

脂肪酸甲酯的气相色谱分析

Gs-tek 提供了一种简单快速有效的方案

介绍

鱼油中 30%组分是欧米伽-3 (Ω -3)，它是一组多元不饱和脂肪酸包含 α -亚麻酸，二十碳五烯酸 (EPA) 和二十二碳六烯酸 (DHA)，常见于深海鱼类和某些植物中。除此之外欧米伽-6 (Ω -6) 也是鱼油中的一种重要成分，在支持脑部健康和调节新陈代谢上有重要作用，主要包含亚油酸 (LA) 和花生四烯酸 (AA)。这两类物质对人体健康十分有益，而在成分鉴定中，这几种物质的分离是很重要的。

GsBP-FAMEWax 是适用于特殊应用的交联键合聚乙二醇类型的气相色谱柱固定相。GsBP-FAMEWax 气相色谱柱被用于进行脂肪酸甲酯及其脂肪酸在 20-30 分钟内的可重复性分离。典型应用是分析保健品中鱼油， ω -3 (如 DHA/EPA) 与 ω -6 系列脂肪酸。这款柱子相比传统的 100 米 FAME 气相色谱柱 (如 HP-FAME/HP-88 或者 SP2560) 价格更优惠，分析时长更短且使用寿命更长。这篇文章分为 3 个部分：1. 我们用鱼油的 FAME 标准样品测试来保证能实现关键物质 DHA/EPA 的分离，并得到 FAME 出峰顺序的大致规则；2. 用市场上售卖鱼油及处方型鱼油的脂肪酸甲酯成分进行分析对比；3. 分析 37 种主要成分 FAMEs 的样品，证明此款柱子可以有效分离大部分脂肪酸甲酯。

以下是我们所提供的各种型号 GsBP-FAMEWax 色谱柱信息：

柱型	描述	可适用温度范围 (°C)	可替代 JW-FATWAX 柱型
6818-2001	GsBP-FAMEWax, 20m x 0.18mm x 0.18um	40 to 260/280	G3909-63002
6825-3002	GsBP-FAMEWax, 30m x 0.25mm x 0.25um	40 to 260/280	G3903-63008
6825-6002	GsBP-FAMEWax, 60m x 0.25mm x 0.25um	40 to 260/280	
6832-3002	GsBP-FAMEWax, 30m x 0.32mm x 0.25um	40 to 260/280	G3903-63009
6832-6002	GsBP-FAMEWax, 60m x 0.32mm x 0.25um	40 to 260/280	

鱼油脂肪酸甲酯标样测试

实验条件及结果

分析样品是鱼油的脂肪酸甲酯标准混合物 (来自于 Restek 的 20 种脂肪酸甲酯)。此分析测试是在配有氢火焰离子检测器的安捷伦 7890A GC 上进行的。测试柱是以上表格列出的 FAMEwax 250° C 毛细管柱 6825-3002。表 1 列出了其具体测试条件，表 2 列出了 20 种主要成分脂肪酸甲酯的出峰顺序和出峰时间。图 1 是对应的气相色谱图测试结果。

表 1. 鱼油标准样品分析仪器条件

柱型	GsBP-FAMEWax, 30m x 0.25mm x 0.25um, 柱型 6825-3002
载气	氢气, 1ml/min
进样口	S/SL, 250° C, 分流比 50:1
检测器	氢火焰离子检测器, 280° C
炉温	160 ° C 4° C/min to 250° C (5 分钟)
标准样品	鱼油 FAME 标样 (20 组分), 1ul

图 1. 脂肪酸甲酯标准样品分析色谱图

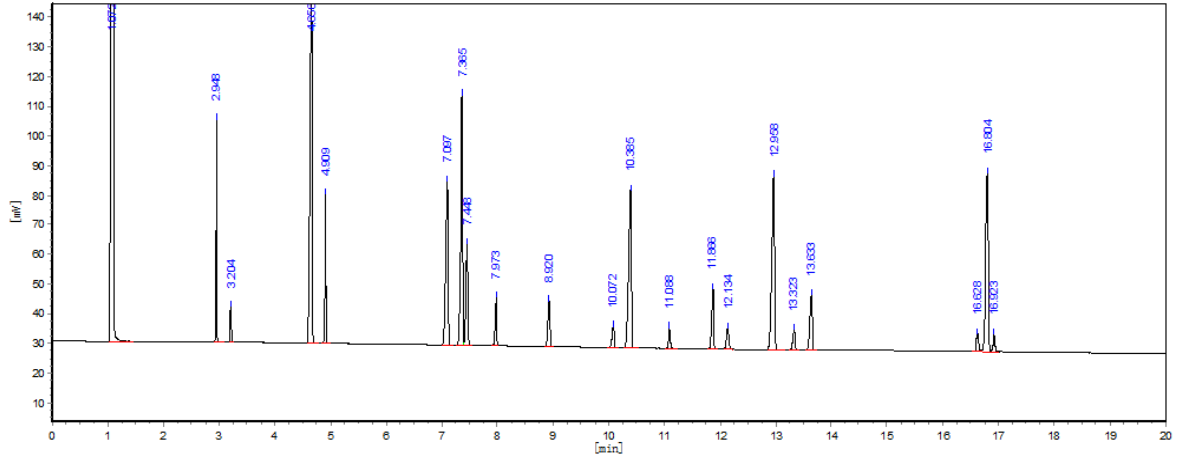


表 2. 标准样品的峰鉴定和成分分析

成分(甲酯)	保留时间(min)	成分(甲酯)	保留时间 (min)
肉豆蔻酸 C14:0	2.948	顺-11- 二十碳烯酸 C20:1n9	10.385
顺-9-十四碳烯酸 C14:1	3.204	二十碳二烯酸 C20:2	11.088
棕榈酸 C16:0	4.656	花生四烯酸 C20:4 (ARA) (Ω-6)	11.866
棕榈油酸 C16:1	4.909	顺式-8, 11, 14-二十碳三烯酸 C20:3	12.134
硬脂酸 C18:0	7.097	顺式-5, 8, 11, 14, 17-二十碳五烯酸 C20:5 (EPA) (Ω-3)	12.958
油酸 C18:1n9	7.365	正二十二烷酸 C22:0	13.323
异油酸 C18:1n7	7.448	芥酸 C22:1	13.633
亚油酸 C18:2n6 (LA) (Ω-6)	7.973	木蜡酸 C24:0	16.628
异亚麻酸 C18:3n6 (GLA) (Ω-6)	8.92	二十二碳六烯酸 C22:6n3 (DHA) (Ω-3)	16.804
二十烷酸 C20:0	10.072	神经酸 C24:1	16.923

结论

以上结果表明 FAME 的出峰顺序是按照碳数由低到高的，同一碳数是不饱和脂肪酸甲酯先于饱和脂肪酸甲酯出峰，如脂肪酸 C14:1 的甲酯位于脂肪酸 C14:0 的甲酯之后；同碳数的不饱和脂肪酸甲酯，脂肪酸烯键少先出峰。同一碳数，不饱和度也相同的情况下，极性越高的后出峰，如异油酸甲酯的极性比油酸甲酯高（双键位置决定）则后出峰。在此条件下，鱼油甲酯后大部分 FAME 可以实现基线分离，而分辨率可以通过调节升温程序进行提升。高柱温能够缩短分离时间，但不利于分离。柱温低则有利于样品的分离，但对峰形及分离时长有影响。

不同鱼油成分分析对比

实验条件及结果

为了优化峰形，鱼油样品一般会利用醇解法进行脂肪酸甲酯化，然后将得到的 FAME 进行气相色谱法分析。但在此实验中，为了简化分离步骤及减小损失率，我们采用了直接进样法。由于脂肪酸和其对应甲酯的出峰顺序大致相同，因此可以用之前的 FAME 出峰规则（按脂

肪酸的碳数、不饱和度、顺反构象以及双键的位置出峰) 进行对比来得到脂肪酸出峰顺序。测试样品分别是 1000mg+ 市场上售卖的鱼油胶囊(含维他命 E) 和处方型鱼油。用正己烷作为溶剂来稀释鱼油后直接进样来检测实际鱼油样品中的脂肪酸含量。实验条件如表 1 所列, 成分分析见表 3, 谱图结果见图 3 和图 4。

图 3. 市场上售卖保健品鱼油的分析谱图

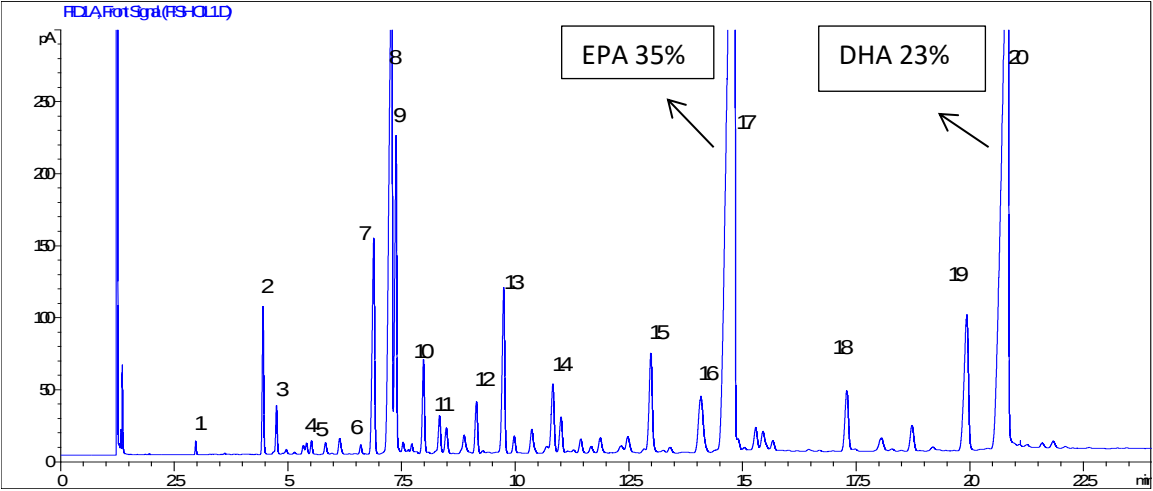


图 4. 处方型鱼油的分析谱图

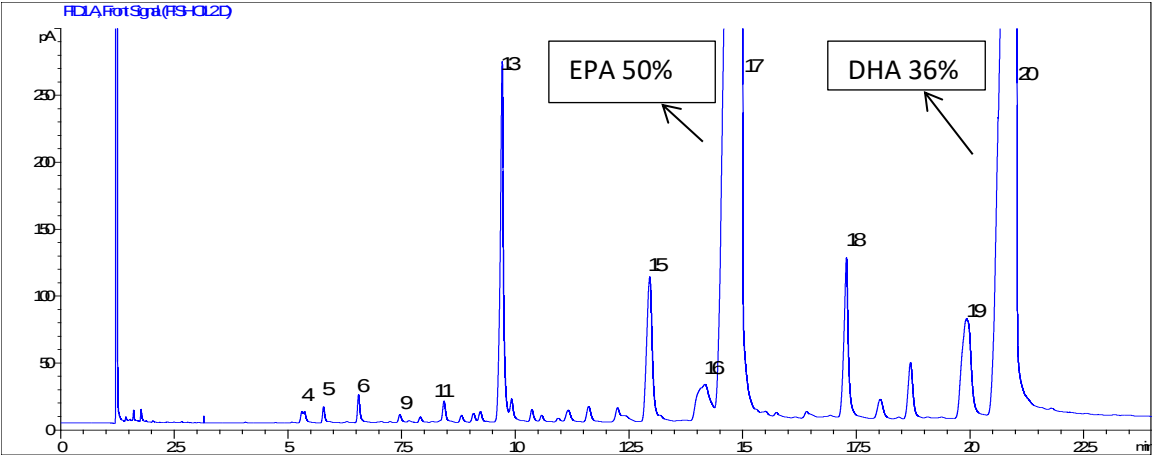


表 3. 图 3 和 4 中峰鉴别情况和出峰时间

峰号	成分(甲酯)	峰号	成分(甲酯)
1	肉豆蔻酸 C14:0	11	异亚麻酸 C18:3n6 (GLA) (Ω-6)
2	棕榈酸 C16:0	12	8, 11, 14-十八碳三烯酸 C18:3n4
3	棕榈油酸 C16:1n7	13	α-亚麻酸 C18:3n3 (ALA) (Ω-3)
4	9, 12-十六碳二烯酸 C16:2n4	14	顺-11- 二十碳烯酸 C20:1n9
5	6, 9, 12-十六碳三烯酸 C16:3n4	15	花生四烯酸 C20:4n6 (ARA) (Ω-6)
6	6, 9, 12, 15-十六碳四烯酸 C16:4n1	16	二十碳四烯酸 C20:4n3
7	硬脂酸 C18:0	17	二十碳五烯酸 C20:5n3 (EPA) (Ω-3)
8	油酸 C18:1n9	18	二十二碳四烯酸 C22:4n6
9	异油酸 C18:1n7	19	二十二碳五烯酸 C22:5n3
10	亚油酸 C18:2n6 (LA) (Ω-6)	20	二十二碳六烯酸 C22:6n3 (DHA) (Ω-3)

结论

实验结果表明普通鱼油与处方型鱼油的有效成分组成是不一样的。普通鱼油除了 DHA 和 EPA 还有大量其他成分，这会降低鱼油的有效成分含量（EPA：35%；DHA：23%）且有一些杂质对人体健康无益。相比于普通鱼油，处方型鱼油组成相对比较单一，主要成分就是 Ω -3, 且含量较大（EPA:50%；DHA:36%）。

37 种 FAMEs 标样分析

实验条件及结果

我们用 restek 的 37 种 FAME 混标进行分离来证明 GsBP-FAMEwax 可以有效分离大部分脂肪酸甲酯。表 4 和表 5 分别列出了这部分实验的实验条件及仪器情况和结果中各峰的鉴别及出峰时间。图 4 是相应实验的气相色谱图。

表 4. 37 种 FAME 混标测试仪器条件

柱型	GsBP-FAMEwax, 30m x 0.32mm x 0.25um, 6832-3002
载气	氢气, 2ml/min
进样口	S/SL, 250C, 分流比 50:1
检测器	氢火焰离子检测器, 280C
炉温	50 ° C (1min) 10° C/min to 200C (1min) 2C/min to 260C hold
样品	37 种 FAME 混标

图 4. 37 种 FAME 混标测试气相色谱图

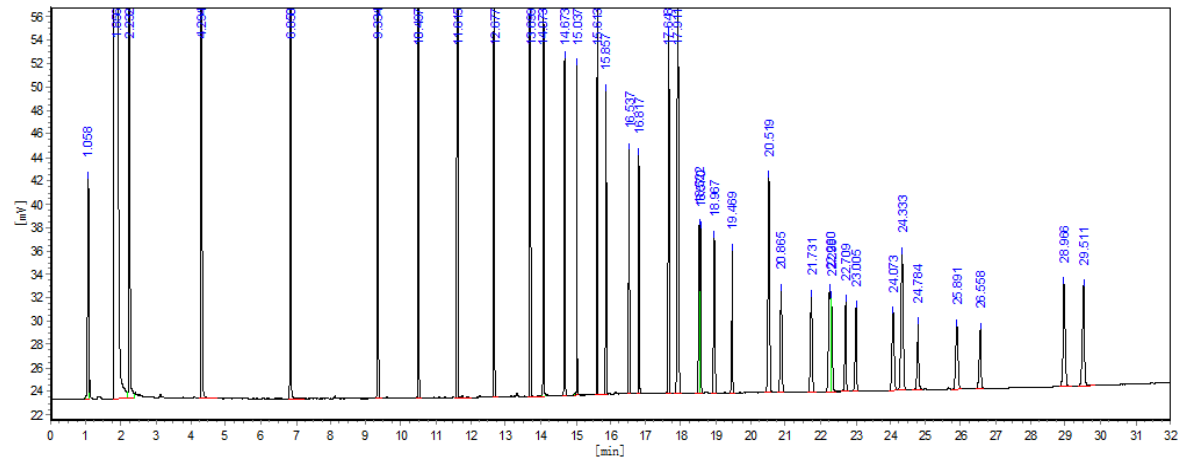


图 5. 37 种 FAME 混标分离峰鉴别

成分	保留时间 (min)	成分	保留时间 (min)
丁酸 C4:0	2.232	十八碳二烯酸 C18:2 (all-cis-9, 12)	18.57
己酸 C6:0	4.294	γ -亚麻酸 C18:3 (all-cis-6, 9, 12) (GLA) (Ω -6)	18.967
辛酸 C8:0	6.85	α -亚麻酸 C18:3 (all-cis-9, 12, 15) (ALA) (Ω -3)	19.469
癸酸 C10:0	9.334	二十烷酸 C20:0	20.519
十一酸 C11:0	10.497	顺式-11-二十碳烯酸 C20:1 (cis-11)	20.865
月桂酸 C12:0	11.615	反式-11, 14-二十碳二烯酸 C20:2 (all-cis-11, 14,)	21.731
十三烷酸 C13:0	12.677	顺式-11, 14, 17-二十碳三烯酸 C20:3 (all-cis-11, 14, 17)	22.26
肉豆蔻酸 C14:0	13.699	二十一烷酸 C21:0	22.299
顺-9-十四碳烯酸 C14:1 (cis-9)	14.073	顺式-8, 11, 14-二十碳三烯酸 C20:3 (all-cis-8, 11, 14)	22.709
十五烷酸 C15:0	14.673	花生四烯酸 C20:4 (all-cis-5, 8, 11, 14) (ARA) (Ω -6)	23.005
顺-10-十五碳烯酸 C15:1 (cis-10)	15.037	二十碳五烯酸 C20:5 (all-cis-5, 8, 11, 14, 17) (EPA) (Ω -3)	24.073
棕榈酸 C16:0	15.613	正二十二烷酸 C22:0	24.333
顺-9-十六碳烯酸 C16:1 (cis-9)	15.857	芥酸 C22:1 (cis-13)	24.784
十七烷酸 C17:0	16.537	二十二碳二烯酸 C22:2 (all-cis-13, 16)	25.891
顺式-10-十七碳烯酸 C17:1 (cis-10)	16.817	二十三角酸 C23:0	26.558
硬脂酸 C18:0	17.648	木蜡酸 C24:0	28.966
反油酸 C18:1 (trans-9)	17.911	二十二碳六烯酸 C22:6 (all-cis-4, 7, 10, 13, 16, 19) (DHA) (Ω -3)	29.511
异油酸 C18:1 (cis-9)	17.911	神经酸 C24:1 (cis-15)	29.511
反亚油酸 C18:2 (all-trans-9, 12) (LA) (Ω -6)	18.522		

结论

此实验证明我们的 GsBP-FAMEwax 气相色谱柱能够很好的分离鱼油中脂肪酸对应的 FAME 成分。相比于传统的 FAME 分离柱，我们这款柱子有较长的使用寿命，低廉的价格和较短的分离时长（30 分钟以内）。但不足之处在于有两对物质没有分离：二十二碳六烯酸/神经酸和反油酸/异油酸。

Order Contact:

Email: orders@gs-tek.com

GS-Tek

A USA GC and HPLC column manufacturer

625 Dawson Drive

Newark, DE 19713

USA

Phone: +1-302-533-5646

Web: www.gs-tek.com

www.gs-tek.com