

罗叶丽, 李国薇, 董梅, 等. 气相色谱-氢火焰离子化检测器测定婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸含量 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(11): 245-253. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040281

LUO Yeli, LI Guowei, DONG Mei, et al. Determination of 37 Kinds of Fatty Acids in Infant Milk Powder by Gas Chromatography-Hydrogen Flame Ionization Detector[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(11): 245-253. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040281

· 分析检测 ·

气相色谱-氢火焰离子化检测器测定婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸含量

罗叶丽¹, 李国薇^{2,*}, 董梅¹, 赵璧², 强鑫²

(1.渭南市检验检测研究院, 陕西渭南 714000;

2.富平县检验检测中心(陕西省羊乳产品质量监督检验中心), 陕西富平 711700)

摘要:目的: 建立气相色谱-氢火焰离子化检测器测定乳粉中 37 种脂肪酸含量的分析方法。方法: 婴幼儿乳粉样品运用乙酰氯-甲醇法(10%乙酰氯甲醇溶液于 80 °C±1 °C 水浴 2 h) 甲酯化, 离心取上清液过 0.22 μm 的有机滤膜后经 SP-2560 (100 m×250 μm×0.2 μm) 分离, 气相色谱法检测, 外标法定量。结果: 37 种脂肪酸甲酯在 0.002~0.2 mg/mL 浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.999, 回收率低梯度在 85.5%~100.0% 之间, 中梯度在 91.2%~104.2% 之间, 高梯度在 86.8%~103.8% 之间, 精密性在 0.88%~3.81% 之间, 实际样品测定结果符合相关标准要求。结论: 该方法是在国标基础上建立了一种更为快速、分离度更好的脂肪酸检测技术, 有很好的实用价值, 方法稳定性好, 成本低, 重现性好, 准确度高, 适用于婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸含量的测定。

关键词: 脂肪酸, 乙酰氯-甲醇法, 气相色谱法, 婴幼儿乳粉

中图分类号: O657.7¹

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)11-0245-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040281

本文网刊:



Determination of 37 Kinds of Fatty Acids in Infant Milk Powder by Gas Chromatography-Hydrogen Flame Ionization Detector

LUO Yeli¹, LI Guowei^{2,*}, DONG Mei¹, ZHAO Bi², QIANG Xin²

(1. Weinan Inspection and Research Institute, Weinan 714000, China;

2. Fuping County Inspection and Testing Center (Shaanxi Sheep Milk Product Quality Supervision and Inspection Center), Fuping 711700, China)

Abstract: Objective: To establish an analytical method for the determination of 37 kinds of fatty acid in milk powder by gas chromatography-hydrogen flame ionization detector (GC-FID). Methods: Infant milk powder samples were methylated by acetyl chloride-methanol method (10% acetyl chloride methanol solution in water bath at 80 °C±1 °C for 2 h). The supernatant was collected by centrifugation, passed through a 0.22 μm organic filter membrane, and separated through SP-2560 (100 m×250 μm×0.2 μm). Then, the detection was operated by gas chromatography, and the external standard method was used for quantification. Results: The linearity of 37 kinds of fatty acid methyl esters was good in the concentration range of 0.002~0.2 mg/mL, and the correlation coefficients were all greater than 0.999. The recovery rate fell in 85.5%~100.0% for the low gradient, 91.2%~104.2% for the medium gradient, and 86.8%~103.8% for the high gradient. The precision was between 0.88% and 3.81%, and the actual sample determination results met the relevant standards. Conclusion: This method is a more rapid and better separation degree of fatty acid detection technology established on the basis of national standard, which has good practical value. The method has good stability, low cost, good reproducibility and high accuracy, and it is suitable for the determination of 37 kinds of fatty acid in infant milk powder.

Key words: fatty acid; acetyl chloride-methanol method; gas chromatography; infant milk powder

收稿日期: 2022-04-25

作者简介: 罗叶丽 (1988-), 女, 硕士, 中级工程师, 研究方向: 食品营养物质、重金属及有毒有害物质的检测, E-mail: syh_200@126.com。

* 通信作者: 李国薇 (1988-), 女, 硕士, 中级工程师, 研究方向: 食品营养物质及有害成分检测, E-mail: xi_aoweilove_ok@126.com。

脂肪酸(fatty acid),是指一端含有一个羧基的长的脂肪族碳氢链,通式是 $C_{(n)}H_{(2n+1)}COOH$,根据碳氢链的不饱和程度可分为饱和脂肪酸(SFA)、单不饱和脂肪酸(MUFA)和多不饱和脂肪酸(PUFA)^[1-6]。脂肪酸在有充足氧供给的情况下,可氧化分解为 CO_2 和 H_2O ,释放大量能量,因此脂肪酸是机体主要能量来源之一。婴幼儿所需的能量基本由乳粉中摄入,亚麻酸和亚油酸是人体内两种必需脂肪酸,因为人体虽然不能直接合成其他多不饱和脂肪酸,但是可以通过亚油酸和 α -亚麻酸在体内合成其他多不饱和脂肪酸,如DHA、ARA等,需要注意的是摄入的比例要适当,婴幼儿配方食品中对于亚油酸和 α -亚麻酸的添加比例要求在5:1~15:1(GB 10765-2010 婴儿配方食品)。月桂酸和肉豆蔻酸是两种饱和脂肪酸,国标 10765-2010 规定月桂酸和肉豆蔻酸的总量不应超过总脂肪酸的 20%,因此摄入量要适度,否则会引起高胆固醇血症。 ω -3 多不饱和脂肪酸是脑组织中含量丰富的脂肪酸,对大脑具有保护作用^[7-8],尤其是其中的二十碳四烯酸(花生四烯酸(ARA))和二十二碳六烯酸(DHA)是大脑中两种主要的长链多不饱和脂肪酸,对胎儿脑发育和神经髓鞘的形成起着很重要的作用^[9-12]。此外,在乳粉的生产过程中很容易生成反式脂肪酸,因此其存在于乳粉中是不可避免的^[13],我国国标 10765-2010 规定婴幼儿配方乳粉中反式脂肪酸含量要少于总脂肪酸的 3%。婴幼儿长期食用反式脂肪酸含量超标的乳粉一方面会干扰其对必需脂肪酸的利用,另一方面也可能造成中枢神经系统发育障碍^[14-15],所以,检测婴幼儿乳品中的脂肪酸含量至关重要。

目前,针对食品中脂肪酸的测定方法有很多^[2, 16-17],主要有气相色谱法(GC)^[18-19]、气相色谱-质谱联用法^[20-24]、高效液相色谱法(HPLC)^[25-26]、高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)^[27]、快速测定法^[28-33]等。由于气相色谱法具有操作简单、灵敏度高、检出限低、分离度好等优点,因此本文选择在国标的基础上,通过优化相关色谱条件,建立一种能够更为快速检测乳粉中脂肪酸含量的方法。

我国国家标准 GB 5009.168-2016 检测脂肪酸的方法时间较长,需要 85 min。为了更好地节约试剂和时间,本方法采用逐级稀释的方法进行检测,以期能够提高检测速度,也为其他研究者提供研究思路。此外为了能够更好地验证该方法的可靠性和实用性,本研究进行了方法学验证和实际样品的检测,为婴幼儿乳粉中脂肪酸含量的测定提供了理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

正庚烷、甲苯、甲醇(以上均为色谱级)、乙酰氯(分析纯) 上海阿拉丁生化科技股份有限公司;无水碳酸钠 分析纯,国药集团化学试剂有限公司;37 种

脂肪酸甲酯单标 纯度均大于 99.0%,上海安谱实验科技股份有限公司。

7890B 气相色谱仪 配氢火焰离子检测器(FID),美国安捷伦公司;SP-2560 色谱柱 100 m×250 μ m×0.2 μ m,上海安谱实验科技股份有限公司;CPA224S 电子分析天平 德国赛多利斯集团公司;HH-S4A 恒温水浴锅 中国北京科伟永兴仪器有限公司;TG16-WS 高速离心机 中国湖南湘仪实验室仪器发展有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液的配制 分别将所购买的 37 种单个脂肪酸甲酯标准品从安剖瓶中取出完全溶解转移到 10 mL 容量瓶中,用正庚烷冲洗安剖瓶,再用正庚烷定容,分别得到不同脂肪酸甲酯的单标准溶液,除丁酸甲酯、己酸甲酯、癸酸甲酯标准储备液浓度为 100 mg/mL,其余 34 种脂肪酸甲酯浓度均为 10 mg/mL,装在棕色的标品瓶中,封口膜密封后储存于-20 $^{\circ}C$ 冰箱中备用。

脂肪酸甲酯混合标准溶液:分别吸取丁酸甲酯、己酸甲酯、癸酸甲酯标准储备液(100 mg/mL)各 0.02 mL,其余 34 种脂肪酸甲酯标准储备液(10 mg/mL)各 0.2 mL 于 10 mL 容量瓶中,正庚烷定容。

1.2.2 样品前处理 样品前处理过程及结果计算见 GB5009.168-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》(第二法 乙酰氯-甲醇法)。婴幼儿乳粉样品运用乙酰氯-甲醇法(10% 乙酰氯甲醇溶液于 80 $^{\circ}C$ ±1 $^{\circ}C$ 水浴 2 h)甲酯化,离心取上清液过 0.22 μ m 的有机滤膜后经 SP-2560(100 m×250 μ m×0.2 μ m)分离,气相色谱法检测,外标法定量。

1.2.3 色谱条件 本方法所用的色谱条件是在 GB 5009.168-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》的基础上经过优化得到的,采用该色谱条件可以达到 37 种脂肪酸的分离,具体的色谱条件如下:

进样器温度:250 $^{\circ}C$;检测器温度:260 $^{\circ}C$;载气:高纯氮气(纯度 \geq 99.999%);流速:0.45 mL/min;分流比:30:1;柱温程序升温:130 $^{\circ}C$ 保持 5 min,4 $^{\circ}C$ /min 升至 240 $^{\circ}C$,保持 30 min。进样体积:1.0 μ L;尾吹气流量:25 mL/min;恒压模式:26.795 psi。

定性定量方法:分别取单个脂肪酸甲酯标准溶液和脂肪酸甲酯混合标准溶液注入气相色谱仪,根据保留时间对色谱峰进行定性,外标法进行定量。

1.3 数据处理

本文样品测定均采用平行进样方式,即每个样品同等条件下处理两个,进行进样,结果以两个样品的平均值为最终结果;本文数据运用安捷伦 7890B 气相色谱仪数据处理软件 OpenLAB CDS 进行处理,结果以浓度(mg/L)计,最终结果运用 Excel 表格进行计算,以含量(g/100 g)表示;本文所用色谱图均直接应用安捷伦气相色谱仪数据处理软件 OpenLAB CDS 复制原图。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的优化

由于脂肪酸种类较多, 色谱条件的变化会对峰有较大的影响, 其中载气流速和程序升温对组分的分析至关重要, 因此本实验通过载气流速、升温程序条件的优化, 使 37 种脂肪酸甲酯的分离程度满足了实验要求。具体优化见表 1。

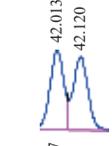
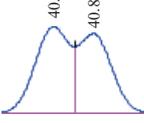
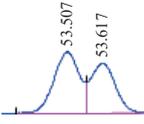
通过表 1 可以看出, 当升温过慢时, 峰总数不够, 可能是部分峰重叠引起的, 不能达到完全分离, 当流速过快或者过慢时也会使分离不完全, 最终导致峰个数不够^[1], 满足不了实验要求, 综合以上原因, 本研究最终选择 130 °C 保持 5 min, 4 °C/min 升至 240 °C, 保持 30 min 的升温程序, 0.45 mL/min 的载气流速作为实验条件进行实验。此条件下测得浓度为 0.2 mg/mL 的 37 种脂肪酸甲酯的色谱图如下图 1 所示, 各个脂肪酸甲酯分离良好, 满足实验要求。

2.2 方法优势分析

本文对国家食品安全标准 GB 5009.168-2016 中脂肪酸的测定色谱条件进行了优化, 由图 2 和图 3 可以看出, 采用国标参考色谱条件单样品上机检测时长 85 min, 采用某乳粉企业常规检测使用色谱条件单样品上机检测时长 117.5 min, 采用本文优化色谱条件单样品上机检测时长 62.5 min, 较前两种

表 1 色谱条件优化结果统计

Table 1 Statistics of the optimized results of the chromatographic conditions

序号	程序升温	流速 (mL/min)	结果	举例
1		0.40	峰总数36个	
2		0.45	峰总数37个, 分离度满足要求	如图1
3	130 °C 保持 5 min, 4 °C/min 升至 240 °C, 保持 30 min	0.50	峰总数37个, 有双头峰出现, 分离度不满足要求	
4		0.55	峰总数37个, 有双头峰出现, 分离度不满足要求	
5		0.60	峰总数36个	
6		0.40	峰总数36个	
7	130 °C 保持 5 min, 3 °C/min 升至 240 °C, 保持 30 min	0.45	峰总数36个, 有双头峰出现	
8		0.50	峰总数35个	

方法, 本文优化色谱条件分别节约相对时长 26.5% 和 46.8%。

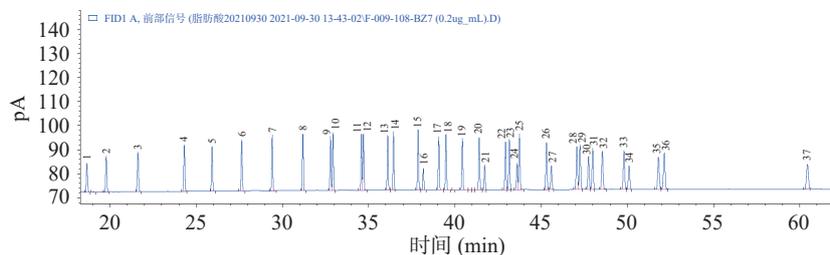


图 1 37 种脂肪酸甲酯色谱图

Fig.1 The chromatomap of 37 kinds fatty acid methyl esters

注: 1.丁酸甲酯(C4:0), 2.己酸甲酯(C6:0), 3.辛酸甲酯(C8:0), 4.癸酸甲酯(C10:0), 5.十一碳酸甲酯(C11:0), 6.月桂酸甲酯(C12:0), 7.十三碳酸甲酯(C13:0), 8.肉豆蔻酸甲酯(C14:0), 9.肉豆蔻烯酸甲酯(C14:1), 10.十五碳酸甲酯(C15:0), 11.十五碳一烯酸甲酯(C15:1), 12.棕榈酸甲酯(C16:0), 13.十六碳烯酸甲酯(C16:1), 14.十七碳酸甲酯(C17:0), 15.十七碳一烯酸甲酯(C17:1), 16.硬脂酸甲酯(C18:0), 17.反式油酸甲酯(C18:1n9t), 18.油酸甲酯(C18:1n9c), 19.反式亚油酸甲酯(C18:2n6t), 20.亚油酸甲酯(C18:2n6c), 21.花生酸甲酯(C20:0), 22.亚麻酸甲酯(C18:3n6), 23.二十碳烯酸甲酯(C20:1), 24.二十一碳酸甲酯(C21:0), 25.α-亚麻酸甲酯(C18:3n3), 26.二十碳二烯酸甲酯(C20:2), 27.二十二碳酸甲酯(C22:0), 28.二十碳三烯酸甲酯(C20:3n6), 29.芥酸甲酯(C22:1n9), 30.二十碳三烯酸甲酯(C20:3n3), 31.花生四烯酸 ARA 甲酯(C20:4n6), 32.二十三碳酸甲酯(C23:0), 33.二十二碳二烯酸甲酯(C22:2), 34.二十四碳酸甲酯(C24:0), 35.二十碳五烯酸 EPA 甲酯(C20:5n3), 36.二十四碳一烯酸甲酯(C24:1), 37.二十二碳六烯酸甲酯 DHA 甲酯(C22:6n3)。

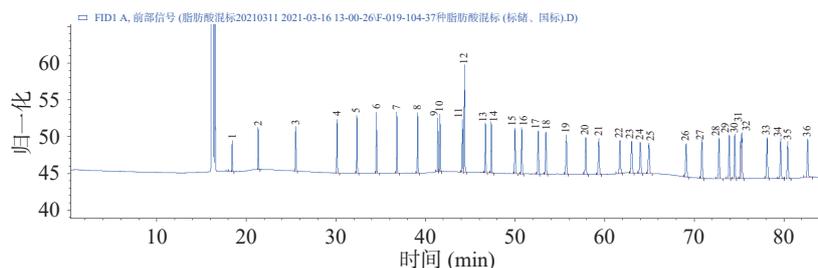


图 2 37 种脂肪酸甲酯色谱图(GB 5009.168-2016)

Fig.2 The chromatomap of 37 kinds fatty acid methyl esters (GB 5009.168-2016)

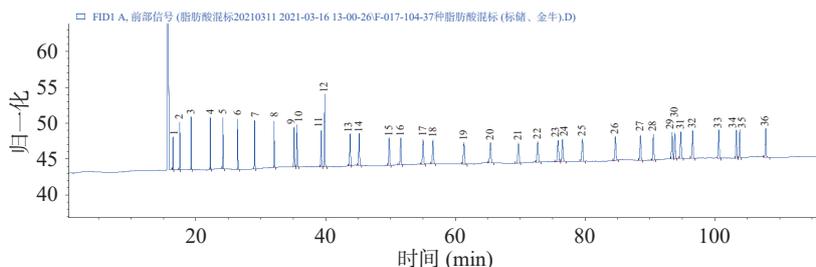


图3 37种脂肪酸甲酯色谱图(某乳粉企业)

Fig.3 The chromatomap of 37 kinds fatty acid methyl esters (A milk powder enterprise)

本文分别采用国家食品安全标准 GB 5009.168-2016 参考色谱条件、某乳粉企业常规检测使用色谱条件及本实验室优化后色谱条件对同一 37 种脂肪酸甲酯混标进行了测定,结果显示:国标及乳品企业可能有部分色谱峰发生重叠,没有完全分离开,因此仅分离出 36 个峰,且国标色谱条件分离出的 31 和 32 号峰分离度较差(见图 2 和图 3),而采用本实验室优化后色谱条件分离出 37 个峰,与标品数量一致,且分离度较好(见图 1)。

由此可以看出,本实验室优化色谱条件在节约分析时间,提高分离度两方面具有明显优势,也为其他实验室气相色谱条件优化提供了思路。

2.3 方法学验证

2.3.1 色谱峰定性分析 为了更好的确定 37 种脂肪酸的出峰顺序,本实验分别将 37 种脂肪酸甲酯单标和脂肪酸甲酯混合标准溶液分别注入气相色谱仪,对色谱峰进行定性分析,根据保留时间定性,结果见表 2,结果表明 C18:3n3 单标出峰时间为 43.802 min, C21:0 单标出峰时间为 43.708 min,应该 C21:0 先出峰,故 24 号应为 C21:0, 25 号应为 C18:3n3,其余 35 种脂肪酸甲酯单标出峰时间与混标出峰时间可以一一对应,因此能够确定混标中各化合物的位置。

2.3.2 线性关系、定量限

2.3.2.1 线性关系 按照优化后的色谱条件测定 37 种脂肪酸甲酯混标系列工作溶液,浓度分别为 0.002、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 mg/mL,然后以色谱峰峰面积 Y 对标品浓度 X 进行线性回归,

得出线性回归方程,结果见表 3。从表中可以看出,各个组分在 0.002~0.2 mg/mL 浓度范围内相关系数 r 均大于 0.999,浓度与峰面积呈线性关系且线性良好。

2.3.2.2 定量限 为了更好的说明该方法的实用性,本文对 GB 5009.168-2016 中的定量限(LOQ)进行了验证,由于脂肪酸空白乳粉样品难以得到,因此用各脂肪酸甲酯含量 0.0033 mg/mL 和 0.0066 mg/mL 的标准混合溶液(约相当于样品含量为 0.0033 g/100 g 和 0.0066 g/100 g)进行定量限验证,结果显示以国标定量限要求进样测定时信噪比的浓度(S/N)均大于 $10^{[34]}$,说明该方法的定量限均低于国标方法的定量限,结果见表 4。

2.3.3 精密度实验 精密度表示的是测量的重现性,也是保证测量准确度的先决条件,一般来说,测量的精密度不好,那么该实验很难有良好的准确度。因此,为了保证所测结果的准确度,本实验进行了精密度实验。平行移取 6 份浓度为 0.01 mg/mL 的 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液,按照实验条件依次进行测定,根据测定的浓度来计算相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs),从而来考查方法的精密度,结果见表 5。结果显示该方法的精密度在 0.88%~3.81% 之间,说明该方法有很好的重现性,从而也为准确测量样品提供了有力的依据。

2.3.4 方法的回收率 准确度是指测定的平均值和真值相符的程度,一个实验是否可行准确,判断方法的准确度至关重要,实验中经常用回收率来表示方法

表2 色谱峰定性分析结果

Table 2 Results of the qualitative analysis of the chromatographic peaks

序号	名称	单标时间(min)	混标时间(min)	序号	名称	单标时间(min)	混标时间(min)	序号	名称	单标时间(min)	混标时间(min)
1	C4:0	18.74	18.684	14	C17:0	36.513	36.442	27	C22:0	45.705	45.597
2	C6:0	19.863	19.808	15	C17:1	37.938	37.869	28	C20:3n6	47.126	47.080
3	C8:0	21.697	21.646	16	C18:0	38.261	38.172	29	C22:1n9	47.340	47.262
4	C10:0	24.388	24.336	17	C18:1n9t	39.142	39.071	30	C20:3n3	48.036	47.756
5	C11:0	26.001	25.947	18	C18:1n9c	39.556	39.489	31	C20:4n6	48.592	47.997
6	C12:0	27.721	27.667	19	C18:2n6t	40.502	40.436	32	C23:0	47.856	48.556
7	C13:0	29.493	29.438	20	C18:2n6c	41.475	41.413	33	C22:2	49.862	49.810
8	C14:0	31.273	31.214	21	C20:0	41.832	41.731	34	C24:0	50.229	50.108
9	C14:1	32.873	32.819	22	C18:3n6	42.997	42.940	35	C20:5n3	51.847	51.816
10	C15:0	33.026	32.962	23	C20:1	43.229	43.159	36	C24:1	52.248	52.152
11	C15:1	34.639	34.585	24	C18:3n3	43.802	43.608	37	C22:6n3	60.507	60.458
12	C16:0	34.768	34.703	25	C21:0	43.708	43.748				
13	C16:1	36.163	36.108	26	C20:2	45.369	45.314				

表 3 37 种脂肪酸甲酯的线性回归方程

Table 3 The linear equations of the 37 kinds of fatty acid methyl esters

序号	化合物	浓度范围(mg/mL)	回归方程	相关系数 r	序号	化合物	浓度范围(mg/mL)	回归方程	相关系数 r
1	C4:0	0.002~0.2	$Y=287.47101X+0.265797$	0.99984	20	C18:2n6c	0.002~0.2	$Y=495.43415X-0.0999114$	0.99997
2	C6:0	0.002~0.2	$Y=369.98152X+0.0486260$	0.99998	21	C20:0	0.002~0.2	$Y=222.91650X-0.233088$	0.99959
3	C8:0	0.002~0.2	$Y=395.21120X-0.0443436$	0.99998	22	C18:3n6	0.002~0.2	$Y=462.77099X-0.211804$	0.99992
4	C10:0	0.002~0.2	$Y=444.72122X-0.0516759$	0.99996	23	C20:1	0.002~0.2	$Y=485.68875X-0.229321$	0.99991
5	C11:0	0.002~0.2	$Y=411.03663X-0.0924383$	0.99996	24	C21:0	0.002~0.2	$Y=254.94246X-0.135998$	0.99985
6	C12:0	0.002~0.2	$Y=455.26881X-0.0524545$	0.99996	25	C18:3n3	0.002~0.2	$Y=567.76917X-0.215109$	0.99994
7	C13:0	0.002~0.2	$Y=481.55945X-0.136193$	0.99996	26	C20:2	0.002~0.2	$Y=490.44683X-0.0988460$	0.99996
8	C14:0	0.002~0.2	$Y=476.33386X-0.0509038$	0.99998	27	C22:0	0.002~0.2	$Y=245.07514X-0.0848123$	0.99994
9	C14:1	0.002~0.2	$Y=413.36235X-0.148176$	0.99995	28	C20:3n6	0.002~0.2	$Y=478.73660X-0.0978376$	0.99996
10	C15:0	0.002~0.2	$Y=438.10240X-0.200717$	0.99993	29	C22:1n9	0.002~0.2	$Y=505.07453X+0.00328606$	0.99998
11	C15:1	0.002~0.2	$Y=472.20237X-0.154981$	0.99996	30	C20:3n3	0.002~0.2	$Y=375.94478X-0.342025$	0.99972
12	C16:0	0.002~0.2	$Y=465.70415X-0.0167539$	0.99999	31	C20:4n6	0.002~0.2	$Y=472.57919X-0.161708$	0.99991
13	C16:1	0.002~0.2	$Y=476.21573X-0.0970916$	0.99998	32	C23:0	0.002~0.2	$Y=450.75622X-0.0716064$	0.99993
14	C17:0	0.002~0.2	$Y=495.77014X-0.117625$	0.99997	33	C22:2	0.002~0.2	$Y=471.87786X-0.192971$	0.99991
15	C17:1	0.002~0.2	$Y=525.93097X-0.153926$	0.99996	34	C24:0	0.002~0.2	$Y=300.61982X+0.00606836$	0.99996
16	C18:0	0.002~0.2	$Y=190.11571X+0.0611815$	0.99999	35	C20:5n3	0.002~0.2	$Y=426.16295X-0.0741455$	0.99993
17	C18:1n9t	0.002~0.2	$Y=480.50965X-0.154013$	0.99992	36	C24:1	0.002~0.2	$Y=503.25603X-0.00719366$	0.99990
18	C18:1n9c	0.002~0.2	$Y=503.07903X-0.0732298$	0.99998	37	C22:6n3	0.002~0.2	$Y=425.76968X-0.321497$	0.99991
19	C18:2n6t	0.002~0.2	$Y=478.81231X-0.0617369$	0.99997					

表 4 定量限验证结果

Table 4 The validation results of LOQ

序号	化合物	理论定量限(g/100 g)	测得含量(g/100 g)	信噪比	序号	化合物	理论定量限(g/100 g)	测得含量(g/100 g)	信噪比
1	C4:0	0.0033	0.0040	13.0	20	C18:2n6c	0.0033	0.0037	24.6
2	C6:0	0.0033	0.0039	16.4	21	C20:0	0.0066	0.0079	13.0
3	C8:0	0.0033	0.0036	17.8	22	C18:3n6	0.0066	0.0070	23.8
4	C10:0	0.0066	0.0073	22.8	23	C20:1	0.0033	0.0037	23.7
5	C11:0	0.0033	0.0031	18.4	24	C21:0	0.0033	0.0035	12.3
6	C12:0	0.0066	0.0073	25.1	25	C18:3n3	0.0033	0.0036	25.8
7	C13:0	0.0033	0.0035	25.3	26	C20:2	0.0033	0.0035	21.8
8	C14:0	0.0033	0.0034	25.4	27	C22:0	0.0066	0.0051	10.4
9	C14:1	0.0033	0.0036	23.9	28	C20:3n6	0.0033	0.0031	18.3
10	C15:0	0.0033	0.0037	26.0	29	C22:1n9	0.0033	0.0033	21.3
11	C15:1	0.0033	0.0035	25.6	30	C20:3n3	0.0033	0.0035	16.2
12	C16:0	0.0066	0.0071	28.7	31	C20:4n6	0.0033	0.0034	18.8
13	C16:1	0.0033	0.0037	24.7	32	C23:0	0.0033	0.0035	17.5
14	C17:0	0.0066	0.0070	29.9	33	C22:2	0.0033	0.0036	17.8
15	C17:1	0.0033	0.0034	27.5	34	C24:0	0.0066	0.0070	13.0
16	C18:0	0.0066	0.0076	11.4	35	C20:5n3	0.0033	0.0036	14.9
17	C18:1n9t	0.0033	0.0034	24.1	36	C24:1	0.0033	0.0034	17.6
18	C18:1n9c	0.0066	0.0072	28.6	37	C22:6n3	0.0033	0.0025	10.2
19	C18:2n6t	0.0033	0.0033	23.1					

表 5 方法精密度实验结果(n=6)

Table 5 Results of precision for this method (n=6)

序号	名称	精密度(%)	序号	名称	精密度(%)	序号	名称	精密度(%)	序号	名称	精密度(%)
1	C4:0	2.29	11	C15:1	1.23	21	C20:0	3.05	31	C20:4n6	1.47
2	C6:0	1.81	12	C16:0	1.83	22	C18:3n6	2.01	32	C23:0	1.87
3	C8:0	1.59	13	C16:1	1.86	23	C20:1	0.93	33	C22:2	1.28
4	C10:0	1.87	14	C17:0	1.57	24	C18:3n3	1.97	34	C24:0	1.17
5	C11:0	1.85	15	C17:1	1.90	25	C21:0	1.75	35	C20:5n3	2.44
6	C12:0	1.82	16	C18:0	3.71	26	C20:2	2.16	36	C24:1	2.19
7	C13:0	2.14	17	C18:1n9t	2.35	27	C22:0	3.81	37	C22:6n3	1.47
8	C14:0	1.67	18	C18:1n9c	1.45	28	C20:3n6	1.29			
9	C14:1	0.88	19	C18:2n6t	2.30	29	C22:1n9	1.82			
10	C15:0	1.19	20	C18:2n6c	1.73	30	C20:3n3	1.84			

的准确度。为了能够更好地验证本方法的准确性和各项操作的可靠性,本实验选择了某企业的婴幼儿羊

乳粉作为本底,由于乳粉中部分脂肪酸本底较高,加标测定时本底影响较大,因此本文选择了十一烷酸甲

酯、十三烷酸甲酯、十四碳烯酸甲酯(顺-9)(肉豆蔻烯酸甲酯)、十五烷酸甲酯、十五碳烯酸甲酯(顺-10)、十六碳烯酸甲酯(顺-9)(棕榈酸甲酯)、十七烷酸甲酯(珠光脂酸甲酯)、十八碳二烯酸甲酯(反-9,12)(反亚油酸甲酯)、十八碳三烯酸甲酯(顺-6,9,12)、二十碳烯酸甲酯(顺-11)、二十一烷酸甲酯、顺、顺-11,14-二十碳二烯酸甲酯、二十二烷酸甲酯(山俞酸甲酯)、二十碳三烯酸甲酯(顺-8,11,14,)、二十碳三烯酸甲酯(顺-11,14,17)、二十三烷酸甲酯、二十二碳二烯酸甲酯(顺 13,16)、二十四烷酸甲酯(木蜡酸甲酯)、二十四碳烯酸甲酯(顺-15)(神经酸甲酯)共 19 种脂肪酸甲酯进行回收率实验,分别向本底中加入不同浓度的各脂肪酸甲酯单标溶液,通过优化后的实验条件进行实验,回收率实验结果见表 6。其中理论加标量以称样量 0.5 g,定容体积 5 mL 计算所得,实测加标量为实际测得的含量,数据结果显示本

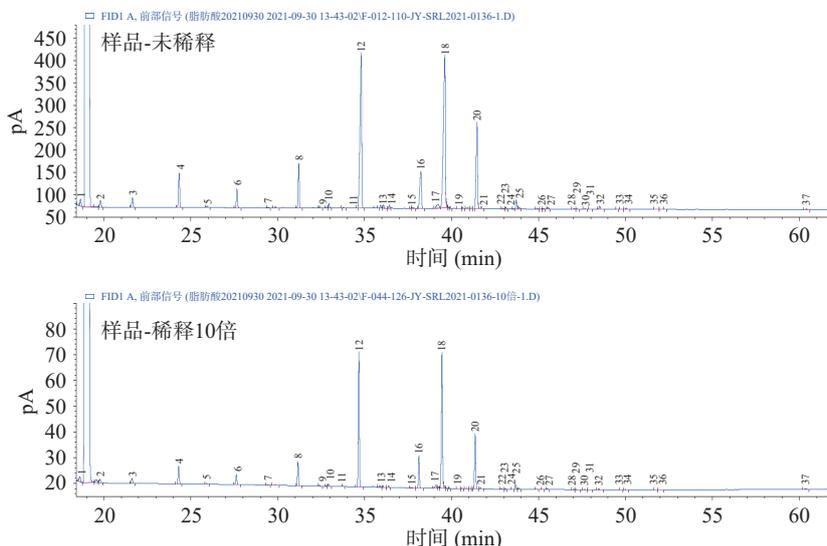
方法脂肪酸甲酯的回收率低梯度在 85.5%~100.0%之间,中梯度在 91.2%~104.2% 之间,高梯度在 86.8%~103.8% 之间,回收率良好,说明该方法的准确度高,满足实验条件。

2.3.5 实际样品的测定 为了进一步验证该方法的实用性,本实验进行了实际样品的测定,由于脂肪酸甲酯各个单标储备液浓度较小,配制 37 种脂肪酸甲酯混标最大浓度为 0.2 mg/mL,但是婴幼儿乳粉中脂肪酸含量较高,因此本实验分别将样品溶液稀释了 10 倍和 100 倍进行测定,样品代表谱图见图 4。本实验测定了婴儿配方羊奶粉(0~6 月龄,1 段)1 批次、较大婴儿配方羊奶粉(6~12 月龄,2 段)2 批次、幼儿配方羊奶粉(12~36 月龄,3 段)1 批次,测定结果见表 7。结果表明这款一段乳粉中月桂酸和肉豆蔻酸总量占总脂肪酸的百分数较高,值得关注,二段-2 中反式脂肪酸总含量相对较高,但是这几款乳粉中各个

表 6 回收率实验结果

Table 6 Results of recoveries for this method

序号	检测项目	本底值(g/100 g)	理论加标量(g/100 g)			实测加标量(g/100 g)			回收率(%)		
			低	中	高	低	中	高	低	中	高
1	C11:0	0.0344	0.0055	0.0175	0.0332	0.0398	0.0515	0.0674	98.2	97.7	99.4
2	C13:0	0.0198	0.0065	0.0186	0.0372	0.0261	0.0383	0.0521	96.9	99.5	86.8
3	C14:1	0.0196	0.0084	0.0224	0.0402	0.0271	0.0412	0.0611	89.3	96.4	103.2
4	C15:0	0.091	0.0075	0.0188	0.0328	0.0975	0.110	0.123	86.7	101.1	97.6
5	C15:1	0.00336	0.0075	0.0187	0.0328	0.0102	0.0211	0.0374	91.2	94.9	103.8
6	C16:1	0.0653	0.0047	0.0150	0.0301	0.0699	0.0809	0.0943	97.9	104.0	96.3
7	C17:0	0.056	0.0057	0.0170	0.0302	0.0612	0.0721	0.0860	91.2	94.7	99.3
8	C18:2n6t	0.00934	0.0076	0.0208	0.0397	0.0163	0.0291	0.0488	91.6	95.0	99.4
9	C18:3n6	0.0207	0.0076	0.0189	0.0397	0.0272	0.0395	0.0581	85.5	99.5	94.2
10	C20:1	0.0302	0.0066	0.0190	0.0361	0.0367	0.0494	0.0672	98.5	101.1	102.5
11	C21:0	0.0124	0.0076	0.0190	0.0399	0.0193	0.0316	0.0501	90.8	101.1	94.5
12	C20:2	0.00839	0.0085	0.0209	0.0398	0.0162	0.0291	0.0475	91.9	99.1	98.3
13	C22:0	0.0758	0.0048	0.0152	0.0286	0.0803	0.0905	0.103	93.7	96.7	95.1
14	C20:3n6	0.0139	0.0076	0.0190	0.0398	0.0211	0.0337	0.0531	94.7	104.2	98.5
15	C20:3n3	0.0185	0.0066	0.0190	0.0398	0.0243	0.0372	0.0567	87.9	98.4	96.0
16	C23:0	0.0819	0.0076	0.0143	0.0296	0.0891	0.0962	0.110	94.7	100.0	94.9
17	C22:2	0.00601	0.0076	0.0209	0.0394	0.0132	0.0260	0.0464	94.6	95.6	102.5
18	C24:0	0.0525	0.0057	0.0162	0.0325	0.0582	0.0686	0.0841	100.0	99.4	97.2
19	C24:1	0.00808	0.0076	0.0191	0.0363	0.0146	0.0255	0.0431	85.8	91.2	96.5



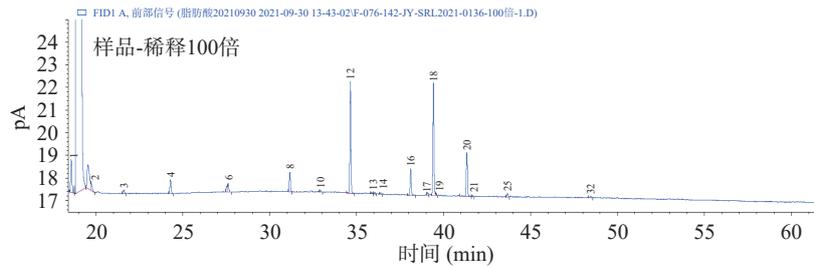


图 4 实际样品测定代表谱图

Fig.4 The representative chromatomap of actual samples

表 7 实际样品测定结果

Table 7 Results of actual samples

序号	检测项目	一段 (g/100 g)	二段-1 (g/100 g)	二段-2 (g/100 g)	三段 (g/100 g)	序号	检测项目	一段 (g/100 g)	二段-1 (g/100 g)	二段-2 (g/100 g)	三段 (g/100 g)
1	C4:0	0.144	0.359	0.391	0.349	20	C18:2n6c	3.15	1.96	2.36	1.85
2	C6:0	0.169	0.223	0.260	0.211	21	C20:0	0.187	0.122	0.139	0.115
3	C8:0	0.443	0.246	0.282	0.241	22	C18:3n6	0.0171	0.0196	0.0115	0.0207
4	C10:0	0.716	0.762	0.852	0.741	23	C20:1	0.0324	0.0293	0.0265	0.0302
5	C11:0	0.0192	0.0337	0.0326	0.0344	24	C21:0	0.0398	0.0104	0.0114	0.0124
6	C12:0	1.41	0.417	0.429	0.408	25	C18:3n3	0.397	0.172	0.241	0.165
7	C13:0	0.0105	0.0183	0.00743	0.0198	26	C20:2	0.00385	0.00608	0.00343	0.00839
8	C14:0	1.16	0.856	0.915	0.830	27	C22:0	0.461	0.0783	0.0966	0.0758
9	C14:1	0.0111	0.0179	0.0171	0.0196	28	C20:3n6	0.00973	0.0128	0.00409	0.0139
10	C15:0	0.0603	0.0952	0.106	0.0910	29	C22:1n9	0.00176	0.00558	0.00230	0.00818
11	C15:1	0.0155	0.0227	0.000683	0.00336	30	C20:3n3	0.0390	0.0156	0.0172	0.0185
12	C16:0	4.81	4.63	4.74	4.40	31	C20:4n6	0.00217	0.00504	0.00193	0.00747
13	C16:1	0.0481	0.0668	0.0733	0.0653	32	C23:0	0.105	0.0911	0.0237	0.0819
14	C17:0	0.0481	0.0566	0.0679	0.0560	33	C22:2	0.00155	0.00354	0.00241	0.00601
15	C17:1	0.0226	0.0300	0.0323	0.0315	34	C24:0	0.181	0.0548	0.0334	0.0525
16	C18:0	1.15	2.90	3.45	2.69	35	C20:5n3	0.00458	0.00851	0.00681	0.00981
17	C18:1n9t	0.187	0.190	0.243	0.186	36	C24:1	0.00319	0.00698	0.00254	0.00808
18	C18:1n9c	4.50	4.62	4.88	4.41	37	C22:6n3	0.0609	0.0494	0.00378	0.0455
19	C18:2n6t	0.00285	0.00673	0.00401	0.00934		总脂肪酸(g/100 g)	19.6	18.2	19.8	17.3
	亚油酸:α-亚麻酸	8:1	11:1	10:1	11:1		(月桂酸+肉豆蔻酸)%总脂肪酸	13.1	6.99	6.80	7.15
	DHA/%总脂肪酸	0.310	0.271	0.0191	0.263		芥酸/%总脂肪酸	0.00897	0.430	0.0207	0.0472
	ARA/%总脂肪酸	0.0111	0.0277	0.00976	0.0431						
	反式脂肪酸/%总脂肪酸	0.967	1.08	1.25	1.13						

脂肪酸的含量和相应的比例均符合国家标准的要求(GB 10765-2010 婴儿配方食品),可以满足婴幼儿对营养的需求。

3 结论

本实验通过乙酰氯-甲醇法使样品在酸性条件下进行甲酯化反应,再用碳酸钠溶液中和,0.22 μm 的有机滤膜过滤后运用气相色谱法测定婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸甲酯的含量。通过优化升温程序和载气流速,对比国家食品安全标准和某乳粉企业常规检测所使用的色谱条件,该方法可以使检测时长分别节约 26.5% 和 46.8%,可以达到快速分离婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸甲酯的目的,结果表明 37 种脂肪酸甲酯在 0.002~0.2 mg/mL 浓度范围内线性良好,精密密度在 0.88%~3.81% 之间,实际样品测定采用逐级稀释的方法进行,有效地节约了时间和试剂,对其他研究者提供了一定的参考,所测结果均符合婴幼儿乳粉标准(GB 10765-2010 婴儿配方食品)要求,样品加标回收率低梯度在 85.5%~100.0% 之间,中梯度在

91.2%~104.2% 之间,高梯度在 86.8%~103.8% 之间,准确度高。因此该方法实际应用效果可行,稳定性好,分离度高,检测速度快,准确度高,可以适用于婴幼儿乳粉中 37 种脂肪酸含量的测定。

参考文献

[1] 余清. 乙酰氯-甲醇甲酯化法测定婴幼儿配方乳粉中脂肪酸含量方法的优化[J]. 现代食品, 2017, 13(13): 108-110. [YU Q. Simultaneous determination and analysis of 37 kinds of fatty acids in milk powder by acetyl chloride-methanol method[J]. Mod F, 2017, 13(13): 108-110.]

[2] 田芳. 婴幼儿配方粉及成人营养品中脂肪酸含量检测方法的性能研究[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(5): 29-33. [TIAN F. Performance study of fatty acid content in infant formula and adult nutrition[J]. Food and Nutrition in China, 2017, 23(5): 29-33.]

[3] 胡凤扬. 气相色谱法测定乳粉中的总脂肪、饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸[J]. 现代食品, 2017, 12: 90-94. [HU F Y. Total fat, saturated fatty acids, and unsaturated fatty acids in milk powder were determined by gas chromatography[J]. Mod F, 2017, 12: 90-94.]

[4] 诸葛瑞琪,刘梅林. ω-3 多不饱和脂肪酸防治心血管疾病的

- 研究进展[J]. *中国循环杂志*, 2022, 37(4): 543-547. [ZHUGE Y J, LIU M L. Research progress in the prevention and treatment of cardiovascular diseases with ω -3 polyunsaturated fatty acids[J]. *Chin Circ J*, 2022, 37(4): 543-547.]
- [5] 陈彦婕, 唐嘉诚, 宫莹, 等. 鱼油提取、多不饱和脂肪酸富集及 EPA 和 DHA 的应用研究进展[J]. *食品与机械*, 2021, 37(11): 205-210, 220. [CHEN Y J, TANG J C, GONG X, et al. Progress in fish oil extraction, polyunsaturated fatty acid enrichment and application of EPA and DHA[J]. *F & Mac*, 2021, 37(11): 205-210, 220.]
- [6] 孙翔宇, 高贵田, 段爱莉, 等. 多不饱和脂肪酸的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2012, 7: 418-423. [SUN X Y, GAO G T, DUAN A L, et al. Research progress in polyunsaturated fatty acids[J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 7: 418-423.]
- [7] 刘志国, 张宏宇, 王华林, 等. ω -3 多不饱和脂肪酸对大脑突触结构和传递功能影响的研究进展[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2016, 45(6): 703-710. [LIU Z G, ZHANG H Y, WANG H L, et al. Advances in investigating the effects of ω -3 PUFA on synaptic structure and transmission function in the brain[J]. *Aeta Med Univ Sci Technol Huazhong*, 2016, 45(6): 703-710.]
- [8] DENIS I, POTIER B, VANCASSEL S, et al. Omega-3 fatty acids and brain resistance to ageing and stress: Body of evidence and possible mechanisms[J]. *Ageing Res Rev*, 2013, 12(2): 579-594.
- [9] 戴逸, 戴智勇, 张岩春, 等. 市售婴幼儿配方乳粉中脂肪酸组成分析[J]. *中国油脂*, 2019, 3: 154-157. [DAI Y, DAI Z Y, ZHANG Y C, et al. Analysis of fatty acid composition in commercially available infant formula milk powder[J]. *Chin Oils Fat*, 2019, 3: 154-157.]
- [10] ANGELOTTI A, SCHNELLI P M, RAATZ S K, et al. Evaluation of a rapid assessment questionnaire using a biomarker for dietary intake of n-3 fatty acids[J]. *Lipids*, 2019, 54(5): 321-328.
- [11] COLOMBO S M, SHUKLA K, CAMPBELL L G, et al. Dietary eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid are linearly retained by common insect crop pests (Cabbage looper and bertha armyworm) and alter insect biomass[J]. *Physiol Entomol*, 2020, 45(1): 38-49.
- [12] ALEXANDRE L, NITIDA P, ZHUANG W H, et al. Infants fed formula with added long chain polyunsaturated fatty acids have reduced incidence of respiratory illnesses and diarrhea during the first year of life[J]. *BMC Pediatrics*, 2014, 1: 2-8.
- [13] 左丹, 汪妮妮. 食品中反式脂肪酸的危害及减控技术研究进展[J]. *食品安全导刊*, 2020, 18: 40-43. [ZUO D, WANG N N. The progress of tr-fatty fatty acids in food[J]. *China Food Safety Magazine*, 2020, 18: 40-43.]
- [14] 张远斌, 马鹏媛. 气相色谱检测食品中反式脂肪酸方法的研究[J]. *中国食品*, 2021, 17: 38-39. [ZHANG Y B, MA P Y. Study on gas chromatography detection method of trans-fatty acids in food[J]. *Chin Food*, 2021, 17: 38-39.]
- [15] 高虹, 姚庆伟, 朱虹. 市售食品中反式脂肪酸的监测结果分析[J]. *食品安全导刊*, 2018, 27: 95-96. [GAO H, YAO Q W, ZHU H. Analysis of the monitoring results of trans fatty acids in commercially available foods[J]. *Chin Food Saf Mag*, 2018, 27: 95-96.]
- [16] 陈美庆, 张养东, 王峰恩, 等. 牛奶脂肪酸检测方法的研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 21(11): 7993-7998. [CHEN M Q, ZHANG Y D, WANG F E, et al. Research progress of milk fatty acid detection methods[J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 21(11): 7993-7998.]
- [17] 吴卫国, 刘烨. 脂肪酸应用于气相色谱法检测食品的分析进展[J]. *科技经济导刊*, 2018, 26(32): 167. [WU W G, LIU Y. Progress in the analysis of fatty acids by gas chromatography[J]. *Technol and Economic Guide*, 2018, 26(32): 167.]
- [18] 韩洁, 杨清山, 王文昌, 等. GC-FID 内标法测定植物提取物中脂肪酸含量的方法研究[J]. *中国食品添加剂*, 2021, 32(6): 89-96. [HAN J, YANG Q S, WANG W C, et al. Study on the determination of fatty acids in plant extracts by GC-FID internal standard method[J]. *Chin Food Addit*, 2021, 32(6): 89-96.]
- [19] 王延华, 范荣波, 周霞, 等. 气相色谱法测定调和油中 18 种脂肪酸[J]. *食品安全质量检测学报*, 2021, 12(5): 1978-1981. [WANG Y H, FAN R B, ZHOU X, et al. Determination of 18 fatty acids in mixed oil by gas chromatography[J]. *J Food Saf Qual*, 2021, 12(5): 1978-1981.]
- [20] 李谭瑶, 杨静玥, 范翔, 等. 气相色谱-质谱法测定新鲜食用蘑菇中 37 种脂肪酸[J]. *中国卫生检验杂志*, 2017, 27(14): 2002-2008. [LI T Y, YANG J Y, FAN X, et al. Determination of 37 kinds of fatty acids in freshly edible mushrooms by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chin J of Heal Lab Techn*, 2017, 27(14): 2002-2008.]
- [21] 田春霞, 王远远, 吴苏妙, 等. 气相色谱-质谱联用法测定婴幼儿奶粉中 37 种脂肪酸和 12 种反式脂肪酸[J]. *理化检验-化学分册*, 2020, 56(6): 669-675. [TIAN C X, WANG Y Y, WU S M, et al. Determination of 37 fatty acids and 12 trans-fatty acids in infant formula milk powder by GC-MS[J]. *Phys Test and Chem Anal Part B: Chem Anal*, 2020, 56(6): 669-675.]
- [22] 冯印, 陈海燕, 孙立侠, 等. GC/MS 测定橄榄油中脂肪酸的甲酯化条件优化[J]. *粮食与油脂*, 2018, 31(9): 86-88. [FENG Y, CHEN H Y, SUN L X, et al. GC/MS for optimization of methyl esterification conditions for fatty acids in olive oil[J]. *Cereals & Oils*, 2018, 31(9): 86-88.]
- [23] 李唯迪, 金青哲, 余仁强, 等. GC-MS 测定人乳及动物乳中支链脂肪酸组成[J]. *中国油脂*, 2021, 46(11): 114-120. [LI W D, JIN Q Z, YU R Q, et al. GC-MS determined the composition of branched chain fatty acid in human milk and animal milk[J]. *Chin Oils and Fats*, 2021, 46(11): 114-120.]
- [24] 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*, 2011, 30(3): 23-27. [WANG H F, FENG S H, ZHOU Q F, et al. Measurement of fatty acids based on gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Chin J of Anal Lab*, 2011, 30(3): 23-27.]
- [25] WU F L, WANG J B, ZHAO Q, et al. Detection of trans-fatty acids by high performance liquid chromatography coupled with in-tube solid-phase microextraction using hydrophobic polymeric monolith[J]. *J of Chromatogr B*, 2017, 1040: 214-221.
- [26] ZHANG S J, SONG C H, CHEN G, et al. A sensitive high-performance liquid chromatography method with fluorescence detection for the determination of fatty acids as exemplified for *Dendrobium* species[J]. *Eur J Lipid Sci Tech*, 2013, 115(10): 1155-1163.
- [27] 胡娜, 索有瑞, 韩丽娟, 等. 柱前衍生化 HPLC-MS 法测定黑果枸杞果实中脂肪酸[J]. *分析实验室*, 2014, 33(6): 698-701. [HU N, SUO Y R, HAN L J, et al. Measurement of fatty acids in black fruit wolfberry fruit by precolumn derivatized HPLC-MS[J]. *Chin J of Anal Lab*, 2014, 33(6): 698-701.]
- [28] KOLÁ KOVÁ P, RU I KOVÁ G, GREGOR T, et al. Quick method (FT-NIR) for the determination of oil and major fatty acids content in whole achenes of milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.)[J]. *J of the Sci of Food and Agri*, 2015, 95(11): 2264-2270.
- [29] PRADO T L A, PORTO B L S, OLIVEIRA M A L. Method

optimization for trans fatty acid determination by CZE-UV under direct detection with a simple sample preparation[J]. *Anal Methods*, 2017, 9(6): 958–965.

[30] SEMENIUK I, KRZYSIK-WARZALA B, KOREN-SZWARC B. Use of FT-NIR spectroscopy for determination of free fatty acid in the rapeseed oil[J]. *Przem Chem*, 2016, 95(4): 755–758.

[31] NUÑEZ-SÁNCHEZ N, MARTÍNEZ-MARÍN A L, POLVILLO O, et al. Near infrared spectroscopy (NIRS) for the determination of the milk fat fatty acid profile of goats[J]. *Food Chem*, 2016, 190: 244–252.

[32] VELIOGLU S D, ERCIOGLU E, TEMIZ H T, et al. Raman

spectroscopic barcode use for differentiation of vegetable oils and determination of their major fatty acid composition[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2016, 93(5): 627–635.

[33] LI Z P, WANG J, XIONG Y T, et al. The determination of the fatty acid content of sea buckthorn seed oil using near infrared spectroscopy and variable selection methods for multivariate calibration[J]. *Vib Spectrosc*, 2016, 84: 24–29.

[34] 朱清清. 腊肉加工过程中亚硝胺生成规律及其控制研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2015. [ZHU Q Q. Research on the formation law and control of nitrosamines in the processing of bacon [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2015.]