

# Agilent 8850 GC 시스템을 사용한 지방산 메틸 에스테르 분석

## 저자

Jie Zhang  
Agilent Technologies  
(Shanghai) Co. Ltd.

## 개요

이 응용 자료에서는 Agilent 8850 가스 크로마토그래프(GC) 시스템을 사용하여 지방산 메틸 에스테르(FAME)를 분석하는 방법을 제시합니다. 8850의 빠른 온도 프로그래밍을 활용하여 20m 및 30m Agilent J&W DB-FastFAME GC 컬럼을 통해 각각 10분과 15분 내에 37가지 일반적인 FAME을 빠르게 분리할 수 있었습니다. 리놀레산 및 리놀렌산 메틸 에스테르의 시스-트랜스 및 위치 이성체를 포함한 보다 복잡한 FAME 시료를 분석하기 위해 90m Agilent DB-FastFAME GC 컬럼과 100m Agilent J&W HP-88 컬럼을 채택하고 8850 GC 플랫폼에서 기존 온도 램프를 사용했습니다. 또한, 헬륨과 질소 운반 가스를 3개의 DB-FastFAME 분석 컬럼에서 평가하여 표적 분석에 미치는 영향을 평가했습니다. 주요 화합물 쌍의 분해능, 정밀도, 분석 속도를 포함한 분석법 성능을 평가했습니다.

## 소개

지방산은 지방의 구성 요소이며 건강한 식단에 필수적인 요소입니다. 이러한 성분은 기름진 생선, 견과류, 씨앗, 식물성 기름 등 다양한 음식에서 찾아볼 수 있습니다. 지방산은 포화지방, 단일불포화지방, 다중불포화지방(오메가-3 및 오메가-6 지방산 포함), 트랜스지방으로 분류할 수 있습니다. 불포화지방산은 심장과 혈관 기능을 유지하는 데 유익한 역할을 합니다. 그러나 가공식품에 함유된 인공 트랜스 지방산은 엄격히 제한되어야 합니다. 음식 내 지방산 측정은 다음과 같은 측면에서 중요한 역할을 합니다.

- **영양 평가:** 식이 영양소 균형을 위한 오메가-3/오메가-6 비율 분석
- **안전 규정:** 트랜스 지방산 등 건강 위험 요소 식별
- **품질 관리:** 오일 오염 및 공정 결함 감지
- **연구개발 지원:** 기능성 식품 개발을 위한 보완 데이터 제공

식품 내 지방산을 측정하는 데 사용할 수 있는 기술로는 가스 크로마토그래피, 액체 크로마토그래피, 분광법 등이 있습니다. 각 기술에는 고유한 장단점과 적용 가능한 시나리오가 있습니다. 예를 들어, 액체 크로마토그래피는 열에 불안정한 지방산을 분석하는 데 적합하지만 분해능이 낮다는 단점이 있습니다. 형광 분광법은 작동이 간단하지만 매트릭스 효과에 취약하고 특이성이 낮습니다. 지방산 측정에 가장 많이 사용되는 기술은 가스 크로마토그래피입니다. 음식에 함유된 지방산은 주로 트리글리세리드 형태로 존재합니다. 분석에 앞서, 트리글리세리드를 추출하고, 가수분해하고, 해당 FAME로 메틸화해야 합니다. FAME는 지방산보다 극성이 낮고 휘발성이 더 강하기 때문에 가스 크로마토그래피 플랫폼에서 분석하는 데 적합합니다. 폴리에틸렌 글리콜과 시아노프로필 실록산 고정상을 갖춘 극성 컬럼은 주로 FAME 분석에 사용됩니다. 폴리에틸렌 글리콜 고정상은 간단한 지방산 혼합물을 분석하는 데 적합하지만 시스-트랜스 이성질체를 분석하는 데는 적합하지 않습니다. FAME 분석을 위한 다양한 분석법에서는 고함량 시아노프로필 상으로 코팅된 컬럼이 권장됩니다. 그러나 이러한 형태의 상을 기반으로 한 분석은 완료하는 데 일반적으로 70분 이상 걸리고, 머무름 시간 (RT) 안정성이 그다지 좋지 않습니다. Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼은 분석을 가속화하고 반복성을 개선하기 위해 변형된 시아노프로필 상을 사용합니다.

애질런트는 다양한 크기의 DB-FastFAME 컬럼을 제공합니다. 20m와 30m 크기는 식품에서 대표적인 37가지 FAME에 대한 분석 속도를 개선하는 데 도움이 될 수 있습니다. 이전 연구에서는 두 개의 컬럼에서 기존 오븐 램프 속도를 사용하면 분석 속도가 향상된다는 사실을 보여주었습니다.<sup>1</sup> Agilent 8850 GC가 출시되면서 에어 배스 오븐에서 빠른 온도 프로그래밍이 가능해졌습니다. 이 응용 자료는 8850 GC에서 질소(N<sub>2</sub>) 및 헬륨(He) 운반 가스를 사용하여 37개 FAME를 빠르게 분석하는 방법을 보여줍니다. 한편, 37개의 FAME와 15개의 트랜스 FAME를 포함하는 보다 복잡한 FAME 혼합물을 90m DB-FastFAME 컬럼과 100m Agilent J&W HP-88 컬럼에서 분석하여 시스/트랜스 FAME 및 위치 이성질체 분석에서 8850 GC 성능을 입증했습니다.

## 실험

### 화학물질

- **FAME 혼합물 1:** 이소옥탄에 농도가 200-600µg/mL인 C4-C24 FAME, 37성분(CDAA-M-252795-DZ-1.2ml)
- **FAME 혼합물 2:** 트랜스 FAME 혼합물, 이소옥탄에 각각 100µg/mL 함유, 8성분(CDAA-M-259004-DA-1ml)
- **FAME 혼합물 3:** CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>에 용해된 10mg/mL 리놀렌산 메틸 에스테르 혼합물, 8성분(CRM47792)
- **FAME 혼합물 4:** CH<sub>2</sub>CL<sub>2</sub>에 용해된 10mg/mL 리놀레산 메틸 에스테르 혼합물, 4성분(CRM47791)

모든 화학물질은 ANPEL Laboratory Technologies (Shanghai) Inc.에서 구입했습니다.

혼합물 1을 이소옥탄으로 5배 희석하여 20m 및 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 빠르게 분리했습니다.

혼합물 1-4를 혼합하여 90m DB-FastFAME 컬럼과 100m HP-88 컬럼에서 트랜스/시스 FAME 분석을 실시했습니다.

### 기기

분할/비분할 주입구와 불꽃 이온화 검출기(FID)를 갖춘 8850 GC 시스템이 분석에 사용되었습니다. Agilent 7650A 자동 시료 주입기(ALS)(부품번호 G4567A)를 시료 주입에 사용했습니다.

He와 N<sub>2</sub> 운반 가스를 사용하여 4개의 분석 컬럼에서 수행한 분석법을 표 1에 나타내었습니다. 주입구 및 검출기 온도 설정은 동일합니다. 컬럼 헤드 압력과 오븐 온도 프로그램은 컬럼 유형과 운반 가스에 따라 최적화시켰습니다. Agilent OpenLab CDS 2.8을 사용하여 데이터를 수집하고 처리했습니다. 사용된 소모품 목록은 표 2에 나와 있습니다.

표 1. 8850 GC 기기 파라미터.

파라미터	값			
분할/비분할 주입구	220°C, 분할비: 20:1-100:1			
FID	240 °C H <sub>2</sub> : 30mL/분 공기: 400mL/분 보충 가스(N <sub>2</sub> ): 20mL/분			
컬럼 유형	20m Agilent J&W DB-FastFAME	30m Agilent J&W DB-FastFAME	90m Agilent J&W DB-FastFAME	100 m Agilent J&W HP-88
오븐 프로그램 및 컬럼 헤드 압력 설정(He 기반 분석법)				
운반 가스	헬륨			
컬럼 헤드 압력	28psi, CP*	27psi, CP	34psi(1.5분), 6psi/분 - 40psi, RP*	40psi, CP
오븐 프로그램	60°C(0.5분), 300°C/분 속도로 175°C 까지 승온(0.32분), 23°C/분 속도로 210°C 까지 승온(1분), 23.5°C/분 속도로 220°C 까지 승온(1분), 60°C/분 속도로 250°C 까지 승온(3분)	60°C(0.49분), 300°C/분 속도로 175°C 까지 승온(0.49분), 15°C/분 속도로 210°C 까지 승온(2.5분), 14.5°C/분 속도로 240°C 까지 승온(3분)	75°C(1.5분), 150°C/분 속도로 200°C 까지 승온(20분), 2°C/분 속도로 208°C 까지 승온(0.8분), 9°C/분 속도로 235°C 까지 승온(21분)	100°C(13분), 10°C/분 속도로 180°C 까지 승온(6분), 1°C/분 속도로 200°C 까지 승온(20분), 4°C/분 속도로 250°C 까지 승온(2분)
오븐 프로그램 및 컬럼 헤드 압력 설정(N <sub>2</sub> -기반 분석법)				
운반 가스	질소			
컬럼 헤드 압력	20psi	14psi	30psi(1.5분), 6psi/분 - 36psi, RP	
오븐 프로그램	60°C(0.58분), 250°C/분 속도로 175°C 까지 승온(0.37분), 19.6°C/분 속도로 210°C까지 승온(1.6분), 20.1°C/분 속도로 225°C까지 승온(2분), 180°C/분 속도로 250°C까지 승온(2분)	60°C(0.64분), 130°C/분 속도로 175°C 까지 승온(1.3분), 8°C/분 속도로 210°C 까지 승온(5.4분), 50°C/분 속도로 250°C 까지 승온(4분)	75°C(1.5분), 150°C/분 속도로 200°C 까지 승온(20분), 3°C/분 속도로 208°C 까지 승온(8분), 9°C/분 속도로 235°C 까지 승온(18분)	

\* CP는 일정 압력을 의미하고, RP는 램핑 압력을 의미합니다. 질소 운반 가스를 사용하는 20m 및 30m 컬럼의 컬럼 헤드 압력은 컬럼 배치의 차이를 고려하여 유사한 분해능이 얻어지도록 조정해야 할 수 있습니다.

표 2. FAME 분석에 사용되는 소모품.

카테고리	애질런트 부품	부품 번호
주입구 셉타	Hi-temp/low bleed/nonstick septa	5183-4757
주입구 라이너	Ultra-inert, low pressure drop split liner with glass wool	5190-2295
ALS 시린지	Agilent Gold Standard, 23-26 s tapered needle	5181-1273
컬럼 1	Agilent J&W DB-FastFAME, 20 m × 0.18 mm, 0.20 µm, custom 5 inch format	100-2000
컬럼 2	Agilent J&W DB-FastFAME, 30 m × 0.25 mm, 0.25 µm	G3903-63011
컬럼 3	Agilent J&W DB-FastFAME, 90 m × 0.25 mm, 0.25 µm, custom 5 inch format	100-2000
컬럼 4	Agilent J&W HP-88 GC column, 100 m, 0.25 mm, 0.2 µm	112-88A7E

## 결과 및 토의

### 짧은 컬럼에서 37가지 지방산 메틸 에스테르의 고속 분석

37개의 FAME는 대부분의 중요한 포화, 단일불포화, 다중불포화 FAME를 포함하여 많은 식품 시료의 지방산 조성을 모방합니다. 이는 잘 확립되어 있고 널리 받아들여지는 참조입니다.

20m × 0.18mm 내경, 0.2µm DB-FastFAME 컬럼과 30m × 0.25mm 내경, 0.25µm DB-FastFAME 컬럼을 사용하여 8850 GC에서 37가지 FAME의 고속 분석을 시연했습니다. 오븐 램프 프로그램과 컬럼 유량은 이전 연구를 기반으로 했으며 8850 GC에 맞게 추가로 최적화시켰습니다. He와 N<sub>2</sub> 운반 가스 기반 분석법은

모두 다양한 지역의 대체 운반 가스 요구와 실험실 운영 방식을 고려하여 개발되었습니다.

서로 다른 운반 가스를 사용하여 두 개의 컬럼에서 얻은 GC-FID 크로마토그램을 그림 1A, 1B, 2A 및 2B에 나타내었습니다. 모든 화합물은 He 분석법으로 잘 분리되었습니다. 베이스라인으로 분리할 수 없는 세 개의 화합물 쌍은 검은색 사각형으로 표시했습니다. 그 중 c22:2n6과 c23:0의 피크는 He 분석법 사용 시 20m 및 30m 컬럼에서 각각 1.27과 1.31로 가장 낮은 분해능을 보였습니다. AOAC 국제 분석법 996.06<sup>2</sup>에서는 C18:3과 C20:1 인접 피크의 FAME 2-쌍과 C22:1, C20:3, C20:4 인접 피크의 FAME 3-쌍을 1.0 이상의 분해능으로 분리할 것을 요구합니다.

이 요구 사항은 주로 고함량 시아노프로필 고정상에 권장됩니다. 크로마토그램의 노란색 사각형으로 표시된 것처럼, 6개의 프로브 FAME는 DB-FastFAME 컬럼에서 다른 순서로 용출되었습니다. DB-FastFAME 컬럼의 독특한 선택성 덕분에 분리 성능이 분해능 요구 사항을 쉽게 초과했습니다. He 분석법의 분석 시간은 두 컬럼에서 각각 7분과 10분 미만이었습니다. 분석 속도는 기존 분석법보다 5-8배 더 빨랐습니다.

N<sub>2</sub> 분석법에서 늦게 용출된 화합물은 피크 모양이 더 넓어 인접 피크와의 분해능에 영향을 미쳤습니다. 20m 컬럼에서 N<sub>2</sub> 운반 가스로 전환했을 때, C22:2n6/C23:0 및 C24:1/C22:3n6의 분해능은 각각 1.27과 1.36에서 1.1과 1.01로 감소했습니다. 분석 시간은 약 30% 증가했습니다. N<sub>2</sub> 분석법의 분해능을 향상시키려면 분석 속도를 낮춰야 합니다. 그림 2B는 더 느린 컬럼 유량과 오픈 프로그램에서 N<sub>2</sub> 운반 가스 사용 시 30m 컬럼에서 생성된

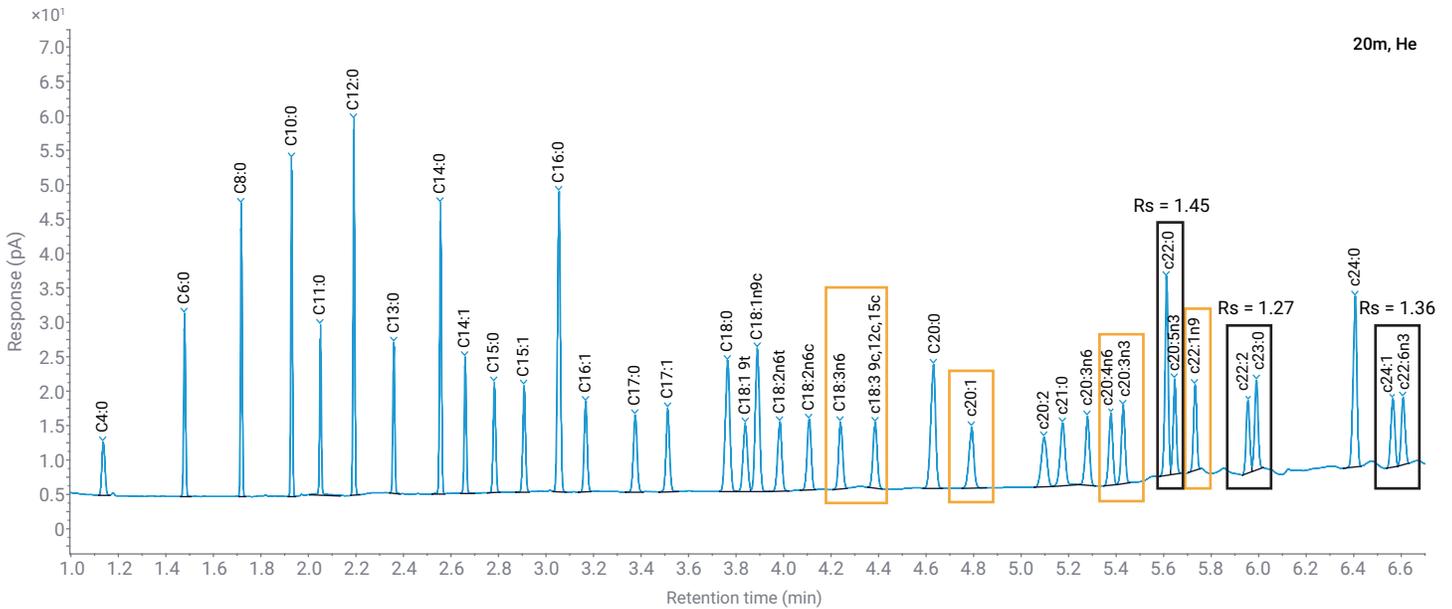


그림 1A. He 운반 가스를 사용하여 20m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 37개 FAME에 대해 얻은 크로마토그램.

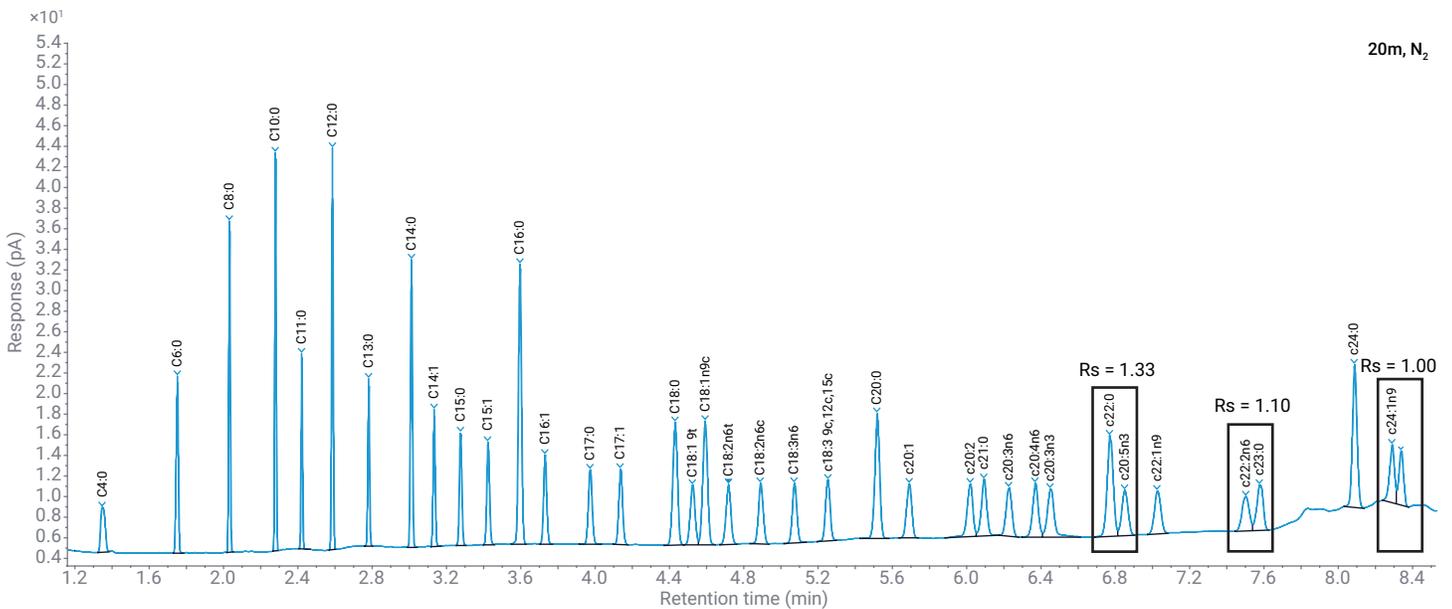


그림 1B. N<sub>2</sub> 운반 가스를 사용하여 20m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 37개 FAME에 대해 얻은 크로마토그램.

크로마토그램을 보여줍니다. 30m 컬럼에서 N<sub>2</sub> 분석법의 c22:2n6 및 c23:0 분해능은 1.30으로, He 분석법의 1.31과 동일합니다. 30m 컬럼에서 N<sub>2</sub> 분석법으로 얻은 분석 속도는 He 분석법보다 50% 느렸습니다(14.5분 대 9.5분). 짧은 DB-FastFAME

컬럼에서는 He와 N<sub>2</sub> 운반 가스를 모두 사용하여 고속 FAME 분석을 수행할 수 있지만, 더 나은 분해능과 높은 생산성을 얻으려면 He 기반 분석법이 더 나은 선택입니다.

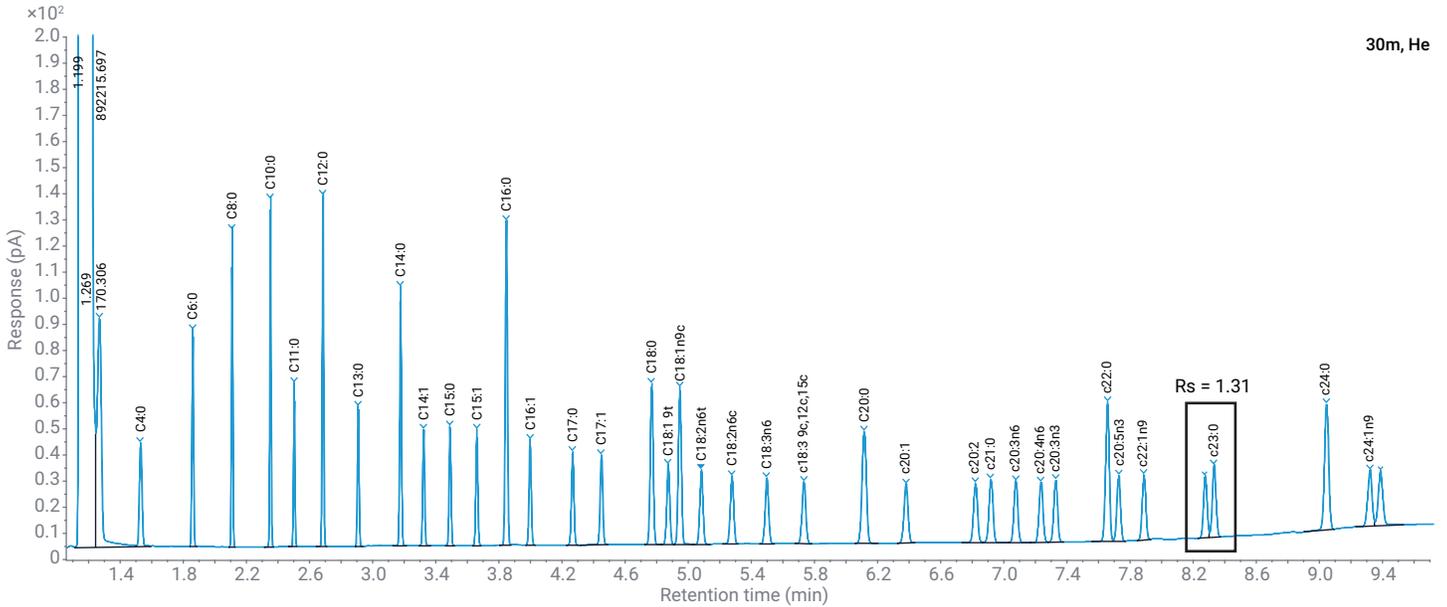


그림 2A. He 운반 가스를 사용하여 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 37개 FAME에 대해 얻은 크로마토그램.

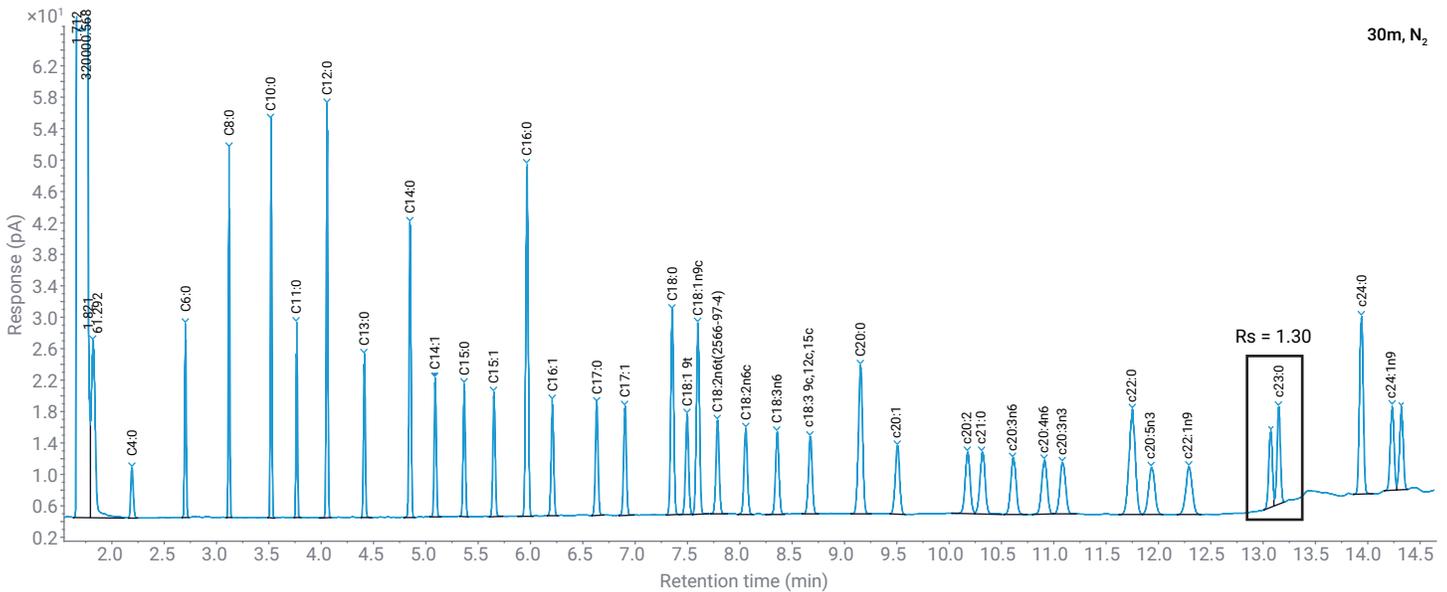


그림 2B. N<sub>2</sub> 운반 가스를 사용하여 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 37개 FAME에 대해 얻은 크로마토그램.

37개의 FAME를 연속으로 7회 주입한 결과를 바탕으로 4가지 빠른 분석법의 RT와 반응 정밀도를 평가했습니다. 컬럼에 로드된 분석물의 양은 0.4-1.2ng 범위였습니다. 그림 3에서 볼 수 있듯이 면적 반복성은 0.2-3.8%입니다. 늦게 용출된 화합물은 피크 적분에 미치는 베이스라인 영향으로 인해 더 높은 면적 %RSD(2-3.8%)를 나타냈습니다. 높은 오븐 온도에서 DB-FastFAME 컬럼의 베이스라인은 낮은 온도에서보다 평평하지 않습니다. 변동하는 베이스라인은 후기 용출액의 적분 시작/종료 지점을 왜곡시켜 적분 결과의 재현성을 떨어뜨렸습니다. 피크 면적의 변동성은 약간 더 높은 응답 %RSD로 확인됩니다. 실제 시료 분석의 경우, 지방산의 양은 일반적으로 테스트 표준물질보다 훨씬 높습니다. 이들의 반응은 훨씬 더 크고 베이스라인 변동에 영향을 받을 가능성이 적습니다. 따라서 정량적 정확도가 더 좋아질 것입니다.

4가지 분석법의 RT 정밀도는 0.01-0.07% 범위였습니다(그림 4). 이는 분석 속도를 고려하면 양호한 정밀도이며, 정확한 정성화를 보장합니다.

빠른 분석은 옥수수, 대두 등의 식물성 기름과 같은 전통적인 시료의 특성 분석에 적합하다는 점을 강조하고 싶습니다. 유제품이나 생선기름에 함유된 오메가-3산 등 동물성 시료의 경우, 빠른 분석법은 품질 관리 프로세스에 적용할 수 있습니다. 시스/트랜스 지방산과 위치 이성질체(즉, 이중 결합 위치 이성질체) 분석이 필요한 보다 복잡한 시료의 경우, 만족스러운 분리를 위해 긴 극성 컬럼과 느린 온도 프로그램의 도움을 받는 것이 더 좋습니다.

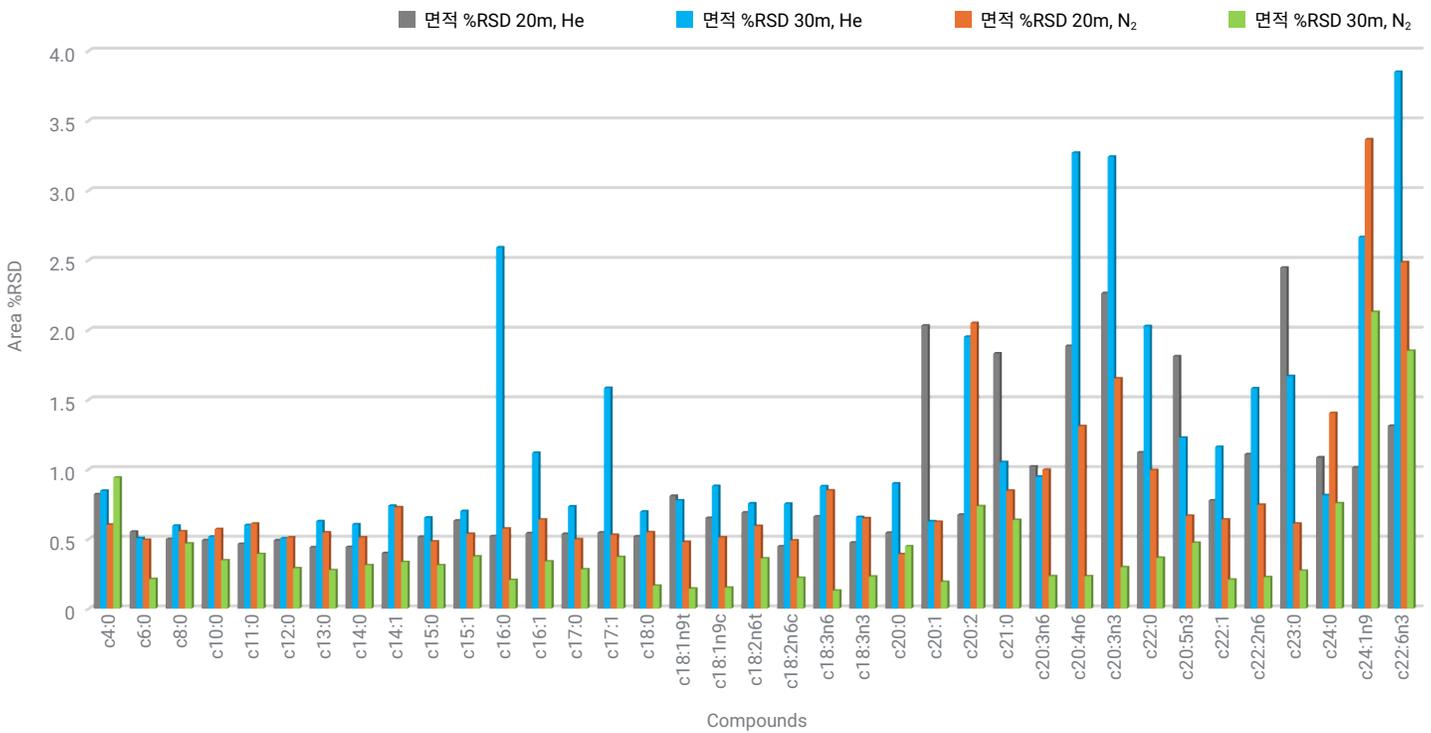


그림 3. 헬륨과 질소 운반 가스를 사용하여 20m 및 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 얻은 면적 정밀도.

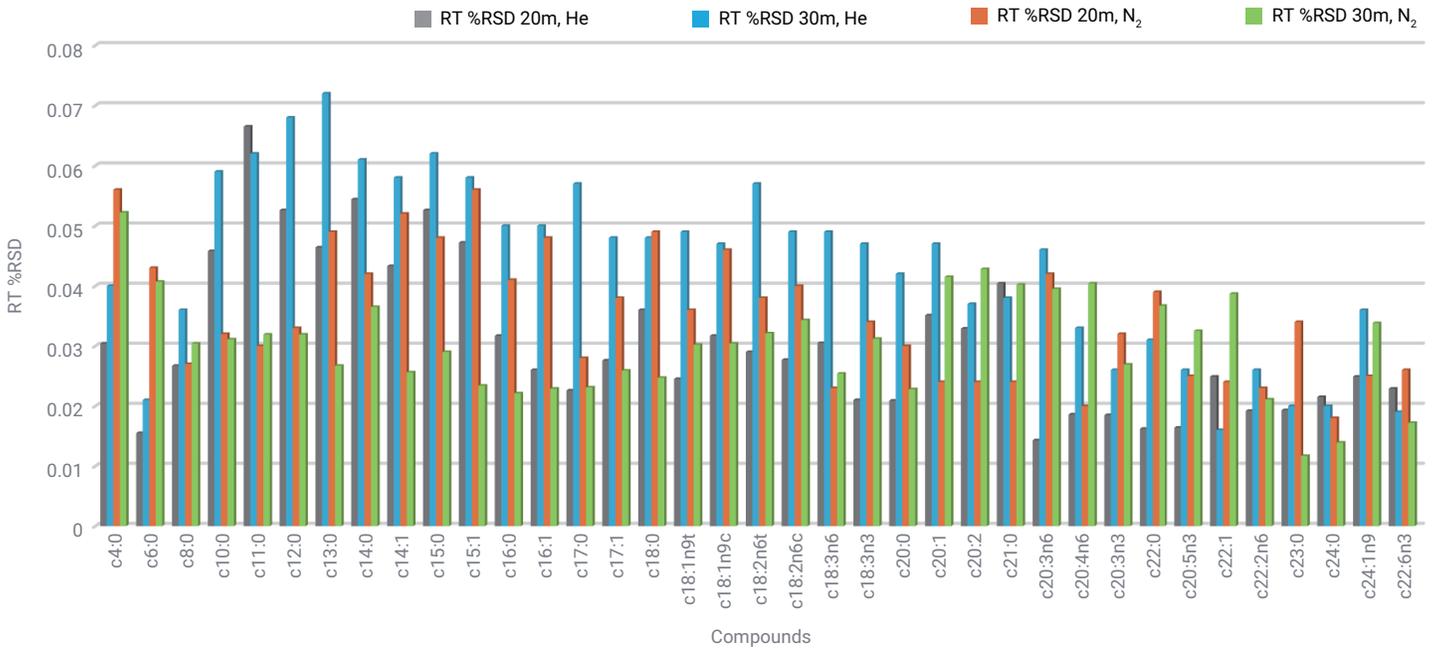


그림 4. 헬륨과 질소 운반 가스를 사용하여 20m 및 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 얻은 머무름 시간 정밀도.

### 90m DB-FastFAME 및 100m HP-88 컬럼에서 복잡한 트랜스/시스 지방산 분석

종합적인 지방산 분석을 위해서는 포화 및 불포화 지방산뿐만 아니라 리놀렌산(C18:3) 및 리놀레산(C18:2) 이성질체와 같은 여러 트랜스/시스 지방산 이성질체도 분리해야 합니다. 중국의 국가 식품 안전 표준 카탈로그에 있는 GB 5009.168-2016<sup>3</sup> 및 GB 5009.257-2016<sup>4</sup> 분석법은 식품 매트릭스에서 52가지 지방산 분석을 요구합니다. C18:2 및 C18:3 이성질체와 37개의 FAME가 표적 목록에 포함되어 있습니다. 짧은 DB-FastFAME 컬럼은 이 응용에 맞게 설계되지 않았습니다. 전통적으로, 이러한 분리는 HP-88 및 Agilent J&W CP-Sil 88 컬럼과 같은 긴 고함량 시아노프로필상 컬럼에서 수행됩니다. 여기에서는 Agilent 8850 GC에서 표적 분리를 위해 90m DB-FastFAME 컬럼을 적용했습니다. 분해능, 분석 속도, 분석법 정밀도를 평가했습니다.

37개의 FAME와 15개의 트랜스-FAME 혼합물을 He 및 N<sub>2</sub> 운반 가스와 최적화된 오븐 온도 프로그램을 이용해 분리했습니다. 오븐 프로그램의 빠른 램프 세그먼트와 일치하도록 컬럼 헤드 압력 램프를 개발했습니다. He 분석법을 사용하면 분석 시간이 50분 미만이고, N<sub>2</sub> 분석법을 사용하면 분석 시간이 약간 더 길어집니다 (<55분). 그림 5A와 그림 5B는 90m DB-FastFAME 컬럼에서 C18:2와 C18:3 이성질체의 크로마토그램과 상세한 분해능을 보여줍니다. 베이스라인 수준의 분해능으로 모든 인접한 피크를 분리하는 것은 어렵습니다. 목표는 대부분의 시스 및 트랜스 FAME를 1.0 이상의 분해능으로 분리하는 것입니다. C18:3 (6c, 9c, 12c) (시스-)와 C18:3 (9t, 12t, 15c) (트랜스-) 한 쌍의 화합물만이 He 분석법에서 이 분해능을 충족하지 못했습니다. C18:3 (9t, 12t, 15c), C18:3 (6c, 9c, 12c), C18:3 (9t, 12c, 15c)의 FAME 3-쌍은 N<sub>2</sub> 분석법에서 이 목표를 충족하지 못했습니다.

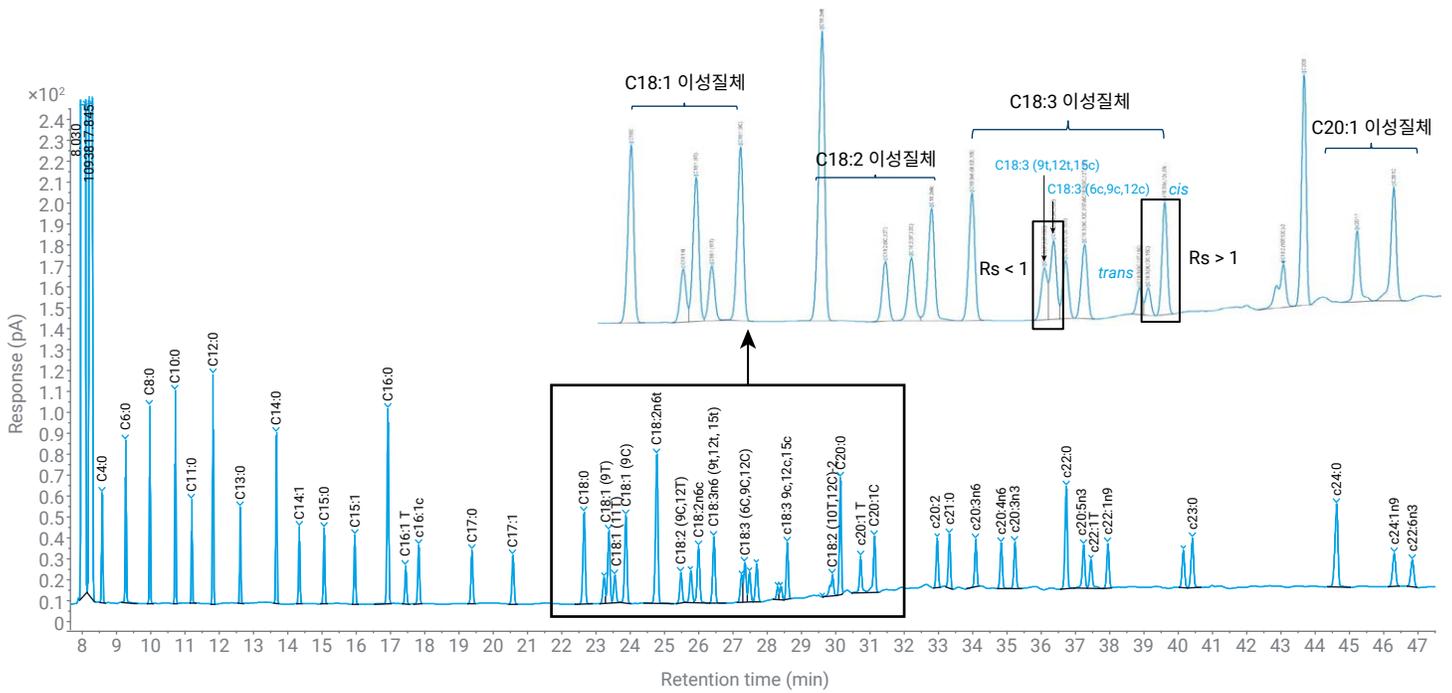


그림 5A. 90m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼(He)에서 52개의 FAME 분석.

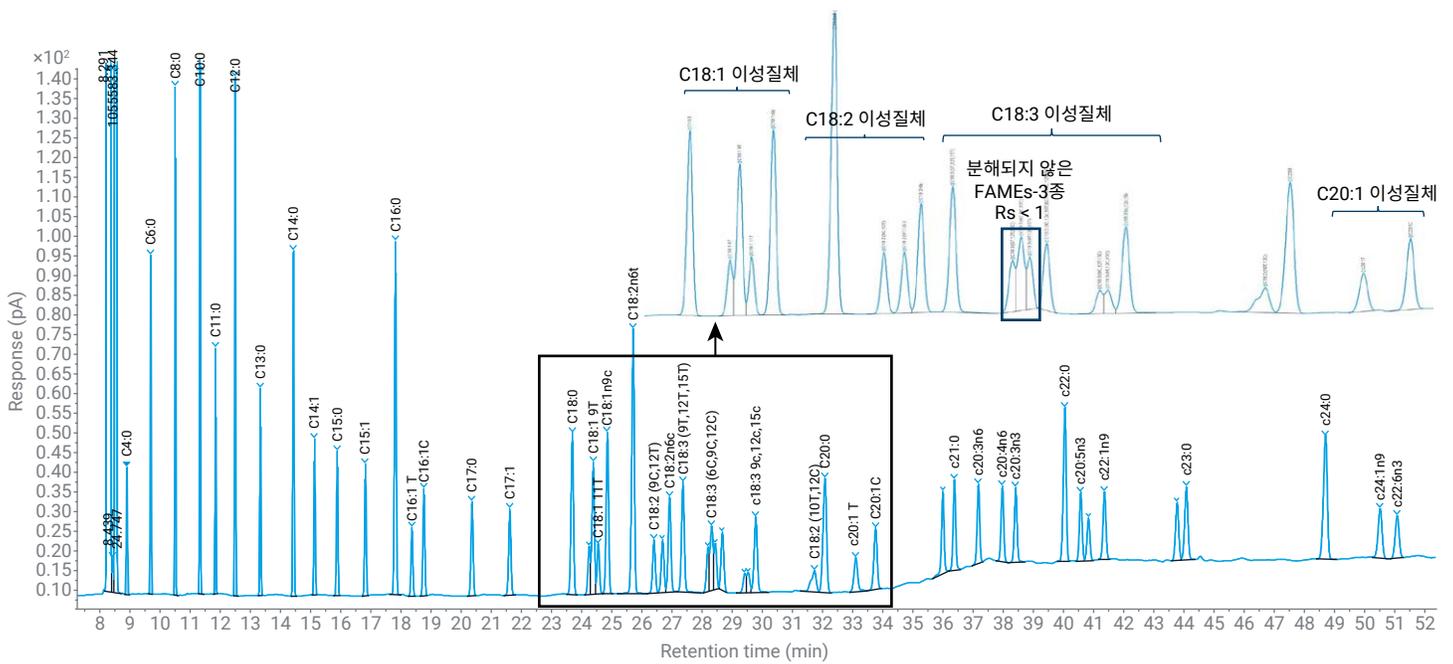


그림 5B. 90m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 52개의 FAME 분석(N<sub>2</sub>).



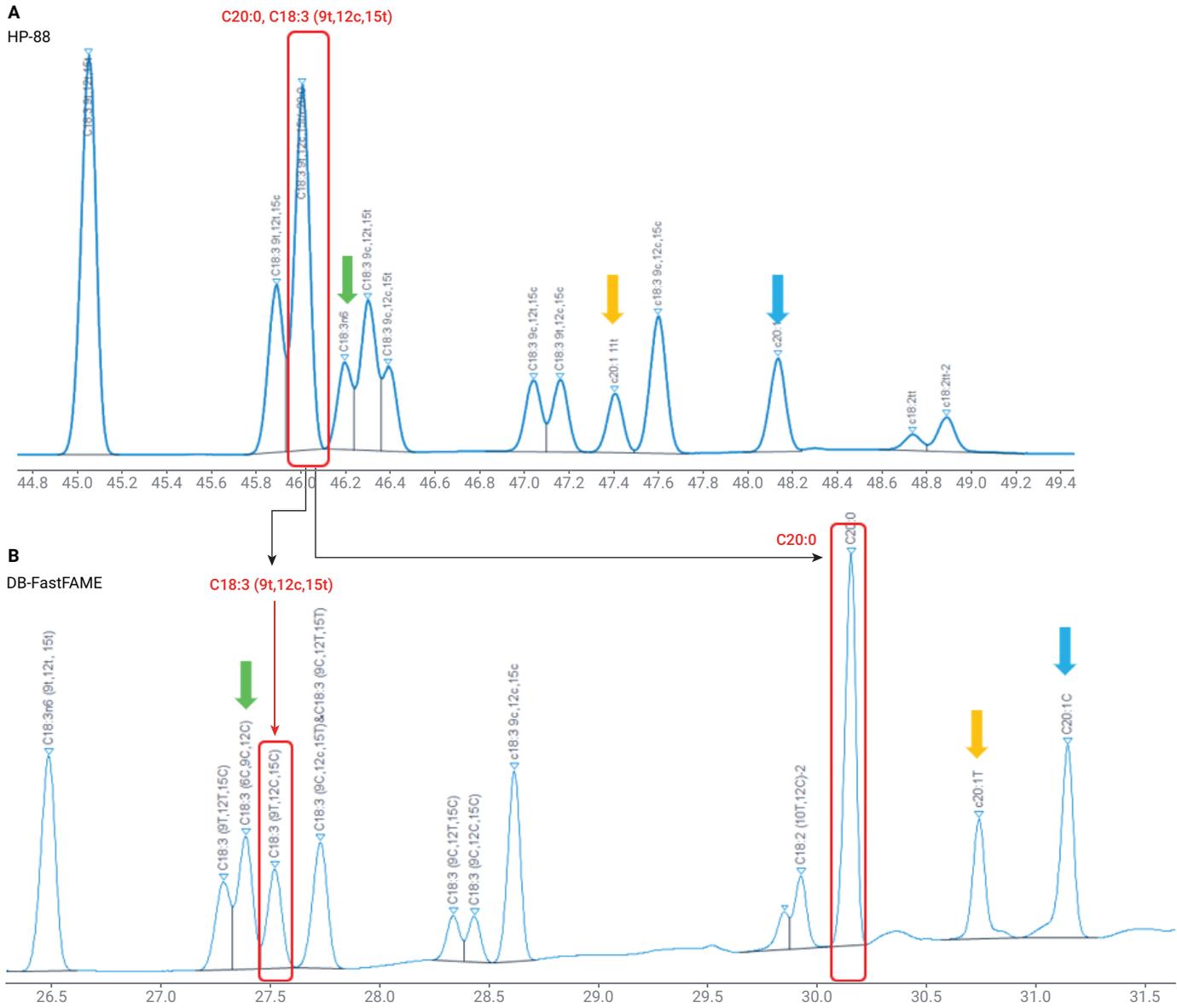


그림 7. 100m Agilent J&W HP-88(A) 및 90m Agilent J&W DB-FastFAME(B) 컬럼에서 C18:3 이성질체 분리. 같은 색상의 화살표로 표시된 피크는 DB-FastFAME 및 HP-88 컬럼에서 다른 순서로 용출된 동일한 화학물에 속합니다.

90m DB-FastFAME 컬럼의 분석 정밀도는 52가지 FAME 혼합물의 6회 반복 분석으로 평가했습니다. 면적 반복성은 0.22-2.7% 범위였습니다(그림 8). RT 반복성은 0.005-0.041% 범위였습니다(그림 9). 응답과 RT 정밀도는 우수했으며 8890

GC의 이전 결과와 동일했습니다. 이는 8850 GC가 장시간에 걸쳐 오븐 온도, 주입구 압력 및 검출기 유량을 정확하고 안정적으로 제어할 수 있음을 나타내며, 이를 통해 복잡한 FAME 시료에 대한 안정적인 식별이 보장됩니다.

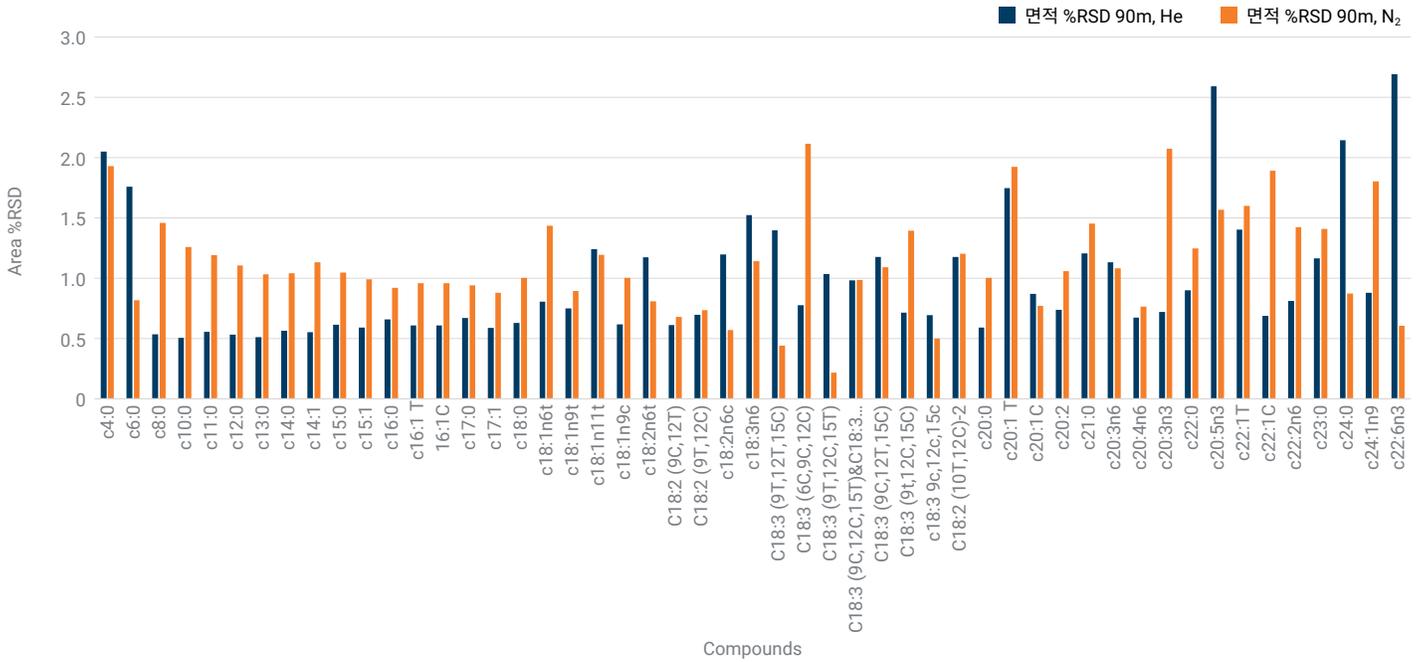


그림 8. 90m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 반응 정밀도.

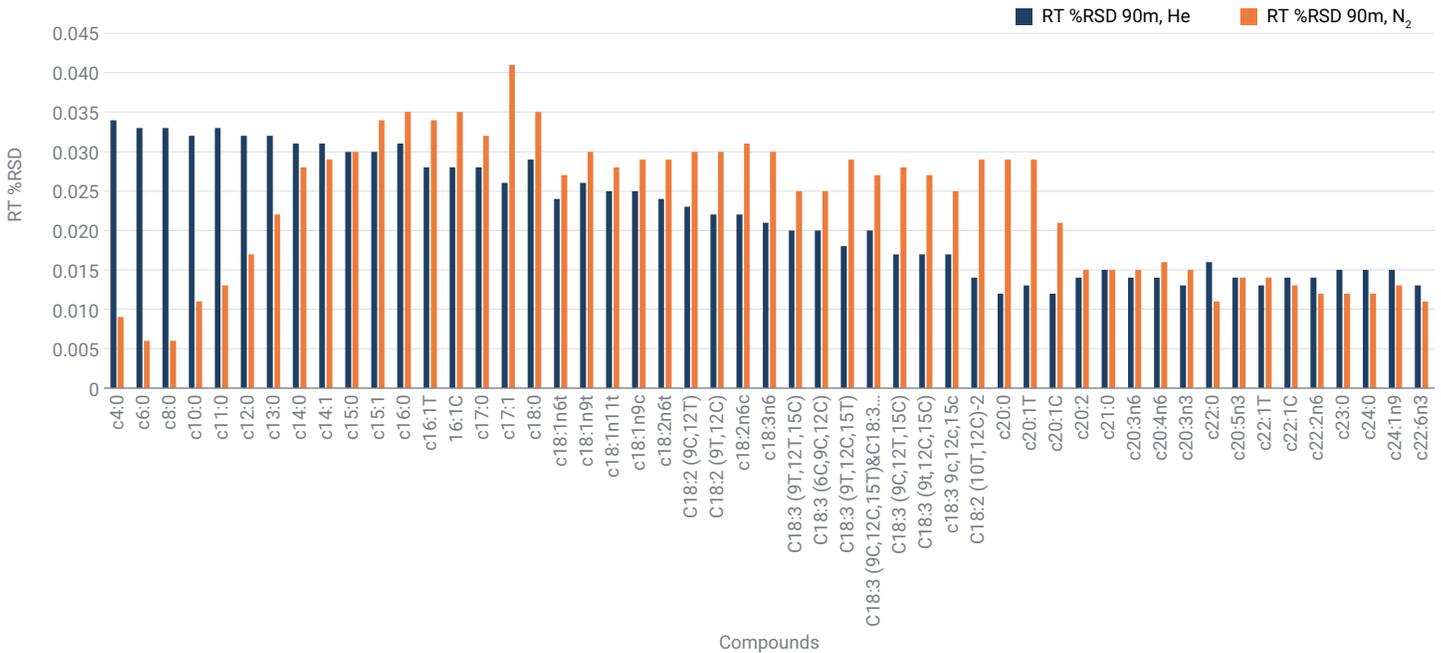


그림 9. 90m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 머무름 시간 정밀도.

## 결론

특별히 설계된 20m 및 30m Agilent J&W DB-FastFAME 컬럼에서 최적화된 오븐 프로그램으로 FAME 표준물질을 분석했을 때, Agilent 8850 GC 시스템에서 고속 FAME 분석이 가능했으며, 매우 우수한 반복성을 얻었습니다. He 운반 가스를 사용하면 분석 시간이 10분 이내, N<sub>2</sub> 운반 가스를 사용하면 15분 이내로 기존 분석법보다 5-8배 빠릅니다. 빠른 분석법으로 얻은 피크 분해능은 AOAC 996.06 표준 요구 사항을 충족했습니다. 이러한 분석법은 37가지 FAME의 일반 분석에서 실험실 생산성을 크게 개선하는 데 도움이 될 수 있습니다.

90m DB-FastFAME 및 100m Agilent J&W HP-88 컬럼에서 52개의 FAME를 분석한 결과, 시스/트랜스 지방산 및 위치 이성질체를 포함한 복잡한 지방산을 분석할 때 8850 GC가 분해능, 면적 반복성(< 2.5%), RT 정밀도(< 0.04%) 측면에서 Agilent 8890 GC 시스템과 동등한 성능을 제공할 수 있음이 입증되었습니다.

## 참고 자료

1. Zou, Y.; Wu, H. Improving the Analysis of 37 Fatty Acid Methyl Esters. *Agilent Technologies 응용 자료*, 발행 번호 5991-8706EN, **2018**.
2. AOAC International. AOAC Official Methods of Analysis (2000), Method 996.06, Ce 2-66.
3. People's Republic of China National Health Commission. Determination of Fatty Acids in Food, Method GB5009.168-2016.
4. People's Republic of China National Health Commission. Determination of Fatty Acids in Food, Method GB5009.257-2016.

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

DE-009757

이 정보는 사전 고지 없이 변경될 수 있습니다.

© Agilent Technologies, Inc. 2025  
2025년 11월 5일, 한국에서 인쇄  
5994-8743KO

한국에질런트테크놀로지스(주)  
대한민국 서울특별시 서초구 강남대로 369,  
DF타워 9층, 06621  
전화: 82-80-004-5090(고객지원센터)  
팩스: 82-2-3452-2451  
이메일: [korea-inquiry\\_lsca@agilent.com](mailto:korea-inquiry_lsca@agilent.com)