

分析测试

反式脂肪酸测定方法的研究

郭林, 李靖靖, 宁建中

(中州大学化工食品学院, 河南 郑州 450044)

摘要: 简要介绍了反式脂肪酸(TFA)的生成途径及主要的食物来源,反式脂肪酸对人体健康的主要危害和影响,综述了反式脂肪酸的分析检测方法如气相色谱法、红外光谱法、Ag离子色谱技术、毛细管电泳法等,并比较了各种方法的优缺点。

关键词: 反式脂肪酸;气相色谱法;红外光谱法

中图分类号:O657;TQ225.1

文献标识码:A

文章编号:0253-4320(2011)03-0087-06

Research on determination of trans fatty acids

GUO Lin, LI Jing-jing, NING Jian-zhong

(Institute of Chemical Engineering & Food Science, Zhongzhou University, Zhengzhou 450044, China)

Abstract: Trans fatty acids (TFA) formation pathway, the major food sources of trans fatty acids and the major harms to human health are described. The analysis and detection methods such as gas chromatography, infrared spectroscopy, Ag ion chromatography, capillary electrophoresis are reviewed. The advantages and disadvantages of each method are compared.

Key words: trans fatty acids; gas chromatography; infrared spectroscopy

从化学结构上讲,反式脂肪酸(TFA)是指含有反式非共轭双键结构不饱和脂肪酸的总称。反式脂肪酸主要来源于3个途径:反刍动物(如马、牛、羊)脂肪及其乳脂在肠腔中的丁酸弧菌属菌群的酶促氢化作用下生成TFA,牛脂中含TFA 2.5%~4.0%(质量分数,下同),乳脂含TFA 5%~9.7%。在油脂精炼工艺脱臭过程中,经250℃以上高温加热处理的植物油脂也会发生构型变化,产生TFA;在氢化加工的植物油脂过程中,天然脂肪酸的“顺式构型”有一部分转化成“反式构型”,生成TFA。由于氢化后的油脂具有熔点高、氧化稳定性好、货架期长、风味独特、口感更佳等优点,且成本上更占据优势,从而导致了反式脂肪酸在一些糕点、饼干、油炸食品等食品中广泛存在。

有研究表明长期过量食用氢化加工产生的反式脂肪酸可引起人体血脂代谢异常会降低人体中有益的高密度胆固醇(HDL)的含量,而使有害的低密度胆固醇(LDL)含量增加,提高血液中低密度脂蛋白胆固醇浓度,导致心脑血管疾病、动脉阻塞硬化以及糖尿病、乳腺癌和老年痴呆症,还可能影响儿童生长发育和神经系统健康。因此控制食品中反式脂肪酸的含量尤为重要。

从2003年6月1日起,丹麦禁止使用任何含TFA超过2%的油脂;而从2003年12月31日起,这个规定拓展到含油脂的食品中。同时,加拿大、巴西

等国家也制定食品中反式脂肪酸含量的相关规定。国际食品法典委员会(CAC)在第26届会议上,对营养标签法提出修正草案,建议在食品营养标签上标示反式脂肪酸的含量。美国要求自2006年起在传统食品和膳食补充品的营养标签中,标注反式脂肪酸的含量。

食品中油脂的反式脂肪酸不仅组分复杂,而且含量一般都很小,11t-18:1在人体内可代谢为有益的9c,11t-18:2,这表明,并非所有的TFA都是不利的。不同反式脂肪酸异构体的生理作用可能存在差异,从复杂的组分中识别出目标反式脂肪酸,并进行准确定量,从而有效地指导膳食的摄取,是一项很有意义、很有必要的工作。

目前,测定食品中TFA的方法主要有:气相色谱法(GC)、红外光谱法(IR)、薄层色谱法(TLC)、银离子色谱法和毛细管电泳法(CE)。美国石油化学家学会(American Oil Chemist Society, AOCS)与官方农业化学家协会(Association of Official Analytical-Chemists, AOAC)指定使用红外光谱(IR)与气相色谱(GC)对TFA含量进行分析,二者能准确测定其含量,灵敏度较高,目前应用较多。

1 气相色谱法

气相色谱法原理是利用待分离的各组分物质在固定相和移动相中的分配系数不同进行分离,是

目前脂肪酸检测普遍采用的方法。其实用性及灵敏度高,成为分析 TFA 的常用方法。AOCS Ce 1f-96 与 AOAC996.06 述及的气相色谱方法中可以获得高达 0.5% 的灵敏度。美国油脂化学家学会(AOCS)所推荐采用的标准方法:长度为 100 m 的毛细管柱,内标物采用 C21:0,填充物为 SP2560、CP2Sil 88 或 BPX-70,依据出峰的时间来确定脂肪酸的种类及含量。

采用气相色谱法必须将甘油三酯分解释放脂肪酸,然后进行甲酯化处理,才能进行分析。因此采用气相色谱法检测反式脂肪酸,需先进行酯化。目前可采用的脂肪酸甲酯化方法有:氢氧化钾-甲醇法、浓硫酸-甲醇法、三氟化硼-甲醇法等。如我国国家标准 GB/T 22110—2008 采用氢氧化钾-甲醇法。

宋志华等^[1]建立了氢化大豆油中反式脂肪酸的毛细管气相色谱分析方法,着重考察了色谱柱温对反式脂肪酸分离效率的影响。采用 CP-Sil88 (100 m × 0.25 mm × 0.2 μm) 毛细管柱, N₂ 为载气,最佳色谱条件为: H₂ 压力 60 kPa, 空气压力 50 kPa, 柱前压 220 kPa, 程序升温 120℃ 保留 3 min、8℃/min 升温至 175℃ 保留 28 min、3℃/min 升温至 215℃ 保留 20 min, 进样口温度 260℃, 检测器温度 260℃。该方法最小检测量 ≤ 5.50 μg/mL, 线性范围为 0.008 ~ 1.06 mg/mL, 不同浓度水平下的 *t* 值为 1.61 ~ 3.95, 小于临界值, 相对标准偏差为 0.28% ~ 0.93%。青龙高科技张绍良等^[2]以 N₂ 为载气, EC-1000 毛细管柱, 采用面积归一化法检测油脂中 TFA, 可以有效的检测出市面上各种油品 TFA 的含量。T. Leth^[3] 采用气-质联用, 将脂肪酸吡啶甲酯化代替传统的甲酯化, 可以分析出单一 TFA 的质量甚至是结构构象, 而传统的甲酯化方法只能分析出混合物的质量。W. M. Nimal Ratnayake 等^[4] 将 AOCS Ce 1 h-05 方法进行优化, 选取 CP-Sil 88 和 SP-2560 色谱柱能够将人造黄油中的 50 种不同的顺、反式脂肪酸分开。McDonald 等^[5] 采用 12% 的 Silar10C 为固定相的填充柱, 使亚油酸中全顺式和全反式 2 种几何异构体达到了基线分离, 亚麻酸的 8 种几何异构体也得到了部分分离, 但是由于填充柱的柱长不够、柱效不高, 未能实现亚油酸和亚麻酸顺、反式位置异构体的分离。

反式脂肪酸和顺式脂肪酸的分子质量相同, 但立体结构不同, 其物理和化学性质非常相似, 目前反式脂肪酸一般采用气相色谱, 氢火焰离子化检测器(FID)检测, 外标法定性定量。试验存在所需标准

物质昂贵, 干扰物质多, 定性复杂的难点, 为此赖毅东等^[6] 参考美国官方分析化学师协会方法(AOAC), 采用石油醚提取食品中脂肪, 经甲酯化反应后, 采用 100 m 长 HP-88 毛细管柱、程序升温、采用 GC-MS 面积归一化法检测。建立了气质联用面积归一化法测定食品中的反式脂肪酸的方法, 用质谱测定 TFA 的结构, 研究了反式脂肪酸的质谱图特征, 找出其特征离子, 研究了其保留时间规律, 利用气相色谱保留时间和质谱扫描同时定性, 大大提高了分析结果的可靠性。

宋志华等^[7] 采用 CP-Sil88 强极性毛细管柱气相色谱法对精炼和氢化大豆油中的顺、反异构和位置异构的脂肪酸进行定性、定量分析。色谱条件: CP-Sil88 强极性毛细管气相色谱柱(100 m × 0.25 mm × 0.2 μm), FID 检测器。载气为 N₂, 燃烧气为 H₂ 和空气, 进样口温度 260℃, 柱前压 200 kPa, 柱温 45℃ 保留 4 min, 以 13℃/min 的速度升温至 175℃ 保留 27 min, 再以 4℃/min 的速度升温至 215℃ 保留 40 min, 检测温度 260℃, H₂ 压力 60 kPa, 空气压力为 50 kPa, 进样量 1.0 μL, 分流比 1:80。结果表明, 精炼和氢化大豆油中主要顺、反式脂肪酸实现了很好的分离, 各种位置异构的反式脂肪酸也实现了较好的分离。采用归一化法对各种脂肪酸进行定量分析, 求得脂肪酸甲酯混合标准品中各组分的测定值与其真实值之间的绝对误差在 0.05 以内。

为了克服索氏提取法提取食品中油脂时间长、所用的溶剂量大, 容易产生误差等缺点, 黄建立等^[8] 建立了微波辅助合成/萃取-气相色谱测定植物黄油中反式脂肪酸的分析方法, 微波作为一种特殊手段, 促进了样品中脂肪的提取, 也加快了酯交换反应的速度, 提高了甲酯化效率。反式脂肪酸甲酯以气相色谱 FID 检测, 通过单标甲酯的保留时间和脂肪酸的出峰规律定性, 以十三烷酸为内标, 定量测定目标反式脂肪酸的含量。该方法使样品脂肪的提取、甲酯化及萃取同步完成, 顺反式脂肪酸甲酯得到有效分离。Priego-Capote 等^[9] 采用聚焦微波辅助索氏萃取-气相色谱质谱检测技术从面包样品中测定脂肪和反式脂肪酸的含量, 聚焦微波辅助索氏萃取与 Folch method 相比, 萃取时间由 3.5 h 降至 35 ~ 60 min, 萃取条件温和, 萃取范围宽。

加速溶剂萃取(Accelerated Solvent Extraction, ASE)是最近几年新生的前处理方法, 具有省时省溶剂、减少污染、高自动化等优点, 已开始应用于食品分析。徐慧等^[10] 应用加速溶剂萃取(ASE)技术

对食品中的油脂进行富集,经甲酯化反应后,通过HP-88毛细管色谱柱分离测定食品中反式脂肪酸含量。结果表明:在提取温度125℃,提取压力10.3 MPa,以正己烷/二氯甲烷/甲醇体积比为3:2:1对食品中反式脂肪酸进行有效提取,以C16:1-t9为例,该方法加标回收率在96.1%~99.3%,相对标准偏差为0.5%~2.3%,最低检测限为2.0 μg/mL,顺、反式脂肪酸分离良好。

黄杰^[11]用乙醚提取食品中脂肪,经甲酯化反应后,选用CP-Sil 88 FAME毛细管石英柱(100 m × 0.25 mm × 0.20 μm),FID检测器,载气为高纯氮气,压力为300 kPa,氢气压力50 kPa,空气压力50 kPa,进样口温度250℃,检测器温度260℃,柱温采用三级程序升温:初始温度110℃,保持4 min,以3℃/min升温至170℃,再以2℃/min升温至200℃;最后再以3℃/min升温至230℃,保持6 min。分流比为1:40。结果表明:顺、反式脂肪酸的分离良好;检出限为9 μg/mL线性 r 值为0.998,相对标准偏差(RSD)为0.73%~1.73%,加标回收率为97.4%~101.2%。

目前,大多数实验室采用100 m长的CP-Sil88的毛细管柱分离分析脂肪酸顺反异构体。但是该色谱柱价格高,分析时间长。鲍忠定等^[12]用脂肪酸原位脂肪酸甲酯合成技术结合毛细管气相色谱法分离顺/反式油酸、亚油酸等4种脂肪酸,用改良的罗紫一哥特里法提取食品中的脂肪,以顺/反式油酸甲酯和顺/反式亚油酸甲酯为标准品,以高纯氮为流动相,选用氢氧化钾-甲醇法甲酯化,以DB-23毛细管色谱柱用气相色谱法测定反式脂肪酸。结果表明,反式油酸和反式亚油酸的平均回收率分别为93.02%、94.54%,相对标准偏差分别为2.03%、1.31%。Seiichi等^[13]采用TC-70色谱柱(柱长分别为30、60 m)分离脂肪酸顺反异构体,采用bis cyanopropylsiloxane polysilphenylene作为固定相,三氟化硼-甲醇进行酯化,并与AOCS推荐使用的方法进行对比试验,结果显示,在确定的分析条件下,有效确定反式脂肪酸的成分,结果与国际标准一致,但显著缩短分析时间。

我国国家标准GB/T 22110—2008采用氢氧化钾-甲醇法,只适用于植物油中反式脂肪酸的测定;不适用于动物油脂中反式脂肪酸的测定。李培武等^[14]在优化色谱条件的基础上,采用RT-2560(100 m × 0.25 mm × 0.2 μm)强极性毛细管柱可以有效分离顺-反式脂肪酸。建立的反式脂肪酸气相

色谱检测方法,C18:1-9t,C18:1-11t,C18:2-9t、12t和C22:1-13t 4种反式脂肪酸的最小检出质量浓度在0.77~4.08 mg/kg之间,不同添标浓度回收率为98.44%~101.23%,重复测定的相对标准差在0.22%~1.31%。并比较了甲醇钠-甲醇、氢氧化钾-甲醇、浓硫酸-甲醇和三氟化硼-甲醇4种脂肪酸衍生化方法,结果表明三氟化硼-甲醇法适于反式脂肪酸绝对含量的测定。韩军花等^[15]选择普通植物油、动物油和氢化植物油三大类共9种动植物油样品,参照国际标准经部分修改,建立了适合国内条件的反式脂肪酸气相色谱分析及用面积归一定量的测定方法,并进行了重复性测定和实验室间的验证。结果在实验条件下,油脂中脂肪酸可以得到很好的分离;除个别含量极低的脂肪酸外,各脂肪酸组分10次分析结果的相对标准偏差均小于10%,其中反式脂肪酸总和的RSD值在豆油和氢化豆油中分别是2.0%和0.3%;实验室间验证结果也表明,该方法在不同实验室间的结果有很好的一致性,豆油、氢化豆油、猪油3种样品的反式脂肪酸总和的RSD值分别是5.0%、1.1%和4.6%,均远小于10%。该检测方法实验室内和实验室间的精密度均较高,且所需仪器比较普及,操作步骤简单易行,分析时间短,适合国内开展,可作为我国动植物油反式脂肪酸的测定方法之一。

目前,常用于脂肪酸顺、反式位置异构体分析的气相色谱柱有CP-Sil88、SP-2560、SP-2340和BPX-70,都以高极性的氰丙基为固定相,由于氰丙基的含量不同,极性有所差别,其中CP-Sil88的应用较为广泛。脂肪酸在此类高极性柱上的流出顺序为:饱和、单不饱和、二不饱和,反式异构体在顺式异构体之前流出,但是顺、反式位置异构体仍有部分的重叠。因此气相色谱法只能获取包括顺式与TFA总的脂肪值,而不能将脂肪酸各反式异构体与顺式异构体完全分离,顺式或TFA异构体的单独的含量必须使用薄层色谱或高效液相色谱检测,需要花费更多的时间与精力。色谱条件的微小变化可能影响相对保留时间,对工作增加了困难。

2 红外光谱法

红外吸收光谱法(IR)检测反式脂肪酸技术,美国官方分析化学协会(AOAC)和国际理论与应用化学联合会(IUPAC)都以此制定过标准,这2个学会规定的方法不同点在于所采用的基准波长范围不同。该法最大优点是快速方便且不破坏样品,其

过程是将样品中的脂肪酸甲酯化,然后扫描分 $1\ 050\sim 900\text{ cm}^{-1}$ 波长范围内的红外光谱,TFA的反式构型的双键由于其C—H的平面外振动,使得TFA在 966 cm^{-1} 处存在最大吸收,而顺式构型的双键和饱和脂肪酸在此处却没有吸收,因此利用这一原理可以确定油脂中是否存在TFA,并进行定量分析。

由于在 $900\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 处正己烷杂质最少,且对测定干扰最小并与标样有良好的相容性,孔鲁裔^[16]选用正己烷作标准品溶剂。以空气为空白,用红外光谱仪以 0.1 mm 膜厚度液体池,于 $900\sim 1\ 000\text{ cm}^{-1}$ 间扫描其吸收谱图。将其他各浓度谱图分别与 0% 浓度谱图做差谱,且在 966 cm^{-1} 处分别计算其峰高。根据标准曲线上查得的峰高及标准曲线的斜率计算出反式脂肪酸的含量,方法可直接对样品进行测定。

为了解决在实际生产中,传统的气相色谱法(GC)检测油脂需要甲酯化,色谱分离所需时间长,定性定量分析所需的标准品数量多且价格昂贵等问题。哈尔滨商业大学的王立琦^[17]发明了用近红外光谱分析技术检测油脂中反式脂肪酸含量。通过以下步骤来实现:①校正集样本光谱的建立;②光谱数据的预处理;③基础数据的测定;④校正模型的建立;⑤校正模型的验证;⑥待测样本的分析。用此方法对食用油脂中反式脂肪酸含量进行检测,可有效缩短检测周期,且整个过程在计算机的控制下,实现数据的采集、存储、显示和处理功能。

傅里叶变换近红外光谱法比IR更方便准确,可以减少基线漂移所带来的误差,同时可以通过计算机对数据进行分析。我国出入境检验检疫行业标准SN/T 2326—2009^[18]规定了食品及食用油脂中反式脂肪酸的检测方法。标准适用于棕榈油、乳酪、饼干和薯条中反式脂肪酸含量的检测。油脂试样或试样经石油醚提取所得的脂肪直接用配有氘化三甘氨酸硫酸酯(DTGS)检测器和水平衰减全反射(HATR)附件的傅里叶变换红外光谱仪测定,根据反式脂肪酸标准曲线校正,计算样品中反式脂肪酸在总脂肪中所占的质量分数。

AOAC认可的红外光谱透射分析法,所能测定的最低质量分数为 5% ,不适用于浓度较低的样品。傅里叶变换红外光谱仪-减弱全反射分析的开发解决了此浓度上的限制。台湾屏东科技大学黄培瑜以橄榄油的吸收光谱为背景,取样品在 $10.3\ \mu\text{m}$ (966 cm^{-1})吸收峰的吸收度与反式油酸甲酯含量建立线

性回归方程式,并将样品预测结果与气相层析仪对照。结果显示方程式的 R_2 高达 0.9936 ,在低质量分数(2.4%)也可进行分析,证明FTIR-ATR除了快速、不需使用有机溶剂之优势外,在分析反式脂肪酸含量上具有良好的预测能力。

传统的傅里叶红外(FTIR)方法需要对样品进行甲酯化,并且要使用二硫化碳作为稀释溶剂。溶剂二硫化碳气味难闻,且经过一系列样品处理过程之后,方法的灵敏度和检出限都大大降低。基于传统的FTIR方法的这些局限性,一种基于可加热衰减全反射附件(ATR)新的红外测试方法被人们用来测定各类食品中反式脂肪酸的含量。利用该ATR方法,脂肪样品中的TFA可以被直接测试,不需要称重、甲酯化以及挥发性溶剂。单次ATR附件采样区域很小,采样量不到 $50\ \mu\text{L}$ 。因而在从食品中萃取脂肪时仅需要很少的样品量。

于修焯等^[19]以反油酸甘油酯和棕榈酸甘油酯为标准,按试验设计要求,配制各种不同含量反式脂肪酸($0\%\sim 20\%$)的油脂用于分析。通过ATR-FTIR技术在3台不同的红外光谱仪上采集光谱,用负二阶导法(-2D法)来分析光谱,在二阶导光谱图中,反式脂肪酸在 $966\sim 963\text{ cm}^{-1}$ 峰高与反式脂肪的含量回归得到红外定标方程。用验证样品集对定标方程进行验证,获得验证相关系数为 0.9992 ,结果表明:-2D分析法在ATR-FTIR技术测定油脂中反式脂肪酸是完全可行的,与传统的方法相比,无需相应的基准油脂作为参考,其在日常检测及在线检测反式脂肪酸含量应用前景十分广阔。

根据油脂中反式双键的顺反式空间构象不同,傅里叶变换红外光谱法能够准确地定性和定量分析食品及油脂中反式脂肪酸的含量,适用于一般食品和营养标签的测定。倪昕路等^[20]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。将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 966 cm^{-1} 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质量分数,可通过反式双键的特征峰对样品油脂中的反式脂肪酸进行准确定量。

单次衰减全反射傅里叶红外光谱(SB-ATR-FTIR)法基于反式非共轭双键在 966 cm^{-1} 处有特征吸收,不需要把样品溶于 CS_2 中和把油脂转化成其脂肪酸甲酯,但需要用零反式脂肪酸油脂对同种

类型油脂反式脂肪酸模型进行校正,才可准确测定,要满足这一条件,应用范围受到很大限制。衰减全反射(ATR)FTIR光谱法主要缺点是ATR液池光程短,灵敏度低, Van de Voort等在长期研究食用油和润滑油检测的实践中提出了用稀释剂来稀释油脂,降低油脂黏度,同时稀释剂溶有标记物。通过稀释剂和待测样品光谱,利用标记物来进行光谱的运算重新组合,以还原待测样品光谱的技术,称为光谱重组(Spect Ralrestitution,简称SR)技术。于修焯等^[21]采用FTIR光谱重组技术测定油脂中反式脂肪酸的含量,选用矿物精油(OMS)为稀释剂,六羰基铬为标记物,以食用油、反式脂肪酸标样及矿物精油为试验材料,采用傅里叶红外光谱重组(SR-FTIR)技术检测食用油中反式脂肪酸含量,并与标准红外分析方法(SB-ATR-TIR法)进行比较。结果表明:SR-FTIR模型反式脂肪酸含量预测值与实际加入量高度线性相关,斜率为1.02,标准差小于0.05;SR-FTIR模型的灵敏度要比标准方法模型高20余倍。

3 Ag 离子色谱技术

GC和傅里叶转换红外光谱联用虽然一定程度上弥补了红外不能得到各异构体组成和含量的缺陷,但反式脂肪酸在红外区 969 cm^{-1} 附近的吸收峰会与甘油三酯的宽吸收带交盖,而且也会受到样品中含共轭结构的脂肪酸的干扰,检测结果并不准确。银离子薄层色谱分析是依据银离子能与不饱和脂肪酸形成络合物,不饱和度越高,络合作用力越大, R_f 值越小;双键的构型对络和作用力也有影响,由于空间位阻的关系,顺式构型比反式构型的络合作用力要大,从而能实现顺、反式脂肪酸的分离。展开剂的选择和配比是银离子薄层色谱分离顺、反式脂肪酸的关键,以正庚烷-无水乙醚(体积比9:1)为展开剂,能使样品中的饱和脂肪酸、反式单烯、顺式单烯和双烯实现分离;当正庚烷-无水乙醚的体积比调整为2:3时,可以使样品中的三烯脂肪酸分开。银离子薄层色谱和气相色谱联用分析技术(AgNO_3 -TLC/GC)可以解决顺、反式位置异构体在气相色谱图上的重叠问题,提高对TFA总量定量分析的准确度。

李江涛等^[22]采用气相色谱法、 Ag^+ 液相色谱法和 Ag^+ 薄层色谱法对部分氢化植物油中TFA进行测定。结果显示, Ag^+ 薄层色谱和 Ag^+ 液相色谱测定TFA的效果一样,回收率在97.9%~103.7%,检

测质量浓度范围在10~300 mg/g,相对标准偏差为3.1%~8.6%。H. Goudjil等在分析反式单不饱和脂肪酸时采用改良 Ag^+ 薄层色谱法进行分离,然后用气相色谱定量,效果较好。但由于 AgNO_3 -TLC中的银离子的真实浓度难以确定,在薄板的浸渍过程中,银离子易氧化,而且不易被均匀地吸附,因此 AgNO_3 -TLC对操作技术要求较高。

刘东敏等^[23]将 AgNO_3 -TLC预分离和GC(CP-Sil88100 m的极性毛细管柱)分析相结合,采用银离子薄层色谱将反式脂肪酸甲酯预分离后,再用气相色谱检测,能够避免气相色谱直接分离脂肪酸甲酯时,18:0~18:2n-6区域的一些顺、反18:1异构体和c/t-18:2异构体的脂肪酸甲酯出峰时间过于接近,部分色谱峰重叠的问题,从而得到更合理的测定结果。实验表明,色谱峰面积和反式脂肪酸浓度的线性关系良好,相对标准偏差为0.29%~0.48%,回收率为92.52%~104.27%。实验测得牛奶和奶油中反式脂肪酸量分别为0.17 g/100 g和5.45 g/100 g。11t-18:1在两样品中含量最高,分别占总反式脂肪酸的38.03%和51.20%。

Kramer等^[24]采用 AgNO_3 -TLC/GC分析技术,CP-Sil88(100 m×0.25 mm×0.2 μm)毛细管柱,在载气 H_2 (1.0 mL/min),程序升温 45°C , $13^\circ\text{C}/\text{min}$ 至 175°C ,再以 $4^\circ\text{C}/\text{min}$ 至 215°C 条件下,分析乳脂样品中的反式脂肪酸,使样品中各种位置异构的t-18:1脂肪酸实现了可见的分离。

4 毛细管电泳法

毛细管电泳法(CE)是基于带电组分在高压电场中迁移速率不同而进行分离,它除了具有灵敏度高、不产生污染等特点外,与目前广泛使用的液相色谱(HPLC)和气相色谱(GC)技术相比,还具备以下特点:①CE在进样端和检测端没有像HPLC那样的死体积;②与HPLC中采用压力作为驱动力不同的是,CE采用电渗流作为驱动力,整个流体呈扁平型的塞式流,从而使溶质区带在毛细管内不易扩散,分离柱效率高,尤其在分离生物大分子时有不可取代的优点;③毛细管柱一般不需要填充,也不用经过复杂的处理,价格相对较低,仅是色谱柱的10%~20%;④样品消耗量小,每次进样是纳升级;⑤CE在电场驱动下运行,缓冲液的消耗量仅是色谱中溶剂消耗量的 10^{-6} ;⑥CE的应用范围广,而且对样品的预处理要求较低。Oliverira等^[25]采用带有224 nm紫外间接检测器的毛细管电泳,分析时间7.5 min。

电解液为 pH 7.5 的 15 mmol/L 的磷酸缓冲液,它同 4 mmol/L 的 12-烷基苯磺酸钠、10 mmol/L 聚氧化乙烯月桂醚(Brij35)、2% 辛醇和 45% 的乙腈组成,在最优化的条件下,10 种脂肪酸(C12:0, C13:0, C14:0, C16:0, C18:0, cC18:1, tC18:1, ccC18:2, ttC18:2, 及 cccC18:3)在 10 min 内分离出来,具有快速定量检测的特点。反式脂肪酸与顺式脂肪酸互为几何或位置异构体,用弱极性毛细管柱很难将顺-反异构体分离。但由于毛细管内径极小,如何增加检测器的灵敏度同时又不造成明显的区带展宽是目前有待解决的问题。

5 结语

目前 TFA 的分析方法多数采用气相色谱法(GC)、傅里叶变换红外光谱法(FT-IR)。气相色谱法检测下限较低,一般是按照脂肪酸甲酯标准品的保留时间来定性,采用面积归一化法定量,即先计算每一种反式脂肪酸甲酯校正面积与所有脂肪酸甲酯校正面积之和(采用校正因子计算),然后将所有反式脂肪酸甲酯的百分比进行加和来表示油脂中反式脂肪酸含量。只有当短碳链脂肪酸含量不高(少于 8 个)时,可用油脂中脂肪酸甲酯的含量直接代替反式脂肪酸的含量。使用气相色谱法分析时油脂需要甲酯化,色谱分离所需时间长,单一的气相色谱法顺、反式脂肪酸的重叠问题依然严重,且对各种位置异构的反式脂肪酸分离度不高,定性定量所需的标准品数量多且价格昂贵。而 FT-IR 法因样品无需烦琐的前处理,操作简便、省时省力。红外光谱法采用反式双键在 966 cm^{-1} 处的特征峰定性,采用标准曲线校准法来定量;由于反式脂肪酸的来源不同,其组成也有很大的差别,气相色谱法只能定量混合标准品所含有的特定反式脂肪酸,而红外光谱法所定量的是脂肪酸中所有的反式脂肪酸,不受反式脂肪酸具体构成(碳链长度或反式双键的个数)的影响。而且由于红外光谱法较气相色谱法更简便、更快速的特点,一般食品和营养标签的分析可先用红外光谱法测定,若含量较低且需要进一步定量的则再采用气相色谱法。银离子薄层色谱与气相色谱法联用可以解决顺、反式脂肪酸问题,在低温下也能使各种位置异构的反式脂肪酸实现基线分离,但是此方法操作难度大、要求高、分析时间太长,不适合常规分析。

参考文献

- [1] 宋志华,黄健花,金青哲,等. 氢化大豆油中反式脂肪酸气相色谱分析方法的研 究[J]. 中国粮油学报,2009,24(4):163-167.
- [2] 张绍良,刘军,刘文剑,等. 油脂中反式脂肪酸的危害及检测方法[J]. 江西食品科技,2004,(3):40-41.
- [3] Torben Leth. Chemometric analysis of mass spectra of cis and trans fatty acid picolinyl esters[J]. Z Lebensm Unter s For sch A,1997,205:111-115.
- [4] Nimal Ratnayake W M, Steven L Hansen, Michael P Kennedy, et al. Evaluation of the CP-Sil 88 and SP-2 560 GC Columns Used in the Recently Approved AOCS Official Method Ce 1 h-05: Determination of cis-, trans-, Saturated, Monounsaturated, and Polyunsaturated Fatty Acids in Vegetable or Non-ruminant Animal Oils and Fats by Capillary GLC Method[J]. AOCS,2006(83):475-488.
- [5] McDonald R E, et al. Identification of trans-diene isomers in hydrogenated soybean oil by gas chromatography, silver nitrate-thin layer chromatography, and C-NMR spectroscopy[J]. J Agric Food Chem, 1989,37:637.
- [6] 赖毅东,彭喜春. GC-MS 面积归一化法定测定食品中的反式脂肪酸[J]. 现代食品科技,2009,25(2):205.
- [7] 宋志华,单良,王兴国. 毛细管气相色谱法测定精炼和氢化大豆油中的反式脂肪酸[J]. 中国油脂,2006,(31)12:37-40.
- [8] 黄建立,张青龄,许世泉,等. 欧阳壁微波辅助合成/萃取-气相色谱法测定植物黄油中反式脂肪酸[J]. 中国油脂,2010,35(3):59.
- [9] Priego-Capote F, Ruiz-Jiménez J, Luque de Castro M D. Identification and quantification of trans fatty acids in bakery products by gas chromatography-mass spectrometry after focused microwave Soxhlet extraction[J]. Food Chemistry,2007,100(2):859-867.
- [10] 徐慧,武晓静,庄件兵,等. 加速溶剂萃取:气相色谱法快速测定食品中反式脂肪酸[J]. 现代科学仪器,2009,(2):87-89.
- [11] 黄杰. 甲酯化:气相色谱法检测食品中反式脂肪酸中国卫生检验杂志[J]. 2005,15(9):1054-1056.
- [12] 鲍忠定,秦志荣,顾秀英,等. 毛细管气相色谱法测定食品中反式脂肪酸[J]. 食品工业科技,2005,(26)3:176-177.
- [13] Seiichi Shirasawa, Akiko Sasaki, Yasue Saida, et al. A rapid method for trans-fatty acid determination using a single capillary GC[J]. Journal of Oleo Science,2007,56(2):53-58.
- [14] 李培武,谢立华,魏丽芳,等. 反式脂肪酸检测方法研究与应用[J]. 中国油料作物学报,2009,31(3):374-379.
- [15] 韩军花,洪水宏之,杨月欣,等. 动植物油脂中反式脂肪酸测定方法的建立[J]. 营养学报,2008,(3):303-306.
- [16] 孔鲁裔. 红外光谱法测定植物油中反式脂肪酸[J]. 粮油加工 2008,(5):75-79.
- [17] 王立琦. 基于近红外光谱技术快速检测食用油脂中反式脂肪酸含量;中国,200910071566.2[P]. 2009-08-12.
- [18] 中华人民共和国出入境检验检疫局. SN/T 2326—2009 食品及油脂中反式脂肪酸含量的检测傅里叶变换红外光谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.
- [19] 于修焯,杜双奎,岳田利,等. 衰减全反射傅里叶变换红外光谱(ATR-FTIR)技术测定油脂中反式脂肪酸[J]. 中国粮油学报,2008,23(2):189-192.

国外动态

草酸盐生物破坏工艺降低铝冶炼工艺的能源成本

西澳大利亚州 Alcoa 公司的 Kwinana 氧化铝厂开发了一种草酸钠生物学破坏工艺,而且证明是一种非常有前景的技术。该公司残留物检测技术部经理 David Cooling 表示,该装置目前破坏草酸盐的速率为 40 t/d,公司计划将其提高为 60 t/d。

这项技术是由 Alcoa 全球铝业及西澳大利亚大学的科学家和工程师联合开发而成。

天然草酸盐黏附在铝土矿上,随后进入铝冶炼工艺。由于草酸盐对铝的质量和冶炼生产率非常不利,因此在冶炼之前,必须先去除草酸盐。在一些冶炼厂,通常利用二次加工的蒸汽对铝土矿进行重结晶去除草酸盐。草酸盐的去除方法必须是合理的。例如 Alcoa 公司在窑中燃烧草酸盐的方法会产生二氧化碳、挥发性有机物和臭气,是一种昂贵且能源密集型工艺。

这项新工艺称为“连续生物学草酸盐破坏”工艺,该工艺建立在天然细菌破坏草酸盐的基础上。科学家利用 DNA 指纹技术发现新型 *Proteobacteria* 菌种和新型 *Halomonas* 能够利用草酸盐中的碳进行生长。

为了最大限度破坏草酸盐,生物学破坏工艺采用一些含有温暖液体和长在链珠上的细菌,同时通入氧气和营养成分,草酸盐为细菌消耗的原料。结果发现,二氧化碳排放量仅有窑燃烧法去除草酸盐的一半,而且有机挥发性物质排

放量和臭气都很小。研究人员现在正通过优化实验条件(如 pH、营养水平、温度和氧气)提高草酸盐的去除效率。

Alcoa 公司称,与传统技术相比,Kwinana 精炼厂采用新型生物学草酸盐破坏工艺每年可以节省大约 2 百万美元的能源成本。Cooling 称,该工艺正在 Alcoa 全球范围内其他冶炼厂内迅速展开。 *Chemical Engineering*,2011-01-01

更为清洁、有效的优质钢锻造工艺

钢中的杂质磷通常会导致钢硬度和耐腐蚀性等性能降低。日本住友金属工业株式会社(Sumitomo Metal Industries, Ltd, SMI)对锻造优质钢必不可少的步骤——由生铁中去除杂质磷的简单工艺 SRP 进行了改进。新改进后的 SRP-Z 工艺随 O₂ 一起在熔融生铁表面鼓入脱磷剂(生石灰)。与 SRP 工艺中所用的 CaO 块状物相比,粉末状的 CaO 比表面积高,有利于提高反应速率,使生石灰用量和脱磷时间降低了 15%。此外,在传统工艺中,Al₂O₃ 易起泡沫,并带来一系列相关问题,导致含铝废渣得不到有效利用。改进后的 SRP-Z 工艺,由于顶吹粉末破坏了 Al₂O₃ 产生的泡沫,因此 Al₂O₃ 的存在反而能够提高反应效率,使含铝渣块能够回收利用。

日本住友金属工业株式会社开发了一种氧气注入切缝技术,专门用于粉末的顶吹,使生石灰能够近化学等当量反应,提高操作工艺的反应效率,从而间接减少了二氧化碳排放量,大幅度提升了脱磷反应效率。SRP-Z 工艺提高了优质钢的质量,增强了生产效率,大大降低了环境负荷,是一种绿色环保的工艺。

住友金属工业株式会社旗下鹿岛制铁所(Kashima Steel Works)和 Sumikin Iron & Steel 公司已经将 SRP-Z 工艺用于转化炉。同时该工艺还计划用于住友金属公司(Sumitomo Metals)(日本小仓)新近开车的新型脱磷炉中。住友金属公司计划在所有钢铁生产所都采用这种技术。 *Chemical Engineering*,2011-01-01

室温下直接合成氨

日本东京大学的研究人员开发了一种新型催化剂,能在室温下直接合成氨。传统由氮和氢直接合成氨的“哈伯(Haber-Bosch)”制氨法要求高温(200~600℃)、高压(200~400 atm),所用原料氢气来自于化石能源,是一种能源密集型工艺。而日本研究人员开发的这种室温下直接制氨工艺是对百年哈伯工艺的一种突破。

东京大学的副教授 Yoshiaki Nishibashi 及其研究组已经开发出一种带有三齿 PNP 配体的双氮桥双核钼配合物活性催化剂,其中 PNP 为 2,6-bis(di-tert-butyl-phosphinomethyl)pyridine,这种催化剂是根据氮固定酶的思路进行设计的。Nishibashi 指出,尽管根据氮固定酶进行命名,但是比其他人开发的钼基氮固定催化剂更易制备。在实验室试验中,室温、1 atm 条件下,与氮气反应 20 h 可以制备少量氨气。Nishibashi 表示,与其他钼基配合物相比,概念验证会获得相似或更好的结果,但是这种新方法更为简单,而且采用不同的反应机理,使反应条件更为温和。研究人员目前正致力于分析反应机理,并进一步开发以水为质子来源的新工艺。

Chemical Engineering,2011-01-01

(上接第 92 页)

- [20] 倪昕路,韩丽,王传现,等.傅里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.
- [21] 于修焯,杜双奎,岳田利,等.食用油反式脂肪酸傅里叶红外光谱重组检测技术[J].农业机械学报,2009,1(40):114-119.
- [22] 李江涛,王明霞,邓乾春,等.反式脂肪酸的控制与检测技术[J].中国粮油学报,2008,23(5):204-207.
- [23] 刘东敏,邓泽元,李静,等. Ag⁺-TLC/GC 分析食品中的反式脂

肪酸[J].分析试验室,2008,27(12):6-10.

- [24] Kramer J K G, Blackadar C B, Zhou J. Evaluation of two GC columns (60-m Supelcowax 10 and 100-m CP Sil 88) for analysis of milkfat with emphasis on CLA, 18:1, 18:2, and 18:3 isomers, and short- and long-chain FA[J]. *Lipids*, 2002, 37: 823-835.
- [25] Patricia Mendona De Castro, Marcelo Macedo Barra, Mauro Carlos Costa Ribeiro, et al. Total Trans Fatty Acid Analysis in Spreadable Cheese by Capillary Zone Electrophoresis[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(3): 1403-1409. ■