

全二维气相色谱-质谱法鉴别动物油

时秋娜^{1,2}, 刘占芳¹, 朱军¹, 张冠男¹, 田菲菲³, 王萍¹

(1. 公安部物证鉴定中心, 北京, 100038; 2. 河南警察学院刑事科学技术系, 河南郑州, 450002;
3. 岛津企业管理(中国)有限公司, 北京, 100020)

摘要: 以四甲基氢氧化铵(TMAH)的甲醇液(体积比 1:50)对动物油样品进行甲酯化衍生, 利用全二维气相色谱-质谱法对不同地区的猪油、牛油、羊油、鸡油、鸭油的脂肪酸成分进行检验, 结果表明, 不同地区同一种类动物油的脂肪酸成分基本一致, 而不同种类动物油的脂肪酸成分差异明显, 根据脂肪酸组成可对不同种类动物油进行分类, 从而实现了动物油的初步鉴别。

关键词: 动物油; 脂肪酸; 全二维气相色谱-质谱联用法; 鉴别

猪油、牛油、羊油等动物油是常见的食材, 和人们的日常生活紧密相关, 因此, 在某些凶杀、纵火等刑事案件中, 也经常能够在案发现场或犯罪嫌疑人的衣物和作案工具上提取到相关的油脂物证。对这些油脂物证进行检验分析, 能够为案件侦查提供线索, 帮助侦查人员判断案件性质、推断犯罪嫌疑人的职业、民族、饮食习惯等人身特点, 进而可以明确侦查方向, 缩小侦查范围, 具有十分重要的意义。

动物油的主要成分为各种高级脂肪酸甘油酯(甘油三酯), 常温下多呈固态, 不溶于水, 易溶于乙醚、氯仿等有机溶剂。动物油中的脂肪酸组成与油脂种类紧密相关, 根据脂肪酸组成可鉴别不同种类动物油。目前, 有关动物油的检验报道, 很多是为了探讨其营养价值或与植物油进行区别, 常用的仪器分析方法有气相色谱-质谱法^[1]、拉曼光谱法^[2]、红外光谱法^[3]等, 利用全二维气相色谱-质谱法检验并鉴别动物油的文献未见报道。本实验利用全二维气相色谱-质谱法检验了动物油中的脂肪酸成分, 分别比较了不同地区同种动物油的脂肪酸组成, 提取了其特征组分, 并进一步比较了不同动物油的脂肪酸组成, 根据脂肪酸成分的不同实现了动物油的初步分类。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂

QP2010 Ultra GC×GC-MS (日本, 岛津公司), 冷喷调制器 ZX1 (美国 Zoex 公司), GC Image2.4 数据处理系统。

四甲基氢氧化铵(TMAH); 甲醇、乙醚均为分析纯。

1.2 实验样品

山东、江苏、黑龙江、湖北、河南、北京等不同地区的猪油、牛油、羊油、鸡油、鸭油样品, 共 20 份。

1.3 实验方法

1.3.1 GC×GC-MS 条件

一维色谱柱: DB-5MS (30m×0.25mm×0.25 μ m) (Agilent, 美国); 二维色谱柱: BP20 (2.5m×0.1mm×0.1 μ m) (SGE, 美国)。进样口温度 280 $^{\circ}$ C; 进样量为 1 μ l, 分流比 30:1, 程序升温: 40 $^{\circ}$ C 保持 2min, 以 30 $^{\circ}$ C / min 升温至 190 $^{\circ}$ C后, 再以 2 $^{\circ}$ C / min 升温至 280 $^{\circ}$ C并保持 15min; 离子源温度: 200 $^{\circ}$ C;

电离能量: 70eV; 检测器电压: 1.1kV; 接口温度: 280℃; 质量扫描范围: m/z71~385; 冷气流流量 3L/min, 热气温度 370℃; 调制周期 5s; 热喷时间 350ms。

1.3.2 油脂样品的甲酯化

先将 25% 的四甲基氢氧化铵(TMAH)溶液和无水甲醇按照 1:50 (v/v) 配成甲酯化试剂, 然后准确量取 20 μ l 油脂样品溶于 2ml 乙醚溶液, 摇匀, 最后分别量取制好的油脂样品乙醚液和甲酯化试剂各 400 μ l 于样品瓶中, 振摇, 形成铵盐后进样分析。

2 结果与讨论

2.1 不同地区同种动物油中脂肪酸成分的提取

2.1.1 猪油中脂肪酸成分的提取

根据 1.3 的实验方法, 对北京、河南开封、黑龙江宾西、江苏徐州、山东济南等地提取的猪油进行检验, 其成分见表 1。

表 1 不同地区猪油中检出的脂肪酸成分

	一维保留 时间	二维保留 时间	不同地区的猪油				
			北京	河南	黑龙江	江苏	山东
C12:0	17.00	0.52	0.58	0.58	0.59	0.66	0.63
C14:0	21.33	0.70	2.76	3.04	2.89	3.09	2.69
C16:1	26.92	0.92	4.50	4.24	4.67	5.75	4.56
C16:0	27.58	0.96	16.20	17.01	16.11	17.43	16.24
C17:1	30.25	0.78	1.30	1.65	1.75	2.18	1.22
C17:0	31.08	0.92	1.30	1.19	1.79	1.74	1.24
C18:2	33.75	1.16	4.81	4.24	9.09	8.22	7.95
C18:1	34.08	1.20	28.84	27.23	27.50	30.68	30.40
C18:0	34.92	1.08	9.50	15.72	11.05	8.23	11.20
C18:2	35.67	1.30	9.13	6.57	7.34	3.62	6.06
C18:2	36.00	1.30	7.82	7.00	6.91	5.89	6.51
C18:2	36.58	1.26	2.46	2.31	1.84	1.52	1.51
C18:2	37.25	1.28	2.42	2.34	1.46	1.38	1.94
C19:1	37.83	1.10	-	-	-	1.20	-
C20:2	41.42	1.22	0.83	0.87	1.08	1.16	1.54
C20:1	41.67	1.20	2.31	2.41	1.69	2.18	2.67
C20:0	42.58	1.12	1.32	1.48	1.22	1.11	1.37
C20:2	43.33	1.36	1.22	0.91	0.79	0.82	0.91
C20:2	43.67	1.36	2.04	1.21	1.23	0.93	1.36

(表中“-”表示未检出, 表中数据保留时间单位为“min”, 其余数据表示该油脂中相应脂肪酸的相对百分含量。其中, 保留时间不同的 5 种 C18:2 和 3 种不同的 C20:2 为亚油酸和二十碳二烯酸的不饱和键位置异构体或顺反异构体, 由于其具体结构尚未进一步探讨, 在此只用保留时间加以区分。)

由表 1 可知, 不同地区的猪油样品中均检出了月桂酸 (C12:0)、肉豆蔻酸 (C14:0)、棕榈油酸 (C16:1)、棕榈酸 (C16:0)、十七烯酸 (C17:1)、十七烷酸 (C17:0)、十八碳二烯酸 (C18:2) 的 5 种结构异构体、油酸 (C18:1)、硬脂酸 (C18:0)、花生烯酸 (C20:1)、花生酸 (C20:0)、二十碳二烯酸的 3 种结构异构体等, 共 18 种脂肪酸成分, 且含量相近, 因此, 可作为猪油的特征脂肪酸。虽然江苏徐州的猪油中还检出了十九烯酸, 但由于含量较低, 且其他猪油中未检出, 不能作为特征组分。所以, 通过对不同地区猪油中脂肪酸成分的比较分析, 提取上述 18 种共有脂肪酸作为其特征脂肪酸。

2.1.2 牛油中脂肪酸成分的提取

按照猪油中脂肪酸成分的提取方法，对不同地区牛油中检出的脂肪酸进行了比较，结果见表 2。

表 2 不同地区牛油中检出的脂肪酸成分

	一维保留时间	二维保留时间	不同地区的牛油			
			北京	河南	黑龙江	湖北
C12:0	17.00	0.52	0.61	-	-	1.20
12 甲基十三烷酸	20.42	0.64	-	-	0.50	0.79
C14:1	21.08	0.72	1.61	0.97	0.81	1.14
C14:0	21.33	0.70	4.06	3.30	3.24	5.70
13 甲基十四烷酸	23.08	0.70	0.79	0.94	0.94	1.39
12 甲基十四烷酸	23.33	0.72	0.95	1.32	0.92	1.64
C15:0	24.25	0.76	1.60	1.56	1.25	2.38
14 甲基十五烷酸	26.25	0.80	0.88	1.23	1.33	1.44
C16:1	26.92	0.92	4.79	3.60	4.44	5.50
C16:0	27.58	0.96	16.03	13.63	13.19	15.51
15 甲基十六烷酸	29.75	0.88	1.25	1.26	1.40	1.43
14 甲基十六烷酸	30.08	0.90	1.99	2.36	2.26	2.03
C17:1	30.25	0.78	2.34	1.35	1.98	1.99
C17:0	31.08	0.92	2.61	3.10	2.89	3.63
16 甲基十七烷酸	33.42	0.92	0.75	-	1.30	1.32
C18:2	33.75	1.12	2.16	1.69	2.18	1.83
C18:1	34.08	1.18	32.57	28.28	29.85	25.51
C18:0	34.92	1.08	12.92	20.62	19.34	14.74
C18:2	35.67	1.30	3.58	3.51	3.45	2.83
C18:2	36.00	1.30	2.64	2.99	2.73	2.02
C18:2	37.25	1.28	1.57	3.31	0.92	0.89
C19:1	37.67	1.08	1.10	0.92	1.34	1.80
C19:0	38.67	1.02	0.86	1.26	0.72	1.07
C20:1	41.67	1.20	1.43	1.56	1.96	1.33
C20:0	42.58	1.12	0.92	1.17	1.02	0.86

由表 2 可知，不同地区的牛油样品中共检出 25 种脂肪酸，其中十二烷酸、12 甲基十三烷酸只在部分牛油样品中检出，而其余 23 种脂肪酸在所有样品中均被检出，因此，确定牛油共有的 23 种脂肪酸作为其特征脂肪酸成分。

2.1.3 羊油中脂肪酸成分的提取

按照猪油中脂肪酸成分的提取方法，对不同地区羊油中检出的脂肪酸进行了比较，结果见表 3。

表 3 不同地区羊油中检出的脂肪酸成分

	一维保留时间	二维保留时间	不同地区的羊油			
			北京	河南	山东	湖北
C12:0	17.00	0.52	-	-	0.50	0.51
12 甲基十三烷酸	20.42	0.64	-	-	0.75	0.59
C14:0	21.33	0.70	3.81	2.91	3.42	2.93
13 甲基十四烷酸	23.08	0.70	0.56	0.42	0.93	0.85
12 甲基十四烷酸	23.33	0.72	0.77	0.55	1.40	1.27
C15:0	24.25	0.76	1.79	1.27	2.24	1.79
14 甲基十五烷酸	26.25	0.80	0.84	1.00	1.46	1.53
C16:1	26.83	0.90	4.25	4.49	3.52	3.82
C16:0	27.58	0.92	13.96	13.98	14.19	14.20

15 甲基十六烷酸	29.67	0.88	1.21	1.09	1.45	1.66
14 甲基十六烷酸	30.00	0.90	1.83	1.64	2.16	2.31
C17:1	30.25	0.96	3.03	2.32	2.03	2.74
C17:0	31.08	0.94	3.37	2.57	3.81	4.55
16 甲基十七烷酸	33.42	0.94	1.21	-	1.61	1.59
C18:2	33.67	1.10	2.87	2.61	2.26	1.40
C18:1	34.00	1.12	30.92	34.10	17.69	26.42
C18:3	34.00	1.24	-	-	4.78	-
C18:0	34.94	1.10	16.20	15.14	23.62	22.15
C18:2	35.58	1.22	4.55	4.95	1.55	1.55
C18:3	35.58	1.32	-	-	2.33	1.36
C18:2	35.92	1.22	3.74	4.31	1.61	1.20
C18:2	36.58	1.22	1.18	1.38	-	-
C18:2	37.17	1.26	2.30	3.05	1.23	0.87
C19:1	37.67	1.08	-	-	1.14	1.62
C19:0	38.67	1.04	-	-	1.66	1.34
C20:1	41.67	1.16	0.78	1.22	0.87	0.74
C20:0	42.58	1.10	0.83	0.99	1.78	1.01

由表 3 可知，不同地区的羊油样品中共检出 27 种脂肪酸，其中十二烷酸、12 甲基十三烷酸、亚麻酸的两种结构异构体、一维保留时间为 36.58min 的亚油酸异构体及十九烯酸、十九烷酸只在部分羊油样品中检出，而其余 20 种脂肪酸在所有样品中均被检出，因此，确定羊油共有的 20 种脂肪酸作为其特征脂肪酸成分。

2.1.4 鸡油中脂肪酸成分的提取

按照猪油中脂肪酸成分的提取方法，对不同地区鸡油中检出的 19 种脂肪酸进行了分析，除去仅在部分鸡油样品中检出的十四烯酸(C14:1)、十五烷酸(C15:0)、十七烯酸(C17:1)、十七烷酸(C17:0)、亚麻酸(C18:3)及十九烯酸(C19:1)、十九烷酸(C19:0)、花生酸(C20:0)后，确定肉豆蔻酸(C14:0)、棕榈油酸(C16:1)、棕榈酸(C16:0)、十八碳二烯酸(C18:2)的 5 种结构异构体、油酸(C18:1)、硬脂酸(C18:0)及花生烯酸(C20:1)为鸡油的特征脂肪酸成分。

2.1.5 鸭油中脂肪酸成分的提取

按照猪油中脂肪酸成分的提取方法，比较不同地区鸭油中检出的脂肪酸种类，确定肉豆蔻酸(C14:0)、棕榈油酸(C16:1)、棕榈酸(C16:0)、十八碳二烯酸(C18:2)的 5 种结构异构体、油酸(C18:1)、硬脂酸(C18:0)及花生烯酸(C20:1)为鸭油的特征脂肪酸成分。

2.2 不同动物油中脂肪酸成分的比较

对 2.1 中提取的不同动物油的特征脂肪酸成分进行统计比较(见表 5)，发现 5 种动物油中均检出肉豆蔻酸(C14:0)、棕榈油酸(C16:1)、棕榈酸(C16:0)、一维保留时间分别为 33.75min、35.67min、36.00min、37.25min 的 4 种十八碳二烯酸(C18:2)、油酸(C18:1)、硬脂酸(C18:0)及花生烯酸(C20:1)等脂肪酸成分。同时，牛油、羊油中还检出了其它 3 种动物油中不含有的十五烷酸、棕榈酸、十七烷酸、硬脂酸的甲基异构体，猪油中检出了其独有的二十碳二烯酸的 3 种结构异构体，鸡油、鸭油的脂肪酸成分完全相同。据此，可将 5 种动物油分为猪油、牛羊油、鸡鸭油三类。

表5 不同动物油的特征脂肪酸成分

	一维保留时间	二维保留时间	不同动物油				
			猪油	牛油	羊油	鸡油	鸭油
C12:0	17.00	0.52	+	-	-	-	-
C14:1	21.08	0.72	-	+	-	-	-
C14:0	21.33	0.70	+	+	+	+	+
13 甲基十四烷酸	23.08	0.70	-	+	+	-	-
12 甲基十四烷酸	23.33	0.72	-	+	+	-	-
C15:0	24.25	0.76	-	+	+	-	-
14 甲基十五烷酸	26.25	0.80	-	+	+	-	-
C16:1	26.83	0.90	+	+	+	+	+
C16:0	27.58	0.92	+	+	+	+	+
15 甲基十六烷酸	29.75	0.88	-	+	+	-	-
14 甲基十六烷酸	30.08	0.90	-	+	+	-	-
C17:1	30.25	0.78	+	+	+	-	-
C17:0	31.08	0.92	+	+	+	-	-
16 甲基十七烷酸	33.42	0.92	-	+	+	-	-
C18:2	33.75	1.12	+	+	+	+	+
C18:1	34.08	1.18	+	+	+	+	+
C18:0	34.92	1.08	+	+	+	+	+
C18:2	35.67	1.30	+	+	+	+	+
C18:2	36.00	1.30	+	+	+	+	+
C18:2	36.58	1.26	+	-	-	+	+
C18:2	37.25	1.28	+	+	+	+	+
C19:1	37.67	1.08	-	+	-	-	-
C19:0	38.67	1.04	-	+	-	-	-
C20:2	41.42	1.22	+	-	-	-	-
C20:1	41.67	1.20	+	+	+	+	+
C20:0	42.58	1.12	+	+	+	-	-
C20:2	43.33	1.36	+	-	-	-	-
C20:2	43.67	1.36	+	-	-	-	-

3 结论

利用全二维气相色谱-质谱法检验了常见动物油中的脂肪酸成分,分别比较了不同地区相同动物油的脂肪酸组成,提取了其特征脂肪酸成分,并进一步比较了猪、牛、羊、鸡、鸭等不同动物油的脂肪酸成分,将5种动物油分为猪油、牛羊油、鸡鸭油三类,实现了不同动物油的初步鉴别,可为公安实践中动物油的检验鉴定提供依据,为案件侦查提供帮助。

参考文献

- [1] 张炳谦,王季中,孙桂进.人体脂肪及动植物油脂的GC-MS/MS法分析[J].中国人民公安大学学报(自然科学版),2004(4):10-12.
- [2] 王翔,戴长建.部分动植物油的拉曼光谱研究[J].光谱学与光谱分析,2015(4):929-933.
- [3] 吴晓红,程欲晓,杨勇等.近红外光谱法快速测定动植物油脂中游离脂肪酸含量[J].理化检验-化学分册,2013(9):1025-1028.