

金花葵籽油中不饱和脂肪酸的GC-MS测定

李淳¹, 胡定煜², 李双石¹, 辛秀兰¹, 陈亮³, 刘琦⁴

(1.北京电子科技职业学院, 北京 100029; 2.中国人民武装警察部队学院, 河北 廊坊 065000; 3.北京化工大学, 北京 100029; 4.甘肃农业大学, 甘肃 兰州 730070)

摘要:采用索氏提取法、石油醚浸泡法以及超声波提取法提取金花葵籽油, 并对3种提取方法的含油率进行比较。利用GC-MS方法对金花葵籽油中不饱和脂肪酸的含量进行测定, 并对气相的条件进行了优化。测定结果表明金花葵籽油含有亚油酸32.35%, 油酸43.89%, 棕榈油酸0.40%, 不饱和脂肪酸占76.64%, 含量较丰富。

关键词:GC-MS; 不饱和脂肪酸; 索氏提取法; 超声提取法

Determination of the Unsaturated Fatty Acids of Hibiscus Manihot Seed Oil by GC-MS

LI Bo¹, HU Ding-yu², LI Shuang-shi¹, XIN Xiu-lan¹, CHEN Liang³, LIU Qi⁴

(1. Beijing Polytechnic, Beijing 100029, China; 2. Chinese People's Armed Police Forces Academy, Langfang 065000, Hebei, China; 3. Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029, China; 4. Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, Gansu, China)

Abstract: The oil was extracted from Hibiscus manihot seed using Soxhlet extraction method, petroleum ether soak method and ultrasonic extraction method. Oil extraction rate of three extraction methods were compared. The unsaturated fatty acid compositions of seed oil were analyzed by GC/MS and Gas Chromatographic condition was optimized. The results showed that the content of linoleic acid, oleic acid and palmitoleic acid were 32.35 %, 43.89 % and 0.40 % respectively and unsaturated fatty acids were 76.64 %.

Key words: GC-MS; unsaturated fatty acids; Soxhlet extraction method; ultrasonic extraction method

金花葵, 锦葵科、秋葵属, 别名黄秋葵、菜芙蓉。产地在北方, 草本一年生, 在200多个秋葵植物中最具药用和保健功能, 有很高的药用价值^[1]。金花葵籽中含有丰富的不饱和脂肪酸, 如油酸、亚油酸、花生四烯酸等, 不饱和脂肪酸有明显降低高密度脂蛋白血清胆固醇的作用, 进而减少高血压, 心脏病及中风等疾病发病率, 同时不饱和脂肪酸在维护生物膜的结构和功能方面有重要作用。目前不饱和脂肪酸产品已经广泛应用于医药、营养补充剂、保健食品等领域。因此测定不饱和脂肪酸, 对评价金花葵药用价值具有重要意义^[2]。

国内外对于不饱和脂肪酸的分析测定方法很多, 有气相色谱法、银离子高效液相色谱法、气质联用分析法、紫外可见分光光度法薄层色谱法、高效液相色谱法、未衍生高效液相色谱法^[3-8]等, 但存在一些问题, 如紫外可见分光光度法比较麻烦, 分析时间较长, 而高效液相色谱法对仪器要求较高等。

气相色谱质谱联用(GC-MS)技术的发展较快, 采用GC-MS分析法测定不饱和脂肪酸效率较高, 彭志兵等利用GC-MS对金花葵籽油中的脂肪酸成分进行了定性与定量分析, 样品提取方法采用索氏提取法, 本文采用索氏提取法、石油醚浸泡法以及超声波提取法提取金花葵籽油, 并对3种提取方法的出油率进行比较, 选择最佳提取方法, 并对气相和质谱的条件进行了优化, 提高了GC-MS分析结果的准确性, 为探讨金花葵籽油的营养及市场开发提供了参考的数据。

1 材料与方法

1.1 仪器

气相色谱/质谱仪(美国 Agilent 7890A GC/5975C MS); ZKSY-6 恒温水浴锅; 9960A 超声清洗器; 美国

基金项目: 北京市属市管高等学校人才强教深化计划项目; 科研基地—生物技术在制药和农产品加工中的应用平台建设

作者简介: 李淳(1973—), 女(汉), 讲师, 博士研究生, 研究方向: 生物化学。

CBL 光电子技术有限公司;Laborato 4000 efficient 旋转蒸发仪:德国海道夫仪器有限公司;TDZ4A-WS 离心机;SY150 超声波提取器。

1.2 材料与试剂

金花葵籽产于河南省平顶山;甲醇(色谱纯)、正己烷(分析纯)、氢氧化钾(分析纯)、石油醚(分析纯)、无水硫酸钠(分析纯):均购自北京化工厂。水为二次蒸馏水。

1.3 金花葵籽油的提取

1.3.1 索氏提取法

准确称取已粉碎的金花葵籽样品 10.00 g 于滤纸筒中,放于索氏提取器中,加入 200 mL 石油醚,于 80 ℃ 水浴中提取 8 h。

1.3.2 石油醚浸泡法

准确称取已粉碎的金花葵籽样品 10.00 g,置于三角瓶中,加入 100 mL 石油醚,并不断振荡 48 h。

1.3.3 超声波提取法

准确称取已粉碎的金花葵籽样品 10.00 g,加入 100 mL 石油醚置于超声波提取器中超声处理 30 min,在石油醚中浸泡过夜。

1.4 称重

将上述 3 种方法提取的金花葵籽油,然后用旋转蒸发仪于 60 ℃ 蒸发至无石油醚,在 100 ℃ 的干燥箱中烘干至恒量,称取金花葵籽油质量。

1.5 脂肪酸的甲酯化

脂肪酸的甲酯化:提取的金花葵籽油 0.2 g,加入 1 mL 0.5 mol/L 的 KOH-CH₃OH 溶液,70 ℃ 水浴 1 h,加 2 mL 正己烷,加 5 mL 蒸馏水,超声处理 5 min,吸取上层清液,用亚硫酸钠干燥,备用。

1.6 检测方法

1.6.1 气相色谱条件

HP-5MS 30 m×0.25 mm,0.25 μm 弹性石英毛细管柱;载气为高纯氦气(纯度 99.999 %);程序升温,初温 140 ℃,保持 1 min,以 10.0 ℃/min 升至 200 ℃,保持 1.0 min,再以 5 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 6.0 min;运行时间:30 min;分流比 100:1,流速 1.0 mL/min;进样口温度 280 ℃,进样量 1.0 μL。

1.6.2 质谱条件

接口温度 280 ℃,EI 电离源,电子能量 70 eV,离子源温度 230 ℃,四极杆温度 150 ℃,电子倍增器电压 1.624 V,Scan 全扫描方式,溶剂延迟 5 min。

2 结果与分析

2.1 金花葵籽油的提取

在索氏提取法中,称取金花葵籽油重量为 2.74 g,

测定含油率为 27.4 %,超声提取法中,提取金花葵籽油重量为 2.93 g,含油率为 29.3 %,浸泡提取法中,重量为 1.36 g,含油率为 13.6 %,根据几种提取方法测定的结果,超声提取所需的时间较短,而且提取率高,效果比较好些。

2.2 气相条件的选择

柱温是影响组分分离的一个重要参数。温度太低,柱效较低且保留时间长,分析速度慢;但温度太高,不同组分的分配系数差别变小,不易分离,特别是对保留行为差别较大的应采用程序升温方式,以获得较好的分离。实验中对柱温条件进行了设定,见表 1。

表 1 程序升温色谱条件

Table 1 Chromatography Conditions of programmed temperature

序号	柱温/ ℃	升温速度/ (℃/min)	柱温/ ℃	升温速度/ (℃/min)	柱温/ ℃
1	140(1 min)	10	200(1 min)	10	280(6 min)
2	100	2	-	-	280
3	140(1 min)	10	200(1 min)	5	280(6 min)

在程序 1 中分离效果不理想,两个峰没有分开,程序 2 分离效果较好,各组分峰形尖锐,但是分离时间较长。程序 3 分离效果较好,各组分峰形尖锐。综合以上的条件分析,可以确定程序 3 为最佳升温程序。

2.3 分析鉴定结果

金花葵籽油甲酯化后经 GC/MS 分析,其脂肪酸甲酯的总离子流图如图 1 所示。

经计算机质谱数据库(NIST08.L)检索,与标准谱图对照、比较,确认了金花葵籽油的化学成分,并按面积归一化计算各峰面积的相对百分含量,结果见表 2。

由表 2 分析可知,金花葵籽油中含有大量不饱和脂肪酸占 76.64 %,其中亚油酸 32.35 %,油酸 43.89 %和棕榈油酸 0.40 %。

3 结论

结果表明,3 种提取方法中,超声提取法提取金花葵籽油含油率为 29.3 %,提取率最高。超声波可强化萃取分离过程的传质速率和效果,从而有利于油脂的提取^[9-10]。在植物油脂提取中,采用超声波可大大缩短提油时间。经过比较,本实验中选择的气相色谱条件是柱温 140 ℃,保持 1 min,以 10.0 ℃/min 升至 200 ℃,保持 1.0 min,再以 5 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 6.0 min;运行时间:30 min;分流比 100:1,流速 1.0 mL/min。在此气相条件下,分离效果最佳。采用 GC-MS 测定金花葵籽油中的不饱和脂肪酸,含量高达 76.64 %,其中亚油酸 32.35 %,油酸 43.89 %和棕榈油酸 0.40 %。研究表明不

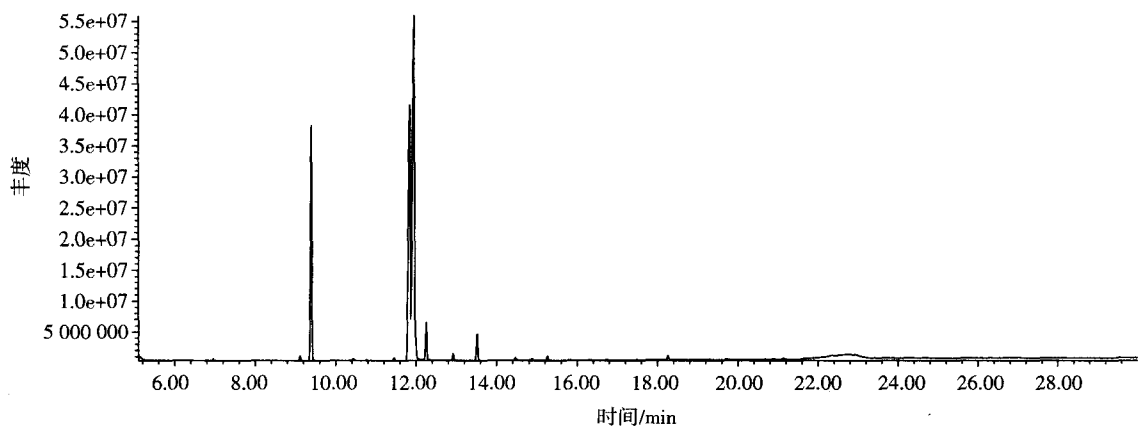


图1 金花葵籽油脂脂肪酸甲酯总离子流图
Fig.1 Total ion chromatogram of fatty acid methyl ester of Hibiscus manihot seed oil

表2 金花葵籽油中脂肪酸成分的鉴定结果
Table 2 Analyzed results of fatty acid of Hibiscus manihot seed oil

序号	保留时间/min	相对含量	中文名	英文名	相似度
1	9.17	0.40	棕榈油酸((Z)-9-十六碳烯酸甲酯)	(Z)-9-Hexadecenoic acid, methyl ester	98
2	9.49	15.35	棕榈酸(十六烷酸甲酯)	Hexadecanoic acid, methyl ester	99
3	12.55	32.35	亚油酸((Z,Z)-9,12-十八碳二烯酸甲酯)	(Z, Z)-9,12-Octadecadienoic acid, methyl ester	99
4	12.73	43.89	油酸(9-十八碳三烯酸甲酯)	9-Octadecatrienoic acid, methyl ester	99
5	13.12	3.38	硬脂酸(十八烷酸甲酯)	Octadecanoic acid, methyl ester	99
6	17.96	0.54	花生酸(二十烷酸甲酯)	Eicosanoic acid, methyl ester	99
7	23.76	0.63	廿二烷酸甲酯	Docosanoic acid	99

饱和脂肪酸是人体内不能合成而又必需的脂肪酸,具有稳定细胞膜的功能,维持细胞因子和脂蛋白平衡的作用,对高脂血症患者的血脂和载脂蛋白水平有良好的调节作用,能够降低血脂^[11-14]。油酸可降低血浆总胆固醇和低密度脂蛋白的水平,减少机体内自由基脂质超氧化物,从而在预防动脉粥样硬化,降低患冠心病的危害性方面具有重要作用。亚油酸具有显著的降血脂和抗动脉粥样硬化的作用,还具有免疫、抗炎症、抗肿瘤等功能^[15-16]。因此,金花葵籽可以作为优质食用油源,具有很好的开发价值和应用前景。

参考文献:

[1] 刘临. 原子吸收光谱法测定金花葵中微量元素[J].微量元素与健康研究,2008,25(7):27-29
[2] 徐文晖,王俊儒,梁宗锁.不饱和脂肪酸分离技术研究概况[J].食品研究与开发,2007,28(8):153-156
[3] 洪滨,刘会洲.国内 EPA 及 DHA 研究现状和发展趋势[J].化工冶金,1996,17(1):82-84
[4] 冯家力,潘振球,陈波.奶粉中 EPA 及 DHA 的衍生气相色谱分析[J].中华预防医学杂志,1997,31(4):239-240
[5] 吴冀华,裴爱冰.气相色谱法分析共轭亚油酸异构体[J].中国油脂,2002,27(1):65-67
[6] 张亚刚,樊莉,文彬,等.紫外可见分光光度法在共轭亚油酸定量分析中的应用[J].新疆石油学院学报,2002,14(2):59-63
[7] 荣会,姜莉,安晓红,等.月见草油中 γ -亚麻酸含量的快速测定[J].

现代科学仪器,2002(1):57-58
[8] 蒙锦红,任立伟.未衍生高效液相色谱法测定螺旋藻粉中 γ -亚麻酸含量[J].分析科学学报,2000,16(1):58-60
[9] 熊健,宋臻善.超声波技术在油脂工业中的应用[J].食品工业科技,2006,27(8):194-196
[10] 胡爱军,丘泰球,刘石生,等.物理场强化油脂浸出技术[J].中国油脂,2002,27(3):10-13
[11] Curb J D, Werowske G, Dobbs J C, et al. Serum lipid effects of a high-monounsaturated fat diet based on macadamia nuts[J].Arch Intern Med,2000,160(8):1154-1158
[12] Williams C M,Francisknapper J A, Web D,et al.Cholesterol reduction using manufactured foods high in monounsaturated fatty acids:a randomized crossover study[J].Br J Nutr,1999,81(6):439-446
[13] Chang N W, Huang P C. Comparative effects of polyunsaturated to saturated fatty acid ratio versus polyunsaturated and monounsaturated fatty acid ratio versus polyunsaturated and monounsaturated fatty acid to saturated fatty acid ratio on lipid metabolism in rats[J].Atherosclerosis,1999,142(1):185-191
[14] Lopea R,Frail A C,Herrade Z B C,et al.Monounsaturated fatty acid rich diet for mild hypercholesterolemia[J].Arch Med Res,1996,27(4):519-523
[15] 刘家仁,陈炳卿,邓皓,等.共轭亚油酸诱导人胃腺癌细胞(SGC-7901)凋亡的作用[J].工业卫生与职业病,2001,27(3):129-133
[16] Hung P, Kaku S,Yunoli S,et al.Dietary effect of EPA rich and DHA rich fish oils on the immune function of Sprague Dawley rats[J].Biosci Biotechnol Biochem,1999,63(1):135-140