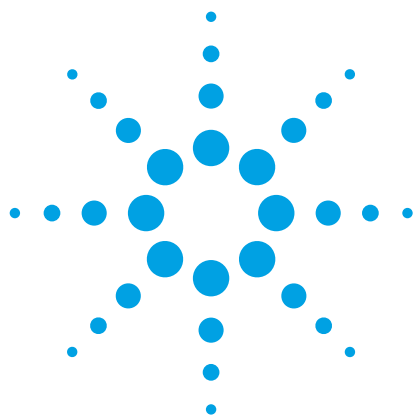




使用 Agilent 5975T LTM GCMS 分析脂肪酸甲酯

应用简报

作者

Suli Zhao
安捷伦科技（上海）有限公司
中国上海市
英伦路 412 号
200131

摘要

对脂肪酸甲酯 (FAMES) 的分析是食品分析中非常重要的应用之一。它们通常在实验室中通过常规 GCMS 进行检测，而 Agilent 5975T 便携式 GC/MS 则可在现场进行应用，具有与实验室 Agilent 5975 系列 GC/MSD 系统相同的可靠性、高性能和高质量结果，它非常适合快速及时响应的实验室外分析。

在本方法中，使用配有热分离探针 (TSP) 和 DB-Wax 色谱柱的 Agilent 5975T LTM GC/MSD 分析 FAMES。分析中采用保留时间锁定方法和保留时间数据库。保留时间锁定有利于峰识别，便于仪器之间的数据交换，在色谱柱进行维护或者更换后无需修改校准表中的保留时间。



Agilent Technologies

引言

FAME 分析可用于鉴定食品中的脂类馏分，是食品分析中最重要的应用之一。脂类主要包括甘油三酯，它是由一个甘油分子和三个脂肪酸分子形成的酯。大多数食用脂肪和食用油主要由包含 12 至 20 个碳原子的脂肪酸（月桂酸即十二烷酸到花生酸即二十烷酸）组成。除了直链饱和脂肪酸以外，还可能存在支链、单不饱和、双不饱和及更高不饱和度的脂肪酸。表 1 列出了最重要的脂肪酸及其常用缩写的概览。

虽然游离脂肪酸可直接在极性固定相（例如 FFAP 色谱柱）上进行分析，但如果将脂肪酸衍生为 FAME，则可获得稳定性更高、重现性更好的色谱数据。多种方法可用于衍生化，只需要使甘油酯水解及所得的脂肪酸甲基化。这些简单易行的方法无需昂贵的试剂或设备。

表 1. 脂肪酸及其通用名称和缩写

脂肪酸	通用名称	简化的缩写 ¹	指明顺式和反式键的缩写 ¹
丁酸	酪酸	4:0	4:0
癸酸	羊蜡酸	10:0	10:0
十二酸	月桂酸	12:0	12:0
十四酸	肉豆蔻酸	14:0	14:0
十六酸	棕榈酸	16:0	16:0
十六碳烯酸	棕榈油酸	16:1 n-7	9c-16:1
十八酸	硬脂酸	18:0	18:0
顺式-9-十八碳烯酸	油酸	18:1 n-9	9c-18:1
反式-9-十八碳烯酸	反油酸	t18:1 n-9	9t-18:1
全顺式-9,12-十八碳二烯酸	亚油酸	18:2 n-6	9c12c-18:2
所有反式-9,12-十八碳二烯酸	反亚油酸	t18:2 n-6	9t12t-18:2
全顺式-9,12,15-十八碳三烯酸	α -亚麻酸	18:3 n-3	9c12c15c-18:3
全顺式-6,9,12-十八碳三烯酸	γ -亚麻酸	18:3 n-6	6c9c12c-18:3
二十酸	花生酸	20:0	20:0
顺式-11-二十碳烯酸		20:1 n-9	11c-20:1
全顺式-11,14-二十碳二烯酸		20:2 n-6	11c14c-20:2
全顺式-11,14,17-二十碳三烯酸		20:3 n-3	11c14c17c-20:3
全顺式-8,11,14-二十碳三烯酸	二高 γ 亚麻酸	20:3 n-6	8c11c14c-20:3
全顺式-5,8,11,14-二十碳四烯酸	花生四烯酸	20:4 n-6	5c8c11c14c-20:4
全顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	EPA	20:5 n-3	5c8c11c14c17c-20:5
二十二酸	山嵛酸	22:0	22:0
顺式-13-二十二碳烯酸	芥酸	22:1 n-9	13c-22:1
全顺式-7,10,13,16-二十二碳四烯酸		22:4 n-6	7c10c13c16c-22:4
全顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	DHA	22:6 n-3	4c7c10c13c16c19c-22:6

¹过去使用过多个不同版本的脂肪酸命名法和结构缩写。有关对过去和目前接受的命名法的讨论，推荐参考下列网站：

<http://www.ajcn.org/misc/lipid.shtml>

<http://www.chem.qmul.ac.uk/iupac/lipid/>

<http://www.aocs.org/member/division/analytic/fanames.htm>

<http://www.cyberlipid.org/index.htm>

本应用简报中的方法使用 DB-Wax 色谱柱根据碳原子数和不饱和度将 FAME 从 C4（丁酸）至 C24（二十四酸）中分离出来。在该色谱柱上，顺式和反式异构体未发生分离，且对于复杂混合物（如鱼油），也无法分离出某些 FAME。但是，在聚乙二醇柱上分离 FAME 的技术已得到广泛的应用，可用于鉴定传统样品如植物油（玉米油、粟米油、橄榄油、大豆油等等）。对于某些应用，还可使用 Agilent DB-Wax 色谱柱来分析动物脂肪。例如，一项重要的应用就是对乳脂中的丁酸进行分析。牛奶中的丁酸浓度是牛奶质量的重要指标之一。此项测定在牛奶、奶制品和巧克力产品的分析中非常重要。由于低挥发性食品基质可能污染系统并干扰结果，因此我们使用 TSP 作为进样工具以延长系统正常工作时间并控制运行成本。此外，移动实验室可进行更快速、更经济的 FAME 检测。

本应用简报使用保留时间锁定方法，以硬脂酸甲酯作为锁定化合物。由于 RTL 能够非常准确地再现保留时间，因此可基于绝对保留时间来完成 FAME 鉴定。无需准备所有的 FAME 标样，因为可使用安捷伦已发布的保留时间数据库来实现峰的识别。RTL 的另一个优势在于即便维护或更换色谱柱之后（重新锁定方法后），校准表中的保留时间仍保持不变。

实验部分

样品

可通过不同的渠道获得 FAME 参比标样来作为溶液或净化合物。通常，在分析中将标样以 0.01% 至 0.1% (w/v) 的浓度溶于己烷。在方法和仪器校验中使用了包含 37 种组分的混合物（Supelco 产品号 18919）。购得的混合物为 100 mg 净混合物，含 C4 至 C24 FAME（相对浓度 2% 至 4%）。将整个样品稀释于 10 mL 己烷（每种 FAME 的最终浓度为 0.2 mg/mL 至 0.4 mg/mL）。

样品制备

称取 10 mg 样品置于 2 mL 试管（带螺纹盖）或反应样品瓶中。将样品溶于 1 mL 己烷中。加入 10 μ L 2N 的氢氧化钾甲醇溶液（11.2 g 氢氧化钾溶于 100 mL 甲醇）。密封试管或样品瓶，涡旋混合 30 s。离心。将 1 μ L 透明上清液转移至 TSP 微量样品瓶。

分析方法

使用 5975T GC/MSD 系统进行分析。使用 TSP 进行自动分流进样。表 2 总结了仪器的配置和分析条件。以硬脂酸甲酯作为锁定标准物。硬脂酸甲酯的保留时间锁定在 14.000 min 处。

表 2. 仪器参数

仪器	Agilent 5975T LTM GCMS
色谱柱	DB-wax LTM 模块 30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25 μ m (定制的 100-2000 LTM)
保护柱	与分析色谱柱同相，0.5 m 长色谱柱，连接至进样器
实验条件	
进样口温度	250 °C
进样模式	TSP
进样模式	分流比 50:1
载气	氦气
恒压模式	硬脂酸甲酯保留时间锁定在 14.000 min 处（压力约 55 kPa，温度 50 °C，36 cm/sat）
LTM 柱温箱	50 °C 保持 1 min，以 25 °C/min 的速率升至 200 °C，再以 3 °C/min 的速率升至 230 °C，保持 18 min
等温	250 °C
MSD 接口	250 °C
离子源	230 °C
四极杆温度	150 °C
电离模式	EI
扫描模式	全扫描范围为 m/z 40-500
EMV 模式	增益因子
增益因子	5.00
产生的电子倍增器 (EM) 电压	1400 V
溶剂延迟	2.0 min

结果与讨论

图 1 显示了 FAME 参比标样的典型分析色谱图。除下列化合物外，其余化合物均得到了很好的分离：14.38 分钟处的顺式和反式 18:1 共洗脱物、15.13 分钟处的顺式和反式 18:2 共洗脱物、19.44 分钟处的 20:3 n-6 和 21:0 共洗脱物，和 30.73 分钟处的 22:6 和 24:1 共洗脱物。但是，该分离已经足够满足鉴定大多数传统油脂的要求。丁酸在 2.85 分钟处被洗脱出来，可使用相同的方法在乳脂中进行测定。

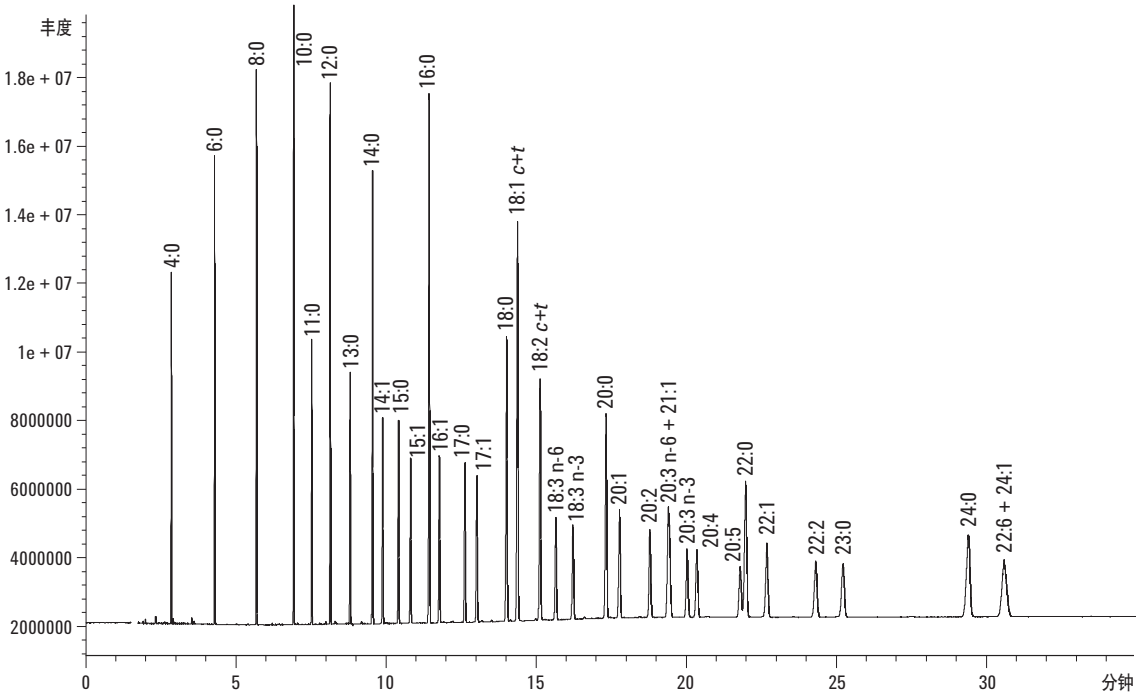


图 1 在 30-m × 0.25-mm 内径 0.25-μm DB-Wax 色谱柱上分析 FAME 标准混合物

在 DB-Wax 色谱柱上使用保留时间锁定方法分析了两种经检定的参比样品（大豆-玉米混合油 CRM 162 和乳脂 CRM 164）。使用 RTL FAME 保留时间数据库对谱峰进行自动鉴定。丁酸在 2.85 min

处被洗脱出来，很容易检测。分析重现性很好。所有情况下，相对峰面积的标准偏差均小于 1%。另外，测得的脂肪酸组成与标准值良好对应。定量结果在表 3 和表 4 中列出。

表 3. CRM 162 可检测到组分的定量数据

脂肪酸	测得的浓度 (g/100 g)	标准偏差	标准浓度 (g/100 g)	不确定度**
16:0	10.607	0.003	10.65	0.17
18:0	2.917	0.005	2.87	0.07
18:1	24.461	0.013	24.14	0.28
18:2	57.051	0.017	56.66	0.54
18:3	4.286	0.017	4.68	0.21
20:0	0.368	0.003	(0.3)*	
20:1	0.246	0.003	(0.2)*	

* = 指示值，非标准值

** = 不确定度取标准平均值 95% 置信区间的半峰宽

表 4. CRM 164 可检测到组分的定量数据

脂肪酸	测得的浓度 (g/100 g)	标准偏差	标准浓度 (g/100 g)	不确定度*
4:0	3.522	0.012	3.49	0.06
6:0	2.318	0.003	2.36	0.19
8:0	1.420	0.002	1.36	0.10
10:0	3.010	0.006	2.89	0.12
12:0	3.907	0.008	4.03	0.10
14:0	11.383	0.014	10.79	0.35
16:0	27.693	0.005	26.91	0.84
18:0	10.882	0.009	10.51	0.40
18:1	24.832	0.009	24.82	0.61
18:2 (Σ)	2.844	0.012	2.68	0.40
18:3	0.604	0.005	0.51	0.04

* = 不确定度取标准平均值 95% 置信区间的半峰宽

结论

本方法使用 Agilent DB-Wax 色谱柱和 Agilent 5975T GCMS 系统，可用于分析传统食用油和脂肪（包括测定乳脂中的丁酸），尤其适用于需要快速及时响应的领域。使用保留时间锁定，可使不同仪器之间获得稳定的保留时间，得到真实的鉴定信息。RTL 数据库检索使峰识别更加准确。

更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的更多信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
中国印刷
2012 年 11 月 9 日
5991-1437CHCN



Agilent Technologies