.025	368.4>325.3 (9)	325>101.1 (18)
39	顺 13,16- 二十二碳二烯酸甲酯	C22:2	41.826	318>149.1 (9)	350.3>318.3 (6)
40	顺 -5,8,11,14,17- 二十碳五烯酸甲酯	C20:5n3	42.625	201>145.1 (9)	175>133.1 (9)
41	二十四碳酸甲酯	C24:0	42.724	382.4>339.3 (9)	339>101.1 (18)
42	顺 -15- 二十四碳一烯酸甲酯	C24:1	43.614	306>124.1 (9)	380.4>141.1 (9)
43	顺 -4,7,10,13,16,19- 二十二碳六烯酸甲酯	C22:6n3	46.793	173>145.1 (9)	159>117.1 (9)

1.3 样品前处理

1.3.1 AOC-6000 自动化样品前处理平台结构

AOC-6000 自动样品前处理平台由混匀模块、自动稀释模块、样品托盘支架及样品针工具模块组成。混匀模块设有可调转速 1~2000 rpm/min, 所设的自动振荡装置可对 2mL、10mL、20mL、40mL 样品瓶进行自动化涡旋混合; 自动稀释模块配置自动加液装置, 设有 5 个 1000mL 的溶剂瓶位, 可调流速范围为 0.1~500 $\mu\text{L}/\text{s}$, 可用于添加不同的提取溶剂。样品托盘支架模块, 可提供 162 位 2 毫升样品瓶, 60 位 10/20 毫升顶空样品瓶。样品针工具模块, 可实现在 AOC-6000 上样品针的自动切换: D757 Tool: 支持 1~100 μL 样品针放置, 可用于内标添加、气相进样等。

1.3.2 AOC-6000 自动化样品处理流程

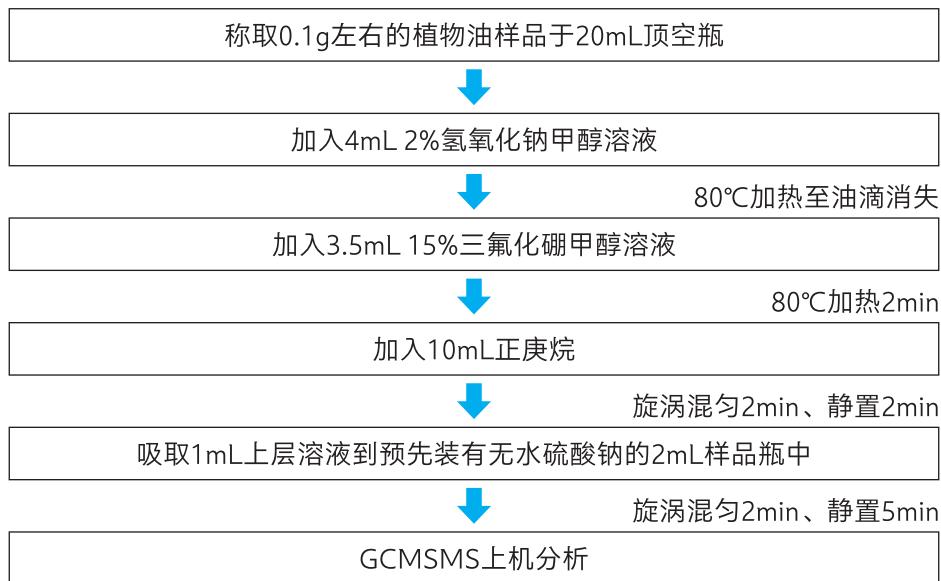


图 1 样品前处理流程图

■ 结果与讨论

2.1 标准品溶液色谱图

37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸的标准溶液色谱图如图 2 所示，各化合物的相关信息见表 1，部分化合物的质量色谱图见图 3。

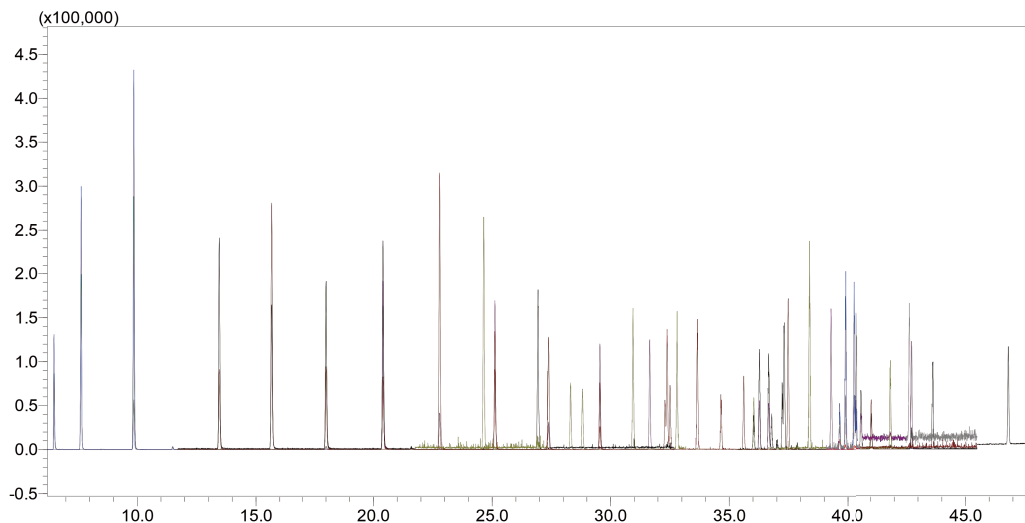


图 2 37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸的 TIC 图 (5 $\mu\text{g/mL}$)

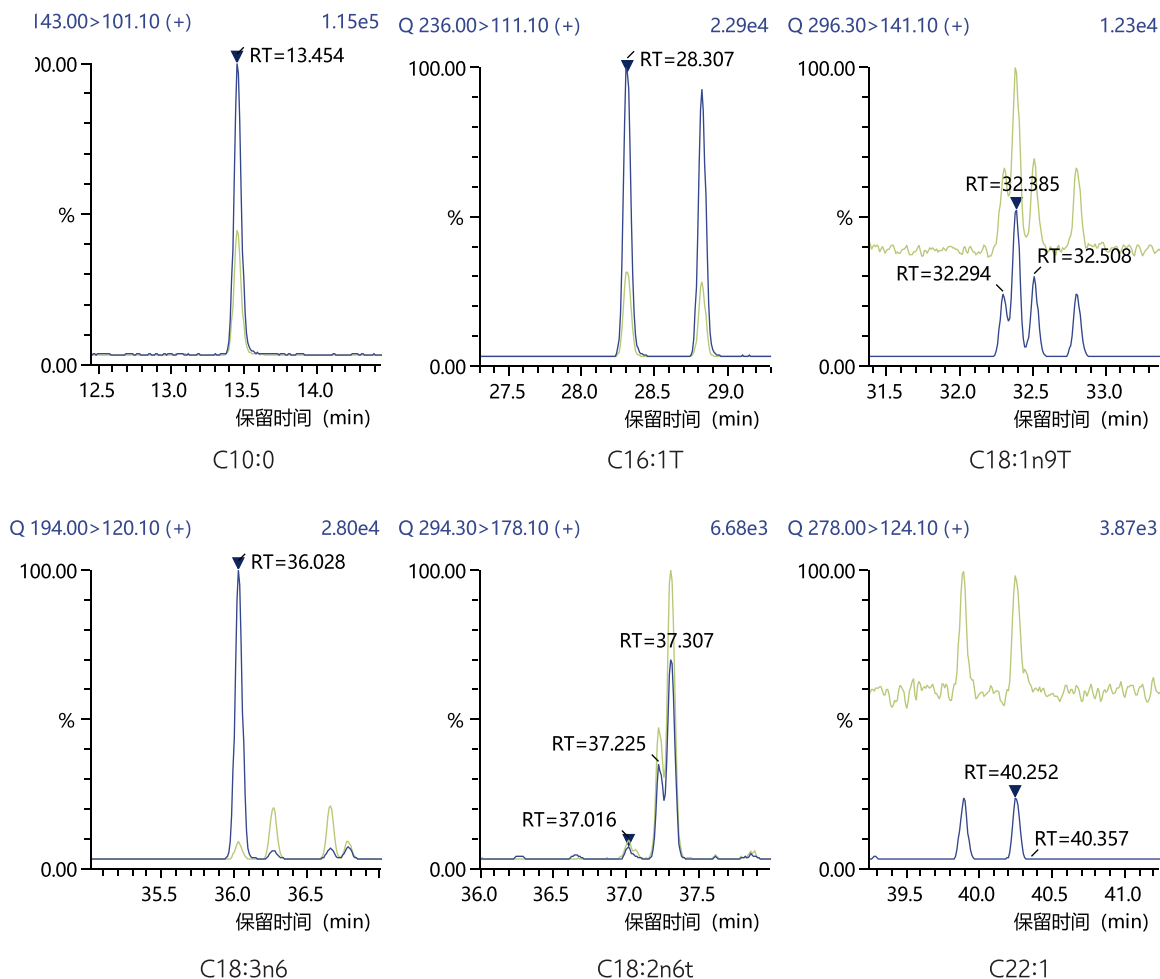


图3 部分化合物的质量色谱图 (5 µg/mL)

2.2 标准曲线和检出限

使用正庚烷配置浓度为 100 µg/mL 的储备液放于 AOC-6000 自动进样器上, 利用 AOC-6000 自动稀释功能, 使用正庚烷溶液配制 1、5、10、20、50 µg/mL 的混合标准溶液后置于 1.5mL 进样小瓶中, 振荡摇匀静置 5min 后, 液体进样到 GCMSMS 仪器依次进行分析。以各物质的浓度做为横坐标, 以面积做为纵坐标, 建立标准曲线, 其各物质标准曲线相关系数见表 2 所示。各物质的检出限按标曲的最低浓度 (1 µg/mL) 的 3 倍 S/N 计算 (峰到峰计算方式), 其各物质检出限如表 2 所示。

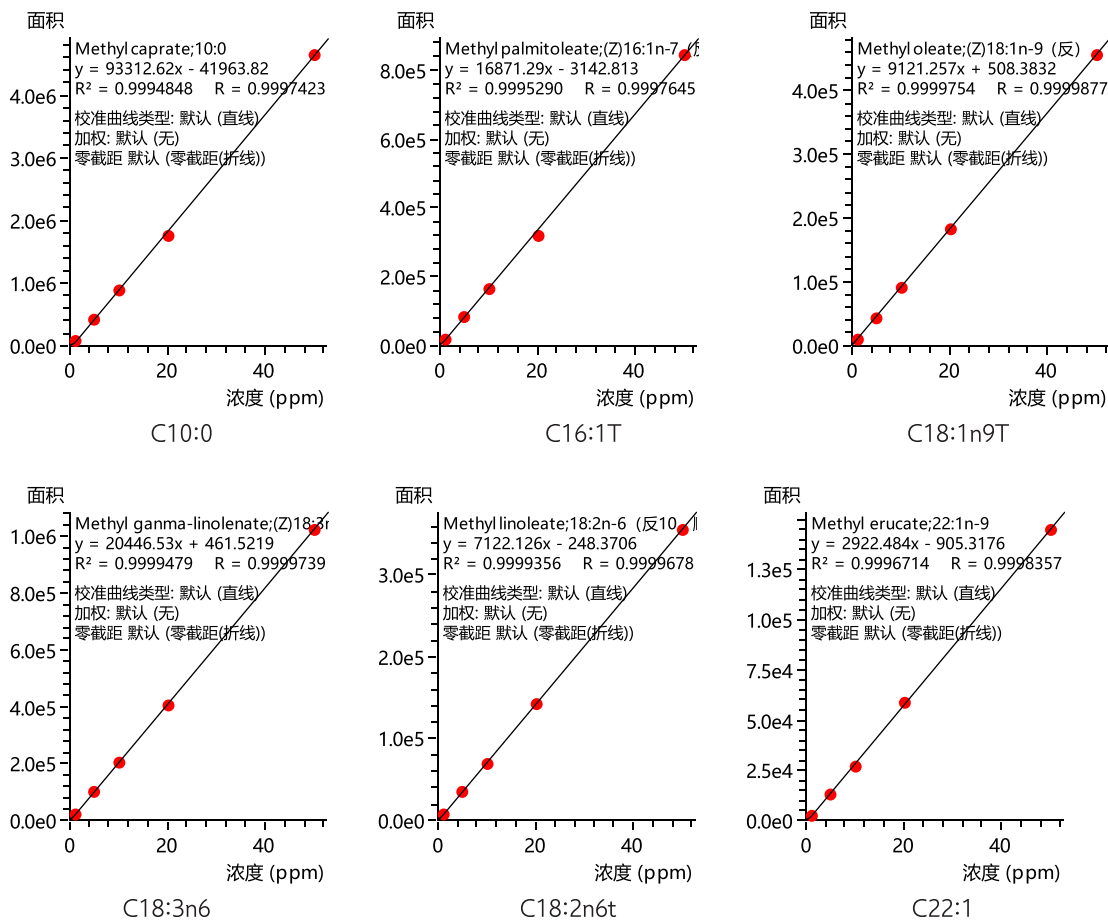


图4 部分化合物的标准曲线

表2 脂肪酸和反式脂肪酸化合物的标准曲线相关系数、检出限及峰面积 RSD%

No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	RSD% (n=5)	No.	化合物名称	相关系数 R	检出限 ($\mu\text{g/mL}$)	RSD% (n=5)
1	C4:0	0.99996	0.001	2.31	23	C18:2n6c	0.9997	0.040	5.35
2	C6:0	0.9996	0.001	1.19	24	C20:0	0.9995	0.001	5.18
3	C8:0	0.9997	0.007	2.36	25	C18:3n6	0.99995	0.031	4.44
4	C10:0	0.9995	0.022	2.81	26	C20:1T	0.9993	0.006	5.25
5	C11:0	0.9995	0.012	3.49	27	C20:1	0.9993	0.007	4.43
6	C12:0	0.9995	0.014	3.35	28	C18:3n3	0.99994	0.156	4.52
7	C13:0	0.9997	0.008	3.46	29	C18:2n6t	0.99994	0.031	4.10
8	C14:0	0.9994	0.002	4.24	30	C21:0	0.9994	0.001	4.70
9	C14:1	0.9997	0.005	4.16	31	C20:2	0.9994	0.067	5.13
10	C15:0	0.9992	0.004	4.40	32	C22:0	0.9995	0.001	4.37
11	C15:1	0.9998	0.007	4.65	33	C20:3n6	0.9998	0.140	5.12

12	C16:0	0.999	0.001	4.51	34	C22:1T	0.9998	0.020	4.88
13	C16:1T	0.9995	0.008	4.24	35	C22:1	0.9997	0.023	6.03
14	C16:1	0.9993	0.011	4.87	36	C20:3n3	0.9998	0.043	3.35
15	C17:0	0.9991	0.001	5.03	37	C20:4n6	0.9999	0.151	5.01
16	C17:1	0.9998	0.019	5.43	38	C23:0	0.9995	0.002	5.36
17	C18:0	0.9994	0.002	4.47	39	C22:2	0.9998	0.068	5.81
18	C18:1n6t	0.9992	0.032	4.00	40	C20:5n3	0.9999	0.243	4.01
19	C18:1n9t	0.99997	0.007	5.97	41	C24:0	0.9994	0.002	4.04
20	C18:1n11t	0.99997	0.017	5.42	42	C24:1	0.9998	0.024	3.74
21	C18:1n9c	0.9998	0.017	3.94	43	C22:6n3	0.9996	0.039	4.61
22	C18:2n6t	0.99994	0.011	4.36					

2.3 重复性测试

利用自动进样器自动配置的浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液 5 次，GCMSMS 分析，考察仪器重复性，各化合物峰面积相对标准偏差 RSD% 结果见表 2。

2.4 准确性及精密度测试

利用有证标准质控油样进行方法准确性验证，称取 0.1g 左右油样各 6 份，按照 1.3.2 前处理流程进行自动化处理，并按照外标法进行定量分析，结果与有证物质的结果对比见表 3 所示。从表 3 可以看出，其结果在质控特征值区间内，表明方法的准确度很高；同时其 6 次独立测定的 RSD% 小于 6%，表明自动化样品前处理受人为因素干扰较小，其重复性很好。

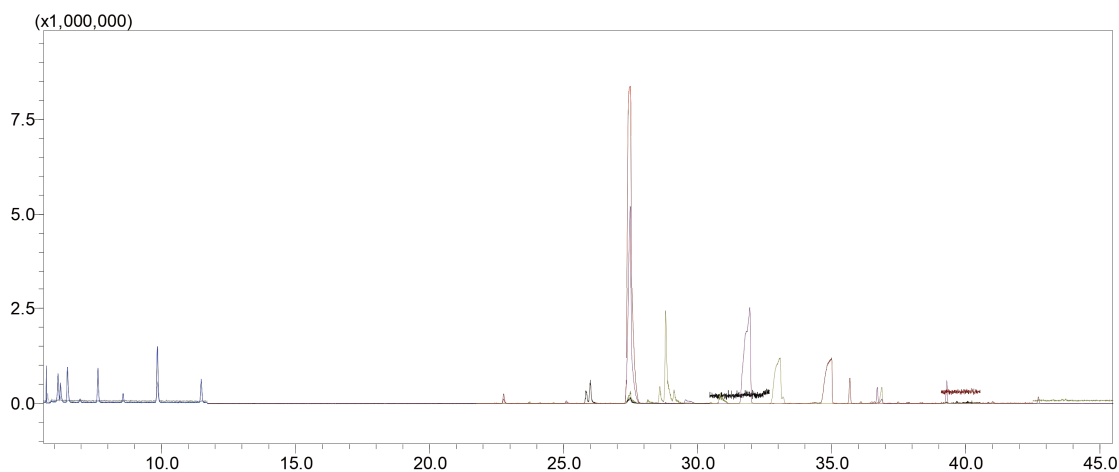


图 5 有证质控样 TIC 图

表3 准确度及精密度测定结果统计表 (n=6)

序号	No.	化合物名称	测定值 (μg/g)	RSD (%)	百分比含量 (%)	含量总计 (%)	特征值区间 (%)
饱和脂肪酸	1	C4:0	24.91	4.50	0.002	15.869	14.81~16.37
	2	C6:0	5.42	4.99	0.001		
	3	C8:0	15.11	5.43	0.002		
	4	C14:0	676.7	1.83	0.068		
	5	C15:0	160.45	5.40	0.016		
	6	C16:0	102886	2.68	10.289		
	7	C17:0	832.29	1.94	0.083		
	8	C18:0	45333.13	2.38	4.533		
	9	C20:0	3257.8	3.98	0.326		
	10	C21:0	292.42	3.61	0.029		
	11	C22:0	3555.98	5.34	0.356		
	12	C23:0	433.61	4.99	0.043		
	13	C24:0	1215.39	5.63	0.122		
单不饱和脂肪酸	14	C16:1	733.86	2.63	0.073	22.461	21.93~23.85
	15	C17:1	172.82	6.66	0.017		
	16	C18:1n9c*	221882	2.04	22.188		
	17	C20:1	1817.74	4.03	0.182		
多不饱和脂肪酸	18	C18:2n6c*	557349.9	1.57	55.735	61.652	59.83~62.95
	19	C18:3n6	173.04	4.68	0.017		
	20	C18:3n3	58354.90	3.48	5.835		
	21	C18:2n6t	363.85	5.32	0.036		
	22	C20:2	293.01	3.55	0.029		
	23						

2.5 实际样品测试

称取实际油样（菜籽油）0.1g 左右，按照 1.3.2 的前处理方式进行处理后，上机分析，其色谱图见图 6 所示，测定结果见表 4 所示，并与 GB/T 1536-2021《菜籽油》标准中脂肪酸组成进行对比，其结果满足标准要求，表明测试样品合格。

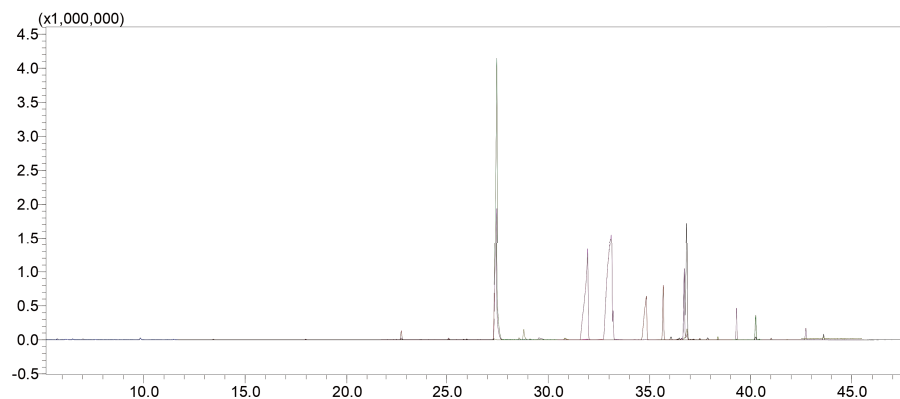


图4 菜籽油样 TIC 图

表 3 实际油样测定过结果

No.	化合物名称	测定值 ($\mu\text{g/g}$)	含量 (%)	标准要求 (%)
1	C4:0	26.02	0.003	-
2	C8:0	13.34	0.001	-
3	C10:0	87.30	0.009	-
4	C12:0	62.42	0.006	-
5	C14:0	488.66	0.049	-
6	C15:0	180.49	0.018	-
7	C16:0	49292.94	4.929	2.5~7.0
8	C16:1	1349.60	0.135	N.D~0.6
9	C17:0	450.52	0.045	N.D~0.3
10	C17:1	282.95	0.028	N.D~0.3
11	C18:0	18729.37	1.873	-
12	C18:1n9c	553316	55.332	51.0~70.0
13	C18:2n6c	210560.2	21.056	15.0~30.0
14	C20:0	4215.196	0.422	0.2~1.2
15	C18:3n6	37.103	0.004	-
16	C20:1	8210.289	0.821	0.1~4.3
17	C18:3n3	64887.88	6.489	5.0~14.0
18	C18:2n6T	166.536	0.017	-
19	C21:0	198.138	0.020	-
20	C20:2	412.864	0.041	N.D~0.1
21	C22:0	2865.953	0.287	N.D~0.6
22	C22:1	3567.853	0.357	N.D~3.0
23	C20:3n3	480.206	0.048	-
24	C22:2	89.962	0.009	N.D~0.6
25	C23:0	263.036	0.026	-
26	C24:0	1268.603	0.127	N.D~0.3
27	C24:1	890.220	0.089	N.D~0.4

注：- 表示标准未要求

■ 结论

本文使用岛津 AOC-6000 自动化样品前处理平台结合三重四极杆质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了植物油中 37 种脂肪酸及 6 种反式脂肪酸含量的同时定量方法。利用自动化样品前处理平台，植物油仅需称量后即可自动完成皂化、甲酯化等前处理过程，并直接上 GCMSMS 仪器分析，利用外标法进行定量。在 1~50 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内，各目标组分相关系数 R 均大于 0.999，线性关系良好；10 $\mu\text{g/mL}$ 浓度标样重复进样 5 次，其峰面积的 RSD% 小于 6.03%；选用有证植物油质控标物进行了脂肪酸准确度及精密度验证实验，结果满足标准要求；同时对前处理进行了重复性实验 (n=6)，测定结果的相对标准偏差 (RSD%) 小于 6%。结果表明该方法操作简单、稳定性好，准确度高，可适用于植物油及食品中脂肪酸含量的自动化分析。

岛津应用云

