

# 气相色谱-质谱法测定混合脂肪酸钠盐中脂肪酸的组成

李 英, 杨左军, 张伟亚, 王成云, 刘 丽

(深圳出入境检验检疫局, 广东 深圳 518045)

**摘要:** 将混合脂肪酸钠酸化后, 选用硫酸-甲醇法甲酯化, 以 DB-WAX 毛细管柱为分离柱, 用电子轰击电离源质谱计 (EM S), 快速测定实际样品和标准样品混合脂肪酸钠中脂肪酸的组成。用峰面积归一化计算各种脂肪酸的相对含量, 相对标准偏差  $s_r < \pm 5\%$ 。方法简单、准确和可靠。

**关键词:** 质谱学; 脂肪酸的组成测定; 气相色谱-质谱法 (GC/MS); 酸化

**中图分类号:** O 657. 63; O 623. 61 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2003)02-351-05

混合脂肪酸钠盐是多种脂肪酸钠盐的混合物, 进口量较大, 其主要用途是用于制造肥皂、合成洗涤剂、润滑剂和化妆品等<sup>[1]</sup>。而样品中脂肪酸组成的不同, 海关归类会有很大的差别<sup>[2]</sup>。因此, 必须建立一种检测方法来确定混合脂肪酸钠盐中脂肪酸的组成, 为海关归类提供一个重要的依据。目前, 测定脂肪酸组成的常用方法是将脂肪酸通过微波溶解或三氟化硼催化进行甲酯化后进行色谱分析<sup>[3,4]</sup>。本工作拟用酸化处理, 将混合脂肪酸钠直接完全转化成游离酸后, 进行气相色谱-质谱 (GC/MS) 测定。

## 1 实验部分

### 1.1 主要仪器

Varian STAR 3400 Cx-Saturn 4D 气相色谱-质谱联用仪; Saturn GC/MS Version 5.2 工作站; XW-80A 旋涡混合器。

### 1.2 主要试剂

甲醇、正己烷、甲苯、乙醚、 $H_2SO_4$ 、KOH: 均为分析纯试剂, 广州化学试剂厂提供; 庚酸甲酯 (纯度 98.0%)、月桂酸甲酯 (纯度 99.0%)、肉

豆蔻酸甲酯 (纯度 99.5%)、花生酸甲酯、硬脂酸甲酯 (纯度 97.9%): 均由 Chem Service 公司提供; 棕榈酸甲酯 (纯度 98%): 北京化工厂提供; 十一酸甲酯 (纯度 97%): 上海试剂一厂提供; 十九酸甲酯 (纯度 99.5%)、亚麻酸甲酯 (纯度 99%)、亚油酸甲酯 (纯度 99%): Fluka 公司提供; 油酸甲酯 (纯度 96%): Merck 公司提供; 月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸: 均由上海同济大学提供; 十九酸、花生酸: 均由上海试剂一厂提供; 硬脂酸、亚麻酸、亚油酸、油酸: 均由 Fluka 公司提供。未标纯度的试剂均为色谱纯试剂。

### 1.3 色谱和质谱条件

#### (1) 色谱条件

色谱柱: DB-WAX 石英毛细管柱 (30 m  $\times$  0.32 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m); 进样口温度 220  $^{\circ}$ C; 柱温: 程序升温, 初温 60  $^{\circ}$ C, 保持 5 min, 然后以 20  $^{\circ}$ C/min 升至 160  $^{\circ}$ C, 恒温 5 min, 再以 10  $^{\circ}$ C/min 升至 220  $^{\circ}$ C, 保持 7 min; 载气: 高纯氦气 (纯度 99.999%), 流速 1.0 mL/min。采用分流进样, 分流比为 40:1, 进样量 1  $\mu$ L。

#### (2) 质谱条件

收稿日期: 2002-11-15

作者简介: 李英 (1968~), 女 (汉族), 湖南益阳人, 高级工程师, 质谱分析专业

E-mail: zqzly@163.net



连接管温度 220 ; 电子电离(EI)离子源: 温度 200 ; 质量扫描范围:  $m/z$  40~ 450; 溶剂延迟: 3.00 min.

#### 1.4 标准溶液的配制

分别准确称取一定量的 11 种脂肪酸甲酯标准品, 用甲醇溶解, 定容至 50 mL, 配制标准储备液, 然后将标准储备液逐步稀释至所需的浓度。

#### 1.5 样品前处理

取适量样品于 100 mL 锥形瓶中, 加入热蒸馏水 30 mL, 置于水浴上加热溶解, 加 3 mol/L 硫酸, 使溶液呈酸性(以甲基橙作指示剂), 冷却至室温, 脂肪酸则浮于水面上, 抽滤漏斗抽滤后, 用水洗涤 3 次。

称取洗净的脂肪酸约 0.1 g, 置于 10 mL 比色管中, 加入 3 mL 甲醇, 混匀, 溶解, 滴加浓

硫酸 5~ 8 滴, 混匀后, 放置约 10 min, 加入 3 mL 蒸馏水, 4 mL 乙醚, 在旋涡混合器上混匀, 萃取, 静置分层 1 min, 取上层有机相, 用 GC/MS 进行分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 色谱柱的选择

本工作采用极性较弱的 PTE™-5 石英毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)对混合脂肪酸酯标准溶液进行分析, 结果发现 C<sub>18:1</sub>、C<sub>18:2</sub>、C<sub>18:3</sub> 三个峰不能完全分开。改用极性较强的 DB-WAX 石英毛细管柱后, 获得了较满意的结果, 因此采用 DB-WAX 毛细管柱来进行分析。11 种脂肪酸甲酯混合标准溶液的总离子流色谱图示于图 1。

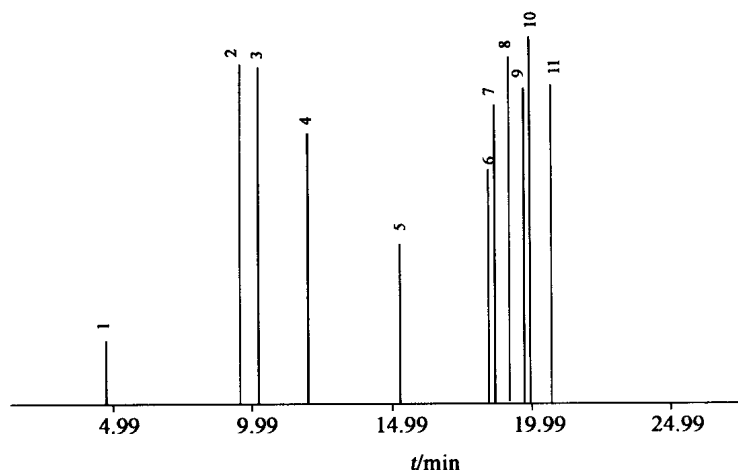


图 1 11 种脂肪酸甲酯混合标准溶液的总离子流色谱图

1——庚酸甲酯; 2——十一酸甲酯; 3——月桂酸甲酯; 4——肉豆蔻酸甲酯; 5——棕榈酸甲酯; 6——硬脂酸甲酯; 7——油酸甲酯; 8——亚油酸甲酯; 9——十九酸甲酯; 10——亚麻酸甲酯; 11——花生酸甲酯

Fig 1 TIC of the mixture standard solution of eleven kinds of fatty acid methyl ester

1——Methyl heptanoate; 2——Methyl n-undecanate; 3——Methyl laurate; 4——Methyl myristate; 5——Palmic acid, methyl ester; 6——Methyl stearate; 7——Methyl oleate; 8——Methyl linonilate; 9——Nonadecanoic acid, methyl ester; 10——Methyl linolenate; 11——Methyl eicosanoate

### 2.2 酸化

样品前处理的第一步就是将混合脂肪酸钠盐通过酸化转变为脂肪酸。以单体形式存在时, 羧酸中的羰基伸缩振动吸收频率为  $1760\text{ cm}^{-1}$ 。在羧酸中, 羟基直接连接在羰基上, 由于诱导效应, 羟基表现出很强的极性, 不同分子的羰基与羟基之间产生较强的氢键, 因而, 羧酸通常以环状二聚体的形式存在, 也可以链状多聚体的形式存在。因此, 羧酸伸缩振动吸收频率向低频方向

移动至  $1725\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 。羧酸离解或成盐时形成  $\text{-COO}^-$  基团, 这两个氧原子几乎是相等的, 原来  $\text{C=O}$  键的双键特性降低, 吸收向低频位移至  $1610\sim 1550\text{ cm}^{-1}$ 。饱和脂肪酸金属盐中, 羧酸羰基伸缩振动吸收峰的准确位置和形状还与阳离子密切相关。正因为如此, 根据羰基红外吸收峰的位置, 就可以区分羧酸和羧酸盐。混合脂肪酸钠盐及酸处理后的产物的红外光谱(IR)谱图分别示于图 2a、图 2b。图 2a 中在  $1560\text{ cm}^{-1}$

处有较强的羰基振动吸收, 图 2b 中在  $1\ 710\ \text{cm}^{-1}$  处有强羰基振动吸收, 而在  $1\ 560\ \text{cm}^{-1}$  处却

无任何吸收。这充分说明, 羧酸钠经酸处理后已完全转化成了羧酸。

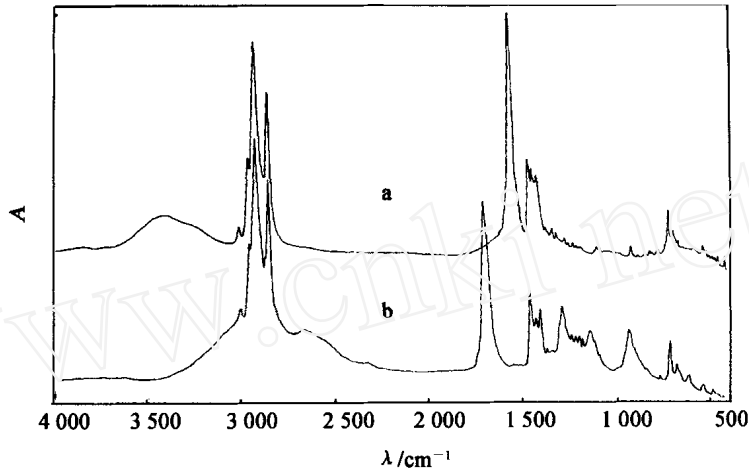


图 2 混合脂肪酸钠盐和混合脂肪酸的 IR 图

a——混合脂肪酸钠盐; b——混合脂肪酸

Fig 2 IR spectra of mixture of aliphatic sodium and mixture of aliphatic acid

a——mixture of aliphatic salts; b——mixture of fatty acids

### 2.3 不同前处理方法的比较

#### (1) 氢氧化钾-甲醇法

称取  $0.1\ \text{g}$  左右的样品, 加入  $3\ \text{mL}$  正己烷, 混匀后再加入  $2\ \text{mL}$  浓度为  $1.0\ \text{mol/L}$  的 KOH 甲醇溶液, 在旋涡混匀器上混匀  $2\ \text{min}$ , 静置  $5\ \text{min}$ , 将上层清液转移至  $10\ \text{mL}$  容量瓶中, 用正己烷洗涤, 洗涤液合并至  $10\ \text{mL}$  容量瓶中, 并用正己烷定容。

#### (2) 硫酸-甲醇法

称取约  $0.1\ \text{g}$  样品, 加入  $3\ \text{mL}$  甲醇溶解, 加浓硫酸  $5\sim 8$  滴, 充分摇匀后, 放置约  $10\ \text{min}$ , 加入  $3\ \text{mL}$  蒸馏水  $4\ \text{mL}$  乙醚, 在旋涡混匀器上混匀, 萃取, 静置分层  $1\ \text{min}$ , 将上层清液转移至  $10\ \text{mL}$  容量瓶中, 用乙醚洗涤多次, 洗涤液合并至  $10\ \text{mL}$  容量瓶中并定容。

#### (3) 硫酸-甲苯-甲醇法

称取约  $0.1\ \text{g}$  样品, 加入  $3\ \text{mL}$  硫酸-甲苯-甲醇 ( $V(\text{硫酸}) : V(\text{甲苯}) : V(\text{甲醇}) = 1 : 10 : 20$ ) 溶液, 其它步骤同 2.3(1)。

样品用上述三个方法进行前处理后, 按 1.3 中分析条件进行 GC/MS 测定发现: 用氢氧化钾-甲醇法处理的样品酯化相当不完全, 这是因为有些游离脂肪酸(如硬脂酸)在  $90\sim 100\ ^\circ\text{C}$  下逐

渐挥发<sup>[5]</sup>, 因此样品不能烘干而含有较多的水分, 其酰基甘油在碱性条件下发生皂化作用, 使脂肪酸的羧基全部处于解离状态或成为负离子而不能与醇发生反应。用硫酸-甲醇法和硫酸-甲苯-甲醇法处理后的样品, 采用峰面积归一化计算各组分的相对含量, 测量结果列于表 1。测量结果表明这两种前处理方法所得到的各组分的峰面积及相对含量基本一致。但由于甲苯的毒性较大, 污染严重, 因此采用硫酸-甲醇法来作为前处理方法。

### 2.4 酯化方法准确性

准确称取一定量的十一烷酸、十二烷酸、十四烷酸、十六烷酸、十八烷酸、十八烯酸 ( $\text{C}_{18:1}$ 、 $\text{C}_{18:2}$ 、 $\text{C}_{18:3}$ )、花生酸用甲醇配制成一定浓度的混合脂肪酸溶液, 取  $2\ \text{mL}$  该溶液按 1.5 中样品前处理方法进行前处理, 再进行 GC/MS 测定, 利用峰面积归一化计算出各脂肪酸甲酯的相对含量, 与实际配制的脂肪酸溶液的相对含量之间的相对误差均小于  $\pm 5\%$ , 从而进一步证明了该酯化方法的准确性。

### 2.5 实际样品的检测

利用上述选用的前处理方法, 对 5 种实际样品进行检测, 结果列于表 2。

表 1 硫酸-甲醇法与硫酸-甲苯-甲醇法结果比较

Table 1 Comparison between  $H_2SO_4$ - $CH_3OH$  derivatization and  $H_2SO_4$ -Toluene- $CH_3OH$  derivatization

脂肪酸 (Fatty acid)	硫酸-甲醇法 ( $H_2SO_4$ - $CH_3OH$ )		硫酸-甲苯-甲醇法 ( $H_2SO_4$ -Toluene- $CH_3OH$ )	
	峰面积 (Peak square)	相对含量/% (Relative content)	峰面积 (Peak square)	相对含量/% (Relative content)
C12: 0	2 038 761	5.31	1 970 292	5.06
C14: 0	1 811 515	3.82	1 778 805	3.70
C16: 0	32 279 198	46.41	32 885 571	46.53
C18: 0	3 939 678	5.35	4 065 645	5.44
C18: 1	26 205 346	30.78	26 849 186	31.03
C18: 2	6 381 443	8.33	6 427 258	8.26

表 2 五种样品的测定结果

Table 2 Relative components of five fatty acids in the mixture of aliphatic sodium salts

脂肪酸 (Fatty acid)	$\eta/\%$				
	S1	S2	S3	S4	S5
C7: 0	-	-	1.07	-	1.78
C12: 0	10.92	8.84	9.56	13.86	8.86
C14: 0	4.81	3.85	4.18	6.49	4.50
C16: 0	42.96	42.12	42.25	34.13	43.65
C18: 0	5.20	6.97	4.61	4.82	4.96
C18: 1	28.25	30.76	30.35	30.33	29.06
C18: 2	7.86	7.47	7.98	10.34	7.19

注(Notes): “-”——未检出 (“-” means non-detected)

### 3 结论

先将混合脂肪酸钠盐进行酸化处理,使其完全转变为游离脂肪酸,无需催化,直接用硫酸-甲醇使脂肪酸甲酯化,并采用气相色谱-质谱法(GC/MS)测定脂肪酸的组成,用峰面积归一化计算各种脂肪酸的相对含量,测量相对标准偏差 $s_r < \pm 5\%$ 。方法操作简单、快速,甲酯化完全,定性定量准确可靠,值得推广应用。

### 参考文献:

[1] 王 箴 化工辞典(第三版)[M] 北京:化学工业

出版社,1992,629

- [2] 中华人民共和国进出口贸易管理措施-进出口关税及其他管理措施一览表[M] 北京:工商出版社,2001
- [3] 李攻科,何小青,张展霞 微波消解衍生化气相色谱-质谱法测定鲨鱼软骨中的脂肪酸[J] 色谱,2000,18(4):337~339
- [4] 何照范,张迪清 保健食品化学及其检测技术[M] 北京:中国轻工业出版社,1998,80~82
- [5] 上海医药公司上海化学试剂采购供应站 试剂手册[M] 上海:上海科学技术出版社 1984,1152

## Determination of the Components of Fatty Acids in the Mixture of Aliphatic Sodium Salts by GC/MS

L I Ying, YANG Zuo-jun, ZHANG Wei-ya, WANG Cheng-yun, LI Li

(Shenzhen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shenzhen 518045, China)

**Abstract:** The sample is first acidified, followed by the derivatization with sulfuric acid-methanol, then separated and ionized with DB-WAX capillary column and electron ionization source. The components of the fatty acids of the mixture aliphatic sodium in the practical samples are qualitatively confirmed by comparing with retention time and mass spectrum of the standards. The relative contents of the various fatty acids are calculated using the square peaks to normalization. The relative standard deviation ( $s_r$ ) is less than  $\pm 5\%$ . This method is simple, accurate and reliable for the qualitative and quantitative analysis of the mixture aliphatic salts.

**Key words:** mass spectroscopy; determination of components of fatty acid; gas chromatography-mass spectroscopy (GC/MS); acidification

### 会议通知:

## 关于举办中国科协 2003 年学术年会的通知

各全国性学会、协会、研究会, 各省、自治区、直辖市科协, 各有关单位:

中国科协 2003 年学术年会(以下简称学术年会)定于 2003 年 9 月在辽宁省沈阳市召开。本届学术年会由中国科协和辽宁省人民政府联合主办, 沈阳市人民政府承办。现在开始进行报名组织工作。具体报到通知将于 2003 年 7 月下旬发出。组织专家学者研讨科技工作者的历史责任。通过学术交流, 展示科技进展和学术观点。组织跨学科、跨部门、跨地区的科技工作者, 围绕科学技术发展过程中具有全局性、战略性、前瞻性的问题和建设与发展中的热点、难点问题, 促进不同学科的交叉和融合。召开综合性、开放性、大规模的学术年会, 构筑高水平的学术交流平台, 集中展示广大科技工作者和专家学者的最新科技成果。举办开放性学术交流盛会, 满足广大科技工作者自身发展需要, 通过不同学科、不同领域的专家学者之间的交流和研讨, 推动科技创新, 促进人才成长, 为在关键领域和科技发展前沿掌握核心技术和自主知识产权。发挥中国科协在组织开展学术交流方面主渠道的作用和大团体的整体优势, 调动科技工作者的主动性、积极性和创造性。

学术年会开幕式及特邀报告大会会场设在沈阳师范大学文体馆。学术年会全体代表参加开幕式及特邀报告大会, 时间为 2 天(9 月 13 日和 14 日, 双休日)。邀请著名科学家作学术年会大会主题报告, 邀请政府有关部门领导同志和著名专家学者作大会特邀报告。主题会场和各个分会场同时开展学术交流, 时间为 2 天(9 月 15 日和 16 日)。主题会场组织学术报告和主题研讨, 分会场组织学术交流和热点问题讨论。学术年会期间, 将组织科技期刊展示和科技成果发布等活动。

时间: 2003 年 9 月 13 日至 16 日, 会期 4 天, 9 月 12 日报到。地点: 辽宁省沈阳市。规模: 正式代表 3500 人左右。如需增加名额, 可与中国科协协商。

科技工作者可以在有效期内, 凭单位介绍信到有关全国性学会或省、自治区、直辖市科协、计划单列市和副省级城市科协办理报名手续。中国科协接受团体报名的截止时间为 2003 年 5 月 20 日。各组团单位接受报名的截止时间要相应提前。本届学术年会将于会前编印论文摘要文集, 每位与会代表限报 1 篇。文集只刊载 2002 年 1 月 1 日至 2003 年 4 月 30 日之间发表的学术论文、科研报告、综述文章的摘要(如在学术期刊上发表过, 需注明刊名、期号。)=

(中国科学技术协会供稿)