

毛细管气相色谱内标法测定沙棘油中的脂肪酸

张凤枰¹ 索有瑞² 王洪伦² 赵先恩² 涂杰^{1,3} 张蓉健¹

(国家粮食储备局成都粮食储藏科学研究所¹, 成都 610031)

(中国科学院西北高原生物研究所², 西宁 810001)

(四川大学轻纺与食品学院³, 成都 610065)

摘要 建立了以十七烷酸甲酯为内标物,用毛细管气相色谱同时测定沙棘油中六种脂肪酸(棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸)的方法。样品经氢氧化钾-甲醇皂化、三氟化硼-甲醇酯化后使生成相应的脂肪酸甲酯,以DM-FFAP毛细管柱分离,火焰离子化检测器测定。用保留时间定性,内标法定量。结果表明,在所选择的色谱条件下,上述脂肪酸在10 min内获得较好的分离;六种脂肪酸的峰面积与其质量浓度有良好的线性关系,相关系数均大于0.9998;样品加标回收率($n=6$)为92.1%~101.4%;相对标准偏差为2.37%~4.19%;最低检出限为4.0 mg/L。该方法操作简便、快速、准确,适合批量样品的测定。

关键词 毛细管气相色谱 内标法 脂肪酸 沙棘油

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)是胡颓子科沙棘属的灌木或亚乔木,沙棘的果肉、种子、果皮、茎皮和叶子中都含有油,其油的含量受到沙棘生长环境和生长季节的影响,沙棘不同部位的油脂化学成分也不相同。沙棘油是由沙棘果实中借助不同方法制得的,通常所说的沙棘油是指种子油和果肉油而言。由于富含多种活性物质,沙棘油对增强细胞活力,促进新陈代谢具有十分显著的作用^[1]。沙棘油主要含有棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸等^[2-3]。近年来,国内对沙棘油的脂肪酸组分研究较多,大多采用气相色谱法或气相色谱-质谱联用,峰面积归一化法测定各种脂肪酸的相对含量,或对其中某种脂肪酸进行定量检测^[2-4],而对沙棘油中主要脂肪酸的同时定量检测,国内尚无此方面的公开报道。

在参考了文献[2-6]的基础上,采用三氟化硼-甲醇甲酯化,DM-FFAP毛细管色谱柱分离,内标法定量,进行了大量的研究和试验,同时测定沙棘油的六种主要脂肪酸,方法简单易操作,重复性、回收率均较好,实现了一次性完成多个指标的检测工作,从而提高了检测工作效率。

1 材料与方 法

收稿日期:2006-11-16

作者简介:张凤枰,男,1972年出生,工程师,色谱分析

1.1 仪器与材料

SHIMADZU GC-14B气相色谱仪,配备FD检测器(日本);N2000色谱工作站(浙江大学智能信息工程有限公司);AB204-E电子分析天平(瑞士METTLER TOLEDO)。

棕榈酸甲酯、棕榈油酸甲酯、十七烷酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯标准品,均为Sigma Fluka公司产品,纯度99%;棕榈酸(C16:0)、棕榈油酸(C16:1)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3)标准品,均为Sigma Fluka公司产品,纯度99%;正己烷、三氟化硼、甲醇、氢氧化钾、氯化钠均为分析纯,水为蒸馏水。

沙棘籽油 1、2、3、4、5、6、7号、沙棘果油 1、2、3、4号,由中科院西北高原生物研究所提供。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

1.2.1.1 脂肪酸甲酯标准溶液

准确称取适量棕榈酸甲酯、棕榈油酸甲酯、十七烷酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、亚麻酸甲酯标准品,用正己烷配制成浓度分别为50.0、20.0、5.0、6.0、50.0、50.0、40.0 mg/mL的混合储备液,充分摇匀备用。

1.2.1.2 十七烷酸甲酯内标溶液

准确称取适量十七烷酸甲酯标准品,用正己烷

配制成 5.0 mg/mL 溶液,充分摇匀备用。

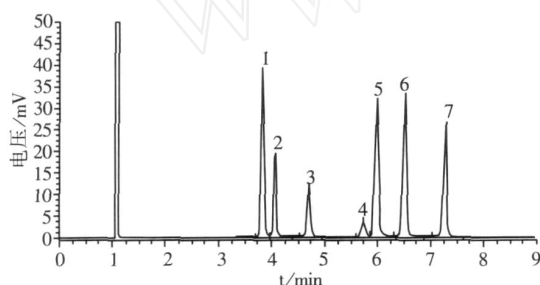
1.2.1.3 脂肪酸标准溶液

准确称取适量棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸标准品,用甲醇配成浓度分别为 20.0、2.0、5.0、50.0、90.0、50.0 mg/mL 的混合储备液,充分摇匀备用。

准确称取 5.0 mL 脂肪酸混合储备液于 25 mL 容量瓶中,用甲醇定容,配制成浓度分别为 4.0、0.5、1.0、10.0、18.0、10.0 mg/mL 的标准使用液,试验前配制。

1.2.2 色谱条件

色谱柱:DM-FFAP 石英毛细管柱,30 m × 0.32 mm i.d. × 0.25 μm;汽化室温度:250 °C;检测器温度:250 °C;色谱柱初始温度 200 °C,保持 2 min,以 5 °C/min 升至 230 °C,保持 2 min;载气:高纯氮;柱流速:2.0 mL/min;尾吹流速:40 mL/min;氢气流速:35 mL/min;空气流速:350 mL/min;分流比 50:1;进样量 1 μL。在上述色谱条件下,各脂肪酸甲酯出峰顺序和保留时间见图 1。



1-棕榈酸甲酯;2-棕榈油酸甲酯;3-内标十七烷酸甲酯;
4-硬脂酸甲酯;5-油酸甲酯;6-亚油酸甲酯;7-亚麻酸甲酯

图 1 混合标准品的色谱图

1.2.3 供试品溶液的制备

准确称取沙棘油样品 100 mg,置 10 mL 具塞试管中,加 0.5 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 2 mL,摇匀,充氮气,在 60 °C 水浴中放置 20 min,待油滴溶解,取出冷却至室温;加 15% 三氟化硼甲醇溶液 2 mL,摇匀,充氮气,在 60 °C 水浴放置 6 min,取出冷却至室温,准确加入 5.0 mg/mL 十七烷酸甲酯内标溶液 2.0 mL,振摇,加饱和氯化钠溶液 2 mL,静置,吸取上层清液至样品瓶待分析^[3,5]。

1.2.4 分析测定

按上述色谱条件,待基线稳定后,标样、供试品溶液分别等体积进样,进行气相色谱分析,以样品峰的保留时间与脂肪酸甲酯标准品的保留时间定性,按内标法计算各脂肪酸的含量。

2 结果与分析

2.1 色谱条件及内标物的选择

为了使沙棘油中的六种脂肪酸和内标物能够完全分离、准确定量,参考有关国家标准^[6],确定了上述色谱条件。

色谱内标物应与被测组分的相对分子质量和沸点相近、结构相似,且保留时间相近,但又能分开。试验选择十七烷酸甲酯为内标物,按照所选择的色谱条件、供试品不加内标物、加内标物的色谱图如图 2~图 3。

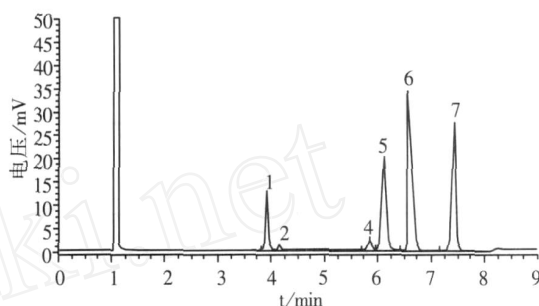
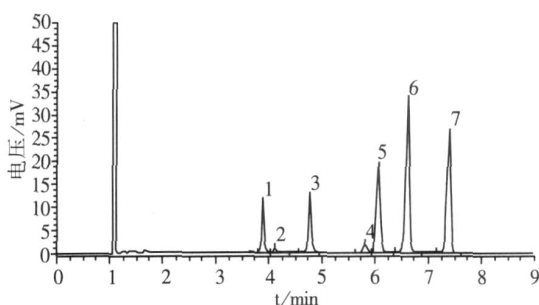


图 2 供试品未加内标物色谱图



1-棕榈酸甲酯;2-棕榈油酸甲酯;3-内标十七烷酸甲酯;
4-硬脂酸甲酯;5-油酸甲酯;6-亚油酸甲酯;7-亚麻酸甲酯

图 3 供试品加内标物色谱图

结果表明,待测成分及内标物分离效果良好,十七烷酸甲酯是较理想的内标物。

2.2 标准曲线与检出限

分别称取 0.25、0.50、1.0、1.5、2.0 mL 脂肪酸甲酯混合标准储备液(1.2.1.1),用 5.0 mg/mL 十七烷酸甲酯内标溶液(1.2.1.2)稀释至 5.0 mL,摇匀,在上述色谱条件下分析测定。以标准品与内标物的质量浓度比为横坐标(x),相对应的标准品与内标物峰面积比为纵坐标(y),进行线性回归,并根据信噪比 S/N=3,计算最低检测浓度,结果见表 1。试验结果表明,相关系数均在 0.999 8 以上,说明在测定的浓度范围内,FD 的响应与脂肪酸甲酯的质量浓度成线性相关。

表 1 线性测定结果

脂肪酸	线性范围 /mg/mL	回归方程	相关系数	检出限 /mg/L
棕榈酸	2.5~20.0	$y = -0.0071 + 1.0238x$	0.9999	4.0
棕榈烯酸	1.0~8.0	$y = -0.0074 + 1.0536x$	0.9998	4.0
硬脂酸	0.3~2.4	$y = 0.0010 + 1.0536x$	0.9998	4.0
油酸	2.5~20.0	$y = 0.0035 + 1.0741x$	0.9999	4.0
亚油酸	2.5~20.0	$y = 0.0067 + 1.0781x$	0.9999	4.0
亚麻酸	2.0~16.0	$y = -0.0026 + 1.0789x$	0.9999	4.0

表 2 精密度测定结果

脂肪酸	测定值 (g/100g)						平均值 (g/100g)	相对标准偏差 /%
	1	2	3	4	5	6		
棕榈酸	7.46	7.59	7.63	7.59	7.36	7.67	7.55	1.55
棕榈烯酸	0.87	0.83	0.92	0.86	0.84	0.89	0.87	3.81
硬脂酸	1.95	1.97	1.88	1.95	1.95	1.90	1.93	1.82
油酸	18.86	18.79	18.51	18.83	18.68	18.82	18.75	0.68
亚油酸	34.41	34.56	33.72	34.60	33.81	34.47	34.26	1.02
亚麻酸	23.32	23.74	22.86	23.46	22.75	23.45	23.26	1.64

表 3 回收率测定结果

脂肪酸	N _a	本底值 /mg	添加量 /mg	检出量 /mg	回收率 /%	平均回收率 /%	变异系数 /%
棕榈酸	1	3.82	3.2	6.92	96.9	98.6	2.37
	2	3.80	3.2	7.02	100.6		
	3	3.79	4.0	7.70	97.8		
	4	3.84	4.0	7.82	99.5		
	5	3.80	4.8	8.68	101.7		
	6	3.82	4.8	8.40	95.4		
棕榈烯酸	1	0.44	0.4	0.82	95.0	92.1	3.38
	2	0.44	0.4	0.80	90.0		
	3	0.44	0.5	0.89	90.0		
	4	0.44	0.5	0.92	96.0		
	5	0.44	0.6	1.00	93.3		
	6	0.44	0.6	0.97	88.3		
硬脂酸	1	0.98	0.8	1.76	97.5	97.5	3.76
	2	0.97	0.8	1.79	102.5		
	3	0.97	1.0	1.90	93.0		
	4	0.98	1.0	1.95	97.0		
	5	0.98	1.2	2.19	100.8		
	6	0.97	1.2	2.10	94.2		
油酸	1	9.49	8.0	17.22	96.6	101.4	3.57
	2	9.43	8.0	17.60	101.4		
	3	9.41	10.0	20.08	106.7		
	4	9.54	10.0	19.85	103.1		
	5	9.43	12.0	21.20	98.1		
	6	9.49	12.0	21.75	102.2		
亚油酸	1	17.34	14.4	31.25	96.6	100.2	2.78
	2	17.23	14.4	31.79	101.1		
	3	17.20	18.0	35.02	99.0		
	4	17.44	18.0	35.68	101.3		
	5	17.23	21.6	38.25	98.7		
	6	17.34	21.6	39.96	104.7		

(续表)

亚麻酸	1	11.77	8.0	19.56	97.4	95.8	4.19
	2	11.70	8.0	19.06	92.0		
	3	11.68	10.0	21.16	94.8		
	4	11.81	10.0	21.02	92.1		
	5	11.70	12.0	23.95	102.8		
	6	11.77	12.0	23.25	95.7		

表 4 样品测定结果

脂肪酸	测定值 /g/100 g										
	沙棘籽油					沙棘果油					
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4
棕榈酸	7.28	7.41	7.35	7.15	7.62	18.21	10.22	25.54	31.10	23.13	27.70
棕榈烯酸	0.86	0.82	0.83	0.76	0.67	14.87	3.96	22.38	24.04	22.00	24.86
硬脂酸	1.93	1.95	1.93	1.94	1.92	2.10	2.03	0.89	0.90	0.81	0.79
油酸	18.88	18.86	18.45	18.23	19.48	22.34	18.44	23.66	23.06	25.68	25.22
亚油酸	34.40	35.53	33.54	33.30	29.32	23.26	28.96	4.30	3.86	3.31	4.30
亚麻酸	23.60	23.22	22.65	22.56	22.95	3.70	18.86	1.15	1.15	1.59	2.05

2.3 精密度试验

称取沙棘籽油 1 号样品 6 份,按上述条件及方法分析测定,测定结果、平均值及相对标准偏差见表 2。结果表明,被测定脂肪酸的相对标准偏差均小于 4.0%,方法重现性好。

2.4 回收率试验

称取沙棘籽油 1 号样品 6 份,每份 50 mg,置 10 mL 具塞试管中,每 2 份分别准确加入 0.8、1.0、1.2 mL 的脂肪酸混合标准使用液(1.2.1.3),充分混匀,以下按 1.2.4、1.2.5 测定各脂肪酸含量,计算回收率,结果见表 3。

试验结果表明,在所选择的方法和条件下,回收率符合试验要求。

2.5 含量测定

按上述方法,分别测定 7 批沙棘籽油、4 批沙棘果油样品,结果见表 4。

3 结论

结果表明,本方法采用 DM-FFAP 毛细管柱分离脂肪酸甲酯,分离效果较好,样品皂化、甲酯化简单易操作,用内标十七烷酸甲酯定量准确,重现性好,可同时测定沙棘油中的六种脂肪酸,为沙棘油资源的开发利用提供了参考。

参 考 文 献

- [1] 忻耀年,周伯川,李静.沙棘油组份的 GC/HPLC 研究[J].中国油脂,1995,20(1):40-43
- [2] 忻耀年,项东方.沙棘油的气相色谱分析及制油工艺研究[J].沙棘,1995,8(1):27-32
- [3] 谷锐,张芝,赖先荣,等. GC-MS 分析沙棘果油脂脂肪酸组成及其亚油酸含量测定[J].成都中医药大学学报,2005,28(4):49-52
- [4] 陈友地,姜紫荣,秦文龙,等.沙棘果及其油脂的化学组成和性质研究[J].林产化学与工业,1990,10(3):163-165
- [5] 应珊红,李歆,郝希成. GB/T17376-1998 动植物油脂-脂肪酸甲酯制备[S]
- [6] 李歆,应珊红,郝希成. GB/T17377-1998 动植物油脂-脂肪酸甲酯的气相色谱分析[S].

Determination of Fatty Acids in Sea-buckthorn Oil with Capillary Gas Chromatography by Using Internal Standard Method

Zhang Fengping¹ Suo Yourui² Wang Honglun² Zhao xianen²

Tu Jie^{1,3} Zhang Rongjian¹

(Chengdu Grain Storage Research Institute, State Administration of Grain Reserves¹, Chengdu 610031)

(Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences², Xining 810001)

(College of Light Industry & Textile & Food Engineering of Sichuan University³, Chengdu 610065)

Abstract A capillary gas chromatographic method for the simultaneous determination of six fatty acids (palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid and linolenic acid) in sea-buckthorn oil was developed and heptadecanoic acid methyl ester was selected as the internal standard substance. The developed procedure is as follows: The sample is firstly saponified with KOH - CH₃OH and then the fatty acids are methylated with BF₃ - CH₃OH, and the obtained fatty acid methyl esters are detected by gas chromatography using a DM - FFAP capillary column and a flame ionization detector. The retention time of the peak is applied for qualitative analysis, and the internal standard method is used for quantitative analysis. The six fatty acid esters are well separated through DM - FFAP capillary column (30m \times 0.32mm i.d. \times 0.25 μ m) within 10 min. The recoveries for the spiked standards and the relative standard deviations are 92.1% ~ 101.4% and 2.37% ~ 4.19%, respectively. The detection limit (s/n=3) is 4.0 mg/L. The method is simple, fast and accurate for the fatty acid determination of batches of sample.

Key words capillary gas chromatography, internal standard method, fatty acids, sea-buckthorn oil

(上接第 197页)

Abstract The texture changes of soft cookie after baking were analyzed by the method of texture profile analysis (TPA). Results show that with storage time extending, the moisture content and water activity of the soft cookie decrease and the hardness, adhesiveness, and chewiness increase quickly, while its springiness, cohesiveness, and resilience decline. The correlation analysis among these parameters indicates that the hardness and cohesiveness are the major parameters of texture evaluation to soft cookies that would be helpful for the quality improvement of soft cookie.

Key words soft cookie, texture profile analysis (TPA), texture, correlation