

亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯异构体的 气相色谱-质谱联用表征

薛世华¹, 刘鹏展¹, 李 想², 冯 强²

(1. 华南理工大学 食品科学与工程学院, 广州 510000; 2. 广州市慕之时实业有限公司, 广州 510000)

摘要:旨在为植物油中甘油二酯的检测与分析提供技术参考,以亚麻籽甘油二酯油为检测样品,经两级固相萃取纯化后采用气相色谱-质谱联用法(GC-MS)对亚麻籽甘油二酯油中的甘油二酯进行分析,根据甘油二酯的特征离子碎片分析甘油二酯的组成,通过总离子流色谱(TIC)图及提取离子色谱(EIC)图对异构体进行研究,并与高效液相色谱法(HPLC)进行对比。结果表明:亚麻籽甘油二酯油经两次固相萃取后可以得到纯度较高的甘油二酯,Rxi-65TG气相色谱柱的分离效果优于DB-5ms的;特征离子碎片分析结果和EIC表明亚麻籽甘油二酯油中共含有20种甘油二酯,主要为1-亚油酸-3-亚麻酸甘油二酯(21.36%)、1,3-二亚麻酸甘油二酯(16.57%)和1-油酸-3-亚麻酸甘油二酯(15.75%);相较于HPLC,GC-MS可以实现甘油二酯的准确定性与定量,且峰分离度优于HPLC。综上,GC-MS可用于植物油中甘油二酯的组成分析。

关键词:固相萃取;甘油二酯异构体;GC-MS;EIC

中图分类号:TS227;O657.63 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)11-0091-08

Characterization of diacylglycerol isomers in flaxseed diacylglycerol oil using GC-MS

XUE Shihua¹, LIU Pengzhan¹, LI Xiang², FENG Qiang²

(1. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510000, China; 2. Guangzhou Muzhishi Industrial Co., Ltd., Guangzhou 510000, China)

Abstract: Aiming to provide technical reference for the detection and analysis of diacylglycerol in vegetable oils, the diacylglycerol in flaxseed diacylglycerol oil was analysed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) after purification by two stage solid phase extraction using flaxseed diacylglycerol oil as the test sample, the composition of the diacylglycerol was analysed based on the characteristic ionic fragments of the diacylglycerol, the composition of the diacylglycerol was analysed through the total ion current chromatogram (TIC) and the extracted ion chromatogram (EIC) for the study of isomers and compared with the high performance liquid chromatography (HPLC) method for the determination of diacylglycerol. The results showed that high purity diacylglycerol could be obtained after two stage solid phase extraction of the flaxseed diacylglycerol oil, and the separation effect of the Rxi-65TG GC column was better than that of the DB-5ms. The results of the characteristic ionic fragmentation analysis and the EIC indicated that the flaxseed diacylglycerol oil contained a total of 20 kinds of diacylglycerols, which mainly consisted of 1-linoleic-3-linolenic acid diacylglycerol (21.36%), 1,3-dilinolenic acid diacylglycerol (16.57%) and 1-oleic acid-3-linolenic acid diacylglycerol (15.75%). Compared with HPLC, GC-MS could achieve accurate characterization and quantification of diacylglycerol, and the peak separation was better than that of HPLC. In

收稿日期:2023-12-06;修回日期:2024-07-01

基金项目:广东省基础与应用基础研究基金(2021A1515012504)

作者简介:薛世华(1999),女,硕士研究生,研究方向为甘油酯纯化技术与产品质量(E-mail)xsh9991121@163.com。

通信作者:刘鹏展,讲师,硕士生导师(E-mail)lpzhan@scut.edu.cn。

linolenic acid diacylglycerol (16.57%) and 1-oleic acid-3-linolenic acid diacylglycerol (15.75%). Compared with HPLC, GC-MS could achieve accurate characterization and quantification of diacylglycerol, and the peak separation was better than that of HPLC. In

conclusion, GC - MS can be used for the analysis of the composition of diacylglycerol in vegetable oils.

Key words: SPE; diacylglycerol isomers; GC - MS; EIC

甘油二酯(DAG)是油脂中天然存在的一类物质,其含量与甘油三酯(TAG)相比较少,但其因独特的功能性^[1]被人们广泛研究。目前,利用天然油脂合成甘油二酯含量较高的甘油二酯油被广为关注,但甘油二酯油中甘油二酯的分析较为复杂,亟需简单可靠的定性定量分析方法。

目前甘油二酯的主要检测方法包括薄层色谱法、高效液相色谱法(HPLC)、色谱-质谱联用法、核磁共振法和近红外光谱法等^[2]。马巧霞等^[3]利用薄层扫描仪对以马油为原料制备的甘油二酯油进行定性定量检测,测得油中甘油二酯含量达44.18%。高元娇等^[4]利用HPLC实现了鸭油甘油二酯异构体的有效分离,建立了鸭油甘油二酯含量高精度检测方法。Sim等^[5]通过液相色谱串联质谱法鉴定了薏苡仁中甘油三酯和甘油二酯,鉴定出27种甘油三酯和8种甘油二酯。但现有的分析方法主要是对甘油二酯整体的定性定量分析,关于甘油二酯异构体组成的详细探讨报道有限。另外,现有的几种甘油二酯检测方法中,气相色谱-质谱联用法(GC-MS)具有灵敏性强、精确度高等特点,使用比较广泛。亚麻籽油富含 α -亚麻酸,具有一定的功能性,是甘油二酯油生产的重要原料。因此,本文以自制的亚麻籽甘油二酯油为原料,采用两级固相萃取法分离纯化得到高纯甘油二酯,结合GC-MS及提取离子色谱法分析了亚麻籽甘油二酯组成及保留时间,以期对甘油二酯油的标准分析方法提供技术参考,并为甘油二酯油功效研究等提供基础的营养成分数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

亚麻籽甘油二酯油、玉米油甘油二酯油和花生油甘油二酯油样品(甘油二酯含量约50%),均为实验室自制;三氟化硼(BF_3)-甲醇溶液(色谱纯),上海安谱实验科技股份有限公司;正己烷、N,O-双(三甲基硅)三氟乙酰胺(BSTFA)、三甲基氯硅烷(TMCS)、异丙醇,均为色谱纯,上海麦克林生化科技有限公司;乙腈(色谱纯),安徽泽升科技有限公司;无水硫酸钠(分析纯),天津市大茂化学试剂厂;甲醇(色谱纯),天津四友精细化学品有限公司;吡啶(分析纯),上海润捷化学试剂有限公司;氢氧化钠(分析纯),广东广试试剂科技有限公司;乙酸乙酯(分析

纯),天津市永大化学试剂有限公司;1 000 mg/6 mL 弗罗里硅土固相萃取柱,青云化学科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

8890-7000D 三重四极杆串联气质联用仪、6890N 气相色谱仪,安捷伦科技有限公司(美国);Ultimate3000 高效液相色谱仪,赛默飞世尔科技公司(美国);精密电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;高速冷冻离心机,上海安亭科学仪器厂;数显恒温水浴锅,常州普天仪器制造有限公司;电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;微型旋涡混合仪,上海驰唐电子有限公司;氮吹浓缩装置,天津奥特赛恩斯仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 亚麻籽甘油二酯油的脂肪酸组成及相对含量的测定

参照李一凡等^[6]的方法并稍作修改对亚麻籽甘油二酯油进行甲酯化。具体步骤如下:取50 mg 样品置于10 mL 离心管中,加入2 mL 0.5 mol/L NaOH-甲醇溶液,60℃水浴加热30 min 直至油脂完全溶解,冷却后加入2 mL 14% BF_3 -甲醇溶液,60℃水浴加热20 min,冷却后再加入2 mL 正己烷,旋涡混合均匀,静置分层,取上层溶液于10 mL 离心管中,加入1 g 无水硫酸钠,旋涡混匀,离心后取上层溶液过0.45 μm 滤膜,在4℃条件下保存待GC-MS 检测。

GC 条件^[7]:DB-WAX 色谱柱(30 m \times 0.32 mm \times 0.5 μm),载气为高纯氦气,恒定流速0.8 mL/min;升温程序为从180℃开始(保持2 min),以3℃/min 升温至230℃保持10 min,总分析时间28 min;进样口温度250℃;检测器温度200℃;检测电压350 V;进样量1 μL ;分流比20:1。

MS 条件:电子冲击电离源(EI)70 eV,质量扫描范围(m/z)20~550,发射电流200 μA 。

根据各色谱峰相应的质谱图经谱库检索对脂肪酸定性,采用峰面积归一化法对其定量。

1.2.2 样品分离纯化处理

参照刘四磊^[8]和李兴峰等^[9]的方法并稍加修改,采用两级固相萃取法对样品中甘油二酯和甘油三酯进行分离。取100 mg 样品溶解于5 mL 二氯甲烷中得到样品液,备用。以6 mL 正己烷活化固相萃取柱,取0.4 mL 样品液上样至活化后的固相萃取柱

中,加入6 mL正己烷洗脱甘油三酯,收集洗脱液于离心管中,氮气吹干;加入6 mL正己烷-乙酸乙酯(体积比70:30)洗脱甘油二酯,收集洗脱液于离心管中氮气吹干,加入0.4 mL二氯甲烷复溶,上样至活化后的第二根固相萃取柱中,重复上述洗脱流程,收集正己烷-乙酸乙酯(体积比70:30)洗脱液,氮气吹干备用。采用薄层色谱法(TLC)^[10]分析洗脱液的组成。

1.2.3 亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯异构体组成及含量的GC-MS测定

参照张思源等^[11]的方法并稍作修改对1.2.2纯化的甘油二酯进行衍生化。取纯化的甘油二酯10 mg于离心管中,加入吡啶和BSTFA/TMCS衍生化试剂共1 mL(其中BSTFA和TMCS用量按1 mg样品分别加入40、20 μ L计算),旋涡混匀后放入70 $^{\circ}$ C烘箱中反应30 min,取出冷却后过0.45 μ m有机滤膜,在4 $^{\circ}$ C条件下保存,采用配备EI离子源的三重四极杆串联气质联用仪进行检测^[12]。采用Agilent MassHunter软件进行数据处理,采用面积归一化法进行定量分析。

GC条件:Rxi-65TG(30 m \times 0.25 mm \times 0.1 μ m)或DB-5ms色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);载气为氦气,流速1.0 mL/min;升温程序为200 $^{\circ}$ C保持1 min,以20 $^{\circ}$ C/min上升至300 $^{\circ}$ C,保持3 min,以10 $^{\circ}$ C/min上升至320 $^{\circ}$ C,保持19 min,总分析时间30 min;进样口温度300 $^{\circ}$ C;分流比20:1;进样量1 μ L。

MS条件:电子冲击电离源(EI)70 eV,质量扫描范围(m/z)20~650,发射电流80 μ A。

1.2.4 亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯组成及含量的HPLC测定

取一定量1.2.2纯化的甘油二酯,参照汪勇等^[12]的方法采用HPLC检测其组成及含量。

2 结果与讨论

2.1 亚麻籽甘油二酯油脂脂肪酸组成

亚麻籽甘油二酯油脂脂肪酸组成与相对含量如表1所示。

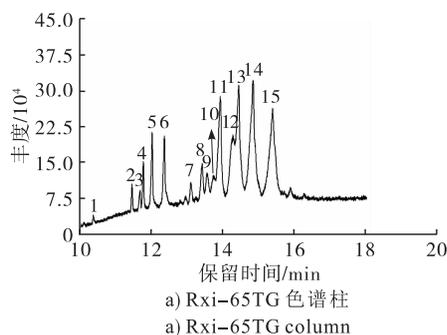


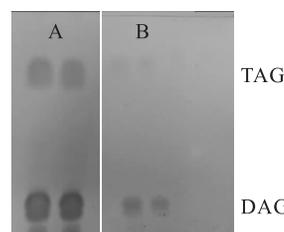
表1 亚麻籽甘油二酯油脂脂肪酸组成及相对含量
Table 1 Fatty acid composition and content of flaxseed diacylglycerol oil

脂肪酸	保留时间/min	相对含量/%
棕榈酸(P)	11.515	8.12
硬脂酸(S)	13.364	7.20
油酸(O)	13.548	26.16
亚油酸(L)	13.951	18.14
亚麻酸(Ln)	14.513	40.38

由表1可知,亚麻籽甘油二酯油中共鉴定出5种脂肪酸,其中饱和脂肪酸占比15.32%,不饱和脂肪酸占比84.68%,亚麻籽油特征脂肪酸亚麻酸相对含量最高(40.38%)。

2.2 分离纯化结果

收集的两次洗脱液经TLC分析,结果如图1所示。



注:A.一次洗脱甘油二酯;B.二次洗脱甘油二酯

Note:A. DAG eluted in the first wash; B. DAG eluted in the second wash

图1 亚麻籽甘油二酯油洗脱液TLC图

Fig.1 TLC diagram of the flaxseed diacylglycerol oil effluent

由图1可知,样品经过一次固相萃取分离后仍有部分甘油三酯存在,经过二次固相萃取分离后得到纯度较高的甘油二酯。因此,以二次分离得到的甘油二酯用于后续定性定量分析。

2.3 亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯异构体组成

2.3.1 不同气相色谱柱的分离效果

按1.2.3方法采用不同色谱柱分析亚麻籽甘油二酯,其总离子流色谱图如图2所示。

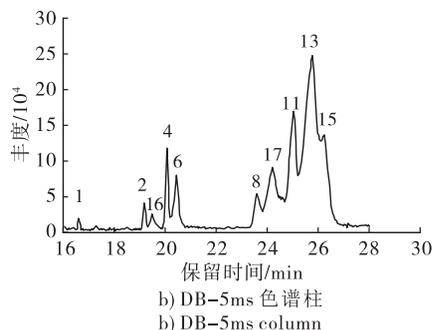


图2 亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯的总离子流色谱图

Fig.2 Total ion current chromatogram of DAG in flaxseed diacylglycerol oil

由图2可知,在相同的GC-MS条件下,与DB-5ms色谱柱相比,Rxi-65TG色谱柱分析的总离子色谱图峰分离度得到了很大的提高。Rxi-65TG色谱柱产生的色谱图上明显可见15种甘油二酯异构体的峰,而DB-5ms色谱柱产生的色谱图上仅能看到10个较明显的峰,且用时相对更长。可见,Rxi-65TG色谱柱相较于DB-5ms色谱柱更有利于甘油二酯的分离。

2.3.2 甘油二酯异构体组成

亚麻籽甘油二酯中脂肪酸对应特征离子碎片质荷比如表2所示。

由表2可知,亚麻籽甘油二酯中脂肪酸对应特征离子碎片有4个,除表中4个特征离子碎片外,甘油二酯衍生化后生成的化合物(TMS-DAG)在进行鉴定的过程中还需要 $[M-89]^+$ 和 $[M-15]^+$ 这两个离子的辅助。 $[M-89]^+$ 是TMS-DAG断掉硅烷

基后的离子片段, $[M-15]^+$ 是TMS-DAG硅烷基上一个甲基断掉后的离子片段^[12],根据 $[M-RCO_2]^+$ 、 $[RCO_2+58]^+$ 、 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 、 $[RCO]^+$ 、 $[M-89]^+$ 、 $[M-15]^+$ 这6个特征离子碎片即可推断出甘油二酯中脂肪酸组成。以图2a中峰2、峰10和峰133个比较有代表性的甘油二酯为例进行质谱分析,结果如图3、图4、图5所示。

表2 亚麻籽甘油二酯中脂肪酸对应特征离子碎片质荷比
Table 2 Corresponding characteristic ionic fragment mass-to-charge ratios of fatty acids in flaxseed DAG

脂肪酸	$[RCO]^+$	$[RCO_2+58]^+$	$[M-RCO_2CH_2]^+$	$[M-RCO_2]^+$
棕榈酸	239	313	371	385
硬脂酸	267	341	399	413
油酸	265	339	397	411
亚油酸	263	337	395	409
亚麻酸	261	335	393	407

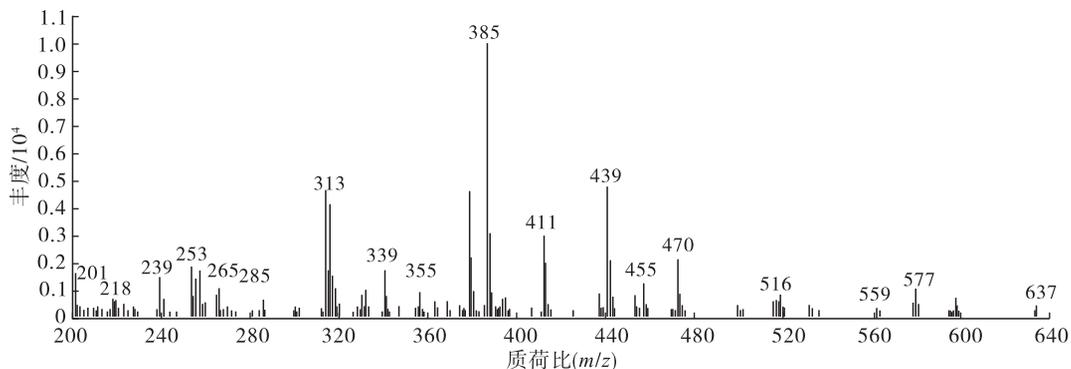


图3 峰2的质谱图

Fig. 3 Mass spectra of peak 2

由图3可知,峰2检测到的特征离子碎片有 m/z 385、 m/z 411、 m/z 313、 m/z 239、 m/z 265、 m/z 577 ($[M-89]^+$)。结合表2,由 m/z 385、 m/z 313、 m/z 239 3个特征离子碎片推断出甘油二酯中的一个酰基是棕榈酸生成,由 m/z 411、 m/z 265 特征离子碎片推断出甘油二酯中另一个酰基是油酸生成。 m/z 577 ($[M-89]^+$)对应 PO^+ 离子,其进一步证实了甘油二

酯的两个酰基是棕榈酸和油酸。 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 作为1,3-DAG存在的特征离子没有在质谱图中发现,推断峰2是1,2-DAG,且棕榈酸的 $[M-RCO_2]^+$ 作为基峰,其相对丰度大于油酸 $[M-RCO_2]^+$ 的相对丰度,故棕榈酸位于甘油二酯的sn-1位,油酸位于甘油二酯的sn-2位。综上所述,峰2是1-棕榈酸-2-油酸甘油二酯(1,2-P/O)。

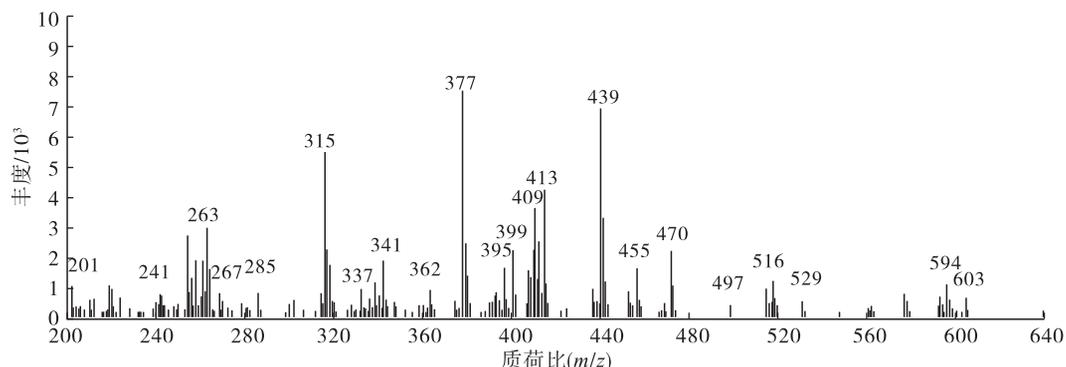


图4 峰10的质谱图

Fig. 4 Mass spectra of peak 10

由图4可知,峰10检测到的特征离子碎片有 m/z 413、 m/z 409、 m/z 337、 m/z 341、 m/z 395、 m/z 399、 m/z 263、 m/z 267、 m/z 603 ($[M-89]^+$)。结合表2,由 m/z 413、 m/z 341、 m/z 399、 m/z 267 4个特征离子碎片推断出甘油二酯中的一个酰基是硬脂酸生成, m/z 409、 m/z 337、 m/z 395、 m/z 263 4个特征离子碎片推断出甘油二酯中另一个酰基是亚油酸生成。 m/z 603 ($[M-89]^+$) 对应 SL^+ 离子,其进一步

证实了甘油二酯的两个酰基是硬脂酸和亚油酸。 m/z 395、 m/z 399 对应的特征离子碎片 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 出现在质谱图中,推断峰10是1,3-DAG,且硬脂酸 $[M-RCO_2]^+$ 的相对丰度大于亚油酸 $[M-RCO_2]^+$ 的相对丰度,故硬脂酸位于甘油二酯的 sn-1 位,亚油酸位于甘油二酯的 sn-3 位。综上所述,峰10是1-硬脂酸-3-亚油酸甘油二酯(1,3-S/L)。

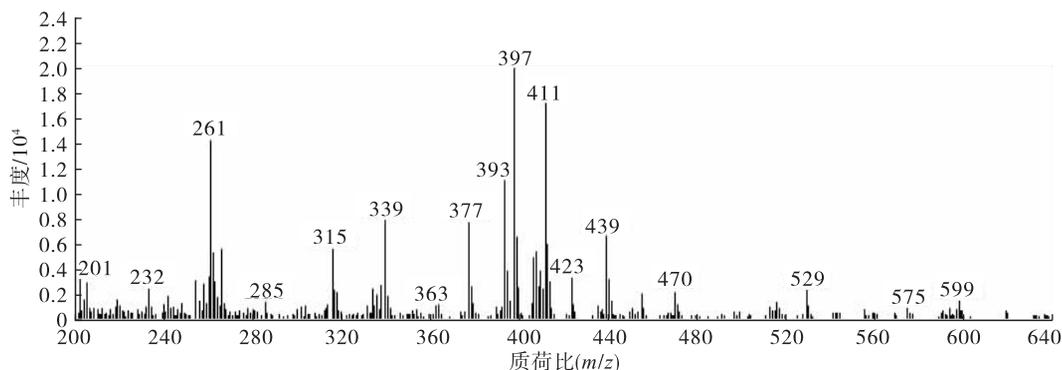


图5 峰13的质谱图

Fig. 5 Mass spectra of peak 13

由图5可知,峰13检测到的特征离子碎片有 m/z 411、 m/z 339、 m/z 397、 m/z 393、 m/z 261、 m/z 599 ($[M-89]^+$)。结合表2,由 m/z 411、 m/z 339、 m/z 397 3个特征离子碎片推断出甘油二酯中的一个酰基是油酸生成,由 m/z 393、 m/z 261 2个特征离子碎片推断出甘油二酯中另一个酰基是亚麻酸生成。 m/z 599 ($[M-89]^+$) 对应 OLn^+ 离子,其进一步证实了甘油二酯的2个酰基是油酸和亚麻酸。 m/z 393、 m/z 397 对应的特征离子碎片 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 出

现在质谱图中,推断峰13是1,3-DAG,且油酸 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 碎片作为基峰,其相对丰度大于亚麻酸 $[M-RCO_2CH_2]^+$ 的相对丰度,故油酸位于甘油二酯的 sn-1 位,亚麻酸位于甘油二酯的 sn-3 位。综上所述,峰13是1-油酸-3-亚麻酸甘油二酯(1,3-O/Ln)。

按上述方法,根据EI-MS色谱中特征离子碎片推断出图2a中15个峰对应的甘油二酯结构,结果如表3所示。

表3 亚麻籽甘油二酯中鉴定出的特征离子碎片、甘油二酯种类及其保留时间和含量

Table 3 Characteristic ionic fragments, DAG type and their retention time and content identified in flaxseed DAG

峰号	保留时间/ min	质荷比(相对丰度)						DAG 种类	含量/%
		$[M-RCO_2]^+$	$[RCO_2+58]^+$	$[M-RCO_2CH_2]^+$	$[RCO]^+$	$[M-89]^+$	$[M-15]^+$		
1	10.388	385(18%)	313	371(100%)	239	551	625(35%)	1,3-P/P	0.36
2	11.467	385(100%), 411(30%)	313(37%)	N/D	239,265	577	N/M	1,2-P/O	1.18
3	11.690	385(100%), 409(59%)	313(48%)	N/D	239,263	575	649	1,2-P/L	1.06
4	11.783	385(86%), 411	313(38%)	371(100%), 397(96%)	239,265	577	N/M	1,3-P/O	2.50
5	12.027	385(100%), 409	313(47%)	371(64%), 395	239,263(45%)	575	649	1,3-P/L	4.96
6	12.370	385(51%), 407	313(30%)	371(100%), 393(49%)	239,261	573	647(29%)	1,3-P/Ln	6.38
7	13.106	411(100%)	339(24%)	N/D	265	603	N/M	1,2-O/O	1.45
8	13.423	411(100%), 409(41%)	339	N/D	263	601	N/M	1,2-O/L	2.48

续表 3

峰号	保留时间/ min	质荷比(相对丰度)						DAG 种类	含量/%
		$[M - RCO_2]^+$	$[RCO_2 + 58]^+$	$[M - RCO_2CH_2]^+$	$[RCO]^+$	$[M - 89]^+$	$[M - 15]^+$		
9	13.563	411(100%)	339	397(79%)	265	603	N/M	1,3-O/O	2.01
10	13.724	413(75%), 409(47%)	341(32%), 337(15%)	395(19%), 399(34%)	263(44%), 267(11%)	603	N/M	1,3-S/L	2.32
11	13.921	411(100%), 409(29%)	339(27%)	397(31%)	263(49%)	601	N/M	1,3-O/L	12.24
12	14.279	409(100%), 407(59%)	337(36%)	395(32%)	261(69%)	597	N/M	1,2-L/Ln	9.38
13	14.440	411(98%)	339(37%)	397(100%), 393(57%)	261(64%)	599	N/M	1,3-O/Ln	15.75
14	14.839	407(100%), 409(99%)	337(35%)	395(82%), 393(72%)	261(54%)	597	N/M	1,3-L/Ln	21.36
15	15.384	407(68%)	335(18%)	393(100%)	261(30%)	595	N/M	1,3-Ln/Ln	16.57

注:N/D. 检测不到;N/M. 无法测定(由于 MS 的质量范围有限)

Note:N/D. Not detected;N/M. Not measurable(due to the limited mass range of MS)

2.4 亚麻籽甘油二酯的提取离子色谱(EIC)分析

由图 2 观察到 DB-5ms 中峰 16 和峰 17 在 Rxi-65TG 中没有对应的峰,但是对比发现 Rxi-65TG 有

峰 16 和峰 17 sn-1,3 位的同分异构体。根据亚麻籽甘油二酯特征离子碎片的质荷比从 Rxi-65TG 质谱图中提取离子色谱图,如图 6 所示。

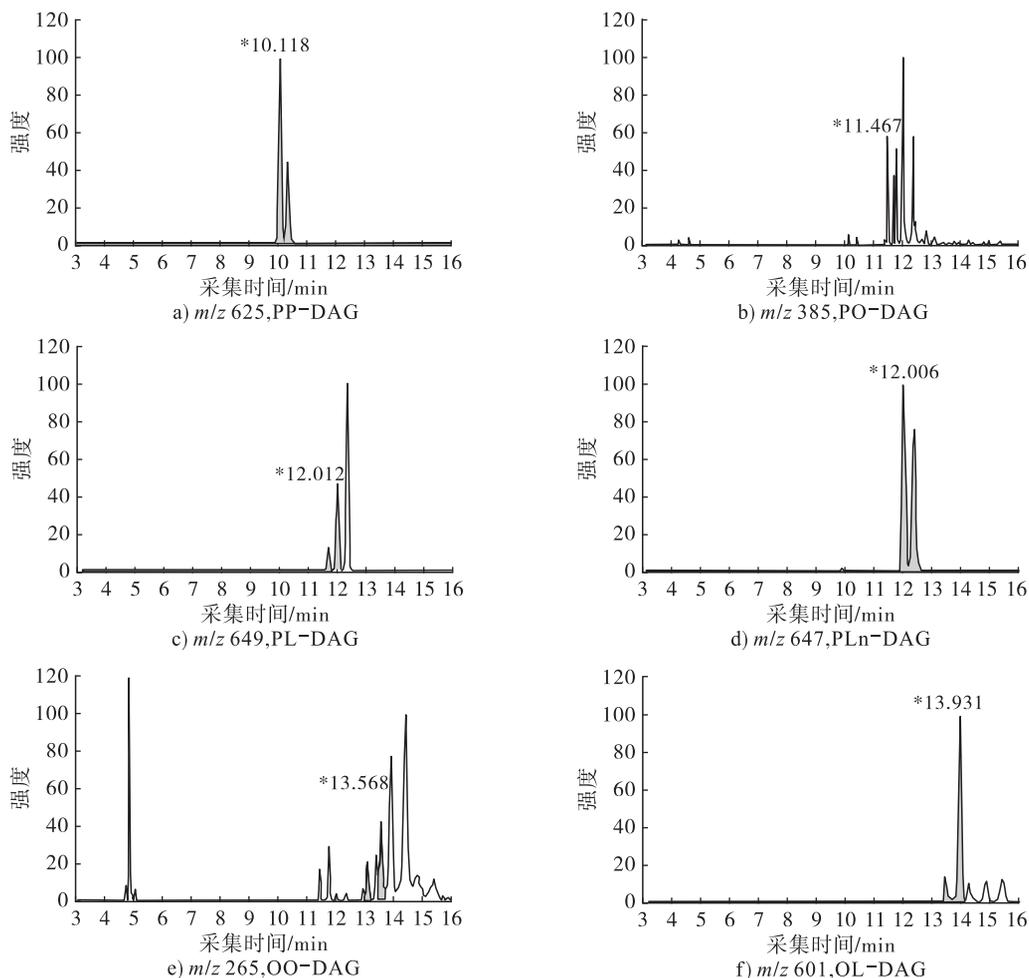


图 6 甘油二酯提取离子色谱图

Fig. 6 EIC diagram of DAG

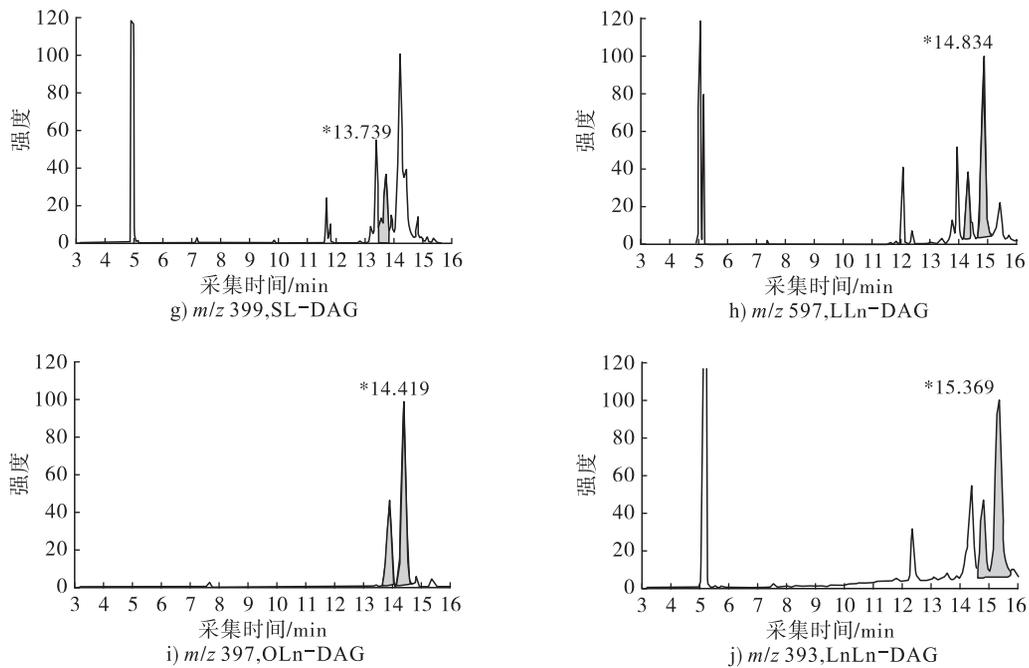


图6 甘油二酯提取离子色谱图(续)

Fig. 6 EIC diagram of DAG(continued)

由图6可知,提取离子色谱中共分析出10组亚麻籽油甘油二酯,每组甘油二酯含有sn-1,2位和sn-1,3位2个同分异构体(图中灰色峰),故本研究中亚麻籽甘油二酯油中共包含20种甘油二酯,其中5种未在图2a中显现出的甘油二酯异构体见表4。

表4 亚麻籽甘油二酯油中其余5种甘油二酯异构体组成及含量

Table 4 Composition and content of the other five DAG isomers in flaxseed DAG oil

峰号	甘油二酯	保留时间/min	含量/%
1*	1,2-P/P	10.118	-
6*	1,2-P/Ln	12.006	-
10*	1,2-S/L	13.558	-
13*	1,2-O/Ln	13.739	-
15*	1,2-Ln/Ln	14.839	-

结合表3、表4可知,亚麻籽甘油二酯油中1-亚油酸-3-亚麻酸甘油二酯(1,3-L/Ln)的含量最高,其次是1,3-二亚麻酸甘油二酯(1,3-Ln/Ln),含量最低的是1,3-二棕榈酸甘油二酯(1,3-P/P),其次是1-棕榈酸-2-亚油酸甘油二酯(1,2-P/L)。整体上,亚麻籽油甘油二酯异构体中1,2-甘油二酯占比15.55%,1,3-甘油二酯占比84.45%,1,2-甘油二酯与1,3-甘油二酯的比为1:5.43。另外,可以看出,同一种甘油二酯中sn-1,2位相较于sn-1,3位的保留时间短。

采用本研究方法对实验室自制的玉米甘油二酯

油和花生甘油二酯油进行测定,结果表明:玉米甘油二酯油中检测出10种甘油二酯,其中1-油酸-3-亚油酸甘油二酯(1,3-O/L)含量(54.00%)最高,1-棕榈酸-2-硬脂酸甘油二酯(1,2-P/S)含量(0.17%)最低;花生甘油二酯油中检测出13种甘油二酯,其中1,3-O/L含量(51.58%)最高,1,2-P/S含量(0.25%)最低。

2.5 亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯组成

采用HPLC测定亚麻籽甘油二酯油中甘油二酯的组成及含量,其色谱图如图7所示。

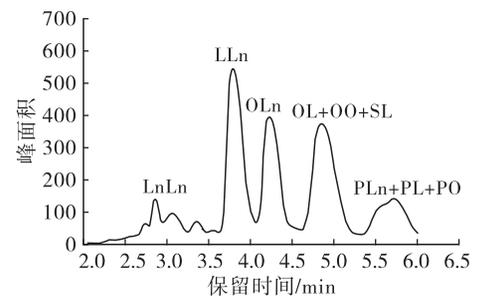


图7 亚麻籽甘油二酯 HPLC 谱图

Fig. 7 HPLC spectrum of flaxseed DAG

由图7可知,HPLC谱图中保留时间2~6min内的峰均为甘油二酯,包含LLn,OLn和OL等多种甘油二酯,经计算LLn和OLn的含量分别为41.18%和18.96%,相较于本研究使用的GC-MS测定值(30.74%和15.75%)稍大,这可能是由于这2个物质的HPLC峰与其他物质峰重叠导致。另外可以看出,HPLC测定物质色谱峰存在分不开的情况。

综上,与 HPLC 相比,本研究所采用的 GC - MS 可以实现物质的准确性与定量,且峰分离度好,故 GC - MS 对于亚麻籽甘油二酯异构体的分析较优。

3 结论

本研究将亚麻籽甘油二酯油通过两次固相萃取分离纯化得到高纯甘油二酯,再经 GC - MS 分析及 EIC 分析甘油二酯异构体组成。结果表明:亚麻籽甘油二酯油含有 20 种甘油二酯异构体,其中含有亚麻酸的甘油二酯含量最高,且每种甘油二酯均含有 sn - 1,2 位和 sn - 1,3 位 2 种同分异构体。与 HPLC 比较,GC - MS 可实现物质的准确性、定量,且峰分离度好。本研究对甘油二酯油中甘油二酯异构体的组成分析提供了一种可靠有效的方法。

参考文献:

[1] YANAI H, TOMONO Y, ITO K, et al. Diacylglycerol oil for the metabolic syndrome[J/OL]. *Nutr J*, 2007, 6: 43 [2023 - 12 - 06]. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-6-43>.

[2] 万思迪,朱恩恒,向霞,等. 甘油二酯的合成、代谢及应用研究进展[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(11): 270 - 278.

[3] 马巧霞,朱金芳,孙薇. 酶催化甘油解法制备甘油二酯马油工艺研究[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(4): 62 - 67.

[4] 高元娇,王宝维,吕宁,等. HPLC - ELSD 测定鸭油甘油二酯异构体方法的建立[J]. *食品科技*, 2021, 46

(7): 285 - 289.

[5] SIM H J, LEE S G, PARK N H, et al. Identification of triacylglycerols in coix seed extract by preparative thin layer chromatography and liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry[J]. *Anal Sci Technol*, 2017, 30(2): 102 - 111.

[6] 李一凡,王凤玲,王玉玮,等. 加热对亚麻籽油中脂肪酸种类和含量的影响[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(1): 10 - 13.

[7] 李高阳,丁霄霖. 亚麻籽油中脂肪酸成分的 GC - MS 分析[J]. *食品与机械*, 2005, 21(5): 37 - 39.

[8] 刘四磊. 酶法合成结构脂位置选择性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.

[9] 李兴峰,张志国. 固相萃取分离甘油三酯水解产物中的单甘酯[J]. *食品科技*, 2013, 38(7): 60 - 62, 66.

[10] 汪勇,宋珂珂,王丽丽,等. 反相高效液相色谱法测定甘油二酯含量研究[J]. *中国粮油学报*, 2010, 25(3): 119 - 123.

[11] 张思源,杨菁,李妙莲,等. 甘油二酯油的分析及其在面包中的应用初探[J]. *中国食品添加剂*, 2017(5): 137 - 142.

[12] ZHU H, CLEGG M S, SHOEMAKER C F, et al. Characterization of diacylglycerol isomers in edible oils using gas chromatography - ion trap electron ionization mass spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1304: 194 - 202.

(上接第 54 页)

[17] 姜兴兴,陈竞男. 大豆甾醇硬脂酸酯的合成工艺研究[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2019, 40(1): 32 - 37.

[18] 饶小勇,尹姗,张国松,等. HPLC 测定白头翁皂苷 D 的油水分分配系数及平衡溶解度[J]. *中国中药杂志*, 2014, 39(9): 1593 - 1596.

[19] FIRESTONE D. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society[M]. 6th ed. Champaign: AOCS Press, 2011.

[20] DENG Q, ZHANG P, HUANG Q, et al. Chemical synthesis of phytosterol esters of polyunsaturated fatty acids with ideal oxidative stability[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2011, 113(4): 441 - 449.

[21] HE W S, ZHU H, CHEN Z Y. Plant sterols: Chemical and enzymatic structural modifications and effects on their cholesterol - lowering activity[J]. *J Agric Food Chem*, 2018, 66(12): 3047 - 3062.

[22] MIAO M, LIU H, JIANG B, et al. Enzyme - catalysed synthesis of plant steryl laurate in non - aqueous media using salt hydrate pairs and its characterisation[J]. *J Funct Foods*, 2014, 7: 452 - 461.

[23] WANG H Q, JIA C, XIA X, et al. Enzymatic synthesis of phytosteryl lipoate and its antioxidant properties[J]. *Food Chem*, 2018, 240: 736 - 742.

[24] SOUPAS L, HUIKKO L, LAMPI A M, et al. Esterification affects phytosterol oxidation[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2005, 107(2): 107 - 118.