

气相色谱法测定食用油中的植物甾醇

杜杰,刘春梅,林春兰,郑绣蓓,刘昌树

(佳格投资(中国)有限公司,上海201103)

摘要:对食用油进行皂化前处理,以胆甾烷醇为内标,采用气相色谱法测定菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇4种植物甾醇含量。结果表明:该方法测定食用油中植物甾醇的专一性强,方法的检出限和定量限分别为3.00~3.30 mg/100 g和9.00~11.00 mg/100 g,精密度(RSD)为0.89%,回收率为90.51%~110.25%。该方法用于测定食用油中4种植物甾醇有效可靠。

关键词:食用油;植物甾醇;气相色谱;内标

中图分类号:TS229;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)09-0145-04

Determination of phytosterols in edible oil by GC

DU Jie, LIU Chunmei, LIN Chunlan, ZHENG Xiuqian, LIU Changshu

(Standard Investment(China) Co., Ltd., Shanghai 201103, China)

Abstract: The edible oil was saponified, and the contents of brassicasterol, campesterol, stigmasterol and β -sitosterol were determined by GC method with cholesterol as internal standard. The results showed that determination of phytosterols in edible oil by GC-internal standard method was highly specific. The limits of detection and quantitation were 3.00-3.30 mg/100 g and 9.00-11.00 mg/100 g, respectively. The precision and recovery rate were 0.89% and 90.51%-110.25%, respectively. The method was reliable on analysing of four phytosterols in edible oil.

Key words: edible oil; phytosterol; GC; internal standard

植物甾醇是一种天然活性物质^[1],广泛存在于植物油、蔬菜和水果中,具有降低血脂、预防心血管疾病和前列腺肥大等临床功效^[2-4]。植物甾醇的分子结构与胆固醇接近,其中常见的4种植物甾醇有菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇^[5]。传统测定植物甾醇的方法有重量法、比色法及酶法等^[6],此类方法只能测定植物甾醇总量,不能实现对单一组分的定性和定量分析。现有标准方法GB/T 25223—2010《动植物油脂 甾醇组成和甾醇总量的测定》及NY/T 3111—2017《植物油中甾醇含量的测定 气相色谱-质谱法》可对食用油中植物甾醇单组分和总量进行定性和定量测定,但存在操作烦琐,样品脂肪成分会对植物甾醇造成干扰,操作时间较长且溶剂使用量大等缺点。本文以胆甾烷醇为内标,

采用气相色谱法同时对食用植物油中4种植物甾醇进行测定,可节约操作时间和溶剂使用量,并对方法的专一性、精密度和准确性进行了考察,以期对食用油中植物甾醇的测定提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

玉米油、葵花籽油、芝麻油,均购于超市;氢氧化钾(分析纯)、无水乙醇(分析纯),永华化学科技(江苏)有限公司;N,O-双三甲基硅基三氟乙酰胺(BSTFA)+1%三甲基氯硅烷(TMCS),美国Cerilliant公司;无水吡啶(分析纯),东京化成工业株式会社;胆甾烷醇(CAS号80-97-7,纯度 \geq 95%),Sigma-Aldrich公司;正己烷(色谱纯)、菜籽甾醇(CAS号474-67-9,纯度 \geq 98%)、菜油甾醇(CAS号474-62-4,纯度 \geq 97.8%)、豆甾醇(CAS号83-48-7,纯度 \geq 99%)、 β -谷甾醇(CAS号83-46-5,纯度 \geq 97.5%),上海安谱实验科技有限公司。

收稿日期:2020-11-17;修回日期:2021-06-22

作者简介:杜杰(1992),男,工程师,硕士,主要从事油脂生产加工及分析检测工作(E-mail)JieDu@sfworldwide.com。

通信作者:刘昌树,博士(E-mail)TristanLiu@sfworldwide.com。

1.1.2 仪器与设备

电子天平,美国 Sartorius 公司;DHG-9420A 电热鼓风干燥箱、HWS-12 型电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司;TDL-5-A 离心机,上海安亭科学仪器厂;Trace 1300 气相色谱,美国 Thermo Fisher Scientific 公司;EFAA-DC12 氮吹仪、PP 离心管、有机相针式滤器(尼龙),上海安谱实验科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液配制

胆甾烷醇内标溶液配制:精确称取胆甾烷醇标准品 20 mg,用正己烷溶解并定容至 10 mL,得质量浓度为 2 mg/mL 的胆甾烷醇标准溶液。4℃ 冰箱避光保存,备用。

菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇标准储备液配制:精确称取植物甾醇标准品 10 mg,用正己烷溶解并定容至 10 mL,得质量浓度为 1 mg/mL 的植物甾醇标准储备液。4℃ 冰箱避光保存备用。

1.2.2 油脂样品前处理

称取充分混匀的油脂样品 0.1 g,于 50 mL 离心管中,加入胆甾烷醇内标溶液(加入量根据植物甾醇含量而定,玉米油和芝麻油中内标溶液加入量 100 μ L,葵花籽油中内标溶液加入量 50 μ L),再加入 5 mL 0.5 mol/L 的氢氧化钾乙醇溶液,涡旋 30 s,混匀,于恒温水浴锅中 60℃ 皂化 40 min 后,取出冷却至室温,加入 3 mL 去离子水和 5 mL 正己烷,涡旋 20 s,混匀,于 4 500 r/min 离心 3 min 后,取上清液于 12 mL 玻璃离心管中,再加入 3 mL 去离子水和 5 mL 正己烷,涡旋 20 s,混匀,于 4 500 r/min 离心 3 min 后,取上清液于另一玻璃离心管中,在 40℃ 水浴下氮吹至干,加入 100 μ L BSTFA + TMCS(体积比 99:1)和 100 μ L 吡啶,在 90℃ 下衍生化反应 20 min,取出冷却至室温,将衍生化试剂氮吹至干,加入 1 mL 正己烷复溶,涡旋,混匀,过 0.22 μ m 有机滤膜,滤液供气相色谱分析。

1.2.3 气相色谱条件

DB-5MS 色谱柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.25 μ m);氮气流速 1.0 mL/min;分流比 1:40;进样量 1 μ L;进样口温度 300℃;检测器温度 300℃;氢气流速 35 mL/min;空气流速 350 mL/min;柱温箱升温程序为初始温度 250℃,保持 1 min,然后以 4℃/min 升到 300℃,保持 10 min。

1.2.4 植物甾醇含量的计算

油脂样品中各植物甾醇含量按式(1)计算。

$$X = \frac{A_i \times m_0}{A_0 \times m} \times f \times 100 \quad (1)$$

式中: X 为试样中各植物甾醇的含量,mg/100 g; A_i 为植物甾醇峰面积; A_0 为内标峰面积; m_0 为内标的质量,mg; m 为样品质量, g; f 为内标对应各植物甾醇响应因子, $f=1$ 。

2 结果与讨论

2.1 专一性(鉴别试验)

内标和 4 种植物甾醇标准品气相色谱图见图 1,玉米油样品的气相色谱图见图 2。

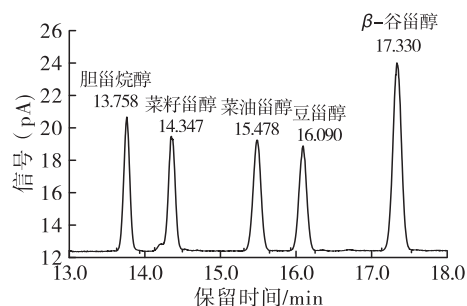


图 1 内标和 4 种植物甾醇标准品的气相色谱图

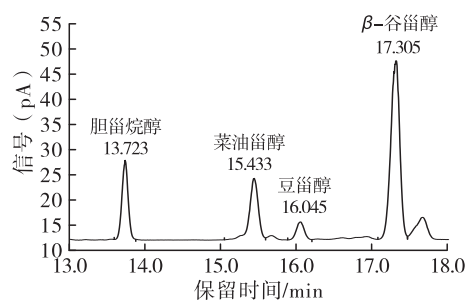


图 2 玉米油样品的气相色谱图

由图 1 可知,胆甾烷醇(内标)、菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇标准品的保留时间分别为 13.758、14.347、15.478、16.090 min 和 17.330 min。由图 2 可知,玉米油样品中各植物甾醇保留时间分别为 13.723、15.433、16.045 min 和 17.305 min,与标准品胆甾烷醇(内标)、菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇一致。

2.2 检出限和定量限

将植物甾醇标准储备液用正己烷稀释,配制一系列浓度的标准溶液。取一定量的标准溶液按 1.2.3 进行植物甾醇含量分析,计算响应信号值与噪声值的比值,以信噪比大于等于 3 的浓度作为检出限;信噪比大于等于 10 的浓度作为定量限,结果见表 1。

由表 1 可知,样品中菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇的检出限和定量限分别为 3.00、3.06、3.20、3.30 mg/100 g 和 9.00、9.20、9.60、11.00 mg/100 g。

植物甾醇	检出限	定量限
菜籽甾醇	3.00	9.00
菜油甾醇	3.06	9.20
豆甾醇	3.20	9.60
β -谷甾醇	3.30	11.00

2.3 方法的精密度

GB/T 25223—2010《动植物油脂 甾醇组成和甾醇总量的测定 气相色谱法》附录A详述了精密度的

实验室间比对测试结果,其中在重复条件下获得的两次独立结果测定的重复性变异系数分别为橄榄油3.54%、葵花籽油4.37%、菜籽油2.30%,再现性变异系数分别为橄榄油11.25%、葵花籽油14.33%、菜籽油10.05%。NY/T 3111—2017《植物油中甾醇含量的测定 气相色谱-质谱法》规定,精密度为在重复条件下获得的两次独立测定的相对偏差,不应超过 $\pm 20\%$ 。称取约0.1000 g(精确至0.0001 g)玉米油样品进行6次重复试验,对精密度(RSD)进行分析,结果见表2。

表2 玉米油样品精密度试验结果($n=6$)

植物甾醇	含量/(mg/100 g)						平均值	RSD/%
	1	2	3	4	5	6		
菜籽甾醇	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-
菜油甾醇	175.75	180.14	176.67	179.03	177.91	180.06	178.26	1.01
豆甾醇	47.67	49.03	48.07	48.92	48.38	49.15	48.54	1.22
β -谷甾醇	559.30	573.40	561.87	567.47	564.61	566.21	565.47	0.86
总计	782.71	802.57	786.60	795.42	790.89	795.42	792.27	0.89

注:ND表示未检出。下同

由表2可知,玉米油中总植物甾醇平均含量为792.27 mg/100 g,总植物甾醇含量组间RSD为0.89%,综合重复性试验,结果显示精密度良好。因此,本方法对植物油中植物甾醇的分析具有良好的精密度和重复性。

2.4 样品回收率

称取一定量玉米油,分别添加低、中、高3个

加标水平的植物甾醇标准品进行回收率试验,结果如表3所示。由表3可知,菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇回收率分别为90.51%~96.81%、99.47%~108.65%、94.51%~100.60%、104.64%~110.25%。

表3 4种植物甾醇的回收率

植物甾醇	本底值/ μg	加标水平	取样量/g	加标量/ μg	测定值/ μg	回收率/%	植物甾醇	本底值/ μg	加标水平	取样量/g	加标量/ μg	测定值/ μg	回收率/%
菜籽甾醇	0	低	0.108 3	16.89	93.82	0.108 3	18.80	97.91					
			0.105 0	18	17.43		96.81	低	0.105 0	19.2	19.31	100.60	
			0.105 0	16.72	92.91		0.105 0	18.55	96.60				
			0.106 6	41.73	92.73		0.106 6	45.36	94.51				
		中	0.107 8	45	40.95	91.00	0.107 8	48	47.82	99.62			
			0.106 2	40.73	90.51	0.106 2		47.92	99.82				
			0.108 3	65.18	90.53	0.108 3		95.66	99.64				
			0.105 0	72	66.61	92.52		高	0.105 0	96	96.36	100.37	
0.105 0	66.73	92.68	0.105 0	95.40	99.38								
菜油甾醇	6.41	低	0.106 6	25.77	105.20	0.108 3	175.98	109.40					
			0.107 8	18.4	26.23		107.73	低	0.105 0	60	173.12	104.64	
			0.106 2	26.40	108.65		0.105 0		174.10	106.26			
			0.108 3	54.40	104.33		0.106 6	252.75	107.89				
		中	0.105 0	46.0	56.14	108.11	0.107 8	132	255.87	110.25			
			0.105 0	54.33	104.18	0.106 2		254.90	109.51				
			0.106 6	79.62	99.47	0.108 3		286.18	106.57				
			0.107 8	73.6	81.24	101.67		高	0.105 0	165	291.80	109.97	
0.106 2	80.20	100.26	0.105 0	285.64	106.24								

2.5 不同植物油样品中植物甾醇含量的测定

采用本方法对葵花籽油、芝麻油中植物甾醇含量进行测定,结果见表4。由表4可知,葵花籽油中检测出菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇,其中菜油甾醇含量为35.54 mg/100 g,豆甾醇含量为29.27 mg/100 g, β -谷甾醇含量为232.08 mg/100 g,植物甾醇总量为296.89 mg/100 g, β -谷甾醇含

量最多。芝麻油中检测出菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇,其中菜籽甾醇含量为83.69 mg/100 g,菜油甾醇含量为105.93 mg/100 g,豆甾醇含量为38.26 mg/100 g, β -谷甾醇含量为359.56 mg/100 g,植物甾醇总量为587.45 mg/100 g, β -谷甾醇含量最多。

表4 葵花籽油和芝麻油中甾醇含量($n=6$)

食用油	菜籽甾醇	菜油甾醇	豆甾醇	β -谷甾醇	总量
葵花籽油	ND	35.54 ± 0.51	29.27 ± 0.66	232.08 ± 0.26	296.89 ± 0.33
芝麻油	83.69 ± 3.86	105.93 ± 1.68	38.26 ± 0.90	359.56 ± 2.18	587.45 ± 1.15

注:ND表示未检出。

3 结论

对食用油进行皂化前处理,以胆甾烷醇为内标,采用气相色谱法测定菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇4种植物甾醇含量。通过方法学验证表明,该方法的专一性强,检出限和定量限分别为3.00~3.30 mg/100 g和9.00~11.00 mg/100 g,精密度(RSD)为0.89%,回收率在90.51%~110.25%,用于测定不同食用油中4种植物甾醇有效可靠。该方法相较于国标方法可以有效地将4种植物甾醇分离,减少样品中脂肪成分对植物甾醇的干扰,节约操作时间和溶剂,具有操作步骤简单、重复性好、精密度高等特点,可为食用油中植物甾醇的测定提供理论依据。

参考文献:

[1] ABIDI S L. Chromatographic analysis of plant sterols in

foods and vegetable oils[J]. J Chromatogr A, 2001, 935: 173-201.

[2] 陈月晓,何涛,唐凌轩,等. 气相色谱法同时测定食品中的胆固醇和植物甾醇[J]. 食品科学,2016,37(14): 180-183.

[3] VERLEYEN T, FORCADES M, VERHE R. Analysis of free and esterified sterols in vegetable oils[J]. J Am Oil Chem Soc, 2002, 79:117-122.

[4] 彭丽霞,朱亿竹,魏阳吉,等. 葡萄籽油中植物甾醇的提取与鉴定[J]. 中国食品学报,2012(3):191-197.

[5] CHEN S, BI Y, SUN S. The content and composition of total, free, and esterified sterols of lotus plumule oil by GC-MS/FID[J]. J Am Oil Chem Soc, 2017,94:363-373.

[6] 梁博,郭璇华. 分光光度法测定火龙果茎中的植物甾醇[J]. 分析实验室,2008,27(5):279-281.

(上接第140页)

浓香花生油的生产技术在不断改进,从开始的清香型、浓香型到几种风味的复合型。在工艺设备设计和生产过程中,借助自动控制 PLC 控制天然气的温度进行浓香油的生香调香,应用多种技术脱除黄曲霉毒素等均取得了很大进展。目前,市场上存在浓香花生油掺伪颜色和气味较淡的低价植物油情况,如掺伪玉米油、葵花籽油、大豆油、菜籽油等,为保护油厂的合法利益和消费者的权益,应加大浓香花生油便携式掺伪鉴别仪器的研发,进一步加强市场监管。

致谢:感谢山东特莱机械有限公司徐金发总经理、安徽省粮食局行业指导处王刘旺调研员和安徽蚌埠中粮油脂有限公司桑杨圣高级工程师给予支持!

参考文献:

[1] 左青,左晖. 浓香型油脂的生产及关键技术讨论[J]. 中

国油脂,2019,44(11):152-157.

[2] 张振山. 紫外光照射和 γ -射线辐照对大豆中黄曲霉毒素 B_1 降解比较的研究[J]. 现代食品科技,2014,30(9):217-221.

[3] 马飞,陈冉,李培武,等. 花生黄曲霉毒素紫外线降解技术研究[J]. 中国油料作物学报,2013(10): 428-431.

[4] CHEONG L Z, XU X B. Rice bran and rice oil[M]. New York: JAOCS Press, 2016.

[5] 陈铁柱. 不同水分的花生原料对花生油风味强度影响研究[C]//中国粮油学会油脂分会第二十九届油脂学术会议论文集. 北京:中国粮油学会,2020:173-175.

[6] 简朴. 我国市售食用植物油中饱和烃和芳香烃矿物质的含量调查[C]//中国粮油学会油脂分会第二十九届油脂学术会议论文集. 北京:中国粮油学会,2020: 183-186.