

# 团体标准

T/CNSS 051—2026

## 血清中二十二碳六烯酸（DHA）的测定 气相色谱-质谱法

Determination of docosahexaenoic acid (DHA) in serum—Gas chromatography  
mass spectrometry

2026 - 06 - 29 发布

2026 - 06 - 29 实施

## 前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国营养学会归口。

本文件起草单位：中国疾病预防控制中心营养与健康所、北京市疾病预防控制中心、国家食品安全风险评估中心、中国人民解放军总医院第一医学中心、国家卫生健康委临床检验中心。

本文件主要起草人：马妍、霍军生、卓勤、沈蕊、尹杰、裴紫薇、张新胜、张天娇。

T/CNSS

# 血清中二十二碳六烯酸（DHA）的测定

## 气相色谱-质谱法

### 1 范围

本文件规定了人血清中二十二碳六烯酸（DHA）的稳定同位素内标-气相色谱-质谱-负化学电离源法测定的原理、试剂和材料、仪器和设备、分析步骤、精密度和其他方面的要求。

本文件适用于人血清中 DHA 的测定。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 原理

人血清样品加入氘代二十二碳六烯酸（DHA-d<sub>5</sub>）内标物，经酸水解、碱皂化后，用正己烷提取 DHA；提取液干燥后经五氟苯基溴（PFBBR）衍生化，采用气相色谱-质谱-负化学电离源法检测，稳定同位素内标法定量。

### 4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

#### 4.1 试剂

- 4.1.1 乙腈（C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N）：色谱纯。
- 4.1.2 盐酸（HCl）：分析纯。
- 4.1.3 甲醇（CH<sub>3</sub>OH）：色谱纯。
- 4.1.4 氢氧化钠（NaOH）：分析纯。
- 4.1.5 五氟苯基溴（PFBBR，C<sub>7</sub>H<sub>2</sub>BrF<sub>5</sub>）：分析纯。
- 4.1.6 三乙胺（C<sub>6</sub>H<sub>15</sub>N）：分析纯。
- 4.1.7 正己烷（C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>）：色谱纯。
- 4.1.8 甲苯（C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>）：分析纯。

#### 4.2 试剂配制

- 4.2.1 50%盐酸溶液：量取盐酸 500mL，用水定容至 1000mL，混匀。
- 4.2.2 氢氧化钠（0.4g/mL）：称取氢氧化钠 40.0g，用水溶解并定容至 100mL。
- 4.2.3 50%盐酸-乙腈溶液（10+90，V/V）：量取 50%盐酸 10mL、乙腈 90mL，混匀备用。
- 4.2.4 氢氧化钠-甲醇溶液（10+90，V/V）：量取 0.4g/mL 氢氧化钠溶液 10mL、甲醇 90 mL，混匀备用。
- 4.2.5 衍生化混合试剂：五氟苯基溴:乙腈:三乙胺为 7:93:10（V/V），现配现用。

### 4.3 标准品

4.3.1 氘代二十二碳六烯酸 (DHA-d<sub>5</sub>, C<sub>22</sub>D<sub>5</sub>H<sub>27</sub>O<sub>2</sub>, 相对分子质量: 333.52, CAS 号: 1197205-71-2), 纯度≥98%。

4.3.2 二十二碳六烯酸 (DHA, C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>, 相对分子质量: 328.48, CAS 号: 6217-54-5), 纯度≥99%。

### 4.4 标准品配制

4.4.1 DHA-d<sub>5</sub> 标准储存溶液 (600 μmol/L, 即 0.2mg/mL): 称取 DHA-d<sub>5</sub> 1.00mg (精确至 0.1mg), 用甲苯溶解并定容至 5.00mL, -20℃保存, 有效期 24 个月。

4.4.2 DHA 标准储存溶液 (3.04mmol/L, 即 1mg/mL): 取 DHA 10.00mg, 用甲苯定容至 10.00mL, -20℃保存, 有效期 24 个月。

4.4.3 DHA-d<sub>5</sub> 工作溶液 (120 μmol/L, 即 0.04mg/mL): 准确吸取 600 μmol/L DHA-d<sub>5</sub> 标准储存溶液 2.00mL, 用甲苯溶液稀释并定容至 10.00mL, 混匀。-20℃保存, 有效期 12 个月。

4.4.4 DHA 中间溶液 (600 μmol/L, 即 0.2mg/mL): 准确吸取 3.04mmol/L DHA 标准储存溶液 1.98mL, 用甲苯溶液稀释并定容至 10.00mL, 混匀。-20℃保存, 有效期 12 个月。

4.4.5 DHA 标准工作溶液:

- a) 第一个点, 中间溶液 (4.4.4), 浓度 600μmol/L。
- b) 第二个点, 由中间溶液 (4.4.4) 稀释 3 倍得到。精密量取 DHA 中间溶液 (4.4.4) 1.66 mL, 转移至 5mL 容量瓶中, 以甲苯定容至刻度, 摇匀, 浓度为 200μmol/L (67μg/mL)。
- c) 第三个点, 由中间溶液 (4.4.4) 稀释 10 倍得到。精密量取 DHA 中间溶液 (4.4.4) 0.50mL, 转移至 5mL 容量瓶中, 以甲苯定容至刻度, 摇匀, 浓度为 60μmol/L (20μg/mL)。
- d) 第四个点, 由中间溶液 (4.4.4) 稀释 40 倍得到。精密量取 DHA 中间溶液 (4.4.4) 0.125mL, 转移至 5mL 容量瓶中, 以甲苯定容至刻度, 摇匀, 浓度为 15μmol/L (5μg/mL)。
- e) 第五个点, 由中间溶液 (4.4.4) 稀释 100 倍得到。精密量取 DHA 中间溶液 (4.4.4) 0.05mL, 转移至 5mL 容量瓶中, 以甲苯定容至刻度, 摇匀, 浓度为 6μmol/L (2μg/mL)。
- f) 第六个点, 空白溶液, 浓度 0μmol/L (0μg/mL, 直接以甲苯作为空白基质)。

## 5 仪器和设备

5.1 气相色谱仪-质谱仪联用系统 (GC-MS): 配备化学电离源 (NCI)。

5.2 分析天平: 感量分别为 0.01mg 和 0.1mg。

5.3 离心机: 转速≥8000r/min。

5.4 恒温加热箱或恒温水浴锅: 控温范围 20℃~100℃, 控温精度±1℃。

## 6 分析步骤

### 6.1 血样采集

采集禁食 12h 后的血液样本, 分离人血清 0.5mL, 冷冻保存于-80℃冰箱。分析前解冻, 涡旋混匀。

### 6.2 试样处理

6.2.1 酸水解: 取 60 μL 人血清/DHA 标准工作溶液至螺帽玻璃管中, 加入 DHA-d<sub>5</sub> 内标工作液 60 μL, 再加入 50%盐酸-乙腈溶液 1.5mL, 混匀后 100℃加热 45min。

6.2.2 碱皂化: 冷却后, 加入氢氧化钠 (0.4g/mL) -甲醇溶液 1.5mL, 100℃加热 45min。

6.2.3 调节 pH 值: 量取 260 μL 50% 盐酸溶液, 缓慢加入样品体系中, 充分涡旋振荡混匀, 使样品再度酸化。

6.2.4 液液萃取: 加入 1.5mL 正己烷萃取, 重复操作 2 次, 合并 3 次萃取上清液, 于 40℃下真空干燥至完全或氮吹至干。

### 6.3 衍生化

加入 100  $\mu\text{L}$  衍生化混合试剂, 涡旋振荡以溶解残留物, 30 $^{\circ}\text{C}$  下反应 30min; 加入 1.00mL 正己烷萃取, 取上清液转移至进样瓶内插管中, 供 GC-MS-NCI 测定。标准溶液同法操作, 省略酸解与皂化。

## 6.4 仪器参考条件

### 6.4.1 气相色谱参考条件

6.4.1.1 毛细管色谱柱: 88% 氰丙基芳基聚硅氧烷 (HP-88) 极性固定相, 柱长 100.0m, 内径 0.25mm, 膜厚 0.25 $\mu\text{m}$ , 或相当者。

6.4.1.2 进样口带玻璃棉分流衬管, 温度 245 $^{\circ}\text{C}$ 。

6.4.1.3 载气: 氦气, 纯度大于或等于 99.999%。

6.4.1.4 进样量: 1.0 $\mu\text{L}$ 。

6.4.1.5 柱恒流 1.5mL/min; 分流比: 50:1。

6.4.1.6 气相色谱条件: 程序升温: 初始温度 230 $^{\circ}\text{C}$ , 持续 0min; 230 $^{\circ}\text{C}$ ~234 $^{\circ}\text{C}$ , 升温速率 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , 保持 7min; 234 $^{\circ}\text{C}$ ~250 $^{\circ}\text{C}$ , 升温速率 1 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ , 保持 3min。

### 6.4.2 质谱参考条件

6.4.2.1 传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ 。

6.4.2.2 离子源温度: 300 $^{\circ}\text{C}$ 。

6.4.2.3 反应气: 甲烷。

6.4.2.4 反应气流速: 1.2mL/min。

6.4.2.5 电离方式: 负化学电离源 (NCI)。

6.4.2.6 扫描模式: 选择离子扫描模式, DHA 衍生物定量离子 327m/z; DHA-d<sub>5</sub> 衍生物定量离子 332m/z; DHA 衍生物定性离子 328、589m/z; DHA-d<sub>5</sub> 衍生物定性离子 333、594m/z。

6.4.2.7 溶剂延迟时间: 8.5min。

## 6.5 标准曲线

将标准系列工作溶液按照浓度由低到高的顺序注入气相色谱质谱仪中, 以 DHA 衍生物与内标物摩尔浓度的比值为横坐标, 以其峰面积与内标物峰面积的比值为纵坐标, 绘制标准曲线。标准溶液的质谱图见附录 A 中图 A.1。按公式 (1) 计算:

$$\frac{A_{\text{std}}}{A_{\text{IS}}} = a \times \frac{c_{\text{std}}}{c_{\text{IS}}} + b \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$A_{\text{std}}$ ——标准系列工作液中 DHA 的色谱峰面积;

$A_{\text{IS}}$ ——标准系列工作液中内标 DHA-d<sub>5</sub> 的色谱峰面积;

$a$ ——标准曲线的斜率;

$c_{\text{std}}$ ——标准系列工作液所对应的 DHA 的浓度, 单位为微摩尔每升 ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ );

$c_{\text{IS}}$ ——标准系列工作液所对应的 DHA-d<sub>5</sub> 的浓度, 单位为微摩尔每升 ( $\mu\text{mol}/\text{L}$ );

$b$ ——标准曲线的截距。

计算结果保留 3 位有效数字。

## 6.6 试样溶液的测定

将试样溶液注入气相色谱质谱联用仪中, 得到相应的峰面积, 根据标准曲线得到试样溶液中 DHA 衍生物的摩尔浓度。

## 6.7 分析结果的表述

试样中 DHA 衍生物的含量按公式 (2) 计算:

$$X = \frac{c_{\text{IS}}}{a} \times \left( \frac{A_{\text{sp}}}{A_{\text{IS}}} - b \right) \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$X$ ——血清样品中 DHA 衍生物浓度，单位为微摩尔每升（ $\mu\text{mol/L}$ ）；  
 $c_{\text{IS}}$  ——标准系列工作液所对应的 DHA- $d_5$  的浓度，单位为微摩尔每升（ $\mu\text{mol/L}$ ）；  
 $a$ ——标准曲线的斜率；  
 $A_{\text{sp}}$  ——血清样品中 DHA 的色谱峰面积；  
 $A_{\text{IS}}$  ——血清样品中内标 DHA- $d_5$  的色谱峰面积；  
 $b$  ——标准曲线的截距。  
结果保留 3 位有效数字。

## 7 精密度

重复性条件下，两次测定绝对差值 $\leq$ 算术平均值的10%。

## 8 其他

当取样量为60 $\mu\text{L}$ 、最终定容体积为1.00mL时，本方法的检出限为2 $\mu\text{mol/L}$ （0.65 $\mu\text{g/mL}$ ），定量限为6 $\mu\text{mol/L}$ （1.96 $\mu\text{g/mL}$ ）。

附录 A  
(资料性)  
DHA 和 DHA-d<sub>5</sub> 标准溶液色谱图

A.1 DHA 和 DHA-d<sub>5</sub> 选择离子色谱图见图 A.1。

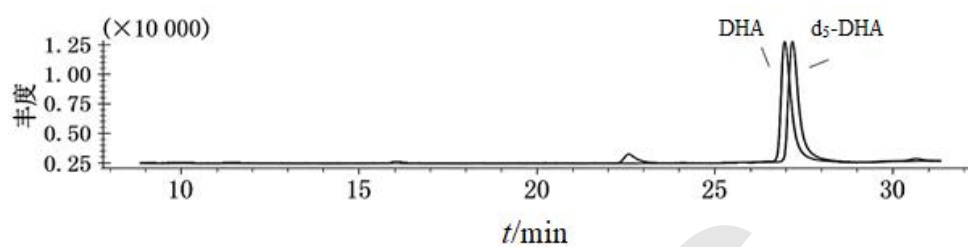


图 A.1 DHA (27.5min) 和 DHA-d<sub>5</sub> (27.6min) 选择离子色谱图

A.2 DHA (m/z 327) 和 DHA-d<sub>5</sub> (m/z 332) 提取离子色谱图见图 A.2。

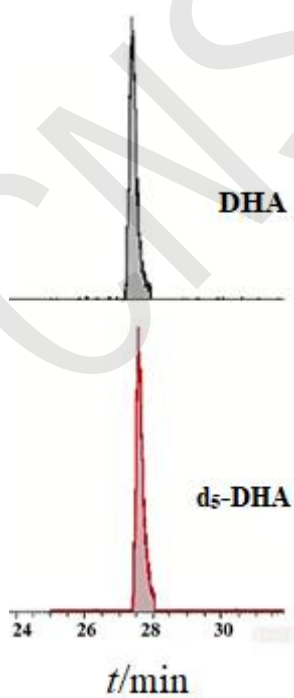


图 A.2 DHA (m/z327) 和 DHA-d<sub>5</sub> (m/z332) 提取离子色谱图

### 参 考 文 献

- [1] Benner B A Jr, Schantz M M, Powers C D, et al. Standard Reference Material 2378 Fatty Acids in Frozen Human Serum. Certification of a Clinical SRM based on Endogenous Supplementation of Polyunsaturated Fatty Acids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, 409(21):4967-4978.
- [2] Kish-Trier E, Yuzyuk T, Schwarz E L, et al. Quantitation of total fatty acids in plasma and serum by GC-NCI-MS[J]. *Clinical Mass Spectrometry*, 2016, 2:11-17.
- [3] Quehenberger O, et al. High Sensitivity Quantitative Lipidomics Analysis of Fatty Acids in Biological Samples by Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2011, 1811(11):737-746.
- [4] 马妍, 陈晨, 霍军生. 人体样本中脂肪酸分析方法研究进展[J]. *营养学报*, 2021, 43(4):412-416.
- [5] 中国营养学会. 中国居民膳食营养素参考摄入量(2023版) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2023.