

微波辅助衍生 GC- MS 测定脂肪酸及校正变换矩阵法用于食用植物油鉴别的研究

何小青¹, 许德英², 罗美中¹, 蓝勇波¹

(1. 深圳市计量质量检测研究院, 广东 深圳 518055; 2. 广州铝材厂有限公司, 广东 广州 510036)

摘要: 建立了微波衍生化 GC- MS 测定食用植物油中的脂肪酸含量, 并采用校正变换矩阵法对食用植物油的成分进行测定的方法。对微波衍生化的实验条件进行了优化, 利用建立的校正模型对 40 个花生油、菜籽油、芝麻油、棉籽油、棕榈油的二元、三元、四元、五元人工合成样品进行了计算预测, 所有样品的平均预测误差都小于 5%。对 8 个实际样品进行了测定, 其中有 3 个掺伪样品, 所测调和食用油的结果与标签标示结果相符性较好。本方法可用于快速、准确地测定食用油中各成分含量或定性、定量鉴别掺伪成分。

关键词: 微波衍生化; 气相色谱- 质谱; 校正变换矩阵法; 脂肪酸; 食用油; 鉴别

中图分类号: O657. 6; TS225. 1 文献标识码: A 文章编号: 1004- 4957(2005) 01- 0025- 04

A Microwave-assisted Derivatization and GC- MS Method Coupled with Calibration Transformation Matrix for Determination of Fatty Acid in Edible Oils

HE Xiao-qing¹, XU De-ying², LUO Mei-zhong¹, LAN Yong-bo²

(1. Shenzhen Academy of Metrology and Quality Inspection, Shenzhen 518055, China; 2. Guangzhou Aluminum Material Plant Co. Ltd., Guangzhou 510036, China)

Abstract: A microwave-assisted derivatization and GC- MS method coupled with calibration transformation matrix was developed for determination of fatty acid in edible oils. The optimum conditions for microwave-assisted derivatization were investigated in detail. The calibration model was verified with 40 synthetic samples containing known contents of peanut oil, rape oil, sesame oil, cotton oil, and palm oil. The average deviations from the known values for all samples were less than 5%. Eight commercial samples were analyzed with this method, and three products were identified as being adulterated. The results from other samples agreed fairly well with what was given on the labels. This method can be used to determine the contents of edible oils rapidly and accurately, as well as to identify adulterated commercial products.

Key words: Microwave-assisted derivatization; GC- MS; Calibration transformation matrix; Fatty acid; Edible oils; Adulteration

常用的食用油有花生油、菜籽油、大豆油、芝麻油、棕榈油等, 这些植物油因种类、营养价值不同而价格差异很大, 市场上以次充好的掺假现象比较普遍, 如何识别油的真伪一直是油类贸易中的一大难题。为了保护合法生产经营者和广大消费者的利益, 寻找一种快速可靠的方法以鉴别食用油的真伪无疑具有重要意义。

判断食用油掺假的传统方法主要是对不同食用油总的物理和化学特征(如密度、凝固点、折光率、碘值及不饱和度等)进行比较, 但由于各种油之间物理化学特征的相似性以及近年来一些调和食用油的出现, 使这些方法的使用受到很大的限制, 无法鉴别掺伪油品。自 20 世纪 80 年代以来, 越来越倾向于用气相色谱测定油中脂肪酸含量, 化学计量学方法解决食用油鉴别的难题。魏明^[1]等人通过用气相色谱测定不同掺假油中脂肪酸含量的变化来定量判断植物油掺假情况; Abu-Hadeed 和 Kotb^[2]利用矩阵变换法, 基于食用油中脂肪酸、甾醇和生育酚的含量, 对菜籽油的掺假进行了检测。马亨等人^[3]用校正变换矩阵法对花生油中掺假情况进行了研究。对于气相色谱法测定脂肪酸, 首先需将脂肪酸甲酯化, 目前多采用 $\text{BF}_3 \cdot \text{CH}_3\text{OH}$ ^[3], 硫酸- 甲醇^[4], KOH- 甲醇体系^[5, 6]在常温或加热下进行甲酯化, 但这些甲

收稿日期: 2003- 12- 31; 修回日期: 2004- 09- 30

作者简介: 何小青(1971-), 男, 江西进贤人, 硕士研究生, Tel: 0755- 26941611, E-mail: hxxq@21cn.com

酯化方法都需 20~30 min, 不适用于大批量样品的测定。本文建立了利用微波进行加热, 选用硫酸-正庚烷-甲醇体系作衍生化试剂, 气相色谱法定量测定油中各脂肪酸含量, 然后利用校正矩阵法处理后得出样品中各种油的含量, 从而达到鉴别真伪食用油的目。此方法快速、准确, 适用于大批量样品的测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

MK_1 型压力自控微波炉(上海新科微波技术应用研究所), HP_6890 气相色谱仪带质谱检测器(MSD_5973)配 G1701B_02_05 工作站(Hewlett-Packard, USA), 所用色谱柱为 HP5_MS 熔融毛细管柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm, 5% 聚苯甲氧基硅氧烷+95% 聚二甲基硅氧烷)。800 型离心沉淀机(常州市园华仪器厂)。

甲醇、正庚烷、苯、石油醚、KOH 均为分析纯试剂(广州化学试剂厂); 正十九酸, 37 种脂肪酸甲酯混合标样(Sigma 公司)。

1.2 GC-MS 操作条件

进样口温度 240 °C, 柱温采用程序升温, 初温 140 °C, 保持 3 min 后以 3 °C/min 速率升至 180 °C, 恒温 1 min, 再以 1.5 °C/min 升至 220 °C, 保持 7 min, 最后以 40 °C/min 升至 280 °C, 保持 5 min。载气为高纯氮气, 流速 1.0 mL/min。采用分流进样: 分流比为 100:1, 进样量为 1 μL。

1.3 样品处理

准确称取 50 mg 样品于 PTFE 溶样杯中, 加入 0.002 mg 正十九酸作为内标物, 加入甲醇-正庚烷-硫酸(体积比 64:33:3)溶液 5.0 mL, 摇动使样品均匀分散于溶液中, 盖好密闭活塞后放入密闭溶样罐中, 旋好外盖, 置于微波炉中于 600 W 功率接受辐射 40 s 后取出, 放置空气或流水中冷却至密闭罐中压力恢复至常压。将溶液转移至 10 mL 的带盖离心管中, 用 2 mL 正庚烷分两次洗涤溶样杯, 将洗涤液合并于离心管中, 振荡后将离心管置于离心沉淀机中以 3000 r/min 旋转 1 min 后, 取上层有机相进行 GC-MS 分析。

2 数学模型

本文的数学模型见文献[3]。

3 结果与讨论

3.1 微波条件的优化

对植物油中脂肪酸的测定, 酸性体系能使酰基甘油及自由脂肪酸都转化为脂肪酸甲酯, 而碱性体系只能使酰基甘油转化为脂肪酸甲酯, 为了能用自由脂肪酸作为内标来校正衍生化和色谱测定, 本文选用酸性体系作为衍生化试剂。根据文献[7], 选用 10% (v/v) HCl-甲醇(体积比 10:90)、甲醇-苯-H₂SO₄(体积比 64:33:3)、甲醇-正庚烷-H₂SO₄(体积比 64:33:3) 3 个体系作为衍生化溶液, 为避免溶液泄漏, 选用微波压力第一档(0~0.5 MPa)。微波功率、微波加热时间、衍生化溶液及衍生化溶液体积按 4 因素 3 水平正交法进行试验选优。通过对结果的分析, 发现在 600 W 功率下以 5.0 mL 甲醇-苯-H₂SO₄ 体系作衍生溶液, 微波加热 60 s 能得到较好结果。HCl-甲醇体系在各种条件下其结果较其它两种体系有较大降低, 这是由于其它体系中含有脂溶性溶剂苯或正庚烷, 能使酰基甘油和自由脂肪酸充分与甲醇接触, 大大加快了反应的速度。甲醇-苯-H₂SO₄、甲醇-正庚烷-H₂SO₄ 两体系及加热 40 s 与 60 s 所得结果相差不大, 但由于正庚烷毒性较苯小且为了省时及避免溶液泄漏, 本实验选用 5.0 mL 甲醇-正庚烷-H₂SO₄ 体系衍生化溶液, 加热 40 s 为实验条件。

3.2 最佳校正样品数的选择

花生油、菜籽油、芝麻油、棕榈油、棉籽油为常见的食用油, 经常被不法分子掺假或被用来掺假。本实验对这 5 种食用油中的 11 种脂肪酸含量进行了测定, 表 1 为 5 种油中 11 种脂肪酸测定 10 次的平均含量。

表 1 不同食用油中的脂肪酸含量(w/% , n= 10)
Table 1 Contents of fatty acids in different edible oils(w/% , n= 10)

Fatty acid 脂肪酸	Peanut oil 花生油	Gingeli oil 芝麻油	Rape oil 菜籽油	Palm oil 棕榈油	Cotton oil 棉籽油
C ₁₄ : 0	0. 05	0. 08	—	1. 08	1. 75
C ₁₆ : 0	13. 67	8. 32	5. 87	41. 81	20. 90
C ₁₆ : 1	0. 01	0. 05	0. 27	0. 24	0. 92
C ₁₈ : 0	4. 10	5. 26	2. 36	4. 10	1. 83
C ₁₈ : 1	40. 93	40. 65	61. 22	42. 55	22. 67
C ₁₈ : 2	34. 83	43. 26	18. 17	8. 62	50. 71
C ₁₈ : 3	0. 01	0. 31	8. 11	—	0. 07
C ₂₀ : 0	1. 80	0. 28	0. 65	0. 70	0. 36
C ₂₀ : 1	1. 00	0. 89	1. 58	0. 30	0. 11
C ₂₂ : 0	3. 28	0. 10	0. 30	—	0. 28
C ₂₂ : 1	0. 06	—	0. 68	—	0. 06

用配置的校正对 20 组二元模拟样品、10 组三元模拟样品及 8 组四元模拟样品选用上述 11 种脂肪酸作为检测指标进行了预测, 结果表明, 当二元校正样品数是 12、三元模拟样品数为 24、四元模拟样品数是 32 时, 能得到最佳的预测结果。其主要原因是当校正样品过少时不能完全覆盖所有的样品点, 而过多的校正样品数又会引起额外的误差。

3. 3 模拟样品的测定

用微波辅助衍生化 GC- MS 法对花生油、菜籽油、芝麻油、棕榈油及棉籽油配置的一系列二元、三元、四元、五元模拟样品中的 11 种脂肪酸含量进行了测定, 并用校正变换矩阵法对模拟样品进行计算, 结果见表 2。模拟样品的平均预测误差可通过 $\frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n \sqrt{w_A(i) - w_C(i)} \right)^2$ 来表述。式中 w_A 和 w_C 分别为油样在混合油中的真实含量及计算值。

表 2 校正变换矩阵法对模拟样品中不同食用油含量的计算结果及预测误差
Table 2 The calculated results and forecast predicted errors from the analysis of simulated samples after treating with the calibration transformation matrix method

No	Real content w/%					Calculated content w/%					Mean forecast error/%
	Peanut oil	Rape oil	Gingeli oil	Cotton oil	Palm oil	Peanut oil	Rape oil	Gingeli oil	Cotton oil	Palm oil	
1	9. 97	90. 03				12. 01	87. 99				2. 04
2	20. 05	79. 95				21. 34	78. 66				1. 31
3	39. 89	60. 11				43. 69	56. 31				3. 80
4	59. 96	40. 04				58. 16	41. 84				1. 80
5	80. 05	19. 05				83. 66	16. 34				3. 16
6	10. 00		90. 00			9. 02			90. 98		0. 98
7	20. 03		79. 97			24. 61			75. 39		4. 58
8	40. 02		59. 98			38. 76			61. 24		1. 26
9	59. 94		40. 04			62. 38			37. 62		2. 43
10	80. 07		19. 93			77. 96			22. 04		2. 11
11		10. 36			89. 64		12. 62			87. 38	2. 26
12		20. 11			79. 89		18. 61			81. 39	1. 50
13		39. 87			60. 13		42. 85			57. 15	2. 98
14		59. 94			40. 06		63. 09			36. 91	3. 15
15		80. 99			19. 01		83. 56			16. 44	2. 57
16			20. 00	80. 00				23. 59	76. 41		3. 59
17			40. 29	59. 71				39. 01	60. 99		1. 28
18			60. 35	39. 65				63. 23	36. 77		2. 88
19			79. 62	20. 38				81. 36	18. 64		1. 74
20	10. 31	45. 25	44. 24			11. 02	47. 65	41. 33			2. 01
21	29. 91	30. 64	39. 45			27. 89	31. 25	40. 86			1. 35
22	60. 08	20. 31	19. 61			62. 66	19. 35	17. 99			1. 72
23	80. 06	10. 56	9. 38			82. 54	12. 08	5. 38			2. 67
24		40. 84		31. 25	27. 91		41. 39		33. 67	24. 94	1. 98
25		59. 68		20. 36	19. 96		62. 97		18. 09	18. 94	2. 19
26		81. 33		10. 01	8. 66		79. 21		8. 69	12. 10	2. 29
27			10. 55	60. 32	29. 13			12. 58	63. 13	24. 29	3. 23

(续表 2)

No	Real content w/%					Calculated content w/%					Mean forecast error/%
	Peanut oil	Rape oil	Gingeli oil	Cotton oil	Palm oil	Peanut oil	Rape oil	Gingeli oil	Cotton oil	Palm oil	
28			38.68	30.45	30.87			35.29	32.57	32.14	2.26
29			75.21	9.65	15.32			76.63	11.22	12.15	2.05
30	10.11	70.54	8.62	10.73		8.88	71.36	9.02	10.74		0.62
31	30.52	9.33	50.28	9.87		33.15	7.26	51.39	8.20		1.87
32	58.33	6.34	8.12	27.12		60.38	8.10	8.24	23.28		1.94
33	81.66	2.87	3.08	12.39		78.20	3.30	3.69	14.81		1.73
34		6.95	8.64	60.33	24.08		7.02	9.33	58.34	25.31	1.00
35		35.77	3.23	10.32	50.68		33.06	3.94	8.59	54.41	2.22
36		70.11	18.39	6.89	4.61		66.33	19.26	7.25	7.16	1.89
37	20.63	20.39	21.66	19.01	18.31	21.30	18.26	18.69	20.53	21.22	2.04
38	80.22	6.87	3.32	7.21	2.38	75.23	8.02	3.86	7.03	5.86	3.07
39	8.66	78.36	5.01	4.25	3.72	9.03	75.43	5.55	5.03	4.96	1.17
40	5.37	6.22	79.23	2.80	6.38	5.32	6.39	75.36	3.64	9.29	1.57

从表 2 结果可知, 用校正变换矩阵法对二元、三元、四元及五元样品进行预测计算可得满意的结果, 其平均预测误差都小于 5%。这主要是由于校正及预测样品的配置使用的是同种单一油样, 在测定实际样品时, 要考虑单一油样由于产地、品种不同而引起的误差。最好采用与所测样品相同产地、品种的同种油样来配置校正样品或测定不同产地、品种同种油样中脂肪酸的平均含量来进行校正。

3.4 实际样品的测定

用本文所述的方法对市场抽查的 8 个样品进行了测定, 结果见表 3。其中花生油 2# 可能掺入了菜籽油和棉籽油, 1#、2# 芝麻油掺入了棉籽油; 食用调和油所测结果与产品配料表所标的结果能较好地符合。利用常规的物理和化学方法也表明了同样的结果。含量小于 5% 的成分, 可认为是由于校正所使用的单一油样与实际样品中的单一油样不一致(如产地、品种、榨取时间等)而引起的误差, 因而可认为其它样品为真正的花生油或菜油。本方法可用于快速、准确地测定食用油中成分含量或定量鉴别掺伪成分。

表 3 微波衍生化 GC-MS 测定脂肪酸-校正变换矩阵法测定食用油成分(w%)

Table 3 Determination of the fatty acid components in edible oils with the microwave-assisted derivatization and GC-MS method of fatty-acid coupled with calibration transformation matrix(w%)

Sample	Peanut oil	Rape oil	Gingeli oil	Cotton oil	Palm oil
Pure peanut oil 1# (纯正花生油 1#)	95.23	1.64	0.22	1.71	1.20
Pure peanut oil 2# (纯正花生油 2#)	55.86	23.96	2.97	13.91	3.30
Rape oil 1# (菜油 1#)	3.36	90.43	0.58	2.21	3.42
Rape oil 2# (菜油 2#)	1.37	95.69	1.11	0.40	1.43
Gingeli oil 1# (芝麻油 1#)	3.66	1.97	40.33	52.13	1.91
Gingeli oil 2# (芝麻油 2#)	1.29	1.10	55.02	40.37	2.22
Consistent edible oil 1# (食用调和油 1#)	75.65	12.43	8.96	0.86	2.10
Consistent edible oil 2# (食用调和油 2#)	70.25	15.21	10.06	3.12	1.36

参考文献:

- [1] 魏明, 曹新志, 廖成华. 常见植物油鉴别及掺伪的气相色谱新检测法[J]. 食品科学, 2003, 24(12): 103-106
- [2] ABU-HADEED A M, KOTBA R. A method for the quantitative determination of individual oils in a blend[J]. J Am Oil Chem Soc, 1988, 65(12): 1922-1924.
- [3] 马亭, 邹世春, 陈文锐, 等. 应用校正变换矩阵法识别掺伪食用油[J]. 分析测试学报, 2000, 19(2): 21-24.
- [4] GARCES L, MANCHA M. One-step lipid extraction and fatty acid methyl esters preparation from fresh plant tissues[J]. Anal Biochem, 1993, 211: 139-141.
- [5] 吴惠勤, 程青, 张桂英. GC/MS 法分析鳗鱼骨油的脂肪酸[J]. 分析测试学报, 1995, 14(3): 28-29.
- [6] 张强. 贻贝脂肪酸成分分析[J]. 分析化学, 1997, 25(1): 93-94.
- [7] 桑翠琴, 殷秀凤, 满洪升. 人体胎盘合体滋养细胞质膜的脂肪酸组成分析[J]. 色谱, 1998, 16(1): 84-86.