

应用纪要

利用混合模式阴离子交换色谱分离游离脂肪酸

Kerri M. Smith, Paul D. Rainville

Waters Corporation



这是一份应用简报，不包含详细的实验部分。

摘要

本应用纪要介绍了C3:0–C18:0游离脂肪酸的分离。

优势

Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱可出色地分离游离脂肪酸。

简介

脂肪酸存在于食物中，用作生物系统和复杂纤维微生物群发酵的一部分，对于哺乳动物而言，是重要的能量储存库和细胞壁成分¹。脂肪酸分析涵盖多个学科，可通过多种方式进行，包括气相色谱法（经过羧酸部分的衍生化）²、反相液相色谱法³和超临界流体色谱法⁴等。本文展示了混合模式反相/阴离子交换柱Waters Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX在分离游离脂肪酸方面的应用。

结果与讨论

Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX是一种混合模式反相/阴离子交换柱，即反相C18和阳离子键合在亚乙基桥杂化颗粒上⁵。当pH值低于8.0时，固定相表面带正电，可与带负电荷的分子（例如酸）发生离子交换。将购自Nu-Chek Prep, Inc.的游离脂肪酸混标(GLC-412)与10 µL浓丙酸(Sigma Aldrich)混合，并用3:1甲醇/氯仿定容至1 mL。用甲醇将样品进一步稀释100倍，然后放入样品瓶中进行分析。

流动相由1 mM甲酸铵水溶液（pH 3.0，用A表示）和包含1 mM甲酸铵的50:50乙腈/异丙醇（pH 3.0，用B表示）组成。梯度设置：使用梯度曲线5，在6分钟内将流动相B从0%增加至100%。流速0.6 mL/min，柱温设置为60°C，进样体积3 µL。图1显示了从C3:0丙酸到C18:0硬脂酸的游离脂肪酸分离结果。丙酸的k'为2.36，且k'按链长顺序增加。当pH为3.0，低于羧基部分的pKa时，脂肪酸不带电，可通过与C₁₈配体的相互作用实现保留⁵。但是，Atlantis BEH C₁₈ AX填料的孔径为95 Å，小于其它BEH颗粒的孔径(130 Å)⁵。颗粒孔径越小，比表面积越大，因此保留性能更好。如图2所示，与比表面积为185 m²/g的BEH C₁₈色谱柱相比，使用比表面积为270 m²/g的Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱时，脂肪酸的保留性能明显提高，丙酸的峰形也有所改善。为测试进样重现性，计算了五次重复进样的保留时间RSD。在图3中，将进样结果叠加显示，所有分析物的保留时间RSD均为0.02~0.14%。

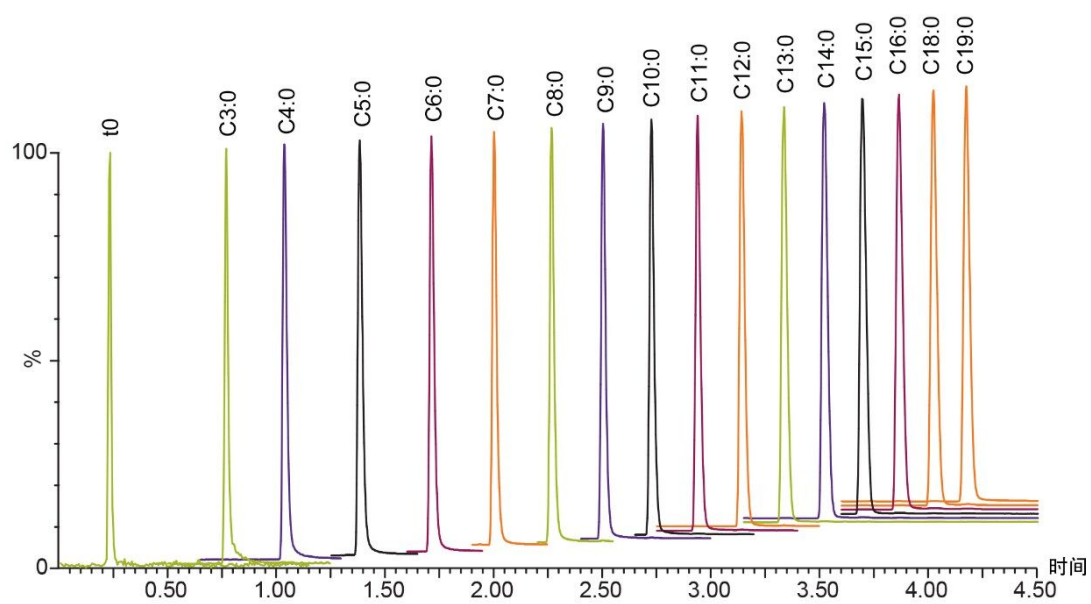


图1.混标中游离脂肪酸的分离结果

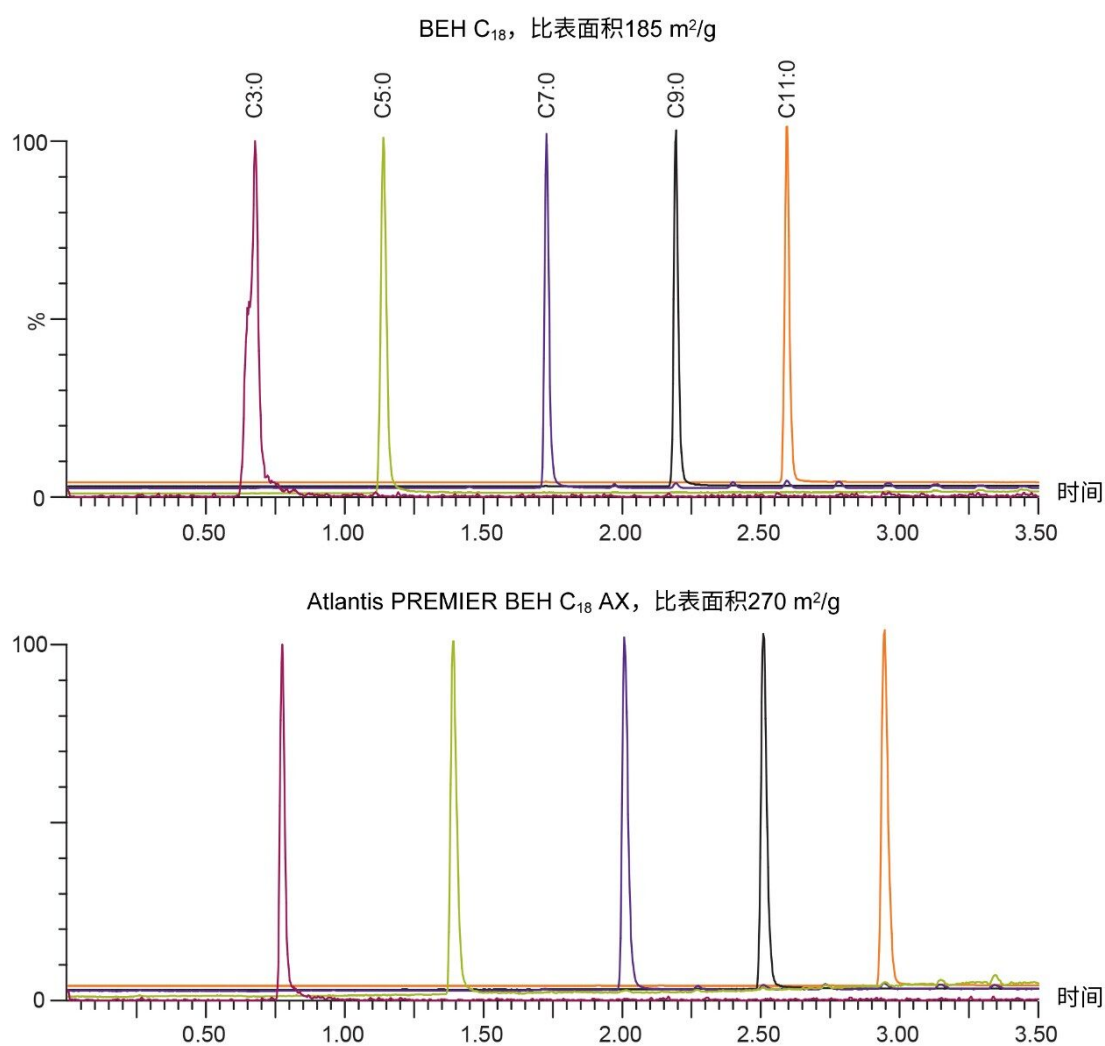


图2.比表面积对游离脂肪酸保留性能的影响。BEH C₁₈, 2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm色谱柱（上图）与 Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX 2.1 mm × 50 mm, 1.7 μm色谱柱（下图）比较。保留性能随比表面积增加而升高。

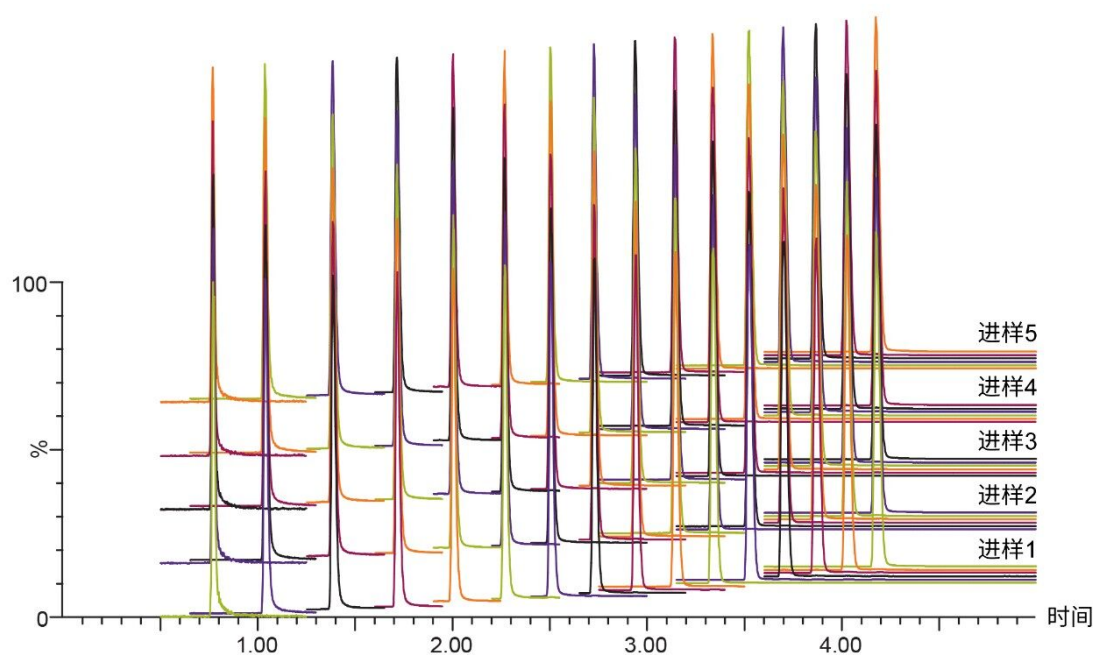


图3.游离脂肪酸的进样重现性

结论

Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX色谱柱可以很好地保留和分离游离脂肪酸，并提供优异的进样重现性。

参考文献

1. Murray R.K.; Bender D.A.; et al. Harper's *Illustrated Biochemistry*, 28th ed. New York: McGraw-Hill, 2009; pp 121-142.
2. Ichihara K. et al. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Liquid Chromatography. *J. Lipid Res.* 2010, 51, 635-640.
3. Nikolova-Damyanova B. *Reversed-Phase High- Performance Liquid Chromatography: General Principles and Application to the Analysis of Fatty Acids and Triacylglycerols in Advances in Lipid*

Methodology, Volume 4. Woodhead: Philadelphia, 1997, pp 193–251.

4. Yang Y. et al. Advances of Supercritical Fluid Chromatography in Lipid Profiling *J. Pharm. Anal.* 2019, 9, 1–8.

5. Walter, T.H. et al. *A New Mixed-Mode Reversed Phase/Anion Exchange Stationary Phase Based on Hybrid Particles*. 沃特世公司应用纪要, 待发表, 2020.

特色产品

720006747ZH, 2020年1月