

# 气相色谱技术测定棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸含量

贾怡文<sup>1</sup>, 陈小威<sup>1</sup>, 孙尚德<sup>1</sup>, 毕艳兰<sup>1</sup>, 崔胜成<sup>2</sup>

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 新疆泰昆集团股份有限公司, 新疆 昌吉 831100)

**摘要:**为了解决棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸分析测定的技术难题,通过比较脂肪酸衍生化方法、优化气相色谱条件建立了气相色谱技术(GC)测定棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸(锦葵酸和苈婆酸)含量的方法。结果表明:碱式甲酯化对环丙烯脂肪酸的衍生化效果最佳;优化的GC条件为DB-1ht毛细管柱,氮气流速0.6 mL/min,升温程序为从100℃以2℃/min的速度上升到220℃。在此基础上,通过建立苈婆酸与锦葵酸回归方程( $R^2 \geq 0.997$ )测得棉籽、棉籽饼和棉籽粕中的锦葵酸含量分别为2.62、0.68 mg/g和0.09 mg/g,苈婆酸含量分别为1.02、0.27 mg/g和0.04 mg/g。方法的重复性和回收率良好,为棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸的分析检测提供了技术依据和指导。

**关键词:**棉籽;环丙烯脂肪酸;气相色谱法;甲酯化;苈婆酸;锦葵酸

中图分类号:TS222+.1;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)08-0121-07

## Determination of cyclopropene fatty acids in cottonseed and its cake (meal) by gas chromatography

JIA Yiwen<sup>1</sup>, CHEN Xiaowei<sup>1</sup>, SUN Shangde<sup>1</sup>, BI Yanlan<sup>1</sup>, CUI Shengcheng<sup>2</sup>

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China; 2. Xinjiang Taikun Group Co., Ltd., Changji 831100, Xinjiang, China)

**Abstract:** In order to solve the technical problem of analysis and determination of cyclopropene fatty acids in cottonseed and its cake (meal), gas chromatography (GC) for determination of cyclopropylene fatty acids (malvalic acid and sterculic acid) in cottonseed and its cake (meal) was developed by comparing the methods of fatty acids derivatization and optimizing GC conditions. The results showed that the alkali methyl esterification exhibited a highest efficiency on the derivatization of cyclopropene fatty acids. The optimized GC method required an increasing from 100℃ to 220℃ at a rate of 2.0℃/min at a N<sub>2</sub> flow rate of 0.6 mL/min using a DB-1ht capillary column. Thus, the regression equations ( $R^2 \geq 0.997$ ) of sterculic acid and malvalic acid were established. The contents of malvalic acid in cottonseed, cottonseed cake and cottonseed meal were 2.62, 0.68 mg/g and 0.09 mg/g, and the contents of sterculic acid in cottonseed, cottonseed cake and cottonseed meal were 1.02, 0.27 mg/g and 0.04 mg/g, respectively. The method has good repeatability and recovery, and this finding provides technical basis and guidance for the analysis and determination of cyclopropene fatty acids in cottonseed as well as cottonseed cake and meal.

收稿日期:2021-07-08;修回日期:2022-04-16

基金项目:河南工业大学青年骨干教师培育项目;河南工业大学基础研究基金项目(2018QNJH03)

作者简介:贾怡文(1997),女,在读硕士,研究方向为油脂加工与品质控制(E-mail)hautjiayiw@163.com。

通信作者:陈小威,讲师(E-mail)feixw@haut.edu.cn;毕艳兰,教授(E-mail)bylzry@126.com。

**Key words:** cottonseed; cyclopropene fatty acids; gas chromatography; methyl esterification; sterculic acid; malvalic acid

我国饲料资源尤其蛋白饲料资源短缺,棉籽作为大豆以外的第二大优质蛋白质资源,对其开发利

用具有重要意义。然而,棉籽及其饼(粕)在饲料上的利用率却不到30%,最主要的原因在于棉籽饼(粕)中存在棉酚、环丙烯脂肪酸(Cyclopropene fatty acids, CPFAs)抗营养因子,致使棉籽饼(粕)在饲料行业中利用受限<sup>[1-3]</sup>。环丙烯脂肪酸是棉酚之外影响棉籽及其饼(粕)利用的第二大抗营养因子,影响鸡、鱼及一些单胃动物的代谢<sup>[4-6]</sup>。棉籽中含有莘婆酸和锦葵酸两种 CPFAs,其中莘婆酸毒性较大,会诱导蛋白质变性,影响糖代谢,导致母鸡产蛋率下降以及牛肉肉质硬化等<sup>[7-9]</sup>。

棉籽及其饼(粕)中 CPFAs 测定分析对其在饲料中的应用和脱除研究具有重要意义。相较于传统 Halphen 实验的定性分析,利用色谱技术进行量化分析 CPFAs 可指导饲料配方中的添加量。通过苯甲酰衍生化处理后利用双柱反相高效液相色谱对棉籽油中的 CPFAs 进行分离,再结合外标法可实现定量分析,但存在步骤烦琐、成本高等缺陷<sup>[10]</sup>。王美霞等<sup>[11]</sup>通过全自动索氏浸提装置提取棉籽油,采用气相色谱质谱联用技术将棉籽油中脂肪酸成功分离,并证实肉豆蔻酸、棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、锦葵酸、亚油酸、莘婆酸、二氢莘婆酸和花生酸是棉籽油的特征脂肪酸,但 CPFAs 与普通脂肪酸的分离效果不佳。目前脂肪酸含量测定的国标方法有 GB/T 21514—2008《饲料中脂肪酸含量的测定》和 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》,二者均采用气相色谱法,但棉籽油脂脂肪酸的多样性和 CPFAs 分子中环丙烯结构的敏感性使其与普通直链脂肪酸的分析检测在脂肪酸衍生化、色谱柱选择和色谱分离条件等方面存在显著差异<sup>[12-14]</sup>,从而造成国标方法均难以实现 CPFAs 的有效分离<sup>[15]</sup>。这影响了棉籽及其饼(粕)中 CPFAs 的量化分析,进而限制了为饲料配方中的应用提供直接信息。

基于此,本研究利用气相色谱法量化分析棉籽及其饼(粕)中 CPFAs 的含量,考察了不同脂肪酸衍生化方法、气相色谱条件,建立具有较好分离度的色谱操作条件,并进一步建立 CPFAs 的外标定量测定方法,实现对棉籽及其饼(粕)中 CPFAs 的准确量化分析,为棉籽及其饼(粕)在饲料中的应用提供重要信息。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

棉籽、棉籽饼和棉籽粕,新疆泰昆集团股份有限公司提供。莘婆酸甲酯( $C_{20}H_{36}O_2$ ,纯度 $\geq 98\%$ )、锦葵酸甲酯( $C_{19}H_{34}O_2$ ,纯度 $\geq 95\%$ )标准品,美国 Matreya 脂质与生物化学科技有限公司;37种脂肪酸甲酯标准品,美国 Sigma 公司。

Agilent 7890B 气相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;RV 10 control auto V 旋转蒸发仪,德国 IKA 科技有限公司;赛多利斯 SQP 电子天平;FS-100 小型粉碎机,鹤壁市英泰电子电器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 棉籽及其饼(粕)中油脂的提取

通过油脂提取方法的筛选,确定采用 GB/T 6433—2006 中的方法对棉籽及其饼(粕)中油脂进行提取。

#### 1.2.2 棉籽油脂脂肪酸衍生化

(1)碱式甲酯化:准确称取棉籽油 0.1 g,用正己烷定容于 10 mL 容量瓶内;用移液管准确移取 3 mL 样液于小瓶中,加入 2 mL 氢氧化钠-甲醇溶液,剧烈混匀 7 min,静置待分层后,将上清液移至试管中,加入约 1 g 无水硫酸钠,取上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,所得滤液即为试样的待测液。

(2)简易碱式甲酯化:准确称取 0.1 g 棉籽油置于 10 mL 容量瓶内,用色谱级正己烷定容;用移液管准确移取 3 mL 样液于小瓶中,加入 2 mL 甲醇钠,剧烈混匀 7 min,放置约 1 min,混合溶液出现分层,将上清液移至试管中,加入约 1 g 无水硫酸钠,取上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,所得滤液为试样的待测液。

(3)三氟化硼甲酯化:准确称取 0.1 g 棉籽油置于 10 mL 容量瓶内,用色谱级正己烷定容;用移液管准确移取 3 mL 样液于 25 mL 烧瓶中,加入沸石,用移液管移取 7 mL 甲醇溶液于烧瓶中。连接回流装置,回流过程中不断搅动烧瓶,煮沸并计时 7 min,至溶液变透明。从冷凝管上端用移液管加入 7 mL 三氟化硼-甲醇溶液,继续回流 1 min,再加入 2.4 mL 正己烷回流 1 min,最后撤掉热源,取出烧瓶,加入氯化钠饱和溶液至烧瓶的颈部,静置分层 30 min,将上清液移至试管内,加入约 1 g 无水硫酸钠,取上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,所得滤液为试样的待测液。

(4)硫酸催化甲酯化:准确称取 0.1 g 棉籽油置于 10 mL 容量瓶内,用色谱级正己烷定容;用移液管准确移取 3 mL 样液于 20 mL 具塞试管中,加入 2 mL 1% 硫酸-甲醇溶液混匀,置于 70  $^{\circ}\text{C}$  水浴加热 60 min,冷却后加入饱和氯化钠溶液至溶液分层,将上清液放至试管内,加入约 1 g 无水硫酸氢钠,取上清液经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,所得滤液为试样的待测液。

#### 1.2.3 环丙烯脂肪酸含量的测定

##### 1.2.3.1 标准曲线建立

准确称取莘婆酸甲酯 25 mg 和锦葵酸甲酯 5 mg 于 10 mL 容量瓶中,用色谱级正己烷溶解并定容,摇

匀,得到质量浓度分别为 2.5 mg/mL 和 0.5 mg/mL 标准储备溶液,于  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  下保存备用。临用前分别取标准储备溶液稀释成系列标准溶液进行气相色谱(GC)分析,建立标准曲线。

### 1.2.3.2 GC 分析条件

配有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪,进样口与检测器温度均为  $280\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,载气为高纯氮气(99.999%),分流比为 1:20;初始柱温为  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,以一定的速率升至  $220\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;进样量为  $1\text{ }\mu\text{L}$ 。

### 1.2.3.3 定量分析

相对含量测定:采用峰面积归一化法,根据锦葵酸或莘婆酸甲酯相应峰面积对所有脂肪酸甲酯峰面积总和的占比来计算锦葵酸和莘婆酸的含量。

绝对含量测定:采用外标法,通过锦葵酸或莘婆

酸甲酯标准品的标准曲线方程,分别将其峰面积代入方程,并根据甲酯与相应脂肪酸的换算系数计算脂肪酸绝对含量。

## 2 结果与分析

### 2.1 气相色谱条件的优化

#### 2.1.1 色谱柱的选择

鉴于色谱柱对脂肪酸分离效果的影响,固定升温速率( $2.0\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$ )和氮气流速( $0.6\text{ mL}/\text{min}$ )下,考察了常见的 3 种色谱柱 SGE BPX-70 色谱柱( $30.0\text{ m}\times 250\text{ }\mu\text{m}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ )、HP-88 色谱柱( $0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}\times 100\text{ m}$ )、DB-1ht 毛细管柱( $28.0\text{ m}\times 250\text{ }\mu\text{m}\times 0.1\text{ }\mu\text{m}$ )对棉籽油脂肪酸(衍生化方法采用 1.2.2 中简易碱式甲酯化)的分离效果,如图 1 所示。

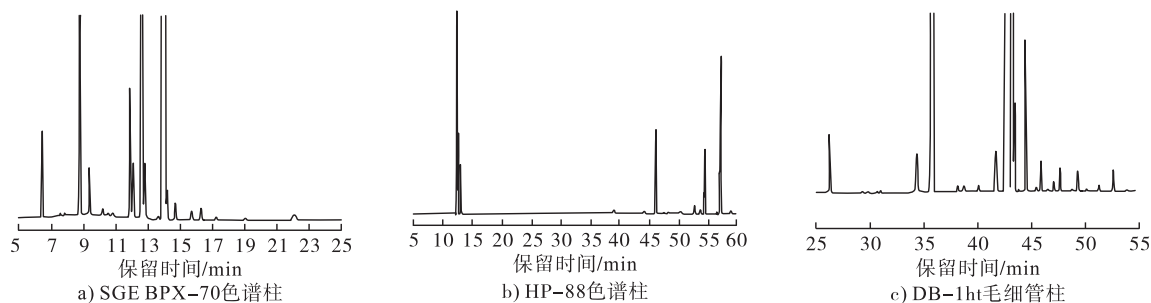


图 1 不同色谱柱对棉籽油脂肪酸的分离效果

由图 1a 可以看出,以中等极性填料的 SGE BPX-70 色谱柱分离时,脂肪酸没有得到很好的分离。HP-88 色谱柱是填料为氰丙基芳基聚硅氧烷的毛细管柱,具有强极性。由图 1b 可知,虽然 HP-88 色谱柱柱长有 100 m,但是棉籽油脂肪酸在 60 min 内仍未得到有效分离,12 min 时出现溶剂峰,57 min 时出现棕榈酸峰,不利于脂肪酸的检测。DB-1ht 毛细管柱为非极性高温柱,耐受温度达  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。从图 1c 可知,DB-1ht 毛细管柱对棉籽油脂肪酸具有良好的分离效果。

综上,选取 DB-1ht 非极性毛细管柱作为环丙烯脂肪酸的分离柱。

在采用标准品确认锦葵酸(MLV)和莘婆酸(STC)出峰位置的基础上,利用气相色谱-质谱(GC-MS)联用技术对环丙烯脂肪酸进行进一步实证。GC-MS 条件:DB-SMS 毛细管色谱柱( $60\text{ m}\times 0.32\text{ mm}\times 1\text{ }\mu\text{m}$ ),离子源温度  $230\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,EI 源离子化方式,四极杆温度  $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,全扫描模式,质量扫描范围( $m/z$ ) $40\sim 500$ ,溶剂延迟时间 3 min。结果见图 2。

从图 2 可知,锦葵酸(图 2a)和莘婆酸(图 2b)及另一种环丙烷脂肪酸,即二氢莘婆酸(图 2c)<sup>[16]</sup>被证实存在于棉籽中。

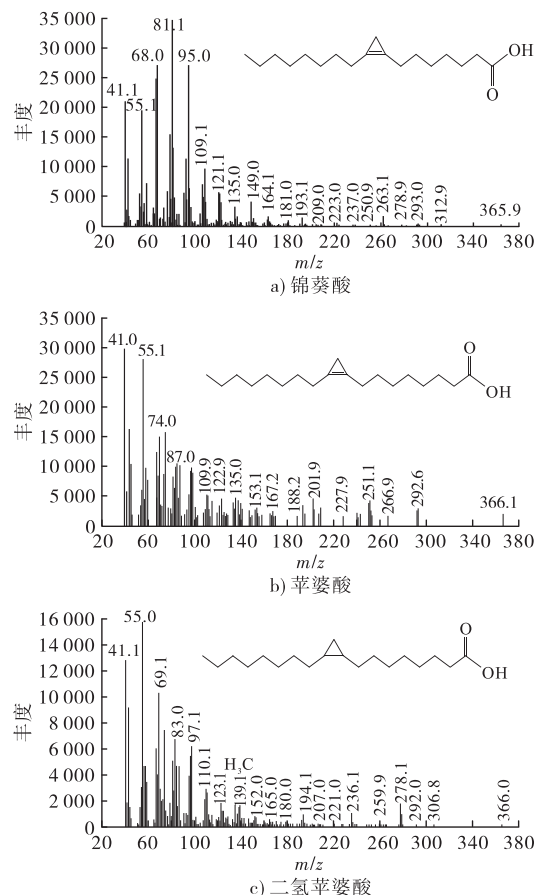


图 2 棉籽油中锦葵酸、莘婆酸和二氢莘婆酸的 GC-MS 离子峰谱图

### 2.1.2 程序升温速率对分离效率的影响

采用 DB-1ht 非极性毛细管柱作为分离柱,在 0.6 mL/min 氮气流速下考察了程序升温速率对棉籽油脂肪酸分离的影响,结果如图 3 所示。

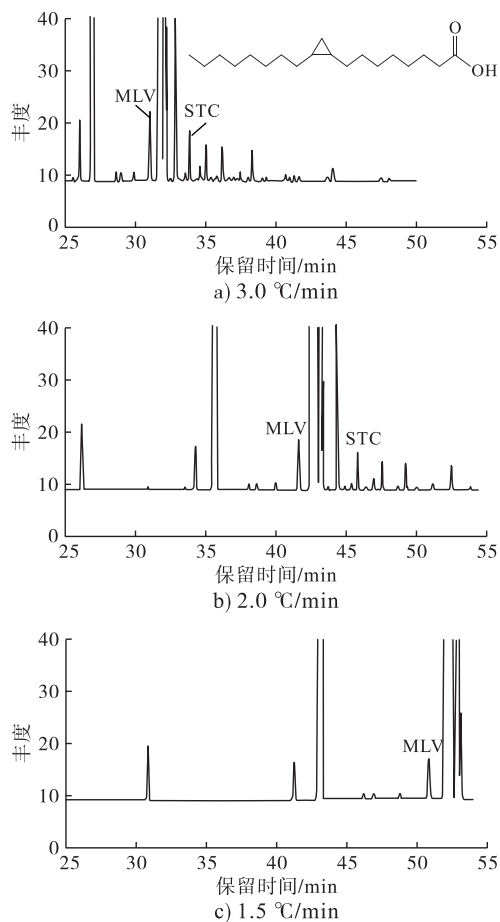


图 3 程序升温速率对棉籽油脂肪酸中锦葵酸 (MLV) 和苈婆酸 (STC) 分离效果的影响

从图 3a 可知,在 3.0 °C/min 升温速率下 45 min 内完整分离出全部脂肪酸,锦葵酸和苈婆酸分别出现在 31.0 min 和 33.8 min,但油酸和亚油酸没能被很好地分离。出现这种现象的原因是升温速率太快,不利于脂肪酸的分离。从图 3b 可知,在 2.0 °C/min 升温速率下,在 60 min 内脂肪酸可以被很好地分离,锦葵酸和苈婆酸分别出现在 41.6 min 和 45.8 min。苈婆酸和锦葵酸的出峰时间相差大,同时其他脂肪酸也得到良好的分离,有利于进行定量分析。从图 3c 可知,1.5 °C/min 升温速率下,在 60 min 内并未呈现出完整的分离峰,锦葵酸峰出现在 51.2 min,而 60 min 内并未出现苈婆酸的峰。综上所述,选择最佳升温速度为 2.0 °C/min。

### 2.1.3 氮气流速对分离效率的影响

采用 DB-1ht 非极性毛细管柱作为分离柱,在恒定升温速度 2.0 °C/min 下考察了氮气流速对棉籽油脂肪酸的分离效果,结果如图 4 所示。

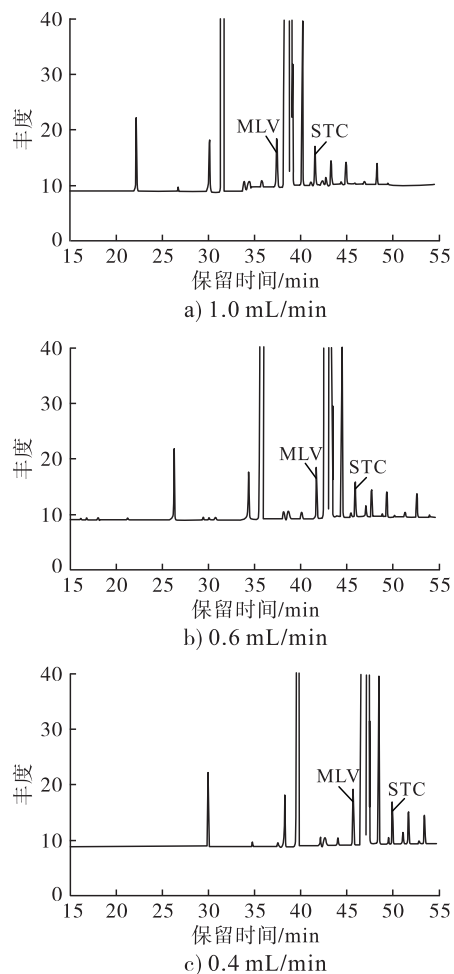


图 4 氮气流速对棉籽油脂肪酸中锦葵酸 (MLV) 和苈婆酸 (STC) 分离效果的影响

从图 4 可知:当氮气流速为 1.0 mL/min 时,锦葵酸和苈婆酸的出峰时间分别为 37.4 min 和 41.6 min;当氮气流速为 0.6 mL/min 时,锦葵酸和苈婆酸色谱峰分别出现在 41.6 min 和 45.8 min;而在氮气流速为 0.4 mL/min 时,在 45.5 min 和 49.7 min 分别出现锦葵酸和苈婆酸。可见,随着氮气流速的降低,脂肪酸分离图中锦葵酸和苈婆酸色谱峰的出现时间向右移动。为了实现在适当时间内得到较好的脂肪酸分离效果,氮气流速选择 0.6 mL/min。

### 2.2 衍生化方法对环丙烯脂肪酸分析的影响

为了准确测定环丙烯脂肪酸的含量,在优化的色谱条件基础上对 4 种衍生化方法(碱式甲酯化、简易碱式甲酯化、三氟化硼甲酯化、硫酸催化甲酯化)进行了系统比较。相同质量的棉籽油经过不同衍生化后所得的 GC 图谱如图 5 所示。

从图 5 可知,在碱式甲酯化、简易碱式甲酯化和三氟化硼甲酯化后的 GC 图谱中均观察到锦葵酸和苈婆酸。然而,硫酸催化甲酯化后的 GC 图谱中没有观察到锦葵酸和苈婆酸的峰,且其他脂肪酸的峰值也较低。

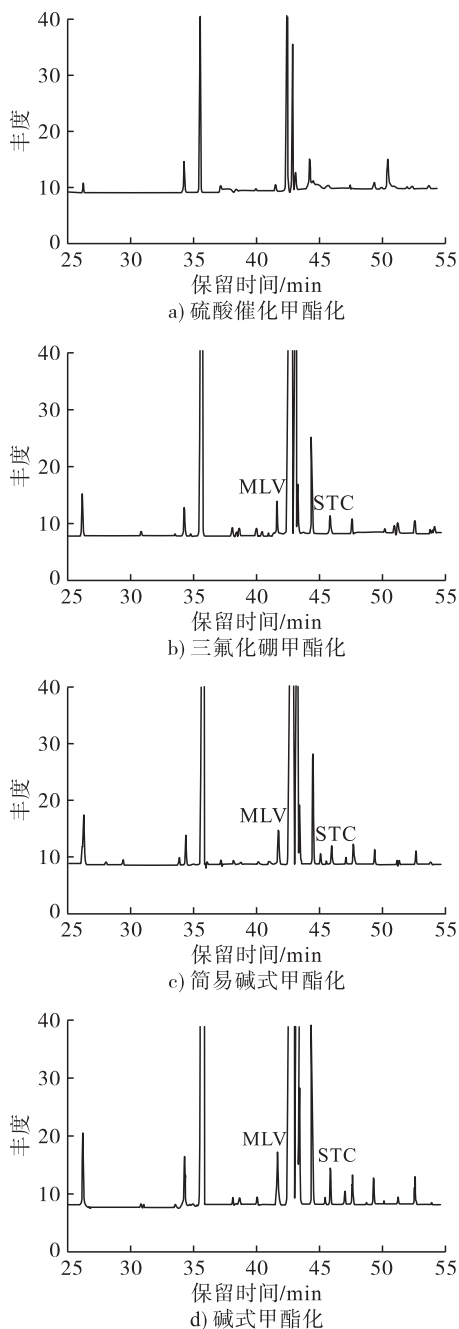


图5 4种不同甲酯化条件下的棉籽油脂肪酸GC图谱

不同衍生化方法对锦葵酸和苹婆酸的出峰面积和相对含量的影响如表1所示。从表1可知:碱式甲酯化所得的锦葵酸峰面积为76.69,脂肪酸相对含量为0.75%,苹婆酸峰面积为40.51,相对含量为0.39%;简易碱式甲酯化后的锦葵酸峰面积为43.75,相对含量为0.72%,苹婆酸峰面积为21.87,相对含量为0.36%;三氟化硼甲酯化所得的锦葵酸峰面积为34.07,相对含量为0.68%,苹婆酸峰面积为17.08,相对含量为0.34%。4种处理方法得到的锦葵酸和苹婆酸峰面积大小均为碱式甲酯化>简易碱式甲酯化>三氟化硼甲酯化>硫酸催化甲酯化,可知碱式甲酯化的衍生化效果最好,这与文献

[10,17-18]报道一致。因此,选择碱式甲酯化方法进行衍生化。

表1 不同衍生化方法对棉籽油中锦葵酸和苹婆酸峰面积及相对含量的影响

衍生化方法	指标	锦葵酸	苹婆酸
碱式甲酯化	峰面积	76.69 ± 1.61	40.51 ± 0.88
	相对含量/%	0.75 ± 0.00	0.39 ± 0.00
简易碱式甲酯化	峰面积	43.75 ± 0.38	21.87 ± 0.81
	相对含量/%	0.72 ± 0.01	0.36 ± 0.02
三氟化硼甲酯化	峰面积	34.07 ± 0.17	17.08 ± 0.04
	相对含量/%	0.68 ± 0.01	0.34 ± 0.00
硫酸催化甲酯化	峰面积	ND	ND
	相对含量/%	ND	ND

注:ND为未检出;甲酯化用油脂量与GC进样量保持一致

通过对棉籽油进行碱式甲酯化后的色谱分析并结合GC-MS分析棉籽油主要脂肪酸组成及含量,结果如表2所示。

表2 棉籽油脂肪酸组成及相对含量

脂肪酸	相对含量/%
肉豆蔻酸(C14:0)	0.691 ± 0.005
棕榈油酸(C16:1)	0.506 ± 0.004
棕榈酸(C16:0)	22.476 ± 0.162
十七烯酸(C17:1)	0.074 ± 0.001
十七酸(C17:0)	0.088 ± 0.001
锦葵酸(C18:1cpe)	0.720 ± 0.038
亚油酸(C18:2)	55.446 ± 0.355
油酸(C18:1n-9)	15.229 ± 0.044
顺式异油酸(C18:1n-7)	0.824 ± 0.006
硬脂酸(C18:0)	2.084 ± 0.032
苹婆酸(C19:1cpe)	0.370 ± 0.024
二氢苹婆酸(C19:0cpa)	0.308 ± 0.007
花生酸(C20:0)	0.270 ± 0.005

由表2可知,棉籽油共检出13种脂肪酸,以亚油酸(55.446%)、棕榈酸(22.476%)、油酸(15.229%)和硬脂酸(2.084%)为主,还含有顺式异油酸(0.824%)、肉豆蔻酸(0.691%)、棕榈油酸(0.506%)、十七烯酸(0.074%)、十七酸(0.088%)、花生酸(0.270%)、锦葵酸(0.720%)、苹婆酸(0.370%)和二氢苹婆酸(0.308%)。

## 2.3 GC测定环丙烯脂肪酸的方法学评价

### 2.3.1 重复性评价

在优化的色谱条件下,按1.2.3方法利用标准品建立锦葵酸甲酯( $Y = 1.646X - 1.063$ ,  $R^2 = 0.997$ ,线性范围1~250  $\mu\text{g/mL}$ )和苹婆酸甲酯( $Y = 1.333X - 2.499$ ,  $R^2 = 0.998$ ,线性范围5~1250  $\mu\text{g/mL}$ )的线性回归方程。利用线性回归方

程对棉籽中的 CPFAs 含量进行了分析。表 3 为 GC 测定棉籽中 CPFAs 的重复性评价分析结果,重复过程包括棉籽油的提取、衍生化和 GC 分析得到两种 CPFAs 的含量。从表 3 可知:提油率平均值为 28.19%,RSD 为 2.63% (<5%),重复性良好;

外标法测定的锦葵酸和苹婆酸平均含量以及 RSD 分别为 2.73 mg/g、1.32% (<5%) 和 1.07 mg/g、2.13% (<5%)。由此可知,衍生化和 GC 分析过程也具有良好重复性。综上可知,所建立的 GC 测定 CPFAs 含量的方法重复性良好。

表 3 GC 测定棉籽中 CPFAs 的重复性评价分析结果

实验号	提油率/%	平均值/%	RSD/%	锦葵酸含量/ (mg/g)	平均值/ (mg/g)	RSD/%	苹婆酸含量/ (mg/g)	平均值/ (mg/g)	RSD/%
1	27.32			2.74			1.06		
2	27.23			2.66			1.04		
3	28.34	28.19	2.63	2.71	2.73	1.32	1.05	1.07	2.13
4	28.53			2.74			1.09		
5	28.84			2.74			1.09		
6	28.89			2.74			1.09		

注:按峰面积外标法计算含量;锦葵酸和苹婆酸的含量通过相对分子质量进行换算,苹婆酸甲酯对苹婆酸的换算系数为 1.05,锦葵酸甲酯对锦葵酸的换算系数为 1.05。下同

### 2.3.2 回收率评价

为考察 GC 对 CPFAs 的准确性,对建立方法的回收率进行了评价,结果如表 4 所示。从表 4 可知:锦葵酸的回收率在 84.737% ~ 108.037% 之

间,平均值为 96.965%,RSD 为 10.865%;苹婆酸的回收率在 84.388% ~ 113.291% 之间,平均值为 97.447%,RSD 为 13.876%。说明此方法准确可靠。

表 4 CG 测定棉籽油中的 CPFAs 回收率实验结果

项目	底物 CPFAs 含量/mg	加标量/mg	实测值/mg	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
锦葵酸						
1		0.264	0.479	91.288		
2		0.570	0.721	84.737		
3	0.238	0.497	0.699	92.757	96.965	10.865
4		0.762	1.061	108.005		
5		0.759	1.058	108.037		
苹婆酸						
1		0.110	0.199	90.909		
2		0.237	0.299	84.388		
3	0.099	0.207	0.281	87.923	97.447	13.876
4		0.317	0.450	110.726		
5		0.316	0.457	113.291		

### 2.4 棉籽及其饼(粕)中的环丙烯脂肪酸含量

利用建立的环丙烯脂肪酸 GC 测定法分析了棉籽、棉籽饼和棉籽粕中锦葵酸和苹婆酸的含量,结果如表 5 所示。

表 5 气相色谱测定棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸含量

样品	含油量/ (g/100 g)	锦葵酸含量/ (mg/g)	苹婆酸含量/ (mg/g)
棉籽粕	0.84 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.04 ± 0.00
棉籽饼	7.48 ± 0.27	0.68 ± 0.03	0.27 ± 0.05
棉籽	28.96 ± 0.12	2.62 ± 0.01	1.02 ± 0.02

由表 5 可知:棉籽中锦葵酸和苹婆酸的含量分

别为 2.62 mg/g 和 1.02 mg/g;棉籽饼和棉籽粕中的锦葵酸含量分别为 0.68 mg/g 和 0.09 mg/g,苹婆酸含量分别为 0.27 mg/g 和 0.04 mg/g。

### 3 结论

本文主要研究了棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸含量的测定方法。通过探究碱式、简易碱式、硫酸催化甲酯化和三氟化硼甲酯化等 4 种衍生化方法,证实碱式甲酯化具有最佳效果;通过优化气相色谱条件得到最优条件为采用 DB-1ht 毛细管柱,氮气流速为 0.6 mL/min,升温程序为从 100 °C 以 2 °C/min 的速率上升到 220 °C,结合外标法定量。

该方法的重复性和回收率良好。采用建立的方法测得棉籽、棉籽饼和棉籽粕中的锦葵酸含量分别为2.62、0.68 mg/g 和0.09 mg/g, 莘婆酸含量分别为1.02、0.27 mg/g 和0.04 mg/g。该方法为棉籽及其饼(粕)中环丙烯脂肪酸量化测定提供了技术依据和指导,有利于为其在饲料工业中配方添加提供直接信息以及为环丙烯脂肪酸脱除提供技术支撑。

#### 参考文献:

- [1] 印南日, 李培武, 周海燕, 等. 我国食用棉籽油质量安全[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(4): 20-24.
- [2] 王大祥. 棉酚和环丙烯脂肪酸对蛋鸡生产性能、蛋品质及肝脏的影响[D]. 江苏扬州: 扬州大学, 2016.
- [3] 焦洪超. 棉粕日粮对蛋鸡生产性能和肝脏脂肪代谢的影响及其机制研究[D]. 山东泰安: 山东农业大学, 2014.
- [4] PHELPS R A, SHENSTONE F S, KEMMERER A R, et al. A review of cyclopropenoid compounds: biological effects of some derivatives[J]. Poultry Sci, 1965, 44(2): 358-394.
- [5] QUINTANA J, BBRROT M, FABRIAS G, et al. A model study on the mechanism of inhibition of fatty acyl desaturases by cyclopropene fatty acids[J]. Tetrahedron, 1998, 54(34): 10187-10198.
- [6] CALIGIANI A, MARSEGLIA A, PALLA G. An overview on the presence of cyclopropane fatty acids in milk and dairy products[J]. J Agric Food Chem, 2014, 62(31): 7828-7832.
- [7] PELAEZ R, PARIENTE A, PEREZ-SALA A, et al. Sterculic acid: the mechanisms of action beyond stearoyl-CoA desaturase inhibition and therapeutic opportunities in human diseases[J]. Cells, 2020, 9(1): 140-159.
- [8] YANG A, ZHANG C, ZHANG B Y, et al. Effects of dietary cottonseed oil and cottonseed meal supplementation on liver lipid content, fatty acid profile and hepatic function in laying hens[J]. Animals, 2021, 11(1): 78-90.
- [9] COPPOCK C E, LANHAM J K, HORNER J L. A review of the nutritive value and utilization of whole cottonseed, cottonseed meal and associated by-products by dairy cattle[J]. Anim Feed Sci Tech, 1987, 18(2): 89-129.
- [10] OBERT J C, HUGHES D, SORENSON W R, et al. A quantitative method for the determination of cyclopropenoid fatty acids in cottonseed, cottonseed meal, and cottonseed oil (*Gossypium hirsutum*) by high-performance liquid chromatography[J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(6): 2062-2067.
- [11] 王美霞, 周大云, 马磊, 等. 棉籽油脂肪酸组成分析与评价[J]. 食品科学, 2016, 37(22): 136-141.
- [12] MITCHELL B, ROZEMA B, VENNARD T, et al. Determination of nutritional and cyclopropenoid fatty acids in cottonseed by a single GC analysis[J]. J Am Oil Chem Soc, 2015, 92(7): 947-956.
- [13] HARRIS J A, MAGNE F C, SKAU E L. Methods for the determination of cyclopropenoid fatty acids. IV. Application of the step-wise HBr titration method to the analysis of refined and crude cottonseed oils[J]. J Am Oil Chem Soc, 1964, 41(4): 309-311.
- [14] 王川, 韩珍珍, 文凤, 等. 棉籽油脂肪酸甲酯化的方法及其脂肪酸含量分析[J]. 食品工业科技, 2018, 39(11): 258-263.
- [15] 李小佳, 赵志红, 杨扬, 等. 气相色谱法检测食品中脂肪酸的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2016(8): 3114-3120.
- [16] 焦晓明. 植物环丙烯脂肪酸合成的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [17] DOWD M K, BOYKIN D L, MEREDITH J W R, et al. Fatty acid profiles of cottonseed genotypes from the national cotton variety trials[J]. J Cotton Sci, 2010, 14(2): 64-73.
- [18] HIRAYAMA S, SHINOZAKI D, IZUMI Y. LC/MS analysis of cyclo fatty acid-containing triacylglycerols in cottonseed oil[J]. Sci J Anal Chem, 2020, 8(1): 12-17.