

基于7种脂肪酸含量测定和化学计量学的沙棘籽油质量评价研究

吴晓云, 谢强胜, 李启艳, 董 蓬, 于海英, 刁飞燕, 刘慧香, 刘春霖*

(山东省食品药品检验研究院/化妆品原料质量控制重点实验室, 济南 250101)

摘要: 目的 建立气相色谱法同时测定沙棘籽油中7种脂肪酸的含量, 并结合化学计量学进行质量评价。**方法** 样品经甲酯化后, 采用DB-23色谱柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μm)测定脂肪酸含量。通过聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)对19批沙棘籽油进行质量评价。**结果** 7种脂肪酸甲酯在各自浓度范围内线性关系良好, $r \geq 0.9999$, 棕榈酸(palmitic acid)、棕榈油酸(palmitoleic acid)、硬脂酸(stearic acid)、油酸(oleic acid)、亚油酸(linoleic acid, LA)、 γ -亚麻酸(γ -linolenic acid, γ -LA)和 α -亚麻酸(α -linolenic acid, α -LA)平均加样回收率为91.9%~97.4%。通过聚类分析将样品聚为4类, 根据主成分分析的样品综合得分进行排名。同时结合正交偏最小二乘判别分析, 最终筛选得到油酸、亚油酸和 α -亚麻酸是引起沙棘籽油质量差异的标志物, 与主成分分析结果基本一致。**结论** 通过脂肪酸含量测定并结合化学计量法, 可以对沙棘籽油的质量进行评价, 为质量控制提供参考依据。

关键词: 气相色谱法; 沙棘籽油; 脂肪酸; 含量测定; 聚类分析; 主成分分析; 正交偏最小二乘判别分析

Study on quality evaluation of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil based on determination of 7 kinds of fatty acids content and chemometrics

WU Xiao-Yun, XIE Qiang-Sheng, LI Qi-Yan, DONG Peng, YU Hai-Ying, DIAO Fei-Yan, LIU Hui-Xiang, LIU Chun-Lin*

(Shandong Institute for Food and Drug Control/NMPA Key Laboratory for Quality Control of Cosmetics Raw Material, Jinan 250101, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for simultaneous determination of 7 kinds of fatty acids in seabuckthorn seed oil by gas chromatography, and evaluate its quality with chemometrics analysis. **Methods** The fatty acids content of the samples were determined by DB-23 column (60 m×0.25 mm, 0.25 μm) after methyl esterification. The quality of 19 batches of seabuckthorn seed oil was evaluated by cluster analysis (CA), principal component analysis (PCA) and orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA). **Results** The linear relationships of the 7 kinds of fatty acid methyl esters were good within the respective concentration ranges, $r \geq 0.9999$, and the average recoveries of palmitic acid, palmitoleic acid, stearic acid, oleic acid, linoleic acid (LA),

*通信作者: 刘春霖, 硕士, 工程师, 主要研究方向为保健食品和化妆品检测。E-mail: chunlin0320@126.com

*Corresponding author: LIU Chun-Lin, Master, Engineer, Shandong Institute for Food and Drug Control/NMPA Key Laboratory for Quality Control of Cosmetics Raw Material, No.2749 Xinluo Road, New & High-tech Developing Zone, Jinan 250101, China. E-mail: chunlin0320@126.com

γ -linolenic acid (γ -LA) and α -linolenic acid (α -LA) were 91.9%-97.4%. The results of CA showed that the samples could be clustered into 4 categories, the results of PCA showed comprehensive score and the order, and the results of OPLS-DA showed oleic acid, linoleic acid and α -linolenic acid were screened to be the markers that caused the differences in the quality of seabuckthorn seed oil, and they were consistent with PCA. **Conclusion** The determination of the content of fatty acids components and combined with stoichiometry can evaluate the quality of seabuckthorn seed oil, and provide a reference basis for the quality control.

KEY WORDS: gas chromatography; seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed oil; fatty acid; content determination; cluster analysis; principal component analysis; orthogonal partial least squares discriminant analysis

0 引言

沙棘为胡颓子科植物沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)的干燥成熟果实。沙棘籽油是以沙棘干燥成熟种子为原料,经加工制取的油。我国沙棘主要分布于陕西、山西、青海、甘肃和内蒙古等地区^[1],不同产地会引起沙棘化学成分含量的差异^[2-3],不同加工部位和提取工艺得到的沙棘油,其脂肪酸的组成和含量存在明显差异^[4-7]。

沙棘籽油富含脂肪酸、生育酚和植物甾醇等多种活性成分^[8-10],具有辅助降血脂^[11-12]、保护肝脏^[13-14]、保护心肌细胞^[15]、治疗胃肠道疾病^[16-17]、抗氧化^[18]、保护血脑屏障^[19]等功效,具有食用、药用和保健功能^[20]。目前沙棘籽油的质量标准研究主要针对维生素 E 和脂肪酸^[21-23]。赵荣等^[21]根据不饱和脂肪酸的显色反应及熊果酸的薄层鉴别图谱对沙棘籽油进行定性鉴别,建立了反相高效液相色谱法测定药用沙棘籽油中维生素 E 的含量,用来控制沙棘籽油的质量;常明等^[22]通过沙棘籽油脂肪酸组成的变化对沙棘籽油微胶囊的品质进行评价;山永凯^[23]通过分析不同地区的沙棘籽油脂肪酸组成和含量,建立指纹图谱进行了相似性评价,得到脂肪酸具有强的稳定性和相似度,脂肪酸组成和含量为沙棘籽油最特征性的成分,可用于质量控制和真伪鉴别。因此,对沙棘籽油中脂肪酸含量进行质量评价可以为沙棘籽油质量控制提供参考依据。目前未见文献报道基于化学计量学的沙棘籽油质量评价方法。本研究通过气相色谱法同时测定沙棘籽油中 7 种脂肪酸的含量,并结合聚类分析(cluster analysis, CA)、主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA)综合评价不同地区沙棘籽油质量,对于指导沙棘籽油的加工和资源开发具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

试剂: 14%三氟化硼甲醇溶液(分析纯)、氢氧化钾、氯化钠、无水硫酸钠(优级纯)(国药集团化学试剂有限公司); 甲醇、环己烷[色谱纯, 霍尼韦尔贸易(上海)有限公司]; 超纯水。

对照品: 棕榈酸甲酯(批号 F4240036, 含量: 99%)、棕榈油酸甲酯(批号 81660070, 含量: 99%)、硬脂酸甲酯(批号 I2820040, 含量: 99%)、油酸甲酯(批号 H0640050, 含量: 99%)、亚油酸甲酯(批号 H6370060, 含量: 99%)、 γ -亚麻酸甲酯(批号 H6230100, 含量: 99%)、 α -亚麻酸甲酯(批号 I2760100, 含量: 99%)(上海安谱实验科技股份有限公司)。

19 批沙棘籽油由青海康普生物科技有限公司提供,工艺均为超临界 CO₂ 萃取,表 1 为沙棘籽油所用沙棘的产地,沙棘品种均为中国沙棘。

表 1 19 批样品信息
Table 1 Information of 19 batches of samples

编号	沙棘产地	编号	沙棘产地
S1	内蒙古赤峰市	S11	山西吕梁市
S2	内蒙古呼和浩特市	S12	山西右玉县
S3	内蒙古乌兰察布市	S13	新疆清河县
S4	陕西麟游县	S14	新疆布尔津县
S5	陕西旬邑县	S15	新疆阿合奇县
S6	陕西靖边县	S16	青海祁连县
S7	青海化隆县	S17	青海大通县
S8	青海循化县	S18	青海门源县
S9	青海都兰县	S19	甘肃镇原县
S10	山西晋中市		

1.2 仪器与设备

7890A 气相色谱仪,配氢火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)(美国安捷伦公司); Mettler Toledo MS 电子天平[梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司]; Milli-Q 型超纯水仪(美国密理博公司); 欧莱博 HH-S6 六孔水浴锅恒温水浴锅(山东博科科学仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱: DB-23 色谱柱(60 m×0.25 mm, 0.25 μ m), 进样口温度: 250 $^{\circ}$ C, 进样量 1 μ L, FID 检测器温度: 280 $^{\circ}$ C, 分流

比: 40:1, 柱流量: 1.0 mL/min, 隔垫吹扫: 3.0 mL/min, 氢气流速: 40.0 mL/min, 空气流速: 400 mL/min, 柱温: 195 °C, 保持 25 min, 再以 30 °C/min 升温至 240 °C 保持 2 min。在该色谱条件下, 7 种脂肪酸甲酯能实现完全分离。

1.3.2 对照品溶液的制备

精密称取棕榈酸甲酯 69.46 mg、棕榈油酸甲酯 76.57 mg、硬脂酸甲酯 82.78 mg、油酸甲酯 92.95 mg、亚油酸甲酯 87.38 mg、 γ -亚麻酸甲酯 69.88 mg、 α -亚麻酸甲酯 77.18 mg 分别置于 10 mL 量瓶中, 精密加入环己烷定容至刻度, 摇匀, 作为脂肪酸甲酯对照品储备液。

分别吸取不同脂肪酸甲酯对照品储备液 2 mL, 置于 20 mL 量瓶中, 加入环己烷定容至刻度, 摇匀, 作为脂肪酸甲酯混合对照品溶液, 置于 4 °C 冰箱保存, 备用。

1.3.3 供试品溶液的制备

方法 1: 三氟化硼-氢氧化钾甲醇法。精密称取样品 0.1 g, 置 50 mL 磨口烧瓶中, 加 1 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液 5 mL, 接回流冷凝管, 在 70 °C 水浴中皂化 10 min。加 14% 三氟化硼甲醇溶液 7 mL, 70 °C 水浴中回流 10 min, 放冷, 转

移至分液漏斗中, 加入 10 mL 环己烷, 振摇 2 min, 加饱和氯化钠溶液使分层, 取下层溶液加入 10 mL 环己烷, 重复上述步骤 2 次。合并 3 次上层提取液用饱和氯化钠溶液进行洗涤, 直至洗至中性, 最终转移至 100 mL 量瓶中, 并用环己烷定容至刻度, 摇匀。吸取上述提取液约 5 mL, 加入 3 g 无水硫酸钠进行脱水, 振摇 1 min, 静置 5 min, 过滤后作为供试品溶液。混合对照品溶液和沙棘籽油供试品溶液的气相色谱图见图 1 和图 2。

方法 2: 乙酰氯-甲醇法, 按照 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》第二法外标法进行制备。取样品于玻璃管中, 依次加入 5 mL 甲苯、10% 乙酰氯甲醇溶液 7 mL, 充氮气密封, 振荡混合于 80 °C 水浴放置 2 h, 每 20 min 振摇一次, 冷却后 6000 r/min 离心 5 min。取上清液为供试品溶液。

方法 3: 酯交换法, 按照 GB 28404—2012《食品安全国家标准 保健食品中 α -亚麻酸、二十碳五烯酸、二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸的测定》中“5.1.2 甲酯化”方法制备供试品溶液。

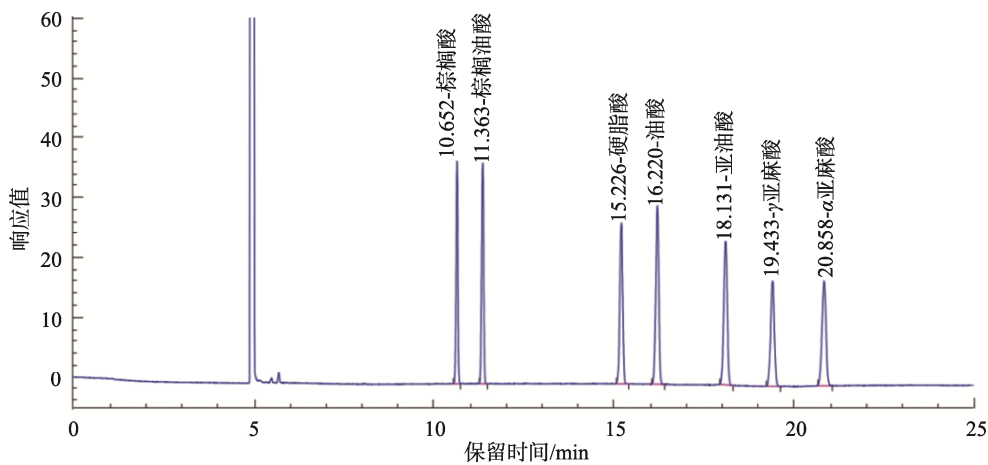


图1 混合对照品的气相色谱图

Fig.1 GC Chromatogram of mixed reference substance

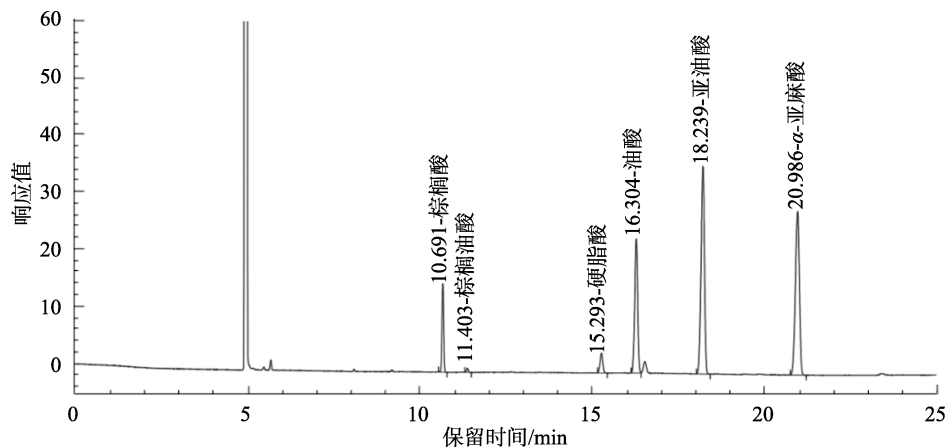


图2 供试品溶液(S1)的气相色谱图

Fig.2 GC chromatogram of sample S1

1.3.4 沙棘籽油样品中脂肪酸含量的测定

取 19 批样品适量, 按“1.3.3”项下方法 1 制备供试品溶液, 按“1.3.1 色谱条件”进行测定, 记录峰面积并按照标准曲线法计算各脂肪酸含量, 平行 3 次。

1.3.5 数据分析

采用 SPSS 23.0 软件对样品进行聚类分析、主成分分析, 根据特征值及方差贡献率提取出主成分, 并建立综合评分模型, 对 19 批样品进行综合评分和排名。

为进一步筛选出对样品分类贡献较大的变量, 采用 SIMCA 14.1 对已分类的样品进行主成分分析和正交偏最小二乘判别分析。

2 结果与分析

2.1 样品前处理条件的优化

2.1.1 比较 3 种前处理方法

分别用“1.3.3 供试品溶液的制备”中方法 1、2 和 3, 对同一样品(编号 S1)进行处理, 根据“1.3.1 色谱条件”进样分析和计算, 最终得到 7 种脂肪酸总含量分别为: 88.1、80.2、72.5 g/100 g。通过比较目标物的总含量可以得到, 方法 1 三氟化硼-氢氧化钾甲醇法提取效率最高, 该方法在碱性条件下皂化和甲酯化反应, 可操作性强, 并能得到较高的甲酯转化率。

乙酰氯-甲醇法存在甲酯化率低、毒性大和反应时间长等缺点。酯交换法直接加入适量氢氧化钾甲醇进行甲酯化, 虽然操作简单, 但是脂肪酸甲酯的转化率较低。因此, 本研究选择方法 1 作为最终供试品溶液的制备方法。

2.1.2 提取温度的影响

对方法 1 前处理条件进行优化, 考察不同水浴温度对 7 种脂肪酸甲酯化衍生的影响。分别在 60、65、70、75、80 °C, 对同一样品(编号 S1)进行皂化和甲酯化反应, 根据“1.3.1 色谱条件”进样分析和计算, 最终得到 7 种脂肪酸总含量分别为: 73.4、82.9、88.1、87.9、88.3 g/100 g, 随着温度的升高, 样品中脂肪酸总含量迅速增加, 在 70 °C 时基本达到最大, 此后继续升温总含量保持相对恒定。因此提取温度选择 70 °C。

2.1.3 提取时间的影响

反应时间和甲酯化反应时间分别在 5、10、15、20 min, 对同一样品(编号 S1)进行皂化和甲酯化反应, 根据“1.3.1 色谱条件”进样分析和计算, 最终得到 7 种脂肪酸总含量分别为: 75.6、88.0、87.5、87.9 g/100 g, 随着提取时间的延长, 脂肪酸总含量迅速增大, 10 min 时达到最大, 此后继续延长时间, 总含量保持相对恒定。因此, 皂化反应时间和甲酯化反应时间选择 10 min。

2.2 方法学考察

2.2.1 线性关系考察

精密量取混合对照品溶液各 0.25、0.50、1.00、2.00、

4.00、10.00 mL 置 10 mL 量瓶中, 加环己烷稀释制成系列浓度的混合对照品工作液, 进样 1 μL, 以标准品浓度为横坐标, 标准品的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 计算回归方程。7 种脂肪酸甲酯在相应的浓度范围内与峰面积的线性关系良好, $r \geq 0.9999$, 结果见表 2。

表 2 7 种脂肪酸甲酯线性方程和相关系数
Table 2 Linear equations and correlation coefficients of 7 kinds of fatty acid methyl esters

成分	线性方程	r	线性范围 (mg/mL)
棕榈酸甲酯	$Y=316.4X-0.8636$	0.9999	0.01719~0.6877
棕榈油酸甲酯	$Y=308.9X-0.9595$	0.9999	0.01895~0.7580
硬脂酸甲酯	$Y=312.1X-0.8570$	0.9999	0.02049~0.8195
油酸甲酯	$Y=321.4X-0.8949$	0.9999	0.02301~0.9202
亚油酸甲酯	$Y=319.1X-0.9956$	0.9999	0.02163~0.8651
γ -亚麻酸甲酯	$Y=313.2X-1.174$	0.9999	0.01730~0.6918
α -亚麻酸甲酯	$Y=300.3X-1.218$	0.9999	0.01910~0.7641

2.2.2 精密度试验、检出限和定量限

取 7 种脂肪酸甲酯混合对照品工作液 1 μL 连续进样 6 次, 得到 7 种脂肪酸甲酯峰面积相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)均小于 2.0%, 表明在本方法仪器条件下, 仪器精密度良好。

取混合对照品工作液逐步稀释后进样, 把各个峰信噪比为 3 时对应的待分析浓度作为检出限; 信噪比为 10 时对应的待分析浓度作为定量限, 最终得到检出限范围为 0.0017~0.0023 mg/mL, 定量限范围为 0.0043~0.0058 mg/mL, 说明该方法的灵敏度能够满足 7 种脂肪酸定量分析的要求。

2.2.3 稳定性试验

取已制备的回收率中水平加标溶液, 分别在 0、2、4、8、16、24 h 按“1.3.1”项下进样测定, 记录峰面积, 计算得到 7 种脂肪酸甲酯峰面积相对标准偏差分别为 2.1%、2.7%、0.9%、1.6%、2.2%、1.8%、1.5%, 表明溶液在 24 h 内稳定。

2.2.4 重复性试验

精密称取 6 份样品(编号 S1), 按“1.3.3”项下方法 1 制备, 分别进样测定峰面积, 最终得到样品中棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 γ -亚麻酸和 α -亚麻酸平均含量分别为 6.79、0.686、2.65、16.5、35.1、0.00、26.4 g/100 g, 相对标准偏差分别为 3.1%、3.5%、2.0%、2.2%、0.8%、0.0%、1.9%, 结果表明方法重复性良好。

2.2.5 回收率试验

精密称取 9 份样品(编号 S1)约 0.05 g 至锥形瓶中, 分为低中高 3 组, 每组平行操作 3 份, 分别精密加入 7 种脂肪酸甲酯适量, 按“1.3.3”项下方法 1 操作, 即可得到加标溶液, 分别进样测定峰面积, 计算样品中 7 种脂肪酸的平

均加样回收率及 RSDs。结果见表 3, 平均加样回收率为 91.9%~97.4%, RSDs 均小于 4.0%, 表明该方法准确度和精密密度良好, 能满足脂肪酸分析要求, 可应用于沙棘籽油中 7 种脂肪酸的检测分析。

表 3 7 种脂肪酸加样回收率测定结果($n=3$)
Table 3 Results of the sample recovery rates of 7 kinds of fatty acids ($n=3$)

化合物	回收率平均值/%	RSDs/%
棕榈酸	93.6	2.9
棕榈油酸	93.2	3.5
硬脂酸	91.9	3.8
油酸	95.8	2.5
亚油酸	94.3	2.4
γ -亚麻酸	94.2	2.5
α -亚麻酸	97.4	1.4

2.3 样品含量测定结果

分别精密称取 19 批沙棘籽油样品, 按“1.3.3”项下方法 1 制备供试品溶液, 按“1.3.1”进行测定, 结果见表 4。根据测定结果进行分析可得, 19 批样品均未检出 γ -亚麻酸; 其余 6 种均检出, 棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和 α -亚麻酸含量范围分别在 6.59~9.27、0.636~1.030、2.24~3.54、13.9~23.0、27.2~36.8 和 20.8~29.2 g/100 g 之间, 不同产地的样品含量测定结果有明显差异。与已有文献报道^[24]进行比较, 得到 7 种脂肪酸中含量最高的 4 种为棕榈酸、油酸、亚油酸和 α -亚麻酸, 结果一致; 但每种脂肪酸含量与文献相比有一定差异, 可能是由于沙棘的品种及生长地区不同导致脂肪酸含量不同。

2.4 聚类分析

为进一步分析不同产地脂肪酸含量差异, 根据 19 批沙棘籽油的脂肪酸含量测定结果, 排除样品中都未检出的 γ -亚麻酸, 把其余 6 种脂肪酸含量作为变量, 运用 SPSS 23.0 软件对样品进行聚类分析。首先采用最大方差法旋转进行因子分析, 把含量原始数据标准化后得到的 3 个因子作为新的变量, 再采用 Ward 联接法进行系统聚类分析, 结果见图 3。

表 4 19 批样品含量测定结果(g/100 g, $n=3$)
Table 4 Content results of 19 batches of samples (g/100 g, $n=3$)

编号	棕榈酸	棕榈油酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	γ -亚麻酸	α -亚麻酸
S1	6.79	0.686	2.65	16.5	35.1	—	26.4
S2	7.08	0.693	2.81	17.1	35.4	—	28.4
S3	6.59	0.636	2.94	16.9	33.7	—	26.1
S4	7.62	1.020	2.41	15.2	30.6	—	21.4
S5	7.29	1.010	2.24	13.9	27.2	—	20.8
S6	7.84	1.030	2.58	16.1	31.3	—	22.2
S7	8.71	0.879	2.87	20.8	30.8	—	25.2
S8	8.61	0.876	3.13	20.1	32.7	—	25.6
S9	8.84	0.881	3.11	21.1	32.8	—	25.9
S10	8.59	0.708	2.89	20.1	35.4	—	25.0
S11	8.19	0.696	2.77	19.0	33.8	—	24.1
S12	8.62	0.707	2.94	20.1	35.5	—	25.1
S13	6.95	0.662	3.52	18.8	36.2	—	28.7
S14	7.02	0.667	3.54	19.1	36.6	—	29.2
S15	7.08	0.665	3.52	19.2	36.8	—	28.9
S16	9.12	0.727	2.94	21.7	33.2	—	27.0
S17	9.27	0.766	3.12	22.5	34.5	—	28.0
S18	9.23	0.749	3.10	23.0	35.3	—	28.5
S19	7.44	0.691	2.99	20.0	35.5	—	26.4

注: “—”表示低于检出限。

当判别距离为 5 时, 19 批沙棘籽油样品聚为 6 类。当判别距离为 10 时, 被聚为 4 类: A 类包括 S1~S3、S10~S12 与 S19, 产地为内蒙古、山西和甘肃; B 类包括 S4~S6, 产地为陕西; C 类包括 S13~S15, 产地为新疆; D 类包括 S7~S9 与 S16~S18, 产地为青海。

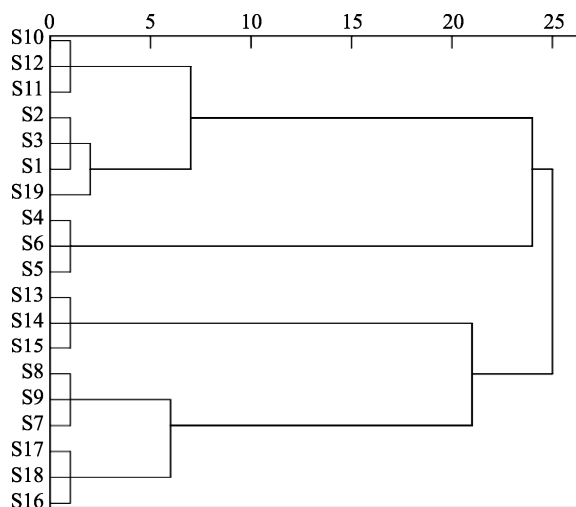


图 3 19 批样品聚类分析图
Fig.3 Cluster analysis of 19 batches of samples

2.5 主成分分析

以棕榈酸(X_1)、棕榈油酸(X_2)、硬脂酸(X_3)、油酸(X_4)、亚油酸(X_5)和 α -亚麻酸(X_6)相应含量为变量, 采用 SPSS 23.0 进行主成分分析, 特征值见表 5, 碎石图见图 4。得到前 2 个主成分, 特征值均大于 1, 并且累计方差贡献率达到 89.480%, 提示前 2 个主成分基本可以反映 6 个指标的全部信息, 可以用 2 个新变量对样品质量进行分析。2 个主成分因子载荷矩阵见表 6, α -亚麻酸、亚油酸和硬脂酸对第 1 主成分贡献较大, 棕榈酸和油酸对第 2 主成分贡献较大。

表 5 特征值及方差贡献率

Table 5 Characteristic values and variance contribution rates

主成分	特征值	方差贡献率/%	累积方差贡献率/%
1	3.726	62.101	62.101
2	1.643	27.378	89.480

为了消除原始数据量纲和数量级的影响, 采用 SPSS 23.0 中的描述统计对原始数据进行标准化处理, 用来计算 2 个主成分的得分及综合得分。 $Y_1=0.034ZX_1-0.440ZX_2+0.462ZX_3+0.357ZX_4+0.475ZX_5+0.490ZX_6$; $Y_2=0.768ZX_1+0.254ZX_2+0.001ZX_3+0.557ZX_4-0.174ZX_5-0.062ZX_6$; Y_1 与 Y_2 分别为第 1、第 2 主成分的得分; $ZX_1\sim ZX_6$ 分别为 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 和 X_6 的标准化数据; 各系数为因子载荷矩阵中的载荷值除以 2 个主成分各自对应的特征值开平方根。以各主成分对应的方差贡献率作为权重, 得到综合得分 $Y=0.62101Y_1+0.27378Y_2$ 。分别计算 19 批样品的综合得分并

排名, 结果见表 7。得分最高的沙棘籽油产地是青海门源县, 得分最低的样品产地是陕西旬邑县。

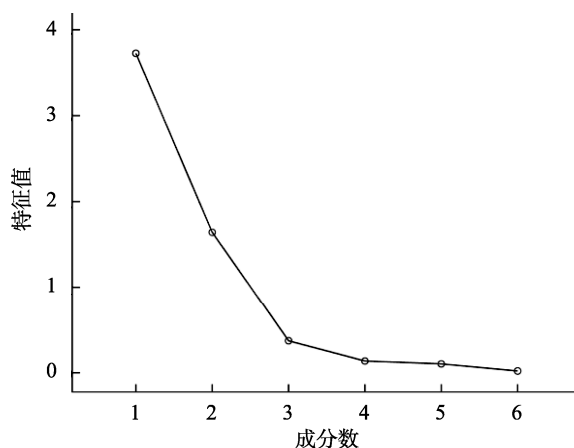


图 4 样品主成分分析碎石图
Fig.4 PCA scree plot of various samples

表 6 主成分载荷矩阵结果

Table 6 Results of principal component loading matrix

成分	成分	
	1	2
α -亚麻酸	0.945	-0.080
亚油酸	0.916	-0.223
硬脂酸	0.891	0.001
棕榈油酸	-0.849	0.326
棕榈酸	0.065	0.985
油酸	0.689	0.714

同时利用 SIMCA 14.1 软件对 19 批已分为 4 类的样品进行主成分分析, 通过 Hotelling T2 和 DModx 控制图可以看出样品无异常点, Q_2X 为 0.957 接近 1, Q_2 为 0.8, 模型比较理想, 4 类有相对明显的区分, 该结果与聚类分析结果一致。主成分分析得分图见图 5。

表 7 样品的综合得分结果

Table 7 Results of comprehensive scores of samples

编号	综合得分	排名	编号	综合得分	排名
S18	1.538	1	S8	0.176	11
S17	1.325	2	S2	-0.051	12
S15	1.091	3	S7	-0.148	13
S14	1.088	4	S11	-0.176	14
S13	0.919	5	S3	-0.446	15
S16	0.834	6	S1	-0.597	16
S12	0.508	7	S6	-1.847	17
S10	0.437	8	S4	-2.325	18
S19	0.409	9	S5	-3.139	19
S9	0.405	10			

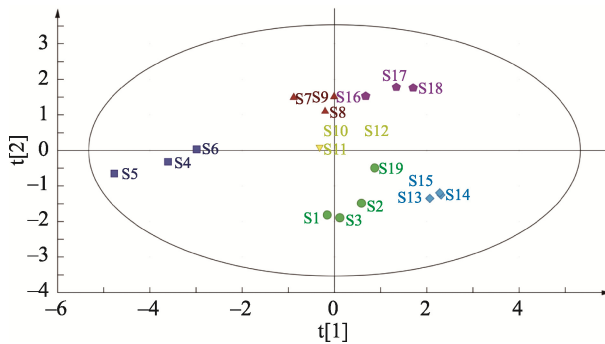


图 5 样品主成分分析得分图

Fig.5 PCA plot for samples

2.6 正交偏最小二乘判别分析

为进一步筛选出对样品分类贡献较大的变量,利用 SIMCA 14.1 软件的 OPLS-DA 对已聚为 4 类的样品进行分析,最终得到 6 组特征变量,结果见表 8。综合分析得到油酸(X_4)、亚油酸(X_5)和 α -亚麻酸(X_6)对样品分类贡献程度最大,与 SPSS 23.0 主成分分析结果基本一致。

表 8 特征变量结果

Table 8 Results of characteristic variables

分组	特征变量(按 VIP 值由大到小排列)
A-B	X_5 、 X_6 、 X_4
A-C	X_6 、 X_5
A-D	X_4 、 X_5 、 X_1
B-C	X_6 、 X_5 、 X_4
B-D	X_4 、 X_6 、 X_5
C-D	X_5 、 X_4 、 X_6 、 X_1

3 结论与讨论

本研究建立了气相色谱法同时检测 19 批沙棘籽油中棕榈酸、棕榈油酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 γ -亚麻酸和 α -亚麻酸 7 种脂肪酸的含量,该方法操作简单、准确性高,适用于测定沙棘籽油中多种脂肪酸的含量。同时根据 19 批不同产地样品的含量测定结果,分别采用 SPSS 23.0 和 SIMCA 14.1 软件,通过聚类分析、主成分分析和正交偏最小二乘判别分析,将沙棘籽油聚为 4 类,并进行综合得分和排名,最终得到油酸、亚油酸和 α -亚麻酸对样品分类贡献程度最大。所建立的含量测定与化学计量学分析相结合的方法,可以对不同产地沙棘籽油质量进行评价,为质量控制提供参考依据。

参考文献

[1] 陈学林, 马瑞君, 孙坤, 等. 中国沙棘属种质资源及其生境类型的研究

[J]. 西北植物学报, 2003, 23(3): 451-455.

CHEN XL, MA RJ, SUN K, *et al.* Germplasm resource and habit at types of seabuckthorn in China [J]. Acta Bot Bor-Occid Sin, 2003, 23(3): 451-455.

[2] 胡兰, 热娜·卡斯木. 两产地沙棘挥发油中化学成分的比较[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(2): 152-154.

HU L, RENA KSM. Comparison of chemical components of volatile oils from *Hippophae rhamnoides* in different regions [J]. West China J Pharm Sci, 2009, 24(2): 152-154.

[3] 汪成, 王怀友, 汪蔓青, 等. 不同产地沙棘果化学成分含量及抗氧化活性的研究[J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(5): 513-517.

WANG C, WANG HY, WANG MQ, *et al.* Study on content of major chemical constituents and anti-oxidation activities of sea buckthorn fruit [J]. West China J Pharm Sci, 2020, 35(5): 513-517.

[4] GUTIERREZ L, RATTI C, BELKACEMI K. Effects of drying method on the extraction yields and quality of oils from quebec seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seeds and pulp [J]. Food Chem, 2007, 106(3): 896-904.

[5] 曾凡正, 邓乾春, 禹晓. 加工部位及提取工艺对沙棘油品质特性及主要脂质伴随物相迁移的影响[J]. 中国油脂, 2020, 45(5): 93-99.

ZENG FZ, DENG QC, YU X. Effect of processing parts and extraction technology on the quality property and oil phase migration of main lipid concomitants of sea-buckthorn oil [J]. China Oils Fats, 2020, 45(5): 93-99.

[6] 赵二芳, 徐芬, 尹爱萍, 等. 沙棘果油与沙棘籽油脂肪酸组成及其抗氧化活性[J]. 中国油脂, 2017, 42(12): 120-123.

ZHAO EL, XU F, YIN AIP, *et al.* Fatty acid compositions and antioxidant activities of sea buckthorn pulp oil and sea buckthorn seed oil [J]. China Oils Fats, 2017, 42(12): 120-123.

[7] 方亮, 李珍, 李杰. 大果沙棘不同品种、不同部位油脂的提取及元素分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(15): 6090-6096.

FANG L, LI Z, LI J. Extraction and element analysis of oil from different varieties and parts *Hippophae rhamnoides* [J]. J Food Saf Qual, 2021, 12(15): 6090-6096.

[8] 冉贝贝, 李卫东. 沙棘果与沙棘叶化学成分及其差异的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(9): 1767-1773.

RAN BB, LI WD. Research progress on chemical constituents and their differences between sea buckthorn berries and leaves [J]. China J Chin Mat Med, 2019, 44(9): 1767-1773.

[9] 龚晨, 高庆超, 常应九, 等. 沙棘甾醇化合物的分离纯化研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(9): 82-87.

GONG C, GAO QC, CHANG YJ, *et al.* The separation and purification of sterol compound of *Hippophae rhamnoides* L. [J]. Food Res Dev, 2019, 40(9): 82-87.

[10] 周浩楠, 胡娜, 董琦, 等. 沙棘化学成分及药理作用的研究进展[J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(2): 211-217.

ZHOU HN, HU N, DONG Q, *et al.* Research progress on the chemical composition and pharmacological action of *Hippophae rhamnoides* [J]. West China J Pharm Sci, 2020, 35(2): 211-217.

[11] 裴铁琨. 沙棘油软胶囊辅助降血脂功能研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(9): 48-50.

PEI YK. Effect of seabuckthorn oil soft capsule on reducing blood lipid of rats [J]. China Oils Fats, 2011, 36(9): 48-50.

- [12] 付依依, 苑鹏, 夏凯, 等. 沙棘的功效成分及生物学功效评价研究进展[J]. 现代食品, 2021, (7): 39-42.
FU YY, YUAN P, XIA K, *et al.* Research progress of seabuckthorn's functional components and biological efficacy evaluation [J]. Mod Food, 2021, (7): 39-42.
- [13] 王家骏, 徐兆发, 贺安宁, 等. 沙棘油和亚硒酸钠对汞诱导的大鼠肝肾氧化损伤的影响[J]. 毒理学杂志, 2006, (4): 216-218.
WANG JJ, XU ZF, HE ANN, *et al.* The effects of sea buckthorn oil and sodium selenite on oxidative damage of liver and kidney induced by mercury [J]. J Toxicol, 2006, (4): 216-218.
- [14] 刘超, 徐婧, 叶存奇, 等. 沙棘籽油和果油对小鼠实验性肝损伤的保护作用及对比研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(13): 1100-1102.
LIU C, XU J, YE CQ, *et al.* Effects and comparison of seed oil and sarcocarp oil of *Hippophae rhamnoides* on rats with experimental hepatocirrhosis [J]. China J Chin Mat Med, 2006, 31(13): 1100-1102.
- [15] 王蓉, 李胜男, 陈春, 等. 沙棘多糖对巨噬细胞和免疫抑制小鼠的免疫调节作用研究[J]. 中南药学, 2020, 18(3): 384-388.
WANG R, LI SN, CHEN C, *et al.* Research on the immunomodulatory effects of seabuckthorn polysaccharides on macrophages and immunosuppressive mice [J]. Cent South Pharm, 2020, 18(3): 384-388.
- [16] DOGRA R, TYAGI SP, KUMAR A, *et al.* Efficacy of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*) oil vis-a-vis other standard drugs for management of gastric ulceration and erosions in dogs [J]. Vet Med Int, 2013, (260): 176848.
- [17] 张晓凤, 薛延团, 张育浩, 等. 沙棘甾醇对酒精性胃黏膜损伤的保护作用[J]. 华西药理学杂志, 2020, 35(1): 37-42.
ZHANG XF, XUE YT, ZHANG YH, *et al.* Protective effect of seabuckthorn sterol on alcoholic gastric mucosal injury [J]. West China J Pharm Sci, 2020, 35(1): 37-42.
- [18] ZHENG HX, MAO LK, YANG JY, *et al.* Effect of oil content and emulsifier type on the properties and antioxidant activity of sea buckthorn oil-in-water emulsions [J]. J Food Qual, 2020, 2020: 1540925.
- [19] 王倩, 杨建鑫, 刘贵琴, 等. 藏药治疗脑缺血性疾病的研究进展[J]. 药学研究, 2021, 40(2): 97-102, 109.
WANG Q, YANG JX, LIU GQ, *et al.* Research progress of Tibetan medicine on cerebral ischemic diseases [J]. J Pharm Res, 2021, 40(2): 97-102, 109.
- [20] HUANG NK, MATTHAN NR, GALLUCCIO JM, *et al.* Supplementation with seabuckthorn oil augmented in 16:1n-7t increases serum trans-palmitoleic acid in metabolically healthy adults: A randomized crossover dose-escalation study [J]. J Nutr, 2020, 150(6): 1388-1396.
- [21] 赵荣, 李闻涛, 董彬厂, 等. 药用沙棘籽油质量标准研究[J]. 安徽医药, 2016, 20(8): 1479-1482.
ZHAO R, LI WT, DONG BC, *et al.* Quality standard for seeds oil of *Hippophae rhamnoides* L. [J]. Anhui Med Pharma J, 2016, 20(8): 1479-1482.
- [22] 常明, 郭怡雯, 向殷丰, 等. 沙棘籽油微胶囊品质评价及应用研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(11): 133-137.
CHANG M, GUO YW, XIANG YF, *et al.* Quality evaluation and application of sea buckthorn seed oil microcapsules [J]. China Oils Fats, 2020, 45(11): 133-137.
- [23] 山永凯. 沙棘籽油指纹图谱的研究[J]. 食品科技, 2012, 37(10): 158-161.
SHAN YK. The finger print of seabuckthorn seed oil [J]. Food Sci Technol, 2012, 37(10): 158-161.
- [24] 臧茜茜, 邓乾春, 从仁怀, 等. 沙棘油功效成分及药理功能研究进展[J]. 中国油脂, 2015, 40(5): 76-81.
ZANG XX, DENG QC, CONG RH, *et al.* Review on functional components and pharmacological property of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) oil [J]. China Oils Fats, 2015, 40(5): 76-81.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

作者简介



吴晓云, 硕士, 主管药师, 主要研究方向为保健食品和中药的含量测定及质量控制。
E-mail: 441314184@qq.com



刘春霖, 硕士, 工程师, 主要研究方向为保健食品和化妆品检测。
E-mail: chunlin0320@126.com