

冷、热榨对紫苏油酸价及不饱和脂肪酸含量的影响

陈琳, 李荣, 刘韬, 姜子涛*

(天津商业大学生物技术与食品科学学院, 天津市食品生物技术重点实验室, 天津 300134)

摘要: 通过碱水解, 将紫苏油甘油三酸酯转化为游离脂肪酸, 利用反相高效液相色谱-蒸发光散射检测器法, 采用梯度洗脱的方式, 测定冷、热榨紫苏油甘油三酸酯中的脂肪酸含量。结果表明, 两种紫苏油甘油三酸酯中脂肪酸的含量差异较大。冷榨紫苏油中亚麻酸、亚油酸含量显著高于热榨紫苏油, 而油酸、棕榈酸含量略低。冷榨紫苏油中5种脂肪酸的含量高达95.09%, 而热榨油含量仅为87.89%。5种脂肪酸的回收率为99.70%~101.11%, 相对标准偏差介于0.44%~3.66%之间。

关键词: 反相高效液相色谱-蒸发光散射检测器; 紫苏油; 冷榨油; 热榨油; 脂肪酸组成

Effects of Cold Pressing and Hot Pressing on Acidic Value and Unsaturated Fatty Acid Contents of Perilla Oil

CHEN Lin, LI Rong, LIU Tao, JIANG Zi-tao*

(Tianjin Key Laboratory of Food Biotechnology, College of Biotechnology and Food Science, Tianjin University of Commerce, Tianjin 300134, China)

Abstract: The fatty acid contents in cold-pressed and hot-pressed perilla oils were determined by reversed phase high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD) in a gradient elution mode after conversion of the triglycerides into free fatty acids by alkaline hydrolysis. The results showed that the differences in the contents of fatty acids in cold-pressed and hot-pressed perilla oils were highly significant. The contents of linolenic and linoleic acids in cold-pressed perilla oil were significantly higher, whereas the contents of oleic acid and palmitic acid were relatively lower than in hot-pressed oil. The content of five fatty acids accounted for up to 95.09% of total fatty acids in cold-pressed oil, but only 87.89% in hot-squeezed oil. The recoveries of five fatty acids were 99.70%–101.11%, with relative standard derivations (RSDs) between 0.44% and 3.66%.

Key words: reversed phase high performance liquid chromatography with evaporative light scattering detector (HPLC-ELSD); perilla oil; cold-pressed oil; hot-pressed oil; fatty acid composition

中图分类号: TS224.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)08-0279-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201408056

紫苏油主要是由甘油三酸酯构成的(含量>99%以上)。且紫苏油甘油三酸酯中亚麻酸含量很高, 因此紫苏油具有重要的保健作用和巨大的开发价值, 可作为功能性食品、化妆品和药品的基料加以开发^[1-4]。目前, 市售的紫苏油分为冷榨和热榨两种。冷榨紫苏油避免了传统高温加工过程对紫苏油所产生的不利影响, 最大限度的保留了紫苏油甘油三酸酯中的各种不饱和脂肪酸和其他油溶性营养物质的生物活性, 大大提高了紫苏油的品质^[5], 备受广大消费者的喜爱和推崇。另外, 冷榨紫苏油一般不需要加添加剂就可以长时间的保存, 市场价值相

对较高。而热榨所获得的紫苏油在经过多道精炼工序如水化脱胶、碱炼脱酸、吸附脱色和水蒸气蒸馏脱臭提纯处理后, 尽管二者的质量上有很大的区别, 但消费者从感官上很难将之与冷榨紫苏油区别开来。

目前, 国内外分析脂肪酸常用的方法是将其衍生化生成较易挥发的甲酯类化合物, 然后用气相色谱(gas chromatography, GC)法、气相色谱-质谱联机(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法^[6]或高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法测定^[7]。但是衍生过程中易发生异构化、氧化

收稿日期: 2014-03-18

基金项目: 天津市自然科学基金重点项目(120029); 天津市高校科技发展基金计划项目(20110608)

作者简介: 陈琳(1988—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品添加剂。E-mail: 469804329@qq.com

*通信作者: 姜子涛(1956—), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品添加剂及食品分析。E-mail: ztjiang@tjcu.edu.cn

和分解等副反应,而且很难保证脂肪酸衍生化完全。因此前两种方法灵敏度偏低、稳定性差、衍生重现性不够理想^[8]。另外,由于大多数脂肪酸在紫外区吸收非常弱,因此直接采用HPLC法测定脂肪酸时,灵敏度较低。近年来蒸发光检测器(evaporative light-scattering detector, ELSD)技术已趋成熟,由于ELSD的响应信号与样品的光学特性无关,并适于梯度洗脱。因此,ELSD在糖类和脂类化合物的分析检测中显示出了紫外检测器不可比拟的优越性^[9-11]。

本实验利用直接滴定法测定了冷、热两种压榨工艺所获得的紫苏油的酸价,并首次利用HPLC-ELSD法对冷、热榨紫苏油甘油三酸酯中的脂肪酸组成成分进行了定性和定量分析,为区别冷、热榨紫苏油以及对紫苏油的质量评价提供了一定的参考依据,同时也为紫苏油的进一步开发利用奠定了理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

不同压榨工艺紫苏油样品(冷榨油、热榨油) 天津东方雷格工贸有限公司。

亚油酸、油酸(纯度 $\geq 99\%$)标准品、亚麻酸(纯度 $> 98\%$)标准品 美国Sigma公司;棕榈酸和硬脂酸(纯度 $> 99\%$)标准品 天津市光复精细化工研究所;氢氧化钠、氢氧化钾、硫酸和酚酞 天津市化学试剂批发公司;无水乙醇和乙醚 天津市风船化学试剂科技有限公司;甲醇(色谱纯) 天津市科密欧化学试剂有限公司;冰乙酸 天津市凯通化学试剂有限公司;所用试剂均为分析纯。实验用水均为娃哈哈纯净水,由杭州娃哈哈集团有限公司生产。

1.2 仪器与设备

SSI 1500高效液相色谱仪(配备四元梯度泵)、ELSD2000蒸发光散射检测器 美国Alltech公司;FA1104N电子天平 上海精密科学仪器有限公司;HSS-1(B)型恒温浴槽 成都仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 紫苏油酸价的测定

参照GB/T 5530—2005《动植物油脂酸值和酸度测定》。

1.3.2 紫苏油甘油三酸酯中脂肪酸组成的测定

1.3.2.1 脂肪酸标准溶液的配制及标准工作曲线测定

分别准确称取亚麻酸、亚油酸、油酸、棕榈酸和硬脂酸0.158 5、0.102 0、0.171 0、0.161 5 g和0.112 5 g,均置于同一只250 mL容量瓶中,加入少许甲醇,在50 °C水浴中溶解后取出,冷却至室温,用甲醇定容得到混合标准储备液。取0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、10.0、20.0 mL标准储备液分别倾入50 mL容量瓶中,用甲醇定容,得到不同质量浓度的高级脂肪酸混合标准工作液。

依次吸取上述所配制的不同质量浓度的脂肪酸混合标准工作液各10 μ L,在所提出的最佳色谱条件下进样分析。以HPLC-ELSD色谱图中脂肪酸的峰面积 A 的对数 $\lg A$ 为纵坐标,以脂肪酸的进样质量浓度 ρ 的对数 $\lg \rho$ 为横坐标绘制标准工作曲线。

1.3.2.2 紫苏油的碱水解

取紫苏油样约0.1 g加入0.4 mL 40% NaOH水溶液及0.6 mL 95%乙醇,连接回流冷凝器,于60 °C水浴中皂化30 min(至无油滴)。蒸去乙醇,加1 mL热蒸馏水,混匀后用20%的硫酸调溶液pH值至3,此时溶液分为明显的两层:上层为透明的脂肪酸层,下层为酸性甘油液。用无水乙醚萃取3次,每次用乙醚2 mL,合并醚层,并用氮气吹干,然后用甲醇溶解并定容至100 mL,过0.45 μ m微孔滤膜备用。

1.3.2.3 HPLC-ELSD分析条件

色谱柱: AlltimaTM C₁₈柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μ m),柱温: 28 °C,流动相: A液为甲醇, B液为水(含1%乙酸);梯度洗脱程序: 90%A(保持5 min)然后10 min内上升到95%A,然后流动相保持该比例不变;流速: 0.8 mL/min。ELSD参数: 漂移管温度70 °C,载气流速1.7 L/min。进样量: 10 μ L。

2 结果与分析

2.1 冷、热榨紫苏油酸价

酸价是指中和1 g油脂中的游离脂肪酸所需要的氢氧化钾的质量(mg)。酸价越高,紫苏油的品质越差。经检测,冷、热榨紫苏油酸价分别为(0.54 \pm 0.013)、(1.53 \pm 0.032) mg/g。热榨紫苏油的酸价明显高于冷榨紫苏油的酸价。这说明在热榨紫苏油甘油三酸酯更容易发生水解生成游离的脂肪酸,因而导致热榨紫苏油中游离脂肪酸含量增高,酸价上升。而冷榨紫苏油甘油三酸酯中的不饱和脂肪酸没有受到高温的不利影响,避免了由于高温所造成的不饱和双键的氧化聚合或分解,并且保留了紫苏籽中的其他脂溶性生物活性成分,在一定程度上提高了紫苏油的稳定性^[12]。由此可以推断,热榨对紫苏油的酸价影响较大,降低了紫苏油的品质。

2.2 紫苏油甘油三酸酯中脂肪酸组成及含量的测定

2.2.1 标准工作曲线与检测限

表1给出了紫苏油甘油三酸酯分子中所含的亚麻酸、亚油酸、油酸、棕榈酸和硬脂酸5种脂肪酸的标准曲线。将最小质量浓度的标准混合溶液逐级稀释,依次进样10 μ L,以信噪比3倍时对应的每个标准脂肪酸的质量浓度为最低检测限。从表1可以看出,所提出的方法线性范围均较宽,在所拟定的质量浓度范围内,高级脂肪酸标准曲线的相关性良好,且紫苏油中所含全部5种脂肪酸的最低检测限均在0.12 μ g/mL以下。

表1 5种脂肪酸的标准曲线及检测限
Table 1 Calibration Curves and limits of detection for five fatty acid standards

脂肪酸	保留时间/min	线性方程	相关系数	线性质量浓度范围/(mg/L)	检测限/($\mu\text{g/mL}$)
亚麻酸	15.18	$\lg Y = 7.39 + 1.08 \lg X$	0.999 9	50.72~634	0.12
亚油酸	18.52	$\lg Y = 6.85 + 0.77 \lg X$	0.996 4	24.48~163.2	0.11
棕榈酸	21.57	$\lg Y = 3.65 + 1.04 \lg X$	0.997 7	12.92~64.6	0.08
油酸	22.45	$\lg Y = 6.28 + 0.98 \lg X$	0.996 4	41.04~273.6	0.11
硬脂酸	28.11	$\lg Y = -1.2 + 0.93 \lg X$	0.997 7	4.5~45	0.05

注: Y 为峰面积; X 为标准溶液质量浓度/(mg/L)。

2.2.2 方法回收率

取相同的样品2份,其中一份作为基准,另1份分别加入一定量的亚麻酸、亚油酸、棕榈酸、油酸和硬脂酸标准溶液,采用方法1.3.2.3节进样分析,计算加标回收率,结果见表2。由表2可见,紫苏油中所含全部5种高级脂肪酸的回收率为99.70%~101.11%,相对标准偏差(RSD)介于0.44%~3.66%之间,说明该所提出的方法回收率较高,精密度高。

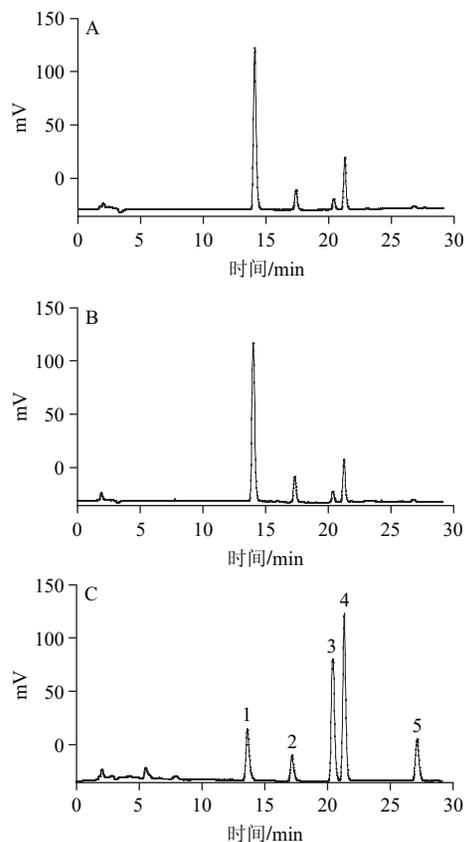
表2 加标回收率实验结果
Table 2 The recoveries of spiked standards

脂肪酸	测定量/(mg/g)	加标量/(mg/g)	加标测定量/(mg/g)	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
		36.0	95.08	100.44		
亚麻酸	58.92	50.8	110.02	100.59	100.27	0.44
		83.2	141.93	99.77		
亚油酸	29.38	21.3	50.02	96.90	101.11	3.66
		38.2	68.93	103.53		
棕榈酸	18.76	57.4	88.44	102.89	100.07	2.37
		10.1	28.59	97.33		
油酸	51.81	19.8	38.83	101.36	99.70	2.73
		29.9	49.11	101.51		
硬脂酸	19.20	19.4	70.67	97.22	100.31	3.16
		30.1	81.69	99.27		
		38.2	91.01	102.62		
		8.3	27.69	102.29		
		15.6	35.11	101.99		
		22.8	41.24	96.67		

2.2.3 冷、热榨紫苏油甘油三酸酯中脂肪酸含量

分别对冷、热榨紫苏油甘油三酸酯水解后进行了HPLC-ELSD分析,定性及定量地测定了紫苏油样品中的全部脂肪酸即亚麻酸、亚油酸、棕榈酸、油酸和硬脂酸。冷、热榨紫苏油样品及混合标准品的色谱分离结果如图1所示。从图1可以看出,紫苏油中存在的脂肪酸在30 min内都得到了有效的分离,采用外标法定量分析的结果见表3。测定结果表明,冷、热榨工艺所制得的紫苏油中脂肪酸组成一致,但脂肪酸含量有一定的差异。冷、热榨紫苏油均以亚麻酸含量最高(冷榨58.96%,热榨53.14%),其次为亚油酸和油酸。冷榨紫苏油中亚麻酸和亚油酸含量显著高于热榨紫苏油,棕榈酸和油酸比热榨紫苏油略低,而硬脂酸含量二者几乎相同。热榨

紫苏油中5种高级脂肪酸的含量为87.89%,而冷榨紫苏油中其含量已达到95.09%。但冷、热榨紫苏油中不饱和脂肪酸含量有很大差异,热榨油中不饱和脂肪酸含量81.83%,冷榨油高达89.21%。冷榨紫苏油中不饱和脂肪酸的含量显著高于热榨紫苏油,这是因为油脂在热榨过程中经过高温等过程,使得甘油三酸酯的不饱和脂肪酸由于发生热聚合和热分解等反应使其含量降低^[13]。众所周知,亚麻酸、亚油酸和油酸是人体所必需的不饱和脂肪酸^[14-18],具有降低胆固醇、调节血脂、预防心脑血管疾病等作用,亚麻酸对视网膜还具有较高营养生理作用^[19]。因此,冷、热榨紫苏油均为优良的保健食品用油,尤其是冷榨的紫苏油,具有重要的营养保健作用和巨大的开发价值。



1.亚麻酸; 2.亚油酸; 3.棕榈酸; 4.油酸; 5.硬脂酸。

图1 热榨紫苏油(A)、冷榨紫苏油(B)和5种脂肪酸混合标样(C)的HPLC色谱图。

Fig.1 HPLC chromatograms of hot-pressed perilla oil (A), cold-pressed perilla oil (B), and mixed standards of five fatty acids(C)

表3 紫苏油中甘油三酸酯的脂肪酸组分及其含量 (n=5)
Table 3 Fatty acid composition and contents of triglycerides in perilla oils (n = 5)

样品	亚麻酸	亚油酸	棕榈酸	油酸	硬脂酸
热榨紫苏油	53.14±0.37	12.06±0.34	4.11±0.23	16.63±0.22	1.95±0.23
冷榨紫苏油	58.96±0.49	14.71±0.33	3.96±0.21	15.54±0.28	1.92±0.25

3 结论

冷榨紫苏油的酸价显著低于热榨紫苏油,即游离脂肪酸较少,最大限度地保留了紫苏原有的成分,油的新鲜度较高,品质较好。采用HPLC-ELSD和梯度洗脱的方式使紫苏油甘油三酸酯水解得到的亚麻酸、亚油酸、棕榈酸、油酸和硬脂酸得到了有效地分离,冷榨紫苏油甘油三酸酯水解得到的脂肪酸总量达95.09%,而热榨油为87.89%。亚麻酸是对紫苏油功能特性贡献最大的不饱和脂肪酸^[20],冷榨紫苏油甘油三酸酯中亚麻酸含量高达58.96%,显著高于热榨油甘油三酸酯中亚麻酸的含量53.14%。冷热榨紫苏油甘油三酸酯中不饱和脂肪酸含量也有很大差异,冷榨油甘油三酸酯中不饱和脂肪酸含量高达89.21%,而热榨油甘油三酸酯中不饱和脂肪酸含量为81.83%。冷榨紫苏油的品质远远高于热榨紫苏油。随着国内消费市场冷榨油脂产品的认知和对冷榨油脂产品的及副产品的深度开发^[2,21-25],冷榨紫苏油将比热榨紫苏油在紫苏油深加工领域具有更广泛的应用前景。

参考文献:

- [1] 简毓峰, 胡浩斌, 朱继华. 两种紫苏籽油理化性质及脂肪酸组成研究[J]. 中国食物与营养, 2011, 17(1): 64-66.
- [2] 胡颖, 蒋纬, 许倩, 等. 紫苏油微胶囊对夸克质构的影响[J]. 乳业科学与技术, 2013, 36(5): 16-20.
- [3] SARGI S C, SILVA B C, SANTOS H M C, et al. Antioxidant capacity and chemical composition in seeds rich in omega-3: chia, flax, and perilla[J]. Food Science and Technology, 2013, 33(3): 541-548.
- [4] CHAUHAN N, HAIDER S Z, SINGH S, et al. Popularization of perilla seed oil as a functional food source[J]. Current Sciences, 2013, 104(3): 284-285.
- [5] 李林开. 紫苏油冷榨与充氮保护加工技术研究[J]. 农业机械, 2013(12): 32-34.
- [6] 刘百战, 徐亮, 詹建波, 等. 云南烤烟中非挥发性有机酸及某些高级脂肪酸的分析[J]. 中国烟草科学, 1999(2): 28-31.
- [7] 余剑霞. 高效液相色谱法测定豉香型白酒中微量的高级脂肪酸[J]. 酿酒科技, 2006(6): 89-90.
- [8] 袁美娟, 薛文通. 高效液相色谱在分析油脂成分方面的应用[J]. 食品科技, 2012, 37(1): 260-263.
- [9] SALA VILA A, CASTELLOTE-BARGALLÓ A I, RODRÍGUEZ-PALMERO-SEUMA M, et al. High-performance liquid chromatography with evaporative light-scattering detection for the determination of phospholipid classes in human milk, infant formulas and phospholipid sources of long-chain polyunsaturated fatty acids[J]. Journal of Chromatography A, 2003, 1008(1): 73-80.
- [10] MARCATO B, PAGANETTO G, FERRARA G, et al. High-performance liquid chromatographic determination of some of the hydrolytic decomposition products of poly (α -hydroxyacid)s[J]. Journal of Chromatography B, 1996, 682(1): 147-156.
- [11] 林慧, 颜春荣, 徐春祥, 等. HPLC-ELSD法同时测定食品中的10种糖和糖醇[J]. 食品科学, 2013, 34(12): 286-291.
- [12] KIM N, CHOE E. Contribution of minor compounds to the singlet oxygen-related photooxidation of olive and perilla oil blend[J]. Food Science and Biotechnology, 2013, 22(2): 315-321.
- [13] 周拥军, 邵海燕, 陈杭君. 贮藏温度对栝楼籽油酸败的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(2): 237-240.
- [14] 王计平, 史华平, 李润植. 紫苏种子脂肪酸组成及合成代谢研究进展[J]. 生物技术通报, 2011(4): 31-34.
- [15] 陈新新, 王昌禄, 李凤娟, 等. 紫苏油中 α -亚麻酸的分离纯化[J]. 天津科技大学学报, 2012, 27(4): 17-20.
- [16] 于长青, 赵煜, 朱刚, 等. 紫苏油的营养和药用价值研究[J]. 中国食物与营养, 2007, 13(8): 47-48.
- [17] 陈亮, 王丽梅, 郭艳芬, 等. 核桃油、紫苏油、 α -亚麻酸、亚油酸对大鼠学习记忆的影响[J]. 中国油脂, 2011, 36(10): 33-37.
- [18] 王丽梅, 叶诚, 吴晨, 等. 紫苏油对衰老模型大鼠的抗衰老作用研究[J]. 食品科技, 2013, 38(1): 280-284.
- [19] 徐章化, 邵玉芬. α -亚麻酸对大鼠行为、视网膜及肝脑脂肪酸构成的影响[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(3): 301-304.
- [20] 徐春明, 刘金龙. β -环糊精包合法纯化紫苏籽油中的 α -亚麻酸[J]. 食品科学, 2012, 33(24): 132-136.
- [21] 田海娟, 张传智, 姚招娣. 紫苏油粕高水分组织化蛋白产品的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(13): 69-72.
- [22] 武振华, 王新宇, 薛林贵, 等. 碳离子束辐照对紫苏油品质和理化性质的影响[J]. 辐射研究与辐射工艺学报, 2013, 31(3): 1-6.
- [23] 陈琳, 李荣, 姜子涛. 微胶囊化方法对紫苏油包埋性能的比较研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(20): 176-180.
- [24] 石玮婷, 李荣, 姜子涛. 紫苏籽蛋白的提取及纯化研究[J]. 中国食品添加剂, 2013(4): 68-74.
- [25] TIAN Xiangnan, JIANG Zitao, LI Rong. Inclusion interactions and molecular microcapsule of *Salvia sclarea* L. essential oil with β -cyclodextrin derivatives[J]. European Food Research and Technology, 2008, 227(4): 1001-1007.