

## 研究报告

## 橄榄油中角鲨烯含量的气相色谱/质谱法分析

张青龄

(福建省粮油质量监测所, 福建 福州 350002)

**摘要:** 本文建立了橄榄油中角鲨烯含量的GC/MS分析方法。橄榄油中的脂肪酸甲酯化,角鲨烯同步萃取于石油醚-苯(1+1)溶剂中,经强极性毛细管柱SP-2560分离,质谱选择离子监测对角鲨烯进行定量测定。该方法在0.01~0.50mg/mL范围内线性关系良好,相关系数为0.9999,最小检测限为1.80ng/mL,方法回收率在99.5%~110.0%之间,相对标准偏差为4%。该方法前处理简单、快速,定量准确,灵敏度高,可用于实验室检测橄榄油中角鲨烯的含量。

**关键词:** 橄榄油,角鲨烯,气相色谱/质谱,测定

中图分类号:O657.71 文献标识码:A 文章编号:1009-8143(2011)03-0001-04

## Determination of Squalene in Olive Oil by GC/MS

Zhang Qing-ling

(Institute of Grain and Oil Quality Supervision and Test of Fujian, Fuzhou, Fujian350002,China)

**Abstract:** A method for the determination of squalene in olive oil by GC/MS was developed. The fatty acid of olive oil was methylated and squalene was extracted in the same solvent synchronously. They were separated on a SP-2560 column and the squalene was determined by GC/MS with Sim monitoring. The linear range of the method was 0.01~0.50mg/mL ( $r=0.9999$ ). The detection limit of squalene was 1.80ng/mL. The recovery of squalene was 99.5%~110.0%, The RSD was 4%. It was a simple, rapid, accuracy and featuring high sensitivity method that could be applied in the lab.

**Keywords:** olive oil, squalene, GC/MS; determination

角鲨烯是一种脂质不皂化物,最初是从鲨鱼的肝油中发现,1914年被命名为 Squalene,其化学名称为 2,6,10,15,19,23-六甲基-2,6,10,14,18,22-二十四碳六烯,属开链三萜,又称鱼肝油萜,具有提高体内超氧化物歧化酶(SOD)活性、增强机体免疫功能、改善性功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤等多种生理功能,是一种无毒性的具有防病治病作用的海洋生物活性物质<sup>[1-3]</sup>。

角鲨烯在植物中分布很广,但含量不高,多低于植物油中不皂化物的5%,仅少数含量较多,如橄榄油。橄榄油是所有油类中唯一可不经提炼而直接以原始液态食用的油品,高质量的特级初榨橄榄油含有大量的角鲨烯物质,它增加了橄榄油自身的稳定性,延长了食用有效期和保持鲜美口味。植物油

中角鲨烯含量测定有文献报道用气相色谱/质谱法<sup>[4-5]</sup>。本文建立的气相色谱/质谱法测定橄榄油中角鲨烯的含量,在样品前处理和分离色谱柱的选择上进行了优化,旨在探索一种更为快速、简便、准确的实验方法。

## 1 实验部分

## 1.1 材料与仪器

橄榄油,角鲨烯标准品;苯,石油醚(沸程 60℃-90℃),甲醇均为色谱纯,氢氧化钾为分析纯;岛津GC/MS-2010plus,离心机。

## 1.2 色谱及质谱条件

色谱柱 SP-2560 (100m×0.25mm×0.25μm)

收稿日期 2011-2-23

作者简介 张青龄(1968-),女,工程师,主要从事粮油食品安全检测工作。E-mail:zql66505@163.com

弹性石英毛细管柱,汽化室温度 250℃,柱箱:初始温度 160℃,保持 5min 后,以 10℃/min 的升速,至 220℃,又保持 15min;载气:高纯氦气,分流比为 20:1,恒线速度 25.0cm/sec,进样量:1.0μL。

质谱条件:接口温度 220℃,离子源温度 200℃,电离方式 EI 源,电离电压 70eV,采用选择离子监测模式,角鲨烯定量离子 m/z69,定性离子 m/z81,41,95。

### 1.3 样品前处理

称取 0.100 g 橄榄油于 10mL 试管中,加入 2mL 石油醚—苯(1+1),摇匀。加入 2mL 0.4M 的氢氧化钾—甲醇溶液,振摇,在常温下放置数分钟至溶液澄清无油滴,加饱和氯化钠水溶液至刻度,静置分层,将上清液转移至 10mL 离心管,置于离心机上,以 2000r/min 的转速离心沉淀 10min,取上清液进样。

### 1.4 公式计算

样品中角鲨烯含量按下述公式计算:

$$X = \frac{c \times v \times 1000}{m}$$

其中:X——样品中角鲨烯含量(μg/g);

C——由工作曲线上得出的试样测定液中相当于角鲨烯的含量(mg/mL);

V——加入石油醚—苯(1+1)溶解的体积(mL);

m——试样的质量(g)。

## 2 结果与讨论

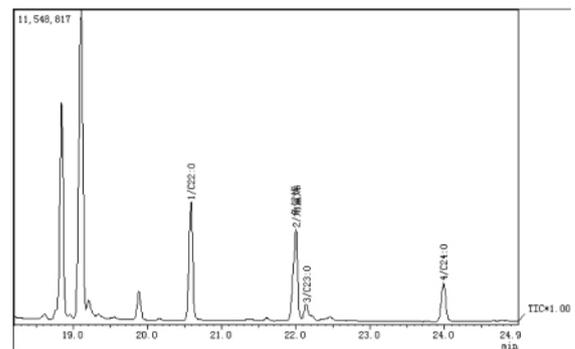
### 2.1 前处理优化

油脂的组分较为复杂,油脂中脂肪酸对角鲨烯的色谱分离产生干扰。实验选用苯—石油醚(1+1)作为油脂中脂肪酸萃取试剂,0.4M 的 KOH- 甲醇溶液作为油脂中脂肪酸甲酯化试剂,使得油脂脂肪酸的甲酯化进程快速且完全<sup>[6-7]</sup>。油脂中脂肪酸经过甲酯化,降低了沸点,色谱分离时大部分的脂肪酸在目标化合物之前出峰,减轻了油脂中脂肪酸对角鲨烯色谱分离的干扰。角鲨烯易溶于石油醚和苯,微溶于甲醇,在脂肪酸的甲酯化过程中角鲨烯也得以很好地萃取于萃取试剂中。

### 2.2 分离条件的选择

非极性固定相色谱柱和聚乙二醇类、聚酯(丁

二醇聚丁二酸酯)、聚硅氧烷(氰基硅氧烷)等极性固定相色谱柱均能用于脂肪酸的分离<sup>[8]</sup>,实验考察了非极性毛细管柱 HP-5MS 和强极性毛细管柱 SP-2560 用于分离角鲨烯的效果:二者分离角鲨烯峰型尖锐,分离良好,角鲨烯分别在 C24:0 和 C22:0 之后出峰。文献中均报道非极性固定相色谱柱用于角鲨烯的分离<sup>[1-5]</sup>,实验表明强极性固定相毛细管柱为油脂中分离角鲨烯提供了更好的选择。实验选用 SP-2560 弹性石英毛细管柱作为分析柱,其高度取代的氰丙基硅氧烷固定相,有非常高的极性,在实验选择的色谱条件下,角鲨烯与相近的 C22:0, C23:0 及 C24:0 分离良好。样品橄榄油的脂肪酸分离离子流色谱图,见图 1。



(1.C22:0 2.角鲨烯 3.C23:0 4.C24:0)

图1 橄榄油总离子流色谱图

### 2.3 角鲨烯的定性与定量

通过质谱全扫描 Scan 方式得到质谱图与标准谱库做相似度检索,确认其中的角鲨烯成分,样品橄榄油的角鲨烯的质谱图见图 2。

气相色谱/质谱选择离子监测模式能获得良好的信噪比,实验选用该方式对角鲨烯进行定量。在选择离子监测模式对目标物进行定量时,通常选择灵敏度高且抗干扰能力强的离子碎片作为目标物定量和定性的离子,如图 2 所示,角鲨烯的特征离子中灵敏度较高的离子为 m/z 69, 81, 41, 95, 实验选择定量离子为 m/z69,定性离子为 m/z81,41,95。值得注意的是, m/z 69, 81, 41, 95 这些离子也是其它多数脂肪酸甲酯的特征离子,对角鲨烯而言,它的定量和定性离子也是杂质干扰较大的离子碎片。这时,角鲨烯与其它脂肪酸甲酯分离良好以排除杂质干扰是保证定量准确的关键。实验采用强极性柱 SP-2560 弹性石英毛细管柱,能满足角鲨烯分离良好,定量准确的要求。

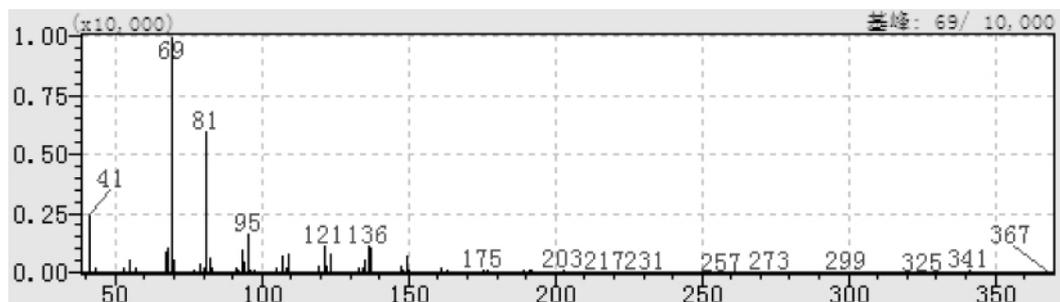


图2 角鲨烯的质谱图

## 2.4 线性方程及最低检出浓度

### 2.4.1 角鲨烯的线性回归方程

称取角鲨烯标准品 10mg,用石油醚-苯(1+1)溶解并定容至 10mL,则此角鲨烯浓度为 1.0mg/mL,从中分别吸取 0.1,0.5,1,3,5mL,用石油醚-苯(1+1)溶解并定容至 10mL,配置浓度为 0.01~0.5 mg/mL 的标准工作溶液。以角鲨烯浓度(mg/mL)为横坐标,以相应的峰面积为纵坐标作标准曲线,角鲨烯的线性回归方程:

$$Y=8.326 \times 10^7 X - 1.329 \times 10^6 (r=0.9999 \quad n=5)$$

### 2.4.2 角鲨烯最小检测浓度 $m_{\min}$

以基线噪音的 3 倍所对应的浓度为方法的检出限,该方法的检出限为 1.80ng/mL,本实验中角鲨烯最小检测浓度为 36.0ng/g。

## 2.5 精密度与回收率

取 100mg 橄榄油,按 1.3 方法进行前处理后做 5 次的重复试验。同时取 100mg 橄榄油样品 2 份,分别添加含 400 $\mu$ g 与 800 $\mu$ g 角鲨烯的标准溶液进行加标回收试验。方法精密度和加标回收率结果见表 1。

表1 橄榄油中角鲨烯测定结果

	测定次数	加标含量( $\mu$ g/g)	测定含量( $\mu$ g/g)	平均含量 mg/mL 和 RSD	回收率
角鲨烯	1	0	3520	3700(4.0%)	-
	2	0	3580		-
	3	0	3860		-
	4	0	3720		-
	5	0	3820		-
	6	4000	8100	8100	110.0%
	7	8000	11660	11660	99.5%

结果显示,测定的相对偏差为 4.0%,加标回收率在 99.5%-110.0%之间,测定角鲨烯含量的精确度达到较高的要求,该方法的重现性较好,准确度符合要求。

## 2.6 样品测定

测定了不同年份的橄榄油样品,结果见表 2。从样品测定结果看出,橄榄果渣油中的角鲨烯

含量少于初榨橄榄油,橄榄油存放时间越久,其角鲨烯含量越少。

## 3 结论

本实验的样品前处理方法简单快速,样品脂肪酸的萃取及脂肪酸的甲酯化同步完成的同时,角鲨烯被很好地萃取于溶剂中,强极性毛细管柱对角鲨

表2 样品测定结果

	1	2	3	4
	初榨橄榄油	初榨橄榄油	初榨橄榄油	橄榄果渣油
	2010.8	2008.7	2005.9	2008.3
角鲨烯( $\mu$ g/g)	7850	4067	360	2260

烯与各脂肪酸甲酯的分离良好,定量准确,并实现了更低的检出限。运用 GC-MS 法测定橄榄油中角鲨烯的含量,其方法的精密度和准确度好,能达到所需要的检测目的,此法也适用于其它植物油中角鲨烯含量的检测。

### 参考文献

- [1] 周茂君,向仕学,殷德桂,等. 保健食品中角鲨烯的气相色谱分析[J].预防医学情报杂志,2003,19(2): 186- 187.
- [2] 王军,翁幼竹,苏永全,等. 福建近海姥鲨肝油中角鲨烯的分离测定[J].厦门大学学报(自然科学版),2002,41(4):704.
- [3] 付松, 向仕学. 气相色谱 - 质谱法检测保健食品中角鲨烯[J].中国卫生检验杂志,2003,13(6):717.
- [4] 毛多斌,贾春晓,孙晓丽,等. 几种功能性植物油中角鲨烯和维生素 E 分析[J].中国粮油学报,2007,22(2): 79- 82.
- [5] 廖杰,赵玉兰,李宁,等. 植物油中角鲨烯的 GC/MS 分析[J].现代仪器,2008,5:36- 37.
- [6] GB/T 17376—2008/ISO 5509:2000, 动植物油脂 脂肪酸甲酯制备[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [7] 寇秀颖,于国萍. 脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究[J].食品研究与开发,2005,26(2):46- 47.
- [8] GB/T 17377-2008/ISO 5508:1990,动植物油脂 脂肪酸甲酯的气相色谱分析[S].北京:中国标准出版社,2009.

## 《福建分析测试》承办国内外广告业务， 欢迎联系刊登

(广告经营许可证编号:3500004000002)

联系人 郭升平

E-mail: fjtot@163.com

电话 (086591)87830371 传真 (086591)87816597