

使用 Agilent 8860 气相色谱仪快速分析 37 种 FAME

作者

Youjuan Zhang
安捷伦科技（上海）有限公司，
中国上海，邮编 200131

摘要

使用配备分流/不分流进样口和火焰离子化检测器 (FID) 的 Agilent 8860 气相色谱仪分析 37 种脂肪酸甲酯 (FAME) 混标和蛋白水解配方奶的实际样品。本应用简报介绍了 37 种 FAME 混合物的分析，分析速度比 GB 5009.168-2016 更快，可实现出色分离。

前言

脂肪酸是中性脂肪、磷脂和糖脂的主要成分。脂肪酸可以分为三类：饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。有些脂肪酸是必需脂肪酸（如亚油酸），这类脂肪酸无法由身体合成，只能从食物中获得。 ω -3 和 ω -6 脂肪酸属于多不饱和脂肪酸，在人体营养中发挥着关键作用，其中包括花生四烯酸 (ARA)、二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)。 ω -3 脂肪酸可以预防心脏病和高血压等疾病。脂肪在营养和食品化学领域具有非常重要的作用。

水解和甲基化是最常用的脂肪酸测定方法；脂肪酸的酯化可降低极性，促进不饱和和异构体的分离。脂肪酸甲酯 (FAME) 的分析是食品分析中最重要的应用之一。

GB 5009.168-2016 规定了食品中 37 种脂肪酸的测定。本方法详细描述了样品预处理和气相色谱 (GC) 参数，该方法建议使用强极性氰丙基聚硅氧烷型色谱柱 (100 m \times 0.25 mm, 0.2 μ m)。该方法可在 82 分钟内分离 37 种 FAME。之前的安捷伦应用简报表明，使用配备 Agilent J&W DB-FastFAME Intuvo 气相色谱柱的 Agilent Intuvo 9000 气相色谱系统以氦气作为载气，可在 8 分钟内分离 37 种 FAME²。这种快速分析得益于 Intuvo 的直接加热技术，该技术可使色谱柱以 250 $^{\circ}$ C/min 的升温速率加热。

本应用简报介绍了采用两种长度的 DB-FastFAME 色谱柱、以氮气为载体的 8860 气相色谱系统方法，该方法相对较快。测定了峰面积的 RSD，并对 ARA、EPA、DHA 等关键的中性脂肪进行了定量分析。为证明该方法的适用性，本应用还对婴儿配方奶样品进行了分析。

实验部分

试剂与标准品

37 组分 FAME 混标（部件号 CDAA-252795-MIX-1 mL）以及 C20:4n6（部件号 CDAA-253207M-10 mg）、C20:5n3（部件号 CDAA-253209M-10 mg）和 C22:6n3（部件号 CDAA-253228M-10 mg）的单标准品均购自上海安谱科学仪器有限公司。混标中各组分的浓度为 200–400 mg/mL。

婴儿配方奶样品购自当地。根据 GB 5009.168-2016 进行样品预处理。

仪器

使用配备火焰离子化检测器 (FID) 的 8860 气相色谱仪分析 FAME。使用配备 5 μ L 进样针和分流/不分流进样口的 Agilent 7693A 自动液体进样器进样。表 1 和表 2 列出了仪器和条件。

表 1. Agilent DB-FastFAME 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m 的方法条件

参数	值
气相色谱系统	8860 GC/FID
进样口	分流/不分流, 250 $^{\circ}$ C, 分流比 100:1; 衬管 (部件号 5190-2295)
色谱柱	DB-FastFAME, 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m (部件号 G3903-63011)
载气	氮气, 12 psi, 恒压
柱温箱	80 $^{\circ}$ C (0.5 分钟), 以 40 $^{\circ}$ C/min 升至 165 $^{\circ}$ C (1 分钟), 以 4 $^{\circ}$ C/min 升至 230 $^{\circ}$ C (4 分钟)
FID	260 $^{\circ}$ C; 氢气: 40 mL/min; 空气: 400 mL/min; 尾吹气 (N ₂): 25 mL/min
进样量	1 μ L

表 2. Agilent DB-FastFAME 20 m \times 0.18 mm, 0.2 μ m 的方法条件

参数	值
气相色谱系统	8860/FID
进样口	分流/不分流, 250 $^{\circ}$ C, 分流比 100:1; 衬管 (部件号 5190-2295)
色谱柱	DB-FastFAME, 20 m \times 0.18 mm, 0.2 μ m (部件号 G3903-63010)
载气	氮气, 20 psi, 恒压
柱温箱	80 $^{\circ}$ C, 以 35 $^{\circ}$ C/min 升至 194 $^{\circ}$ C (1 分钟), 以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 245 $^{\circ}$ C
FID	260 $^{\circ}$ C; 氢气: 40 mL/min; 空气: 400 mL/min; 尾吹气 (N ₂): 25 mL/min
进样量	1 μ L

结果与讨论

图 1 为 30 m DB-FastFAME 色谱柱上获得的 37 组分 FAME 混标的典型色谱图。在某些应用中，顺式和反式 C18:1、顺式和反式 C18:2、C22:0、C20:3、C22:6、C24:1 可能发生共流出，导致峰归属出现问题。如图 1 所示，8860 气相色谱系统使用表中条件，37 种化合物都得到了完全分离，峰形尖锐对称且运行时间缩短至 24 分钟以内。特别值得注意的是分离顺-反异构体以及 EPA 和 DHA 组分的能力。该方法对于复杂混合物中脂肪酸的定量分析非常有用，特别是测定鱼油等基质中的 EPA 和 DHA。与 0.18 mm 内径色谱柱相比，这种 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm 色谱柱内径较大、膜厚较厚，具有更大的色谱柱容量和更长的色谱柱寿命。

蛋白水解配方奶是对牛奶过敏婴儿的良好选择，按水解程度可分为三种类型：部分水解配方奶、深度水解配方奶和氨基酸配方奶。图 2-4 显示三种不同类型蛋白水解配方奶的分析结果。包括 C18:2n6、C18:3n3、ARA、DHA 在内的关键 FAME 易于检测和定量。

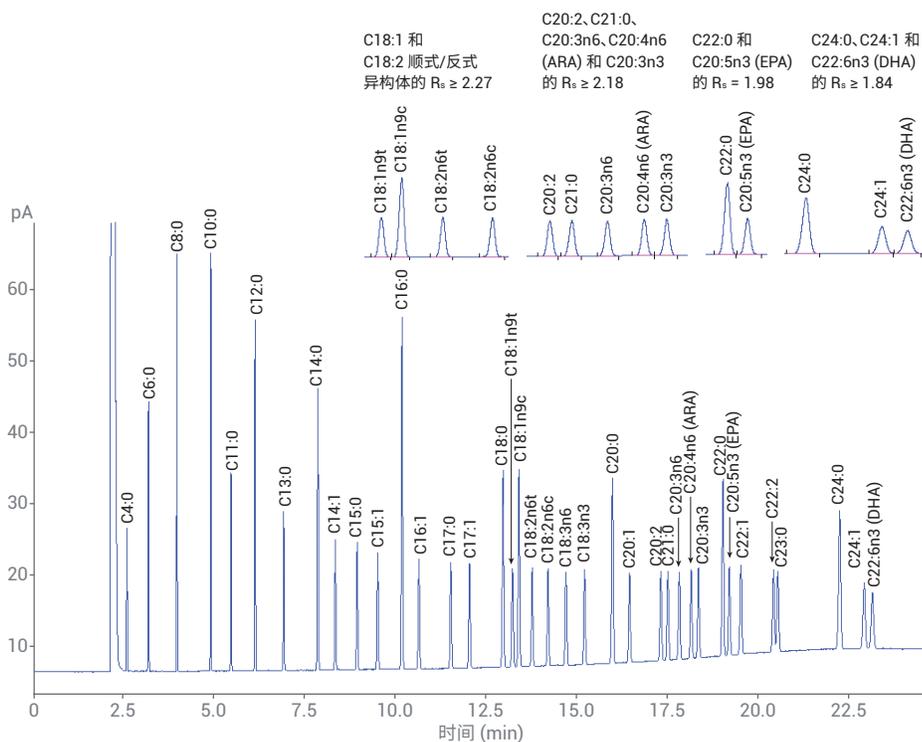


图 1. 37 组分 FAME 混标在 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱 (部件号 G3903-63011) 上得到的 GC/FID 色谱图

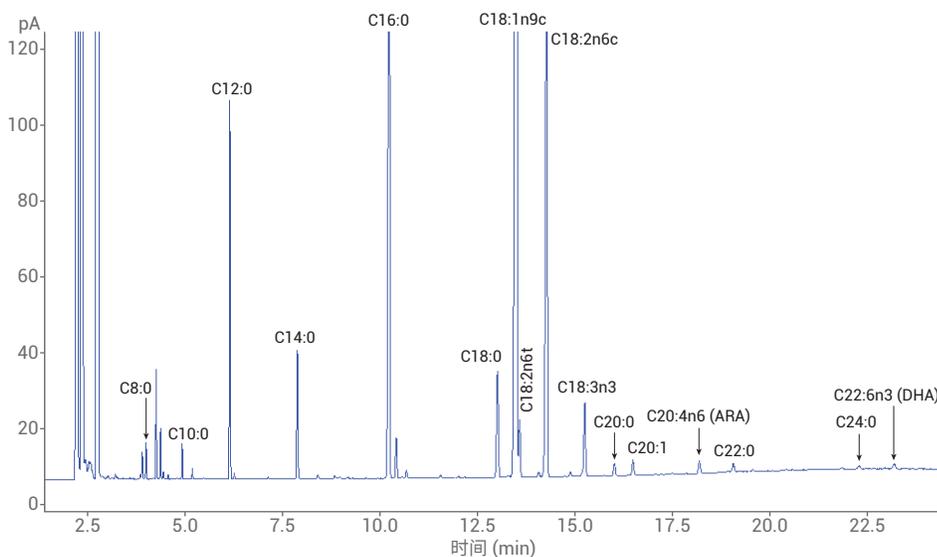


图 2. 氨基酸配方奶中的 FAME 在 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上得到的 GC/FID 色谱图

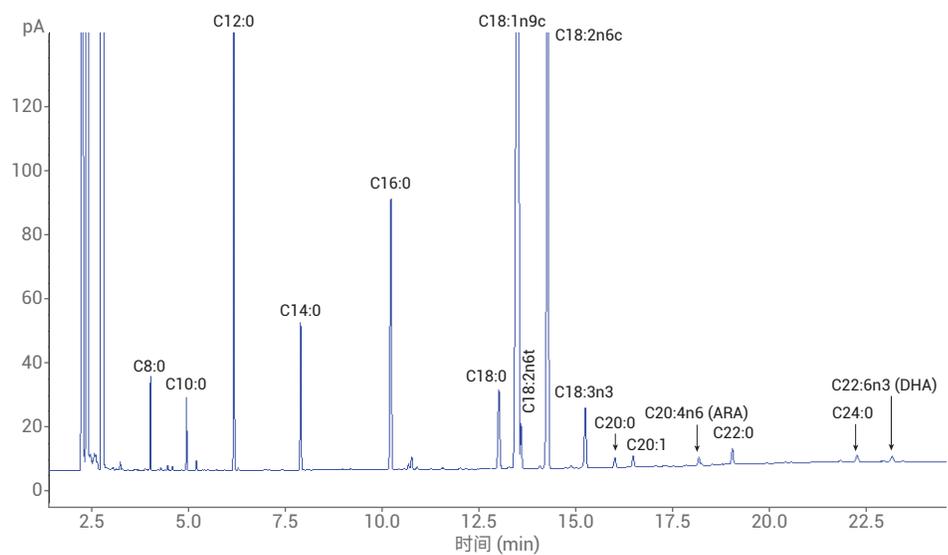


图 3. 深度水解配方奶中的 FAME 在 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上得到的 GC/FID 色谱图

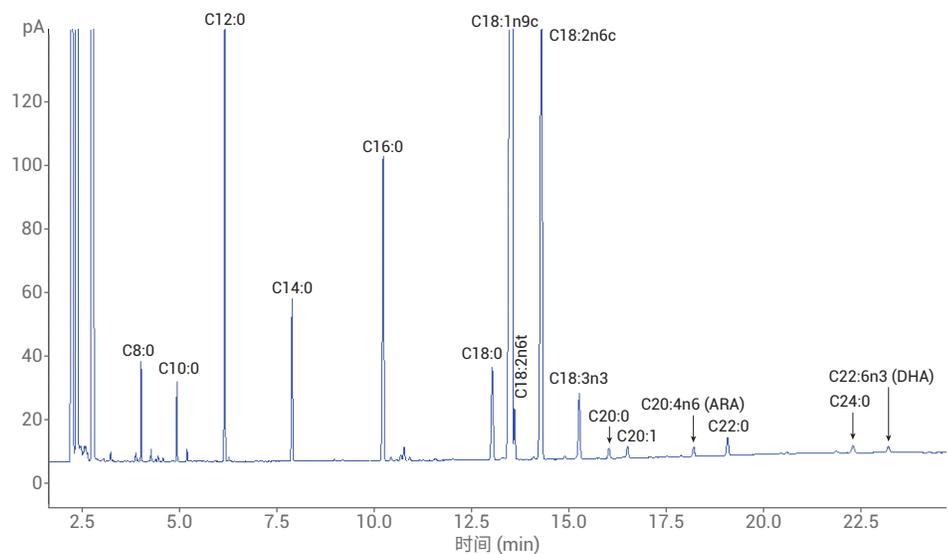


图 4. 部分水解配方奶中的 FAME 在 30 m × 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上得到的 GC/FID 色谱图

以 5、10、50、100、250、1000 mg/L 的浓度配制 ARA、EPA 和 DHA 的校准标样。这三种化合物的相关系数 (R^2) 均 ≥ 0.9997 。图 5、图 6、图 7 显示了校准曲线。

对混标进样六次测试方法重现性。由图 8 可知，除 C4:0 以外，所有化合物的峰面积 RSD% 均远低于 1%。这表明 8860 气相色谱系统是一种可靠的脂肪酸分析系统。

高效的 0.18 mm 内径色谱柱有提高分析效率的潜力，缩短分析时间的同时不损失分析性能。如图 9 所示，使用这种短色谱柱可实现更快的分析（14 分钟以内），而分离度几乎相同。关键化合物的分离度值如图 1 和图 9 所示。

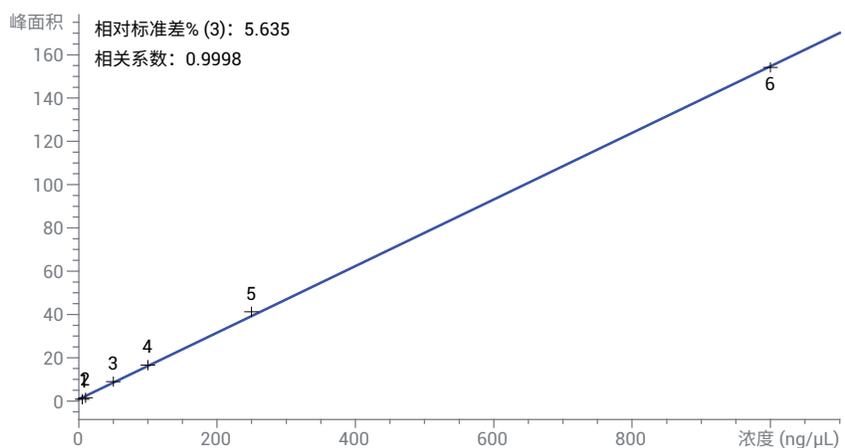


图 5. 5-1000 $\mu\text{g/mL}$ 的 C20:4n6 (ARA) 在 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上的校准曲线

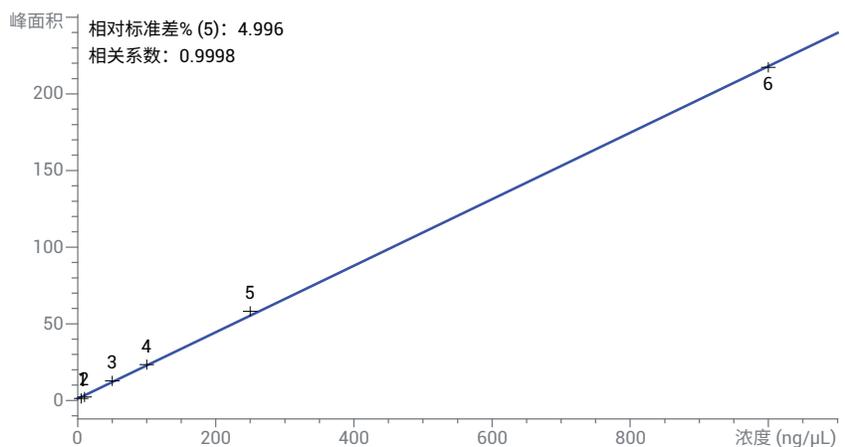


图 6. 5-1000 $\mu\text{g/mL}$ 的 C20:5n3 (EPA) 在 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上的校准曲线

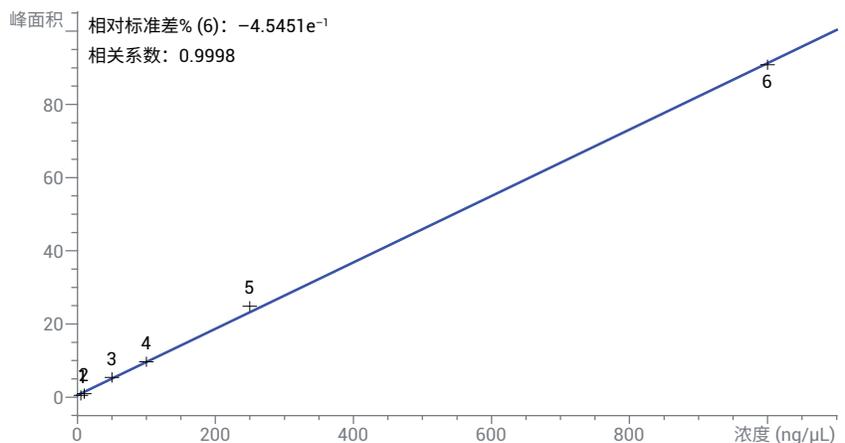


图 7. 5-1000 $\mu\text{g/mL}$ 的 C22:6n3 (DHA) 在 30 m \times 0.25 mm, 0.25 μm DB-FastFAME 色谱柱上的校准曲线

