

气相色谱-质谱法测定腌制肉类食品中的多种脂肪酸

王震,李俊*,郭晓关,庞宏宇

(贵州省农产品质量安全监督检验测试中心,农业部农产品质量安全监督检验测试中心(贵阳),
贵州贵阳 550004)

摘要:建立了腌制肉类食品中多种脂肪酸的气相色谱-质谱检测方法。样品采用ASE快速溶剂萃取仪提取、1%硫酸-甲醇溶液甲酯化,采用气相色谱质谱测定。样品添加回收率为80.2%~96.2%,RSD为2.4%~6.8%;32种脂肪酸甲酯在0.010~0.10mg/mL质量浓度范围内良好的线性关系,相关系数为0.9915~0.9990;检出限为0.02~0.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为0.06~0.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$;方法具有快速、准确、灵敏度高的特点,适用于腌制肉类食品中多种脂肪酸的检测分析。

关键词:腌制肉类食品,脂肪酸,气相色谱质谱联用

Determination of fatty acids in marinated meat by gas chromatography-quadrupole mass spectrometry

WANG Zhen, LI Jun*, GUO Xiao-guan, PANG Hong-yu

(Guizhou Provincial Supervision and Testing Center for Agricultural Product Quality, Supervision and Testing Center for Agricultural Product Quality, Ministry of Agriculture (Guiyang), Guiyang 550004, China)

Abstract: Test methods of fatty acids in marinated meat by gas chromatography-quadrupole mass spectrometry. Extracted by accelerated solvent extractor, 1% H_2SO_4 -methanol solution method methyl esterification, and determined by gas chromatography mass spectrometry. The sample added recoveries was 80.2%~96.2%, RSD was 2.4%~6.8%. 32 kinds of fatty acid methyl ester a good linear relationship, correlation coefficient was 0.9915~0.9990. Detection limit was 0.02~0.14 $\mu\text{g}/\text{kg}$, limit of quantitation was 0.06~0.46 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The method which was rapid, accuracy and high sensitivity could be used to test several fatty acid pickled meat food.

Key words: marinated meat; fatty acids; gas chromatography mass spectrometry

中图分类号:TS207.3

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2013)18-0068-04

腌制是早期保存食品的一种有效方法,腌制肉类食品很早就进入了人们的食谱,随着人们生活习惯、地域的不同形成了很多具有地方独特风味的腌制肉类食品,比如有浙江金华火腿、云南宣威火腿、贵州威宁火腿。脂肪酸是影响火腿风味的成分之一,由于生产过程中制作工艺、储藏环境等因素的差异,影响和改变了脂肪酸的比例含量,形成了独特的风味。脂肪酸的种类和组成是决定火腿脂肪组织理化性质、影响火腿风味的重要化学成分^[1-3]。目前肉及肉制品中脂肪酸主要参照GB/T 9695^[4]和GB/T 22223^[5]国标方法检测,先将提取出的游离脂肪在三氟化硼催化下进行甘油酯皂化和游离脂肪酸的酯化,生成脂肪酸甲酯采用气相色谱-FID测定,由于采用的是FID火焰光度检测器,样液中的很多非检测成分也会在检测器上产生信号,给检测带来干扰;喻文娟等^[6]采用GC-MS测定猪肉中14种脂肪酸含量,施忠芬等^[7]

采用GC-MS测定宣威火腿中脂肪酸组成,样品分别采用浸提法和高速匀浆法提取样品中的脂肪,分别采用氢氧化钾-甲醇溶液甲酯化和正己烷、 $\text{BF}_3\text{-CH}_3\text{OH}$ 溶液甲酯化,利用气相色谱-质谱测定,样品采用普通方法提取脂肪酸,提取方法的不充分可能对结果造成误差,全扫描模式虽然可以得到最丰富的离子碎片信息,样液中的杂质也会在仪器上产生较强的信号,造成仪器灵敏度的降低。本文在前人的研究基础上,采用ASE快速溶剂萃取仪提取样品,1%硫酸-甲醇溶液甲酯化,气相色谱-质谱(GC-MS)选择性离子扫描定量检测,建立了腌制肉类食品中多32种脂肪酸的气相色谱-质谱检测方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

32种脂肪酸甲酯混合标准溶液(10mg/mL) 美国Sigma公司;甲醇 美国天地公司,色谱纯;三氯甲烷、浓硫酸 国药集团,分析纯;腌制肉类食品 市场购买。

Trace GC-DSQ气相色谱-质谱联用仪、TR-35ms色谱柱(60m \times 0.25mm,0.25 μm) 美国赛默飞世尔公

收稿日期:2013-05-21 * 通讯联系人

作者简介:王震(1970-),男,实验师,主要从事食品安全及农业环境检测方面的研究。

司;氮吹仪 美国OI公司;旋转蒸发仪 瑞士步琦公司;千分之一天平 瑞士梅特勒公司;0.45 μm 有机滤膜 美国安捷伦公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取 称取1.00g样品放入5mL快速溶剂萃取仪(ASE)萃取池里,加入适量无水硫酸钠混匀,萃取溶剂为三氯甲烷-甲醇溶液(2:1),温度90 $^{\circ}\text{C}$,压力 $1.03\times 10^7\text{Pa}$,加热10min,静置10min,静态循环次数3次,冲洗体积60%,吹扫时间60s,萃取液转入梨形瓶中,用旋转蒸发仪浓缩至近干,甲醇定溶为10mL,待甲酯化。

1.2.2 脂肪酸甲酯化 吸取2mL待甲酯化样液置于10mL具塞试管中,加入20 μL 浓硫酸,充分混匀后于80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中甲酯化反应1h,冷却至室温后,加入5mL正己烷混匀分层后分取出正己烷层,再用5mL蒸馏

水与正己烷层混匀分层,最后分取出正己烷层,氮气吹至近干,正己烷定容为2mL,过0.45 μm 的有机滤膜后测定。

1.3 仪器条件

色谱柱:(TR-35 60m \times 0.25mm,0.25 μm);升温程序:50 $^{\circ}\text{C}$ 保持1min,以20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到150 $^{\circ}\text{C}$,再以4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温到270 $^{\circ}\text{C}$ 保持15min,载气(He)流速1.0mL/min;进样口温度(280 $^{\circ}\text{C}$),分流比10:1;样液进样量1.0 μL ;传输线温度(280 $^{\circ}\text{C}$);离子源温度(250 $^{\circ}\text{C}$);电子轰击(ED)离子源;电子能量(70eV);选择性离子模式扫描(SIM),扫描离子对见表1。

2 结果与分析

2.1 样品提取条件选择

目前我国现行使用的标准方法和实验室方法,对食品中脂肪酸的提取主要采用索氏提取法、酸水

表1 32种脂肪酸甲酯质谱条件及保留时间

Table 1 MS conditions and retention time of the 32 Fatty acid methyl ester

序号	名称	缩写	RT(min)	选择性离子			
				定量离子	定性离子1	定性离子2	定性离子3
1	丁酸甲酯	C4:0	5.09	74	71	87	
2	己酸甲酯	C6:0	6.90	74	87	99	130
3	辛酸甲酯	C8:0	8.95	74	87	127	158
4	癸酸甲酯	C10:0	11.71	74	87	143	186
5	月桂酸甲酯	C12:0	15.57	74	87	171	214
6	五甲基呋喃溴酸酯	C14:0	20.23	199	74	87	242
7	肉豆蔻脑酸甲酯	C14:1	20.32	124	74	166	240
8	十五烷酸甲酯	C15:0	22.66	74	87	143	256
9	棕榈酸甲酯	C16:0	25.00	143	74	87	270
10	棕榈油酸甲酯	C16:1	24.97	194	74	97	268
11	十七烷酸甲酯	C17:0	27.37	284	74	87	143
12	顺-10-十七烯酸甲酯	C17:1	27.46	208	74	251	282
13	硬酯酸甲酯C18	C18:0	29.78	298	74	87	255
14	油酸甲酯	C18:1	29.57	264	74	83	296
15	亚油酸甲酯	C18:2	29.75	294	81	94	264
16	r-亚麻酸甲酯	C18:3	29.63	292	79	80	194
17	亚麻酸甲酯	C18:3	30.19	293	79	80	107
18	二十烷酸甲酯	C20:0	34.20	326	74	87	283
19	二十碳烯酸甲酯	C20:1	34.01	324	83	208	292
20	二十碳二烯酸甲酯	C20:2	34.20	322	81	95	291
21	二十碳三烯酸甲酯	C20:3	34.04	320	79	80	150
22	HOMO-r-亚麻酸甲酯	C20:3	34.46	320	79	80	107
23	花生四烯酸甲酯	C20:4	33.88	203	79	80	91
24	二十碳五烯酸甲酯	C20:5	34.33	119	79	91	133
25	山嵛酸甲酯	C22:0	38.57	354	74	87	143
26	芥酸甲酯	C22:1	38.38	320	74	83	97
27	二十二碳二烯酸甲酯	C22:2	38.63	350	81	96	319
28	二十二碳四烯酸甲酯	C22:4	38.29	91	79	119	150
29	二十二碳五烯酸甲酯	C22:5	38.83	133	79	91	119
30	DHA甲酯	C22:6	38.69	150	79	80	320
31	木蜡酸甲酯	C24:0	44.48	382	74	87	143
32	二十四碳烯酸甲酯(15C)	C24:1	44.25	348	83	97	306

解法、氯仿-甲醇浸提法、巴布科克法改进法^[7]。本文参照方国臻^[8]的研究,选择用氯仿-甲醇溶液作为提取液、采用ASE快速溶剂萃取仪提取样品中的脂肪酸,比较了ASE加速溶剂萃取、氯仿-甲醇浸提法和索氏提取法三种方式对脂肪酸的提取效果,分别做了添加回收实验,结果表明,ASE加速溶剂萃取仪回收率范围在80.2%~96.2%,氯仿-甲醇浸提法回收率范围在76.3%~89.0%,索氏提取法回收率范围在78.6%~90.4%。三种提取方式比较,ASE加速溶剂萃取仪自动化程度高、萃取时间短、溶剂使用少、人与有机溶剂不直接接触,减少人体危害,有利于身体健康。

2.2 甲酯化方法的选择

脂肪和脂肪酸的甲酯化方法可分酸催化和碱催化为两大类,寇秀颖^[9]的脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究结果表明,1%硫酸-甲醇甲酯化效果最佳,适用于游离脂肪酸和合于结合态脂肪酸的甲酯化。本文参考该研究结果,选择1%硫酸-甲醇为甲酯化溶液,在70℃水浴中甲酯化反应60min为本实验条件。

2.3 仪器条件优化

2.3.1 色谱条件选择 本文色谱条件参考陈小燕^[10]一文的色谱条件,选择了中等极性的玻璃毛细管色谱柱,结合自己所选用的色谱柱性质,反复实验摸索确定出色谱程序升温条件,32种脂肪酸甲酯色谱峰见图1,其中硬酯酸甲酯(C18:0)和亚油酸甲酯(C18:2),二十碳烯酸甲酯(C20:1)和二十碳三烯酸甲酯(C20:3),二十烷酸甲酯(C20:0)和二十碳二烯酸甲酯(C20:2),二十二碳二烯酸甲酯(C22:2)和DHA甲酯(C22:6)分离效果不是太好,为解决分离不好带来的定量误差,利用选择性离子扫描模式质谱检测,有效的避免了误差的产生,可以满足检测需要。

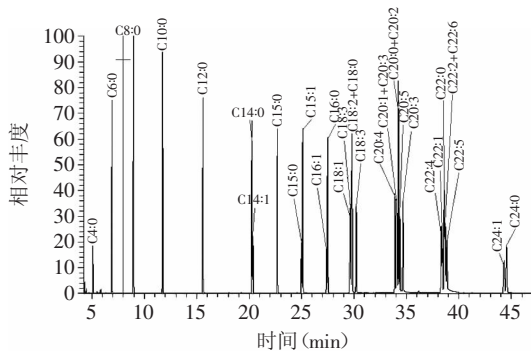


图1 32种脂肪酸甲酯SIM色谱图

Fig.1 SIM Chromatogram of the 32 Fatty acid methyl ester

2.3.2 质谱扫描方式与离子对确定 用1.0mg/mL质量浓度的脂肪酸甲酯混合标样进行30~400质荷比全扫描,利用仪器自带的Nist 08化合物库进行解析,确定下每个成分的保留时间和碎片离子,选择丰度相对较高、结构较稳定的碎片离子作为选择性扫描特征离子,见表1。

2.3.3 质谱定性定量 根据同一种物质在同一色谱柱和相同仪器条件下保留时间相同,同一种物质在

相同的质谱条件下产生的碎片离子相对丰度比相同,当待测物与标准物质具有相同保留时间,同时离子相对丰度比在一定范围时^[11],视为有该物质检出。采用峰面积质量浓度标准曲线法定量分析。

2.4 方法线性、检出限和定量限

配制系列浓度标准溶液0.010、0.020、0.050、0.080、0.10mg/mL的混合标准溶液,由低浓度至高浓度依次进样检测,以质量浓度与峰面积作标准曲线线性回归;利用添加回收浓度为依据,特征离子质量色谱峰性噪比RSN=3计算检出限,RSN=10计算方法定量限。结果表明,在0.010~0.10mg/mL范围内32种脂肪酸甲酯显良好线性关系;检出限为0.02~0.14 μ g/kg,定量限为0.06~0.46 μ g/kg;结果见表2。

2.5 方法回收率和精密度的测定

平行称取1.0g样品6份,其中3份样品添加10 μ g混合脂肪酸甲酯标准品(相当于含脂肪酸10mg/kg),另外3份样品做实际样品检测,考察方法的回收率与精密度。结果表明,平均回收率为80.2~96.2%,相对标准偏差(RSD, n=6)为2.4%~6.8%,见表2。

2.6 实际样品的检测

利用该方法对3种不同品牌的腌制肉类进行检测,平行测定3次,检测结果见表2。实验结果表明实际样品检测中RSD在2.6%~18.3%之间,该方法可以运用于实际样品的分析。

3 结论

本文建立的腌制肉类食品中多种脂肪酸检测方法,在该实验条件下,样品添加回收率为80.2%~96.2%,相对标准偏差为2.4%~6.8%;检出限为0.02~0.14 μ g/kg,定量限为0.06~0.46 μ g/kg;32种脂肪酸甲酯在0.010~0.100mg/mL质量浓度范围内良好的线性关系,相关系数为0.9915~0.9990。方法具有快速、准确、灵敏度高的特点,适用于腌制肉类食品中多种脂肪酸检测分析;在实际样品检测中检出值相对标准偏差在2.6%~18.3%之间,该方法可以运用于腌制肉类食品中多种脂肪酸检测分析。

参考文献

- [1] Martin L, Cordoba J J. Changes in intramuscular lipids during ripening of Iberian dry cured ham[J]. Meat Science, 1999, 51:129-134.
- [2] Coutron Gambotti C, Gandemer G. Lipolysis and oxidation in subcutaneous adipose tissue during dry cured ham processing[J]. Food Chemistry, 1999, 64:95-101.
- [3] 施忠芬,王桂瑛,陈红艳,等. GC-MS法测定宣威火腿中脂肪酸组成[J]. 食品与发酵工程, 2012, 38(9):141-145.
- [4] 罗美中,李碧芳,郑彦婕,等. GB/T 9695.2中国标准书号[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [5] 王晶,王猛,盛灵慧,等. GB/T 22223中国标准书号[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.
- [6] 喻文娟,侯静文,朱邦尚. 外标-气相色谱-质谱法准确测定猪肉中的14种脂肪酸[J]. 分析仪器, 2012, (3):10-16.
- [7] 王毅,陈红霞,朱慧敏,等. 肉品中脂肪检测技术研究进展[J]. 肉类研究, 2012, 26(11):36-40.

表2 方法相关系数、检出限、定量限与回收率、实际样品检测

Table 2 Correlation coefficient, limit of detection, limit of quantiation and recovery of the method, testing result of samples

名称	R^2	检出限LOD ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	定量限LOQ ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	添加回收实验		1号样品		2号样品		3号样品	
				平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD, %)	平均测量值 (mg/kg)	相对标准偏差 (RSD, %)	平均测量值 (mg/kg)	相对标准偏差 (RSD, %)	平均测量值 (mg/kg)	相对标准偏差 (RSD, %)
C4:0	0.9985	0.10	0.32	96.2	6.3	0.007	16.2	0.005	15.2	0.005	18.3
C6:0	0.9984	0.02	0.07	95.6	5.2	0.075	17.3	0.006	14.3	0.035	14.7
C8:0	0.9981	0.02	0.06	94.2	4.0	0.10	8.2	0.03	5.6	0.05	6.2
C10:0	0.9989	0.02	0.06	96.2	4.3	0.32	5.4	0.21	4.6	0.22	4.9
C12:0	0.9990	0.02	0.07	95.2	3.2	0.30	4.3	0.20	4.2	0.18	3.7
C14:0	0.9989	0.02	0.07	92.1	3.6	0.14	5.5	0.13	6.5	0.11	4.2
C14:1	0.9987	0.07	0.23	90.2	3.3	3.48	3.2	3.19	5.5	2.62	5.0
C15:0	0.9988	0.03	0.08	92.3	2.9	0.11	4.6	0.09	6.7	0.08	4.2
C16:0	0.9956	0.08	0.25	82.2	3.5	63.89	6.2	61.17	5.3	51.33	6.5
C16:1	0.9961	0.02	0.08	89.5	4.1	6.69	5.2	6.92	5.3	5.29	5.2
C17:0	0.9935	0.09	0.31	88.2	4.6	0.39	6.5	0.44	5.0	0.34	7.2
C17:1	0.9939	0.03	0.09	95.3	3.9	0.44	5.4	0.41	6.2	0.33	6.5
C18:0	0.9954	0.03	0.10	93.6	4.7	1.20	6.6	1.00	4.2	0.89	3.7
C18:1	0.9960	0.05	0.17	80.2	4.9	188.57	5.7	167.44	2.6	133.42	5.2
C18:2	0.9939	0.03	0.08	82.2	4.2	43.79	4.3	44.50	4.0	33.32	6.0
C18:3	0.9915	0.05	0.15	81.3	4.1	47.72	7.4	34.18	4.1	30.74	6.0
C18:3	0.9927	0.05	0.17	90.3	4.7	1.25	5.0	2.23	7.0	1.25	4.0
C20:0	0.9929	0.03	0.10	93.6	4.9	1.06	5.3	0.53	4.7	0.63	5.4
C20:1	0.9935	0.04	0.15	88.7	3.9	3.10	7.3	2.79	5.1	2.28	5.2
C20:2	0.9939	0.02	0.07	89.6	3.9	1.61	6.2	1.09	4.8	1.06	4.0
C20:3	0.9946	0.04	0.14	95.3	4.9	0.42	7.5	0.37	5.0	0.28	6.1
C20:3	0.9976	0.05	0.15	93.6	2.9	0.26	5.2	0.49	5.3	0.33	6.3
C20:4	0.9984	0.04	0.15	86.3	2.6	2.69	5.6	2.26	5.5	1.94	4.4
C20:5	0.9983	0.06	0.19	90.2	2.4	0.12	4.2	0.17	5.1	0.60	5.1
C22:0	0.9979	0.04	0.14	88.6	3.2	0.03	4.2	0.06	7.3	0.53	5.0
C22:1	0.9957	0.07	0.23	84.5	4.5	0.08	6.2	0.08	7.0	0.06	4.2
C22:2	0.9943	0.04	0.15	86.3	6.2	1.19	6.2	0.02	6.3	0.02	5.3
C22:4	0.9939	0.07	0.23	84.5	6.3	0.46	7.2	0.29	5.5	0.27	6.3
C22:5	0.9958	0.09	0.30	88.6	6.8	0.04	6.0	0.68	6.5	0.05	4.6
C22:6	0.9946	0.05	0.17	90.2	5.1	0.49	5.2	0.07	6.0	0.47	6.0
C24:0	0.9967	0.10	0.32	94.2	3.9	0.65	5.9	0.05	5.9	0.29	7.0
C24:1	0.9972	0.14	0.46	95.6	3.5	0.041	6.0	0.031	7.5	0.027	4.7

[8] 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.

[9] 寇秀颖,于国萍. 脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2):46-47.

[10] 陈小燕,王友升,李丽萍. 3种色谱柱对37种脂肪酸的分离

性能比较及鱼油脂肪酸检测[J]. 食品科学, 2011, 32(22):156-162.

[11] Commission Decision 2002/657/EC of 12 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of result [C]. Official Journal, 2002-05-17:8-36.

欢迎订阅《食品工业科技》, 邮发代号2-399