

常见精炼油中植物甾醇测定方法的建立及含量分析

冯妹元^{1,2} 韩军花¹ 刘成梅² 杨月欣¹

(1. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100050;

2. 南昌大学食品科学教育部重点实验室, 江西 南昌 300047)

摘要: 为对我国常见的植物油中植物甾醇含量进行测定, 建立了植物甾醇气相色谱分析方法, 并对 11 类共 25 种精炼植物油中的 β -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾烷醇、菜油甾烷醇及菜籽甾醇等的含量进行分析。本方法相对标准差为 1.1% ~ 6.9%; 菜油甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇的回收率的 *RSD* 值范围为 3.0% ~ 4.7%。玉米胚芽油中植物甾醇含量最高, 其次是菜籽油和芝麻油。不同种类的植物油植物甾醇的含量和比例各不相同, 同一种类不同品牌的植物油中各植物甾醇所占的比例基本接近。对我国居民植物油中植物甾醇的摄入量进行了初步估计。本研究建立的方法可靠, 具有较高的准确度和精密度, 可以作为精炼植物油中植物甾醇的测定方法。建议我国居民可以通过食用含植物甾醇较高的食用油来增加植物甾醇的摄入量。

关键词: 植物油类; 植物甾醇类; 色谱法; 气相

Use of Gas Chromatography for Determination of Phytosterols in Plant Oils

FENG Mei-yuan, HAN Jun-hua, LIU Cheng-mei, YANG Yue-xin

(National Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese CDC, Beijing 100050, China)

Abstract: In order to establish the GC methods for determination phytosterols content in plant oils commonly consumed in China, hydrolysis, extraction and GC-FID conditions were optimised and the contents of β -sitosterol, campesterol, stigmasterol, β -sitostanol, campestanol and brassicasterol in 25 samples of 11 kinds of plant oils were analyzed. The results showed that the *RSD* of this method was ranged from 1.1% to 6.9% and the *RSD* of recovery ranged from 3.0% to 4.7%. Among the 11 edible oils analyzed corn embryo oil contained the highest phytosterols, and the following ones were rapeseed oil and sesame oil. Both the contents and ratios of phytosterols were variable in different kinds of plant oils, while the percentage of each phytosterol was almost consistent in different brands of the same oil. The daily dietary intakes of phytosterols from the plant oils of Chinese people were also estimated. The GC-FID method is reliable and accurate, and can be used to analyze the phytosterols contents in edible oils. The intake of oils with higher phytosterols can help to increase the intake of phytosterols in Chinese people.

Key word: Plant Oils; Phytosterols; Chromatography, Gas

植物甾醇(phytosterol or plant sterol)是植物中一种具有多种生理功能的活性成分^[1], 主要包括 β -谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇和相应的烷醇等, 化学结构与胆固醇非常相似, 仅侧链结构不同。植物甾醇几乎存在于所有植物性食物中, 植物油和谷物是植物甾醇最主要的膳食来源, 其次是豆类、蔬菜、水果、浆果以及坚果等。大量研究证明, 植物甾醇具有降低血液胆固醇、防治前列腺肥大、抗癌、类激素等多种生理功能^[2]。目前, 一些国家已经展开了食物中植物甾醇的含量测定工作, 并估计居民膳食摄入量^[3,4]。测定植物甾醇的方法较多, 早期有毛地黄皂甙法、比色法、酶法等, 但这些方法只能测定

总甾醇含量, 不能对各甾醇组分分离定量。后来文献报道有化学法、薄层色谱法(TLC)、高效液相色谱法(HPLC)和气相色谱法(GC)等。在众多方法中, 由于 GC 法分离效果好、分析速度快、灵敏度高、操作简便, 所以本研究在参照国外文献的基础上^[3~5], 建立起了精炼植物油植物甾醇的测定方法 - 气相色谱法, 并在建立植物油植物甾醇的气相色谱(GC-FID)分析方法的基础上, 对我国常见 11 类共 25 种精炼植物油中植物甾醇的含量进行了分析, 为估计居民摄入量并指导我国居民合理膳食提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 标准品与试剂 β -谷甾醇(β -sitosterol)、豆甾醇(stigmasterol)、 β -谷甾烷醇(β -sitostanol)标准物质购自 Sigma 公司; 菜油甾醇(campesterol)和菜籽甾醇

基金项目: 中国营养学会营养科研基金 2004 年资助

作者简介: 冯妹元 女 硕士生

通讯作者: 韩军花 女 博士

(campestanol) 标准品购自陕西天维生物制品有限责任公司; 5 - 胆甾烷 (5 - cholestane) 购自 Extrasynthese 公司; BSTFA + TMCS (99 + 1) 衍生试剂购自 Sigma 公司; 无水乙醇、氢氧化钾、三氯甲烷、甲苯、吡啶、酸酐等常用试剂购自汕头西陇化工厂。

1.2 仪器 岛津气相色谱仪 GC - 9A (带氢火焰离子检测器), 岛津 CBP1 毛细管柱 (0.25 μ m, 0.32 mm \times 25 m), Sartorius A Dos 电子天平、六孔恒温水浴锅、Buchi 461 旋转蒸发器、TCL - 16G 台式离心机、N - EVAP 吹氮仪。

1.3 样品的选择 根据我国居民食用植物油的种类和销售情况, 确定选取植物油样的种类及同一类型植物油的采样数。本实验中, 所有油样均为市售精练油, 大豆色拉油、花生油、芝麻油各购买 4 个品牌的样品, 菜籽油、橄榄油各购买 3 个品牌的样品, 茶油购买 2 个品牌的样品, 其余样品包括山茶油、葵花籽油、胡麻籽油、红花籽油、玉米油各购买 1 各品牌的样品。每个品牌的样品混合均匀后称样, 取双样进行分析。

1.4 植物油的前处理方法 称取 200 mg 的试样置于加了内标物 (5 - 胆甾烷) 的三角瓶中, 加入氢氧化钾 - 乙醇溶液, 在沸水浴中皂化 30 min; 冷却后利用三氯甲烷萃取, 接着用去离子水洗至中性, 过无水硫酸钠除残余水分, 浓缩后用氮气吹干, 加入 BSTFA + TMCS (99 + 1) 进行衍生, 定容至 1 ml, 上机。

1.5 气相色谱条件 采用气相色谱仪, FID 检测器; 进样量为 1 μ l; 分流比为 39 : 1; 氮气流量为 40 ml/min; 进样口和检测器温度为 300 $^{\circ}$ C。采用程序升温, 初始温度为 210 $^{\circ}$ C, 以 10 $^{\circ}$ C/min 升至 275 $^{\circ}$ C, 保留 25 min。

2 结果与讨论

2.1 皂化温度和时间及衍生 分别采用不同浓度的氢氧化钾 - 乙醇溶液进行皂化, 并对皂化温度和时间进行比较和优化, 最终确定以饱和氢氧化钾 + 乙醇 (1 + 1) 进行皂化, 皂化时间为沸水浴 30 min。

将未衍生的标准品直接上机可以得到各甾醇的峰, 但各主要甾醇分离效果不理想, 且有拖尾 (如图 1 所示)。而将标准品经 BSTFA + TMCS 试剂处理后, 各甾醇的活性氢原子被硅烷基所取代, 使甾醇的热稳定性更高, 更易挥发, 同时其极性下降, 检测灵敏度提高 (如图 2 所示)。

采用上述前处理方法和 GC - FID 分析方法, 各甾醇可得到很好的分离, 而且杂峰少 (如图 3 所示), 各甾醇保留时间、相对保留时间以及相对校正因子如表 1 所示。本研究分析结果表明, 各甾醇的保留

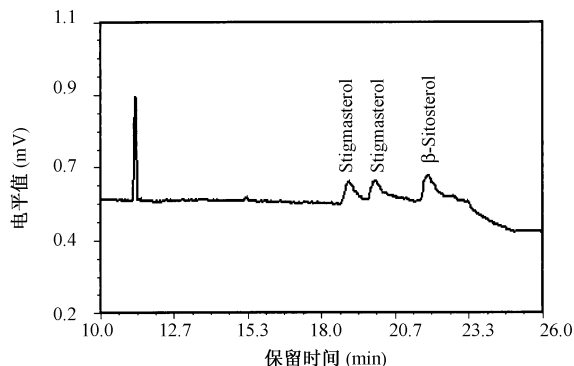


图 1 标准物质未经衍生的 GC - FID 图谱

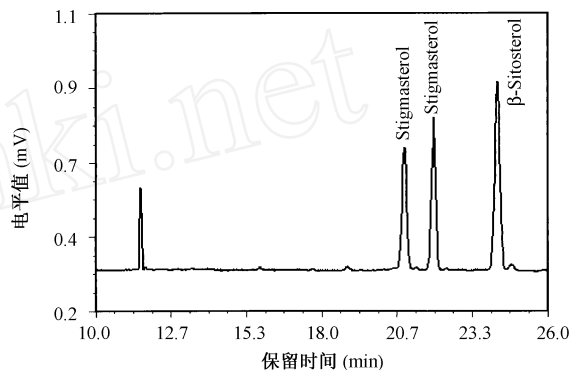


图 2 标准物质经衍生后的 GC - FID 图谱

时间稳定, 绝对保留时间在 0.2 min 以内, 相对保留时间差在 0.02 min 以内。以大豆油、花生油、芝麻油为测定样品进行了回收率的测定, 3 种主要植物甾醇即 - 谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇的回收率如表 2 所示, 说明该方法的准确度较高。同时测定 6 次大豆油中植物甾醇的含量, 测定结果表明, - 谷甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 - 谷甾醇的相对标准偏差分别为 1.1%、4.3%、5.1% 和 6.9%, 说明本方法的重复性较好, 且精密度较高, 方法可靠。该方法前处理简单易行, 且所确定的 GC - FID 条件能够很好地分离各类植物甾醇, 准确度和精密度均较好, 分析速度快 (只需 28 min), 在各实验室容易实现。

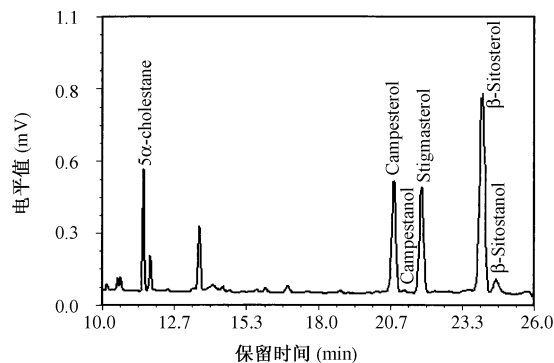


图 3 大豆油的 GC - FID 图谱

2.2 常见精炼植物油中植物甾醇含量 表 2 显示

表 1 各甾醇单体的保留时间、相对保留时间及相对校正因子

组 分	保留时间 (min)	相对保留 时间 ^a	相对校正因子
5 - 胆甾烷(内标)	11.52	1.00	
- 谷甾醇	24.01	2.08	1.2100 ±0.0067
菜油甾醇	20.74	1.80	1.1440 ±0.0045
豆甾醇	21.76	1.89	1.0987 ±0.0056
- 谷甾烷醇	24.50	2.13	1.1599 ±0.0057
菜油甾烷醇	21.10	1.83	1.1440 ±0.0053
菜籽甾醇	18.60	1.61	1.1531 ±0.0053

注:a 各组分保留时间/内标物的保留时间

了不同种类精炼植物油中各甾醇的含量及其百分比,总的来说,不同种类的植物油,植物甾醇的含量和比例各不相同,多数植物油中以 - 谷甾醇为最主要的植物甾醇,在 56.4% ~ 81.2% 之间;而茶籽油中植物甾醇组成比较特殊,是以 - 谷甾烷醇为主,占总甾醇的 62% ~ 68%。同一种类不同品牌的植物油中各植物甾醇所占的比例基本接近,说明原料种类是影响植物油中植物甾醇含量和比例的关键因素,这与国外的报道相一致^[5]。

表 2 3 种主要植物甾醇的回收率

甾醇种类	样品种类	样品测定值(μg)	加标量(μg)	加标后测定值(μg)	回收率 %	RSD (%)
菜油甾醇	大豆油	123.83	62.75	184.95	97.4	3.0
		118.92	62.75	179.66	96.8	
		116.21	125.50	236.03	95.5	
		121.77	125.50	252.10	104.1	
	花生油	68.29	62.75	131.20	100.1	
		65.62	62.75	128.14	99.6	
		69.62	125.50	197.73	102.1	
		70.62	125.50	196.97	100.7	
	菜籽油	257.00	62.75	322.74	104.8	
		267.78	62.75	334.44	103.0	
		286.81	125.50	415.13	102.2	
		271.2	125.50	394.23	98.0	
豆甾醇	大豆油	112.87	67.75	177.12	94.8	4.7
		108.46	67.75	172.43	94.4	
		107.00	135.50	236.98	95.9	
		111.25	135.50	246.67	100.6	
	花生油	48.90	67.75	113.78	94.4	
		46.99	67.75	109.52	92.3	
		49.85	135.50	174.12	91.7	
		50.57	135.50	172.98	90.4	
	菜籽油	22.45	67.75	81.20	86.7	
		23.56	67.75	89.68	97.6	
		25.05	135.50	155.26	96.1	
		23.69	135.50	139.13	85.2	
- 谷甾醇	大豆油	364.27	110.50	473.77	99.1	4.2
		351.73	110.50	461.52	99.4	
		342.46	221.00	564.39	100.4	
		359.34	221.00	596.60	107.4	
	花生油	359.65	110.50	472.11	101.8	
		345.62	110.50	465.12	108.1	
		366.67	221.00	609.32	109.8	
		371.93	221.00	613.56	109.3	
	菜籽油	573.51	110.50	683.45	99.5	
		602.03	110.50	716.37	103.5	
		640.05	221.00	869.69	103.9	
		605.20	221.00	820.53	97.4	

所测定的不同种类精炼植物油中,玉米胚芽油中植物甾醇的含量最高,总植物甾醇的含量超过了1 000 mg/100 g,其中 - 谷甾醇占总甾醇的 64.1%;菜籽油和芝麻油也是甾醇含量比较高的食用油,总甾醇含量均在 500~600 mg/100 g 之间。菜籽油中菜油甾醇所占比例在各种植物油中为最高,占总甾醇的 25%~29%,并且含有一定的菜籽甾醇,平均所占比例为 9.3%。

大豆油和花生油是我国北方居民普遍食用的植

物油,本研究分别测定了 4 个不同品牌的大豆油和花生油,其中 4 个不同品牌的大豆油中植物甾醇的总平均含量为 307(278~329) mg/100 g,4 个不同品牌的花生油中总平均含量为 245(201~275) mg/100 g,大豆油中豆甾醇的比例大于花生油而 - 谷甾醇比例相对较低,与文献报道一致^[6]。其它种类的植物油包括胡麻油、葵花籽油、橄榄油、红花籽油、茶油及山茶油等各种植物甾醇的含量和比例详见表 3。

表 3 25 种精练食用植物油中的植物甾醇含量

样品名称	mg/100 g												总含量
	- 谷甾醇		菜油甾醇		豆甾醇		- 谷甾烷		菜油烷醇		菜籽甾醇		
	mg/100 g	%	mg/100 g	%	mg/100 g	%	mg/100 g	%	mg/100 g	%	mg/100 g	%	
花生油 1	188.13	68.5	38.09	13.9	25.26	9.2	23.17	8.4	—	—	—	—	274.65
花生油 2	175.25	66.9	38.72	14.8	23.09	8.8	25.02	9.5	—	—	—	—	262.08
花生油 3	132.59	65.8	31.02	15.4	20.51	10.2	17.24	8.6	—	—	—	—	201.36
花生油 4	162.95	67.2	34.56	14.3	23.14	9.5	21.72	9.0	—	—	—	—	242.37
花生油均值	164.73	67.2	35.60	14.5	23.00	9.4	21.79	8.9	—	—	—	—	245.12
豆油 1	189.39	57.5	62.60	19.0	60.16	18.3	17.06	5.2	—	—	—	—	329.20
豆油 2	159.63	57.4	50.05	18.0	49.35	17.7	16.56	6.0	2.46	0.9	—	—	278.03
豆油 3	178.8	57.2	60.72	19.4	55.80	17.8	15.70	5.0	1.80	0.6	—	—	312.90
豆油 4	174.51	56.4	58.83	19.0	59.07	19.1	15.01	4.9	1.83	0.6	—	—	309.25
豆油均值	175.60	57.1	58.05	18.9	56.10	18.3	16.08	5.2	1.52	0.5	—	—	307.34
菜籽油 1	318.04	58.3	157.34	28.9	5.13	0.9	13.05	2.4	3.69	0.7	47.89	8.8	545.14
菜籽油 2	330.21	59.8	151.51	27.4	14.48	2.6	10.99	2.0	—	—	45.13	8.2	552.33
菜籽油 3	376.24	61.4	156.19	25.5	4.52	0.7	10.03	1.6	—	—	66.03	10.8	613.01
菜籽油均值	341.50	59.9	155.01	27.2	8.04	1.4	11.36	2.0	1.23	0.2	53.02	9.3	570.16
芝麻油 1	363.57	61.2	98.92	16.6	50.52	8.5	81.25	13.7	—	—	—	—	594.27
芝麻油 2	291.22	61.7	82.00	17.4	53.04	11.2	45.40	9.6	—	—	—	—	471.66
芝麻油 3	390.23	65.7	134.51	22.6	29.88	5.0	39.42	6.6	—	—	—	—	594.03
芝麻油 4	357.9	62.0	95.78	16.6	46.68	8.1	76.78	13.3	—	—	—	—	577.14
芝麻油均值	350.73	62.7	102.80	18.4	45.03	8.1	60.71	10.9	—	—	—	—	559.27
橄榄油 1	265.42	81.2	12.87	3.9	4.98	1.5	43.69	13.4	—	—	—	326.96	
橄榄油 2	244.85	78.5	12.88	4.1	4.61	1.5	49.7	15.9	—	—	—	312.02	
橄榄油 3	138.81	82.3	6.00	3.6	2.61	1.5	23.91	14.2	—	—	—	—	171.33
玉米胚芽油	661.70	64.1	195.72	19.0	50.45	4.9	112.44	10.9	11.77	1.1	—	—	1032.07
胡麻油	237.50	53.7	112.06	25.4	53.53	12.1	29.59	6.7	—	—	9.33	2.1	441.83
葵花籽油	268.00	72.0	53.51	14.4	31.81	8.5	18.95	5.1	—	—	—	—	372.26
红花油	168.34	62.2	50.00	18.5	25.43	9.4	23.29	8.6	3.39	1.3	—	—	270.45
茶油 1	45.52	22.8	15.9	8.0	14.18	7.1	124.19	62.2	—	—	—	—	199.79
茶油 2	31.91	19.8	10.17	6.3	9.63	6.0	109.75	68.0	—	—	—	—	161.47
山茶油	52.06	59.3	21.52	24.5	14.14	16.1	30.20	34.4	—	—	—	—	87.72

注:“—”为低于检测限。

2.3 我国居民精炼植物油中植物甾醇摄入量粗估
2002 年全国营养调查结果显示^[7],我国城市居民植物油的摄入量为 40.2 g/标准人日,农村为 30.1

g/标准人日。我国北方居民以花生油和大豆油为主,南方居民以食用菜籽油为主,本实验中花生油和大豆油中总植物甾醇的平均含量为 276.23 mg/100 g,菜

籽油中总甾醇的含量为 570.16 mg/100 g,由此估计我国北方城市居民和农村居民从精炼植物油中摄入的植物甾醇分别为 111、83 mg/标准人日,其中 - 谷甾醇摄入量约占 62%;南方城市居民和农村居民从植物油中摄入的植物甾醇分别为 229、172 mg/标准人日,其中 - 谷甾醇摄入量约占 60%。我国南方居民从植物油中摄入的植物甾醇量远高于北方居民。

由本研究测定结果可知,植物油中以 - 谷甾醇和菜油甾醇为主,其次是 - 谷甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇和菜油甾醇。同一类别而品牌不同的植物油中植物甾醇的比例基本一致,总含量存在一定的差异,可能与精炼方法、储存条件、原料的品种以及生长季节等多种因素有关。大豆油和花生油的植物甾醇含量低于菜籽油,所以我国南方居民从植物油中摄入的植物甾醇的量高于北方居民。因此建议居民可以通过食用植物甾醇含量高的植物油如玉米胚芽油、菜籽油等来增加植物甾醇的摄入量,以达到降低慢性病发生率的作用。

参考文献

[1] Normen L, Dutta P, Lia A, et al. Soy sterol esters and -

sitostanol ester as inhibitors of cholesterol absorption in human small bowel[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 71:908-913.

[2] 韩军花 杨月欣. 植物甾醇的性质、功能及应用[J]. 国外医学卫生学分册, 2001, 28(5):285-291.

[3] Lena Normen, Susanne Bryngelsson, Monica Johnsson. The phytosterols content of some cereal food commonly consumed in Sweden and in the Netherlands [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2002, 15:693-704.

[4] Vieno Pironen, Jari Toivo, Riitta Puupponen-Pimia. Plant sterols in vegetables, fruits and berries [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2003, 83: 330-337.

[5] Jari Toivo, Katherine Phillips, Anna-Maija Lampi. Determination of sterols in foods: recovery of free, esterified and glycosidic sterols [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2001, 14:631-643.

[6] Katherine M Phillips, David M Ruggio, Jari I Toivo, et al. Free and esterified sterol composition of edible oils and fats [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2002, 15: 123-142.

[7] 王陇德,主编. 中国居民营养与健康状况调查报告之一 2002 综合报告[R]. 北京: 人民卫生出版社 2005.

[收稿日期:2006-03-02]

中图分类号:R15;TS225.1;O629.21 文献标识码:C 文章编号:1004-8456(2006)03-0197-05

[上接暗码 2]

管理在不断地总结教训与问题、借鉴经验和进行改进。彭军等的“卫生部批准的 795 种参类保健食品情况分析”在对大量材料的分析后指出:“绝大多数的参类保健食品申报的功能都在高度重复,而审批部门却针对同一类产品,同一种功效成分,同一种功能,进行着重复的功效成分定性、定量分析,动物或人群功能实验,用以证明其是否具有特定的保健功能。这样的重复不仅带来财力、物力、人力及时间上的巨大浪费,也不利于评审后的监督管理,更不利于保健食品的健康发展。”^[3]张李伟等的“中国保健食品功能宣称流通现状与分析”文章,通过调查指出了目前保健食品存在宣称同质化的严重倾向,绝大多数保健食品产品集中在少数几个功能宣称上,并介绍了有关部门对所存在问题在政策上的引导。

从农田到餐桌,农产品、养殖产品、自然状态生长的食品是一切食品的源头,由于科学的发展,农业和养殖业在方法方面应用和正在应用很多现代的手段和物质,知道这些方法和物质会对后续阶段的食品安全管理有很大的帮助。为此我们特请中国农业大学的陈芳老师为本刊撰写了“种植和养殖过程中的食品安全”一文。为保证从“水面到餐桌”的安全,张卫兵等在“海产贝类食品安全预警研究”中做了海产贝类的养殖安全方面的探索。

我国改革开放后,国际的、国内的,会议的、活动的,政府的、民间的重大活动越来越多。食品安全是重大活动安全举办的主要保证之一。多年来,各级政府和食品卫生监督管理者对重大活动的食品安全管理进行了不断的探索和研究,总结了不少经验和教训。在这个基础上,卫生部发布了《重大活动食品卫生监督管理规范》(本期刊登),将重大活动的食品安全管理程序化、标准化、法制化,对提高重大活动的安全系数提供了制度上的保证。

食品的专项整治和抽检是保证某些食品安全卫生的有效手段,卫生部每年都要进行。各级监督机构多年来积累了大量的资料,是很大的一笔资源,希望能有同志将其本地本单位的这方面的工作进行总结和归纳,从多个角度审视,形成文章,为今后的工作提供数据和借鉴。卫生部卫生监督中心要于 2006 年开展“卫

[下转第 233 页]