

利用 Agilent 8850 气相色谱系统进行 脂肪酸甲酯分析

作者

Jie Zhang

安捷伦科技（上海）有限公司

摘要

本应用简报介绍了使用 Agilent 8850 气相色谱 (GC) 系统分析脂肪酸甲酯 (FAMEs)。利用 8850 的快速程序升温功能，通过 20 m 和 30 m 的 Agilent J&W DB-FastFAME 气相色谱柱，分别在 10 分钟和 15 分钟内实现了 37 种常见脂肪酸甲酯的快速分离。为了分析更复杂的脂肪酸甲酯样品，包括亚油酸甲酯和亚麻酸甲酯的顺反异构体及位置异构体，使用 90 m Agilent DB-FastFAME 气相色谱柱和 100 m Agilent J&W HP-88 色谱柱，在 8850 GC 平台上采用常规程序升温方法进行了分离。此外，还评估了以氦气和氮气作为载气时，三种 DB-FastFAME 分析柱上的目标物分离情况。同时对方方法性能进行了评估，包括关键化合物对的分离度、精密度和分析速度。

前言

脂肪酸是脂肪的组成部分，也是健康饮食中必不可少的要素。它们广泛存在于多种食物中，包括多脂鱼类、坚果、种子和植物油。脂肪酸可分为饱和脂肪、单不饱和脂肪、多不饱和脂肪（包括 ω -3 和 ω -6 脂肪酸）以及反式脂肪。不饱和脂肪酸对于维持心脏和血管功能具有积极作用。但是，加工食品中的人造反式脂肪酸应严格限制摄入。食品中脂肪酸的测定在以下方面具有重要意义：

- **营养评估：**分析 ω -3/ ω -6 比例，评估膳食营养均衡性
- **安全监管：**识别反式脂肪酸等健康风险物质
- **质量控制：**检测油品掺假及工艺缺陷
- **研发支持：**为功能性食品的开发提供数据支持

食品中脂肪酸的测定技术包括气相色谱法、液相色谱法以及光谱法等。每种技术都有独特的优势、局限性和适用场景。例如，液相色谱法适用于分析热不稳定脂肪酸，但分离度较低。荧光光谱法操作简单，但易受基质干扰，特异性较差。气相色谱是目前脂肪酸测定中最常用的技术。食品中的脂肪酸主要以甘油三酯的形式存在。在分析前，需将甘油三酯进行提取、皂化、甲酯化，生成相应的脂肪酸甲酯。脂肪酸甲酯的极性比脂肪酸低，挥发性比脂肪酸高，适合在气相色谱平台上进行分析。分析脂肪酸甲酯主要使用极性色谱柱，例如采用聚乙二醇和氰丙基硅氧烷固定相的色谱柱。聚乙二醇固定相适用于分析简单的脂肪酸混合物，但不适用于顺反异构体的分离。在多种脂肪酸甲酯分析方法中，推荐使用涂覆高含量氰丙基固定相的色谱柱。然而，基于此类固定相的分析通常耗时超过 70 分钟，且保留时间 (RT) 稳定性不佳。Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱采用改良的氰丙基固定相，可加速分析并提高重复性。安捷伦提供多种规格的 DB-FastFAME 色谱柱，其中 20 m 和 30 m 规格的色谱柱有助于提高食品中 37 种代表性脂肪酸甲酯的分析速度。先前的研究表明，采用传统的柱温箱升温速率，在这两款色谱柱上可以提高分析速度^[1]。随着 Agilent 8850 GC 的推出，空气浴柱温箱可实现快速程序升温。本应用简报展示了在 8850 GC 上，使用氮气 (N_2) 和氦气 (He) 载气

快速分析 37 种脂肪酸甲酯 (FAMEs)。同时，采用 90 m DB-FastFAME 色谱柱和 100 m Agilent J&W HP-88 色谱柱，对包含 37 种脂肪酸甲酯及 15 种反式脂肪酸甲酯的复杂混合物进行了分离，证明了 8850 GC 在顺式/反式脂肪酸甲酯及位置异构体分析中的卓越性能。

实验部分

化学品

- **脂肪酸甲酯混合物 1：**C4-C24 脂肪酸甲酯混合物，浓度范围为 200–600 μ g/mL，溶剂为异辛烷，共 37 种组分 (CDAA-M-252795-DZ-1.2ml)
- **脂肪酸甲酯混合物 2：**反式脂肪酸甲酯混合物，各组分浓度 100 μ g/mL，溶剂为异辛烷，共 8 种组分 (CDAA-M-259004-DA-1ml)
- **脂肪酸甲酯混合物 3：**亚麻酸甲酯混合物，浓度 10 mg/mL，溶剂为 CH_2Cl_2 ，共 8 种组分 (CRM47792)
- **脂肪酸甲酯混合物 4：**亚油酸甲酯混合物，浓度 10 mg/mL，溶剂为 CH_2Cl_2 ，共 4 种组分 (CRM47791)

所有化学品均购自上海安谱科技股份有限公司。

将混合物 1 用异辛烷稀释五倍，用于在 20 m 和 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上进行快速分离。

将混合物 1 至 4 混合，用于在 90 m DB-FastFAME 和 100 m HP-88 色谱柱上进行反式/顺式脂肪酸甲酯分析。

仪器

使用配备分流/不分流进样口和火焰离子化检测器 (FID) 的 8850 GC 系统进行分析。采用 Agilent 7650A 自动液体进样器 (ALS) (部件号 G4567A) 进样。

在四种分析柱上利用氦气和氮气作为载气的具体分析方法见表 1。进样口和检测器的温度设置保持一致。根据色谱柱类型和载气，对柱头压力和柱温箱升温程序进行了优化。使用 Agilent OpenLab CDS 2.8 采集和处理数据。所用消耗品详见表 2。

表 1. 8850 GC 仪器参数

参数	设定值			
分流/不分流进样口	220 °C, 分流比: 20:1 至 100:1			
FID	240 °C 氢气: 30 mL/min 空气: 400 mL/min 尾吹气 (氮气): 20 mL/min			
色谱柱类型	20 m Agilent J&W DB-FastFAME	30 m Agilent J&W DB-FastFAME	90 m Agilent J&W DB-FastFAME	100 m Agilent J&W HP-88
柱温箱升温程序和柱头压力设置 (氦气方法)				
载气	氦气			
柱头压	28 psi, CP*	27 psi, CP	34 psi (1.5 min), 以 6 psi/min 升至 40 psi, RP*	40 psi, CP
柱温箱升温程序	60 °C (0.5 min), 以 300 °C/min 升至 175 °C (0.32 min), 以 23 °C/min 升至 210 °C (1 min), 以 23.5 °C/min 升至 220 °C (1 min), 以 60 °C/min 升至 250 °C (3 min)	60 °C (0.49 min), 以 300 °C/min 升至 175 °C (0.49 min), 以 15 °C/min 升至 210 °C (2.5 min), 以 14.5 °C/min 升至 240 °C (3 min)	75 °C (1.5 min), 以 150 °C/min 升至 200 °C (20 min), 以 2 °C/min 升至 208 °C (0.8 min), 以 9 °C/min 升至 235 °C (21 min)	100 °C (13 min), 以 10 °C/min 升至 180 °C (6 min), 以 1 °C/min 升至 200 °C (20 min), 以 4 °C/min 升至 250 °C (2 min)
柱温箱升温程序和柱头压力设置 (氮气方法)				
载气	氮气			
柱头压	20 psi	14 psi	30 psi (1.5 min), 以 6 psi/min 升至 36 psi, RP	
柱温箱升温程序	60 °C (0.58 min), 以 250 °C/min 升至 175 °C (0.37 min), 以 19.6 °C/min 升至 210 °C (1.6 min), 以 20.1 °C/min 升至 225 °C (2 min), 以 180 °C/min 升至 250 °C (2 min)	60 °C (0.64 min), 以 130 °C/min 升至 175 °C (1.3 min), 以 8 °C/min 升至 210 °C (5.4 min), 以 50 °C/min 升至 250 °C (4 min)	75 °C (1.5 min), 以 150 °C/min 升至 200 °C (20 min), 以 3 °C/min 升至 208 °C (8 min), 以 9 °C/min 升至 235 °C (18 min)	

* CP 代表恒压; RP 代表梯度压力。考虑到色谱柱批次差异, 使用氮气作为载气时, 20 m 和 30 m 色谱柱的柱头压力可能需要调整以获得相近的分离度

表 2. 脂肪酸甲酯分析所用的消耗品

类别	安捷伦部件	部件号
进样口隔垫	耐高温/低流失/不粘连隔垫	5183-4757
进样口衬管	超高惰性低压降分流衬管, 带玻璃毛	5190-2295
ALS 进样针	安捷伦金标, 23–26 s 锥形针头	5181-1273
色谱柱 1	Agilent J&W DB-FastFAME, 20 m × 0.18 mm, 0.20 µm, 定制 5 英寸规格	100-2000
色谱柱 2	Agilent J&W DB-FastFAME, 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm	G3903-63011
色谱柱 3	Agilent J&W DB-FastFAME, 90 m × 0.25 mm, 0.25 µm, 定制 5 英寸规格	100-2000
色谱柱 4	Agilent J&W HP-88 气相色谱柱, 100 m, 0.25 mm, 0.2 µm	112-88A7E

结果与讨论

利用短色谱柱快速分析 37 种脂肪酸甲酯

这 37 种脂肪酸甲酯模拟了许多食品样品的脂肪酸组成, 其中包括大部分重要的饱和、单不饱和及多不饱和脂肪酸甲酯。它们是经过充分验证且广受认可的标准物质。

本研究使用 20 m × 0.18 mm 内径、0.2 µm DB-FastFAME 色谱柱和 30 m × 0.25 mm 内径、0.25 µm DB-FastFAME 色谱柱, 在 8850 GC 上对 37 种脂肪酸甲酯进行快速分析。柱温箱升温程序和色谱柱流速基于先前的研究确定, 并针对 8850 GC

进行了进一步优化。考虑到对替代载气的需求日益增加以及不同地区实验室的操作习惯差异, 我们分别开发了以氦气和氮气作为载气的分析方法。

图 1A、1B、2A 和 2B 显示了使用不同载气在两根色谱柱上获得的 GC-FID 色谱图。使用氦气方法时, 所有化合物均实现良好分离。未能实现基线分离的三对化合物已用黑框标出。其中, c22:2n6 和 c23:0 的分离度最低, 在 20 m 和 30 m 色谱柱上分别为 1.27 和 1.31。AOAC 国际方法 996.06^[2] 要求分离相邻的 C18:3 和 C20:1 峰以及 C22:1、C20:3 和 C20:4 峰时, 分离度需达到 1.0 以上。该要求主要是针对高含量的直链

定相提出的。六种示踪脂肪酸甲酯在 DB-FastFAME 色谱柱上的出峰顺序与其他方法不同，如图中黄色方框所示。凭借 DB-FastFAME 色谱柱独特的选择性，这些化合物的分离度远超方法要求。使用氦气载气时，两种色谱柱的分析时间分别短于 7 分钟和 10 分钟。分析速度是传统方法的五到八倍。

使用氮气载气时，晚出峰的化合物峰形较宽，影响了它们与相邻峰的分离度。在 20 m 色谱柱上改用氮气载气后，C22:2n6/C23:0 和 C24:1/C22:3n6 的分离度分别从 1.27 和 1.36 下降到 1.1 和 1.01，分析时间增加了 30% 左右。为了提高氮气方法的分离度，需要降低分析速度。图 2B 显示了

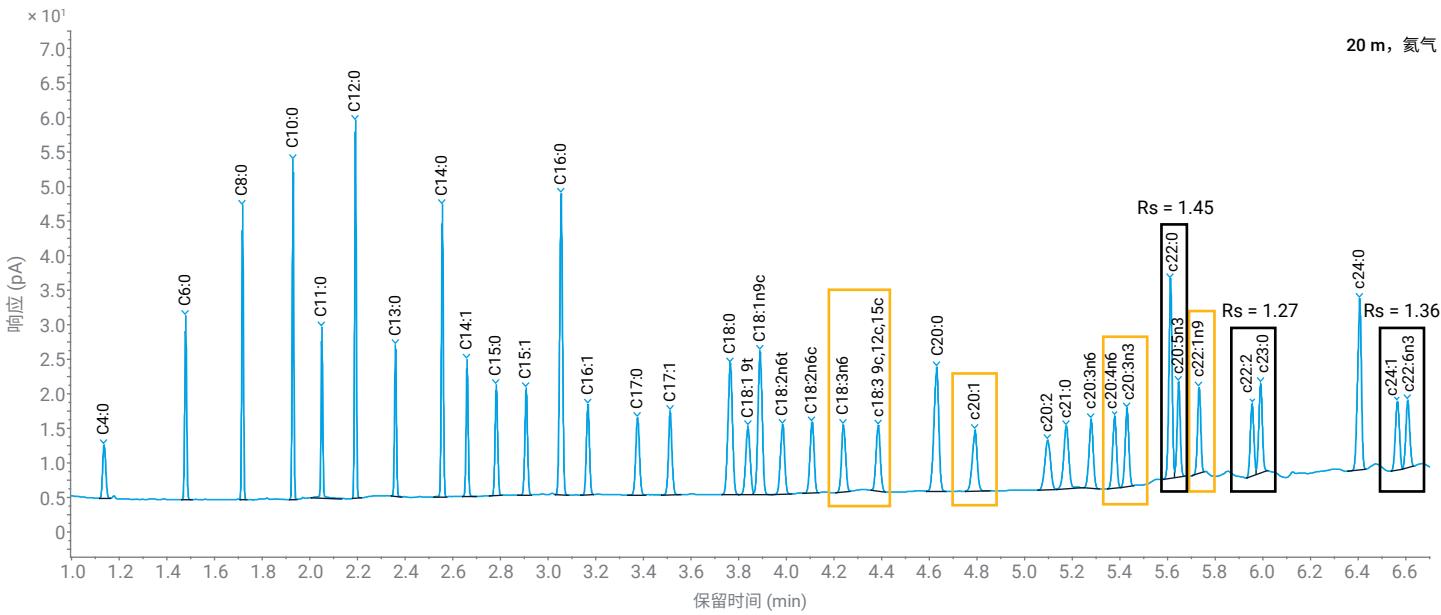


图 1A. 使用氦气载气，在 20 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分离 37 种脂肪酸甲酯获得的色谱图

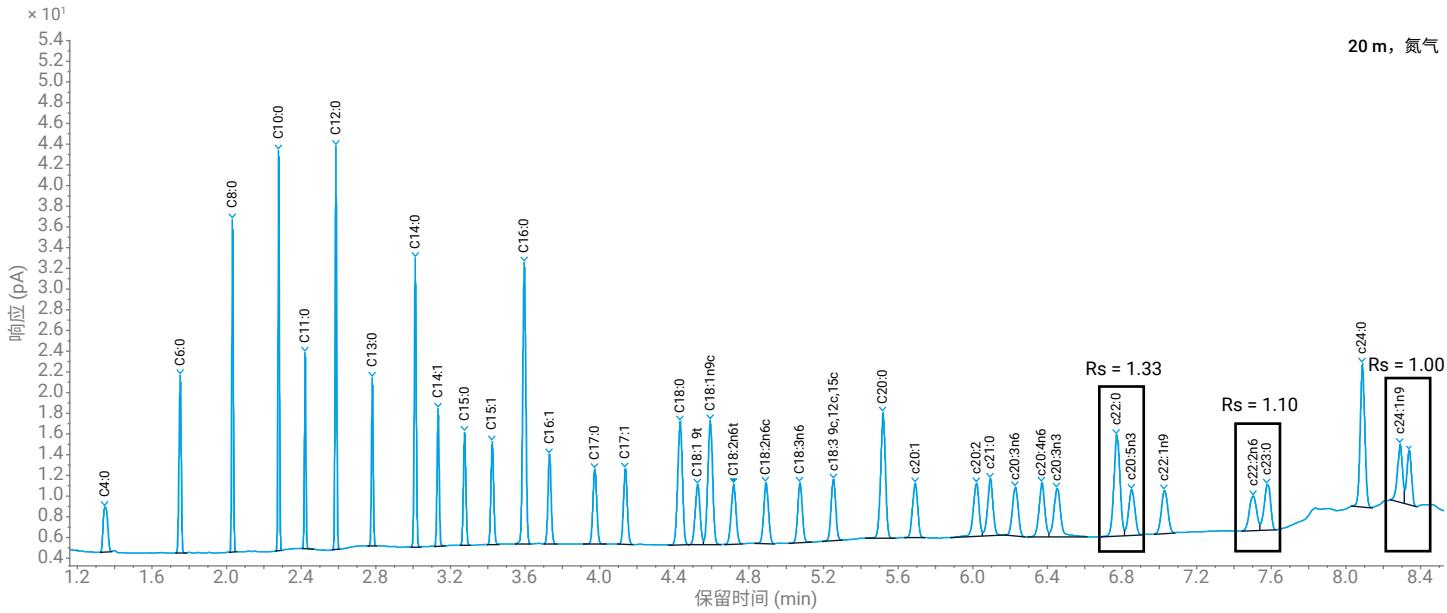


图 1B. 使用氮气载气，在 20 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分离 37 种脂肪酸甲酯获得的色谱图

在 30 m 色谱柱上，使用氮气载气、更低的柱流速和更慢的升温程序获得的色谱图。此时，c22:2n6 和 c23:0 的分离度为 1.30，与使用氦气时的 1.31 相当。在 30 m 色谱柱上，氮气方法的分析速度比 He 方法慢 50%（14.5 分钟对比 9.5 分钟）。

尽管使用氦气和氮气均可在短 DB-FastFAME 色谱柱上实现快速脂肪酸甲酯分析，但为了获得更高的分离度和效率，以氦气作为载气是更好的选择。

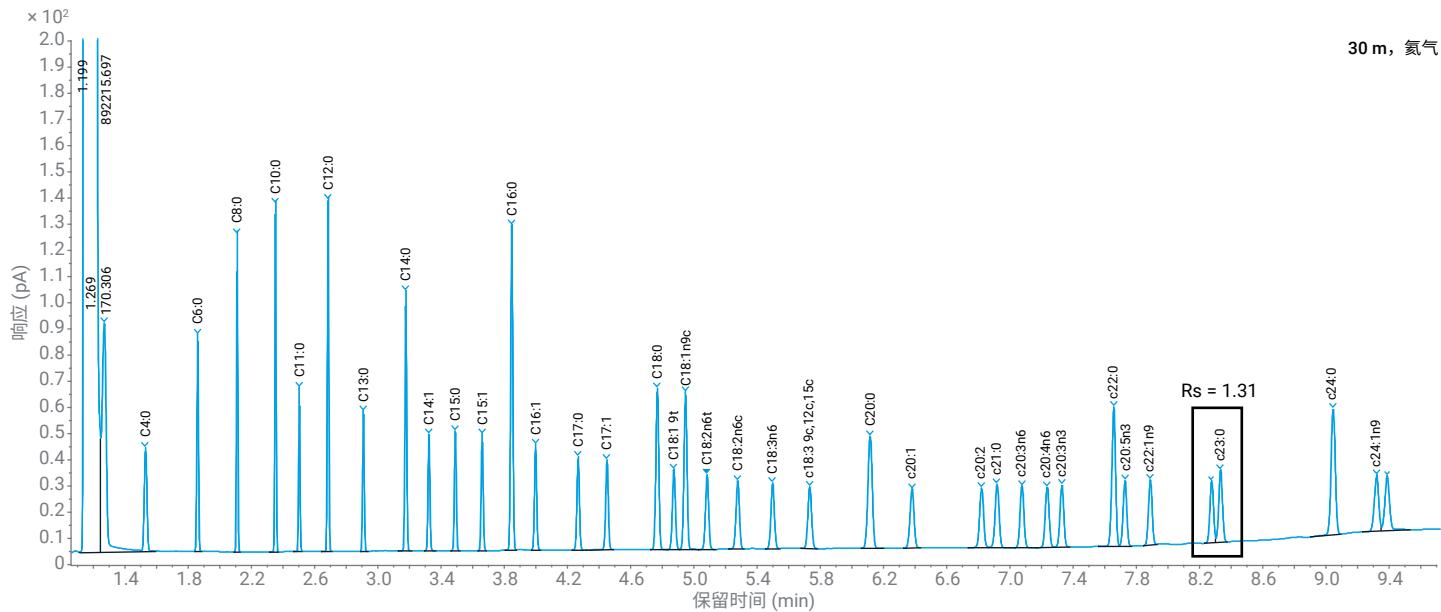


图 2A. 使用氦气载气，在 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分离 37 种脂肪酸甲酯获得的色谱图

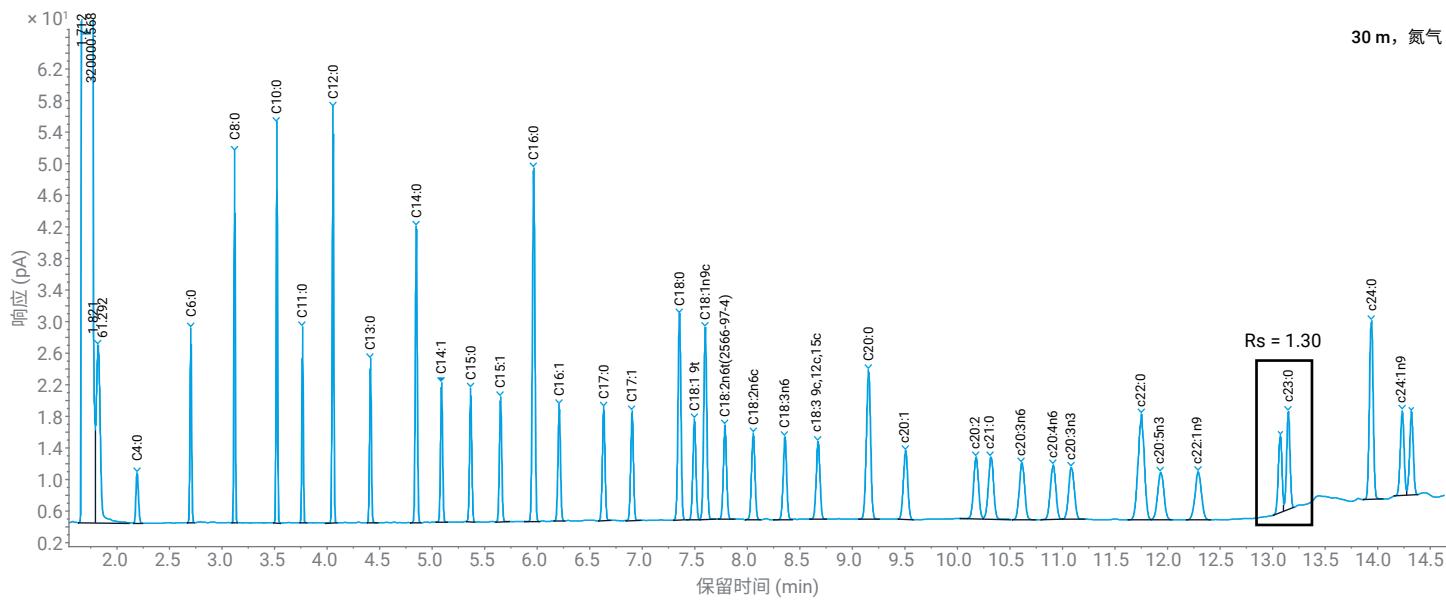


图 2B. 使用氮气载气，在 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分离 37 种脂肪酸甲酯获得的色谱图

对 37 种脂肪酸甲酯混合物进行 7 次连续进样，评估四种快速方法的保留时间和响应精密度。色谱柱上样量范围为 0.4–1.2 ng。如图 3 所示，峰面积重复性为 0.2%–3.8%。晚出峰的化合物由于基线对其峰积分的影响，峰面积 %RSD 较高 (2%–3.8%)。在较高的柱温箱温度下，DB-FastFAME 色谱柱的基线不如低温下平稳。基线波动影响了晚出峰组分积分起点或终点的判定，导致积分结果重复性降低。峰面积的波动最终表现为略微升高的响应 %RSD。在实际样品分析中，脂肪酸含量通常远高于测试标准品，它们的响应信号会更强，受基线波动的影响更小，因此定量精度会更好。

四种方法的保留时间精密度 (RSD) 在 0.01%–0.07% 范围内 (图 4)。考虑到分析速度较快，这是一个不错的结果，也是准确性的重要保障。

需要强调的是，快速分析方法适用于玉米油、大豆油等典型植物油样品的表征。对于动物源性样品，如乳制品和鱼油中的 ω-3 脂肪酸，该快速分析方法也可用于质量控制流程。对于涉及顺式/反式脂肪酸和位置异构体（即双键位置异构体）分析的复杂样品，建议采用长极性色谱柱配合较慢的升温程序，以获得满意的分离效果。

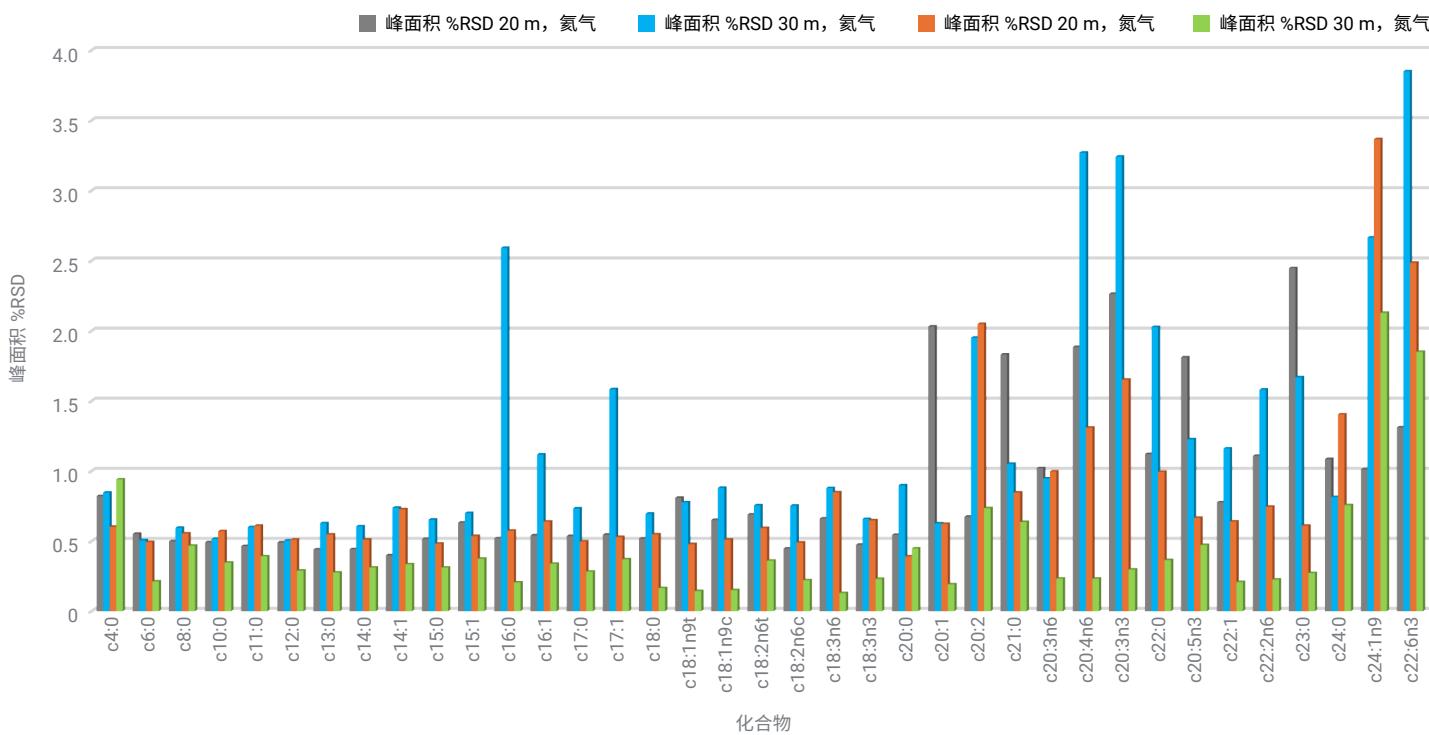


图 3. 使用氦气或氮气作为载气，在 20 m 和 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上获得的峰面积精密度

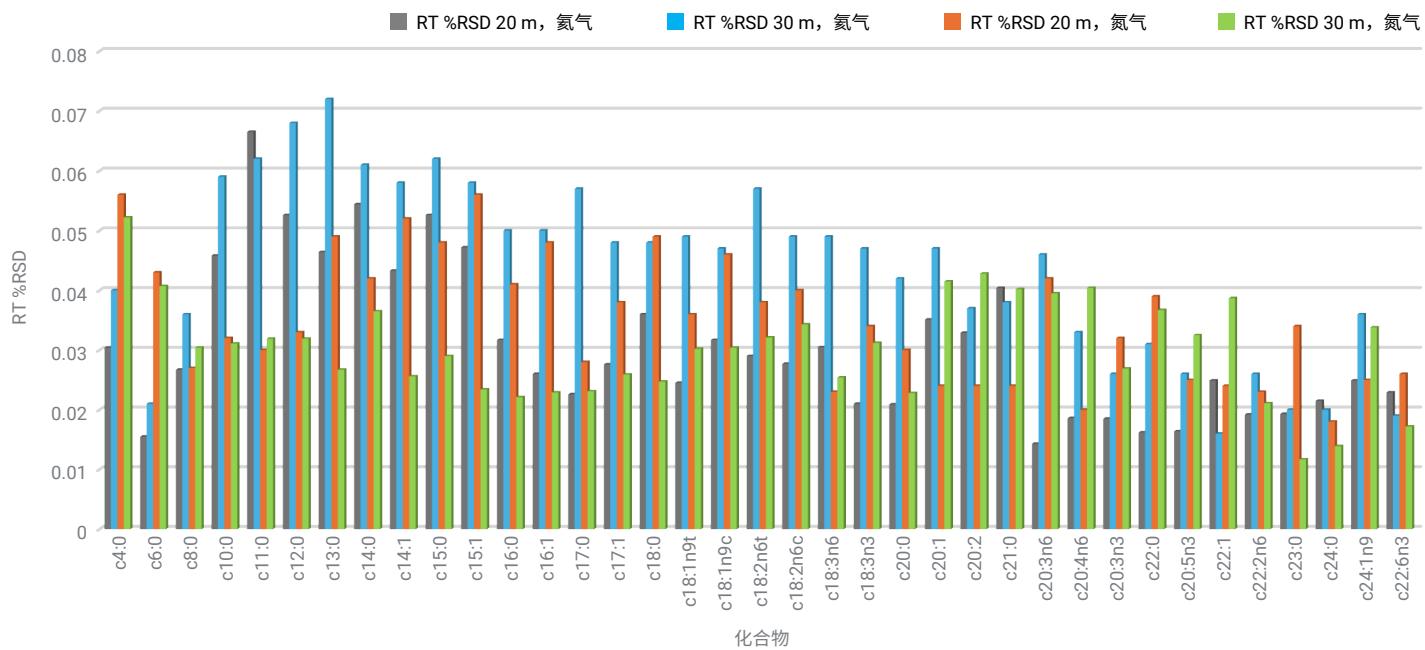


图4. 使用氦气或氮气作为载气，在 20 m 和 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上获得的保留时间精密度

利用 90 m DB-FastFAME 和 100 m HP-88 色谱柱分析复杂反式/顺式脂肪酸

全面的脂肪酸分析不仅需要分离饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸，还需要分离多种反式/顺式脂肪酸异构体，例如亚麻酸 (C18:3) 和亚油酸 (C18:2) 异构体。中国《食品安全国家标准目录》中的 GB 5009.168-2016^[3] 和 GB 5009.257-2016^[4] 方法要求检测食品基质中的 52 种脂肪酸，其中包括 C18:2 和 C18:3 异构体以及 37 种脂肪酸甲酯。短型 DB-FastFAME 色谱柱不适用于此类应用。传统上，这类分离需采用具有高氰丙基含量固定相的长色谱柱，例如 HP-88 和 Agilent J&W CP-Sil 88 色谱柱。本研究采用 90 m DB-FastFAME 色谱柱，在 Agilent 8850 GC 上进行目标物分离，并考察了分离度、分析速度和方法精密度。

使用氦气或氮气载气，采用优化的柱温箱升温程序对 37 种脂肪酸甲酯与 15 种反式脂肪酸甲酯混合物进行了分离。本研究开发了柱头升压梯度程序，以匹配柱温箱程序中的快速升温段。使用氦气方法的分析时间在 50 分钟以内，使用氮气方法的时间略长（小于 55 分钟）。图 5A 和图 5B 展示了在 90 m DB-FastFAME 色谱柱上获得的色谱图以及 C18:2 和 C18:3 异构体的详细分离情况。要让所有相邻峰都实现基线分离较为困难。本研究的目标是将大多数顺式和反式脂肪酸甲酯的分离度提升至 1.0 以上。在氦气方法中，仅 C18:3 (6c,9c,12c) (顺式) 和 C18:3 (9t,12t,15c) (反式) 这一对化合物未能达到该分离度要求。在氮气方法中，C18:3 (9t,12t,15c)、C18:3 (6c,9c,12c) 和 C18:3 (9t,12c,15c) 这三种脂肪酸甲酯未能满足该分离度要求。

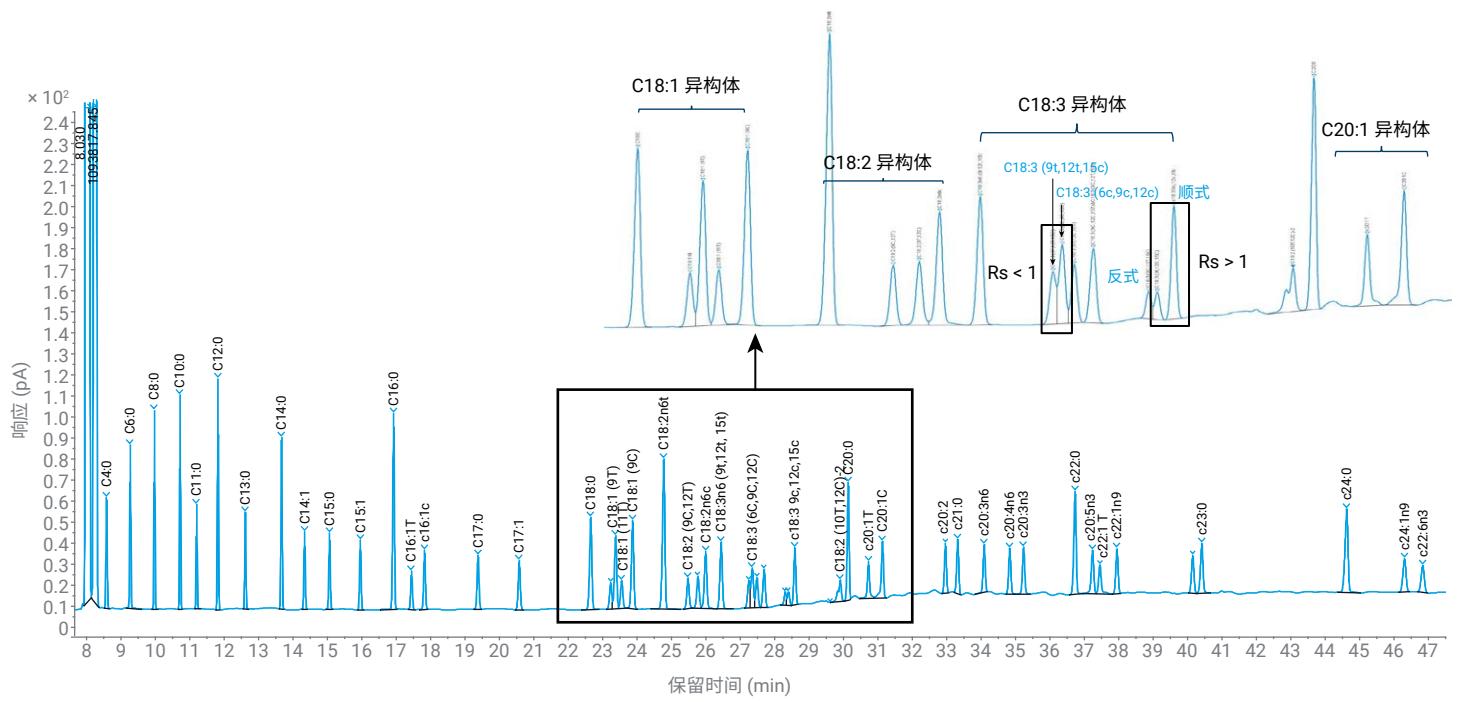


图 5A. 在 90 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分析 52 种脂肪酸甲酯 (氦气)

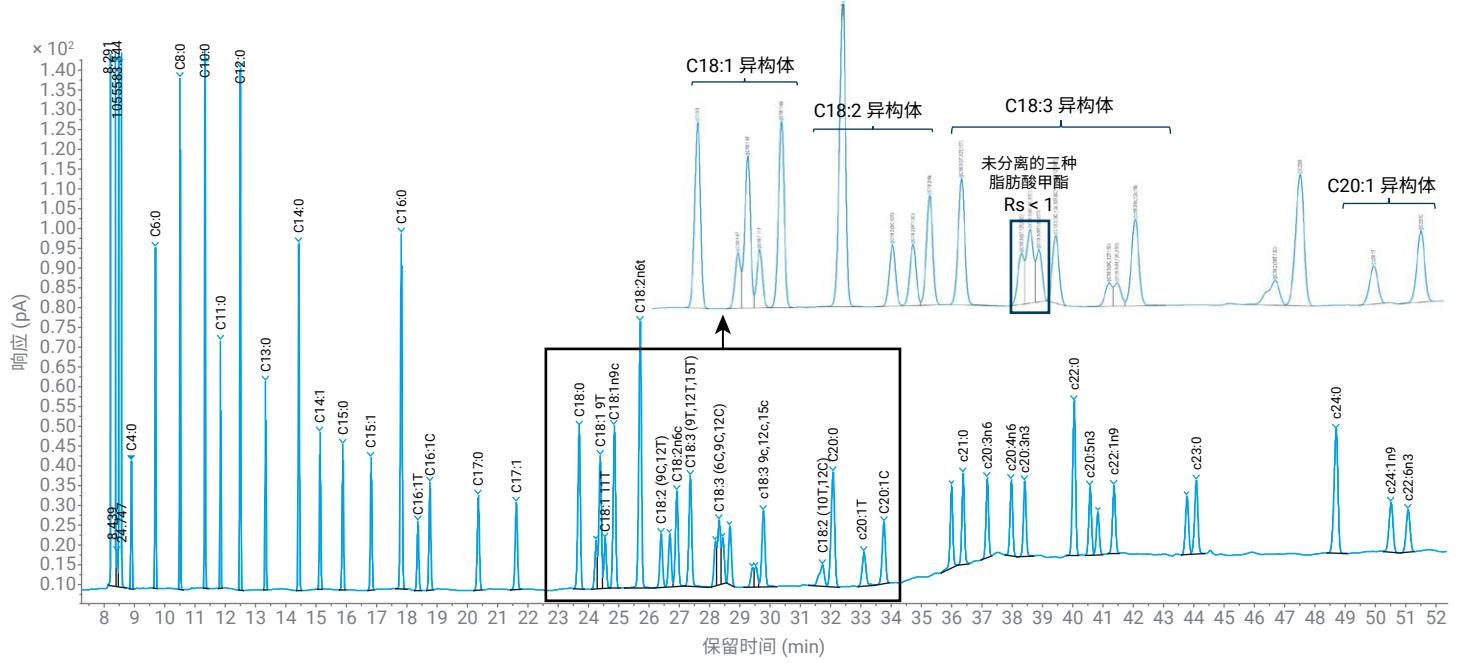


图 5B. 在 90 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上分析 52 种脂肪酸甲酯 (氦气)

为便于比较，在同一台 8850 GC 系统上，使用 100 m HP-88 色谱柱对同一标准品进行了分析。图 6 为使用氦气载气在 100 m HP-88 色谱柱上获得的色谱图。分析过程大约耗时 75 分钟。与 DB-FastFAME 色谱柱类似，HP-88 色谱柱在分离 C18:3 异构体时同样面临挑战：有一对顺式/反式脂肪酸甲酯共流出，且 C18:3 (9c,12c,15t)、C18:3 (6c,9c,12c) 和 C18:3 (9c,12t,15t) 这三种脂肪酸甲酯未能实现充分分离。在所测试的两种色谱柱上，化合物的流出顺序及分离度存在差异，证明了二者选择性的差异。如图 7 所示，HP-88 色谱柱无法分离 C20:0 与

C18:3 异构体中的 C18:3 (9t,12c,15t)。在上方的色谱图中用红色方框标明了该共流出峰。相比之下，这两种化合物在 DB-FastFAME 色谱柱上能够实现良好分离，C20:0 的出峰时间远晚于 C18:3 (9t,12c,15t)。其余所有化合物在这两种色谱柱上均能实现良好分离。通过比较色谱图可以发现，与传统的高含量氯丙基相色谱柱相比，90 m DB-FastFAME 色谱柱可以在更短的时间内为 GB 5009.168-2016 和 GB 5009.257-2016 方法所要求的 52 种脂肪酸甲酯提供同样出色的分离效果。

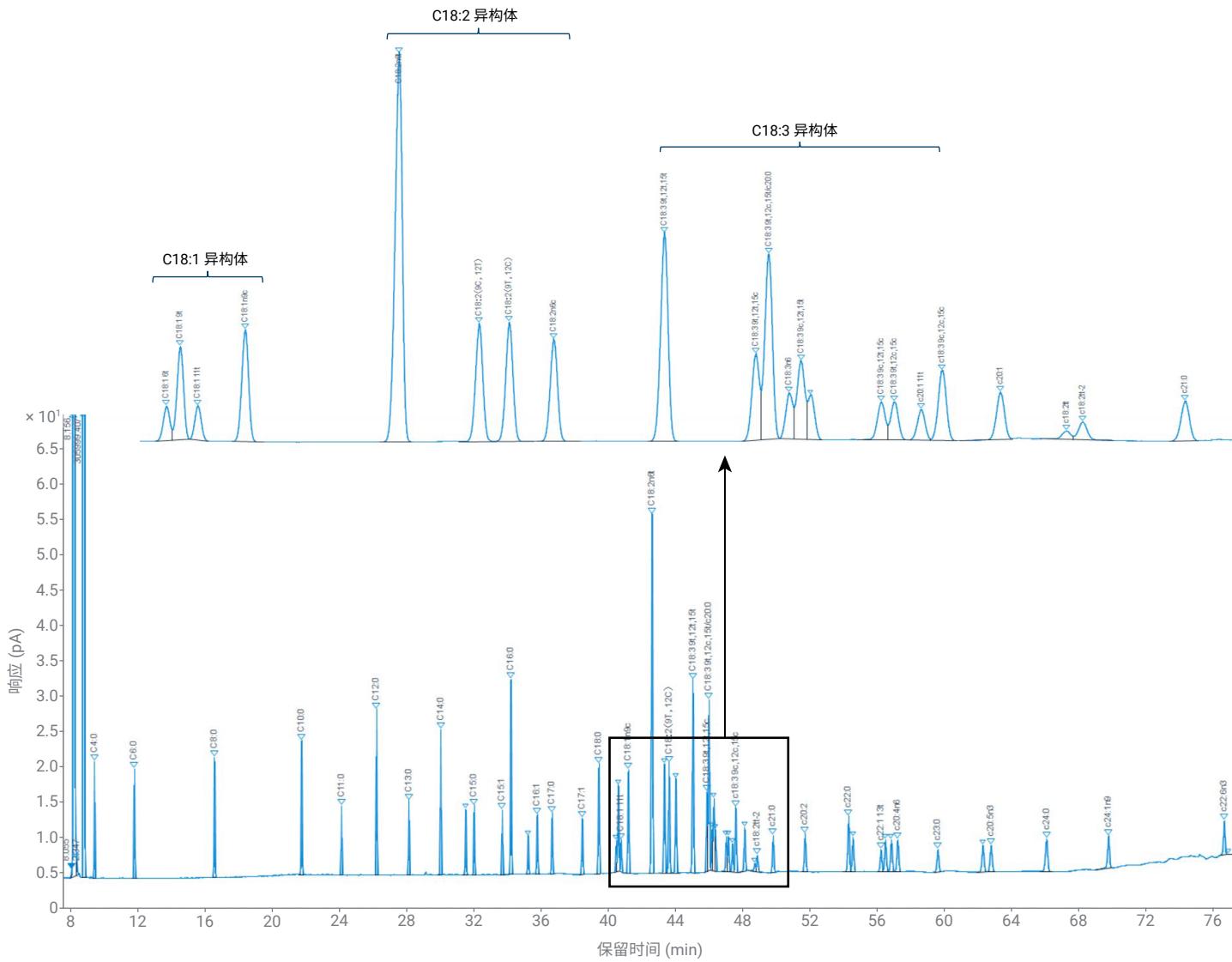
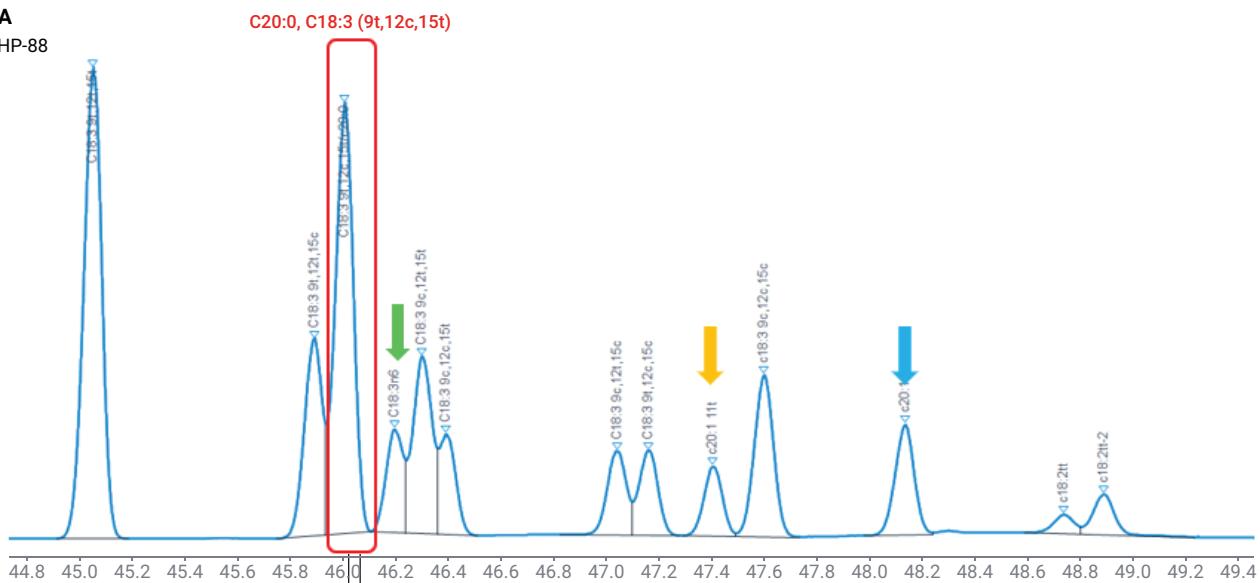


图 6. 在 100 m HP-88 色谱柱上分析 52 种脂肪酸甲酯 (氦气)

A
HP-88



B
DB-FastFAME

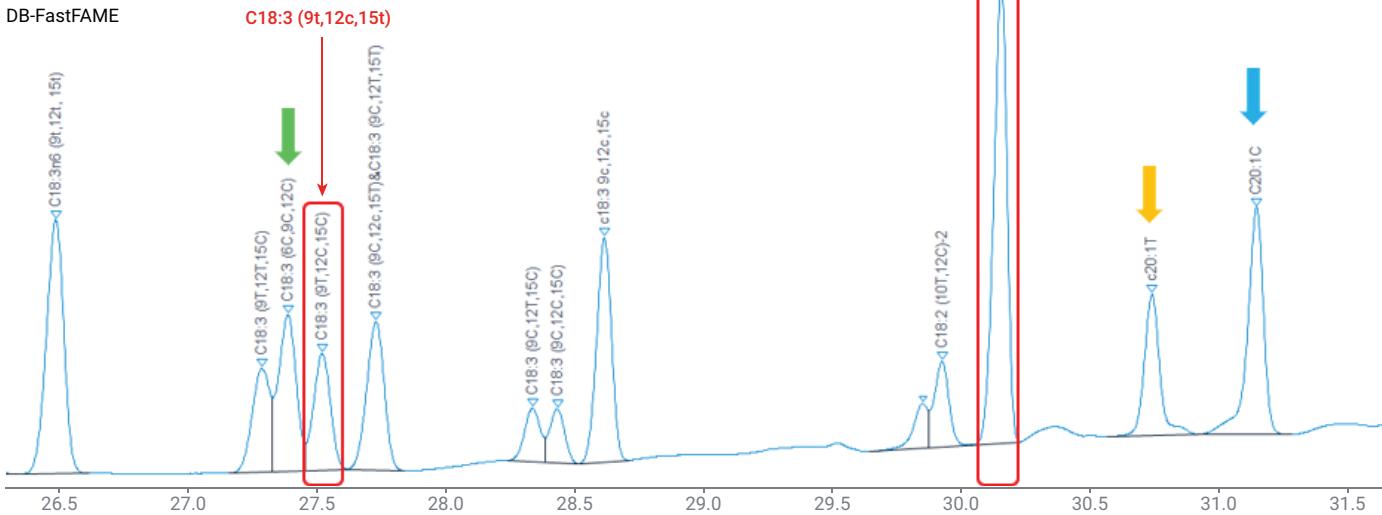


图 7. 100 m Agilent J&W HP-88 (A) 和 90 m Agilent J&W DB-FastFAME (B) 色谱柱上 C18:3 异构体的分离情况。相同颜色的箭头标记的峰为同一化合物，这些化合物在 DB-FastFAME 和 HP-88 色谱柱上的出峰顺序不同

通过对 52 种脂肪酸甲酯的混合物进行 6 次重复分析，评估了 90 m DB-FastFAME 色谱柱的分析精密度。峰面积重复性在 0.22%–2.7% 范围内（图 8）。保留时间重复性在 0.005%–0.041% 范围内（图 9）。信号响应和保留时间精密度均表现出

色，与之前在 8890 GC 上获得的结果相当。这表明 8850 GC 能够在长时间运行过程中对柱温箱温度、进样口压力和检测器流速实现准确稳定的控制，从而确保对复杂脂肪酸甲酯样品进行可靠鉴定。

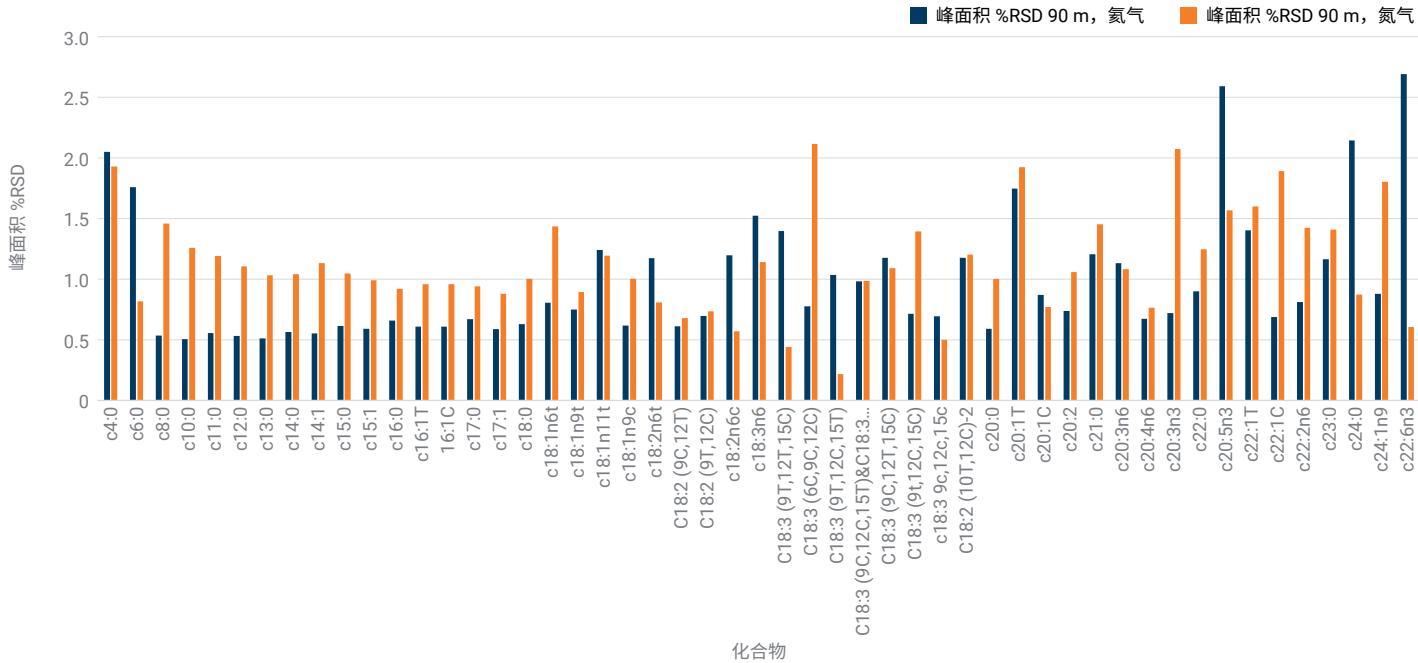


图 8. 90 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上的响应精密度

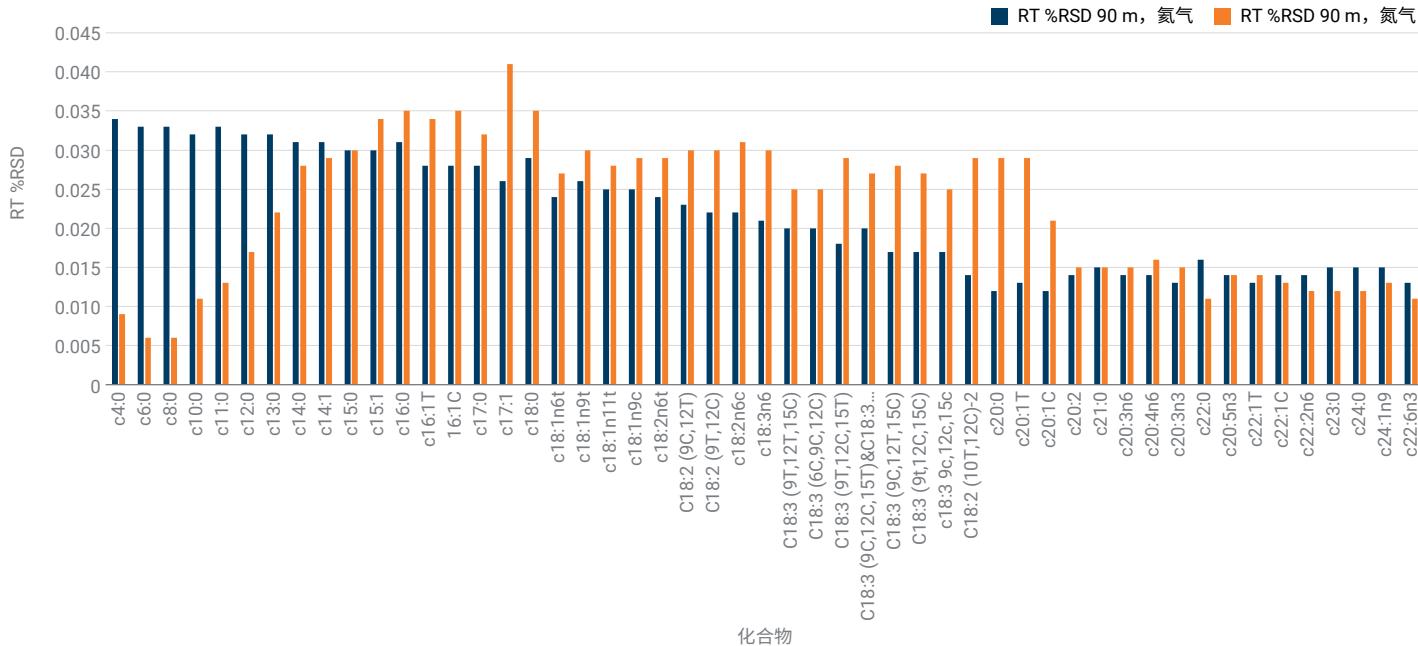


图 9. 90 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱上的保留时间精密度

结论

使用 Agilent 8850 GC 系统和专门设计的 20 m 和 30 m Agilent J&W DB-FastFAME 色谱柱，在经优化的柱温箱程序下实现了脂肪酸甲酯标准品的快速分析，获得了出色的重复性。使用氦气作为载气时，分析时间小于 10 分钟；使用氮气作为载气时，分析时间小于 15 分钟，分析速度是传统方法的 5–8 倍。通过快速方法获得的峰分离度符合 AOAC 996.06 标准要求。这些方法可以显著提高实验室对 37 种脂肪酸甲酯进行常规分析的工作效率。

在 90 m DB-FastFAME 和 100 m Agilent J&W HP-88 色谱柱上对 52 种脂肪酸甲酯的分析结果表明，在分析复杂脂肪酸（包括顺/反式脂肪酸和位置异构体）时，8850 GC 在分离度、峰面积重复性 (< 2.5%) 和保留时间精密度 (< 0.04%) 方面可提供与 Agilent 8890 GC 相媲美的性能。

参考文献

1. Zou, Y.; Wu, H. 改善对 37 种脂肪酸甲酯的分析。安捷伦科技公司应用简报，出版号 5991-8706ZHCN, **2018**
2. AOAC International. AOAC Official Methods of Analysis (2000), Method 996.06, Ce 2–66.
3. 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 食品中脂肪酸的测定, GB5009.168-2016
4. 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 食品中脂肪酸的测定, GB5009.257-2016

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE-009757

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2025
2025 年 11 月 5 日, 中国出版
5994-8743ZHCN