

# 胆固醇在三硬脂酸甘油酯和三油酸甘油酯中的高温氧化特性

徐贵华<sup>1,2</sup>, 刘东红<sup>1</sup>, 莫海珍<sup>2</sup>, 陈健初<sup>1</sup>, 王俊<sup>1</sup>, 叶兴乾<sup>1</sup>

(1. 浙江大学生物系统工程与食品科学学院, 浙江杭州 310029) (2. 河南科技学院食品学院, 河南新乡 453003)

**摘要:** 为了阐明组成三酰甘油的脂肪酸是否饱和对胆固醇氧化的影响, 使用气相色谱-质谱联用技术研究了胆固醇在三硬脂酸甘油酯(GTS)和三油酸甘油酯(GTO)中的氧化情况, 并同步跟踪过氧化值的变化。结果表明: 胆固醇在GTS和GTO中的主要氧化产物为7 $\alpha$ -羟基胆固醇、7 $\beta$ -羟基胆固醇、5,6 $\beta$ -环氧胆固醇、5,6 $\alpha$ -环氧胆固醇、7-酮基胆固醇。在160℃加热条件下, 胆固醇氧化产物随时间先增加后减少, 未氧化胆固醇逐渐减少, 在GTO中过氧化值在加热1 h出现最大值(500.46 meq/kg), 在GTS中过氧化值在加热3 h出现最大值(401.30 meq/kg), 随后逐渐降低。在110℃加热条件下, 胆固醇在GTS中不会氧化, 过氧化值亦较低, 加热96小时出现最大值(278.43 meq/kg), 胆固醇在GTO中几乎完全氧化, 过氧化值迅速增加, 最大值出现在加热12 h(1486.88 meq/kg), 随后逐渐减少。总的来说, 160℃和110℃加热条件下, 胆固醇在GTS中比在GTO中稳定, 过氧化值的产生亦会延迟且生成量较小, 因此, 饱和脂肪酸三酰甘油更有助于保持胆固醇在高温下的稳定性。

**关键词:** 胆固醇; 氧化; 气相色谱; 三硬脂酸甘油酯; 三油酸甘油酯

文章编号: 1673-9078(2014)4-80-84

## Thermo-oxidation of Cholesterol in Glyceryl Tristearate and Glyceryl Trioleate

XU Gui-hua<sup>1,2</sup>, LIU Dong-hong<sup>1</sup>, MO Hai-zhen<sup>2</sup>, CHEN Jian-chu<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, YE Xing-qian<sup>1</sup>

(1. School of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2. Department of Food Science, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

**Abstract:** In order to elucidate the effects of saturation of fatty acids in triglycerides on cholesterol oxidation, thermo-oxidation of cholesterol in glyceryl tristearate(GTS) and glyceryl trioleate (GTO) was investigated by GC-MS, and their peroxide values were also measured. The results indicated that the main cholesterol oxidation products in GTS and GTO were 7 $\alpha$ -hydroxycholesterol, 7 $\beta$ -hydroxycholesterol, 5,6 $\beta$ -epoxycholesterol, 5,6 $\alpha$ -epoxycholesterol, and 7-ketocholesterol. At 160℃, the cholesterol oxidation products increased and then decreased over heating time, while unoxidized cholesterol reduced gradually in the process. The highest peroxide value (500.46 meq/kg) in GTO was achieved after 1 h heating. The peroxide value in GTS increased to the highest value of 401.30 meq/kg after 3 h heating, but then decreased with prolonging the treatment time. At 110℃, no cholesterol oxidation occurred in GTS, and the peroxide value kept lower, with its peak value (278.43 meq/kg) appearing after 96 h heating. However, cholesterol was almost completely oxidized in GTO, and the peroxide value increased rapidly, reaching its highest (1486.88 meq/kg) after 12 h heating, and then gradually decreased. Generally, cholesterol was more stable in GTS than GTO at 160℃ and 110℃, and the appearance of peroxide delayed with lower amounts. It was suggested that the saturated fatty acids in triglycerides were more beneficial to stabilize cholesterol under high temperature.

**Key words:** cholesterol; oxidation; gas chromatography; glyceryl tristearate; glyceryl trioleate

收稿日期: 2013-12-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31201304); 中国博士后科学基金项目(2013M541787); 浙江省博士后基金项目(BSH1301025); 河南省高校科技创新团队支持计划资助项目(13IRTSTHN006)

作者简介: 徐贵华(1977-), 男, 博士, 博士后, 副教授, 研究方向: 食品基质氧化与抗氧化

通讯作者: 叶兴乾(1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学

胆固醇是人们膳食中的重要营养物质, 它部分以食物为来源, 部分为自身合成。如果人们日常摄取的动物性食物所占比重过高, 会导致胆固醇摄入量超标, 引起高脂血症, 从而有可能导致出现冠心病、动脉粥样硬化等严重心血管疾病<sup>[1]</sup>。近年来的研究表明, 被氧化后的胆固醇要比未被氧化的胆固醇更易引起心血管疾病的发生<sup>[2]</sup>。食品的常规加工条件, 如高温、微

波、紫外等都有可能致使部分胆固醇氧化<sup>[3-4]</sup>, 所以有必要研究食品加工对胆固醇氧化的影响。

从油脂氧化酸败的角度讲, 显然饱和脂肪酸组成的三酰甘油更不稳定, 但关于其中的胆固醇氧化报导较少。本课题的前期研究显示, 胆固醇在不同种类油脂中的氧化特性差别很大, 但其在硬脂酸与油酸中氧化的对比实验仅发现有微小差异<sup>[5]</sup>。胆固醇通常存在于油脂中, 油脂中不同甘油三酯种类对胆固醇的氧化可能有一定影响。林旭辉研究了不同饱和度三酰甘油的共存对胆固醇氧化的影响<sup>[6]</sup>, 认为三酰甘油饱和度高, 胆固醇较难氧化。而最新的一篇文献报导得出相反的结论, 认为饱和的三酰甘油较不饱和的三酰甘油, 更有利于胆固醇的氧化<sup>[7]</sup>。Kim 研究认为不饱和的脂肪酸比饱和的脂肪酸有利于胆固醇氧化<sup>[8]</sup>。也有文献报导认为在光照氧化情况下, 胆固醇在饱和脂肪酸下更易氧化<sup>[9]</sup>。

基于此, 本文选择了常见的硬脂酸(饱和脂肪酸)和油酸(单不饱和脂肪酸)的甘油三酯, 研究它们对胆固醇高温氧化的影响, 从而明确甘油三酯的饱和与否对胆固醇氧化的作用, 同时, 对过氧化值进行同步跟踪测定, 以探讨其中的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料与试剂

胆固醇(cholesterol)、7 $\alpha$ -羟基胆固醇(7 $\alpha$ -hydroxycholesterol)、7 $\beta$ -羟基胆固醇(7 $\beta$ -hydroxycholesterol)、5, 6 $\beta$ -环氧基胆固醇(5, 6 $\beta$ -epoxycholesterol)、5, 6 $\alpha$ -环氧基胆固醇(5, 6 $\alpha$ -epoxycholesterol)、7-酮基胆固醇(7-ketcholesterol)、5 $\alpha$ -胆甾醇(5 $\alpha$ -cholestane)、三甲基硅烷基试剂(trimethylsilyl(TMS) reagent)、硬脂酸甘油三酯(glyceryl tristearate)、油酸甘油三酯(glyceryl trioleate), 购自Sigma公司(美国)。其它试剂为分析纯。

### 1.2 脂肪酸中胆固醇高温氧化反应

将GTS、GTO溶于二氯甲烷, 使其浓度为10%。再将胆固醇加入并充分溶解混匀, 使胆固醇的浓度为0.1%。取200  $\mu$ L上述溶液于试管中, 用氮气吹干, 将其放入烘箱中于160  $^{\circ}$ C下加热0.5 h、1 h、2 h、3 h和4 h, 及110  $^{\circ}$ C下加热12 h、24 h、48 h、72 h和96 h。冷却至室温, 加入40  $\mu$ g的5 $\alpha$ -胆甾醇作为内标, 用1 N的KOH乙醇溶液进行冷皂化并过夜, 然后用正己烷对未皂化部分进行提取, 再用氮气将正己烷吹干, 加入TMS三甲基硅烷基试剂于60  $^{\circ}$ C下进行衍生

化反应60 min, 用氮气吹干, 正己烷溶解定容, 过0.22  $\mu$ m有机滤膜后, 取1  $\mu$ L进GC-MS检测。

### 1.3 气质联用色谱条件

采用安捷伦7890A气质联用色谱仪对胆固醇及其氧化产物进行检测。色谱条件如下: 弹性石英毛细管柱(SACTM-5, 30 m $\times$ 0.25 mm, i.d.; Supelco, Inc., Bellefonte, PA, USA), 氦气流速为1.0 mL/min, 柱温以30  $^{\circ}$ C/min的速度从90  $^{\circ}$ C升至270  $^{\circ}$ C, 然后以1.5  $^{\circ}$ C/min的速度升至300  $^{\circ}$ C, 并保持12 min, 进样口和检测器温度均保持在300  $^{\circ}$ C。

### 1.4 过氧化值的测定

采用国标GB/T 5009.37-2003中的第二法比色法测定油脂氧化的过氧化值。过氧化值单位为meq/kg。

### 1.5 定性和定量分析

胆固醇及其氧化产物的定性方法采用保留时间、标准品比对和质谱库检索方法。定量分析采用内标法, 依据总离子流图峰面积进行计算。

## 2 结果与讨论

### 2.1 胆固醇在GTS和GTO中加热(160 $^{\circ}$ C)

#### 不同时间的氧化特性

本文用GC-MS检测了胆固醇氧化的5种主要产物, 分别是7 $\alpha$ -羟基胆固醇、7 $\beta$ -羟基胆固醇、5, 6 $\beta$ -环氧基胆固醇、5, 6 $\alpha$ -环氧基胆固醇、7-酮基胆固醇, 结果如表1~4所示。这几种胆固醇氧化产物存在转化关系, 随时间和温度的不同其产率有所变化。为了描述方便, 未氧化胆固醇与胆固醇氧化产物的值均以其与最初胆固醇的百分比值表达。

表1与表2列出了160  $^{\circ}$ C条件下, 胆固醇在GTS与GTO中氧化的情况。在氧化产物中5, 6 $\alpha$ -环氧基胆固醇和7-酮基胆固醇所占比例较高, 总氧化胆固醇产率在加热3 h后达到最高(分别为4.08%和6.43%), 随后有所降低。这些胆固醇氧化产物随着加热时间其产率发生明显的变化, 说明在加热过程中, 这些胆固醇氧化产物本身是不稳定的, 存在相互转化及降解现象。未氧化胆固醇随加热时间延长而逐渐降低, 当加热4 h后, 未氧化胆固醇已很少(分别为0.23%和4.14%)。显然, 胆固醇在GTS中的氧化较慢。由表1可知, 160  $^{\circ}$ C下加热1 h, GTS对胆固醇的氧化起明显的保护作用, 超过80%的胆固醇未降解, 其氧化产物

也未检出。但超过 1 h 后,胆固醇会迅速氧化。由表 2 可知,160 °C 下加热,胆固醇在 GTO 中快速氧化,0.5 h 即有近一半胆固醇氧化。

表 1 胆固醇在 GTS 中加热 (160 °C) 不同时间的氧化产物及产率 (%)

**Table 1 Yields of oxidative products of cholesterol in GTS at 160 °C**

加热时间/h	0.5	1	2	3	4
未氧化胆固醇/%	82.58±3.94	81.82±1.82	42.77±15.01	26.47±6.02	0.23±0.18
7 $\alpha$ -羟基胆固醇/%	-	-	0.05±0.01	0.12±0.05	-
7 $\beta$ -羟基胆固醇/%	-	-	0.31±0.06	0.19±0.01	-
5,6 $\beta$ -环氧基胆固醇/%	-	-	0.55±0.33	0.70±0.27	0.19±0.01
5,6 $\alpha$ -环氧基胆固醇/%	-	-	1.91±1.15	3.11±0.65	1.28±1.24
7-酮基胆固醇/%	-	-	0.47±0.11	0.55±0.09	0.14±0.09
总氧化胆固醇/%	-	-	2.92±2.05	4.08±1.23	1.83±1.71

注:“-”表示未检测到或低于检测限。

表 2 胆固醇在 GTO 中加热 (160 °C) 不同时间的氧化产物及产率 (%)

**Table 2 Yields of oxidative products of cholesterol in GTO at 160 °C**

加热时间/h	0.5	1	2	3	4
未氧化胆固醇/%	57.79±4.24	50.48±0.88	13.01±5.43	14.19±5.7	4.14±0.76
7 $\alpha$ -羟基胆固醇/%	0.08±0.02	0.46±0.08	0.58±0.11	0.52±0.21	0.14±0.10
7 $\beta$ -羟基胆固醇/%	1.01±0.07	1.12±0.78	0.76±0.17	0.84±0.17	0.27±0.11
5,6 $\beta$ -环氧基胆固醇/%	0.30±0.02	0.89±0.35	0.63±0.23	1.08±0.06	0.48±0.21
5,6 $\alpha$ -环氧基胆固醇/%	1.04±0.09	2.17±0.15	2.29±0.78	1.86±1.61	1.63±0.51
7-酮基胆固醇/%	0.18±0.05	0.97±0.17	1.94±0.05	2.14±0.10	1.21±0.29
总氧化胆固醇/%	2.61±0.15	5.60±0.83	6.2±1.24	6.43±1.83	3.72±1.22

注:“-”表示未检测到或低于检测限。

## 2.2 胆固醇在 GTS 和 GTO 中加热 (110 °C)

不同时间的氧化特性

胆固醇在 GTS 和 GTO 中加热 (110 °C) 不同时间后的未氧化胆固醇及氧化胆固醇的产率如表 3、表 4 所示。

由表 3 可知, GTS 对胆固醇的氧化起到了很好的抑制作用,胆固醇基本没有氧化,也未有氧化产物被

检测出来。表 4 显示,110 °C 加热条件下,胆固醇在 GTO 中氧化迅速,在 12 h 之内即有超过 90% 降解掉,至 96 h,几乎全部消失 (0.33%)。与 160 °C 下加热相似,氧化产物中以 5,6 $\alpha$ -环氧基胆固醇和 7-酮基胆固醇所占比例较高,生成的氧化产物总量从加热 12 h 开始逐渐减少。因为本文选择 110 °C 下的最短加热时间为 12 h,但显然胆固醇在 12 h 之内已绝大部分氧化,所以未能提供加热 12 h 内胆固醇氧化的具体情况。

表 3 胆固醇在 GTS 中加热 (110 °C) 不同时间的氧化产物及产率 (%)

**Table 3 Yields of oxidative products of cholesterol in GTS at 110 °C**

加热时间/h	12	24	48	72	96
未氧化胆固醇/%	95.63±2.54	98.61±3.21	91.21±2.58	95.41±4.02	97.28±0.79
7 $\alpha$ -羟基胆固醇/%	-	-	-	-	-
7 $\beta$ -羟基胆固醇/%	-	-	-	-	-
5,6 $\beta$ -环氧基胆固醇/%	-	-	-	-	-
5,6 $\alpha$ -环氧基胆固醇/%	-	-	-	-	-
7-酮基胆固醇/%	-	-	-	-	-
总氧化胆固醇/%	-	-	-	-	-

注:“-”表示未检测到或低于检测限。

表4 胆固醇在GTO中加热(110 °C)不同时间的氧化产物及产率(%)

加热时间/h	12	24	48	72	96
未氧化胆固醇/%	8.88±1.26	2.45±1.32	0.62±0.29	0.66±0.84	0.33±0.24
7 $\alpha$ -羟基胆固醇/%	0.48±0.04	0.11±0.01	0.06±0.08	-	-
7 $\beta$ -羟基胆固醇/%	0.74±0.10	0.30±0.09	0.10±0.09	-	-
5,6 $\beta$ -环氧基胆固醇/%	2.40±0.09	1.97±0.37	0.86±0.32	0.23±0.04	0.10±0.03
5,6 $\alpha$ -环氧基胆固醇/%	4.41±0.09	3.92±0.55	1.75±0.88	0.58±0.01	0.54±0.16
7-酮基胆固醇/%	2.69±0.09	2.84±0.57	1.98±1.21	0.95±0.03	1.55±0.20
总氧化胆固醇/%	10.73±0.24	9.15±1.59	4.76±2.63	1.77±0.08	2.18±0.38

注：“-”表示未检测到或低于检测限。

### 2.3 胆固醇在GTS和GTO中加热不同时间过氧化值的变化

过氧化值(即POV)可以反映油脂的氧化程度,一般是先增加,但当生成过氧化物的速度小于分解过氧化物的速度时,过氧化值开始下降。显然,不饱和的GTO要比饱和的GTS更易氧化酸败。胆固醇在GTS和GTO中加热不同时间过氧化值的变化如图1、图2所示。

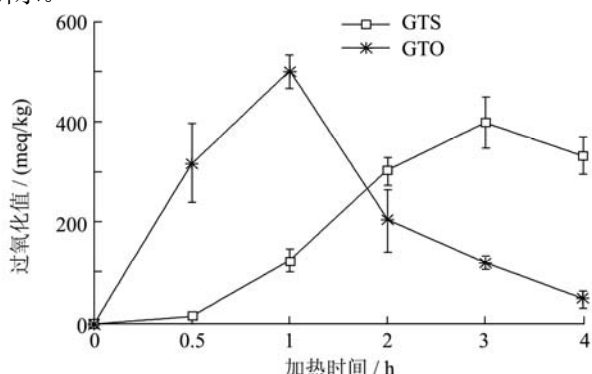


图1 胆固醇在GTS和GTO中加热(160 °C)不同时间过氧化值变化

Fig.1 Peroxides value of cholesterol in GTS and GTO at 160 °C

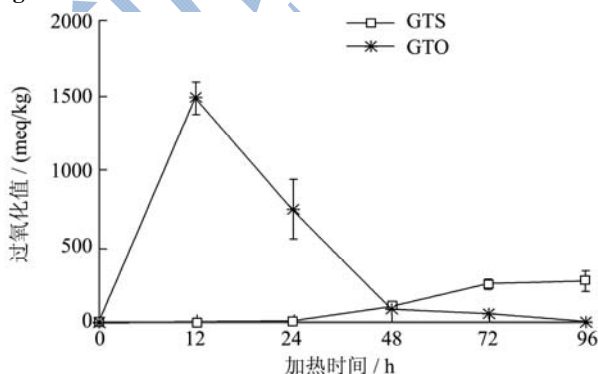


图2 胆固醇在GTS和GTO中加热(110 °C)不同时间过氧化值变化

Fig.2 Peroxides value of cholesterol in GTS and GTO at 110 °C

由图1可知,160 °C加热条件下,胆固醇在GTO中过氧化值于加热1 h出现最大值(500.46 meq/kg),随后逐渐降低。在GTS中,过氧化值增加较缓慢,加热3 h出现最大值(401.30 meq/kg),随后有所下降。根据表3和图2的结果,GTS在110 °C下很稳定,过氧化值产生缓慢且量很少,同时,胆固醇亦稳定,未出现氧化降解,因此胆固醇的氧化与油脂过氧化值存在某种关系。

由图2可知,在110 °C加热条件下,胆固醇在GTO中过氧化值迅速增加,加热12 h出现最大值(1486.88 meq/kg),随后快速降低。在GTS中,过氧化值最大值出现在96 h(278.43 meq/kg),不能排除随时间继续增加的可能。本文实验结果表明,在胆固醇存在下,GTO比GTS更易于氧化。值得注意的是,在110 °C条件下GTO的过氧化值最大值要远远大于160 °C条件下,原因可能是在160 °C条件下,所生成的过氧化物会更快速的分解掉。根据表4和图2的结果,GTO在110 °C下很不稳定,过氧化值迅速大量产生,同时胆固醇亦绝大部分受到氧化降解。

### 3 结论

本文通过对照研究胆固醇在GTS和GTO中的氧化与过氧化值的变化,认为三酰甘油中的脂肪酸饱和度对胆固醇的氧化有重大影响:胆固醇在由不饱和脂肪酸组成的三酰甘油中氧化迅速,过氧化值快速增加;由饱和脂肪酸组成的三酰甘油对胆固醇的氧化起到显著的抑制作用,同时油脂的过氧化值增加亦较缓慢。

### 参考文献

[1] Otaegui-Arrazola A, Menendez-Carreno M, Ansorena D, et al. Oxysterols: A world to explore [J], Food and chemical toxicology, 2010, 48(12): 3289-3303  
 [2] Georgiou C A, Constantinou M S, Kapnissi-Christodoulou C P. Sample preparation: A critical step in the analysis of

- cholesterol oxidation products [J]. Food Chemistry, 2014, 145:918-926
- [3] Hernández Becerra J A, Ochoa Flores A A, Valerio-Alfaro G, et al. Cholesterol oxidation and astaxanthin degradation in shrimp during sun drying and storage [J]. Food Chemistry, 2014, 145: 832-839
- [4] 庞敏,姜绍通,潘丽军,等.不同加热方式对脂质基质中甾醇稳定性及其抗氧化性能的影响[J].食品科学, 2012, 33(21): 39-42  
PANG Min, JIANG Shao-tong, PAN Li-jun, et al. Effect of different heating methods on the stability and antioxidant activity of phytosterol in lipid matrix [J]. Food Science, 2012, 33(21): 39-42
- [5] 徐贵华,叶兴乾.不同媒介环境下胆固醇的高温氧化特性研究[J].中国食品学报,2012,12(12):61-65  
XU Gui-hua, YE Xing-qian. Oxidative property of cholesterol under high temperature in different media [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2012, 12(12): 61-65
- [6] 林旭辉,李楠,陈庆森,等.不同饱和度的三酰甘油酯的共存对胆固醇氧化的影响[J].食品科学,2003,24(6):48-53  
LIN Xu-hui, LI Nan, CHEN Qing-shen, et al. Effect of degree of unsaturation of triacylglycerols on cholesterol oxidation [J]. Food Science, 2003, 24(6): 48-53
- [7] Ansorena D, Barriuso B, Cardenia V, et al. Thermo-oxidation of cholesterol: effect of the unsaturation degree of the lipid matrix [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2757-2764
- [8] Kim S, Nawar W. Oxidative interactions of cholesterol with triacylglycerols [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1991, 68(12), 931-934
- [9] Hu P C, Chen B H. Effects of riboflavin and fatty acid methyl esters on cholesterol oxidation during illumination [J]. J. Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(12): 3572-3578