

GC-MS 法测定婴幼儿配方奶粉中 DHA 和亚油酸含量

彭飞进, 杨卫花*

(大理州质量技术监督综合技术检测中心, 云南 大理 671000)

摘要: 建立一种气相色谱-质谱联用(GC-MS)法测定婴幼儿配方奶粉中二十二碳六烯酸(DHA)和亚油酸含量的方法。乙酰氯-甲醇将样品中 DHA 和亚油酸甲酯化, 用甲苯提取, 经 GC-MS 法测定及确证, 外标法定量。结果表明, 添加回收率范围为 96%~110%, 精密度高。该方法简便, 测定结果准确可靠, 完全适合婴幼儿配方奶粉中 DHA 和亚油酸的分析检测。

关键词: 二十二碳六烯酸(DHA); 亚油酸; 婴幼儿配方奶粉; 气相色谱-质谱联用(GC-MS)

Determination of DHA and Linoleic Acid Contents in Infant Formula Milk Powder by GC-MS

PENG Fei-jin, YANG Wei-hua*

(Comprehensive Technical Inspection Center, Dali Quality and Technical Supervision, Dali 671000, China)

Abstract: A method to determine docosahexaenoic acid (DHA) and linoleic acid contents in infant formula milk powder by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was developed. Samples were methylesterized with acetyl chloride-MeOH, followed by extraction with toluene before GC-MS analysis. The external standard method was used for quantification. The average spike recoveries for DHA and linoleic acid in a commercial sample were 96%—110%. The developed method proved simple, precise, accurate and reliable, thereby being suitable for the determination of DHA and linoleic acid contents in infant formula milk powder.

Key words: docosahexaenoic acid (DHA); linoleic acid; infant formula milk powder; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)14-0261-03

DHA(二十二碳六烯酸), 即不饱和脂肪酸, 被形象称之为“脑黄金”, 有促进神经细胞发育、改善人的记忆功能的作用。亚油酸是婴幼儿自然合成 DHA 和 AA(花生四烯酸)的重要物质, 所以准确测定婴幼儿配方奶粉中 DHA、亚油酸含量至关重要。

食品中 DHA 和亚油酸含量测定目前主要采用气相色谱法, 这方面有国家标准方法 GB 5413.27—2010《婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定》^[1]和国内外报道的方法^[2-5], 婴幼儿配方奶粉中脂肪酸成分复杂, 由于在气相色谱法分析中, 几种不同物质在同一根色谱柱具有相同保留时间的现象经常发生, 例如亚油酸和油酸碳原子数一样, 保留时间很接近, 容易混淆。本实验采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法, 通过程序升温, 分离效果良好, 且

通过质谱选择离子扫描消除了干扰, 提高了判定准确度。

国内外采用气质联用法测定这两种物质的含量主要集中在对鱼油^[6]、植物油^[7]、动物体^[8-9]、人造黄油^[10]和废水中脂肪酸^[11]等或共轭脂肪酸^[12]的测定。国内采用 GC-MS 法测定婴幼儿配方奶粉中的 DHA 和亚油酸报导也有少量报道, 如张力坚等^[13]用专门购买的甲酯化管, 利用三氟化硼-甲醇溶液以及 3,5-二叔丁基-4-羟基甲苯等试剂对部分市售奶粉中 DHA、AA 和 EPA 含量进行了评价, 侯冬岩等^[14]用质谱全扫描对奶粉中饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸的含量进行了比较, 方国臻等^[15]采用了加速溶剂萃取装置, 利用 HP-88 型脂肪酸专用色谱柱测定婴幼儿奶粉中多不饱和脂肪酸。本实验采用乙酰氯-甲醇溶液甲酯化, 有害试剂少且易得, 前处理设备只使

收稿日期: 2010-09-27

作者简介: 彭飞进(1982—), 女, 助理工程师, 硕士, 研究方向为产品质量检验及食品中添加剂及污染物限量检测。

E-mail: 75977550@qq.com

* 通信作者: 杨卫花(1979—), 女, 助理工程师, 硕士, 研究方向为色谱分析。E-mail: 491568228@qq.com

用到一般试验设备如水浴锅和离心机, 但将标准 GB 5413.27—2010 中螺口玻璃管改用常见的顶空气瓶, 采用一般的 Rix-5ms 柱进行分析, 使该实验方法大大缩短检验时间, 且简便可行。本研究旨在为一般实验室测定婴幼儿配方奶粉中 DHA 和亚油酸建立准确度高、简便易得的方法提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

7 个婴幼儿配方奶粉样品编号为 1~7, 某厂家提供。

DHA(纯度 > 99%) 美国 NU-CHEKPREP 公司; 亚油酸(97%) 阿拉丁试剂公司; 甲苯(分析纯); 6g/100mL 的碳酸钠溶液; 甲醇(色谱纯); 乙酰氯(分析纯); 体积分数 10% 的乙酰氯甲醇溶液, 现用现配。

1.2 仪器与设备

GCMS-QP2010 气相色谱-质谱联用仪 日本岛津公司; AB204-E 万分之一电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; DZKW-D-2 型电热恒温水浴锅 北京永光明医疗仪器厂; LD4-2A 离心机 北京医用离心机厂; MTN-2800 型氮吹仪 天津澳特赛恩斯仪器公司; 20mL 顶空瓶、铝盖、内垫及压盖器 美国安捷伦公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱: 毛细管柱为 Rix-5ms 柱(30.0m × 0.25mm, 0.25 μm; 升温程序: 160℃ 保持 2min, 以 10℃/min 升至 190℃, 保持 2min, 以 30℃/min 升至 220℃, 保持 25min; 载气(≥ 99.999%)流速 1.1mL/min, 压力 105.8kPa, 进样量 1 μL; 分流比 30:1。

1.3.2 质谱条件

电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70eV; 接口温度 270℃; 离子源温度 230℃; 母离子 m/z 294 和 342; 激活电压 0.9V; 质量扫描范围 m/z 50~400。定量: SIM 扫描。DHA 甲酯扫描离子: 79、91、105, 其中特征离子为 79, 参考离子为 91、105; 亚油酸甲酯扫描离子: 67、81、95, 其中特征离子为 67, 参考离子为 81、95。

1.3.3 样品处理

称取婴幼儿配方奶粉样品约 0.5g(精确至 0.0001g)于 20mL 顶空瓶中, 依次加入 5.0mL 甲苯, 6.0mL 乙酰氯甲醇溶液混匀, 用氮吹仪充氮气后压紧顶空瓶盖。振荡混匀后 80℃ 水浴 2h, 每隔 15min 振荡 1 次, 水浴后取出冷却至室温。将反应液转移至 50mL 离心管中, 分别用 3.0mL 碳酸钠溶液清洗顶空瓶 3 次, 合并清洗液于离心管中, 混匀, 4500r/min 离心 5min 左右。用一次性

注射器吸取上层清液于气相色谱进样小瓶中, DHA 直接上机测定, 亚油酸稀释适当倍数后上机测定。

1.3.4 标准物质处理

DHA 标准储备液: 准确称取 50mg DHA 溶于 50mL 容量瓶中, 用甲苯定容至刻度, 摇匀备用, 即得含量为 1mg/mL 的 DHA 标准储备液。

依次称取 0.0100、0.0400、0.1000、0.1500g 亚油酸标准物质于 1~4 号 20mL 顶空瓶中, 再依次加 0.2、0.4、0.8、1.2mL DHA 标准储备液, 各加 4.8、4.6、4.2、3.8mL 甲苯摇匀。其后处理同 1.3.3 节方法。

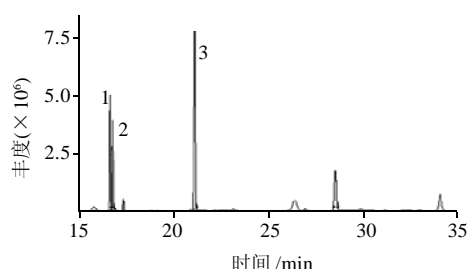
2 结果与分析

2.1 前处理方式的选择

前处理中螺口玻璃管的选择对实验的准确性至关重要, 如果密封性不好, 溶剂极易在水浴时发生损失, 实验结果的重现性差。因本实验室无国标中描述的螺口玻璃管, 而离心管密封性又不好, 顶空瓶在实验室易得, 密封性能好, 使用方便, 最后确定采用用于顶空气相的顶空瓶。

2.2 质谱条件选择

采用全扫描方式对样品进行定性, 典型色谱图如图 1 和总离子扫描图如图 2、3 所示。经过实验选择确定采用选择离子扫描, 选择离子图如图 4 所示。



1. 亚油酸甲酯; 2. 油酸甲酯; 3. DHA 甲酯。

图 1 DHA 甲酯和亚油酸甲酯混合标准溶液的总离子流色谱图
Fig.1 Total ion current chromatogram of mixed DHA methyl ester, oleic acid methyl ester and linoleic acid methyl ester standards

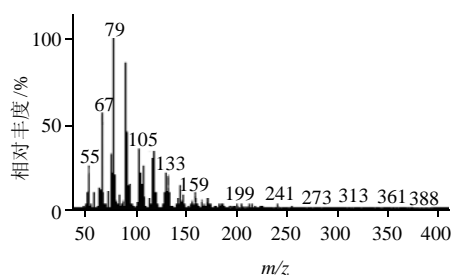


图 2 DHA 甲酯总离子扫描质谱图

Fig.2 Full scan mass spectrum of DHA methyl ester

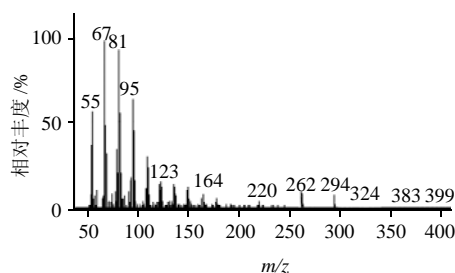
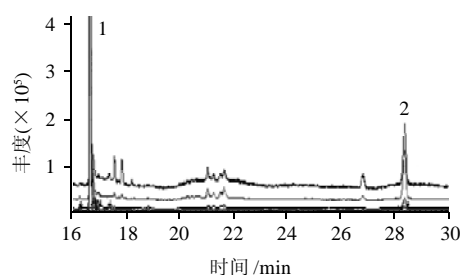


图3 亚油酸甲酯总离子扫描图

Fig.3 Full scan mass spectrum of methylated linoleic acid



1. 亚油酸甲酯; 2. DHA 甲酯。

图4 DHA 甲酯和亚油酸甲酯混合标准溶液的选择离子扫描色谱图

Fig.4 SIM chromatogram of mixed DHA methyl ester and linoleic acid methyl ester standards

2.3 色谱条件选择

在优化的色谱条件下进行色谱分析。以峰面积对标准溶液浓度作图, 建立标准曲线。同时以10倍噪音计算定量检测限, 结果如表1所示。

表1 回归方程及定量检出限

Table 1 Regression equations and detection limits

测定目 标物	回归方程	线性范围/ (mg/100g)	定量检测限/ (mg/100g)
DHA	$Y=2.160462 \times 10^7 X - 5123.5$	40~240	0.999
亚油酸	$Y=1.143486 \times 10^7 X + 269609.0$	20~210	0.999

2.4 添加回收率及精密度实验

表2 回收率及精密度实验(n=5)

Table 2 Recoveries and precision RSDs of DHA and linoleic acid in a commercial sample(n=5)

测定 组分	本底值/ (mg/100g)	添加量/ (mg/100g)	理论值/ (mg/100g)	检测值/ (mg/100g)	回收 率/%	RSD/%
DHA	84	30	114	115	96~103	1.8
		60	144	148	104~107	1.0
		120	204	216	96~110	2.5
亚油酸	6916	3010	9926	9851	98~108	2.1
		6731	13647	13860	99~103	1.5
		12968	19884	19311	96~106	2.3

称取1号婴幼儿配方奶粉0.5000g于20mL顶空瓶中, 依次称取3份不同质量亚油酸标准物质, 再添加3个不

同量的DHA标准溶液(表2), 后处理同1.3.3节, 每个实验做5次平行, 所得结果如表2所示。添加回收率范围为96%~110%, 精密度高。

2.5 样品检测结果

本实验应用所建的方法, 对另外6个样品进行了检测, 检测结果见表3。

表3 其他样品检测结果

Table 3 Results of determining DHA and linoleic acid contents in 6 commercial samples by the developed method

样品号	2	3	4	5	6	7
DHA含量/(mg/100g)	63	53	67	73	46	75
亚油酸含量/(mg/100g)	4795	4974	6719	11589	2793	12705

3 结 论

本实验所建方法样品前处理简单, 回收率和重现性好, 完全适合奶粉中DHA和亚油酸的分析检测。本实验对于婴幼儿配方奶粉中DHA和亚油酸的测定, 为以后深入探讨其他几种脂肪酸的测定, 且进一步扩大到其他样品中脂肪酸测定提供参考。

参考文献:

- [1] 中华人民共和国卫生部. GB 5413.27—2010 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [2] 马文宏, 张燕, 薛刚, 等. 二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸(AA)在婴幼儿配方奶粉中的测定[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 142-144.
- [3] 王克新, 房玉国, 张丽宏, 等. 婴幼儿配方食品和乳粉中DHA、EPA、亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸(AA)的测定[J]. 中国乳品工业, 2006, 34(12): 46-47.
- [4] 曹华娟, 曾栋, 方学新, 等. 衍生气相色谱法同时检测分析亚油酸、 α -亚麻酸、 γ -亚麻酸、AA、EPA、DHA[J]. 2006, 13(2): 295-297.
- [5] SEPPÄNEN-LAAKSO T, LAAKSO I, HILTUNEN R. Analysis of fatty acids by gas chromatography, and its relevance to research on health and nutrition[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 465(1/2): 39-62.
- [6] 牟峻, 曲忠文. 鱼油制品中EPA/DHA检测方法的研究[J]. 食品科学, 2001, 22(10): 76-78.
- [7] GAMAZO-VÁZQUEZ J, GARCÍA-FALCÓN M S, SIMAL-GÁNDARA J. Control of contamination of olive oil by sunflower seed oil in bottling plants by GC-MS of fatty acid methyl esters[J]. Food Control, 2003, 14(7): 463-467.
- [8] 张兰杰, 侯冬岩, 辛广, 等. 泥鳅鱼油中脂肪酸成分的GC-MS研究[J]. 特产研究, 2007, 29(1): 61-62.
- [9] 田颖刚, 谢明勇, 付志红, 等. 乌骨鸡脂肪油中脂肪酸组成的气相色谱-质谱分析[J]. 南昌大学学报: 理科版, 2006, 30(3): 264-267.
- [10] KANDHRO A, SHERAZI S T H, MAHESA S A, et al. GC-MS quantification of fatty acid profile including *trans*-FA in the locally manufactured margarines of Pakistan[J]. Food Chemistry, 2008, 109(1): 207-211.
- [11] GONZÁLEZ CASADO A, ALONSO HERNÁNDEZ E J, VIILCHEZ J L. Determination of fatty acids ($C_8 - C_{22}$) in urban wastewater by GC-MS[J]. Water Research, 1998, 32(10): 3168-3172.
- [12] YEN T Y, STEPHEN INBARAJ B, CHIEN J T, et al. Gas chromatography-mass spectrometry determination of conjugated linoleic acid and cholesterol oxides and their stability in a model system[J]. Biochemistry, 2010, 400(1): 130-138.
- [13] 张力坚, 蔡春, 宏萍萍, 等. 婴儿奶粉脂肪酸含量的GC-MS分析[J]. 分析测试学报, 2007, 26(增刊1): 267-268.
- [14] 侯冬岩, 回瑞华, 徐丽丽, 等. 奶粉中脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J]. 分析测试学报, 2007, 26(增刊1): 231-232; 235.
- [15] 方国臻, 张超, 郑广奇, 等. 气相色谱-质谱法测定婴幼儿奶粉中多不饱和脂肪酸的方法研究[J]. 中国食品学报, 2010, 10(1): 219-223.