

# 牛奶中脂肪检测技术研究进展

阳丽芝, 陈志伟\*

(山东理工大学生命科学院, 山东 淄博 255049)

**摘要:** 脂肪是乳制品等食品的重要营养组成成分, 脂肪酸作为脂肪中的有效成分, 其种类、含量和比例与人体营养需求密切相关; 牛奶经发酵后脂肪酸的组成和含量将发生改变。本文介绍乳脂与其他脂肪的区别以及发酵对乳脂肪的影响, 重点论述气相色谱法、高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用法、红外光谱分析法在牛奶脂肪检测方面的研究进展。

**关键词:** 乳; 脂肪; 发酵; 检测方法

## Review on Detection Techniques for Fat in Milk

YANG Li-zhi, CHEN Zhi-wei\*

(College of Life Science, Shandong University of Technology, Zibo 255049, China)

**Abstract:** Fat is an important nutrient component of dairy products, and the category, content, and fat composition is closely related to nutrient requirement in human. However, the kinds and contents of fatty acids in milk are changed after fermentation. The article introduces differences in fat composition between dairy products and others, as well as the impacts of fermentation on dairy fats. The research progress of fat detection techniques, including high efficiency liquid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and infrared spectroscopy (IRS) is reviewed.

**Key words:** milk; fat; fermentation; detection method

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)01-0270-04

脂肪是由甘油和脂肪酸组成的三酰甘油酯, 其中甘油分子比较简单, 脂肪酸可以分为 3 大类: 饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸。不同食品中脂肪所含脂肪酸种类和含量不一样, 脂肪的特点和性质主要取决于其中的脂肪酸。自然界中含有多种脂肪酸, 且脂肪酸一般由 4 到 24 个碳原子组成。

大量研究证明, 食物中脂肪酸的种类、比例与人体的营养需求密切相关。目前世界上公认的推荐值是: 脂肪所供能量不应超过总供能量的 30%, 其中饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)、单不饱和脂肪酸(monounsaturated fatty acid, MUFA)及多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)所供能量各占 10% 左右, 即三者的比例为 1:1:1<sup>[1]</sup>。

牛奶是一种营养成分齐全、保健功能显著的食品, 被誉为“最接近完善”的食品和人体“白色血液”。牛奶的组成成分十分复杂, 基本成分主要为脂肪、蛋

白质、乳糖、无机盐、维生素和水<sup>[2]</sup>。

## 1 脂肪和油脂

油脂是由链状羧酸和甘油形成的酯, 在室温下呈液态的叫做油, 呈固态的叫做脂肪。其中油以不饱和脂肪酸为主, 而脂肪中含有大量饱和脂肪酸, 从植物种子中得到的大多为油, 从动物中得到的大多为脂肪。乳脂为动物的乳汁中分离出的脂肪, 是食用黄油和奶油的主要成分, 室温下为白色到浅黄色的软固体。

动物油和植物油的主要区别在于其不饱和脂肪酸的含量, 一般认为动物油饱和脂肪酸含量高, 植物油不饱和脂肪酸含量高。但也有例外, 如鱼油是动物油, 却含有大量的不饱和脂肪酸, 特别是海产鱼中不饱和脂肪酸含量丰富; 而植物油中的椰子油和棕榈油含饱和脂肪酸则较多。乳脂与植物脂肪和动物脂肪在脂肪酸含量和种类等方面的具体区别见表 1<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 2010-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071538); 山东省科学仪器设备技术攻关项目(2008GG2TC01011-5);

山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(2007BS06021)

作者简介: 阳丽芝(1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为动物营养生物化学。E-mail: yanglizhi666@163.com

\* 通信作者: 陈志伟(1972—), 男, 教授, 博士, 研究方向为生物化学及分析测试。E-mail: chen@sdut.edu.cn

表 1 乳脂与其他脂肪的区别

Table 1 Differences between milk fat and other fats

脂肪	脂肪酸种类	饱和脂肪酸含量/%	不饱和脂肪酸含量/%	状态
乳脂(动物脂肪)	花生四烯酸、豆蔻酸、硬脂酸、棕榈酸、亚油酸、反式亚油酸等	70	30	室温下为白色到浅黄色的软固体
植物脂肪(花生油)	油酸、亚油酸、花生酸等	15	75	室温下为液态, 多为不饱和脂肪酸
动物脂肪(牛脂)	花生四烯酸、二十五碳酸、硬脂酸	51	49	室温下为固态, 多为饱和脂肪酸

## 2 脂肪对牛奶发酵的影响

新鲜牛奶通过巴氏杀菌后添加有益菌(发酵剂)进行发酵, 经发酵后再冷却灌装得到的牛奶制品即为酸奶。酸奶是一种非常受欢迎的乳制品, 由于其独特的质构特性, 使得它具有口感细腻、营养丰富和一定的保健功能等特点<sup>[4]</sup>。牛奶经过发酵之后营养成分将发生改变, 从而产生酸奶特有的风味。如乳糖和柠檬酸转化(糖酵解和丙酮酸代谢), 脂类水解和蛋白水解等<sup>[5]</sup>, 其中脂类水解和蛋白水解分别形成游离脂肪酸和氨基酸。游离脂肪酸是风味物质如甲基酮、醇类、内酯和脂类的前体物质。挥发性短链脂肪酸对酸乳气味和风味有一定贡献<sup>[6]</sup>。

酸奶中的脂肪质量分数为 0 ~ 10%, 通常的指标为 0.5% ~ 3.5%<sup>[7]</sup>。很多研究者指出增加脂肪的质量分数能够增强酸奶的硬度<sup>[8-9]</sup>, 采用全脂奶粉制作的酸奶与脱脂奶粉制作的酸奶相比凝胶硬度高 22.6%, 采用全脂牛奶得到的凝固型酸奶要比使用脱脂牛奶得到的凝固型酸奶硬度要高 23%<sup>[9]</sup>。凝胶硬度的增强是由脂肪球和蛋白质基质的交互作用引起的<sup>[8]</sup>。脂肪的结晶度也影响着酸奶的质构, 通过添加植物油来增加凝固型酸奶脂肪质量分数的方法制得的酸奶的硬度降低, 这是因为饱和脂肪酸质量分数的增加导致乳脂结晶度的增高<sup>[10]</sup>。

## 3 脂肪的检测方法

### 3.1 传统检测方法

传统乳制品脂肪检测方法主要包括: 索氏抽提法、酸水解法、哥特里-罗紫法、盖勃氏法、巴布科克氏法、伊尼霍夫氏碱法等。

索氏抽提法和酸水解法<sup>[11]</sup>多用于食品中脂肪的检测, 其检测原理为试样用无水乙醚或石油醚等溶剂提取后, 蒸去溶剂所得的物质, 即为粗脂肪的含量, 因为除去脂肪外还含色素、挥发油、蜡、树脂等物质。而酸水解法测得的为游离及结合脂肪的总量。

哥特里-罗紫法、盖勃氏法、巴布科克氏法和伊尼霍夫氏碱法<sup>[12]</sup>多用于乳与乳制品脂肪的传统检测。各种脂肪检测方法的原理相似, 即利用加入氨溶液时乳中酪蛋白的钙盐变为可溶性钙盐, 使结合的脂肪游离, 用

乙醚从乳中提取脂肪, 干燥至质量恒定, 称其质量得乳中脂肪质量。

### 3.2 气相色谱法

国家标准 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》<sup>[13]</sup>、GB/T 22110—2008《食品中反式脂肪酸的测定 气相色谱法》<sup>[14]</sup>、GB/T 22507—2008《动植物油油脂植物油中反式脂肪酸异构体含量测定 气相色谱法》<sup>[15]</sup>以及 GB/T 21676—2008《乳与乳制品 脂肪酸的测定 气相色谱法》<sup>[16]</sup>中均使用气相色谱法对食品、乳制品及各种植物油脂等的脂肪酸含量和种类进行检测。

食品中脂肪酸含量检测的方法主要为加入内标物十一碳酸甘油三酯的样品经水解-乙醚溶液提取食品中的脂肪, 在碱性条件下皂化和甲酯化, 生成脂肪酸甲酯, 经毛细管气相色谱, 内标法定量测定脂肪酸甲酯含量。依据各种脂肪酸甲酯含量和转化系数计算出总脂肪、饱和脂肪(酸)、单不饱和脂肪(酸)、多不饱和脂肪(酸)含量<sup>[14]</sup>。乳制品中脂肪酸含量检测的主要原理为乳脂肪经皂化处理后生成游离脂肪酸, 在三氟化硼催化下, 经甲酯化后的脂肪酸通过气相色谱柱分离, 以氢火焰离子化检测器检测, 外标定量。

使用气相色谱法能够定量检测食品或是乳制品中脂肪酸含量和种类, 但样品前处理过程复杂。首先都必须对脂肪进行皂化和甲酯化, 再利用气相色谱法测定其中脂肪酸的含量, 此种方法耗时长、耗材多。

### 3.3 高效液相色谱法

采用高效液相色谱法(HPLC)检测脂肪, 须先将脂肪从样品中提取出并使甘油三酸酯分离, 再对其甲酯化, 通过检测有效碳原子数和物质保留指数之间的相关关系来测定甲酯化的脂肪酸含量。高效液相色谱法不仅能检测脂肪酸的含量, 同时也可以测出各种脂肪酸在其中的位置分布情况。该方法准确性和重现性好, 但样品准备过程复杂, 耗时长。

韩瑞丽等<sup>[17]</sup>利用高效液相色谱-蒸发光检测器(HPLC-ELSD)与气相色谱-质谱连用(GC-MS)法测定牛乳甘油三酯 sn-2 位脂肪酸组成, 结果显示用蒸发光散射高效液相色谱法分离 sn-2 位单甘油酯时此方法的回收率高达 83.3% ~ 85.1%, 该法省去了传统测定中费时费力的

薄层色谱分离步骤。再用气相色谱-质谱联用法对产物进行分析,精密度高、结果可靠,分析结果表明牛乳脂肪 sn-2 位脂肪酸由 2.57% 月桂酸、7.68% 豆蔻酸、34.74% 棕榈酸、11.56% 亚油酸、22.53% 油酸和 15.21% 硬脂酸组成。

赵海珍等<sup>[18]</sup>采用高效液相色谱法(HPLC)分析猪油甘油三酯中的脂肪酸组成及其位置分布。利用 sn-1,3 位专一性脂肪酶对甘油三酯 sn-1,3 位上的脂肪酸进行水解,形成 sn-2 位甘油单酯和游离脂肪酸,再通过甘油三酯中脂肪酸总含量和 sn-1,3 位上脂肪酸含量之间的差值计算出 sn-2 位上的脂肪酸含量。利用 2-溴苯乙酰同游离脂肪酸作用的特点,将脂肪酸酯化为苯乙酰胺,然后进行高效液相色谱法(HPLC)分析。结果表明,猪油甘油三酯中的脂肪酸主要是棕榈酸和油酸(分别占总量的 26.61% 和 43.18%),其中油酸主要分布于 sn-1,3 位上,而棕榈酸分布于 sn-2 位上。

邓泽元等<sup>[19]</sup>采用 Ag<sup>+</sup>-HPLC 以及 GC 两种方法测定和比较共轭亚油酸(CLA)组成。将经 TLC 鉴定为游离脂肪酸的样品用三甲基硅重氮甲烷甲基化,用 100m × 0.25mm 的 GC 毛细管柱和 Ag<sup>+</sup>-HPLC 来测定和比较共轭亚油酸(CLA)的组成。两种方法测定 CLA 结果显示:GC 也不能将 *t,t*-CLA 异构体 8*t*10*t*、9*t*11*t* 和 10*t*12*t*-CLA 等分离,Ag<sup>+</sup>-HPLC 则可以将这几种 GC 不能互相分离的 CLA 异构体分离,但该方法不能测定没有 UV 吸收的饱和脂肪酸、在波长 233nm 处没有吸收的单不饱和非共轭脂肪酸(波长 205nm 处有吸收),GC 却可以;此外 GC 还可以将 8*c*10*t*、10*c*12*t* 和 9*t*11*c*-CLA 分离。因此,测定含 CLA 的脂类最好将 GC 和 HPLC 结合使用。

#### 3.4 气相色谱-质谱联(GC-MS)法

吾买尔夏提·塔汉等<sup>[20]</sup>使用 GC-MS 法分析了新疆野扁桃种仁油脂脂肪酸的组成成分。采用索氏提取法对两种野扁桃中的种仁油进行脂肪提取,并对提取的种仁油采用气相色谱-质谱联用(GC-MS)进行脂肪酸成分分析。此方法能检测出野扁桃种仁含油量为 50.03%,而油中主要脂肪酸为棕榈酸(6.21%)、硬脂酸(6.85%)、油酸(78.77%)和芥酸(3.80%)。

林观平等<sup>[1]</sup>使用气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)定性定量分析了湛江湖光牛奶脂肪酸组成和含量。该方法重现性变异系数(CV)为 1.15%~5.68%,仪器重现性 CV 为 2.31%~9.81%,回收率为 84.2%~105.0%,且检测出湖光牛奶含有 16 种脂肪酸,平均饱和脂肪酸:单不饱和脂肪酸:多不饱和脂肪酸的含量比为 11.80:4.38:1,饱和脂肪酸含量高达 69%,而多不饱和脂肪酸仅为 6%。此种方法高效易行,准确可靠,节省时间,适合大标量样品的检测。

#### 3.5 红外光谱分析方法

相对于传统的脂肪检测方法以及气相色谱等方面,现在越来越多的是使用红外光谱分析方法检测牛奶和其他各种样品中的脂肪,使用红外光谱分析方法检测脂肪包括中红外定性检测和近红外定量检测。红外光谱不仅可以作为快速、低成本检测脂肪掺假的有效方法,也可以成为脂肪结构解析的有力工具。

Chreisty 等<sup>[21]</sup>应用 FTIR 在 4000~600cm<sup>-1</sup> 范围对食用油中油酸和亚油酸进行检测,经过 33 个样品训练,相应的误差率分别达到 ± 3.1% 和 ± 4.1%。Muik 等<sup>[22]</sup>应用 FTIR 和傅里叶变换拉曼光谱(FT-Raman)二维相关数据对原生橄榄油、玉米油、葵花油、菜籽油、花生油和红花油连续 9h 加热氧化过程进行了检测,通过 MCR-ALS 解析图谱,结果表明两种光谱可以获得一致的信息。Sherazi 等<sup>[23]</sup>应用 FTIR-ATR 和 PLS 方法在 4000~650cm<sup>-1</sup> 范围,经过 21 个样品训练和 13 个样品验证,饱和、反式、单不饱和和多不饱和脂肪酸预测模型 R<sup>2</sup> 均为 0.999, RMSEP 达到 0.625~2.43 范围。Kaylegian 等<sup>[24]</sup>和 Lynch 等<sup>[26]</sup>研究牛奶脂肪 MIR 定量分析时,指出 Fat A 和 Fat B 信息的比例达到 45:55 才可以获得更准确的预测值。Kaylegian 等<sup>[25-26]</sup>使用中红外(MIR)脂肪分析技术检测农场牛奶中脂肪酸的碳链长度和脂肪酸的饱和程度,研究指出乳脂中碳原子每变化 1%,MIR 对于 Fat B 的预测值偏高 0.0429%,对于 Fat A 的预测值偏低 0.0566%;乳脂中不饱和键每变化 1%,MIR 对于 Fat B 的预测值偏低 0.4021%,对于 Fat A 的预测值偏高 0.0291%。

倪昕路等<sup>[27]</sup>采用傅里叶变换红外光谱法定性定量分析食品及油脂中反式脂肪酸含量,食品中提取的脂肪或油脂样品直接置于红外光谱仪的水平衰减全反射(HATR)部件的槽式 ZnSe 晶体上,氘化三甘氨酸硫酸酯(DTGS)检测器检测。通过 966cm<sup>-1</sup> 处反式双键的特征峰进行定性,由峰面积与反式脂肪酸含量的线性校准曲线定量计算反式脂肪酸在油脂中的百分含量。王丽杰等<sup>[28]</sup>利用近红外漫反射光谱技术和偏最小二乘方回归法检测和分析了牛奶中脂肪、蛋白质及乳糖含量,该方法具有快速、成本低和能同时无损测量多种成分等优点,便于实现工业在线分析。

## 4 结 语

脂肪是乳制品等食品中不可或缺的营养组成部分,有些生产经营者为了获得高额的利润而在其中掺入廉价油或其他外源脂肪以此提高脂肪含量,从而降低了食品本身的营养价值。因此脂肪的检测已成为国家质量安全检测的重要指标之一,被广大生产厂家和消费者所重视。本文归纳总结了乳脂与其他动植物脂肪的区别,重点介绍了牛奶中脂肪的各种检测方法,并概括了传统脂肪检测方法与现代脂肪检测方法的优缺点。

## 参考文献：

- [1] 林观平, 伍金华, 江黎明, 等. 湖光牛奶脂肪酸的气相色谱-质谱联用分析[J]. 现代预防医学, 2007, 34(19): 3619-3624.
- [2] 徐正国, 赵惠梅, 蔡玉萍. 影响牛奶成分的主要因素[J]. 饲养管理, 2007(9): 21.
- [3] 王继芬, 姚琳桃, 张桂霞. 痕量动物油和植物油的区分检验研究[J]. 化学研究与应用, 2008, 20(11): 1514-1519.
- [4] 范宇, 陈历俊, 赵常新. 酸奶质构影响因素研究进展[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(7): 30-34.
- [5] 陈洁, 赵建新, 陈卫. 中温发酵酸乳的游离氨基酸、脂肪酸和感官特性的研究[J]. 食品与发酵工业, 2008, 34(7): 28-33.
- [6] RAVARIA F K, DAHI S, CARBALLO F J, et al. Amino acid catabolism and generation of volatiles by lactic acid bacterial[J]. J Dairy Sci, 2002, 85(10): 2462-2470.
- [7] LUCEY J A, SINGH H. Form ation and physical properties of acid milk gels: a review[J]. Food Research International, 1997, 30: 529-542.
- [8] SANDOVAL-CASTILLAA O, LOBATO-CALLEROSA C, AGUIRRE-MANDUJANO E. Microstructure and texture of yogurts influenced by fat replacers[J]. International Dairy Journal, 2004, 14: 151-159.
- [9] XU Z M, EMMANOUELIDOU D G, RAPHABLIDES S N. Effects of heating temperature and fat content on the structure development of set yogurt[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 85: 590-597.
- [10] BARRANTESA E, TAMIMEA A Y, SWORDA A M. The manufacture of set-type natural yoghurt containing diferent oils-2: rheological properties and microstructure[J]. International Dairy Journal, 1996, 6(8/9): 827-837.
- [11] 卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009.6—2003 食品中脂肪的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [12] 卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009.46—2003 乳与乳制品卫生标准的分析方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
- [13] 中国计量科学研究院. 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]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [14] 杭州市质量技术监督检测院. GB/T 22110—2008 食品中反式脂肪酸的测定 气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [15] 国家粮食局科学研究院. GB/T 22507—2008 动植物油脂 植物油中反式脂肪酸异构体含量测定 气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [16] 粮食部食品质量监督检验测试中心. GB/T 21676—2008 乳与乳制品 脂肪酸的测定 气相色谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [17] 韩瑞丽, 马健, 张佳程, 等. HPLC-ELSD与GC-MS法测定牛乳甘油三酯 sn-2 位脂肪酸组成[J]. 分析测试技术与仪器, 2009, 15(1): 30-34.
- [18] 赵海珍, 陆兆新, 别小妹, 等. 高效液相色谱法测定猪油甘油三酯中的脂肪酸位置分布[J]. 色谱, 2005, 23(2): 142-145.
- [19] 邓泽元, 余迎利, KRAMER J K G. GC和HPLC对共轭亚油酸的测定[J]. 中国油脂, 2005, 30(3): 36-39.
- [20] 吾买尔夏提·塔汉, 南蓬, 艾尔买克. 新疆野扁桃种仁油脂肪酸成分的GC-MS分析[J]. 中国油脂, 2009, 34(11): 77-79.
- [21] CHREISTY A A, EGEBERG P K. Quantitative determination of saturated and unsaturated fatty acids in edible oils by infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2006, 82: 130-136.
- [22] MUIK B, LENDL B, MOLINA-DIAZ A, et al. Two-dimensional correlation spectroscopy and multivariate curve resolution for the study of lipid oxidation in edible oils monitored by FTIR and FT-Raman spectroscopy[J]. Analytica Chimica Acta, 2007, 593(1): 54-67.
- [23] SHERAZI S T H, TALPURM Y, MAHESARS A, et al. Main fatty acid classes in vegetable oils by SB-ATR-Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy[J]. Talanta, 2009, 80(2): 600-606.
- [24] KAYLEGIAN K E, DWYER D A, LYNCH J M, et al. Impact of fatty acid composition on the accuracy of mid-infrared fat analysis of farm milks[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92: 2502-2513.
- [25] KAYLEGIAN K E, LYNCH J M, FLEMING J R, et al. Influence of fatty acid chain length and unsaturation on mid-infrared milk analysis[J]. Journal of Dairy Science, 2009, 92: 2485-2501.
- [26] LYNCH J M, BARBANO D M, SCHWEISTHAL M, et al. Precalibration evaluation procedures for mid-Infrared milk analyzers[J]. Journal of Dairy Science, 2006, 89: 2761-2774.
- [27] 倪昕路, 韩丽, 王传现, 等. 傅立叶变换红外光谱法分析食品及油脂中反式脂肪酸[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(2): 248-249; 279.
- [28] 王丽杰, 徐可欣, 郭建英, 等. 采用近红外光谱技术检测牛奶中脂肪、蛋白质及乳糖含量[J]. 光电子·激光, 2004, 15(4): 468-471.