



使用 Agilent 5977E GC/MS 测定牛奶基质中的脂肪酸甲酯 (FAME)

应用简报

作者

Haifeng Sun
IPOS
安捷伦科技公司授权合作实验室
哈德斯菲尔德大学
英国

Suli Zhao
安捷伦科技公司
上海 200131
中国

摘要

本应用简报介绍了使用 Agilent 5977E GC/MSD 在 DB-Wax 色谱柱上分析脂肪酸甲酯 (FAME) 的方法。此方法展现了出色的校准响应，所有测试分析物的仪器检测限 (IDL) 均低至 0.01 ppm。



Agilent Technologies

前言

FAME 的分析可用于鉴定食品中的脂类组分，是食品分析中最重要的应用之一。脂类主要为甘油三酯，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含 12 至 20 个碳原子的脂肪酸（月桂酸即十二酸到花生酸即二十酸）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。

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实现 FAME 从 C4（丁酸）至 C24（二十四酸）的分离。在该色谱柱上，顺式和反式异构体未实现分离，且对于复杂混合物（如鱼油），某些 FAME 也未得到分离。但使用聚乙二醇柱分离 FAME 得到广泛的应用，可用于表征传统样品如植物油（玉米油、粟米油、橄榄油、大豆油等等）。

实验部分

试剂与化学品

分别称取 2–6 mg 标准品制成 100 mg 含 37 种 FAME 的混合物溶于己烷，内标联苯也溶于己烷。全脂奶粉购自当地超市。

表 1. 样品参数

样品	性状	外观
37 种 FAME 混合物	100 mg 白色液体	–
内标联苯	–	白色固体
牛奶	2 L	白色液体

仪器与材料

此方法在 Agilent 5977E GC/MS 上开发。使用 Agilent DB-WAX 30 m × 250 μm, 0.5 μm 色谱柱（部件号 122-7033）。分析条件如表 2 所示。

标样前处理

将 50 mg 混合标样溶于 50 mL 己烷中。再用溶液将储备液稀释为 500、200、100、50、20、10、5、2、1 ppm（总浓度），其中内标联苯为 100 ppm。

样品前处理

牛奶样品购自当地商店。将 0.5 mL 牛奶样品倒入有 10 mL 己烷和 1 mL 甲醇钠 (5.4 M) 甲醇溶液的 20 mL 样品瓶中。强涡旋振荡 1 分钟后，取透明的己烷层用于 GC/MS 分析。

表 2. GC/MSD 仪器参数

仪器	Agilent 5977E GC/MS
柱温箱	
柱温箱升温程序	50 °C 保持 1 min，以 25 °C/min 升至 200 °C，然后以 3 °C/min 升至 230 °C，保持 23 min
运行时间	40 min
平衡时间	0.5 min
进样口	
进样器类型	脉冲分流
温度	250 °C
进样量	3 μL
分流比	5:1
柱头压力	40 psi 下保持 0.4 min，恒压为 20 psi
载气	He
MS	
传输线温度	250 °C
模式	扫描和 SIM
离子源温度	230 °C
四极杆温度	150 °C
质量范围 <i>m/z</i>	46–500 u

结果与讨论

图1为分析 FAME 参比标样的典型色谱图。表3列出了目标分析物的保留时间和 SIM 离子。除下列化合物外，其余化合物均得到了良好的分离：14.20 分钟处的顺式和反式 18:1 共洗脱物、15.032 分钟处的顺式和反式 18:2 共洗脱物、19.55 分钟处的 20:3 *n*-6 和 21:0 共洗脱物以及 31.814 分钟处的 22:6 和 24:1 共洗脱物。但是，该分离效果对于脂肪表征已经足够。

图2为37种化合物（30至约60 ppb）的SIM色谱图。

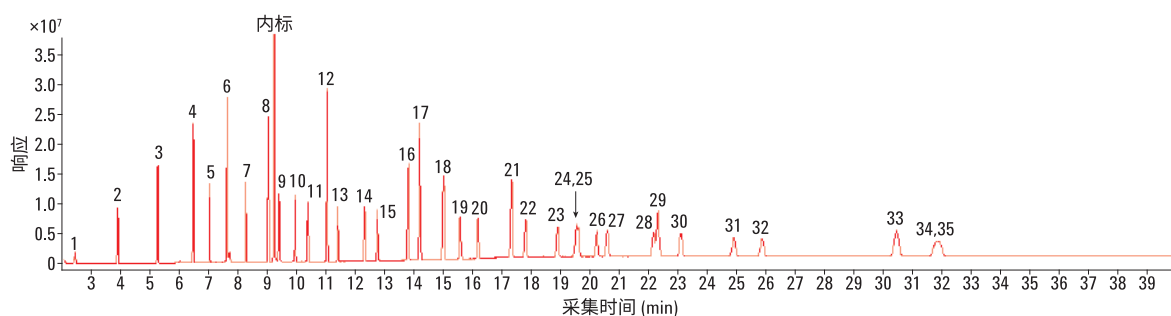


图1. 37种化合物的全扫描总离子流色谱图；17和18谱峰各包含2种化合物。浓度范围为100-300 ppm

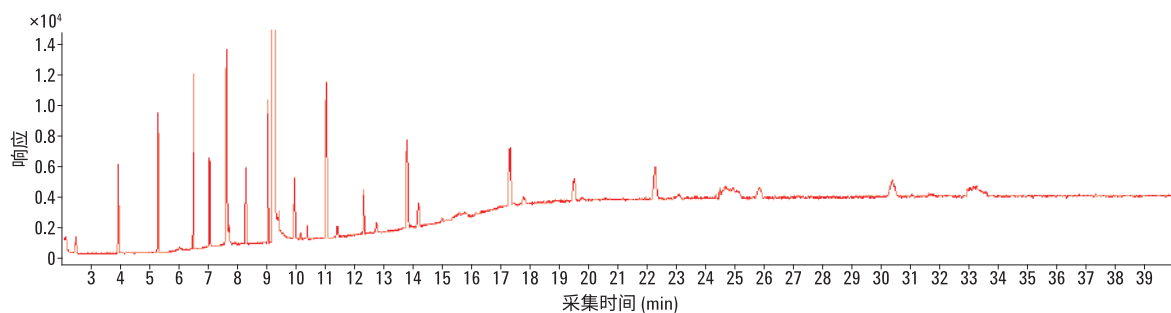


图2. 监测离子为 m/z 74 的 SIM 色谱图组分浓度：30-60 ppb

表 3. 化合物列表

	FAME	保留时间 (min)	SIM 离子, m/z	
1	C4:0 丁酸	2.464	74.1	87.1
2	C6:0 羊蜡酸	3.934	74	87.1
3	C8:0 辛酸	5.294	74	87.1
4	C10:0 癸酸	6.509	74	87.1
5	C11:0 十一酸	7.07	74.1	87.1
6	C12:0 月桂酸	7.651	74	87
7	C13:0 十三酸	8.302	74	87.1
8	C14:0 肉豆蔻酸	9.067	74	87.1
	内标 联苯	9.251	74	-
9	C14:1 肉豆蔻油酸	9.427	55.1	74.1
10	C15:0 十五酸	9.976	74	87
11	C15:1 顺式-10-十五烯酸	10.41	55.1	74.1
12	C16:0 棕榈酸	11.064	74	87.1
13	C16:1 棕榈油酸	11.436	55.1	74.1
14	C17:0 十七酸	12.346	74	87
15	C17:1 顺式-10-十七碳烯酸	12.779	55.1	69.1
16	C18:0 硬脂酸	13.829	74.1	87.1
17	C18:1 c+t 反式油酸, 油酸	14.2	55.1	69.1
18	C18:2 c+t 反式亚油酸, 亚油酸	15.032	67.1	81.1
19	C18:3 n-6 γ -亚麻酸	15.602	79.1	67.1
20	C18:3 n-3 亚麻酸	16.21	79.1	67.1
21	C20:0 花生酸	17.338	74	87
22	C20:1 顺式-11-二十碳烯酸	17.83	55.1	69.1
23	C20:2 顺式-11,14-二十碳二烯酸	18.924	67.1	81.1
24	C21:0 二十一酸	19.55	74	87
25	C20:3 n-6 顺式-8,11,14-二十碳三烯酸	19.631	79.1	67.1
26	C20:4 花生四烯酸	20.271	79.1	91.1
27	C20:3 n-3 顺式-11,14,17-二十碳三烯酸	20.618	79.1	95.1
28	C20:5 顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	22.221	79.1	99.1
29	C22:0 山嵛酸	22.335	74	87.1
30	C22:1 芥酸	23.129	87.1	73.1
31	C22:2 顺式-13,16-二十二碳二烯酸	24.939	81.1	67.1
32	C23:0 二十三酸	25.893	87.1	74.1
33	C24:0 二十四酸	30.472	74	87
34	C24:1 神经酸	31.814	55.1	69.1
35	C22:6 顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	31.968	79.1	91

校准曲线相关系数和牛奶中的含量如表 4 所示。

图 3 给出了牛奶提取物的 SIM 色谱图。

表 4. 牛奶的校准数据和定量结果

分析物	FAME	R ²	线性范围的 最低浓度 (ppm)	己烷中浓度 (ppm)	牛奶中浓度 (g/L)
C4:0	丁酸	0.9996	0.4	146	2.92
C6:0	羊蜡酸	0.9998	0.4	70	1.4
C8:0	辛酸	0.9998	0.4	40	0.8
C10:0	癸酸	0.9992	0.8	72	1.44
C11:0	十一酸	0.9999	0.2	1	0.02
C12:0	月桂酸	0.9994	0.8	65	1.3
C13:0	十三酸	0.9994	0.2	1	0.02
C14:0	肉豆蔻酸	0.9998	0.8	107	2.14
内标	联苯	—	—	—	—
C14:1	肉豆蔻油酸	0.9988	0.2	14	0.28
C15:0	十五酸	0.9999	1	8	0.16
C15:1	顺式-10-十五烯酸	0.9994	0.2	4	0.08
C16:0	棕榈酸	0.9998	0.6	163	3.26
C16:1	棕榈油酸	0.9996	0.2	14	0.28
C17:0	十七酸	0.9995	0.2	2	0.04
C17:1	顺式-10-十七碳烯酸	0.9996	0.2	—	—
C18:0	硬脂酸	0.9998	0.4	37	0.74
C18:1 c+t	反式油酸, 油酸	0.9998	0.6	105	2.1
C18:2 c+t	反式亚油酸, 亚油酸	0.9997	0.4	13	0.26
C18:3 n-6	γ-亚麻酸	0.9996	0.2	1	0.02
C18:3 n-3	亚麻酸	0.9996	0.2	4	0.08
C20:0	花生酸	0.9997	0.4	—	—
C20:1	顺式-11-二十碳烯酸	0.9996	0.02	—	—
C20:2	顺式-11,14-二十碳二烯酸	0.9995	0.02	—	—
C21:0	二十一酸	0.9995	0.02	—	—
C20:3 n-6	顺式-8,11,14-二十碳三烯酸	0.9995	0.02	—	—
C20:4	花生四烯酸	0.9996	0.02	—	—
C20:3 n-3	顺式-11,14,17-二十碳三烯酸	0.9994	0.02	—	—
C20:5	顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	0.9996	0.02	—	—
C22:0	山萘酸	0.9996	0.04	—	—
C22:1	芥酸	1	0.2	—	—
C22:2	顺式-13,16-二十二碳二烯酸	0.9997	0.2	—	—
C23:0	二十三酸	0.9998	0.4	—	—
C24:0	二十四酸	0.9997	0.4	—	—
C24:1	神经酸	0.9996	0.2	—	—
C22:6	顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	0.9998	0.2	—	—

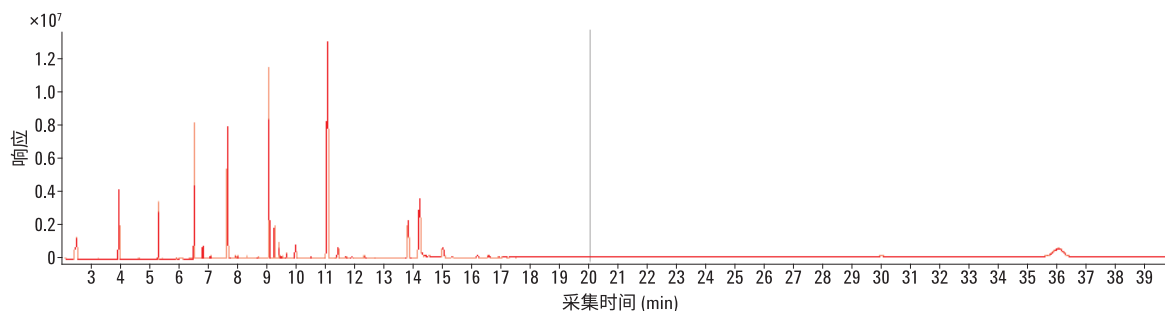


图3. 牛奶提取物的SIM 色谱图

仪器检测限 (IDL)

将低浓度样品 (0.01 ppm/1 ppm 内标) 连续进样 10 次确定仪器检测限。该结果为在脉冲不分流模式下, 进样 1 μ L 10 ng 被测物测定得到。

表5. IDL 结果

分析物	FAME	IDL (ppm)	分析物	FAME	IDL (ppm)
C4:0	丁酸	0.1155	C18:3 n-6	γ -亚麻酸	0.0504
C6:0	羊蜡酸	0.1012	C18:3 n-3	亚麻酸	0.0496
C8:0	辛酸	0.1001	C20:0	花生酸	0.0942
C10:0	癸酸	0.0998	C20:1	顺式-11-二十碳烯酸	0.0472
C11:0	十一酸	0.0500	C20:2	顺式-11,14-二十碳二烯酸	0.0455
C12:0	月桂酸	0.0997	C21:0	二十一酸	0.0493
C13:0	十三酸	0.0505	C20:3 n-6	顺式-8,11,14-二十碳三烯酸	0.0490
C14:0	肉豆蔻酸	0.1010	C20:4	花生四烯酸	0.0499
C14:1	肉豆蔻油酸	0.0528	C20:3 n-3	顺式-11,14,17-二十碳三烯酸	0.0500
C15:0	十五酸	0.0507	C20:5	顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	0.0500
C15:1	顺式-10-十五烯酸	0.0522	C22:0	山嵛酸	0.1003
C16:0	棕榈酸	0.1519	C22:1	芥酸	0.1241
C16:1	棕榈油酸	0.0530	C22:2	顺式-13,16-二十二碳二烯酸	0.0518
C17:0	十七酸	0.0509	C23:0	二十三酸	0.0900
C17:1	顺式-10-十七碳烯酸	0.0497	C24:0	二十四酸	0.0985
C18:0	硬脂酸	0.0967	C24:1	神经酸	0.0770
C18:1 c+t	反式油酸, 油酸	0.1524	C22:6	顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	0.0527
C18:2 c+t	反式亚油酸, 亚油酸	0.0932			

结论

Agilent 5977E GC/MS 的 FAME 检测表现了出色的线性、仪器检测限和分离效果，适用于 FAME 检测。

更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的信息，请访问我们的网站 www.agilent.com。

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

安捷伦对本资料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）公司，2014

2014年9月15日，中国出版

5991-4867CHCN



Agilent Technologies