

3 种色谱柱对多种脂肪酸甲酯分离效果比对

严俊安¹, 谭洪兴¹, 于 微¹, 杨 慧¹, 刘小立¹, 高 超², 王 竹², 王 俊¹

(1. 深圳市慢性病防治中心, 广东 深圳 518020; 2. 中国疾病预防控制中心 营养与健康所, 北京 100050)

摘要:对比 3 种色谱柱对多种脂肪酸甲酯混标的分离效果, 为快速准确地测定脂肪酸提供参考。分别建立 HP-88、SP-2560、DB-23 色谱柱分离 37 种脂肪酸甲酯混标的方法, 并以此方法对 13 种反式脂肪酸甲酯、4 种亚油酸甲酯和 8 种亚麻酸甲酯同分异构体进行分析。结果表明: 3 种色谱柱分离 37 种脂肪酸甲酯所需的时间分别为 47、35、25 min, 色谱峰间的分离度均大于 1.0; 3 种色谱柱均能将顺反异构的单不饱和脂肪酸甲酯和亚油酸甲酯同分异构体分离开, 而对于亚麻酸甲酯同分异构体和双键在不同位置的异构体, HP-88 分离效果优于 SP-2560 和 DB-23, 但均不满足单定量化的要求。在实际样品分析时, 可根据样品中脂肪酸种类选择合适的色谱柱, 避免样品色谱峰的重叠。

关键词:脂肪酸; 脂肪酸甲酯; 色谱柱; 分离效果

中图分类号: O652.6; TQ646

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2021)06-0130-07

Comparison of three chromatographic columns separating various fatty acid methyl esters

YAN Jun'an¹, TAN Hongxing¹, YU Wei¹, YANG Hui¹, LIU Xiaoli¹,
GAO Chao², WANG Zhu², WANG Jun¹

(1. Shenzhen Center for Chronic Disease Control, Shenzhen 518020, Guangdong, China; 2. National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

Abstract: The results of three chromatographic columns separating various fatty acid methyl esters (FAME) standards were compared for the reference of detecting fatty acids quickly and accurately. The methods of separating 37 FAME standards with HP-88, SP-2560 and DB-23 were established and used to analyze 13 *trans* FAME standards, 4 isomers of linoleic acid methyl ester and 8 isomers of linolenic acid methyl ester. The results showed that the analysis time of three columns separating 37 FAME was 47, 35 min and 25 min respectively, and all of the resolutions were greater than 1.0. The *cis-trans* monounsaturated fatty acid methyl ester and linoleic acid methyl ester isomer could be separated by the three columns. HP-88 was better than SP-2560 and DB-23 in the separation of linolenic acid methyl ester and isomers of fatty acid with double bonds at different positions, but neither of them met the requirements of quantitative analysis. Suitable chromatographic columns could be selected according to the types of fatty acids in the samples to avoid the overlapping of chromatographic peaks in actual sample analysis.

Key words: fatty acid; fatty acid methyl ester; chromatographic column; separation effect

收稿日期: 2020-08-05; 修回日期: 2020-08-26

基金项目: 深圳市卫生计生系统科研项目 (SZFZ2017027, 201606043); 深圳市科创委基础研究项目 (JCYJ20170307144652484); 国家卫生健康委员会食物成分监测项目; 深圳市医疗卫生三名工程项目 (SZSM201611017)

作者简介: 严俊安 (1992), 男, 技师, 研究方向为食物营养 (E-mail) 271487499@qq.com。

通信作者: 王 俊, 主任技师 (E-mail) mbylhysys@126.com。

脂肪酸 (FA) 是指一端含有一个羧基的长链脂肪族碳氢化合物, 根据碳链中不饱和键的个数, 可分为饱和脂肪酸 (SFA)、单不饱和脂肪酸 (MUFA)、多不饱和脂肪酸 (PUFA), 根据不饱和键中氢原子的位置, 脂肪酸又可分为顺式脂肪酸和反式脂肪酸

(TFA)。随着研究的不断深入,人们发现不同的脂肪酸在人体中有着不同的生理功能,如:二十碳五烯酸(EPA)能够降低甘油三酯的含量,促进体内饱和脂肪的代谢,降低血液黏稠度,增进血液循环,提高组织供氧,消除疲劳^[1-2];油酸除具有促进伤口愈合的能力外,对癌症、自身免疫和炎症性疾病也具有有益作用^[3];肥胖、糖尿病、动脉粥样硬化等慢性疾病与反式脂肪酸有关^[4]。分析人体中的脂肪酸可以寻找潜在疾病标志物^[5],了解疾病的发生、发展,为疾病的防控和治疗提供依据。监测食物中的脂肪酸可以知晓食品中的营养成分,为脂肪摄入和营养研究提供基础数据。

目前,检测脂肪酸的方法主要有高效液相色谱法(HPLC)、气相色谱法(GC)、超临界流体色谱法(SFC)、红外光谱法(IR)等^[6]。气相色谱法虽然前处理烦琐,但分离效果良好,特别是对顺反异构脂肪酸的分离,已经成为检测脂肪酸的主要方法^[7]。由于填料、键合方式的不同,不同型号的气相色谱柱对脂肪酸甲酯(FAME)的保留有一定的差别,本研究使用分析多组分脂肪酸常用的色谱柱 HP-88^[8-10]、DB-23^[11-12]以及 GB 5009.257—2016 推荐使用的 SP-2560 色谱柱,对 37 种脂肪酸甲酯、13 种反式脂肪酸甲酯、4 种亚油酸甲酯同分异构体和 8 种亚麻酸甲酯同分异构体进行分离,并进行效果比对,为快速准确地测定食品或生物样本中的脂肪酸提供研究参考。

表 1 色谱柱参数及气相色谱分析条件

项目	HP-88 色谱柱	SP-2560 色谱柱	DB-23 色谱柱
填料	(88% 氰丙基)芳基聚硅氧烷	100% 二氰丙基硅氧烷	(50% - 氰丙基) - 甲基聚硅氧烷
键合方式	非键合交联	非键合交联	键合交联
柱参数	100 m × 0.25 mm × 0.20 μm	100 m × 0.25 mm × 0.20 μm	60 m × 0.25 mm × 0.12 μm
进样量	1 μL	1 μL	1 μL
载气	高纯氮	高纯氮	高纯氮
模式	恒流模式	恒流模式	恒压模式
分流比	30:1	30:1	30:1
进样口温度	250 °C	250 °C	250 °C
升温程序	初始温度 60 °C, 保持 1 min, 以 15 °C/min 升温至 192 °C, 保持 25 min, 以 10 °C/min 升温至 230 °C, 保持 10 min ^[13] 。	初始温度 160 °C, 保持 5 min, 以 5 °C/min 升温至 180 °C, 保持 5 min, 以 8 °C/min 升温至 230 °C, 保持 6 min, 以 5 °C/min 升温至 240 °C, 保持 7 min。	初始温度 50 °C, 保持 1 min, 以 25 °C/min 升温至 175 °C, 以 4 °C/min 升温至 230 °C, 保持 6 min。

1.2.3 质谱条件

EI 源电子能量 70 eV; 电子倍增电压 1 850 V; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度 150 °C, 传输线温度 230 °C; SCAN 扫描模式, 扫描离子 (m/z) 50 ~ 500; SIM 扫描模式, 扫描离子 (m/z) 55、67、74、79、83、87、91、95。

1 材料与方法

1.1 试验材料

玉米亚麻籽油(玉米油与亚麻籽油比例9:1), 南顺油脂有限公司; 37 种脂肪酸甲酯混合标准品 (CRM47885, Sigma), 4 种亚油酸甲酯同分异构混合标准品 (CRM47791, Sigma), 8 种亚麻酸甲酯同分异构混合标准品 (CRM47792, Sigma), 13 种反式脂肪酸甲酯混合标准品 (GLC481B, Nu - chek), 十一碳酸甘油三酯 (T - 125, Nu - chek), 正己烷 (100795, Merck), 氢氧化钾、硫酸氢钠、无水硫酸钠均为分析纯。

112 - 88A7 HP - 88 色谱柱 (Agilent), 24056 SP - 2560 色谱柱 (Supelco), 122 - 2361 DB - 23 色谱柱 (Agilent), 7890A - 5975C 气相色谱 - 质谱联用仪, R205SM - DR 分析天平, IKA MS3 DIGITAL 涡旋混匀器。

1.2 试验方法

1.2.1 样品前处理

参考 GB 5009.168—2016 中的酯交换法进行样品前处理。称取 1 滴油脂 (约 0.02 g) 于 10 mL 带塞试管内, 加入 50 μL 5 mg/mL 十一碳酸甘油三酯, 加入 4 mL 正己烷, 摇匀。加入 200 μL 2 mol/L 氢氧化钾 - 甲醇溶液, 剧烈振荡 30 s, 静置至澄清。加入 1 g 硫酸氢钠, 剧烈振荡, 静置 2 min, 取上清, 过无水硫酸钠和 0.45 μm 滤膜后进样检测。

1.2.2 色谱柱参数及气相色谱分析条件(见表 1)

1.2.4 分离度计算

利用 MSD ChemStation 数据工作站对色谱图进行积分, 得出色谱峰的保留时间和半峰宽, 并以此计算分离度^[13]。

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{1.70 \times (W_{1,h/2} + W_{2,h/2})} \quad (1)$$

式中: R 为分离度, t_1 和 t_2 为峰1和峰2的保留时间, $W_{1,l/2}$ 和 $W_{2,l/2}$ 为峰1和峰2的半峰宽。

2 结果与分析

2.1 3种色谱柱对37种脂肪酸甲酯的分离

37种脂肪酸甲酯稀释10倍,不同色谱柱按1.2.2、1.2.3条件进样分析,用SCAN模式进行扫

描,利用化学工作站NIST MS2.0对各色谱峰进行定性,并根据混标中各组分的含量对顺反异构进行区分。用SIM模式再次进行扫描,得到37种脂肪酸甲酯在不同色谱柱上分离的总离子流(TIC)图(图1),确定各组分的保留时间,并计算每个色谱峰间的分离度(表2)。

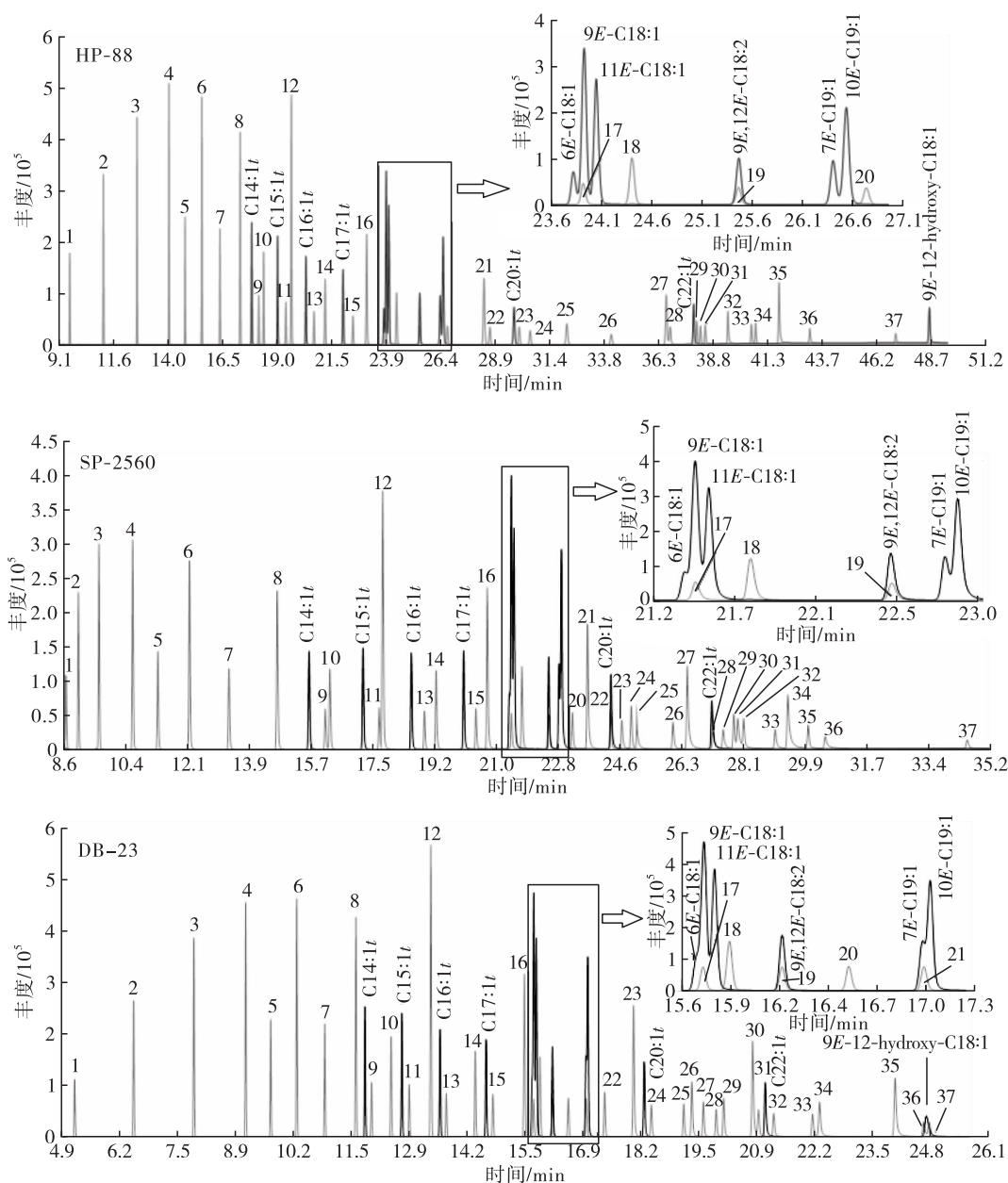


图1 37种脂肪酸甲酯和13种反式脂肪酸甲酯在不同色谱柱上分离的TIC图

表2 3种色谱柱对37种脂肪酸甲酯的分离

峰号	HP-88 色谱柱			SP-2560 色谱柱			DB-23 色谱柱		
	保留时间/min	化合物	分离度	保留时间/min	化合物	分离度	保留时间/min	化合物	分离度
1	9.572	C4:0	15.00	8.640	C4:0	1.45	5.197	C4:0	14.50
2	11.102	C6:0	31.03	8.986	C6:0	5.90	6.555	C6:0	28.53
3	12.621	C8:0	33.09	9.575	C8:0	10.04	7.938	C8:0	30.70
4	14.072	C10:0	33.47	10.573	C10:0	15.87	9.127	C10:0	27.43
5	14.800	C11:0	16.79	11.292	C11:0	10.57	9.703	C11:0	13.55

续表 2

峰号	HP-88 色谱柱			SP-2560 色谱柱			DB-23 色谱柱		
	保留时间/min	化合物	分离度	保留时间/min	化合物	分离度	保留时间/min	化合物	分离度
6	15.557	C12:0	16.80	12.197	C12:0	12.53	10.302	C12:0	14.09
7	16.379	C13:0	17.58	13.323	C13:0	7.47	10.945	C13:0	14.55
8	17.299	C14:0	18.34	14.702	C14:0	5.72	11.659	C14:0	15.56
9	18.136	C14:1n5	15.39	16.077	C14:1n5	8.10	12.018	C14:1n5	7.54
10	18.359	C15:0	3.92	16.210	C15:0	1.58	12.466	C15:0	9.09
11	19.369	C15:1n5	16.74	17.620	C15:1n5	17.10	12.883	C15:1n5	8.32
12	19.616	C16:0	3.82	17.754	C16:0	1.65	13.380	C16:0	9.59
13	20.636	C16:1n7	8.89	18.947	C16:1n7	14.63	13.735	C16:1n7	6.63
14	21.141	C17:0	3.11	19.284	C17:0	4.13	14.404	C17:0	12.11
15	22.398	C17:1n7	10.20	20.419	C17:1n7	14.06	14.804	C17:1n7	7.02
16	23.022	C18:0	7.20	20.743	C18:0	4.01	15.531	C18:0	12.40
17	23.898	C18:1n9t	9.54	21.435	C18:1n9t	8.22	15.744	C18:1n9t	3.53
18	24.378	C18:1n9c	3.42	21.732	C18:1n9c	3.46	15.886	C18:1n9c	2.29
19	25.423	C18:2n6t	7.15	22.503	C18:2n6t	8.89	16.174	C18:2n6t	4.58
20	26.680	C18:2n6c	11.38	23.177	C18:2n6c	7.62	16.542	C18:2n6c	5.77
21	28.333	C20:0	13.60	23.603	C20:0	4.60	16.950	C18:3n6	6.23
22	28.606	C18:3n6	2.10	24.268	C18:3n6	7.11	17.371	C18:3n3	6.27
23	29.932	C18:3n3	10.00	24.588	C20:1	3.30	18.037	C20:0	9.56
24	30.427	C20:1	2.30	24.858	C18:3n3	2.79	18.445	C20:1	5.58
25	32.091	C21:0	5.44	25.031	C21:0	1.68	19.190	C20:2	9.96
26	34.095	C20:2	8.51	26.087	C20:2	9.48	19.376	C21:0	2.43
27	36.590	C22:0	16.49	26.495	C22:0	3.58	19.642	C20:3n6	3.40
28	36.769	C20:3n6	1.56	27.231	C20:3n6	6.51	19.935	C20:4n6	3.79
29	37.966	C20:3n3	9.58	27.519	C22:1n9	2.47	20.108	C20:3n3	2.21
30	38.145	C20:4n6	1.66	27.821	C20:3n3	2.73	20.773	C22:0	8.24
31	38.353	C22:1n9	1.87	27.936	C23:0	1.02	20.906	C20:5n3	1.53
32	39.382	C23:0	9.03	28.105	C20:4n6	1.38	21.256	C22:1n9	3.85
33	40.442	C22:2n6	9.52	29.005	C22:2n6	7.56	22.148	C22:2n6	9.72
34	40.635	C20:5n3	1.82	29.369	C24:0	2.63	22.307	C23:0	1.57
35	41.699	C24:0	9.34	29.950	C20:5n3	4.47	24.046	C24:0	15.38
36	43.090	C24:1n9	10.91	30.437	C24:1n9	3.60	24.702	C24:1n9	5.80
37	46.976	C22:6n3	29.50	34.531	C22:6n3	26.32	24.831	C22:6n3	1.12

注:某色谱峰的分离度为该色谱峰与前一色谱峰的分离度,1号峰的分离度为三氯甲烷溶剂峰与1号峰的分离度。

由图 1 和表 2 可知,HP-88、SP-2560、DB-23 色谱柱分离 37 种脂肪酸甲酯所需的时间分别为 47、35、25 min。从脂肪酸甲酯的出峰顺序来看,3 个色谱柱的前 20 个出峰组分和 33、36、37 号峰组成分相同,21~32、34、35 号峰组成分不尽相同。从色谱峰间的分离度看,当 $R < 1$ 时,两峰有部分重合;当 $1.0 \leq R < 1.5$ 时,分离度达到 98%,色谱峰基本分离;当 $R \geq 1.5$ 时,分离度可达 99.7%,色谱峰完全分离^[14]。37 种脂肪酸甲酯在 HP-88 上能完全分离,组分间的分离度均大于 1.5,SP-2560 有 3 个分离度小于 1.5,分别为三氯甲烷溶剂峰和 C4:0、C20:3n3 和 C23:0、C23:0 和 C20:4n6 间的分离度,DB-23 只有 1 个分离度小于 1.5,为 C24:1n9 和 C22:6n3 间的分离度。虽然 SP-2560 和 DB-23 部

分色谱峰没达到完全分离,但其分离度也在 1.0~1.5 之间,色谱峰达到基本分离,可用于定量分析。

2.2 3 种色谱柱对 13 种反式脂肪酸甲酯的分离

13 种反式脂肪酸甲酯稀释 10 倍,不同色谱柱按 1.2.2、1.2.3 条件进样分析,用 SCAN 模式进行扫描,利用化学工作站 NIST MS2.0 对各色谱峰进行定性,并根据混标中各组分的含量对顺反异构进行区分。用 SIM 模式再次进行扫描,TIC 图与对应的色谱柱分离 37 种脂肪酸甲酯的图谱进行叠放,结果见图 1。从图 1 可以看出,对于反-9-十四碳烯酸甲酯(C14:1t)、反-10-十五碳烯酸甲酯(C15:1t)、反-9-十六碳烯酸甲酯(C16:1t)、反-10-十七碳烯酸甲酯(C17:1t)、反-9,反-12-十八碳二烯酸(9E,12E-C18:2/C18:2n6t)、反-11-

二十碳烯酸甲酯(C20:1*t*)、反-13-二十二碳一烯酸甲酯(C22:1*t*)和12-羟基-反-9-十八碳烯酸甲酯(9*E*-12-hydroxy-C18:1),3个色谱柱均能将这8种脂肪酸甲酯完全分离。而对于反-6-十八碳一烯酸甲酯(6*E*-C18:1)、反-9-十八碳一烯酸甲酯(9*E*-C18:1/C18:1*n9t*)、反-11-十八碳一烯酸甲酯(11*E*-C18:1)3种十八碳一烯酸甲酯同分异构体以及反-7-十九碳一烯酸甲酯(7*E*-C19:1)和反-10-十九碳一烯酸甲酯(10*E*-C19:1)2种十九碳一烯酸甲酯同分异构体,HP-88的分离效果优于SP-2560和DB-23,但同分异构体在不同色谱柱上的分离度均小于1.0,未达到定量分析要求,不适合对它们进行单独定量。

从图1还可以看出,对于不同混标中的相同组分——反-9-十八碳一烯酸甲酯(9*E*-C18:1/C18:1*n9t*)和反-9,反-12-十八碳二烯酸甲酯(9*E*,12*E*-C18:2/C18:2*n6t*)3个色谱柱的色谱峰重叠效果良好,这说明3个色谱柱对脂肪酸甲酯的保留较为稳定,不会因为组分的多少而改变保留时间。对于不同组分重叠情况:在HP-88上,2个混标未出现重叠;在SP-2560上,C20:1*t*与C18:3*n6*出现重叠,C22:1*t*与C20:3*n6*部分重叠,9*E*-12-hydroxy-C18:1在35.2 min仍未出峰;在DB-23上,9*E*-12-hydroxy-C18:1的峰较宽,与C24:1*n9*、C22:6*n3*重叠。

综上,对于同时分离37种脂肪酸甲酯和13种反式脂肪酸甲酯,HP-88色谱柱的分离效果优于SP-2560和DB-23。

2.3 3种色谱柱对亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯同分异构体的分离

4种亚油酸甲酯同分异构体标准品稀释50倍,8种亚麻酸甲酯同分异构体标准品稀释20倍,在不同色谱柱上进样分离,组分的出峰顺序参考产品说明书、GB 5009.257—2016及文献[15-17]。2个混标的TIC图与对应的色谱柱分离37种脂肪酸甲酯的图谱进行叠放,结果见图2。

从图2可以看出,4种亚油酸甲酯同分异构体,除了在DB-23上的9*E*,12*Z*-C18:2和9*Z*,12*Z*-C18:2未完全分离外($R=1.10$),其余的色谱峰均能较好地分离($R\geq 1.5$),满足定量分析要求。8种亚麻酸甲酯同分异构体在不同色谱柱上的分离效果均不理想,在HP-88和SP-2560上,9*E*,12*E*,15*E*-C18:3和9*Z*,12*Z*,15*Z*-C18:3均能独立分离出来,且达到基线分离,在DB-23上,仅有9*E*,12*E*,15*E*-C18:3能独立分离出来,其他的组分均出现部

分或完全重合,不能用于单独定量。

综上所述,对于4种亚油酸甲酯同分异构体的分离,HP-88和SP-2560分离效果差别不大,且优于DB-23;对于8种亚麻酸甲酯同分异构体的分离,HP-88优于SP-2560和DB-23。

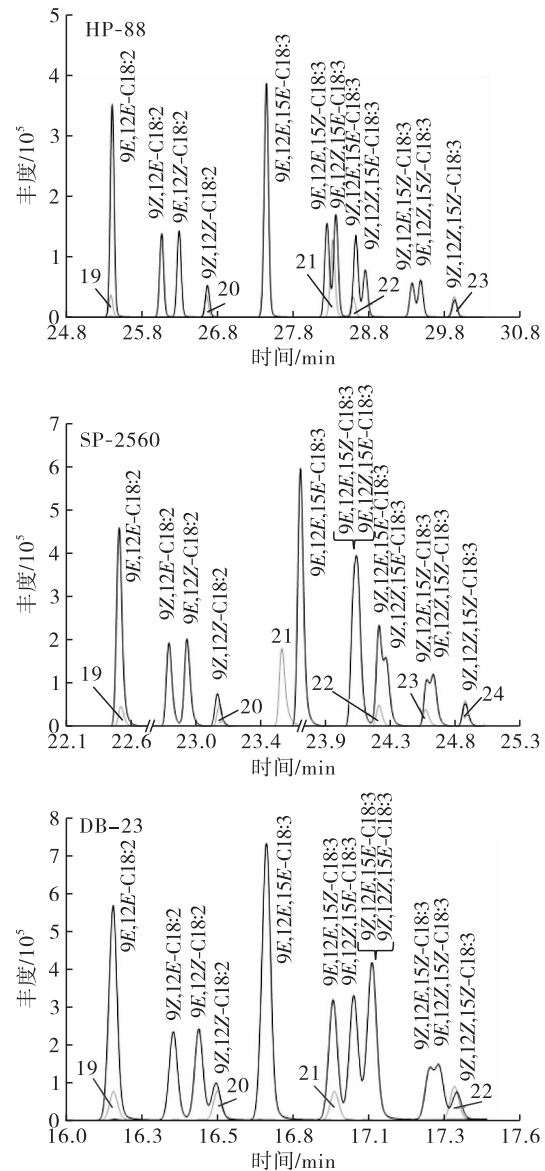


图2 亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯同分异构体混标分离TIC图

从图2还可以看出,3种色谱柱对不同混标中的相同组分——9*E*,12*E*-C18:2(C18:2*n6t*)、9*Z*,12*Z*-C18:2(C18:2*n6c*)和9*Z*,12*Z*,15*Z*-C18:3(C18:3*n3*)有良好的重叠。对于不同组分,在HP-88上,9*E*,12*E*,15*Z*-C18:3、9*E*,12*Z*,15*E*-C18:3与C20:0重叠,9*Z*,12*E*,15*E*-C18:3与C18:3*n6*重叠;在SP-2560上,9*Z*,12*E*,15*E*-C18:3、9*Z*,12*Z*,15*E*-C18:3重合峰与C18:3*n6*重叠,9*Z*,12*E*,15*Z*-C18:3、9*E*,12*Z*,15*Z*-C18:3重合峰与C20:1重叠;在DB-23上,C18:3*n6*与9*E*,12*E*,15*Z*-C18:3重叠。

将37种脂肪酸甲酯混标、13种反式脂肪酸甲酯混标、4种亚油酸甲酯同分异构体混标和8种亚麻酸甲酯同分异构体混标共4个混标色谱图进行叠放,能在混标中分离出来且与其他图谱无重叠的色谱峰,HP-88有43个,SP-2560有39个,DB-23有41个。

2.4 3种色谱柱对玉米亚麻籽油中的脂肪酸分离

取适量玉米亚麻籽油按1.2.1进行前处理,分成3份,分别在不同色谱柱上进样分析,色谱峰根据保留时间及选择性扫描离子(SIM)质谱图进行定性,得到不同色谱柱对玉米亚麻籽油中脂肪酸的分离TIC图,结果见图3。

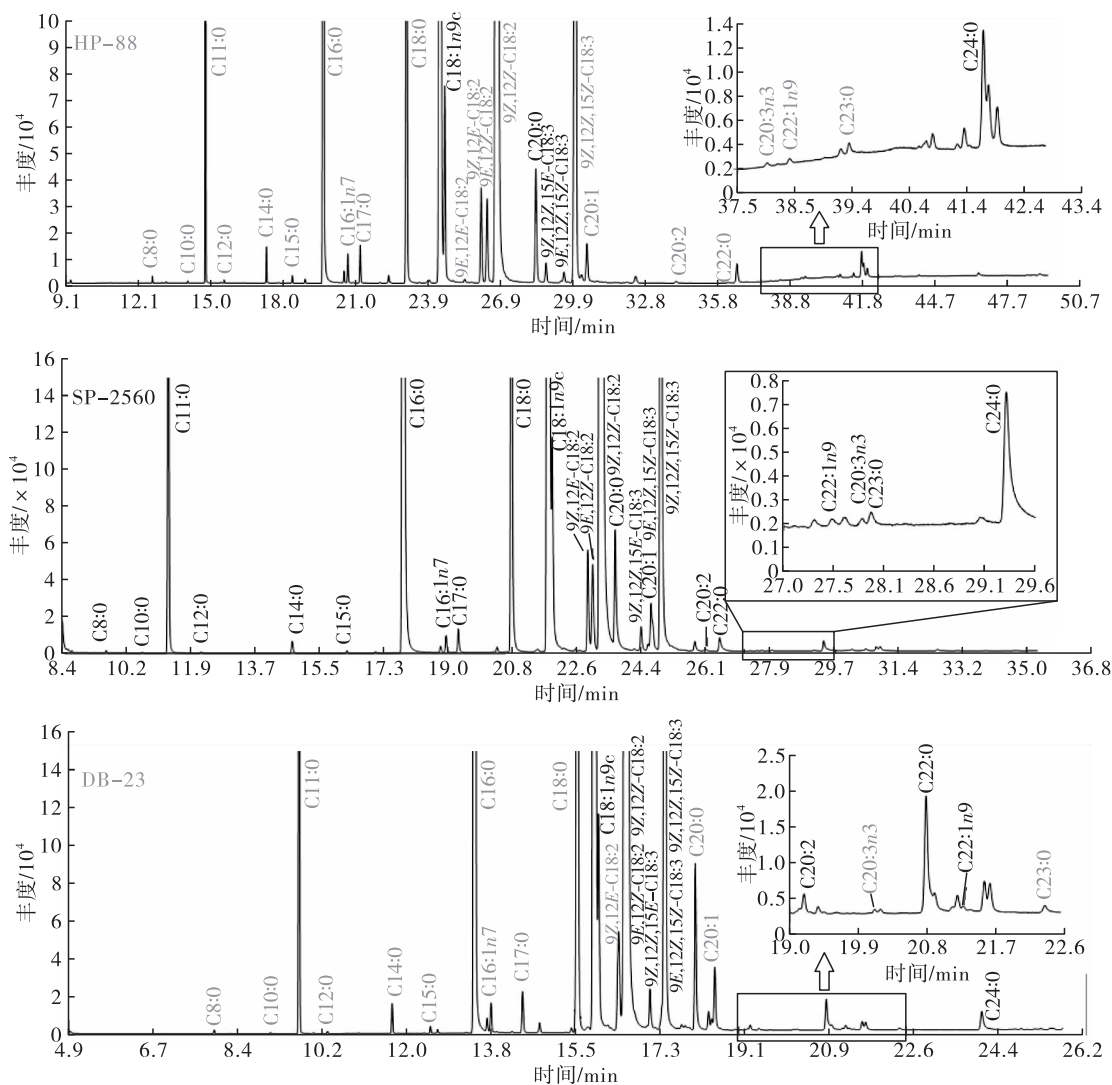


图3 玉米亚麻籽油的脂肪酸在3种色谱柱上的分离TIC图

结合图1、图2,对图3进行分析。图3中浅色标记色谱峰能在色谱分离时单独分离出来,且在图1、图2中对应的脂肪酸甲酯标准品不存在色谱峰重合或重叠的情况,可直接用于定量。

3种色谱柱均不能将玉米亚麻籽油中的C18:1n9c单独分离出来,该色谱峰后均附带了1个小峰,根据该峰质谱图及参考6E-C18:1、9E-C18:1、11E-C18:1的出峰顺序,可初步判断该色谱峰可能为顺-11-十八碳一烯酸(11Z-C18:1)。

对于HP-88上的C20:0、9Z,12Z,15E-C18:3、9E,12Z,15Z-C18:3,虽然在亚麻酸同分异构体混标分离时9E,12E,15Z-C18:3、9E,12Z,

15E-C18:3与C20:0重叠,9Z,12E,15E-C18:3和9Z,12Z,15E-C18:3部分重合,9Z,12E,15Z-C18:3和9E,12Z,15Z-C18:3不能完全分离(见图2),但通过其他色谱柱对玉米亚麻籽油脂肪酸的分离可以得知:在玉米亚麻籽油中不存在9E,12E,15Z-C18:3、9E,12Z,15E-C18:3、9Z,12E,15E-C18:3、9Z,12E,15Z-C18:3或它们含量极少。再次,通过质谱图的比对,可以认为玉米亚麻籽油在HP-88上的C20:0、9Z,12Z,15E-C18:3、9E,12Z,15Z-C18:3这三个色谱峰的峰纯度较高,可用于单独定量分析。同理SP-2560和DB-23上的9Z,12Z,15E-C18:3也可以认为是峰纯度较高的色谱

峰。在 SP-2560 上 C20:1 和 9E,12Z,15Z-C18:3 色谱峰部分重合,在 DB-23 上 9E,12Z,15Z-C18:3 和 9Z,12Z,15Z-C18:3 色谱峰重合,这与标准品分离效果一致。DB-23 上的 9E,12Z-C18:2 和 9Z,12Z-C18:2 完全没有分开,这可能是因为玉米亚麻籽油中的 9Z,12Z-C18:2 含量较高,色谱峰较宽,所有 9E,12Z-C18:2 色谱峰没有被分离出来。另外,色谱图上还有一些脂肪酸甲酯色谱峰与杂峰混杂在一起影响定量,如 HP-88 上的 C24:0、DB-23 上的 C22:0 等。

综上,HP-88 色谱柱能将玉米亚麻籽油中的脂肪酸分离且能用于单独定量的色谱峰有 24 个,SP-2560 有 22 个,DB-23 有 17 个。

3 结论

37 种脂肪酸甲酯在 3 种色谱柱上的出峰顺序不完全一致,但所有组分都能达到基本分离,其中 HP-88 分离效果最好,37 个组分均达到完全分离,DB-23 最为高效,能在 25 min 内将各组分分离。3 种色谱柱均能将顺反异构的单不饱和脂肪酸甲酯和亚油酸甲酯同分异构体分离,而对于亚麻酸甲酯同分异构体和双键在不同位置的异构体,HP-88 分离效果优于 SP-2560 和 DB-23,但均不满足单独定量的要求。分析玉米亚麻籽油时,DB-23 分析效率最高,但能用于单独定量的色谱峰有限,HP-88 分析时间最长,但色谱峰间的相互影响较少,能用于单独定量的色谱峰最多。

虽然不同混标的色谱叠放图有多个色谱峰重叠,但在实际样品分析时,样品中的脂肪酸种类有限,标准峰的重叠并不影响样品中某些脂肪酸的单独定量,可以根据实际样品中的脂肪酸种类选择合适的色谱柱,以达到快速准确地对脂肪酸进行定量的目的。

参考文献:

- [1] MINIHAANE A M, ARMAH C K, MILES E A, et al. Consumption of fish oil providing amounts of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid that can be obtained from the diet reduces blood pressure in adults with systolic hypertension: a retrospective analysis [J]. *J Nutr*, 2016, 146(3):516-523.
- [2] 陈恒建,夏大云,钱玲玲,等. 二十碳五烯酸对糖尿病大鼠冠状动脉的舒张作用及其机制[J]. *中国心脏起搏与心电生理杂志*, 2017, 31(5):443-447.
- [3] SALES-CAMPOS H, SOUZA P R D, PEGHINI B C, et al. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2013, 13(2):201-210.
- [4] GONZALEZ-BECERRA K, RAMOS-LOPEZ O, BARRONX-CABRERA E, et al. Fatty acids, epigenetic mechanisms and chronic diseases: a systematic review [J/OL]. *Lipids Health Dis*, 2019, 18(1):178 [2020-08-05]. <https://doi.org/10.1186/812944-019-1120-6>.
- [5] LIU L Y, LI Y, GUAN C M, et al. Free fatty acid metabolic profile and biomarkers of isolated post-challenge diabetes and type 2 diabetes mellitus based on GC-MS and multivariate statistical analysis [J]. *J Chromatogr B*, 2010, 878(28):2817-2825.
- [6] 周文斌,吕春明,张宁,等. 脂肪酸检测方法的研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31(2):246-252.
- [7] 石恒波. PPARG 基因对奶山羊乳腺脂肪酸代谢的调控作用研究[D]. 陕西 杨凌:西北农林科技大学, 2014.
- [8] 梁晓涵,陈瑞霞,王丹. 食用油脂中 37 种脂肪酸和 16 种反式脂肪酸的气相色谱分离及测定 [J]. *热带农业科学*, 2018, 38(9):82-90.
- [9] 熊小平,杨明,樊淑宏,等. GC-MS 法对 13 种植物油中甾醇和脂肪酸的分布研究 [J]. *中国测试*, 2019, 45(2):64-71.
- [10] DINH T T N, BLANTON J R, RILEY D G, et al. Intramuscular fat and fatty acid composition of longissimus muscle from divergent pure breeds of cattle [J]. *J Anim Sci*, 2010, 88(2):756-766.
- [11] 刘占中,王世蕊,杜岩,等. GC-MS 法同时测定糖尿病肾病大鼠血浆中 25 种脂肪酸 [J]. *沈阳药科大学学报*, 2019, 36(1):52-60.
- [12] HARTIG C. Rapid identification of fatty acid methyl esters using a multidimensional gas chromatography-mass spectrometry database [J]. *J Chromatogr A*, 2007, 1177(1):159-169.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部 [M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:60.
- [14] 李梓铭,李红爱,余佳荣,等. 不同色谱柱对 37 种脂肪酸甲酯的分离条件优化及分离效果比对 [J]. *食品工业科技*, 2017, 38(24):53-57.
- [15] 林麒. 母乳反式脂肪酸分析及乳母膳食结构相关性研究 [D]. 福州:福建医科大学, 2013.
- [16] 苏德森,林虬,陈涵贞. 加热对油茶籽油中反式脂肪酸形成的影响 [J]. *中国油脂*, 2010, 35(12):62-66.
- [17] 杨占东,杨继国,黎科亮,等. 高分辨率反式脂肪酸测定方法的建立及市售食用油反式脂肪酸的测定 [J]. *现代食品科技*, 2015, 31(7):331-335.