

# 高分辨率反式脂肪酸测定方法的建立及市售食用油反式脂肪酸的测定

杨占东<sup>1</sup>, 杨继国<sup>1</sup>, 黎科亮<sup>2</sup>, 葛亚中<sup>2</sup>, 宁正祥<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510640) (2. 无限极(中国)有限公司, 广东广州 510665)

**摘要:** 本文建立了高分辨率的反式脂肪酸测定方法, 并考察了市售食用油的反式脂肪酸含量及其种类的情况。结果表明: 采用高极性的色谱柱 HP-88 在优化后色谱条件下, 可以实现 4 种亚油酸异构体、8 种亚麻酸异构体、37 种常见脂肪酸良好的色谱分离, 而且反式脂肪酸与常见的顺式脂肪酸在同时检测条件下出峰时间不重叠, 可以进行高分辨率的脂肪酸包括反式脂肪酸组成分析; 市售主要品种的食用油都存在一定量的反式脂肪酸, 其中调和油、花生油、大豆油含有 2~3% 的反式脂肪酸 (反式亚麻酸含量在 1.5~2% 之间); 玉米油和葵花籽油中反式亚油酸的含量在 0.7~2% 之间; 稻米油的反式脂肪酸的含量最高, 接近 4%; 橄榄油和山茶油的反式脂肪酸含量一般在 0.5% 以下; 各油样的反式脂肪酸异构体的种类也存在区别。

**关键词:** 反式脂肪酸; 方法学; 食用油

文章编号: 1673-9078(2015)7-331-335

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.7.051

## Development and Application of a High-resolution Method to Determine *Trans* Fatty Acids in Commercially Available Edible Oil

YANG Zhan-dong<sup>1</sup>, YANG Ji-guo<sup>1</sup>, LI Ke-liang<sup>2</sup>, GE Ya-zhong<sup>2</sup>, NING Zheng-xiang<sup>1</sup>

(1. College of Light Industry and Food sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Infinitus (China) Company Ltd, Guangzhou 510665, China)

**Abstract:** A high resolution method to determine *trans* fatty acids was established, and was used to examine the content and types of *trans* fatty acids in commercially available edible oil. Good chromatographic separation of four *trans* linoleic acid isomers, eight *trans* linolenic acid isomers, and 37 common fatty acids could be achieved using a high-polarity HP-88 gas chromatography (GC) column under optimized chromatographic conditions. Moreover, the peaks of *trans* fatty acids and common *cis* fatty acids did not overlap in the same detection conditions; thus, a high-resolution analysis of fatty acid (including *trans* fatty acid) composition was possible. The main brands of commercially available edible oil products all contain *trans* fatty acids. Blended oil, peanut oil, and soybean oil contained 2~3% *trans* fatty acids (the *trans* linolenic acid content was between 1.5~2%); corn oil and sunflower oil contained 0.7~2% *trans* linoleic acid; rice oil contained the highest *trans* fatty acid content, close to 4%. Additionally, the *trans* fatty acid content in camellia oil and olive oil were generally below 0.5%. The types of *trans* fatty acid isomers in each oil sample also differed.

**Key words:** *trans* fatty acids; methodology; edible oil

油脂是供给人们最基本的营养素之一, 现代研究表明, 人们日常摄入的油脂除了提供热量、人体组成、促进脂溶性维生素吸收等功能外<sup>[1]</sup>, 还直接影响到代谢类疾病<sup>[2]</sup>、癌症<sup>[3]</sup>、炎症<sup>[4]</sup>等多种疾病的发生, 与人类的健康息息相关。

收稿日期: 2014-09-17

基金项目: 十二五科技支撑计划子课题 (2012BAD33B11); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目 (2014ZZ0063)

作者简介: 杨占东 (1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为食品科学

通讯作者: 杨继国 (1977-), 男, 博士, 副研究员, 研究方向为食品生物学

从人类食用油脂开始, 就有反式脂肪酸的存在。反式脂肪酸(Trans Fatty Acids, TFA)是不饱和脂肪酸包含至少一个双键在反式结构上, 双键碳原子所连的氢原子在碳链的两侧, 空间构象成线性, 与饱和脂肪酸相似。其主要来源于三个方面: 天然油脂中; 植物油的加工过程, 尤其是氢化和脱臭加工; 不当的烹饪过程。

在 20 世纪 90 年代后期, 国际学术界已达成共识: 反式脂肪酸的摄入可能对人体健康造成多种危害, 如导致肥胖病、冠心病、心脏病、心脑血管疾病、糖尿病、乳腺癌和老年痴呆症等, 对婴幼儿生长发育产生

严重影响<sup>[5-9]</sup>。国际机构、各国政府和学术团体纷纷提出消费警示或立法,对食物中反式脂肪酸的含量进行限制。2003年,世界卫生组织在《膳食、营养与慢性疾病的预防》中建议,为增进心血管的健康,应尽量控制膳食中的反式脂肪酸,最大摄入量不超过总能量的1%,即不超过2 g/d<sup>[10]</sup>。2008年,联合国粮农组织与世界卫生组织又在题为《人体营养中的脂肪和脂肪酸》的报告中指出,考虑到膳食分布和高摄入人群的危险,应该对总能量的1%这一反式脂肪酸的最大摄入量进行修改<sup>[1]</sup>。2007年我国发布的《中国居民膳食指南》建议,每人每天食用油不超过25 g,同时建议要“远离反式脂肪酸,尽可能少吃富含氢化油脂的食物”。

赵霖<sup>[11]</sup>等在2005~2009年期间,陆续检测了中国52个品牌共167种产品的反式脂肪酸含量,发现87%的抽检样品含反式脂肪酸。其中,所有奶酪制品、81%的面包和蛋糕、80%的人造奶油、60%的冰激凌,反式脂肪酸所占比例超过2%。“洋快餐”的套餐中,反式脂肪酸含量每份1.00~2.00 g。

反式脂肪酸的检测目前有红外吸收光谱法、色谱法、毛细管电泳法等,标准方法AOAC.996、GBT 17377-2008、GBT 22110-2008、GBT 22507-2008等采用的是气相色谱法,但是在多不饱和脂肪酸多种异构体之间及与其他脂肪酸的精细色谱分离上还需进一步优化。本文就建立高分辨率气相色谱反式脂肪酸测定方法进行了研究,并考察了市售主要品种和不同厂家日常食用油的反式脂肪酸含量及其种类的情况,为控制反式脂肪酸的摄入提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验原料

亚油酸甲酯4种顺反异构体混标(产品编号47791)、亚麻酸甲酯8种顺反异构体混标(产品编号47792)、Supelco 37种组分脂肪酸甲酯混标(产品编号47885-U)均购自sigma-Aldrich公司;调和油、花生油、大豆油、葵花籽油等油样采购于超市;乙醇等试剂为分析纯级。

### 1.2 主要仪器设备

美国安捷伦7890A气相色谱仪(配自动进样器和火焰电离检测器FID)、安捷伦HP-88高极性毛细管色谱柱(规格100 m×0.25 mm×0.2 μm, 100 m长,固定相为高度取代的氰丙基硅氧烷固定相)等。

### 1.3 油脂样品甲酯化步骤

取油约30~50 mg(1滴)于50 mL圆底烧瓶中,加入0.5 M的KOH甲醇溶液2 mL,置于70 °C水浴回流皂化反应约10 min,反应过程不时振荡,至油脂溶解,适当冷却2 min,然后加入3 mL BF<sub>3</sub> 甲醇溶液,置于70 °C水浴回流反应5 min,使甲酯化完全。然后冷却,加入2~3 mL正己烷或石油醚,轻轻摇荡以促进甲酯在正己烷中的溶解。然后加入饱和食盐水使正己烷上升至瓶口,稍等约1 min,吸取上层正己烷相(淡黄色)于装有少量无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的样品瓶(管)中待用。

### 1.4 油脂样品脂肪酸组成(包括反式脂肪酸)

#### 的测定

色谱柱HP-88(100 m×0.25 mm×0.2 μm, Agilent);载气:氮气;进样口:温度250 °C,压力35.57PSI,分流比100:1;检测器:温度260 °C,氢气流量45 mL/min,空气450 mL/min,氮气25 mL/min;柱温箱温度:程序升温(140 °C,保留5 min,以5 °C/min的速度升温到210 °C,保留15 min,再以3 °C/min的速度升到230 °C,保留20 min);进样量:1 μL。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同反式脂肪酸异构体的气相色谱测定

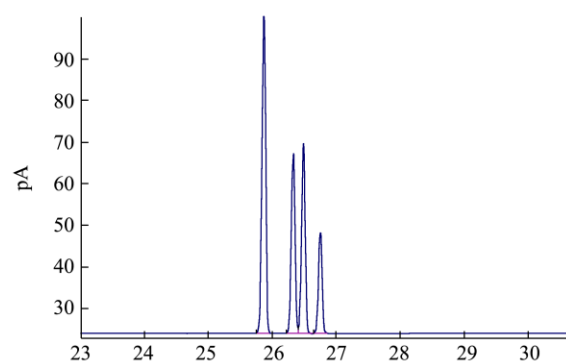


图1 四种亚油酸异构体测定图谱

Fig.1 Gas chromatogram of four linoleic acid isomers

通过参考文献和对各条件的优化,得到1.4测定油脂脂肪酸组成(包括反式脂肪酸)优化色谱条件,在此优化条件下,将4种亚油酸异构体(trans-9, trans-12, cis-9, trans-12, trans-9, cis-12, cis-9, cis-12)、8种亚麻酸异构体(trans-9, trans-12, trans-15, trans-9, trans-12, cis-15, trans-9, cis-12, trans-15, cis-9, trans-12,

trans-15、cis-9、cis-12、trans-15、cis-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、cis-15) 以及 Supelco 37 种组分脂肪酸甲酯标准品按 1.4 方法进行分

析, 结果如图 1~3 所示。

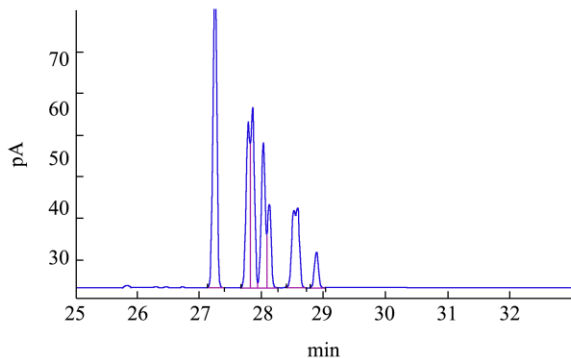


图 2 八种亚麻酸异构体测定图谱

Fig.2 Gas chromatogram of eight linolenic acid isomers

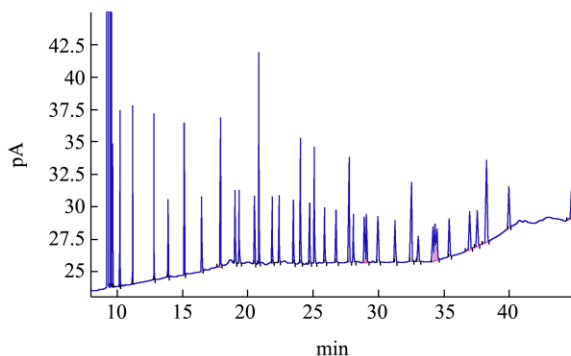


图 3 Supelco 37 种组分脂肪酸甲酯测定图谱图

Fig.3 Gas chromatogram of Supelco 37 Component FAME Mix

由图 1~3 结果可知, 采用高极性的 HP-88(100 m\*0.25mm\*0.2um)色谱柱, 在优化后的色谱条件下, 可以实现 4 种亚油酸异构体、8 种亚麻酸异构体、37 种常见脂肪酸本身良好的色谱分离, 而且反式脂肪酸与常见的顺式脂肪酸在同时检测条件下出峰时间不重叠, 可以进行高准确度、精细的脂肪酸包括反式脂肪酸组成分析。

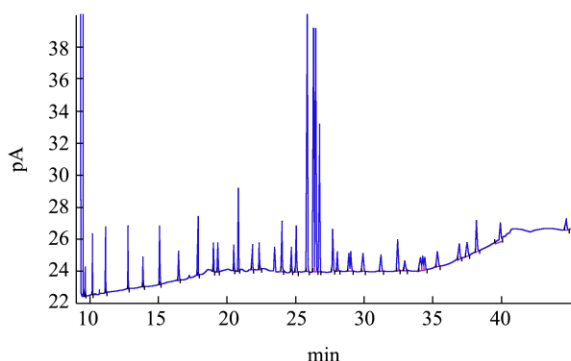


图 4 亚油酸异构体和 37 种组分脂肪酸甲酯混合样分析图谱图

Fig.4 Gas chromatogram of a mixture of linoleic acid isomers and Supelco 37 Component FAME Mix

将各脂肪酸异构体混标与 Supelco 37 种组分脂肪酸甲酯混标混合后进样测定, 考察各成分色谱分离的情况, 结果如图 4 和图 5 所示。

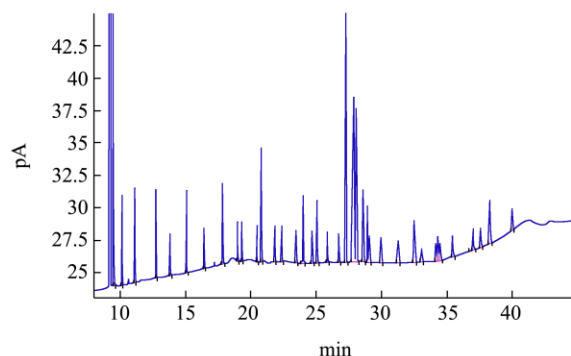


图 5 亚麻酸异构体和 37 种组分脂肪酸甲酯混合样分析图谱图

Fig.5 Gas chromatogram of linolenic acid isomers and Supelco 37 Component FAME Mix

由图 1~5 结果可知, 采用高极性的安捷伦 HP-88(100 m\*0.25 mm\*0.2 μm)在优化后色谱条件下, 可以实现 4 种亚油酸异构体、8 种亚麻酸异构体、37 种常见脂肪酸本身良好的色谱分离, 而且反式脂肪酸与常见的顺式脂肪酸在同时检测条件下出峰时间不重叠, 可以进行高准确度、精细的脂肪酸包括反式脂肪酸组成分析。

## 2.2 重复性实验

分别取 4 种亚油酸异构体和 8 种亚麻酸异构体混合标准样溶液, 连续进样 6 针, 结果如下表 1 所示。

由重复性实验结果可知, 连续进样样品各反式脂肪酸异构体测定中, 反式亚麻酸的 cis-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、cis-15 的波动较大外 (RSD 大于 3%, 但小于 5%), 其他各异构体的重现性较好, RSD 值小于 3%。

## 2.3 市售食用油脂脂肪酸组成 (包括反式脂肪酸) 测定结果

对市售的食用油样品采用本项目所建立的方法进行脂肪酸组成 (包括反式脂肪酸) 的测定, 结果如表 2 所示。

由表 2 结果可知: 市售食用油脂产品都存在一定的反式脂肪酸, 其中调和油、花生油、大豆油含有 2~3% 的反式脂肪酸 (反式亚麻酸含量在 1.5~2% 之间); 玉米油和葵花籽油由于本身含有较高含量的亚油酸, 所以其反式亚油酸的含量相对较高, 含量在 0.7~2% 之间; 稻米油的反式脂肪酸的含量最高, 接近 4%, 可能和该油精炼程度较高有关; 橄榄油和山茶油

的多不饱和脂肪酸含量较低, 其反式脂肪酸含量也相对较低, 一般在 0.5% 以下 (个别在 0.5~1% 之间)。

表 1 方法重复性实验结果

Table 1 Results of method reproducibility tests

脂肪酸	异构体	重复次数测定值/%						平均值 /%	RSD/ %
		1	2	3	4	5	6		
4 种亚油酸 异构体	<i>trans-9, trans-12</i>	41.71	41.70	41.69	41.72	41.68	41.71	41.70	0.04
	<i>cis-9, trans-12</i>	22.84	22.84	22.85	22.85	22.85	22.85	22.85	0.02
	<i>trans-9, cis-12</i>	23.17	23.16	23.16	23.16	23.18	23.18	23.17	0.04
	<i>cis-9, cis-12</i>	12.28	12.29	12.29	12.27	12.29	12.26	12.28	0.10
8 种亚麻酸 异构体	<i>trans-9, trans-12, trans-15</i>	29.90	29.86	29.87	29.90	29.87	29.89	29.88	0.06
	<i>trans-9, trans-12, cis-15</i>	14.95	14.63	14.64	15.04	15.01	14.81	14.85	1.23
	<i>trans-9, cis-12, trans-15</i>	16.42	16.76	16.77	16.35	16.38	16.57	16.54	1.14
	<i>cis-9, trans-12, trans-15</i>	13.92	14.21	14.18	14.20	14.21	13.37	14.02	2.39
	<i>cis-9, cis-12, trans-15</i>	7.46	7.21	7.21	7.19	7.17	7.46	7.28	1.89
	<i>cis-9, trans-12, cis-15</i>	6.70	6.74	6.23	6.35	6.77	6.70	6.58	3.50
	<i>trans-9, cis-12, cis-15</i>	7.18	7.13	7.63	7.53	7.14	7.10	7.29	3.19
	<i>cis-9, cis-12, cis-15</i>	3.45	3.45	3.45	3.44	3.45	3.47	3.45	0.28

表 2 市售食用油脂脂肪酸组成 (包括反式脂肪酸) 测定结果

名称	C16:0	C18:0	反 C18:1	C18:1	反 C18:2	C18:2	反 C18:3	C18:3
调和油 1	10.29	4.32	0.05	28.65	0.72	44.59	1.77	4.95
调和油 2	9.42	3.91	0.09	33.13	0.59	42.12	1.53	5.06
调和油 3	9.78	4.62	0.07	26.67	0.6	46.77	1.86	5.95
调和油 4	5.34	2.4	0.11	52.82	0.25	24.73	1.97	5.84
花生油 1	10.78	3.59	0.04	40.9	0.13	34.19	1.74	0.13
花生油 2	10.31	3.52	0.07	46.8	0.75	29.4	1.62	0.14
花生油 3	9.74	3.09	0.1	48.82	0.83	27.89	1.45	0.24
花生油 4	11.03	4	0.05	41.82	0.19	33.06	1.84	0.14
大豆油 1	10.56	4.83	0.04	23.25	0.73	50.43	1.66	5.23
大豆油 2	10.95	4.88	0.04	23.28	0.72	49.76	1.56	5.47
大豆油 3	11.05	4.57	0.05	23.56	0.88	49.75	1.77	4.91
玉米油 1	11.39	2.08	0.11	31.47	1.81	48.25	0.79	0.54
玉米油 2	12.25	1.83	0.08	27.68	1.34	53.48	0.65	0.72
玉米油 3	12.81	2.03	0.08	30.95	1.33	49.3	0.72	0.59
葵花籽油 1	6.41	3.69	0.03	27.67	1.01	58.13	0.28	0.07
葵花籽油 2	6.12	5.31	0.03	24.01	0.95	61.17	0.37	0.11
葵花籽油 3	6.68	3.83	0.05	27.47	0.74	57.96	0.33	0.1
橄榄油 1	9.1	3.46	0.02	74.35	0.02	7.41	0.48	0.66
橄榄油 2	10.19	3.17	0.03	75.01	0	6	0.44	0.57
橄榄油 3	12.74	2.94	0.02	66.66	0.09	12.55	0.45	0.9
茶籽油 1	8.38	2.42	0.16	78.04	0.05	7.94	0.06	0.4
茶籽油 2	7.2	2.64	0.4	78.68	0.62	7.23	0.33	0.15
稻米油 1	16.2	1.75	0.16	39.06	2.53	35.06	1.43	0.6

对各油样的色谱图进行深入分析, 可以得到各油样反式脂肪酸异构体的具体组成情况: 食用油样品中,

除了山茶油 (反式油酸含量在 0.1~0.5% 之间) 其他油样的反式油酸含量都在 0.1% 以下; 各油样的反式脂肪

酸异构体的种类也存在区别,其中调和油样品中,反式亚油酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主;花生油样品中反式亚油酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、rans-12、is-15 为主;大豆油样品中,反式亚油酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15、trans-9、trans-12、cis-15 为主;玉米油样品中,反式亚油酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、trans-12、cis-15(占反式亚麻酸的 60~70%)、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主;葵花籽油样品中反式亚油酸以 cis-9、rans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、trans-12、cis-15 为主;稻米油样品中,反式亚油酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12 异构体为主,反式亚麻酸以 trans-9、trans-12、cis-15(占反式亚麻酸的 50%左右)、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主。

### 3 结论

3.1 高准确度的脂肪酸(含反式脂肪酸)检测方法的建立:采用高极性的安捷伦 HP-88(100 m×0.25 mm×0.2 μm)在优化后色谱条件下,可以实现 4 种亚油酸异构体、8 种亚麻酸异构体、37 种常见脂肪酸本身良好的色谱分离,而且反式脂肪酸与常见的顺式脂肪酸在同时检测条件下出峰时间不重叠,可以进行高准确度、精细的脂肪酸包括反式脂肪酸组成分析;

3.2 利用本文所建立方法对市售主要食用油产品检测,其结果显示,市售主要食用油产品都存在一定量的反式脂肪酸,多以反式多不饱和脂肪酸(C18:2; C18:3)为主,其含量与油脂种类密切相关,其中花生油含有 2~3%的反式脂肪酸,以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12、trans-9、trans-12、cis-15 为主;大豆油含有 2~3%的反式脂肪酸,以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15、trans-9、trans-12、cis-15 为主;调和油含有 2~3%的反式脂肪酸,以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12、trans-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主;玉米油和葵花籽油有 0.7~2%的反式脂肪酸,以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12、trans-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主;稻米油含有近 4%的反式脂肪酸以 cis-9、trans-12、trans-9、cis-12、trans-9、trans-12、cis-15、trans-9、cis-12、

cis-15、cis-9、cis-12、trans-15 为主;橄榄油和山茶油含有 0.5~1%的反式脂肪酸,以反式油酸为主。

### 参考文献

- [1] Karger S. Fats and fatty acids in human nutrition、 Joint FAO/WHO Expert Consultation. 2008
- [2] Artemis P Simopoulos. Genetic variants in the metabolism of omega-6 and omega-3 fatty acids: their role in the determination of nutritional requirements and chronic disease risk [J]. *Exp. Biol. Med.* (Maywood), 2010, 235 ( 7): 785-795
- [3] Chajès V, Torres-Mejá G, Biessy C, et al. ω-3 and ω-6 Polyunsaturated fatty acid intakes and the risk of breast cancer in Mexican women: impact of obesity status [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*, 2012, 21(2): 319-326
- [4] Michel de Lorgeril, Patricia Salen. New insights into the health effects of dietary saturated and omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids [J]. *BMC Medicine*, 2012, 10: 50-54
- [5] Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects [J]. *New England Journal of Medicine*, 1990, 323 (7): 439-445
- [6] Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, et al. Trans Fatty Acids and Cardiovascular Disease [J]. *New England Journal of Medicine*, 2006, 354(15): 1601-1613
- [7] 于化泓,梁忠爽,李湘梅,等.反式脂肪酸对血管内皮细胞损伤的影响[J].*食品科学*,2011,32(19):244- 247  
YU Hua-hong, LIANG Zhong-shuang, LI Xiang-mei, et al. Effects of trans-fatty acids on damage of human umbilical vein endothelial cells [J]. *Food Sci.*, 2011, 32(19): 244-247
- [8] J SImemn O, FraJlk BH, Manson J, et al. Dietary fat intake and risk of II type diabetes in women [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2001, 73 (6): 1019-1021
- [9] Cadson SE, Clandinin MT, Cook HW, et al. Trans fatty acids: infant and fetal development [J]. *American Journal of Clinical Nutrition*, 1997, 66(3): 715-736
- [10] WHO. Diet. Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. 2003. WHO Technical Report Series No. 916
- [11] 傅红,赵霖,杨琳,等.中国市售食品中反式脂肪酸含量的现状研究[J].*中国食品学报*,2010,(4):48-53  
FU Hong, ZHAO Lin, YANG Lin, et al. Survey of Trans Fatty Acids in Chinese Market [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2010, 10(4): 48-53