

15种食用植物油脂肪酸的气相色谱-质谱分析

杨春英, 刘学铭, 陈智毅

(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 广东省农产品加工公共实验室, 广东 广州 510610)

摘要: 建立了气相色谱-质谱联用法测定食用植物油中脂肪酸组成的方法。方法选用NaOH-甲醇溶液作为衍生试剂, 色谱柱为极性毛细管柱, 分流比为20:1, 对15种常见植物油中的脂肪酸组成进行了分析, 并用SPSS软件对植物油样品进行了系统聚类分析。结果表明, 植物油中的脂肪酸组成以棕榈酸($C_{16:0}$)、硬脂酸($C_{18:0}$)、油酸($C_{18:1}$)和亚油酸($C_{18:2}$)为主; 除椰子油外, 其余14种植物油中不饱和脂肪酸含量均达75%以上, 大于饱和脂肪酸含量。

关键词: 脂肪酸; 植物油; 气相色谱-质谱联用

Determination of Fatty Acid Profiles in Fifteen Kinds of Edible Vegetable Oil by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

YANG Chun-ying, LIU Xue-ming, CHEN Zhi-yi

(Sericulture & Agri-Food Research Institute, Guangdong Open Access Laboratory of Agricultural Product Processing, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510610, China)

Abstract: A gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method for rapid determination of fatty acids in vegetable oil was developed. The vegetable oil samples were derived by sodium hydroxide-methanol solution. The analysis was completed on a polar capillary column with split ratio of 20:1. The cluster analysis was applied for the classification of 15 vegetable oil samples through SPSS software. Results showed that major fatty acids were palmitic acid ($C_{16:0}$), stearic acid ($C_{18:0}$), oleic acid ($C_{18:1}$) and linoleic acid ($C_{18:2}$) and the content of unsaturated fatty acids in these edible oil samples was more than 75%, which was much higher than that of saturated fatty acids.

Key words: fatty acid profile; vegetable oil; gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)06-0211-04

随着现代营养学发展, 人们对饮食健康越来越重视, 食用植物油作为日常生活的必需品, 其营养价值和品质也日益受关注。植物油最主要的成分是脂肪酸, 脂肪酸的组成及配比很大程度上决定了植物油脂的营养价值^[1-3], 也是评定植物油的主要指标之一。

人体所必需的脂肪酸主要来源于植物油^[4-6]。根据其饱和度的不同, 可将脂肪酸分为饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。棕榈酸和硬脂酸属于饱和脂肪酸, 适量食用有利于脂肪代谢, 过量食用则会导致体内脂肪沉积^[7], 诱发高血脂和血管硬化等疾病。油酸属于单烯不饱和脂肪酸, 较易被人体吸收, 能减少高血脂发生, 抑制低密度脂蛋白的升高^[8]。亚油酸属于多烯类不饱和脂肪酸, 是人体不能合成而又必需的一种脂肪酸, 它具有缓解血液中过量的胆固醇、增强细胞膜透性、阻止心肌组织和动脉硬化^[9-10]等功能。

食用油种类很多, 但各种食用油的价格相差很大, 有些不法厂商为了谋求高额利润, 不惜牺牲消费者健康

和权益, 在食用油生产中进行掺杂使假^[11-14]。为了探讨食用油的品质特性, 本实验采用气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)法对15种食用植物油的脂肪酸组成进行了分析, 为食用植物油的品质鉴别提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

油茶籽油(金龙鱼)、花生油(金龙鱼)、葡萄籽油(枫叶)、椰子油(富豪榨油机构)、大豆油(金龙鱼)、菜籽油(金龙鱼)、玉米油(金龙鱼)、葵花籽油(金龙鱼)、橄榄油(鲁花)、花椒籽油(长康)、辣椒油(红味斋)、芥末油(嘉豪)、姜油(乡王)和大蒜油(乡王) 广州市购。

正己烷和甲醇为色谱纯, 其余试剂均为优级纯。

6890N/5975B气相色谱-质谱联用仪 美国安捷伦公司。

收稿日期: 2011-12-21

基金项目: 广东省中国科学院全面战略合作项目(2010B09031010); 广东省重大科技专项(2009A020101002)

作者简介: 杨春英(1982—), 女, 研究实习员, 硕士, 研究方向为食品质量与安全。E-mail: ychying@163.com

1.2 方法

1.2.1 分析条件

GC: 色谱柱: J&W DB-WAX毛细管色谱柱(30m×0.25mm, 0.25μm); 进样口温度: 250℃; 进样量: 1.0μL, 分流比为20:1; 载气: 高纯氮气, 流速为1.0mL/min; 程序升温: 初始温度180℃, 保持5min, 以3℃/min升温速率升至230℃, 保持15min。

MS: 电子电离(electron ionization, EI)离子源, 电子能量70eV; 离子源温度230℃; 四极杆温度150℃; 传输线温度280℃; 质量范围30~450u, 全扫描方式; 溶剂延迟3min。

1.2.2 样品甲酯化

准确称取0.5g植物油于10mL具塞玻璃试管中, 加入5.0mL 0.5mol/L氢氧化钠-甲醇溶液, 涡旋混合20s, 每5min摇匀一次, 室温下反应40min, 加入5.00mL正己烷, 摇匀, 静置分层, 取上层清液加入0.5g无水硫酸钠干燥, 用0.22μm过滤器过滤后供GC-MS分析。

2 结果与分析

2.1 定性和定量分析

脂肪酸的定性方法采用保留时间和质谱库检索(NIST 05a.L)方法, 样品质谱图与标准谱图对比, 相似度≥95%时确认为该种化合物。图1为花生油脂肪酸的总离子流图。结果表明, 选用的方法能实现植物油中各种脂肪酸的良好基线分离。定量分析参考GB/T 17377—2008《动植物油脂: 脂肪酸甲酯的气相色谱分析》, 采用面积归一化法, 依据峰面积计算每种脂肪酸相对百分含量。

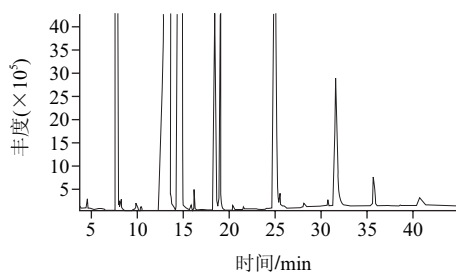


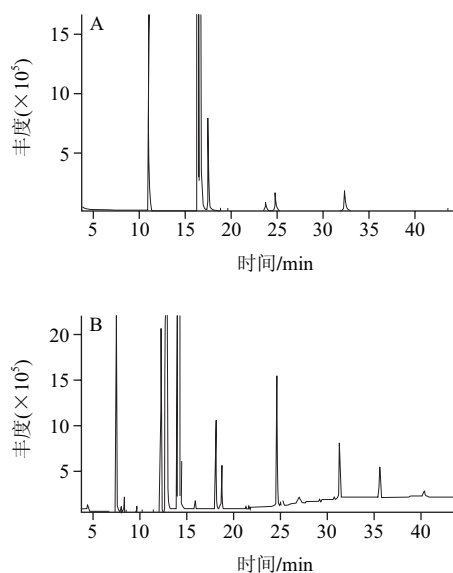
图1 花生油脂肪酸甲酯的总离子流图

Fig.1 Total ion chromatogram (TIC) of esterified fatty acids in peanut oil

2.2 色谱柱的选择

色谱分离中色谱柱是决定分离效果的最核心部件, 选择合适的色谱柱可显著改善分离度和分离效率。固定其他条件不变, 实验考察极性毛细管色谱柱(J&W DB-WAX)和非极性毛细管色谱柱(J&W DB-5MS UI)对脂肪酸分离的影响。图2为同一样品在不同色谱柱上的总离子流图。由图2可见, 极性色谱柱对植物油脂肪酸的分离效果

更好, 色谱峰对称性更强, 分离度和灵敏度大大提高, 故实验选用极性毛细管色谱柱。



A. J&W DB-5MS UI (30m×0.25mm, 0.25μm);
B. J&W DB-WAX(30m×0.25mm, 0.25μm)。

图2 样品在不同色谱柱上的保留行为

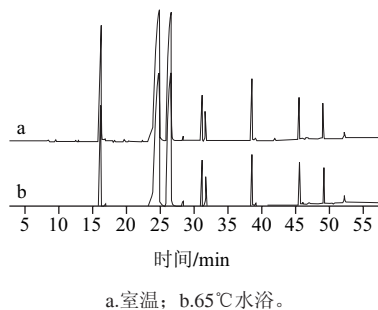
Fig.2 The retention behavior of the same sample in different capillary columns

2.3 甲酯化体系的选择

甲酯化反应的体系通常选BF₃-甲醇、浓硫酸-甲醇或碱-甲醇^[15], 由于BF₃-毒性较大, 故研究考察浓硫酸-甲醇溶液和NaOH-甲醇溶液对脂肪酸甲酯化的影响。研究发现NaOH-甲醇溶液甲酯化程度更完全, 得到脂肪酸组分更多, 灵敏度更高, 实验最终选用0.5mol/L NaOH-甲醇溶液。

2.4 反应温度影响

本研究设计了两组实验, 以相对含量最高的4种脂肪酸(C_{16:0}、C_{18:0}、C_{18:1}和C_{18:2})峰面积及所有组分总峰面积为评价标准, 考察了室温和水浴加热对脂肪酸甲酯化的影响, 结果见图3和表1。可见, 室温(约为25℃)与65℃水浴甲酯化40min没有明显区别, 与文献[16]报道一致。为了操作方便, 实验在室温下进行。



a. 室温; b. 65℃水浴。

图3 温度对甲酯化率的影响

Fig.3 Effect of temperature on methylesterification rate

表 1 温度对峰面积影响($n=3$)Table 1 Effect of temperature on peak area ($n=3$)

温度	C _{16:0}	C _{18:0}	C _{18:1}	C _{18:2}	总和
室温	3254465005	1066329614	11037183242	8837799776	52266445251
65℃	3219157080	1082147160	10982563310	8980466275	53022371225
RSD/%	0.77	1.04	0.35	1.13	1.02

2.5 精密度和稳定性实验

选取花生油为例子, 平行制取7份样品, 8h内完成测定, 以相对含量较高的C_{16:0}、C_{18:0}、C_{18:1}、C_{18:2}、C_{20:0}、C_{20:1}及C_{22:0}峰面积为代表, 计算相对标准偏差(RSD); 样品按照上述方法处理后, 4℃冰箱放置8、24、48、72h后, 进行GC-MS分析, 计算代表组分的峰面积变异系数, 结果见表2, 发现各脂肪酸的(RSD)均小于4%, 可见选取的方法重现性好, 适用于植物油中脂肪酸的分析研究; 甲酯化的样品在24h内稳定存在, 48h后变化显著, 故建议样品甲酯化后24h内尽快完成分析测定, 确保数据的准确性。

表 2 精密度和稳定性实验结果($n=7$)Table 2 Results of precision and stability tests ($n=7$)

脂肪酸	峰面积	RSD/%	变异系数/%			
			8h	24h	48h	72h
C _{16:0}	3254465000	2.16	1.46	4.27	7.13	13.38
C _{18:0}	1066329610	1.80	2.78	3.90	7.61	11.71
C _{18:1}	11037183240	3.05	2.27	4.72	8.02	12.63
C _{18:2}	8837799770	2.93	1.74	3.88	7.94	13.46
C _{20:0}	518223844	3.22	2.19	4.39	7.73	14.11
C _{20:1}	351994678	3.79	2.03	4.65	8.55	13.99
C _{22:0}	1117172976	2.61	1.87	3.98	8.78	12.37

2.6 实际样品测定及植物油脂脂肪酸组成特点

按照上述方法, 对15种植物油中的脂肪酸组成进行了分析研究, 总共检测出23种脂肪酸, 结果见表3。

从表3可知, 植物油中最主要脂肪酸的为棕榈酸(C_{16:0})、硬脂酸(C_{18:0})、油酸(C_{18:1})和亚油酸(C_{18:2}), 每种植物油均含有这4种脂肪酸, 其中以油酸和亚油酸两种不饱和脂肪酸含量居高。从饱和度分析, 除椰子油外, 其

表 3 植物油中脂肪酸相对含量和饱和度比较($n=3$)Table 3 Contents and saturation degrees of fatty acids in vegetable oil ($n=3$)

种类	油茶籽油	花生油	葡萄籽油	芝麻油	椰子油	大豆油	菜籽油	玉米油	葵花籽油	橄榄油	花椒油	辣椒油	芥末油	姜油	大蒜油
C _{12:0}	—	—	—	—	50.11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C _{13:0}	—	—	—	—	0.05	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C _{14:0}	0.05	0.03	0.05	0.02	14.22	0.09	0.05	0.04	—	—	0.09	0.09	—	0.05	0.05
C _{15:0}	—	—	—	—	0.03	0.02	0.02	—	—	—	0.02	0.02	—	—	—
C _{16:2}	—	—	—	—	—	—	0.06	—	—	—	—	0.01	—	—	—
C _{16:1}	0.15	0.09	0.15	0.18	0.05	0.14	0.24	0.17	—	0.73	0.14	0.12	—	0.23	0.20
C _{16:0}	9.79	12.11	8.90	10.00	15.57	15.32	5.03	14.12	7.83	11.48	11.97	12.65	13.70	13.59	14.41
C _{17:0}	0.11	0.07	0.09	0.08	0.02	0.16	0.05	0.08	—	0.17	0.11	0.11	—	0.14	0.10
C _{18:0}	2.59	3.97	5.18	6.75	5.23	5.16	2.32	2.31	4.37	4.37	5.86	4.74	4.79	2.19	2.51
C _{18:1}	74.19	41.07	16.72	40.12	11.04	25.44	60.91	32.48	32.56	75.21	28.14	27.21	30.41	32.23	31.35
C _{18:2}	11.11	32.88	67.77	40.67	3.02	47.15	20.10	48.64	54.81	5.99	44.79	47.02	50.66	47.43	47.85
C _{19:1}	—	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C _{18:3}	0.54	0.08	0.44	0.43	—	7.95	8.01	0.51	0.01	0.73	6.75	6.03	0.07	1.40	1.07
C _{20:3}	—	—	—	—	—	—	—	0.25	—	—	—	—	—	—	—
C _{20:0}	0.10	1.93	0.25	1.01	0.24	0.63	0.85	0.63	—	0.64	0.69	0.57	0.01	0.84	0.83
C _{20:1}	0.91	1.31	0.33	0.30	0.14	0.31	1.56	0.35	—	0.41	0.39	0.32	—	0.74	0.62
C _{20:2}	—	0.03	0.06	0.03	—	0.05	0.07	0.02	—	—	0.05	0.05	—	0.04	0.03
C _{21:1}	—	—	—	—	—	0.05	—	—	—	—	0.04	0.05	—	—	—
C _{22:0}	0.09	4.16	—	0.21	0.04	0.64	0.49	0.15	0.01	0.18	0.61	0.79	0.01	0.22	0.23
C _{22:2}	0.21	0.13	0.03	—	—	—	0.04	—	—	—	0.09	—	—	0.56	0.41
C _{23:0}	—	0.04	—	0.03	—	—	—	—	0.04	—	0.06	—	0.10	—	0.03
C _{24:0}	—	1.95	—	0.15	0.12	0.20	0.21	0.21	0.37	0.03	0.20	0.23	0.24	0.32	0.32
C _{26:0}	0.08	0.15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C _{26:1}	0.10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
SFA	12.80	24.40	14.47	18.25	85.63	22.21	9.01	17.56	12.62	16.87	19.61	19.19	18.85	17.36	18.47
MUFA	77.55	42.48	17.21	40.60	85.41	25.94	62.71	33.00	32.56	76.36	28.72	27.70	30.42	33.20	32.17
PUFA	9.66	33.12	68.29	41.13	3.02	55.15	28.28	49.42	54.82	6.72	51.67	53.11	50.73	49.43	49.36
UFA	87.20	75.60	85.50	81.73	15.47	81.09	90.99	82.43	87.38	83.08	80.39	80.81	81.15	82.63	81.53
SFA/UFA	1:6.81	1:3.10	1:5.91	1:4.48	1:0.18	1:3.65	1:10.10	1:4.69	1:6.93	1:4.93	1:4.10	1:4.21	1:4.30	1:4.76	1:4.41

注: —, 选定的实验条件下该种脂肪酸含量低于0.01%或者未检出; 饱和脂肪酸(SFA)等于C_{13:0}、C_{14:0}、C_{15:0}、C_{16:0}、C_{17:0}、C_{18:0}、C_{20:0}、C_{22:0}、C_{23:0}、C_{24:0}、C_{26:0}之和; 单不饱和脂肪酸(MUFA)等于C_{16:1}、C_{18:1}、C_{19:1}、C_{20:1}、C_{21:1}、C_{26:1}之和; 多不饱和脂肪酸(PUFA)等于C_{18:2}、C_{18:3}、C_{20:2}、C_{20:3}、C_{22:2}之和; 不饱和脂肪酸(UFA)等于MUFA与PUFA之和。

余植物油中的不饱和脂肪酸含量均达到75%以上。饱和脂肪酸以椰子油含量最高,其次为花生油和大豆油;单不饱和脂肪酸以橄榄油和油茶籽油含量最高,达75%以上,其次为菜籽油;多不饱和脂肪酸以葡萄籽油含量最高(68%),高于其他植物油13%以上。

从单一脂肪酸含量看,椰子油的棕榈酸含量最高,是其它植物油的2倍以上。橄榄油和油茶籽油中油酸含量最高(约75%),亚油酸含量最低(9%以下);反之,葡萄籽油中亚油酸含量最高,油酸含量最低。亚麻酸($C_{18:3}$)含量以大豆油和菜籽油居高,约8%;辣椒油和胡椒油中发现相对含量较高(约6%)的 $C_{18:3}$,从样品配料表可知,这两种食用油是由植物油和原料(辣椒/胡椒)调配成,故推断选用的配料可能是大豆油和菜籽油中的一种或两种;同样的,姜油和大蒜油中也可能含有大豆油或菜籽油。

2.7 聚类分析

以食用植物油中最主要的6种脂肪酸 $C_{14:0}$ 、 $C_{16:0}$ 、 $C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ 、 $C_{18:2}$ 及 $C_{18:3}$ 为变量、以平方欧氏距离为度量准则、以组间连接法(between-group linkage)为组群合并准则,用SPSS 19.0软件对15种植物油进行了系统聚类分析。结果见图4。

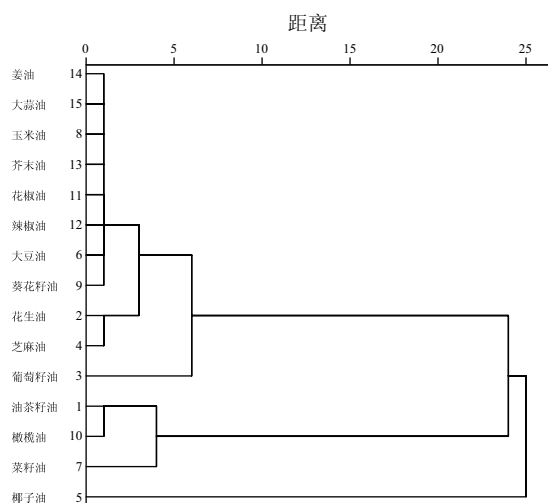


图4 植物油基于脂肪酸组成的聚类树状图

Fig.4 Dendrogram of fatty acid compositions in vegetable oil

图4表明:经过聚类分析及主成分分析之后,椰子油独为一类,其脂肪酸组成与其他植物油之间存在明显的差异;其余14种植物油可分为两大类:油茶籽油、橄榄油和菜籽油为第一大类,葡萄籽油等11种植物油为第二大类。说明组内植物油的脂肪酸组成具有相似性。其中第一大类又可以分为两大亚类,说明橄榄油与油茶籽油组成极为相似,与组内的菜籽油既有相似性又有所差别,第二大类中的葡萄籽油没有归为任何亚类中,说明其与所在大类中其他样本存在一定差异性。姜油、大蒜油、芥末油、花椒油和辣椒油均为调和油,其脂肪酸组

成与花生油、芝麻油等纯品植物油存在差异,故划分为同一类别,玉米油、大豆油和葵花籽油经聚类后与上述调和油划分为同一大类,说明组内成员之间有相似之处,分析其原因可能是调和油的配料组成不明确,选用的植物油可能是一种或多种。

3 结论

本研究对15种食用植物油中的脂肪酸进行了分析。通过简单的甲酯化处理和质谱定性,可以较准确地判断脂肪酸的种类和相对百分含量。植物油脂肪酸组成各具特点,研究结果为建立脂肪酸指纹图谱技术鉴评植物油品质提供了依据,同时也为油脂的营养评价和膳食的合理搭配提供了参考。

参考文献:

- [1] SIANG G H, MAKALEH A, SAAD B, et al. Hollow fiber liquid-phase microextraction coupled with gas chromatography-flame ionization detection for the profiling of fatty acids in vegetable oils[J]. Journal of Chromatography A, 2010, 1217(52): 8073-8078.
- [2] 黄忠平,郭伟强,王丽丽. 色谱指纹谱鉴定食用油品质[J]. 分析化学, 2009, 37(A02): 237.
- [3] NEVADO J J B, PEÑALVO G C, ROBLEDO V R, et al. New CE-ESI-MS analytical method for the separation, identification and quantification of seven phenolic acids including three isomer compounds in virgin olive oil[J]. Talanta, 2009, 79(5): 1238-1246.
- [4] 盛灵慧,黄峥,王晶. 气相色谱质谱法测定植物油中脂肪酸[J]. 化学分析计量, 2010(2): 35-38.
- [5] AZLAN A, PRASAD K N, KHOO H E, et al. Comparison of fatty acids, vitamin E and physicochemical properties of *Canarium odontophyllum* Miq. (dabai), olive and palm oils[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2010, 23(8): 772-776.
- [6] FOSTER R, WILLIAMSON C S, LUM J. Culinary oils and their health effects[J]. Nutrition Bulletin, 2009, 34(1): 4-47.
- [7] 孟丽苹,张坚,王春荣,等. 中国中老年居民膳食脂肪酸摄入状况分析[J]. 中国食物与营养, 2009(10): 58-61.
- [8] 张月红,刘英华,王颀,等. 中长链脂肪酸食用油降低超重高甘油三酯患者血脂和低密度脂蛋白胆固醇水平的研究[J]. 中国食品学报, 2010(2): 20-27.
- [9] 于海宁,单伟光, DAS U N, 等. 茶籽中脂肪酸的组成及其生物活性脂肪酸对高糖胁迫下RF/6A细胞生长的影响[J]. 茶叶科学, 2009(6): 419-425.
- [10] BORGES O P, CARVALHO J S, CORREIA P R, et al. Lipid and fatty acid profile of *Castanea sativa* Mill. Chestnut of 17 native Portuguese cultivars[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2007, 20(2): 80-89.
- [11] KHALID M A-I, ALIK A, RAFAT A, et al. Detection of olive adulteration with some plant oils by GLC analysis of sterols using polar column[J]. Food Chemistry, 2010, 121(4): 1255-1259.
- [12] SÁNCHEZ-HEMÁNDEZ L, MARINA M L, CREGO A L. A capillary electrophoresis-tandem mass spectrometry methodology for the determination of non-protein amino acids in vegetable oils as novel markers for the detection of adulterations in olive oils[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(30): 4944-4951.
- [13] TORRECILLA J S, GARCÍA J, GARCÍA S, et al. Application of lag- k autocorrelation coefficient and the TGA signals approach to detecting and quantifying adulterations of extra virgin olive oil with inferior edible oils[J]. Analytica Chimica Acta, 2011, 688(2): 140-145.
- [14] HU Lizhi, TOYODA K, IHARA I. Discrimination of olive oil adulterated with vegetable oils using dielectric spectroscopy[J]. Journal of Food Engineering, 2010, 96(2): 167-171.
- [15] 何小青,许德英,罗美中,等. 微波辅助衍生GC-MS测定脂肪酸及校正变换矩阵法用于食用植物油鉴别的研究[J]. 分析测试学报, 2005(1): 25-28.
- [16] 韩深,卢晓宇,邵瑞婷,等. GC-FID甲酯化法测定橄榄油中六种脂肪酸[J]. 分析实验室, 2007, 26(增刊1): 136-139.