

气—质联用测定新疆石榴 籽油中脂肪酸含量

钱宗耀¹,步岩刚²,宋 斌¹

(1. 新疆农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,新疆 乌鲁木齐 830091;
2. 新疆维吾尔自治区昌吉回族自治州农产品检验检测中心,新疆 昌吉州 831100)

摘要:对石榴籽油中的脂肪酸成分进行测定研究。通过氢氧化钾-甲酯酯化反应,以十一烷酸甲酯为内标物,正己烷为萃取溶剂,采用气相色谱—质谱联用技术对石榴籽油中脂肪酸甲酯成分进行分析,辅助 NIST 库检索并分析各组分。建立内标法测定石榴籽油中脂肪酸含量的方法。结果表明,石榴籽油中主要成分为石榴酸,其含量超过 70% (w/w)。该方法前处理简便快捷,结果准确度高,分析时间较短,可为内标法测定脂肪酸含量提供借鉴。

关键词:石榴籽油;脂肪酸;气质联用;内标法;测定

中图分类号:TS 207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2016)01-0068-04

Determination of fatty acids from Xinjiang pomegranate seed oil by gas chromatography mass spectrometry

QIAN Zong-yao¹, BU Yan-gang², SONG Bin¹

(1. Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology Research, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Inurumqi Xinjiang 830091; 2. Changji Hui Autonomous Prefecture Agricultural Inspection Center, Uygur Autonomous Region Xinjiang 831100)

Abstract: Study on fatty acid composition of commercially available samples pomegranate seed oil. Through esterification reaction, using hexane as solvent direct injection and quantified by internal standard C_{11:0} methyl ester. Gas chromatography-mass spectrometry was used for analysis of fatty acid methyl ester, and NIST library search to identify various components. The results showed that puniceic acid were the main fatty acids in the sample which content more than 70% (w/w). This method is simple and fast, the analytic time is short and the result is accurate, which can provide reference for the similar products of fatty acid content.

Key words: pomegranate seed oil; fatty acids; GC-MS; internal standard method; content determine

石榴 (*Punica granatum* L.) 别名安石榴、海榴, 为石榴科石榴属落叶灌木或小乔木, 在我国亚热带及温带地区均有分布。石榴的果汁、果皮、种籽、花、叶等皆有保健作用^[1]。但是目前对石榴的利用主要在果实和果汁方面。研究表明, 石榴籽含油量高达 13%~23%, 石榴籽油中不仅含有多种不饱和脂肪酸, 还含油丰富的甾类、磷脂等成分, 具有较好的抗氧化、延缓衰老、降血糖、抗腹泻、预防动脉粥样硬化和减缓癌变进程等作用^[2-4]。随着现代科学技术的进步发展, 对石榴籽油的开发和研究已有一定进

展^[5-7], 但目前的研究仅集中在面积归一化法测定百分含量上, 本实验应用气相色谱—质谱联用对石榴籽油中脂肪酸的种类和含量进行分析, 本方法简便快捷, 色谱分离完全, 可为石榴籽油的脂肪酸含量检测提供可靠的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 样品与试剂

石榴籽油: 产地新疆和田地区; 正己烷、甲醇 (色谱纯): Fisher Scientific 公司; 氢氧化钾 (分析纯): 天津盛奥化学试剂厂;

脂肪酸甲酯混合标准品 (纯度 ≥ 99%); 内标物为十一烷酸甘油三酯 (5.00 mg/mL)。

收稿日期: 2015-06-09

作者简介: 钱宗耀, 1982 年出生, 男, 江苏苏州, 高级实验师。

通讯作者: 宋斌, 1967 年出生, 男, 上海, 畜牧师。

1.1.2 主要仪器

气相色谱—质谱联用仪:Perkin Elmer 公司;分析天平:OHAUS 公司;旋涡混合器:IKA 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 脂肪酸甲酯化

准确称取酸石榴籽油与甜石榴籽油样品各 1.00 g 于试管中,分别加入内标溶液 2 mL,加入 5.0 mL 氢氧化钾—甲醇溶液(2 mol/L),在 40 °C 水浴中进行脂肪酸甲酯化反应 20 min,冷却至室温后,分别加入 5.0 mL 正己烷萃取脂肪酸甲酯,每个样品振荡 30 s,静置分层后,取上层有机相稀释后用微孔滤膜(0.45 μm)过滤后进行气相色谱—质谱仪器进样分析。

1.2.2 气相色谱—质谱联用仪条件

色谱柱:FFAP(30 m × 0.25 mm × 0.5 μm);载气:氦气(99.999%);流速:1.0 mL/min;进样:1.0 μL,分流比 1:10;进样口温度:250 °C;程序升温:初始温度 80 °C,以 10 °C/min 升温至 230 °C,保持 15 min;离子化方式:电子轰击(EI);离子化能量:70 eV;离子源温度:230 °C;传输线温度 270 °C;溶剂延迟:2 min;扫描范围:50 ~ 450 amu;扫描方式:全离子扫描(SCAN)。

1.2.3 石榴籽油中脂肪酸组分定性分析

对 37 种脂肪酸标准进行全离子扫描分析,辅助 NIST2011 谱图库检索进行脂肪酸甲酯化合物质谱解析并确定各种脂肪酸甲酯的保留时间。通过保留时间及谱图检索匹配脂肪酸的化学结构。

1.2.4 脂肪酸组分定量分析

对样品的色谱图进行解析,通过内标法进行计算:

$$X_i = F_i \times \frac{A_i}{A_{C_{11}}} \times \frac{C_{C_{11}} \times V_{C_{11}} \times 1.0067}{m} \times 100;$$

$$F_i = \frac{C_{S_i} \times A_{C_{11}}}{A_{S_i} \times C_{C_{11}}}$$

式中: X_i —样品中脂肪酸甲酯 i 的含量,% ; F_i —脂肪酸甲酯 i 的响应因子; A_i —样品中脂肪酸甲酯 i 的峰面积; $A_{C_{11}}$ —样品加入内标物甲酯峰面积; $C_{C_{11}}$ —内标物浓度,mg/mL; $V_{C_{11}}$ —样品加入内标物体积,mL; 1.0067—十一碳酸甘油三酯转化为甲酯的转换系数; m —样品的质量,mg; C_{S_i} —混标中脂肪酸甲酯 i 的浓度,mg/mL; A_{S_i} —脂肪酸甲酯 i 的峰面积。 $C_{C_{11}}$ —混标中十一碳酸甲酯的浓度,mg/mL。

2 结果与分析

2.1 样品前处理方法

通过气相色谱法测定脂肪酸需要进行甲酯化反

应,常规的甲酯化方法有三氯化硼法、三甲基氢氧化硫法(TMSH)法、重氮甲烷、盐酸—甲醇、硫酸—甲醇和氢氧化铵—甲醇等^[8-9],这些方法均有一定的局限性。本实验采用氢氧化钾—甲醇法进行甲酯化反应,通过多次试验均证明效果较好^[10-11],该方法操作过程无危害、简单快速、重现性好。

2.2 脂肪酸甲酯色谱分离

通过对脂肪酸甲酯混合标准进样,用优化的色谱条件进行分析,得到的色谱图见图 1,各组分的保留时间及响应因子 F_i 值见表 1。由此可见混合标准中各种脂肪酸甲酯分离良好,组分之间相互不干扰,已达到定量分析的要求。

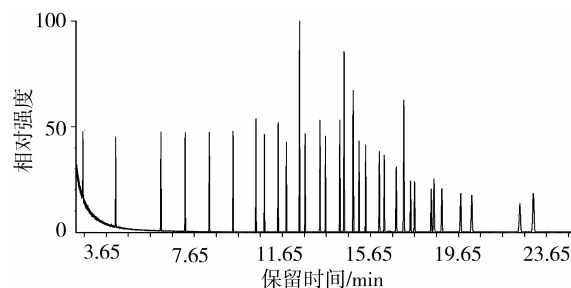


图 1 脂肪酸甲酯混合标准总离子流色谱图

表 1 脂肪酸甲酯保留时间及响应因子

序号	保留时间	化学成分(脂肪酸甲酯)	响应因子 F_i
1	2.95	C _{6:0} 己酸甲酯	1.42
2	4.08	C _{8:0} 辛酸甲酯	1.17
3	6.14	C _{10:0} 癸酸甲酯	1.04
4	7.24	C _{11:0} 十一烷酸甲酯	1.00
5	8.33	C _{12:0} 十二烷酸甲酯	0.96
6	9.41	C _{13:0} 十三烷酸甲酯	0.95
7	10.45	C _{14:0} 肉豆蔻酸甲酯	0.86
8	10.84	C _{14:1} 肉豆蔻烯酸甲酯	0.98
9	11.46	C _{15:0} 十五烷酸甲酯	0.84
10	11.83	C _{15:1} 十五烷烯酸甲酯	1.05
11	12.43	C _{16:0} 棕榈酸甲酯	0.39
12	12.68	C _{16:1} 棕榈油酸甲酯	0.92
13	13.36	C _{17:0} 十七烷酸甲酯	0.81
14	13.61	C _{17:1} 十七烷烯酸甲酯	0.97
15	14.26	C _{18:0} 硬脂酸甲酯	0.80
16	14.46	C _{18:1(Z)} 油酸甲酯	0.82
17	14.87	C _{18:2(Z,Z)} 亚油酸甲酯	0.80
18	15.13	C _{18:3} 亚麻酸甲酯	0.99
19	15.43	C _{18:3} 亚麻酸甲酯	0.94
20	16.05	C _{20:0} 花生酸甲酯	0.84
21	16.28	C _{20:1} 花生一烯酸甲酯	0.94
22	16.82	C _{20:2} 花生二烯酸甲酯	0.93
23	17.17	C _{20:3} 花生三烯酸甲酯	0.88
24	17.47	C _{20:4} 花生四烯酸甲酯	1.16
25	17.65	C _{21:1} 二十一烷酸甲酯	1.12
26	18.41	C _{20:5} EPA	1.23
27	18.53	C _{22:0} 山嵛酸甲酯	0.91
28	18.88	C _{22:1} 芥酸甲酯	1.08
29	19.75	C _{22:2} 二十二烷二烯酸甲酯	1.09
30	20.25	C _{23:0} 二十三烷酸甲酯	0.99
31	22.44	C _{24:0} 木蜡酸甲酯	1.05
32	23.05	C _{24:1} 神经酸甲酯	0.71

2.3 样品中脂肪酸成分分析

根据仪器分析结果可以确定出石榴籽油中脂肪酸甲酯组分。由气相色谱—质谱仪器的工作软件得到的样品总离子流图,见图2。

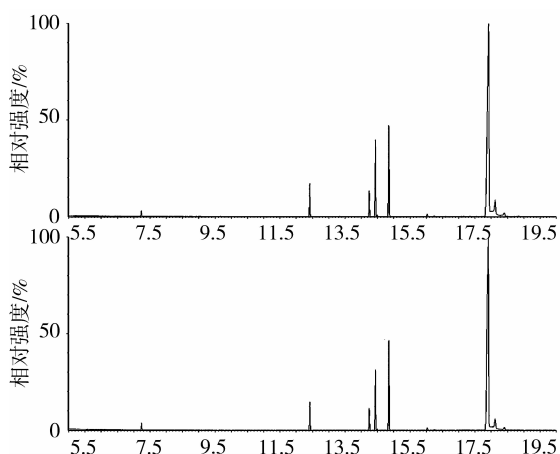


图2 石榴籽油的脂肪酸甲酯总离子流色谱图
(a 酸石榴籽油;b 甜石榴籽油)

2.4 色谱仪器重现性试验

取同一样品重复测定3次,按试验步骤进行分析,其中各脂肪酸含量变异系数(CV)值均低于3%,表明本试验的仪器稳定性较好,测定数据符合

要求。

2.5 方法精密度试验

称取5个样品按方法进行脂肪酸甲酯化试验,测定其含量并计算相对标准偏差(RSD),实验结果见表2。从表中可以看出,RSD值均小于9%,可见方法精密度较好。

2.6 脂肪酸含量测定结果

在所测的样品中含有约10种脂肪酸,由内标法计算得到的脂肪酸甲酯的平均含量见表2,其中在17.91 min和18.12 min出峰的组分经过定性分析,确定为石榴酸甲酯和桐酸甲酯,由于其结构与亚麻酸甲酯互为同分异构体,故在计算中以亚麻酸的响应因子进行换算。通过实验数据可以得出石榴酸甲酯含量最高。按国家标准^[12]脂肪酸甲酯转换为脂肪酸甘油三酯系数以及转换脂肪酸系数的计算结果及通过脂肪酸种类分析对比见表3。通过换算可见酸石榴籽油总脂肪含量要高于甜石榴籽油,经过计算,酸、甜两种石榴籽油的SFA: MUFA: PUFA分别为:1:2:17.5和1:1.8:18.3。两种样品的脂肪酸含量对比见图3,通过图3所示两种石榴籽油的脂肪酸类型所占比例均无明显差异。

表2 石榴籽油脂肪酸甲酯含量测定结果(n=5)

序号	保留时间	脂肪酸组分	酸石榴籽油					RSD%	甜石榴籽油					RSD%	
			测定含量/(g/100g)						测定含量/(g/100g)						
			1	2	3	4	5	平均	1	2	3	4	5	平均	
1	12.41	C16:0	0.84	0.92	0.85	0.94	0.85	0.88	5.3	0.51	0.55	0.57	0.61	0.56	0.56
2	14.25	C18:0	1.40	1.52	1.54	1.39	1.25	1.42	8.2	0.87	0.89	0.96	0.99	0.89	0.92
3	14.43	C18:1(Z)*	4.77	4.70	4.61	4.63	4.69	4.68	1.4	2.68	2.79	2.71	2.80	2.67	2.73
4	14.51	C18:1(E)*	0.09	0.09	0.08	0.09	0.10	0.09	7.9	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
5	14.85	C18:2(Z,Z)*	5.89	5.83	5.81	5.93	5.89	5.87	0.8	3.86	3.88	3.96	3.98	3.97	3.93
6	16.05	C20:0	0.16	0.17	0.17	0.17	0.18	0.17	4.2	0.11	0.10	0.11	0.11	0.12	0.11
7	16.28	C20:1*	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.0	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
8	17.92	C18:3*(a)	36.1	37.4	36.5	36.9	36.6	36.7	1.3	22.9	23.1	23.9	23.8	24.3	23.6
9	18.12	C18:3*(b)	1.68	1.73	1.71	1.66	1.72	1.70	1.7	0.89	0.87	0.96	0.99	0.84	0.91
10	18.53	C22:0	0.61	0.66	0.60	0.63	0.65	0.63	4.0	0.26	0.24	0.28	0.3	0.27	0.27

注: * 不饱和脂肪酸;a 石榴酸甲酯;b 桐酸甲酯。

表3 脂肪酸种类分析结果

种类	酸石榴籽油/%	甜石榴籽油/%
总脂肪	50.96	32.95
饱和脂肪酸	2.35	1.51
单不饱和脂肪酸	4.85	2.67
多不饱和脂肪酸	41.98	27.44

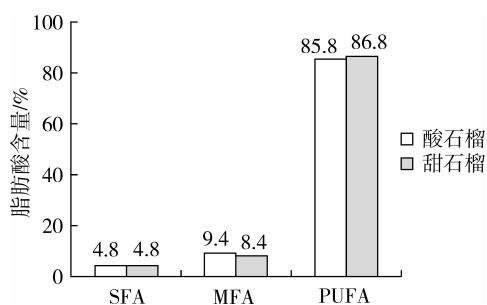


图3 脂肪酸含量对比图

3 小结

内标法是色谱检测中较为常用的定量方法,一般在内标物的选择上要求较高,但对试验过程要求相对较低。本试验的方法可准确测定脂肪酸的含量,通常选择的内标物有十一烷酸、十七烷酸、二十三烷酸等单饱和脂肪酸的甲酯化组分,本研究选择十一烷酸甲酯作为内标物。

从实验结果可以看出,石榴籽油中不饱和脂肪酸含量高达90%,在脂肪含量上同产地品种的酸石榴高于甜石榴。其中石榴酸和桐酸是共轭三烯不饱和脂肪酸,与高营养价值的亚麻酸是同分异构体,因此受到国内外研究机构的重视,石榴籽油的提取与药用保健的研究开发将具有广阔的前景。

建立了气-质联用测定脂肪酸含量的方法,具有较高的甲酯化反应效率,实验过程简单,测定结果重复性较好,适合作为测定同类产品脂肪酸含量的分析方法。

参考文献:

- [1] 王晓瑜,高晓黎,买尔旦·马合木提. 石榴的药理学研究进展[J]. 中国医药导报,2008,5(7):13-15.
- [2] 袁博,戈群妹,冯友建,等. 石榴籽油的脂肪酸测定及功能[J]. 食品科学,2010,31(14):170-173.
- [3] 李海霞,王钊,刘延泽. 石榴科植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药,2002,33(8):765-769.
- [4] SINGH R P, MURTHY K N C, JAYAPAKASHA G K. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extracts using in vitro models[J]. Journal of Agricultural Food Chemistry, 2002, 50: 81-86.
- [5] 陈业高,卢艳,刘莹,等. 石榴籽油脂肪酸成分的分析[J]. 食品科

学,2003,24(11):111-112.

- [6] 赵云荣,王文领,王勇,等. 石榴籽中脂肪酸成分分析[J]. 化学研究,2005,16(2):72-74.
- [7] 苗利利,仇农学,庞福科,等. 不同提取方法对石榴籽油中石榴酸含量的影响[J]. 中国油脂,2009,34(3):6-8.
- [8] 庄俊钰,冯志强,谢忠阳. 气相色谱内标法测定深海鱼油中的EPA和DHA[J]. 现代食品科技,2009,25(11):1363-1365.
- [9] 吴伟都,金世梅,朱慧. 气相色谱内标法测定奶粉及乳饮料中的DHA和EPA[J]. 食品科技,2000,(6):56-57.
- [10] 钱宗耀,曹晓倩,王成. 气质联用法分析鱼油胶囊中脂肪酸组成[J]. 粮油食品科技,2014,22(6):44-45.
- [11] 钱宗耀,郑伟华,华震宇,王成. 气质联用技术分析玫瑰花中脂肪酸组成[J]. 江苏农业科学,2014,42(2):241-242.
- [12] GB/T 22223—2008,食品中总脂肪、饱和脂肪(酸)、不饱和脂肪(酸)的测定 水解提取-气相色谱法[S]. 2008. ㉞

(上接第24页)

无论激振合力作用线与筛体质心的相对位置如何,筛体上各点的运动轨迹都近似为一条直线,同时对筛体质心的运动没有影响。

激振合力作用线偏移筛体质心的位置主要影响筛体的 y 向振幅,对 x 向振幅影响较小。

激振合力作用线偏移筛体质心时,筛面末端点 G 的振幅与筛面其它点振幅的变化趋势相异,这种现象有必要进一步深入研究。

根据筛体以上运动规律、被处理物料的性质和筛分目的,通过设置合理的激振合力作用线偏移筛体质心的距离和位置,使振动筛对物料的自动分级、筛分效率和输送速度达到理想效果。

参考文献:

- [1] 阮竞兰,屈少敏. 往复振动筛运动参数的优化设计[J]. 中国粮油

学报,2001,16(3):60-62.

- [2] 胡继云,张玺斌,南瑞民. 惯性往复振动机械水平和铅垂支承刚度设计[J]. 中国粮油学报,2009,10:120-123.
- [3] 胡继云,雷飞,秦玉良. 惯性往复振动机械阻尼值设计的理论研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版),2010,31(2):19-22.
- [4] 廉振红. 惯性往复振动机械的系统设计理论及其应用[D]. 河南工业大学硕士论文,2007.
- [5] 刘洁源. 直线振动筛的动力学分析与结构优化设计[D]. 太原理工大学硕士论文,2012.
- [6] 张永林,王章海. 振动电机激振的振动筛运动分析及主参数设计[J]. 粮食与饲料工业,1998(9):18-19.
- [7] 刘绍文. TQLZ 振动分级筛振动设计[J]. 粮食与饲料工业,1992(6):15-17.
- [8] 于京阁,董怀荣,安庆宝. 合成激振力不通过筛箱质心时的振动筛动力学分析[J]. 石油钻探技术,2009,37(4):76-79.
- [9] 李洪昌,李耀明. 基于 EDEM 的振动筛数值模拟与分析[J]. 农业工程学报,2011,27(5):117-121. ㉞