

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2024.03.019

张春萍, 郭舒岗, 张蕤, 等. 三重四级杆气质联用仪多反应监测模式测定莜面中脂肪酸含量[J]. 粮油食品科技, 2024, 32(3): 170-178.

ZHANG C P, GUO S G, ZHANG R, et al. Determination of fatty acids in oat flour by MRM of GC/MS/MS[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2024, 32(3): 170-178.

三重四级杆气质联用仪多反应监测模式 测定莜面中脂肪酸含量

张春萍, 郭舒岗, 张蕤, 熊慧霞, 薛红波, 杜兴

(山西省疾病预防控制中心, 山西 太原 030000)

摘要: 采用三重四级杆气质联用仪 (GC/MS/MS) 多反应监测模式 (multiple reaction monitoring, MRM) 建立莜面中脂肪酸含量的分析方法。莜面样品和脂肪酸标准品经过氢氧化钾-甲醇和三氟化硼-甲醇溶液甲酯化 15 min 生成对应的脂肪酸甲酯。经 DB-FastFAME (90 m×0.25 mm×0.25 μm) 色谱柱在电子轰击电离 (EI) 源下采用多反应监测模式进行扫描, 外标法定量分析。40 种脂肪酸甲酯在 38 min 内达到完全分离, 脂肪酸甲酯化标准品在 0.4~40 μg/mL 浓度范围内有良好的线性关系, 相关系数 R 均达到 0.999 7。C20:2 等 6 种脂肪酸定量限为 0.003 g/100 g, 其余 34 种脂肪酸定量限为 0.000 6 g/100 g。脂肪酸在 3 个浓度添加水平下的加标回收率为 86.8%~107.3%, 精密度在 0.9%~5.2% 之间。此法操作简便, 选择性高, 准确度、精密度、灵敏度好, 适用于莜面中脂肪酸含量的快速、准确测定。

关键词: 莜面; 三重四级杆气质联用仪; 脂肪酸; 多反应监测模式

中图分类号: TS207.3; O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2024)03-0170-09

网络首发时间: 2024-05-09 14:56:30

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/11.3863.ts.20240508.2154.002>

Determination of Fatty Acids in Oat Flour by MRM of GC/MS/MS

ZHANG Chun-ping, GUO Shu-gang, ZHANG Rui, XIONG Hui-xia, XUE Hong-bo, DU Xing

(Shanxi Center for Disease Control and Prevention, Taiyuan, Shanxi 030000, China)

Abstract: Fatty acids in oat flour have been analyzed by using multiple reaction monitoring mode of gas chromatograph-mass spectrometer. The samples and fatty acid standards were methylated by potassium hydroxide - methanol and boron trifluoride- methanol solutions for 15 min to produce the corresponding fatty acid methyl ester. Then, the products would be separated through DB-FastFAME (90 m×0.25 mm×0.25 μm) capillary column. Multiple reaction monitoring mode (MRM) was performed under electron bombardment ionization (EI) source, and the external standard method was carried out for quantitative analysis. 40 kinds of fatty acid methyl esters could be completely separated within 38 min. A good linear relationship was achieved in the concentration range of 0.4~40 μg/mL. The correlation coefficients of standard curve were all

收稿日期: 2023-11-01

基金项目: 国家卫生健康委员会食物成分监测项目

Supported by: National Health Commission Food Composition Monitoring Project

作者简介: 张春萍, 女, 1986 年出生, 硕士, 主管技师, 研究方向为食物成分分析和食品安全风险监测。E-mail: 496940225@qq.com

greater than 0.999 7. The limit of quantification of 6 fatty acids such as C20:2 was 0.003 g/100 g, and the remaining 34 fatty acids was 0.000 6 g/100 g. The standard recoveries of fatty acids were 86.6%~107.3%, and the precision was between 0.9% and 5.2%. It is a method for simple operate and high selectivity, which has a good accurate, precise and sensitive. The method is suitable for the rapid and accurate determination of fatty acids in oat flour.

Key words: oat flour; GC/MS/MS; fatty acid; MRM mode

莜面是由莜麦（裸燕麦）加工而成的面粉，是杂粮面食品的一种。莜麦主要分布在山西北部、内蒙古东南部、河北西北部，在我国有 5 000 多年的栽种历史^[1]。莜面营养价值极高，富含蛋白质、脂肪、膳食纤维、维生素等，可预防糖尿病、冠心病、动脉硬化、高血压等多种疾病，被认为是最安全健康的粮食^[2]。与其他谷物相比，莜面具有独特的脂质组成，其中富含的不饱和脂肪酸可以降低血脂，防治心脑血管疾病，预防肿瘤，促进人体新陈代谢等^[3-5]。研究表明不同组成成分的脂肪酸有不同的营养功能，莜麦基因、品种类型、产地、环境等都会影响其中脂肪产量和脂肪酸组成^[6-7]，进而直接影响莜面的营养和品质。因此，研究莜面脂肪酸检测方法，了解莜面中脂肪酸组成和含量，可充分利用莜面营养价值，指导居民合理莜面膳食摄入，同时可为莜麦选育良种，推广优质莜面农产品，相关保健食品和特殊医疗食品的开发提供技术支持，促进莜面主产区经济增长。

脂肪酸检测方法有高效液相色谱法、液相色谱质谱联用法、气相色谱法、气相色谱质谱联用法^[8-11]。气相色谱氢火焰离子化检测器法是最常用的方法，《国家食品安全标准 食品中脂肪酸的测定》（GB 5009.168—2016）就采用气相色谱法，该方法可以对 37 种脂肪酸组分进行定性定量分析，但遇到无标样确认的未知峰，结果就可能有偏差，且样品前处理操作繁琐，分析时间长达 85 min，在实际样品检测过程中会出现保留时间偏移的问题，定性难度大，需要质谱进行确认。基于高效分离力和准确鉴定力的气相色谱质谱联用仪能同时检测多种化合物，实现化合物准确定性，且灵敏度高，抗干扰性强，在食品检测领域已得到广泛应用。目前，气相色谱-质谱联用技术定量脂肪酸的研究均采用选择离子监测模式^[12-13]，多反应

监测模式尚未有参考文献。因此，本研究拟选用脂肪酸标准品直接甲酯化法结合 GC/MS/MS-MRM 模式进行研究，旨在建立一种快速、灵敏、简便、准确的莜面中脂肪酸含量的分析方法。

1 材料与amp;方法

1.1 试剂与amp;仪器

40 种脂肪酸混标（C4-C24）标准品，100 mg、40 种脂肪酸甲酯混标（C4-C24）标准品，100 mg：美国 NU-CHEK-PREP 公司；氢氧化钾，分析纯、异辛烷，色谱纯：天津市大茂化学试剂厂；甲醇，色谱纯：德国默克股份两合公司；14%三氟化硼-甲醇溶液：sigma-aldrich 公司。

GCMS-TQ8050 三重四级杆气质联用仪：日本岛津公司；SQP 电子天平：德国赛多利斯科学仪器有限公司；Multi Reax 多功能震荡仪：德国海道夫公司；DB-FastFAME 色谱柱（90 m×0.25 mm×0.25 μm）：美国安捷伦公司。

1.2 仪器条件

气相色谱条件：80 °C 保持 1 min，以 40 °C/min 速率升至 200 °C，保持 15 min；再以 10 °C/min 速率升至 225 °C，保持 20 min；分流进样，分流比 20 : 1；流量控制方式：恒压 330 kPa；进样口温度：260 °C；进样量 1 μL。

质谱条件：离子源：EI 源；离子源温度 230 °C；传输线温度 250 °C；溶剂延迟时间：6.6 min。

1.3 标准溶液的配制

脂肪酸和脂肪酸甲酯混标标准品分别用 10 mL 异辛烷溶解。其中 C10:0、C12:0、C16:0、C17:0、C18:0、C18:1n9c、C18:3n6、C20:0、C22:0、C24:0，10 种脂肪酸组分质量浓度为 400 μg/mL，剩余 30 种脂肪酸组分质量浓度为 200 μg/mL，该母液于 -20 °C 保存，标准使用液根据所需浓度现

配现用。

1.4 样品前处理

称取苜蓿样品约 0.100 0 g 于 15 mL 具塞比色管中, 加入异辛烷 10 mL, 摇匀, 然后加入 300 μ L 2 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液, 震荡 30 s, 加入 2 mL 14% 的三氟化硼-甲醇溶液继续震荡 15 min, 静置 1 min 后取上清液于另一玻璃试管, 加入 1 g 无水硫酸钠剧烈震荡 30 s, 取上清溶液于进样小瓶供仪器分析。

1.5 数据处理

数据处理采用岛津 GCMSolutions, MRM Optimization Tool 软件分析, Origin 2017 软件绘图。

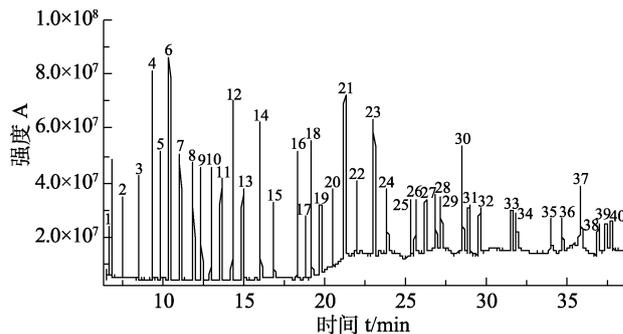
2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

目前脂肪酸检测使用最多的色谱柱为 CP-2560 和 HP-88, 两种色谱柱对多组分脂肪酸出峰时间均较长, 且个别脂肪酸甲酯不能完全分离, 影响定量结果。本实验选取 DB-FastFAME 脂肪酸专用色谱柱进行分析。取 100 μ L 40 种脂肪酸甲酯标准品用异辛烷稀释至 40 μ g/mL, 参考色谱柱说明书方法进行 Q3 SCAN 全扫, 发现 40 种脂肪酸甲酯中的 C22:2 和 C23:0 分离效果差, 在恒线速度模式下, 柱流量在 1.0~2.5 mL/min 之间, 两种脂肪酸甲酯分离效果均差。实验采用恒压模式, 分别在 250、270、300、330、360、400 kPa 进行分析。结果显示 330 kPa 下 40 种脂肪酸甲酯实现了完全分离, 此时柱流量为 2.24 mL/min。该仪器条件下, 色谱出峰结果见图 1。通过 NIST14s 谱库进行检索确定各组分保留时间, 各脂肪酸甲酯保留时间见表 1。选用 DB-FastFAME 色谱柱能够实现 38 min 内 40 种脂肪酸甲酯的完全分离, 气质运行时间仅为 41.5 min, 相比国家食品安全标准 GB 5009.168—2016 中 37 种脂肪酸甲酯运行时间 85 min, 节约时间达到 50% 以上, 更适合大批量样品检测。

2.2 质谱条件的优化

利用 Q3SCAN 全扫模式色谱图数据建立方法组分表, 选择丰度较高的母离子和参考离子通过



注: 1. C4:0; 2. C6:0; 3. C8:0; 4. C10:0; 5. C11:0; 6. C12:0; 7. C13:0; 8. C14:0; 9. C14:1; 10. C15:0; 11. C15:1; 12. C16:0; 13. C16:1; 14. C17:0; 15. C17:1; 16. C18:0; 17. C18:1n9t; 18. C18:1n9c; 19. C18:2n6t; 20. C18:2n6c; 21. C18:3n6; 22. C18:3n3; 23. C20:0; 24. C20:1; 25. C20:2; 26. C21:0; 27. C20:3n6; 28. C20:4n6; 29. C20:3n3; 30. C22:0; 31. C20:5n3; 32. C22:1n9; 33. C22:2; 34. C23:0; 35. C22:4; 36. C22:5n6; 37. C24:0; 38. C22:5n3; 39. C24:1; 40. C22:6n3

图 1 40 种脂肪酸甲酯标准液色谱图

Fig.1 The chromatogram of 40 kinds of fatty acid methyl esters

碎片离子扫描模式进行实验。选择母离子时发现 20 号色谱峰后的脂肪酸甲酯有明显的 313 离子干扰, 经确定为色谱柱流失成分离子, 需要手动确认母离子和参考离子。利用岛津 MRM Optimization Tool 软件在 4~30 eV 电压下, 间隔电压为 1 eV, 建立优化方法文件。色谱进样, 对各脂肪酸甲酯的母离子, 子离子对以及各离子对的碰撞能量进行优化, 通过碎片离子扫描模式获得干扰最小, 离子对强度最大的质谱条件, 优化结果见表 1。最后将优化数据通过 Smart Database 软件建立 40 种脂肪酸甲酯的 MRM 扫描方法。使用串联质谱 MRM 模式可以很大程度解决气相色谱法保留时间偏移而引起的定性不准确问题, 对于复杂基质可以最大限度去除不符合规则的干扰离子, 有效避免样品中假阳性的出现, 具有更高的选择性, 能进一步提高监测数据的准确性。

2.3 脂肪酸标准以及样品甲酯化条件的优化

查阅文献发现脂肪酸与碱性催化剂反应生成皂, 该条件下很难转化成甲酯, 不适用于脂肪酸的直接甲酯化, 需要采用酸催化甲酯化^[14]。但对于大多数样品脂肪属于结合态脂肪, 可以采用氢氧化钾-甲醇酯交换法进行甲酯化。因此, 本实验探索采用氢氧化钾-甲醇和三氟化硼-甲醇溶液结合甲酯化法进行脂肪酸含量测定。

表 1 40 种脂肪酸甲酯保留时间、离子对信息、碰撞电压

Table 1 Retention time, ion pair information, collision voltage of 40 kinds of fatty acid methyl esters

序号	化合物	定量离子对 m/z	碰撞电压/v	定性离子对 1 m/z	碰撞电压/v	定性离子对 2 m/z	碰撞电压/v	保留时间/min
1	C4:0	74.00>43.00	7.00	71.00>43.10	7.00	71.00>41.10	16.00	6.685
2	C6:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.10	8.00	74.00>31.10	11.00	7.517
3	C8:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.10	10.00	74.00>31.10	9.00	8.446
4	C10:0	74.00>43.00	7.00	74.00>31.10	8.00	143.00>55.10	17.00	9.362
5	C11:0	74.00>43.00	6.00	87.00>55.10	10.00	87.00>27.10	22.00	9.859
6	C12:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.10	10.00	87.00>27.10	21.00	10.424
7	C13:0	74.00>43.00	6.00	87.00>55.00	8.00	87.00>27.10	22.00	11.096
8	C14:0	74.00>43.10	7.00	87.00>55.10	9.00	74.00>31.10	10.00	11.930
9	C14:1	74.00>43.10	6.00	55.00>29.10	8.00	55.00>27.10	20.00	12.426
10	C15:0	74.00>43.10	7.00	87.00>55.10	11.00	87.00>27.10	26.00	12.986
11	C15:1	69.00>41.10	10.00	55.00>29.10	10.00	55.00>27.10	20.00	13.631
12	C16:0	74.00>43.10	7.00	87.00>55.00	10.00	87.00>27.10	22.00	14.344
13	C16:1	69.00>41.10	7.00	55.00>29.10	9.00	55.00>27.20	18.00	14.987
14	C17:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.00	11.00	87.00>27.10	22.00	16.113
15	C17:1	69.00>41.00	9.00	55.00>29.10	9.00	55.00>27.00	23.00	16.954
16	C18:0	74.00>43.00	8.00	87.00>55.10	10.00	87.00>27.10	21.00	18.423
17	C18:1n9t	69.00>41.10	9.00	55.00>29.10	10.00	55.00>27.10	22.00	18.935
18	C18:1n9c	69.00>41.10	8.00	55.00>29.10	9.00	55.00>27.10	23.00	19.292
19	C18:2n6t	67.00>41.00	12.00	81.00>79.10	9.00	81.00>41.00	16.00	19.861
20	C18:2n6c	67.00>41.10	14.00	81.00>79.10	9.00	81.00>41.10	14.00	20.615
21	C18:3n6	79.00>77.00	14.00	79.00>51.00	23.00	80.00>77.00	19.00	21.350
22	C18:3n3	79.00>77.00	12.00	93.00>77.10	13.00	79.00>51.10	23.00	22.070
23	C20:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.00	11.00	87.00>27.10	22.00	23.198
24	C20:1	69.00>41.10	8.00	55.00>29.00	8.00	55.00>27.00	23.00	24.002
25	C20:2	67.00>41.10	11.00	81.00>41.10	18.00	81.00>79.10	9.00	25.464
26	C21:0	74.00>43.10	7.00	87.00>55.10	9.00	87.00>27.10	23.00	25.778
27	C20:3n6	79.00>77.10	13.00	67.00>41.10	14.00	79.00>51.10	23.00	26.390
28	C20:4n6	79.00>77.10	12.00	91.00>65.10	15.00	79.00>51.10	22.00	27.010
29	C20:3n3	79.00>77.10	13.00	67.00>41.10	12.00	79.00>51.00	22.00	27.354
30	C22:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.00	11.00	87.00>27.00	24.00	28.700
31	C20:5n3	79.00>77.10	12.00	91.00>65.10	15.00	79.00>51.10	22.00	29.067
32	C22:1n9	69.00>41.00	9.00	55.00>29.00	9.00	55.00>27.00	19.00	29.789
33	C22:2	67.00>41.00	14.00	81.00>41.00	16.00	81.00>79.10	7.00	31.776
34	C23:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.00	10.00	87.00>27.10	24.00	32.095
35	C22:4	79.00>77.00	13.00	79.00>51.00	22.00	80.00>77.00	20.00	34.208
36	C22:5n6	79.00>77.00	11.00	91.00>65.00	15.00	79.00>51.00	22.00	34.901
37	C24:0	74.00>43.00	7.00	87.00>55.00	9.00	87.00>27.00	22.00	36.111
38	C22:5n3	79.00>77.00	12.00	79.00>51.10	24.00	91.00>65.10	16.00	37.167
39	C24:1	69.00>41.10	11.00	69.00>39.10	21.00	55.00>29.10	10.00	37.720
40	C22:6n3	79.00>77.00	13.00	91.00>65.00	15.00	79.00>51.10	25.00	37.983

2.3.1 氢氧化钾-甲醇溶液条件的选择

参照国标方法配制 2 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液,以异辛烷为溶剂配制 10 μg/mL 的脂肪酸标准溶液分别加入 100、200、300、400、500 μL

2 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液,涡旋振荡 30 s,加入 4 mL 14% 的三氟化硼-甲醇溶液涡旋振荡 20 min,停止反应发现异辛烷层浑浊,取上清加入 1 g 无水硫酸钠,剧烈震荡后溶液变澄清,取

澄清液进行分析, 结果见图 2。结果显示, 当加入 100 μL 和 200 μL 氢氧化钾-甲醇溶液时部分低碳数饱和脂肪酸峰面积较小, 加入 400 μL 和 500 μL 氢氧化钾-甲醇溶液时部分高碳数脂肪酸峰面积在减小, 唯有 300 μL 时能满足大多数脂肪酸高峰面积响应需求。因此实验确定加入 300 μL 2 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液。

2.3.2 三氟化硼-甲醇溶液条件的选择

参照 2.3.1 实验条件, 在加入 300 μL 2 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液涡旋振荡 30 s 后, 分别加入 0.5、1、2、3、4、5 mL 14% 的三氟化硼-甲醇溶液进行反应, 经色谱分析后结果见图 3。结果表明加入 0.5 mL 三氟化硼-甲醇溶液时, 脂肪酸峰

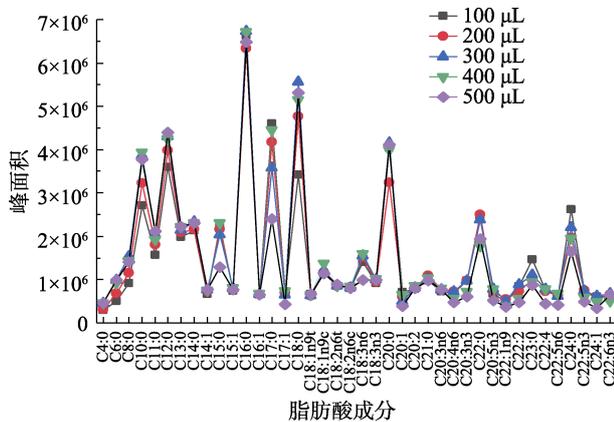


图 2 加入不同体积氢氧化钾-甲醇溶液后 40 种脂肪酸甲酯的峰面积

Fig.2 The peak areas of 40 kinds of fatty acid methyl esters under different volume of potassium hydroxide-methanol solution

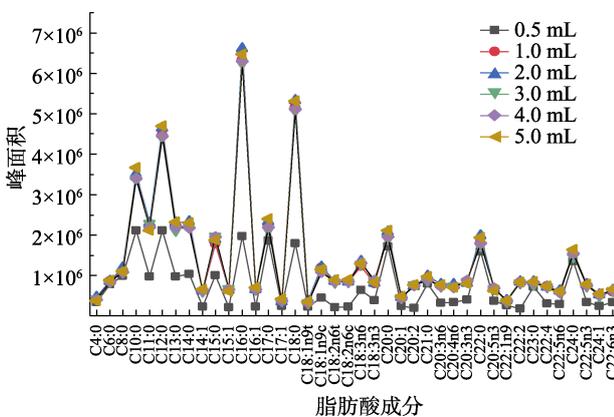


图 3 加入不同体积三氟化硼-甲醇溶液后 40 种脂肪酸甲酯的峰面积

Fig.3 The peak areas of 40 kinds of fatty acid methyl esters under different volume of boron trifluoride-methanol solution

面积较小, 加入 1~5 mL 三氟化硼-甲醇溶液后脂肪酸峰面积影响较小, 鉴于三氟化硼有毒, 会污染环境, 同时为了保证实际样品脂肪酸甲酯化反应完全, 实验确定选取 2 mL 三氟化硼-甲醇溶液进行甲酯化反应。

2.3.3 甲酯化反应时间的选择

一般酸催化甲酯化需要加热至高温, 使前处理操作复杂化, 为简化操作流程, 本实验探索了室温环境下的酸碱甲酯化反应时间条件。在加入三氟化硼-甲醇溶液后分别涡旋振荡 3、5、10、15、20、25 min 完成反应并进行色谱分析, 结果见图 4。结果显示在 15 min 内, 随着甲酯化反应时间的延长, 40 种脂肪酸的峰面积都在增大, 15 min 后脂肪酸峰面积基本变化很小。为提高实验效率, 研究确定甲酯化反应时间为 15 min。实验还对加入无水硫酸钠的量进行了优化, 结果表明无水硫酸钠的加入量对结果不产生影响, 为了避免微量水带入影响色谱柱柱效, 加入 1g 无水硫酸钠进行除水。通过以上实验确定了脂肪酸甲酯化反应条件, 加入 300 μL 2 mol/L 的氢氧化钾-甲醇溶液, 震荡 30 s, 加入 2 mL 14% 的三氟化硼-甲醇溶液继续震荡 15 min, 静置 1 min 后取上清液于另一玻璃试管, 加入 1 g 无水硫酸钠剧烈震荡 30 s, 取上清溶液于进样小瓶供仪器分析。

2.3.4 样品前处理条件

称取莪面样品约 0.100 0 g 于 15 mL 具塞比色管中, 加入异辛烷 10 mL, 摇匀, 其余步骤参照脂肪酸标准甲酯化反应条件进行。通过脂肪酸标

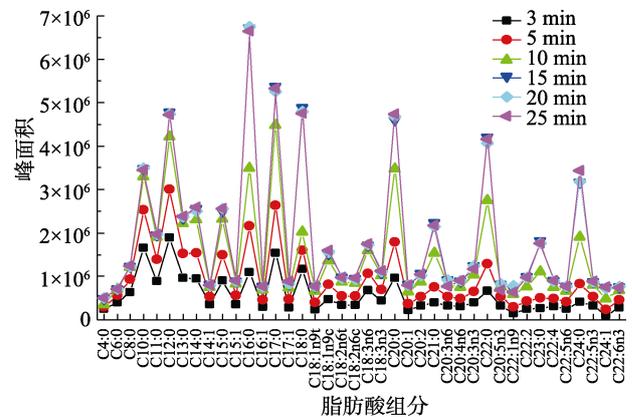
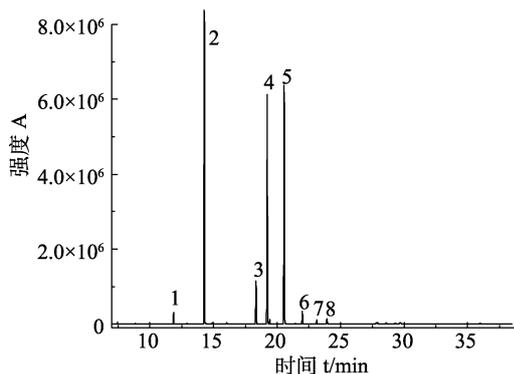


图 4 不同反应时间下 40 种脂肪酸甲酯的峰面积

Fig.4 The peak areas of 40 kinds of fatty acid methyl esters under different reaction times



注: 1. C14:0; 2. C16:0; 3. C18:0; 4. C18:1n9c; 5. C18:2n6c; 6. C18:3n3; 7. C20:0; 8. C20:1。

图 5 莜面样品中脂肪酸成分 MRM 色谱图

Fig.5 MRM chromatogram of fatty acids in oat flour samples

准品和样品的同步甲酯化步骤, 避免了脂肪酸甲酯转化系数的折算, 通过甲酯化标准曲线可以直接得出脂肪酸含量。

2.4 线性范围及检出限和定量限

配制 40 种脂肪酸混标系列溶液, 浓度分别为 0.4、0.8、1.6、4、10、20、40、80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 采用

标准优化方法进行脂肪酸标准的甲酯化反应, MRM 模式扫描。以浓度与对应定量离子色谱峰的峰面积绘制标准工作曲线, 结果表明 40 种脂肪酸标准在 0.4~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内有良好的线性关系, 相关系数 (R) 均达 0.999 7 以上, 结果见表 2。以 3 倍信噪比计算方法的检出限, 10 倍信噪比计算方法的定量限, 进行实验验证, 得到 C18:1n9t、C20:2、C22:2、C22:5n3、C24:1、C22:6n3, 6 种脂肪酸检出限为 0.001 $\text{g}/100 \text{g}$, 定量限为 0.003 $\text{g}/100 \text{g}$, 其余 34 种脂肪酸检出限为 0.000 2 $\text{g}/100 \text{g}$, 定量限为 0.000 6 $\text{g}/100 \text{g}$ 。相比国标法定量限更低, 表明该方法具有更高的灵敏度。

2.5 加标回收率和精密度实验

为了验证该方法的准确性, 实验选取了一份市售莜面作为本底进行低、中、高 3 个浓度水平的加标回收率测定, C10:0、C12:0、C16:0、C17:0、C18:0、C18:1n9c、C18:3n6、C20:0、C22:0、C24:0,

表 2 40 种脂肪酸甲酯的线性回归方程、相关系数、定量限

Table 2 Linear equations, correlation coefficients, quantitative limit of 40 kinds of fatty acid methyl esters

化合物	回归方程	相关系数 r	定量限/($\text{g}/100 \text{g}$)		化合物	回归方程	相关系数 r	定量限/($\text{g}/100 \text{g}$)	
			本方法	国标法				本方法	国标法
C4:0	$Y = 47\ 781.96X + 37\ 517.72$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C18:3n6	$Y = 123\ 494.4X - 30\ 906.26$	0.999 9	0.000 6	0.006 6
C6:0	$Y = 134\ 282.0X + 15\ 020.99$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C18:3n3	$Y = 15\ 032.0X - 13\ 873.48$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C8:0	$Y = 226\ 905.3X + 15\ 821.24$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:0	$Y = 421\ 598.8X - 131\ 968.2$	0.999 7	0.000 6	0.006 6
C10:0	$Y = 315\ 102.6X - 12\ 322.77$	0.999 8	0.000 6	0.006 6	C20:1	$Y = 109\ 802.2X + 1\ 603.562$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C11:0	$Y = 335\ 353.9X - 25\ 979.17$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:2	$Y = 85\ 062.89X - 631.330\ 2$	0.999 9	0.003 0	0.003 3
C12:0	$Y = 390\ 033.1X - 34\ 204.41$	0.999 8	0.000 6	0.006 6	C21:0	$Y = 380\ 981.4X - 55\ 455.48$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C13:0	$Y = 395\ 993.0X - 45\ 920.96$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:3n6	$Y = 131\ 002.2X - 7\ 501.676$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C14:0	$Y = 435\ 344.4X - 41\ 170.8$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:4n6	$Y = 129\ 495.9X - 2\ 918.555$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C14:1	$Y = 84\ 991.53X - 6\ 167.913$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:3n3	$Y = 169\ 101.7X - 22\ 836.32$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C15:0	$Y = 452\ 502.5X - 45\ 464.78$	0.999 8	0.000 6	0.003 3	C22:0	$Y = 365\ 305.4X - 96\ 431.41$	0.999 8	0.000 6	0.006 6
C15:1	$Y = 81\ 432.24X - 2\ 663.063$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C20:5n3	$Y = 132\ 359.8X - 15\ 485.8$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C16:0	$Y = 468\ 858.6X + 93\ 514.96$	0.999 7	0.000 6	0.006 6	C22:1n9	$Y = 116\ 608.6X - 5\ 750.596$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C16:1	$Y = 92\ 003.15X - 4\ 339.921$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C22:2	$Y = 85\ 094.82X - 8\ 839.335$	0.999 9	0.003 0	0.003 3
C17:0	$Y = 464\ 351.8X - 160\ 494.1$	0.999 7	0.000 6	0.006 6	C23:0	$Y = 315\ 781.3X - 74\ 981.62$	0.999 9	0.000 6	0.003 3
C17:1	$Y = 103\ 492.1X - 7\ 362.93$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C22:4	$Y = 130\ 177.5X - 8\ 419.059$	0.999 9	0.000 6	—
C18:0	$Y = 442\ 852.0X + 12\ 912.57$	0.999 7	0.000 6	0.006 6	C22:5n6	$Y = 115\ 350.3X - 13\ 708.28$	0.999 9	0.000 6	—
C18:1n9t	$Y = 100\ 648.6X - 14\ 158.27$	0.999 9	0.003 0	0.003 3	C24:0	$Y = 291\ 947.8X - 137\ 818.0$	0.999 8	0.000 6	0.006 6
C18:1n9c	$Y = 100\ 371.9X - 27\ 246.1$	0.999 9	0.000 6	0.006 6	C22:5n3	$Y = 131\ 216.3X - 5\ 529.891$	0.999 9	0.003 0	—
C18:2n6t	$Y = 91\ 796.92X - 16\ 712.85$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C24:1	$Y = 102\ 417.3X - 22\ 824.39$	0.999 9	0.003 0	0.003 3
C18:2n6c	$Y = 89\ 202.89X - 12\ 567.14$	0.999 9	0.000 6	0.003 3	C22:6n3	$Y = 122\ 055.4X - 23\ 376.34$	0.999 9	0.003 0	0.003 3

注: “—” 表示国标中未包含的脂肪酸组分。

Note: “—” means fatty acid components not included in the national standard.

10 种脂肪酸添加水平分别为 0.010、0.050、0.100 g/100 g，其余 30 种脂肪酸添加水平分别为 0.005、0.025、0.050 g/100 g，用实验优化条件，样品同时平行测定 6 次。莜面本底样品脂肪酸成分 MRM 扫描结果如图 5，结果显示 C16:0、C18:1n9c、C18:2n6c 3 种脂肪酸响应特别高，无法进行加标实验结果评估，实验选用其余 37 种脂肪酸进行加标回收实验评估，检测结果见表 3。分析数据表明，脂肪酸标准在 3 个浓度添加水平

下的加标回收结果为 86.8%~107.3%，相对标准偏差 RSD 为 0.9%~5.2%。表明该方法具有良好的精密度和准确度，能满足实验分析要求。

2.6 实际样品检测

在本地 4 个不同超市分别购买 4 个批次莜面样品，采用本研究建立的方法对莜面中脂肪酸进行实际样品检测。每份样品进行 2 个平行样测定，检测平均值结果见表 4。结果显示，使用该方法检测莜面中脂肪酸，最多检测到 13 种脂肪酸，总

表 3 莜面样品中脂肪酸加标回收率结果和相对标准偏差 (n=6)

Table 3 Results of recovery and relative standard deviations of fatty acids in oat flour samples (n=6) %

化合物	低浓度加标		中浓度加标		高浓度加标		化合物	低浓度加标		中浓度加标		高浓度加标	
	回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD		回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD
C4:0	101.3	4.7	106.4	5.1	93.1	4.2	C20:0	104.6	4.8	103.5	4.4	94.3	1.7
C6:0	106.4	2.4	98.2	3.0	102.1	3.6	C20:1	100.3	3.4	103.1	3.3	97.3	0.9
C8:0	107.1	3.9	101.1	3.4	92.6	4.1	C20:2	95.7	2.4	100.9	1.6	104.8	3.7
C10:0	94.6	4.4	104.3	2.2	88.7	1.8	C21:0	102.4	4.2	99.3	2.6	96.4	1.2
C11:0	104.0	1.6	98.4	1.6	89.9	1.4	C20:3n6	97.6	1.6	94.7	1.4	101.8	2.7
C12:0	97.5	2.8	99.6	2.7	102.2	1.0	C20:4n6	94.8	3.7	104.2	4.3	100.6	1.9
C13:0	106.2	5.0	103.4	2.4	106.2	2.7	C20:3n3	103.5	2.1	102.9	2.1	92.1	0.9
C14:0	92.4	4.6	105.7	3.7	97.4	3.5	C22:0	92.7	4.3	89.7	2.0	100.6	1.4
C14:1	89.9	3.6	88.6	3.1	104.0	3.1	C20:5n3	107.3	1.8	95.1	1.7	92.3	2.7
C15:0	91.5	4.0	94.3	2.9	101.5	3.8	C22:1n9	88.4	2.2	97.5	3.4	103.8	2.2
C15:1	99.7	2.1	99.2	1.2	91.1	2.6	C22:2	94.3	5.2	98.1	2.8	98.9	1.9
C16:1	105.7	1.6	103.7	1.1	90.2	2.5	C23:0	97.9	3.8	103.7	4.6	105.3	3.4
C17:0	89.9	2.4	88.4	2.3	104.5	3.9	C22:4	86.8	4.4	100.2	1.6	104.6	2.8
C17:1	94.6	2.6	95.1	4.4	100.7	4.0	C22:5n6	96.7	3.4	93.5	2.8	99.3	2.0
C18:0	90.4	4.3	104.9	3.9	94.3	3.1	C24:0	89.0	5.0	98.8	1.4	104.1	2.1
C18:1n9t	101.2	4.8	98.7	3.7	103.9	2.7	C22:5n3	100.6	4.7	89.4	3.9	100.4	3.7
C18:2n6t	104.7	1.8	106.7	4.6	87.2	1.5	C24:1	104.5	4.4	100.5	4.7	87.4	2.2
C18:3n6	99.8	2.0	94.4	2.2	96.4	2.7	C22:6n3	106.1	5.1	104.8	2.5	91.7	1.7
C18:3n3	93.7	3.7	93.5	2.6	97.2	1.9	/	/	/	/	/	/	

表 4 4 份莜面样品脂肪酸检测结果 (n=2)

Table 4 Fatty acid content of 4 oat flour samples (n=2)

化合物	样品 1/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 2/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 3/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 4/ (g/100 g)	相对偏差/%
C14:0	0.020 5	1.6	0.025 1	2.3	0.013 4	1.7	0.042 7	2.4
C16:0	1.21	1.1	1.71	1.7	1.51	0.97	1.16	1.5
C17:0	0.004 16	4.3	0.003 48	5.0	0.005 84	3.7	—	5.4
C18:0	0.122	1.4	0.076 2	2.5	0.098 4	3.2	0.084 2	1.8
C20:0	0.012 1	2.5	0.011 7	2.9	0.015 6	0.92	0.011 3	3.2
C24:0	0.013 9	2.2	0.007 46	3.5	0.009 34	4.8	0.015 2	2.1

续表 4

化合物	样品 1/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 2/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 3/ (g/100 g)	相对偏差/%	样品 4/ (g/100 g)	相对偏差/%
C16:1	0.012 4	1.9	0.007 64	4.1	0.010 4	2.6	0.013 9	1.8
C18:1n9c	2.57	0.94	2.84	1.3	2.39	1.1	2.61	0.74
C20:1	0.051 6	1.6	0.023	2.6	0.044 1	3.6	0.037 4	2.2
C22:1n9	0.011 4	2.7	—	/	0.008 01	3.3	0.094 7	4.1
C24:1	—	/	0.003 97	5.1	0.004 59	3.7	0.007 42	4.8
C18:2n6c	2.34	0.72	1.57	0.54	2.13	1.6	1.64	0.82
C18:3n3	0.077 2	3.5	0.084 2	2.9	0.056 1	4.4	0.079 2	3.2
总量	6.29	/	6.36	/	6.04	/	5.80	/

注：“—”代表未检出。

Note: “—” means not detected.

含量达到 5.8% 以上, 其中占比较大的有 3 种脂肪酸, 分别为 C16:0、C18:1n9c、C18:2n6c, 达到总脂肪酸含量的 90% 以上。两组平行数据相对偏差均小于 5.4%, 满足平行实验对检测数据的要求。

3 结论

本研究采用三重四级杆气质联用仪多反应监测模式建立了莜面中脂肪酸的检测方法, 通过 DB-FastFAME 色谱柱, 40 种脂肪酸甲酯在 38 min 内实现完全分离。对脂肪酸标准品直接甲酯化条件及样品前处理方法进行了优化, 使用直接衍生标准曲线避免了脂肪酸甲酯转化系数之间的转换计算, 样品前处理相比国标方法, 简化了复杂繁琐的操作, 减少了乙醚、石油醚、正庚烷等有机试剂的大量使用, 更环保。采用本研究建立的方法对 4 份莜面样品中脂肪酸行了实际样品检测, 检测效果良好。该法适用性强, 前处理操作简单, 有良好的线性关系, 准确度和精密度好, 灵敏度高。本方法的建立为后续研究我国莜面主产区脂肪酸组成成分和含量差异性提供了技术支持, 有助于提高莜面品质和营养价值, 促进我国莜面产业发展。

参考文献:

- [1] 党维思. 浅谈莜面的种植技术与病虫害防治[J]. 农技服务, 2017, 34(20): 12-13.
DANG W S. Discussion on oat flour planting technology and pest control[J]. Agricultural Technology Services, 2017, 34(20): 12-13.
- [2] 王翊同, 邹其, 李子熠, 等. 基于决策树的莜面近红外光谱定性分析研究[J]. 河北建筑工程学院学报, 2022, 40(4): 170-175.
WANG Y T, ZOU Q, LI Z Y, et al. Qualitative analysis of naked oats near infrared spectroscopy based on decision tree[J]. Journal of Hebei Institute of Architecture and Civil Engineering, 2022, 40(4): 170-175.
- [3] KAZUO Y. Fatty acids act on vascular endothelial cells and influence the development of cardiovascular disease[J]. Prostag Oth Lipid M, 2023, 165: 106704-106704.
- [4] ZHOU L, XIONG J Y, CHAI Y Q, et al. Possible antidepressant mechanisms of omega-3 polyunsaturated fatty acids acting on the central nervous system[J]. Front Psychol, 2022, 13: 933704-933704.
- [5] 李娜, 李智立. 基于质谱技术的脂肪酸定量分析及其与慢性疾病关系的研究进展[J]. 分析测试学报, 2020, 39(3): 423-426.
LI N, LI Z L. Research progress on quantitative analysis of fatty acids by mass spectrometry and their relationships with chronic diseases[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2020, 39(3): 423-426.
- [6] KSHITIZ P, LENKA K, KATERINA P, et al. Lipid content and fatty acid profile of various European and Canadian hulled and naked oat genotypes[J]. J Cereal SCI, 2022, 108: 103580-103582.
- [7] 刘念, 姜鹏, 阮长青, 等. 杂粮脂肪酸组成与加工方式对其影响研究进展[J]. 中国粮油学报, 2023, 38 (9): 257-266.
LIU N, JIANG P, RUAN C Q, et al. Research progress of fatty acids ingredients and their processing influences in coarse grains [J]. J Chin Cereals Oils Assoc, 2023, 38 (9): 257-266.
- [8] 王会锋, 冯书惠, 周其芳, 等. 基于气相色谱-质谱联用技术测定脂肪酸的方法研究进展[J]. 农产品质量与安全, 2022, (3): 43-49.
WANG H F, FENG S H, ZHOU Q F, et al. Research progress of

determination of fatty acids based on gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Quality and Safety of Agro-products*, 2022(3): 43-49.

- [9] 王儒珍, 陆燕, 曹建平, 等. 基于 GC 和 GC-MS 技术检测果酒中的脂肪酸[J]. *现代食品科技*, 2018, 34(7): 266-272.

WANG R Z, LU Y, CAO J P, et al. Determination of fatty acids in fruit wine by GC and GC-MS technologies[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(7): 266-272.

- [10] 胡昆, 张成龙, 王迪, 等. 气相色谱及其质谱联用技术定量检测脂肪酸的研究进展[J]. *中国人民公安大学学报(自然科学版)*, 2023, 29(1): 46-54.

HU K, ZHANG C L, WANG D, et al. Research progress in quantitative determination of fatty acids by gas chromatography and gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of People's Public Security University of China (Science and Technology)*, 2023, 29(1): 46-54.

- [11] 杨明, 邵鹏, 赵建业, 等. GC-MS 双内标法测定植物油中脂肪酸组成[J]. *分析实验室*, 2018, 37(7): 801-808.

YANG M, SHAO P, ZHAO J Y, et al. Determination of fatty acids in plant oils using GC-MS with dual-internal standard method[J]. *Chin J Anal Lab*, 2018, 37(7): 801-808.

- [12] 黄炯丽, 谭玉莹, 汤星月, 等. 乌榄仁油的理化性质与脂肪酸组成分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(13): 5418-5423.

HUANG J L, TAN Y Y, TANG X Y, et al. Analysis of physicochemical property and fatty acid composition of kernel oil of *Canarium pimela* Leenh[J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(13): 5418-5423.

- [13] 李亚南, 葛国琴, 陈江琳, 等. 不同省份花椒的脂肪酸组成及相似性分析[J]. *食品研究与开发*, 2023, 44(16): 167-176.

LI Y N, GE G Q, CHEN J L, et al. Fatty acid composition and similarity analysis of *zanthoxylum bungeanum* from different Chinese provinces[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(16): 167-176.

- [14] 曹洁, 陈卫栋, 薛斌. 植物油中脂肪酸甲酯合成方法及应用[J]. *粮食与油脂*, 2014, 27(3): 26-28.

CAO J, CHEN W D, XUE B. Methods and application of vegetable oils fatty acid ethyl ester(FAME)[J]. *Cereals & Oils*, 2014, 27(3): 26-28. 

备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。