

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00163

# 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取气相色谱质谱法测定 斑点叉尾鮰肌肉中的脂肪酸

张凤枰<sup>1,2,3</sup> 刘耀敏<sup>2</sup> 史俊友<sup>1,3</sup> 王洪伦<sup>1</sup> 赵先恩<sup>1,3</sup> 索有瑞<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> (中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

<sup>2</sup> (通威股份有限公司, 成都 610041) <sup>3</sup> (中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要** 采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺、气相色谱-电子电离质谱 (GC-EIMS) 法, 建立了斑点叉尾鮰肌肉中脂肪酸的定性与定量分析方法。在 CO<sub>2</sub> 流速为 30 L/h, 温度 45 °C、压力 25 MPa, 时间 100 min 条件下进行超临界 CO<sub>2</sub> 萃取, 所得油脂皂化 10 min, 采用三氟化硼法进行甲酯化衍生 20 min, 经 HP-Innowax 毛细管柱分离, 电子电离质谱检测, 以全扫描模式定性分析, 选择离子扫描模式定量分析, 饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸、双不饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸的定量离子分别为  $m/z$  74, 55, 67 和 79。14 种脂肪酸甲酯的检出限和定量限分别在 2.2 ~ 20 μg/L 和 7.4 ~ 60 μg/L 之间; 平均回收率为 90.0% ~ 111.2%, 相对标准偏差为 2.0% ~ 5.9%。本方法灵敏度高、重复性好, 可用于测定斑点叉尾鮰肌肉样品的脂肪酸。

**关键词** 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取, 气相色谱-电子电离质谱, 脂肪酸, 斑点叉尾鮰

## 1 引言

脂肪酸是细胞的重要组成部分, 不仅为细胞活动提供能量, 含有 3 ~ 5 个双键的多不饱和脂肪酸, 还是前列腺素和白细胞三烯的合成前体<sup>[1]</sup>。研究表明, 亚麻酸、花生四烯酸 (ARA)、二十碳五烯酸 (EPA)、二十二碳六烯酸 (DHA) 等  $\omega$ -3 脂肪酸具有抗炎、抗血栓、降血脂和软化血管等作用<sup>[2]</sup>。斑点叉尾鮰 (*Ictalurus punctatus*), 又称沟鲶、河鲶、美洲鲶, 其肉质细嫩、味鲜美, 富含蛋白质和多不饱和脂肪酸<sup>[3]</sup>。文献 [4, 5] 报道了斑点叉尾鮰内脏和肌肉脂质的脂肪酸组分、甘油三酯和磷脂的立体结构分析。尚未见采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取斑点叉尾鮰肌肉中的油脂, 气相色谱质谱法测定其脂肪酸含量的报道。

油脂的提取方法有索氏提取法、微波辅助提取法、超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法等, 与前两种提取方法相比, 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取操作温度低、不使用有机溶剂, 萃取物无残留溶剂, 保证提取物质 100% 纯天然性。油脂脂肪酸的测定方法有气相色谱 (GC-FID) 法<sup>[6]</sup>、液相色谱法<sup>[7]</sup>、气相色谱-电子电离质谱 (GC-EIMS) 法<sup>[8,9]</sup>、液相色谱质谱联用法<sup>[10]</sup>、毛细管电泳<sup>[11]</sup>、红外光谱法<sup>[12]</sup> 及拉曼光谱法<sup>[13]</sup> 等。与上述其它方法相比, GC-EIMS 全扫描 (Full scan) 模式可以得到目标化合物的标准质谱图。文献 [14] 采用 GC-EIMS 选择离子扫描 (SIM) 模式定量测定食品中的脂肪酸, 其灵敏度比 GC-FID 和 GC-EIMS 全扫描法高 10 ~ 20 倍。本研究采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺提取斑点叉尾鮰肌肉中的油脂, 建立了脂肪酸的 GC-MS 定性和定量分析方法, 为斑点叉尾鮰的深加工提供了技术支持。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

7890A-5975C 气质联用仪 (Agilent 公司); HA221-40-12 超临界萃取仪 (江苏南通华安超临界萃取有限公司); CP225D 电子天平 (Sartorius 公司); WH-3 旋涡混合仪 (上海沪西分析仪器厂)。

14 种脂肪酸甲酯标准品 (NU-CHEKPREP 公司); 13% ~ 15% BF<sub>3</sub>·CH<sub>3</sub>OH (Sigma-Aldrich 公司), 其它试剂均为分析纯; 水为 Milli-Q 超纯水; N<sub>2</sub> 和 He (纯度 99.999%, 成都侨源实业有限公司); CO<sub>2</sub> (纯度

2009-06-28 收稿; 2009-08-17 接受

本文系中国科学院“西部之光”人才培养计划 (No. 0629171211) 资助项目

\* E-mail: yrsuo@nwipb.ac.cn

99.99% (青海康普生物科技股份有限公司); 斑点叉尾鮰样品 3 批 (通威 (成都) 水产食品有限公司)。

## 2.2 肌肉油脂超临界 CO<sub>2</sub> 萃取

斑点叉尾鮰鲜鱼放血、去内脏、去骨、去皮, 肌肉真空包装, -40℃ 冷冻备用, 48 h 后取出, 室温解冻, 将肌肉切成长条薄片放在筛网上, 自然风干后, 切成直径为 2~3 mm 的细块, 作为超临界 CO<sub>2</sub> 萃取试样。每次称量 150 g 试样, 置于 1 L 萃取罐中, 密封系统, 设定 CO<sub>2</sub> 流量为 30 L/h, 萃取釜的温度和压力依据每次萃取要求设定; 分离釜 温度为 39℃, 压力为 6.7 MPa; 分离釜 温度为 36℃, 压力为 6.6 MPa; 萃取 120 min, 每隔 20 min 接取油脂, 称重, 置于塑料瓶中, 密封, 0~5℃ 贮存备用。

同时按 GB/T 5009.6-2003 索式抽提法测定试样含油量, 进行比较。

## 2.3 油脂样品前处理和标准溶液的配制

称取 100 mg (精确至 0.1 mg) 萃取所得油脂样品, 置于 50 mL 圆底烧瓶中, 加入 4 mL 0.5 mol/L NaOH-CH<sub>3</sub>OH, 充 N<sub>2</sub>, 连接冷凝器, 置于水浴上回流 10 min 后立即加入 5 mL 13%~15% BF<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>OH 于沸腾的溶液中, 继续煮沸, 回流 20 min。加入 10 mL 异辛烷于沸腾的混合溶液中, 停止加热, 加入 20 mL 饱和 NaCl 溶液, 在漩涡混合器上混合 1 min, 继续加入饱和 NaCl 溶液至烧瓶颈部, 静置分层, 移取 4~5 mL 上清液至 10 mL 具塞试管中, 加入适量无水 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 脱水, 准确移取 1 mL 脱水试液, 用异辛烷稀释至 10 mL, 作为供试液备用<sup>[15]</sup>。

分别称取脂肪酸甲酯标准品适量, 用异辛烷溶解后转移至 25 mL 棕色容量瓶, 定容, 0~5℃ 贮存。

## 2.4 色谱质谱条件

HP-Innowax 石英毛细管柱 (60 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 柱初始温度 60℃, 以 4℃/min 升温至 180℃, 1℃/min 升温至 240℃, 保持 10 min; 汽化室温度 260℃; 载气: He; 柱流速: 1.0 mL/min; 分流比: 10:1; 进样量 1 μL。传输线温度 260℃; 电子电离 (EI) 源温度 230℃; 四级杆温度 150℃; 电子能量 70 eV; 电子倍增管电压 1.494 kV; 质量范围 40~500 amu; 溶剂延迟时间 6 min。

# 3 结果与讨论

## 3.1 超临界 CO<sub>2</sub> 萃取条件的选择

对 CO<sub>2</sub> 的流量进行了考察。研究发现, CO<sub>2</sub> 流量对萃取率有一定影响, 但不是主要因素。结合文献 [16, 17]、萃取仪技术参数、样品量和操作者经验, 固定 CO<sub>2</sub> 流量为 30 L/h, 重点考察温度、压力、时间对萃取率的影响。

设定萃取压力为 25 MPa, 考察不同萃取温度 (35, 40, 45, 50℃) 对萃取率的影响; 设定萃取温度为 45℃, 考察不同萃取压力 (20, 25, 30 MPa) 对萃取率的影响, 结果见表 1、图 1 和图 2。结果表明, 40℃ 的试样油脂萃取率低于其含油量, 而 45℃ 的萃取率与其含油量基本一致, 萃取温度宜选择 45℃。在 100 min 内, 萃取率随着压力的升高而升高, 特别是在压力为 20~25 MPa 时, 萃取率的升高趋势比较明显。当压力高于 25 MPa 时, 萃取率变化不大; 而压力较高时, 动力消耗必然增加, 同时也增加了不安全因素, 最终选择萃取压力为 25 MPa; 在 20 MPa, 45℃ 条件下, 萃取时间为 100 min 的油脂萃取率与试样含油量一致, 萃取时间选择 100 min 为宜。

表 1 不同超临界萃取条件的油脂萃取率和索氏抽提法含油量测定结果 (n=2)

| 方法<br>Method       | 超临界 CO <sub>2</sub> 萃取 (萃取时间 100 min)                             |               |               |               |               |               | 索氏抽提<br>Soxhlet extraction |
|--------------------|---|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------------|
|                    | Supercritical Carbon Dioxide extraction (extraction time 100 min) |               |               |               |               |               |                            |
|                    | 25 MPa,<br>35   | 25 MPa,<br>40 | 25 MPa,<br>45 | 25 MPa,<br>50 | 20 MPa,<br>45 | 30 MPa,<br>45 |                            |
| 测定结果<br>Result (%) | 15.01   | 15.57         | 15.83         | 15.62         | 14.10         | 15.80         | 15.89                      |

## 3.2 样品前处理条件的选择

气相色谱法测定油脂脂肪酸, 需对脂肪酸进行衍生, 衍生方法有三氯化硼法、三甲基氢氧化硫法、酯交换法等<sup>[18, 19]</sup>。本研究采用经典的三氯化硼法, 固定甲酯化时间为 20 min, 考察不同皂化时间 (5, 10, 15 和 20 min) 对棕榈酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和二十二碳六烯酸等主要脂肪酸含量测定结果的影响; 固

定皂化时间为 10 min,考察不同甲酯化时间(10, 20, 30 和 40 min)对其测定结果的影响(图 3)。由图 3 可见,皂化时间宜选择 10 min,甲酯化时间宜选择 20 min。

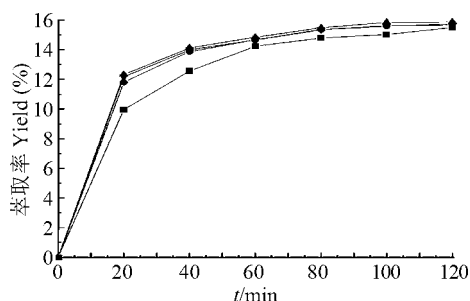


图 1 不同萃取温度下油脂萃取率

Fig 1 Oil extraction rate at different temperature

— —35 ; — —40 ; — —45 ; — —50

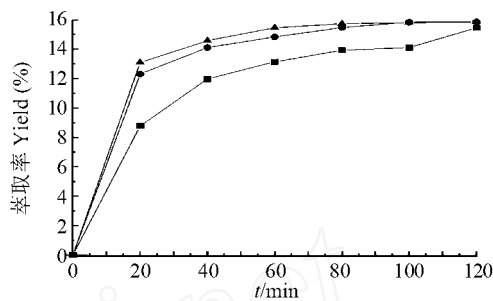


图 2 不同萃取压力下油脂萃取率

Fig 2 Oil extraction rate at different pressure

— —20 MPa; — —25 MPa; — —30 MPa

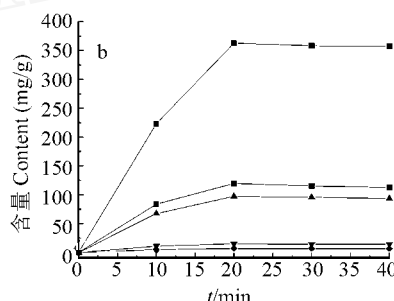
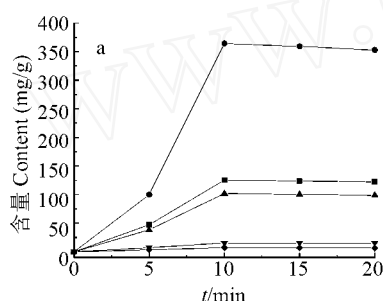


图 3 不同皂化时间(a)、不同甲酯化时间(b)时 5 种脂肪酸的含量变化曲线

Fig 3 Five fatty acids contents variation curve at different saponification time (a) and different esterification time (b)

— —C16 0; — —C18 1; — —C18 2; — —C18 3; — —C22 6

### 3.3 色谱质谱条件的选择

选用聚乙二醇强极性柱(60 m × 0.25 mm, 0.25 μm),通过对色谱柱温度的选择,确定了上述色谱条件,在 Full scan 模式下,斑点叉尾鮰肌肉油脂脂肪酸总离子流图见图 4。

根据目标化合物结构、调谐参数等确定上述质谱条件。脂肪酸定性测定选择 Full scan 模式,得到样品各脂肪酸甲酯的质谱图,经谱库检索、查阅文献,确认化学结构、归一化面积百分比计算相对含量。

脂肪酸定量测定采用 SM 模式。根据定性测定得到的质谱图,并结合 NIST 标准谱图,选择基峰作为定量离子,丰度较强的 3 个离子峰作为确证离子,经统计与分析,最终确定饱和脂肪酸甲酯的定量离子  $m/z$  74, 确证离子为  $m/z$  87, 43, 41; 单不饱和脂肪酸甲酯定量离子  $m/z$  55, 确证离子为  $m/z$  41, 69, 43; 双不饱和脂肪酸甲酯定量离子  $m/z$  67, 确证离子为  $m/z$  81, 55, 41; 多不饱和脂肪酸甲酯定量离子  $m/z$  79, 确证离子为  $m/z$  67, 41, 91<sup>[20-22]</sup>。根据各脂肪酸甲酯的保留时间、不饱和度、定量离子和确证离子,共分 23 组离子对其进行测定。

### 3.4 线性范围、回收率、精密度、检出限和定量限

在最优化的色谱质谱条件下,对 14 种脂肪酸甲酯系列浓度混合标准溶液进行测定,以 MS 定量离子色谱峰面积 ( $Y$ ) 对浓度 ( $X$ , mg/L) 绘制标准曲线,并分别计算检出限 ( $S/N = 3$ )、最低定量限 ( $S/N = 10$ )。称取 100 mg 萃取所得油脂样品,分别添加不同浓度游离脂肪酸混合标准溶液,每个浓度水平重复 4 次,用氮气吹干后,按前述方法和条件测定,计算回收率和 RSD,结果见表 2。

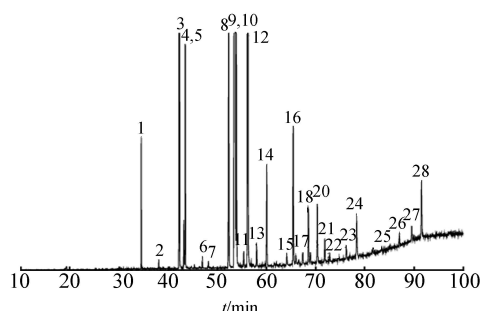


图 4 斑点叉尾鮰肌肉油脂脂肪酸甲酯总离子流图

Fig 4 Total ion chromatogram of fatty acid esters from muscle oils of Channel Catfish

表 2 14种脂肪酸甲酯的线性回归方程、相关系数、回收率、相对偏差和检出限

Table 2 Linear regression equations, correlation coefficients, recoveries, relative standard deviations (RSD), limits of detection (LOD) and limits of quantification (LOQ) data of 14 fatty acid methyl esters

| 脂肪酸<br>Fatty acids                                   | 线性范围<br>Linear range<br>(mg/L) | 线性回归方程<br>Linear regression<br>equation | 相关系数<br>Correlation<br>coefficient | 添加量<br>Added<br>(mg/g) | 回收率<br>Recovery<br>(%, n=4) | 检出限<br>LOD<br>( $\mu\text{g/L}$ ) |
|--|--------------------------------|---|------------------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 肉豆蔻酸 Myristic acid                                   | 0.5 ~ 50                       | $Y = 29132X - 14313$                    | 0.9998                             | 5<br>15                | 91.2<br>93.3                | 2.5                               |
| 棕榈酸 Palmitic acid                                    | 10 ~ 1000                      | $Y = 24671X + 95278$                    | 0.9995                             | 100<br>300             | 93.1<br>96.5                | 5.0                               |
| 9-十六烯酸 Palmitoleic acid                              | 1.5 ~ 150                      | $Y = 8273.5X - 8172$                    | 0.9999                             | 15<br>45               | 98.2<br>99.1                | 8.9                               |
| 硬脂酸 Stearic acid                                     | 1.5 ~ 150                      | $Y = 26350X + 46702$                    | 0.9996                             | 15<br>45               | 95.4<br>98.4                | 8.3                               |
| 油酸 Oleic acid  | 40 ~ 4000                      | $Y = 6173.8X + 95602$                   | 0.9968                             | 200<br>600             | 102.6<br>105.7              | 4.0                               |
| 亚油酸 Linoleic acid                                    | 10 ~ 1000                      | $Y = 9090.6X + 54132$                   | 0.9992                             | 10<br>30               | 98.6<br>99.0                | 2.2                               |
| 亚麻酸 Linolenic acid                                   | 5 ~ 500                        | $Y = 7464.8X + 26329$                   | 0.9999                             | 10<br>30               | 111.2<br>109.0              | 7.6                               |
| 花生酸 Eicosanoic acid                                  | 0.5 ~ 50                       | $Y = 18640X - 7871.2$                   | 0.9983                             | 5<br>15                | 90.9<br>97.4                | 4.8                               |
| 11-二十碳一烯酸 Eicosenoic acid                            | 1.0 ~ 100                      | $Y = 8780.8X - 10136$                   | 0.9996                             | 10<br>30               | 99.9<br>105.9               | 4.6                               |
| 5, 8, 11, 14-二十碳四烯酸<br>Arachidonic acid              | 0.5 ~ 50                       | $Y = 4023.5X + 5421.8$                  | 0.9991                             | 5<br>15                | 94.9<br>90.1                | 11                                |
| 5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸<br>Eicosapentaenoic acid     | 0.5 ~ 50                       | $Y = 3634.0X - 1617.5$                  | 0.9999                             | 5<br>15                | 90.6<br>96.1                | 14                                |
| 顺-13-二十二碳烯酸 Erucic acid                              | 1.0 ~ 100                      | $Y = 4122.6X - 2950.8$                  | 0.9999                             | 10<br>30               | 98.8<br>104.6               | 14                                |
| 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳五烯酸<br>Docosapentaenoic acid   | 0.5 ~ 50                       | $Y = 3569.5X - 2652.3$                  | 0.9990                             | 5<br>15                | 91.1<br>90.0                | 18                                |
| 4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳六烯酸<br>Docosahexaenoic acid | 1.0 ~ 100                      | $Y = 3200.8X - 1511.9$                  | 0.9999                             | 10<br>30               | 93.1<br>90.2                | 20                                |

## 3.5 实际样品测定

按照上述方法对 3 个斑点叉尾鮰肌肉实际样品进行定性与定量测定, 结果分别见表 3 和表 4。

表 3 斑点叉尾鮰肌肉实际样品定量测定结果

Table 3 Quantification determination results for real Channel Catfish muscle samples

| No | 脂肪酸<br>Fatty acid                                 | 含量 Content ( $\mu\text{g/g}$ ) |                  |                   |
|----|---|--------------------------------|------------------|-------------------|
|    |   | Sample 1                       | Sample 2         | Sample 3          |
| 1  | 肉豆蔻酸 Myristic acid                                | 198.9 $\pm$ 3.9                | 190.1 $\pm$ 3.8  | 206.9 $\pm$ 4.2   |
| 2  | 棕榈酸 Palmitic acid                                 | 4501 $\pm$ 77                  | 4269 $\pm$ 77    | 4354 $\pm$ 71     |
| 3  | 11-十六烯酸* Palmitoleic acid                         | 130.5 $\pm$ 3.3                | 151.9 $\pm$ 3.0  | 143.2 $\pm$ 4.8   |
| 4  | 9-十六烯酸 Palmitoleic acid                           | 507.9 $\pm$ 13.5               | 463.8 $\pm$ 11.2 | 480.3 $\pm$ 10.55 |
| 5  | 硬脂酸 Stearic acid                                  | 1098 $\pm$ 20                  | 1075 $\pm$ 20    | 1061.3 $\pm$ 17.9 |
| 6  | 油酸 Oleic acid                                     | 13279 $\pm$ 399                | 13010 $\pm$ 355  | 12272 $\pm$ 338   |
| 7  | 反式油酸* Elaidic acid                                | 408.0 $\pm$ 10.9               | 437.8 $\pm$ 11.6 | 422.8 $\pm$ 8.9   |
| 8  | 反式亚油酸* Linoleic acid                              | 69.0 $\pm$ 1.3                 | 1.9 $\pm$ 1.9    | 65.7 $\pm$ 1.4    |
| 9  | 亚油酸 Linoleic acid                                 | 3354 $\pm$ 90                  | 3558 $\pm$ 63    | 3403 $\pm$ 78     |
| 10 | 亚麻酸* -Linolenic acid                              | 76.8 $\pm$ 1.6                 | 77.8 $\pm$ 1.2   | 80.5 $\pm$ 1.1    |
| 11 | 亚麻酸 Linolenic acid                                | 477.4 $\pm$ 12.1               | 496 $\pm$ 14     | 463 $\pm$ 13      |
| 12 | 花生酸 Eicosanoic acid                               | 48.4 $\pm$ 0.6                 | 47.7 $\pm$ 0.6   | 55.4 $\pm$ 0.7    |
| 13 | 11-二十碳一烯酸 Eicosenoic acid                         | 662.1 $\pm$ 8.2                | 635.3 $\pm$ 6.9  | 627.4 $\pm$ 7.7   |
| 14 | 5, 8, 11, 14-二十碳四烯酸 Arachidonic acid              | 31.3 $\pm$ 0.7                 | 30.0 $\pm$ 0.7   | 28.0 $\pm$ 0.8    |
| 15 | 5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid     | 48.2 $\pm$ 0.8                 | 49.6 $\pm$ 0.7   | 58.2 $\pm$ 0.9    |
| 16 | 顺-13-二十二碳烯酸 Erucic acid                           | 186.3 $\pm$ 5.1                | 190.1 $\pm$ 5.0  | 193.8 $\pm$ 5.6   |
| 17 | 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid   | 32.0 $\pm$ 1.0                 | 33.5 $\pm$ 1.0   | 35.7 $\pm$ 1.4    |
| 18 | 4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid | 234.9 $\pm$ 10.9               | 218.1 $\pm$ 6.9  | 219.5 $\pm$ 7.9   |

\*: 以其异构体标准曲线计算含量 (Calculated by the standard curve of isomer).

表 4 斑点叉尾鮰肌肉油脂脂肪酸成分和相对含量测定结果

Table 4 Composition of identified fatty acids methylesters in muscle oils of Channel Catfish and their contents

| 峰号 *<br>Peak No | 保留时间<br>Retention time<br>(min) | 脂肪酸<br>Fatty acid                                 | 相对含量 Relative content (%) |          |          |
|-----------------|---------------------------------|---|---------------------------|----------|----------|
|                 |                                 |   | Sample 1                  | Sample 2 | Sample 3 |
| 1               | 34. 61                          | 肉豆蔻酸 Myristic acid                                | 0. 82                     | 0. 84    | 0. 86    |
| 2               | 38. 17                          | 十五烷酸 Pentadecanoic acid                           | 0. 08                     | 0. 09    | 0. 09    |
| 3               | 42. 30                          | 棕榈酸 Palmitic acid                                 | 16. 57                    | 16. 49   | 16. 81   |
| 4               | 43. 24                          | 11-十六烯酸 Palmitoleic acid                          | 0. 55                     | 0. 57    | 0. 57    |
| 5               | 43. 53                          | 9-十六烯酸 Palmitoleic acid                           | 2. 03                     | 2. 04    | 2. 06    |
| 6               | 46. 99                          | 十七烷酸 Heptadecanoic acid                           | 0. 11                     | 0. 13    | 0. 13    |
| 7               | 48. 43                          | 十七烯酸 Heptadecenoic acid                           | 0. 08                     | 0. 07    | 0. 08    |
| 8               | 52. 30                          | 硬脂酸 Stearic acid                                  | 4. 82                     | 4. 94    | 5. 07    |
| 9               | 53. 49                          | 油酸 Oleic acid                                     | 48. 24                    | 47. 67   | 48. 29   |
| 10              | 53. 92                          | 反式油酸 Elaidic acid                                 | 2. 89                     | 2. 83    | 2. 84    |
| 11              | 55. 42                          | 反式亚油酸 Linoleic acid                               | 0. 22                     | 0. 23    | 0. 21    |
| 12              | 56. 25                          | 亚油酸 Linoleic acid                                 | 14. 52                    | 14. 44   | 13. 97   |
| 13              | 58. 03                          | 亚麻酸 -Linolenic acid                               | 0. 31                     | 0. 34    | 0. 30    |
| 14              | 60. 11                          | 亚麻酸 Linolenic acid                                | 1. 39                     | 1. 43    | 1. 30    |
| 15              | 64. 16                          | 花生酸 Eicosanoic acid                               | 0. 19                     | 0. 22    | 0. 21    |
| 16              | 65. 47                          | 11-二十碳一烯酸 Eicosenoic acid                         | 1. 93                     | 2. 04    | 2. 11    |
| 17              | 67. 41                          | 11, 14-二十碳二烯酸 11, 14-Eicosadienoic acid           | 0. 18                     | 0. 21    | 0. 21    |
| 18              | 68. 56                          | 8, 11-二十碳二烯酸 8, 11-Eicosadienoic acid             | 0. 83                     | 0. 86    | 0. 85    |
| 19              | 68. 94                          | 5, 8, 11-二十碳三烯酸 5, 8, 11-Eicosatrienoic acid      | 0. 18                     | 0. 17    | 0. 17    |
| 20              | 70. 36                          | 8, 11, 14-二十碳三烯酸 8, 11, 14-Eicosatrienoic acid    | 0. 88                     | 0. 92    | 0. 84    |
| 21              | 71. 88                          | 11, 14, 17-二十碳三烯酸 11, 14, 17-Eicosatrienoic acid  | 0. 36                     | 0. 37    | 0. 31    |
| 22              | 72. 84                          | 5, 8, 11, 14-二十碳四烯酸 Arachidonic acid              | 0. 09                     | 0. 11    | 0. 10    |
| 23              | 76. 24                          | 5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸 Eicosapentaenoic acid     | 0. 20                     | 0. 22    | 0. 15    |
| 24              | 78. 36                          | 顺-13-二十二碳烯酸 Erucic acid                           | 0. 76                     | 0. 80    | 0. 92    |
| 25              | 81. 64                          | 13, 16-二十二碳二烯酸 Docosadienoic acid                 | 0. 09                     | 0. 11    | 0. 09    |
| 26              | 87. 06                          | 二十二碳四烯酸 Docosatetraenoic acid                     | 0. 20                     | 0. 18    | 0. 16    |
| 27              | 89. 91                          | 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳五烯酸 Docosapentaenoic acid   | 0. 24                     | 0. 28    | 0. 20    |
| 28              | 91. 56                          | 4, 7, 10, 13, 16, 19-二十二碳六烯酸 Docosahexaenoic acid | 1. 00                     | 1. 05    | 0. 86    |

\* : 峰号同图 4 (Peak numbers were same as in Fig 4).

## 4 结 论

采用超临界 CO<sub>2</sub> 萃取工艺提取斑点叉尾鮰肌肉油脂, 优化得出了最佳工艺参数。萃取得到的油脂经三氟化硼法衍生, HP-Innowax 毛细管柱分离, EIMS 检测, Full scan 模式定性, SM 模式定量。方法灵敏度高、重复性好, 为斑点叉尾鮰肌肉等样品中脂肪酸的准确测定提供了新方法。

## References

- Murray KM, Granner D K, Mayers P A, Rodwell V W. *Harpers Biochemistry*, Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut, **1993**: 12 ~ 15
- Simopoulos A P. *American Journal of Clinical Nutrition*, **1999**, 70 (3): 560 ~ 569
- WANG Yu-Tang (王玉堂), LIU Fei (刘 绯). *China Fisheries* (中国水产), **2007**, 12: 14 ~ 16
- Hwang K T, Kim J E, Jung S G, Park H J, Weller C L. *JAACS*, **2004**, 81 (2): 123 ~ 127
- Simonetti M S, Blasi F, Bosi A, Maurizi A, Cossignani L, Damiani P. *Food Chemistry*, **2008**, 110 (1): 199 ~ 206
- Seppnen-Laakso T, Laakso I, Hiltunen R. *Anal Chim Acta*, **2002**, 465 (1 - 2): 39 ~ 62
- Lee Y H, Jeong E S, Cho H E, Moon D C. *Talanta*, **2008**, 74 (5): 1615 ~ 1620
- Hauff S, Vetter W. *Anal Chim Acta*, **2009**, 636 (2): 229 ~ 235
- Priego-Capote F, Ruiz-Jimenez J, de Castro M D. *Food Chemistry*, **2007**, 100 (2): 859 ~ 867

- 10 ZHAO Xian-En (赵先恩), LI Yu-Lin (李玉林), SUO You-Rui (索有瑞), SHI Yun-Wei (石运伟), CHEN Xiang-Ming (陈向明), ZHANG Hai-Feng (张海峰), SUN Xue-Jun (孙学军), YOU Jin-Mao (尤进茂). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2006**, 34(2): 150 ~ 154
- 11 Demaux A, Sandra P, Ferraz V. *Electrophoresis*, **1999**, 20(1): 74 ~ 79
- 12 van de Voort F R, Ghetler A, Garc í-Gonz áez D L, Li Y D. *Food Anal Methods*, **2008**, 1(3): 153 ~ 163
- 13 Olsen E F, Rukke E O, Flatten A, Isaksson T. *Meat Science*, **2007**, 76(4): 628 ~ 634
- 14 Thumhofer S, Vetter W. *J. Agric Food Chem.*, **2005**, 53(23): 8896 ~ 8903
- 15 ISO 5509-2000. *Animal and Vegetable Fats and Oils—Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids*, *International Standard of International Organization for Standardization*
- 16 Sanchez-Vicente Y, Cabanas A, Renuncio J R, Panda. *Journal of Supercritical Fluids*, **2009**, 49(2): 167 ~ 173
- 17 Bernardo-Gila M G, Casquilho M, Esquivel M M, Ribeiro M A. *Journal of Supercritical Fluids*, **2009**, 49(2): 32 ~ 36
- 18 Brondz I. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 465(1-2): 1 ~ 37
- 19 Rosenfeld J M. *Anal. Chim. Acta*, **2002**, 465(1-2): 93 ~ 100
- 20 WU Hui-Qin (吴惠勤), HUANG Xiao-Lan (黄晓兰), LN Xiao-Shan (林晓珊), HUANG Fang (黄芳), ZHU Zhi-Xin (朱志鑫), MA Ye-Fen (马叶芬). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2007**, 35(7): 998 ~ 1003
- 21 Hauff S, Vetter W. *Anal. Chim. Acta*, **2009**, 636(2): 229 ~ 235
- 22 Ruiz-Jimenez J, Priego-Capote F, de Castro M D L. *J. Chromatogr. A*, **2004**, 1045(1-2): 203 ~ 210

## Extraction of Channel Catfish Muscle Oil by Supercritical Carbon Dioxide and Determination of Fatty Acids by Gas Chromatography-Electron Ionization Mass Spectrometry

ZHANG Feng-Ping<sup>1,2,3</sup>, LU Yao-Min<sup>2</sup>, SHI Jun-You<sup>1,3</sup>, WANG Hong-Lun<sup>1</sup>, ZHAO Xian-En<sup>1,3</sup>, SUO You-Rui<sup>\*1</sup>

<sup>1</sup> (Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001)

<sup>2</sup> (Tongwei Co., Ltd., Chengdu 610041)

<sup>3</sup> (Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

**Abstract** A novel method was established for the qualitative and quantitative determination of fatty acids in Channel Catfish muscle by gas chromatography-electron ionization mass spectrometry (GC-EIMS) after supercritical carbon dioxide fluid extraction (SFE-CO<sub>2</sub>). The extraction parameters for the methodology were optimized. The optimal conditions were extraction pressure of 25 MPa at 45 °C and extraction time of 100 min at the rate of carbon dioxide 30 L/h. The fatty acids in the muscle oil were derived by boron-trifluoride method. The saponification time was 10 min, and the esterification time was 20 min. The obtained fatty acid methyl esters were separated by gas chromatography using a HP-Innowax capillary column, and were detected by electron ionization mass spectrometry. Full scan mode and SM mode were used for the qualitative and quantitative analysis, respectively. In the SM mode, saturated fatty acids were determined with  $m/z$  74, mono-unsaturated fatty acids were determined with  $m/z$  55, double-unsaturated fatty acids were determined with  $m/z$  67, and polyunsaturated fatty acids were determined with  $m/z$  79. The detection limits of 14 fatty acids were 2.2 - 20.0 μg/L ( $S/N = 3$ ), and the quantitative limits were 7.39 - 59.85 μg/L ( $S/N = 10$ ). The recoveries fell in the range from 90.0% to 111.2% ( $n = 4$ ), and the relative standard deviation was between 2.0% and 5.9%. This effective, sensitive and reproducible method can be used for the determination of fatty acids in Channel Catfish muscle sample.

**Keywords** Supercritical carbon dioxide fluid extraction; Gas chromatography-electron ionization mass spectrometry; Fatty acid; Channel catfish

(Received 28 June 2009; accepted 17 August 2009)