

# 凝胶色谱-气相色谱法测定 11种动植物油脂中角鲨烯的含量

王李平, 林晨\*, 方军, 蔡大川, 林泽鹏, 方丽, 吴凌涛, 李雪莹  
(中国广州分析测试中心, 广东省分析测试技术公共实验室, 广东广州 510070)

**摘要:** 动植物食用油经环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V)萃取后, 用凝胶色谱法对油样品进行净化处理, 去除样品中大分子的油脂, 再采用气相色谱法对动植物食用油中角鲨烯进行测定, 以建立多种动植物油脂中角鲨烯的凝胶色谱-气相色谱(GPC-GC-FID)测定方法。在一定的实验条件下, 角鲨烯在 $9.40\sim 940\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈现良好线性关系, 相关系数 $R^2$ 为0.9999, 方法回收率为95.7%, RSD为3.0%。该方法处理后的食用油样品中干扰基质少, 灵敏度高, 可有效避免检测过程中仪器的污染, 广泛应用于动植物食用油中角鲨烯的检测, 为评判动植物食用油标准提供依据。

**关键词:** 凝胶色谱, 气相色谱法, 动植物食用油, 角鲨烯

## Determination of squalene in edible oils of plant and animal by gel permeation chromatography – gas chromatography method

WANG Li-ping, LIN Chen\*, FANG Jun, CAI Da-chuan, LIN Ze-peng, FANG Li, WU Ling-tao, LI Xue-ying

(Guangdong Provincial Public Laboratory of Analysis and Testing Technology, China National Analytical Center Guangzhou, Guangzhou 510070, China)

**Abstract:** To establish the gel chromatography-gas chromatography(GPC-GC-FID) method for the assay of squalene in several edible oils of plant and animal, the oils were extracted by cyclohexane-ethyl acetate(1:1, V/V), then purified by GPC to remove macromolecule grease, and then squalene was determined by gas chromatography. Under the experimental condition, squalene showed a good linear relationship in the range of  $9.40\sim 940\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $R^2$  was 0.9999. The recovery was 95.7%, RSD was 3.0%. The method had the advantage in small sample matrix interference, high sensitivity, avoiding contamination instrument, could be widely used in the analysis of squalene in edible oils of plant and animal sample, which provided the basis for judging criteria of edible oils of plant and animal sample.

**Key words:** gel chromatography; gas chromatography; edible oils of plant and animal; squalene

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)06-0069-03

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.06.006

角鲨烯(Squalene)又名鲨烯、鲨萜, 分子式为 $\text{C}_{30}\text{H}_{50}$ , 是一种高度不饱和的直链三萜烯类化合物。在常温下呈无色油状液体, 具有令人愉快的气味<sup>[1]</sup>。Tsujiimoto最早在黑鲨鱼肝油中发现了角鲨烯<sup>[2-3]</sup>, 其为生物体内自然合成产生的一种活性物质, 具有调节多种生理功能的作用, 如提高超氧化物歧化酶(SOD)活性、增强机体免疫能力、改善性功能、抗衰老、抗疲劳、抗肿瘤、渗透、扩散和杀菌等<sup>[4-5]</sup>, 现已被广泛应用于保健食品、化妆品及医药等相关领域。

角鲨烯普遍存在于动植物体内, 深海鲨鱼肝脏含量最高, 其次为植物油, 如橄榄油和棕榈油含量较高, 米糠油、油茶籽油次之。目前对食用油中角鲨烯的分析方法主要有高效液相色谱法(HPLC)<sup>[6-8]</sup>、气相

色谱法<sup>[9-13]</sup>和气质联用法<sup>[14-18]</sup>。液相色谱主要是以反相液相色谱配紫外检测器应用为主, 其流动相主要为甲醇/乙醇-水体系, 但由于角鲨烯的极性较小, 难溶解于此体系中, 并且其紫外吸收较弱, 故限制了其在液相色谱检测中的应用。气质联用法虽检出限较低, 但其对仪器要求比较严格, 现还不能普及到大多数的实验室中, 故本文采用气相色谱法对动植物油脂中的角鲨烯进行分析。实验中发现油脂中成分较复杂, 富含油脂类和色素类物质, 净化困难, 易造成对色谱系统的污染, 故选用多孔凝胶为固定相的凝胶色谱净化系统对油脂进行净化处理, 去除色素和油脂, 再结合气相色谱对动植物油脂中的角鲨烯进行定量分析。本文旨在建立GPC-GC-FID色谱法测定

收稿日期: 2014-06-05

作者简介: 王李平(1985-), 硕士研究生, 主要从事食品及药品的安全质量方面的研究。

\* 通讯作者: 林晨(1979-), 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事食品及保健食品的安全质量方面研究。

基金项目: 广东省专业镇中小微企业服务平台建设项目(2013B091604003)。

动植物油脂中角鲨烯的检测方法,以期将其广泛的应用于动植物油脂中角鲨烯含量测定分析中。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

角鲨烯 纯度99.5%; 乙酸乙酯、环己烷 色谱纯; 其他试剂 均为分析纯; 11种食用油 均来自市售食用油。

凝胶色谱仪、Bio Beads S-X3净化柱(300mm×25mm, 38~75 $\mu$ m) 美国J2 Scientific公司; Agilent 7890A气相色谱仪(配氢火焰离子化检测器) 美国安捷伦公司; 氮吹仪 美国Organomation Associates Inc; BSA224Sx型分析天平 赛多利斯科学仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

1.2.1 标准工作溶液的配制 精确称取角鲨烯标准品25.0mg,用环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V)定容至25mL,配制成1000 $\mu$ g/mL角鲨烯标准储备液,置于冰箱4 $^{\circ}$ C避光保存。分别精密移取0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、5.0mL标准溶液(浓度为940 $\mu$ g $\cdot$ mL $^{-1}$ )于10mL容量瓶,将储备液稀释为9.40~940 $\mu$ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 浓度梯度,供绘制标准曲线用。

1.2.2 样品处理 精密称取食用油2.0g,用环己烷-乙酸乙酯混合溶液(体积比1:1)定容至10mL;取定容溶液于10mL凝胶色谱(GPC)进样瓶中,注入5mL于GPC色谱仪,用环己烷-乙酸乙酯混合溶液(体积比1:1)对样品进行净化处理,流速为4.7mL/min,收集时间段为13~19min的洗脱液,将此洗脱液挥至近干,用正己烷定容至10mL,进行气相色谱测定。

1.2.3 色谱条件 色谱柱:DB1701(30m×0.32mm×0.25 $\mu$ m);柱温:150 $^{\circ}$ C维持2min,再以10 $^{\circ}$ C/min升至250 $^{\circ}$ C,维持18min;汽化室温度270 $^{\circ}$ C;检测器温度300 $^{\circ}$ C;分流比为10:1,进样量:1 $\mu$ L;载气:氮气流量:恒流3.0mL $\cdot$ min $^{-1}$ ,氢气流量:40mL $\cdot$ min $^{-1}$ ,空气流量:450mL $\cdot$ min $^{-1}$ ,尾吹流量:45mL $\cdot$ min $^{-1}$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 GPC色谱条件考察

凝胶渗透色谱是利用被分离物质本身与杂质间相对分子质量的大小,能够有效除去大分子油脂的杂质,从而达到净化食用油样品的目的。由于角鲨烯无大共轭体系,紫外吸收较弱,不能单纯的从凝胶色谱工作站判定角鲨烯的洗脱曲线,故采用手动收集代替自动收集。每隔0.5min收集一次洗脱液,每次收集1.0mL,并对洗脱液进行检测;以时间为横坐标,响应峰面积为纵坐标,得到角鲨烯标准品与茶油样品中角鲨烯的洗脱曲线,结果见图1,在此GPC条件下,角鲨烯出峰时间为13~19min,角鲨烯的回收率为86.6%,能满足检测要求。

### 2.2 色谱行为

2.2.1 色谱条件 本文采用DB1701毛细管色谱柱和FID检测器测定食用油中角鲨烯,由于毛细管柱柱效高,角鲨烯峰形以及分离效果良好,能够满足分析的要求。依照本实验方法得到角鲨烯标准品和茶油

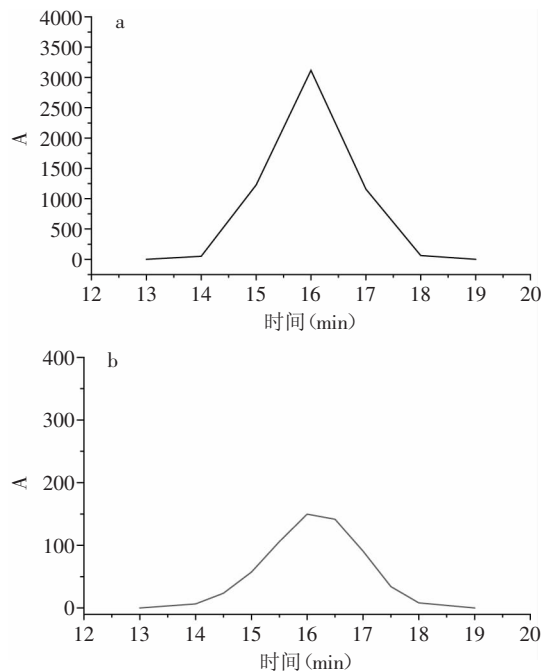


图1 角鲨烯(a)和茶油(b)的凝胶色谱流出曲线  
Fig.1 The GPC chromatography curves of squalene (a) and camellia oil (b)

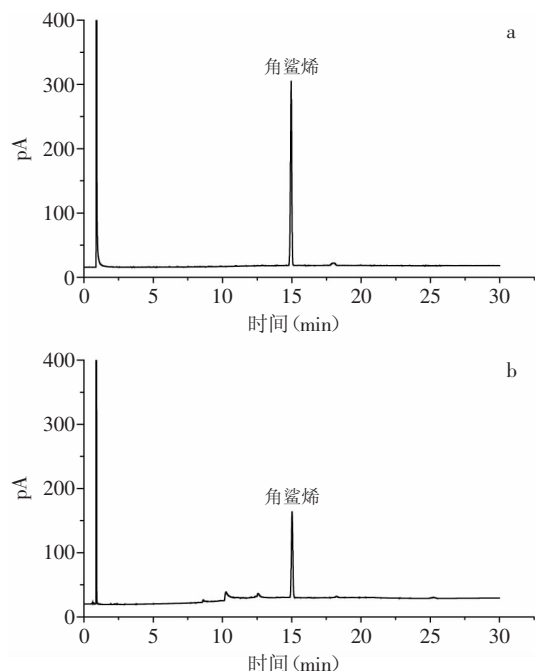


图2 角鲨烯标准品(a)及茶油样品(b)色谱图  
Fig.2 The GC chromatograms of squalene standard solution (a) and camellia oil (b)

样品色谱图见图2。

2.2.2 线性范围及检出限 本方法采用外标法定量,角鲨烯在9.40~940 $\mu$ g $\cdot$ mL $^{-1}$ 浓度范围内呈现良好的线性关系,其线性方程为 $y=2.0273x+5.0887$ ,线性相关系数 $R^2$ 为0.9999。对于角鲨烯含量较高的样品,如经净化处理后,浓度超出线性范围,则可稀释后再测定。

再将角鲨烯标准溶液进行不断稀释,按信噪比

S/N=3, 直至峰高为噪音3倍时的浓度为检出限, 此时角鲨烯的浓度为 $0.5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; 以样品称样量为 $2.0\text{g}$ 计, 角鲨烯的检出限为 $5\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 除高于气质联用法外, 均低于文献报道气相色谱法的检出限<sup>[11-15]</sup>。

2.2.3 精密度实验 精密取经凝胶色谱净化后的茶油样品, 注入气相色谱仪, 连续进样6次, 其平均峰面积为22.38, RSD为3.6%, 可知本方法的精密度可靠。

2.2.4 稳定性实验 取茶油样品溶液, 在室温下放置, 每小时进样一次, 连续进样12h, 按“1.2.3”项下色谱条件进行测定, 以峰面积的相对标准偏差考察稳定性, 其平均峰面积为22.72, RSD为4.1%, 表明茶油样品溶液在12h内稳定。

2.2.5 重复性实验 取茶油(同一批)6份, 按“1.2.2”项下方法处理, 测定角鲨烯含量并计算其相对标准偏差, 茶油样品中角鲨烯平均含量为 $112.7\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , RSD为3.1%, 结果表明该方法重复性良好。

2.2.6 加样回收实验 精密称取6份茶油(同一批), 每份 $1.0\text{g}$ , 加入 $120\mu\text{L}$ 角鲨烯标准品溶液(浓度为 $940\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 再按“1.2.2”项下方法处理, 具体结果见表1。

表1 加样回收率实验结果

Table 1 The result of recovery experiments

取样量(g)	样品中含 量( $\mu\text{g}$ )	加入量 ( $\mu\text{g}$ )	测得总量 ( $\mu\text{g}$ )	回收率 (%)	平均值 (%)	RSD (%)
1.0142	114.3	112.8	219.8	93.5	95.7	3.0
1.0004	112.7	112.8	223.1	97.8		
1.1014	124.1	112.8	227.4	91.6		
1.0050	113.3	112.8	223.1	97.3		
0.9990	112.6	112.8	224.3	98.9		
1.0101	113.8	112.8	220.9	94.9		

2.2.7 样品测定 为了解市售动植物食用油中角鲨烯的含量状况, 购买了11种食用油样品进行了实验, 对购买的动植物食用油样品按“1.2.2”项下方法提取制备, 在拟定的色谱条件下测定, 结果见表2。

表2 动植物食用油中角鲨烯含量测定的结果

Table 2 The result of squalene in edible oils of plant and animal

品名	含量 ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	品名	含量 ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )	品名	含量 ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
芝麻油	30.1	菜籽油	90.80	棕榈油	172.2
小磨香油	16.2	花生油	275.9	稻米油	147.8
葵花籽油	42.8	玉米油	148.3	山茶油	117.2
鱼油	1115	橄榄油	4927	--	--

由表2可知, 11种动植物食用油中均含有角鲨烯成分, 其中橄榄油含量最高, 其含量为 $4927\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 其次为鱼油 $1115\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 除葵花籽油、小磨香油和芝麻油小于 $50\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ , 大部分食用油中角鲨烯的含量在 $50\sim 300\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 之间。针对目前国标制定时间较早, 其

未把动植物食用油中的角鲨烯含量指标纳入食用油等级和真假的判定中, 故本文建议结合食用油国标中各项指标与角鲨烯的含量对动植物食用油整体质量进行评估, 有利于鉴别动植物食用油的优、劣及真、假。

### 3 结论

本文建立了凝胶色谱-气相色谱(GPC-GC-FID)测定多种动植物食用油中角鲨烯含量的方法, 油样经环己烷-乙酸乙酯(1:1, V/V)萃取后, 用凝胶色谱除去大分子的油脂, 再采用气相色谱法对其进行定量分析, 平均回收率为95.7%, RSD为3.0%, 最低检出限为 $5\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。该方法具有样品前处理简单、快速、灵敏、准确等特点, 可应用于食用油中的角鲨烯含量测定。

### 参考文献

- [1] 吴时敏. 角鲨烯开发利用[J]. 粮食与油脂, 2001(1):36.
- [2] 詹豪强. 海洋鱼油中角鲨烯、DHA和EPA的化学合成[J]. 四川化工与腐蚀控制, 1999, 2(2):38-43.
- [3] Laurence E, John R, Angus M, et al. Potential of squalene as a functional lipid in foods and cosmetics[J]. Lipid Technology, 2002, 12: 104-107.
- [4] 周金熙, 李晓玉, 汤宝娣. 角鲨烯的抗肿瘤及免疫调节作用[J]. 中国药理学毒理学杂志, 1990, 4(2):151-152.
- [5] 赵振东, 孙震. 生物活性物质角鲨的资源及其应用研究进展[J]. 林产化学与工业, 2004, 24(3):107-112.
- [6] 杨婷, 孙智达, 谢笔钧, 等. 糯米香茶中角鲨烯含量的RP-HPLC测定[J]. 天然产物研究与开发, 2012(24):61-63.
- [7] 陈全斌, 程忠泉, 杨建香, 等. 罗汉果种仁油中角鲨烯的高效液相色谱分析[J]. 广西科学, 2006, 13(2):118-120.
- [8] 张欣, 于瑞祥, 杨瑞钰, 等. 植物油中角鲨烯的提取与高效液相色谱法分析[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(5):96-99.
- [9] 戴洋洋, 马文宏, 郑维君, 等. 气相色谱氢火焰离子化检测器测定鱼油中的角鲨烯[J]. 甘肃农业, 2013(23):70-71.
- [10] 郑德勇, 凌宏有. 福建油茶籽在成熟过程中重要成分动态变化的研究[J]. 中国粮油学报, 2014, 29(2):36-43.
- [11] 谢勇, 苏素娇, 梁一池. 气相色谱法测定茶籽油中角鲨烯含量的研究[J]. 河南工业大学学报, 2012, 33(1):42-44.
- [12] 钟冬莲, 汤富彬, 沈丹玉, 等. 油茶籽油中角鲨烯含量的气相色谱法测定[J]. 分析实验室, 2011, 30(11):104-106.
- [13] 张东生, 薛雅琳, 金青哲, 等. 油茶籽油中角鲨烯含量的测定[J]. 中国油脂, 2013, 38(11):85-88.
- [14] 张青龄. 橄榄油中角鲨烯含量的气相色谱/质谱法分析[J]. 福建分析测试, 2011, 20(3):1-4.
- [15] 汪运明, 陈华勇, 杨继国, 等. 气相色谱质谱联用测定茶油中角鲨烯含量[J]. 食品工业科技, 2011(6):404-406.
- [16] 唐小红, 陈华勇, 王永华, 等. 气相色谱质谱联用测定深海鱼油中角鲨烯含量[J]. 油脂工程, 2012(1):50-53.
- [17] 毛多斌, 贾春晓, 孙晓丽, 等. 几种功能性植物油中角鲨烯和维生素E分析[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(2):79-83.
- [18] 耿树香, 宁德鲁, 张艳丽, 等. 不同品种及成熟度橄榄油中角鲨烯的检测分析[J]. 广东农业科学, 2013(3):79-81.