

通过自动样品制备测定三文鱼油中的脂肪酸甲酯（FAMES）

应用报告

区域

作者

Norbert Helle and Monika Bzduch,
TeLA GmbH Bremerhaven
Rebecca Veeneman,
Agilent Technologies, Inc.

前言

本文中使用了安捷伦 7696A 样品制备工作台对脂肪酸（FAs）进行自动衍生化处理。由于游离脂肪酸在气相色谱上易产生拖尾，通常将脂肪酸转换成脂肪酸甲酯（FAMES）的形式进行测定。人工样品衍生化既费时重复性又差。而自动衍生化操作不仅节约了大量时间，而且极大地提高了结果的重复性。尤其对某些高度不饱和脂肪酸，人工衍生化过程中，反应温度和时间的微小变化都会对重复性产生负面影响。

三文鱼油是一种生产多不饱和 Ω -3 脂肪酸的优质原料。其中两种主要的脂肪酸-廿碳五烯酸（EPA）和二十二碳六烯酸（DHA）已经被确认是影响健康的重要因素，其与心脏的正常功能密切相关。EPA 和 DHA 的浓度是三文鱼油胶囊质量好坏的关键性指标。本应用重点阐述了使用安捷伦 7696A 样品制备平台对三文鱼油胶囊中的 EPA 和 DHA 进行衍生化和测定。



Agilent Technologies

材料和方法

在 2 mL 自动样品瓶中称量 10 mg 三文鱼油用于样品制备。用 500 μL 甲基叔丁基醚 (TBME) 稀释样品, 采用安捷伦 7696A 样品制备工作台的液体配制模块, 在工作台的涡旋混合器上将样品混和 90 s。将 250 μL 混匀的样品转移至另一空的样品瓶中, 加入 125 μL 三甲基氢氧化硫 (TMSH) 衍生化溶液 [MachereyNagel, Düren], 再将此样品瓶在工作台的涡旋混合器上混匀。将混合液在单瓶位加热器上 80 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min。安捷伦 7696A 样品制备工作台的自动化操作流程见图 1。

文中使用的气相色谱条件如表 1 所示。

表1 GC/FID 工作条件

色谱峰

C14:0	肉豆蔻酸
C16:0	棕榈酸
C16:1	棕榈油酸
C18:0	十八烷酸
C18:1	油酸
C18:2	亚油酸
C20:0	花生酸
C18:3	γ -亚麻酸
C20:1	顺9-二十碳烯酸
C18:3	亚麻酸
C22:1	芥酸
C20:4	花生四烯酸
C20:5	廿碳五烯酸
C24:1	神经酸
C22:6	二十二碳六烯酸

GC 色谱条件

仪器	安捷伦 6890 系列 GC
色谱柱	HP 88, 100 m \times 250 μm , 0.20 μm
进样体积	2 μL
进样口	分流/不分流, 分流比 50:1
载气	H_2
柱箱温度	70 $^{\circ}\text{C}$ –260 $^{\circ}\text{C}$
载气流速	1.4 mL/min
检测器	250 $^{\circ}\text{C}$, FID
	H_2 : 40 mL/min
	空气: 450 mL/min
	补偿气流, N_2 : 45 mL/min

安捷伦工作台操作程序

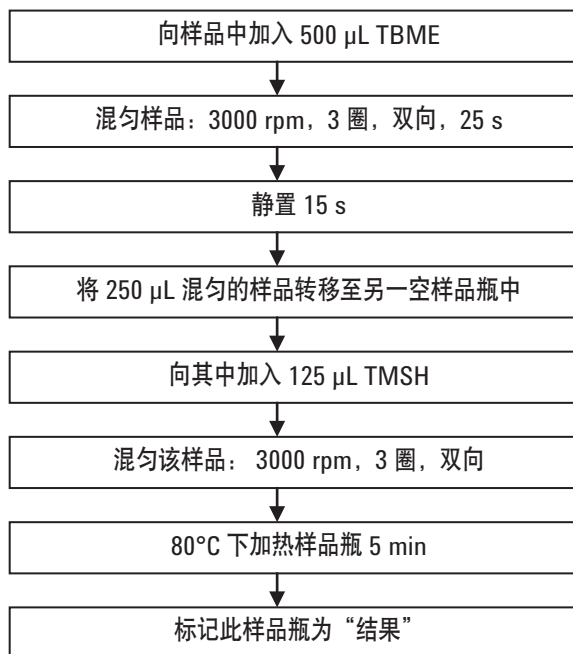


图 1 安捷伦 7696A 样品制备工作台制备样品的流程图

结果和讨论

图 2 为 7696A 自动化制备三文鱼油样品后分析得到的 FAMES 分离谱图。该谱图的分离度可明确识别出所有 FAMES。最受关注的两种主要脂肪酸的保留时间分别为 35.07 min (EPA) 和 40.55 min (DHA)。除了含有 23.7% EPA 和 20.0% DHA 外，三文鱼油中还含有不饱和脂肪酸油 (12%)，亚油酸 (11%) 和棕榈油酸 (8%)，饱和脂肪酸的含量相对较低，棕榈酸和硬脂酸的含量分别为 4% 和 5%。

重复性检验：将 10 个独立的三文鱼油样品分别进行衍生化和测定，以验证自动样品制备和色谱分析的重复性。正如图 3 所示，均获得了良好的重复性结果。

EPA 和 DHA 几次测定的绝对峰面积的标准偏差均小于 1% (EPA 0.51%，DHA 0.78%)。此外，EPA 和 DHA 的相对浓度差别比较恒定，得到相对标准偏差分别为 EPA, 0.85% 和 DHA, 1.22%。10 个样品中均未测定到离群值。

使用安捷伦 7696A 样品制备工作台制备样品的总过程仅耗时 20 min，而人工衍生化过程根据实验室工作人员的熟练程度不同最长可达 2 个小时。

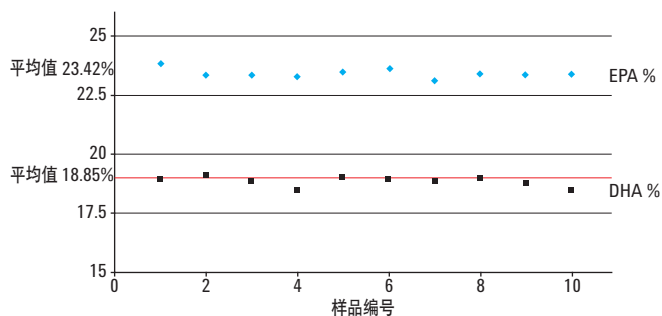


图 3 三文鱼油中 FAME 自动化测定的重复性数据

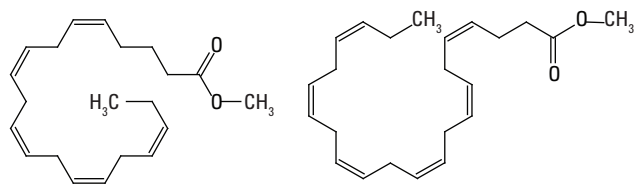


图 4 EPA 甲酯 (左) 和 DHA 甲酯 (右) 的结构图

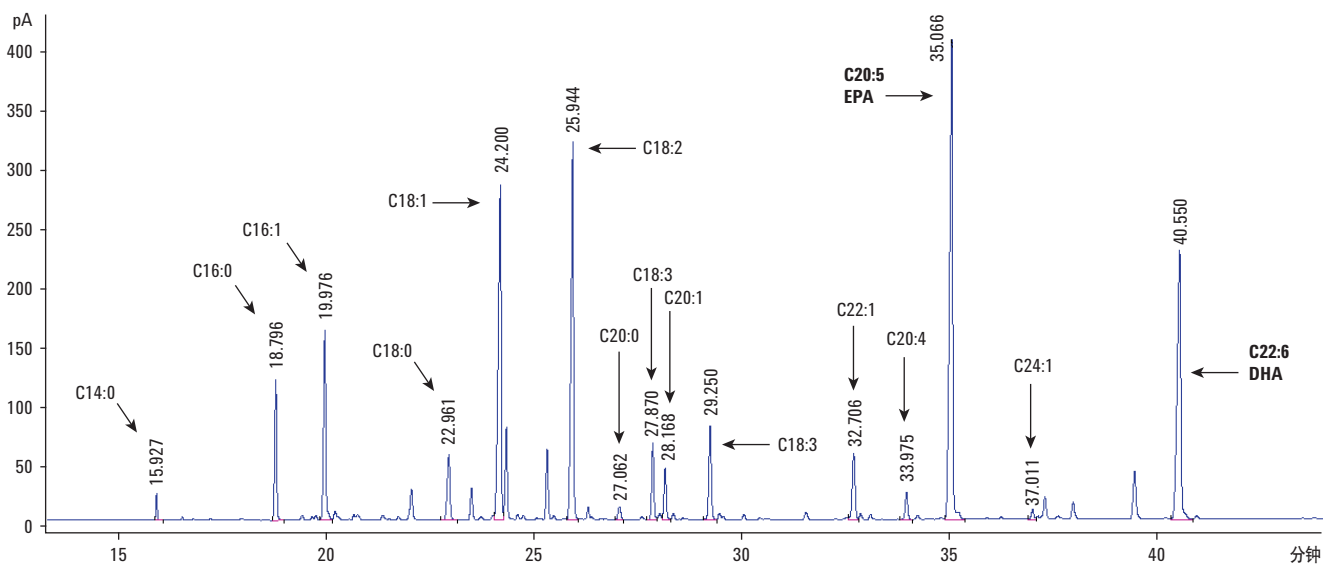


图 2 使用安捷伦 7696A 工作台制备三文鱼油样品后经 GC/FID 检测得到的色谱图

表 2 三文鱼油样品脂肪酸的构成

C14:0	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C20:0	C18:3	C20:1	C18:3	C22:1	C20:4	C20:5	C24:1	C22:6
0.71	4.68	7.95	3.54	12.95	13.86	0.36	2.61	1.71	3.33	3.35	0.87	23.79	0.36	19.93

结论

自动化样品衍生是一种简便、快速并可靠的处理方法。尤其对那些多不饱和脂肪酸含量较高的样品，自动样品制备比人工样品制备更加可靠。

参考文献

1. Animal and vegetable fats and oils – Gas chromatography of fatty acid methyl esters – Part 3: Preparation of methyl esters using trimethylsulfonium hydroxide (TMSH) (ISO 12966-3:2009)

更多信息

有关我们产品和服务的更多信息，请访问
www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦科技公司对本资料中所包含的错误，以及由于使用本资料所引起的相关损失不承担责任。

本书中的信息、说明和性能指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司
2012年1月30日，中国印刷
5990-9799CHCN