

检测分析

橄榄油中脂肪酸烷基酯含量测定

侯靖¹, 刘梦婷¹, 江小明¹, 杨永¹, 金玉言², 何东平², 卢跃鹏¹

(1. 武汉食品化妆品检验所, 武汉 430012; 2. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023)

摘要:采用商品化固相萃取柱净化, 气相色谱-质谱联用法检测, 建立了一种前处理简单快捷的橄榄油中脂肪酸烷基酯含量测定方法。该方法测定橄榄油中 8 种脂肪酸烷基酯的检出限均为 1.0 mg/kg, 加标回收率为 99.05% ~ 111.13%, 相对标准偏差为 0.50% ~ 6.70%。方法重复性好, 准确度高。通过测定橄榄油中脂肪酸烷基酯的含量, 可以帮助区分橄榄油品质, 为特级初榨橄榄油掺伪的鉴别提供技术支持。

关键词:特级初榨橄榄油; 掺伪鉴别; 脂肪酸烷基酯; 气相色谱-质谱联用

中图分类号: TS225.1; TS227 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)01-0140-04

Determination of fatty acid alkyl esters in olive oil

HOU Jing¹, LIU Mengting¹, JIANG Xiaoming¹, YANG Yong¹,
JIN Yuyan², HE Dongping², LU Yuepeng¹

(1. Wuhan Institute for Food and Cosmetic Control, Wuhan 430012, China;

2. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: A simple method was established to detect the fatty acid alkyl esters (FAAEs) in olive oil using the commercial silica gel solid phase extraction column to purify the olive oil, and gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) as the detector. The FAAEs were well separated and detected. The detection limits were 1.0 mg/kg, and the average recoveries were in the range of 99.05% - 111.13% with the relative standard deviations (RSDs) in the range of 0.50% - 6.70%. This method could be used for the determination of different grades of olive oils, and provide technical support for the identification of adulteration of extra virgin olive oil.

Key words: extra virgin olive oil; adulteration identification; fatty acid alkyl esters (FAAEs); gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS)

橄榄油具有独特的营养价值和保健功效^[1], 被越来越多的人所接受, 中国橄榄油消费增长潜力巨大^[2]。

国家标准 GB 23347—2009、国际橄榄油协会标准 COL/T. 15/NC No 3/Rev. 11 和国际食品法典 CODEX STAN 33—1981 等均对橄榄油进行了严格的等级划分。橄榄油主要分为初榨橄榄油和精炼橄榄油, 初榨橄榄油要求采用机械压榨等物理方式直

接从油橄榄果实中榨取油脂, 根据油脂的质量可分为多个等级, 其中特级初榨橄榄油品质要求最为严格。对于质量不符合要求的初榨橄榄油, 可以通过精炼的方式得到精炼橄榄油。

因为橄榄油特别是特级初榨橄榄油价格昂贵, 有些不法分子通过掺假、以次充好等欺骗行为获取高额利益。报道^[3]指出, 使用低等级橄榄油冒充高等级橄榄油的情况可能非常普遍。对于橄榄油中掺入其他种类油脂的研究较多, 黄飞等^[4]利用气相色谱质谱仪测定脂肪酸组成, 结合化学计量学判断橄榄油是否掺假; Zou 等^[5]报道了利用拉曼光谱判断橄榄油是否掺假的方法; Roca 等^[6]通过检测橄榄油中叶绿素铜衍生物, 判断橄榄油是否掺假。不同质

收稿日期: 2017-09-27; 修回日期: 2017-11-13

作者简介: 侯靖 (1989), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测 (E-mail) houjsep@163.com。

通信作者: 卢跃鹏, 高级工程师, 硕士 (E-mail) 3788035@qq.com。

量的橄榄油通过感官评定被分为不同的等级,适当的精炼技术可以除去低等级橄榄油的不良气味,从而导致低质量橄榄油被精炼后冒充特级初榨橄榄油进行销售。脂肪酸烷基酯(FAAEs)是游离脂肪酸与橄榄果发酵产生的低级醇类物质反应产生的,主要有脂肪酸甲酯(FAMEs)和脂肪酸乙酯(FAEEs)。Pérez-Camino等^[7]对不同等级橄榄油中脂肪酸烷基酯含量进行研究,发现15个西班牙受保护的原产地特级初榨橄榄油中,脂肪酸烷基酯的含量均低于40 mg/kg,脂肪酸乙酯与脂肪酸甲酯含量的平均比值为1.0;而低质量的橄榄灯油中脂肪酸烷基酯的含量高于70 mg/kg,脂肪酸乙酯与脂肪酸甲酯含量的平均比值大于5.0。另外,文章还报道了使用氮气下98℃的低温软精炼工艺对高脂肪酸烷基酯含量的橄榄油处理2 h,其脂肪酸烷基酯含量并没有减少。Gómezcoca等^[8]研究了橄榄油感官分类与脂肪酸烷基酯含量之间的关系,发现有发酵缺陷的橄榄油中脂肪酸烷基酯的含量较高;经过温和和精炼的有发酵缺陷的橄榄油也可通过检测脂肪酸烷基酯含量被发现。国际橄榄油协会标准COI/T.15/NC No 3/Rev.11规定特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量不得超过35 mg/kg。而欧盟标准(EU)No 1348/2013规定2015年后生产的特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量不得超过30 mg/kg。

橄榄油中脂肪酸烷基酯的检测方法主要有国际橄榄油协会的COI/T.20/Doc.No 31,采用硅胶层析柱净化,气相色谱法测定,该方法需要自己填装层析柱,操作较麻烦,不便于大批量处理样品。直接进样气相色谱-质谱法^[9]和时域反射法(TDR)^[10]也被用于测定橄榄油中脂肪酸烷基酯含量,这些方法需要使用特殊的仪器,不便于方法的普及。本文报道一种采用商品化硅胶固相萃取柱净化,气相色谱-质谱分析的方法测定橄榄油中脂肪酸烷基酯含量,该方法操作简便,且具有较高的灵敏度与准确性。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要原料、试剂

特级初榨橄榄油、低芥酸菜籽油,均购置于武汉市场。正己烷(色谱纯,德国Merck公司);甲苯(色谱纯,德国Merck公司);无水乙醚(分析纯,国药试剂);标准物质:十六烷酸甲酯(纯度>99%,ANPEL);十七烷酸甲酯(纯度>99%,ANPEL);十八烷酸甲酯(纯度>99%,ANPEL);十八碳烯酸甲酯(纯度>99%,Nu-Chek);十八碳二烯酸甲酯(纯度>

99%,Nu-Chek);十六烷酸乙酯(纯度>99%,ANPEL);十八烷酸乙酯(纯度>99%,ANPEL);十八碳烯酸乙酯(纯度>99%,ANPEL);十八碳二烯酸乙酯(纯度>99%,ANPEL)。

1.1.2 主要仪器、设备

7890B-5977A气相色谱-质谱联用仪(美国Agilent公司),Vortex-Genie 2涡旋混匀器(美国Scientific Industries公司),N-EVAP111氮气浓缩仪(美国Organomation Associates Inc.公司),硅胶固相萃取柱(1000 mg,CNW)。

1.2 实验方法

1.2.1 标准溶液配制

1.2.1.1 脂肪酸烷基酯标准储备液的配制

分别精密称取十六烷酸甲酯、十八烷酸甲酯、十八碳烯酸甲酯、十八碳二烯酸甲酯、十六烷酸乙酯、十八烷酸乙酯、十八碳烯酸乙酯、十八碳二烯酸乙酯各10 mg,分别置于10 mL容量瓶中,用正己烷溶解并稀释至刻度,制成质量浓度为1 mg/mL标准储备液。

1.2.1.2 脂肪酸烷基酯混合中间溶液的配制

分别精密量取1.2.1.1的8种脂肪酸烷基酯标准储备液各1 mL,置于同一100 mL容量瓶中,用正己烷稀释至刻度,摇匀,制成10 μg/mL的标准中间溶液。

1.2.1.3 十七烷酸甲酯内标储备液的配制

精密称取十七烷酸甲酯10 mg,置于10 mL容量瓶中,用正己烷溶解并稀释至刻度,制成1 mg/mL内标储备液。

1.2.1.4 十七烷酸甲酯内标中间溶液的配制

精密量取1.2.1.3的十七烷酸甲酯内标储备液1 mL,置于100 mL容量瓶中,用正己烷稀释至刻度,摇匀,制成10 μg/mL的内标中间溶液。

1.2.2 样品前处理

称取0.1 g油脂样品于10 mL离心管中,加入100 μL十七烷酸甲酯内标中间溶液作为内标,再加入1 mL正己烷,涡旋使样品充分溶解。硅胶固相萃取柱使用6 mL正己烷淋洗,弃去淋洗液。将溶解后的样品加入固相萃取柱中,加入洗脱溶剂进行洗脱。收集流出液,氮气下缓慢吹至近干,加入1 mL正己烷复溶,进行气相色谱-质谱分析。

1.2.3 气相色谱-质谱分析条件

GC条件:DB-5MS色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度300℃;载气为高纯氮气(纯度>99.999%),流速1.0 mL/min;升温程序为100℃保持1 min,以20℃/min升至200℃,再以

5℃/min 升至 240℃, 保持 1 min, 最后以 20℃/min 升至 300℃, 保持 2 min; 传输线温度 300℃; 进样方式为不分流进样, 进样量 1 μL。

MS 条件: 电离方式为电子轰击源 (EI); 电离能量 70 eV; 离子源温度 250℃; 溶剂延迟时间 8 min; 监测方式为选择离子监测 (SIM), 各化合物定量及定性离子信息见表 1。

表 1 各化合物定量及定性离子

化合物	定量离子 (<i>m/z</i>)	定性离子 (<i>m/z</i>)
十六烷酸甲酯 (C16:0 甲酯)	74	87, 143, 270
十六烷酸乙酯 (C16:0 乙酯)	88	101, 241, 284
十七烷酸甲酯 (C17:0 甲酯)	74	87, 143, 284
十八碳二烯酸甲酯 (C18:2 甲酯)	67	109, 263, 294
十八碳烯酸甲酯 (C18:1 甲酯)	74	222, 264, 296
十八烷酸甲酯 (C18:0 甲酯)	74	87, 255, 298
十八碳二烯酸乙酯 (C18:2 乙酯)	67	109, 263, 308
十八碳烯酸乙酯 (C18:1 乙酯)	88	222, 264, 310
十八烷酸乙酯 (C18:0 乙酯)	88	101, 269, 312

2 结果与讨论

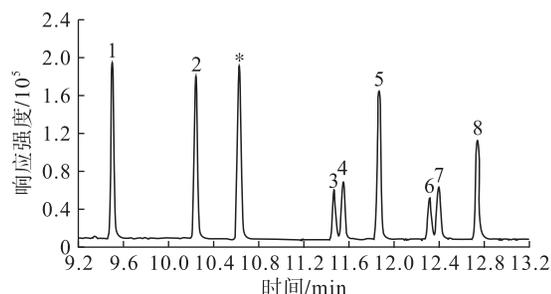
2.1 洗脱溶剂的选择

因橄榄油均含有一定量的脂肪酸烷基酯, 故在本实验中选择与橄榄油脂肪酸组成较为接近的低芥酸菜籽油作为空白样品。称取 0.1 g 空白样品, 加入 100 μL 脂肪酸烷基酯混合中间溶液制备加标样品, 按 1.2.2 步骤操作, 选择正己烷、正己烷-乙醚 (体积比 99:1) 及正己烷-甲苯 (体积比 85:15) 作为洗脱溶剂进行洗脱实验。分别收集 0~10 mL、10~20 mL、20~30 mL 的洗脱液, 浓缩定容至 1 mL 后测定脂肪酸烷基酯含量, 判断其是否完全洗脱。结果表明正己烷需大于 20 mL 的洗脱体积才能使脂肪酸烷基酯完全洗脱, 正己烷-乙醚及正己烷-甲

苯只需 10 mL 洗脱体积就可完全洗脱。但是正己烷-甲苯洗脱液吹至近干后有较多的油状物, 说明可能有部分甘油三酯被洗脱, 故最终选择 10 mL 正己烷-乙醚 (体积比 99:1) 作为洗脱溶剂。

2.2 色谱分离情况

称取 0.1 g 空白样品, 加入 100 μL 脂肪酸烷基酯混合中间溶液制备加标样品, 经处理后按 1.2.3 条件进行检测, 得到如图 1 所示的脂肪酸烷基酯总离子流图。由图 1 可见, 8 种脂肪酸烷基酯及内标物十七烷酸甲酯可以很好的分离。



注: 1.C16:0 甲酯; 2.C16:0 乙酯; *.C17:0 甲酯; 3.C18:2 甲酯; 4.C18:1 甲酯; 5.C18:0 甲酯; 6.C18:2 乙酯; 7.C18:1 乙酯; 8.C18:0 乙酯。

图 1 脂肪酸烷基酯总离子流图

2.3 方法验证

2.3.1 检出限与线性范围

称取 0.1 g 空白样品, 加入 10 μL 脂肪酸烷基酯混合中间溶液, 制成 1.0 mg/kg 的加标样品, 经处理后按 1.2.3 条件进行检测, 以 3 倍信噪比计算检出限。以质量浓度 (*x*) 为横坐标, 峰面积 (*y*) 为纵坐标, 得到回归方程, 具体见表 2。由表 2 可知, 8 种脂肪酸烷基酯在 0.1~8.0 μg/mL 范围内, 具有很好的线性关系。8 种脂肪酸烷基酯的检出限均为 1.0 mg/kg。

表 2 8 种脂肪酸烷基酯的检出限、线性范围与回归方程

化合物	检出限/(mg/kg)	线性范围/(μg/mL)	回归方程
C16:0 甲酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.9911x + 0.0210, R^2 = 0.999$
C16:0 乙酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.9825x + 0.0268, R^2 = 0.999$
C18:2 甲酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.3975x - 0.0185, R^2 = 0.999$
C18:1 甲酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.2004x - 0.0002, R^2 = 0.999$
C18:0 甲酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.9358x + 0.0189, R^2 = 0.999$
C18:2 乙酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.3378x - 0.0147, R^2 = 0.999$
C18:1 乙酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.1968x - 0.0011, R^2 = 0.999$
C18:0 乙酯	1.0	0.1~8.0	$y = 0.7632x + 0.0031, R^2 = 0.999$

2.3.2 回收率与精密度

称取 0.1 g 空白样品, 分别加入 50、100、200 μL 脂肪酸烷基酯混合中间溶液, 制成 5.0、10、20 mg/kg 3 个质量浓度的加标样品, 每个质量浓度 5 个样品,

经处理后采用 1.2.3 条件进行检测, 计算 8 种脂肪酸烷基酯的回收率和相对标准偏差 (*RSD*), 结果见表 3。

由表 3 可知, 8 种脂肪酸烷基酯的回收率在 99.05%~111.13%, *RSD* 在 0.50%~6.70%。

表3 8种脂肪酸烷基酯的回收率与精密度($n=5$)

化合物	5.0 mg/kg 加标样品		10 mg/kg 加标样品		20 mg/kg 加标样品	
	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
C16:0 甲酯	102.76	4.39	111.13	6.38	109.52	5.46
C16:0 乙酯	101.36	0.50	104.90	1.04	104.59	0.56
C18:2 甲酯	99.90	3.15	104.72	2.44	106.84	3.64
C18:1 甲酯	106.64	5.11	106.68	6.70	108.60	4.96
C18:0 甲酯	101.17	2.10	105.49	1.54	105.35	1.94
C18:2 乙酯	99.80	1.36	101.87	1.33	103.73	1.28
C18:1 乙酯	99.05	4.24	102.85	1.92	103.08	1.32
C18:0 乙酯	99.39	0.89	102.52	0.63	102.76	0.89

2.4 实际样品测定

随机在市场购买5份特级初榨橄榄油样品,经

处理后采用1.2.3条件进行检测,每份样品做平行样,测定结果以两次测定平均值表示,结果见表4。

表4 市售特级初榨橄榄油中脂肪酸烷基酯含量

样品	含量/(mg/kg)									FAEEs与FAMEs含量比值		
	C16:0 甲酯	C16:0 乙酯	C18:2 甲酯	C18:1 甲酯	C18:0 甲酯	C18:2 乙酯	C18:1 乙酯	C18:0 乙酯	FAMEs	FAEEs	FAAEs	FAEEs与 FAMEs 含量比值
样品1	2.56	1.40	1.42	7.72	ND	1.83	7.97	ND	11.70	11.20	22.90	0.96
样品2	3.01	2.95	1.73	9.06	ND	2.55	14.25	1.53	13.80	21.28	35.08	1.54
样品3	3.79	2.18	2.24	11.17	ND	1.98	9.57	ND	17.20	13.73	30.93	0.80
样品4	1.48	0.65	1.27	2.43	ND	2.08	7.31	ND	5.18	10.04	15.22	1.93
样品5	4.15	6.11	2.30	15.69	1.06	4.06	31.97	2.26	23.20	44.40	67.60	1.91

注:ND表示未检出。

由表4可以看出,不同橄榄油中脂肪酸烷基酯总量、FAEEs与FAMEs含量比值差异较大,5份特级初榨橄榄油中有1份脂肪酸乙酯含量超出了欧盟标准与国际橄榄油协会标准。相同样品中十八碳烯酸甲酯与十八碳烯酸乙酯含量较高,这与橄榄油脂肪酸组成特点相符。

3 结论

采用商品化固相萃取柱净化,结合气相色谱-质谱联用法检测,建立了一种前处理简单快捷的橄榄油中脂肪酸烷基酯含量测定方法。该方法测定橄榄油中8种脂肪酸烷基酯的检出限均为1.0 mg/kg,加标回收率在99.05%~111.13%,相对标准偏差为0.50%~6.70%。实验验证表明,该方法重复性好,准确度高。通过测定橄榄油中脂肪酸烷基酯的含量,可以帮助区分橄榄油品质,也可以用于特级初榨橄榄油掺伪行为的鉴别,为市场监管提供技术保障。

参考文献:

- [1] 郭长江. 橄榄油营养成分及其保健作用[J]. 中国食物与营养, 2002(6):48-49.
- [2] 吴学君, 汤婷. 世界橄榄油的生产及贸易动向分析[J]. 中国油脂, 2015, 40(12):1-6.
- [3] SHAWN A, JEFF C. 特级初榨橄榄油复杂的国际市场现状[J]. 食品安全导刊, 2016(5):58-59.

- [4] 黄飞, 奉夏平, 唐丽娜, 等. 橄榄油掺伪的气相色谱质谱鉴别方法研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(18):54-58.
- [5] ZOU M Q, ZHANG X F, QI X H, et al. Rapid authentication of olive oil adulteration by Raman spectrometry[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(14):6001-6005.
- [6] ROCA M, GALLARDOGUERRERO L, MÍNGUEZMOSQUERA M I, et al. Control of olive oil adulteration with copper-chlorophyll derivatives[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(1):51-56.
- [7] PÉREZ-CAMINO M C, CERT A, ROMERO-SEGURA A, et al. Alkyl esters of fatty acids a useful tool to detect soft deodorized olive oils[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(15):6740-6744.
- [8] GÓMEZCOCA R B, MOREDA W, PÉREZCAMINO M C. Fatty acid alkyl esters presence in olive oil vs. organoleptic assessment[J]. Food Chem, 2012, 135(3):1205-1209.
- [9] BOGGIA R, BORGOGNI C, HYSENAJ V, et al. Direct GC-(EI)MS determination of fatty acid alkyl esters in olive oils[J]. Talanta, 2014, 119:60-67.
- [10] BERARDINELLI A, RAGNI L, BENDINI A, et al. Rapid screening of fatty acid alkyl esters in olive oils by time domain reflectometry[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(46):10919-10924.