



一步提取测定食品中的脂肪酸

黄菲菲, 赵嘉胤, 王建军, 陈景春

(农业部食品质量监督检验测试中心(上海), 上海 200436)

摘要:建立了一步提取测定食品中脂肪酸的检测方法。乙酰氯与甲醇反应得到的盐酸-甲醇使试样中的脂肪和游离脂肪酸甲酯化, 用甲苯提取后, 氢火焰离子化检测器检测。各脂肪酸甲酯标准溶液在 0.005~1mg/mL 范围内呈线性相关($r=0.999$); 在不同基质中各脂肪酸回收率为 82.1%~100%, 相对标准偏差 $RSD < 10\%$; 各脂肪酸检出限为 1mg/100g。一步提取测定脂肪酸操作方便、快速, 灵敏度高, 可满足食品中脂肪酸测定的要求。

关键词:脂肪酸, 气相色谱, 一步提取, 食品

Determination of fatty acids in foods by one-step extraction

HUANG Fei-fei, ZHAO Jia-yin, WANG Jian-jun, CHEN Jing-chun

(Food Quality Supervision and Testing Center of Ministry of Agriculture, Shanghai 200436, China)

Abstract: A method of one-step extraction determination of fatty acids in foods by gas chromatography (GC) was developed. Samples were esterified by hydrochloric acid-methanol, which was the reaction product of acetyl chloride and methanol. Extracting with toluene, contents of fatty acids were determined by GC with FID detector. The method had a good linear relativity ($r = 0.999$) between 0.005~1mg/mL. Recovery rate in different samples range from 82.1% to 100%, $RSD < 10\%$, with the LOD of 1mg/100g. With the advantages of easy-handling, fast and high sensitivity, one-step extraction method could meet the requirement of the determination of fatty acids in foods.

Key words: fatty acids; GC; one-step extraction; foods

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)02-0077-03

油脂是人体所需能量和必需脂肪酸的来源, 油脂的主要成分是饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸。其中, 饱和脂肪酸在总体上使血清胆固醇升高^[1]; 亚油酸、亚麻酸是人体必需脂肪酸; $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸在促进生长发育、改善脂类代谢、增强免疫力、防治心脑血管疾病、促进大脑正常生长以及视力形成过程中起着重要作用^[2-3]。目前, 脂肪酸的测定方法一般为提取油脂后, 经甲酯化后测定^[4-10]。张志国在对奶粉中 DHA 测定研究中发现, 这种甲酯化方法, 不仅操作较为繁琐、操作时间较长, 并且对于某些包埋型添加的 DHA 的提取会不完全, 影响测定结果^[11]。目前, 只有对乳制品中一步法测定脂肪酸的方法有所报道^[12-13], 适用于粮食制品、油类作物与食用油、糕点、蛋制品、保健品等多种含油脂食品中脂肪酸的测定的检测方法未见报道。本实验对一步提取测定食品中脂肪酸含量的方法进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

碳酸钠、乙酰氯、甲醇 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 甲苯 色谱纯, SIGMA 公司; 标准物质: 月桂酸甲酯 (C12:0)、肉豆蔻酸甲酯 (C14:0)、棕榈酸甲酯 (C16:0)、硬脂酸甲酯 (C18:0)、花生酸甲酯 (C20:0)、油酸甲酯 (C18:1n9c)、亚油酸甲酯

(C18:2n6c)、 γ -亚麻酸甲酯 (C18:3n6)、 α -亚麻酸甲酯 (C18:3n3)、花生四烯酸甲酯 ARA (C20:4n6)、二十碳五烯酸甲酯 EPA (C20:5n3)、二十二碳六烯酸甲酯 DHA (C22:6n3) 纯度 $\geq 99\%$, NU-CHEK PREP 公司; 实验用水 自制; 脂肪酸甲酯混合标准储备液 各脂肪酸甲酯含量为 1.0mg/mL, 贮存于 -18°C 冰箱中。

气相色谱仪 配有 FID 检测器, 美国 Varian 公司; 恒温水浴锅, 螺口玻璃管 (配聚四氟乙烯内垫) 上海安谱科学仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品准备 大豆油或黄油试样: 称取 0.1g (精确到 0.1mg) 置于 15mL 干燥螺口玻璃管中, 加入 5.0mL 甲苯。固体试样 (如奶粉、饼干、蛋粉、饲料、配方米粉、干酪、乳清粉、肉松等): 称取试样 0.5g (精确到 0.1mg) 置于 15mL 干燥螺口玻璃管中, 加入 5.0mL 甲苯。

1.2.2 甲酯化-提取 在试样中加入 10% 乙酰氯甲醇溶液 6.0mL, 充氮气后, 旋紧螺旋盖, 振荡混合, 固体试样于 80°C 水浴 2h (食用油或黄油试样水浴 20min), 期间每隔 20min 取出振荡一次, 水浴后取出冷却至室温。将反应后的样液转移至 50mL 离心管中, 用 3mL 碳酸钠溶液 (6%) 清洗玻璃管三次, 合并碳酸钠溶液置于 50mL 离心管中, 混匀, 5000r/min 离心 5min。取上层清液作为试液, 用于气相色谱测定。

1.2.3 色谱条件 色谱柱: SP-2560, 100m $\times$ 0.25mm,

收稿日期: 2011-01-17

作者简介: 黄菲菲 (1979-), 女, 硕士, 工程师, 主要从事食品检测工作。

0.20 μ m,或性能相当的色谱柱;载气:氮气;进样口温度:220 $^{\circ}$ C;分流比:30:1;检测器温度:260 $^{\circ}$ C;柱温箱温度:初始温度 140 $^{\circ}$ C,保持 5min,以 4 $^{\circ}$ C/min 升温至 240 $^{\circ}$ C,保持 15min;载气流速:1.0mL/min。

2 结果与分析

2.1 线性关系

将脂肪酸甲酯混合标准储备液用甲苯稀释配制,得到浓度为 0.005、0.01、0.02、0.05、0.2、0.4、1.0mg/mL 的标准系列。在规定的色谱条件下进行测定,得到系列标准溶液的气相色谱响应值与浓度的线性关系。结果表明,在 0.005~1.0mg/mL 范围内,各脂肪酸甲酯标准溶液系列具有良好的线性关系(各脂肪酸甲酯相关系数 $r=0.999$),标准溶液色谱图见图 1。

从图 1 中可以看出,混合标准溶液在既定色谱条件下能够得到完全分离,所有标准物质在 45min 内全部出峰。

2.2 准确度及精密度

选取奶粉、大豆油、饼干三类样品,按本方法确

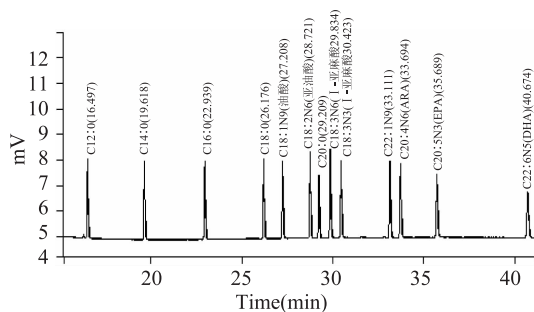


图 1 脂肪酸甲酯混合标准溶液图谱

Fig.1 Chromatogram of FAME standard solution

定的条件,进行 3 水平添加回收实验,每个水平进行六次平行测定,平均回收率与精密度(RSD)数据见表 1。

由表 1 可以看出,对奶粉、饼干、大豆油三类代表性样品,进行三水平的加标回收实验,奶粉中各脂肪酸回收率为 82.9%~99.9%;饼干中各脂肪酸回收率为 82.4%~100%;大豆油中各脂肪酸回收率为

表 1 不同样品中脂肪酸加标平均回收率及精密度(RSD)测定结果(n=6)

Table 1 Result of average recovery and RSD in different samples(% , n=6)

脂肪酸	添加量(mg)	奶粉样品			饼干		大豆油	
		回收率	RSD	回收率	RSD	回收率	RSD	
C12:0	水平 1	0.9601	94.5	1.1	98.1	1.7	96.1	5.9
	水平 2	1.9202	94.5	2.9	99.2	2.3	92.1	6.3
	水平 3	3.8404	98.0	2.1	96.3	2.5	93.6	2.4
C14:0	水平 1	0.985	93.3	1.4	92.6	5.1	92.3	1.4
	水平 2	1.97	93.8	3.1	91.6	1.9	92.6	2.6
	水平 3	3.94	96.8	1.9	94.3	2.6	91.4	7.8
C16:0	水平 1	0.9624	87.6	6.5	85.6	6.3	88.5	3.2
	水平 2	1.9249	83.4	9.7	84.2	8.9	87.6	1.0
	水平 3	3.8498	92.3	4.3	83.1	7.1	84.2	2.1
C18:0	水平 1	0.96415	93.9	0.8	86.2	6.2	82.3	5.2
	水平 2	1.9283	93.2	4.4	85.1	5.6	84.6	4.9
	水平 3	3.8566	98.3	2.1	85.9	5.1	88.2	6.1
C20:0	水平 1	0.76225	94.9	1.0	96.1	0.81	90.1	0.52
	水平 2	1.5245	95.2	3.7	98.1	1.6	90.2	0.85
	水平 3	3.049	99.9	2.2	92.7	0.88	84.6	2.1
油酸	水平 1	3.90244	99.2	2.0	82.9	8.1	84.3	1.9
	水平 2	9.7561	96.1	5.0	85.1	4.6	85.3	4.5
	水平 3	19.5122	99.7	1.6	85.6	3.9	84.6	6.3
亚油酸	水平 1	4.43556	91.2	3.0	82.4	3.2	82.1	4.9
	水平 2	11.0889	91.2	5.9	83.4	3.5	83.5	7.8
	水平 3	22.1778	96.6	1.5	84.6	3.9	82.9	2.2
γ-亚麻酸	水平 1	0.56362	92.3	1.0	95.1	1.9	85.6	3.6
	水平 2	1.12724	92.4	3.4	94.8	0.85	87.9	4.1
	水平 3	2.25448	95.0	1.7	93.1	1.9	89.6	4.5
α-亚麻酸	水平 1	0.50965	87.3	2.9	98.1	3.4	85.9	0.52
	水平 2	1.0193	82.9	1.8	94.7	1.4	84.7	1.2
	水平 3	2.0386	91.3	0.86	89.6	0.72	87.1	1.2
ARA	水平 1	1.10475	83.7	3.0	96.1	1.8	95.6	3.1
	水平 2	2.2095	90.1	1.7	98.4	1.8	94.6	1.6
	水平 3	4.419	93.2	1.1	100	1.3	93.7	2.0
EPA	水平 1	0.2608	91.6	1.7	94.6	0.95	92.1	1.6
	水平 2	0.5216	91.3	3.9	92.3	2.9	92.8	1.8
	水平 3	1.0432	95.0	1.5	97.1	2.7	93.1	5.6
DHA	水平 1	0.53902	93.8	5.8	92.8	3.1	89.5	1.3
	水平 2	1.07804	92.7	4.5	90.1	1.8	93.1	2.1
	水平 3	2.15608	95.4	3.5	87.6	2.7	88.9	1.6

表2 不同方法测定食品中脂肪酸结果比较
Table 2 Comparison of fatty acids content by different method

样品	方法	含量(mg/100g)					
		C16:0	C18:0	亚油酸	α-亚麻酸	ARA	DHA
奶粉	本法	3808	712	2990	153	41.7	21.0
	传统方法 ^[5]	3958	708	3055	159	35.2	20.4
	相对相差(%)	3.9	0.62	2.2	3.8	17	3.1
大豆油	本法	8720	3210	54600	5592	/	/
	传统方法 ^[7]	8620	3256	54012	5286	/	/
	相对相差(%)	1.2	1.4	1.1	5.6	/	/
饼干	本法	5850	587	1800	67.1	10.2	3.65
	传统方法 ^[6]	5721	565	1781	59.1	8.82	2.98
	相对相差(%)	2.2	3.8	1.1	13	15	20
小麦粉	本法	331	14.7	734	38.0	/	/
	传统方法 ^[6]	329	14.5	710	33.1	/	/
	相对相差(%)	0.61	1.4	3.3	14	/	/
肉松	本法	2810	1257	1556	76.7	51.4	355
	传统方法 ^[6]	2788	1237	1489	65.6	44.2	302
	相对相差(%)	0.79	1.6	4.4	16	15	16
蛋粉	本法	8775	3107	5802	242	521	136
	传统方法 ^[6]	8698	3085	5768	217	466	118
	相对相差(%)	0.88	0.71	0.59	11	11	14

82.1%~96.1%。不同基质中的回收率结果较好,其RSD < 10% 在允许范围以内,说明该方法测定脂肪酸具有较好的准确度和精密度。

2.3 检出限

当信噪比 S/N = 3, 取样量为 0.5g, 定容体积为 5mL 时, 各脂肪酸检出限为 1mg/100g。

2.4 本法与传统方法的比较

选取奶粉、大豆油、饼干、小麦粉、肉松、蛋粉等六类具有代表性样品, 分别用本法和传统方法^[5-7]测定, 选取 C16:0、C18:0、亚油酸、α-亚麻酸、ARA、DHA 为代表性脂肪酸, 方法比对测定结果见表 2。

从表 2 可以看出, 对于 C16:0、C18:0、亚油酸的测定, 本法与传统方法之间具有较好的匹配度, 测定结果的相对相差 < 5%; 对于 α-亚麻酸、ARA、DHA 多不饱和脂肪酸的测定, 由于本方法提取完全、甲酯化条件温和、回收率高, 本法测定 α-亚麻酸、ARA、DHA 的结果优于传统方法, 说明本方法更适合于多不饱和脂肪酸的测定。

3 结论

本法采用一步提取测定食品中的脂肪酸。与传统方法相比, 一步提取法具有良好的线性关系 (r = 0.999); 准确度和精密度高, 在不同基质中各脂肪酸回收率为 82.1%~100%, 相对标准偏差 RSD < 10%; 本方法提取完全, 适合于对多不饱和脂肪酸的测定; 前处理方便快捷, 时间大大缩短, 固体样品仅需 2h 即可完成脂肪提取及甲酯化, 适用于批量样品的测定。实验结果表明, 该方法适用于各类含油脂的食品, 是一种能够准确、快速测定食品中脂肪酸的分析方法。

参考文献

[1] 张根旺. 油脂的营养与健康[J]. 中国油脂, 2008, 33(5):

4-7.

[2] 洪雪娥, 高荫榆, 郑渊月. ω-3 多不饱和脂肪酸营养研究进展[J]. 食品科技, 2006(1): 35-37.

[3] 于昱, 袁纓. 多不饱和脂肪酸的营养研究[J]. 中国饲料, 2003(24): 21-23.

[4] 马文宏, 张燕, 薛刚, 等. 二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)、亚油酸、亚麻酸和花生四烯酸(AA)在婴幼儿配方奶粉中的测定[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(8): 142-144.

[5] GB/T 21676-2008 乳与乳制品脂肪酸的测定气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[6] GB/T 22223-2008 食品中总脂肪、饱和脂肪(酸)、不饱和脂肪(酸)的测定水解提取-气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[7] GB/T17377-2008 动植物油脂脂肪酸甲脂的气相色谱分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.

[8] 黄菲菲, 陈军, 何亚斌, 等. 禽蛋中 ω-3 系、ω-6 系多不饱和脂肪酸的研究[J]. 粮食与油脂, 2009(12): 21-22.

[9] 李金玉. GC-MS 测定无花果中脂肪酸组成[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(3): 119-121.

[10] 吴毅, 李晓东, 罗晓清, 等. 衍生化 GC-MS 同时测定鱼腥草药材中 9 种脂肪酸的含量[J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(7): 545-547.

[11] 张志国, 生庆海, 李朝旭, 等. 奶粉中 DHA 测定方法的探讨[J]. 食品与机械, 2005, 21(1): 58-60.

[12] 黄菲菲, 韩奕奕, 陈美莲. 乳与乳制品中脂肪酸测定方法的比较研究[J]. 乳业科学与技术, 2010(2): 63-65.

[13] Jonathan M Curtis, Natalie Berrigan, Prudence Dauphinee. The determination of n-3 fatty acid in food products containing microencapsulated fish oil using the one-step extraction method. part 1: measurement in the raw ingredient and dry powdered foods [J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85: 297-305.