

巧克力中脂肪酸组成及反式脂肪酸含量的分析

王浩, 杨悠悠, 刘佟, 苗雨田, 杨永坛*

(中粮营养健康研究院, 北京市营养健康与食品安全重点实验室, 北京 102209)

摘要: **目的** 建立测定巧克力中脂肪酸组成和反式脂肪酸含量的气相色谱方法。**方法** 采用氢氧化钾-甲醇甲酯化方法, 将甘油三酯转化为脂肪酸甲酯, 并使用气相色谱-氢火焰离子化检测器进行分析。**结果** 以三油酸甘油三酯为模型化合物, 确定甲酯化效率为 99.8%。使用面积归一化定量方法, 对市面上不同品牌、不同种类的 5 种巧克力进行分析。巧克力油脂中主要脂肪酸为棕榈酸、硬脂酸和油酸, 含量范围分别为: 25%~27%、32%~35%及 30%~32%; 反式脂肪酸含量范围为 0.4%~1.1%(以油脂中含量计)。**结论** 该方法简单快速, 适合巧克力油脂中脂肪酸组成和反式脂肪酸含量的分析。

关键词: 巧克力; 脂肪酸组成; 反式脂肪酸; 气相色谱-氢火焰离子化检测器

Analysis of fatty acids composition and *trans*-fatty acids content in chocolate

WANG Hao, YANG You-You, LIU Tong, MIAO Yu-Tian, YANG Yong-Tan*

(Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, COFCO Nutrition and Health Research Institute, Beijing 102209, China)

ABSTRACT: Objective To build testing method for analyzing the fatty acid composition and the *trans*-fatty acids content in chocolate. **Methods** Based on the esterification method of potassium hydroxide-methanol, the triglycerides were transferred to fatty acid methyl esters, which were analyzed by gas chromatography/flame ionization detector (GC/FID). **Results** With glycerol trioleate as research model, the esterification efficiency was determined to be about 99.8%. With the quantitation method with area normalization, 5 chocolate samples with different brands and different varieties were tested, it showed that palmitic acid, stearic acid and oleic acid were the 3 main fatty acids in chocolate, and their content were 25%~27%, 32%~35% and 30%~32% respectively. Besides, the amount of *trans*-fatty acids ranged from 0.4% to 1.1% in chocolate. **Conclusion** The developed method was easy to implement and could be applied to the fatty acid analysis in chocolate.

KEY WORDS: chocolate; fatty acid composition; *trans*-fatty acid; gas chromatography-flame ionization detector

1 引言

随着人们对营养健康的要求越来越高, 人们对各营养成分的组成及危害组分的含量的关注度也越

来越大。食用油中脂肪酸的组成影响着食用油的营养价值, 不饱和脂肪酸如亚油酸、亚麻酸等能维持正常的细胞功能, 可降低人体血液中胆固醇的浓度^[1]。而反式脂肪酸的摄入能增加人体血液中低密度脂蛋白

基金项目: 中粮集团公司资助项目(2013-C2-F007)

Fund: Supported by the Fundamental Research Project of COFCO Corporation (2013-C2-F007)

*通讯作者: 杨永坛, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: yangyongtan@cofco.com

*Corresponding author: YANG Yong-Tan, Senior Engineer, Food Quality & Safety Center, COFCO Nutrition & Health Research Institute, No.4 Road, Future Science and Technology Park South, Beiqijia, Changping, Beijing 102209, China. E-mail: yangyongtan@cofco.com

胆固醇的含量,减少高密度脂蛋白胆固醇的含量,从而增加人类心脏疾病的风险^[2]。据报道,每天摄入5 g反式脂肪酸将会使局部缺血性心脏病的概率增加25%^[3]。在我国,从2013年1月1日开始实施新版的预包装食品营养标签通则 GB 28050-2011。通则规定:对于食用油产品中需要明确标识饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸含量。食品配料含有或生产过程中使用氢化和(或)部分氢化油脂,在营养成分表中也应当标示出反式脂肪(酸)的含量^[4]。

目前,脂肪酸组成和反式脂肪酸含量通常采用气相色谱仪结合使用光火焰离子化检测器^[5-8]或质谱检测器^[9-12]进行测定。测定脂肪酸组成时,需要将甘油三酯进行甲酯化,转化为沸点较低的脂肪酸甲酯。甲酯化方式主要有三氟化硼法^[13]、氢氧化钾-甲醇法^[14]、乙酰氯-甲醇甲酯化法^[15]等。目前,很少有对巧克力中脂肪酸组成及反式脂肪酸含量分析的文献。基于便捷性、环保性等因素的考虑,本研究使用氢氧化钾-甲醇甲酯化方式,对不同品牌、不同种类的5种巧克力中的脂肪酸组成进行测定,并测定反式脂肪酸含量。

2 材料与方法

2.1 试验材料

37种脂肪酸甲酯混标购于Sigma-Aldrich公司;正己烷、甲醇均为色谱级,购于美国Fisher公司;5种巧克力(两种黑巧克力和三种牛奶巧克力)从大型商场购买。石油醚购于北京化工厂,沸程为30~60℃。

2.2 试验仪器

气相色谱仪(岛津2010Plus,配备氢火焰离子化检测器);电子摇床(SHZ-88A,上海一恒公司);分析天平(ME204-02,美国梅特勒托利多公司)

2.3 色谱条件

色谱柱:CP-sil 88 (100 m × 0.25 mm, 0.20 μm);载气:氮气,12.8 cm/s,分流比为50:1;进样口温度:250℃;检测器:260℃,氢气40 mL/min,空气300 mL/min,尾吹气30 mL/min;程序升温条件:初始温度70℃,10℃/min升温至160℃,保持5 min,2.5℃/min升至225℃,保持30 min。

2.4 油脂的提取

称取5 g巧克力,加入100 mL石油醚于索式提

取器中,抽提2 h。抽提结束后,将提取液转移至塑料离心管中,于60℃水浴中开盖蒸发石油醚,直至样品液面不再下降,即为最终的油脂样品,质量为1.0073 g。

2.5 甲酯化条件

称取200 mg由步骤2.4提取得到的油脂样品,溶解于5 mL正己烷溶液中,涡旋混合均匀,随即加入5 mL 0.4 mol/L氢氧化钾的甲醇溶液,室温振荡30 min,静置15 min后,取上清液,用相色谱仪分析。

3 结果与讨论

3.1 甲酯化效率

在脂肪酸组成测定过程中,甲酯化反应是将甘油三酯通过皂化/酯化或直接酯交换化方式转化为可供气相色谱分析的脂肪酸甲酯,其效率能显著影响结果测定的准确性。该研究以三油酸甘油三酯为研究模型,考察了甲酯化效率。经实验所测得油酸的质量与油酸质量的理论值的比值,即为该甲酯化方式的甲酯化效率,约为99.8%,可近似认为甲酯化完全。

3.2 气相色谱条件优化

良好的分离是准确定性定量的基础。其中,色谱柱的种类、程序升温条件是两个关键因素。100%氰丙基聚硅氧烷固定性属于强极性固定相,可分离饱和脂肪酸甲酯、单不饱和脂肪酸甲酯和多不饱和脂肪酸甲酯,并能有效区分顺反式脂肪酸,为油脂制品及休闲食品中反式脂肪酸的测定提供了技术支持。如图1所示,采用固定相为100%氰丙基硅氧烷的CP-Sil 88色谱柱,37种脂肪酸甲酯标准品得到了有效的基线分离。

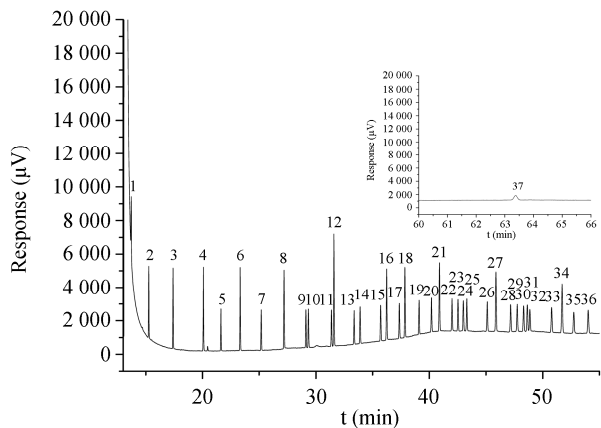
3.3 脂肪酸组成及反式脂肪酸含量的比较

油脂中脂肪酸含量测定的定量方法有面积归一化法、外标法和内标法。面积归一化法简便,对于同系物含量测定具有较高的准确性,因而,该研究采用面积归一法定量方式。

本研究所使用的巧克力均声称使用天然可可脂,其甲酯化后的脂肪酸甲酯的分离情况和脂肪酸组成分别如图2(以黑巧克力1为例)和表1所示。由表1可知,巧克力油脂中饱和脂肪酸含量最高,约为

64%~65%; 其次为油酸和亚油酸, 所含比例分别为 30%~32%、2%~3%, 其它脂肪酸总含量小于 4%。一般情况下, 花生油、菜籽油、大豆油等常用食用油中几乎不含有碳数小于 14 的脂肪酸, 巧克力油脂与不同的是, 低碳数脂肪酸的含量较高, 所占比例约为 0.7%~1.6%。其中, 黑巧克力较牛奶巧克力所含低碳数脂肪酸较低, 小于 1%, 原因是牛奶作为牛奶巧克力的主要原料, 低碳数脂肪酸含量较高的动物油脂所占比例较大。

反式脂肪酸的含量是油脂类产品健康性的关键考察因素之一。由表 2 可知, 巧克力油脂中反式脂肪酸含量均小于 1.1%, 且反式油酸为主要反式脂肪酸。由提取实验可知, 巧克力中脂肪含量约为 20.1%, 因此, 折算到巧克力中, 反式脂肪酸的含量均小于 0.22%。



1.丁酸甲酯 C4:0; 2.己酸甲酯 C6:0; 3.辛酸甲酯 C8:0; 4.癸酸甲酯 C10:0; 5.十一烷酸甲酯 C11:0; 6.月桂酸甲酯 C12:0; 7.十三烷酸甲酯 C13:0; 8.豆蔻酸甲酯 C14:0; 9.肉豆蔻脑酸甲酯 C14:1; 10.十五烷酸甲酯 C15:0; 11.顺-10-十五碳烯酸甲酯 15:1(cis-10); 12.棕榈酸甲酯 C16:0; 13.棕榈烯酸甲酯 C16:1; 14.十七烷酸甲酯 C17:0; 15.顺-10-十七烷烯酸甲酯 C17:1(cis-10); 16.硬脂酸甲酯 C18:0; 17.反-9-十八碳烯酸甲酯 C18:1n9t; 18.油酸甲酯 C18:1n9c; 19.反亚油酸甲酯 C18:2n6t; 20.亚油酸甲酯 C18:2n6c; 21.花生酸甲酯 C20:0; 22.γ-亚麻酸甲酯 C18:3n6; 23.顺-11 二十碳烯酸甲酯 C20:1; 24.亚麻酸甲酯 C18:3n3; 25.二十一烷酸甲酯 C21:0; 26.顺-11,14-二十碳二烯酸甲酯 C20:2; 27.山萘酸甲酯 C22:0; 28.顺-8,11,14-二十碳三烯酸甲酯 C20:3n6; 29.顺-13-二十二碳烯酸甲酯 C22:1n9; 30.顺-11,14,17-二十碳三烯酸甲酯 C20:3n3; 31.二十三烷酸甲酯 C23:0; 32.花生四烯酸甲酯 C20:4n6; 33.顺-13,16-二十二碳二烯酸甲酯 C22:2; 34.木蜡酸甲酯 C24:0; 35.顺-5,8,11,14,17-二十二碳五烯酸甲酯 C20:5n3; 36.神经酸甲酯 C24:1; 37.顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸甲酯 C22:6n3。

图 1 37 种脂肪酸甲酯的 GC-FID 谱图

Fig. 1 Chromatogram of 37 fatty acid methyl esters.

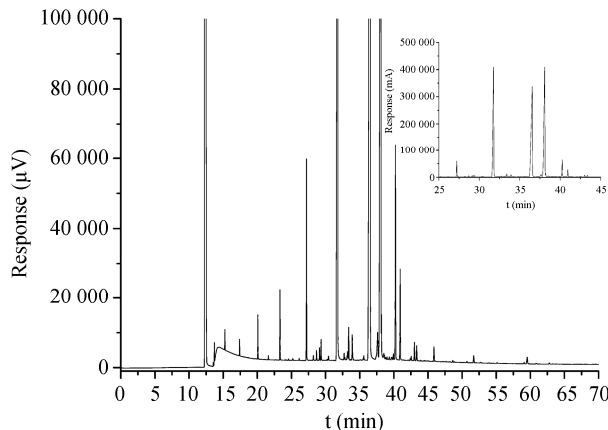


图 2 黑巧克力 1 中的油脂经甲酯化后的气相色谱图
Fig. 2 Chromatogram of oil in black chocolate 1 after the methyl esterification

表 1 5 种巧克力油脂中的脂肪酸组成

Table 1 Components of fatty acids in 5 chocolate oils

脂肪酸	质量分数 (%)				
	黑巧 1	黑巧 2	牛奶 1	牛奶 2	牛奶 3
C4:0	0.10	0.07	0.14	0.14	0.17
C6:0	0.10	0.08	0.14	0.14	0.18
C8:0	0.08	0.07	0.12	0.12	0.15
C10:0	0.24	0.21	0.33	0.33	0.41
C11:0	0.02	0.02	0.03	0.03	0.05
C12:0	0.36	0.32	0.59	0.58	0.58
C13:0	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
C14:0	1.30	1.05	1.84	1.81	2.18
C14:1	0.08	0.06	0.12	0.11	0.17
C15:0	0.16	0.13	0.20	0.20	0.27
C16:0	26.84	25.99	27.33	27.26	26.61
C16:1	0.30	0.28	0.33	0.33	0.43
C17:0	0.25	0.26	0.26	0.27	0.28
C18:0	33.78	34.41	32.52	32.60	32.77
C18:1n9t	0.50	0.37	0.62	0.64	0.80
C18:1n9c	31.43	31.99	31.04	31.06	30.34
C18:2n6t	0.14	0.10	0.16	0.16	0.24
C18:2n6c	2.45	2.71	2.37	2.36	2.36
C20:0	1.08	1.08	1.04	1.04	0.96
C20:1	0.05	0.05	0.04	0.04	0.04
C18:3n3	0.21	0.23	0.21	0.21	0.27
C21:0	0.16	0.12	0.19	0.19	0.29
C22:0	0.20	0.19	0.18	0.18	0.22
C23:0	0.02	0.02	0.02	0.02	0.03
C20:4n6	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
C22:2	0.02	—	0.02	0.02	0.03
C24:0	0.11	0.01	0.11	0.11	0.12
C20:5n3	0.01	0.11	0.01	0.01	0.02

表2 5种巧克力油脂中反式脂肪酸的含量
Table 2 The content of *trans*-fatty acids in 5 chocolate oils

脂肪酸	质量分数(%)				
	黑巧1	黑巧2	牛奶1	牛奶2	牛奶3
t-C18:1	0.50	0.37	0.62	0.64	0.80
t-C18:2	0.14	0.10	0.16	0.16	0.24
TFA 总含量	0.64	0.47	0.78	0.80	1.04

4 结论

本研究基于氢氧化钾-甲醇甲酯化方式,采用气相色谱-氢火焰离子化检测器对巧克力油脂的脂肪酸组成及反式脂肪酸含量进行测定。该方法简单快速,可准确定量巧克力中的数十种脂肪酸。天然可可脂的巧克力油脂中,饱和脂肪酸含量为60%以上,其次分别为油酸和亚油酸。另外,反式脂肪酸含量较低,仅占巧克力总量的不到0.22%,因而,在营养标签上,反式脂肪酸含量可表示为0 g/100g。

参考文献

- [1] 穆同娜,孙婷,吴艳涛,等. 三种不同食用植物油中不饱和脂肪酸含量调查[J]. 粮油食品科技, 2011, 19(3): 36-38.
Mu TN, Sun T, Wu YT, *et al.* Investigation of unsaturated fatty acids in three edible vegetable oils [J]. *Sci Technol Cereals oils Food*, 2011, 19(3): 36-38.
- [2] Wang F, Wang Y, Xu J, *et al.* Assessment of *trans* fatty acids in edible oils in China [J]. *Food Control*, 2012, 25: 211-215.
- [3] Stender S, Dyerberg J, Astrup A. Consumer protection through a legislative ban on industrially produced *trans* fatty acids in foods in Denmark [J]. *Scand J Food Nutr*, 2006, 50(4): 155-160.
- [4] GB 28050-2011 预包装食品营养标签通则[S].
GB 28050-2011 The general principles of the prepackaged food nutrition labels [S].
- [5] 陈逸鹏,郑凯航,何计国,等. 几类市售坚果产品中油脂的脂肪酸分析[J]. 食品科技, 2015, (1): 191-195.
Chen YP, Zheng KH, He JG, *et al.* Composition of fatty acid content of several commercial nut products [J]. *Food Sci Technol*, 2015, (1): 191-195.
- [6] 高宏,徐慧,贾涛,等. 气相色谱法测定氢化油脂加工食品中反式脂肪酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(1): 321-327.
Gao H, Xu H, Jia T, *et al.* Determination of the *trans*-fatty acids in hydrogenated fat processed foods by gas chromatography [J]. *J Food Saf Qual*, 2015, 6(1): 321-327.
- [7] 郑月明,冯峰,潘家荣,等. 全二维气相色谱-四级杆质谱法检测植物油中脂肪酸[J]. 色谱, 2012, 30(11): 1166-1171.
Zheng YM, Feng F, Pan JR, *et al.* Determination of fatty acids in vegetable oils using comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled to quadrupole mass spectrometry [J]. *Chin J Chromatogr*, 2012, 30(11): 1166-1171.
- [8] 赖晓英,武德银,伍颀,等. 反式脂肪酸的危害及其检测方法[J]. 现代食品科技, 2007, 23(2): 73-76.
Lai XY, Wu DY, Wu Y, *et al.* Hazards and determination of *trans* fatty acids [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2007, 23(2): 73-76.
- [9] 申瑞玲,董吉林,王章存. GC-MS对不同比例胡麻油和菜籽油混合油脂脂肪酸分析[J]. 粮食与油脂, 2007, (12): 43-45.
Shen RL, Dong JL, Wang ZC. Analysis of fatty acids in mixed oil of linseed oil and rapeseed oil by GC-MS [J]. *Cereals Oils*, 2007, (12): 43-45.
- [10] 顾黎. 花生油中脂肪酸组成的气相色谱-质谱分析[J]. 林区教学, 2007, (2): 124-125.
Gu L. GC-MS analysis of fatty acid contents in peanut oils [J]. *Teach Forestry Region*, 2007, (2): 124-125.
- [11] 刘花花,康健,欧荣,等. 新疆石榴籽油的超声辅助提取工艺及GC-MS分析[J]. 中国油脂, 2015, 40(1): 6-9.
Liu HH, Kang J, Ou R, *et al.* Ultrasound-assisted extraction and GC-MS analysis of Xinjiang pomegranate seed oil [J]. *China Oils Fat*, 2015, 40(1): 6-9.
- [12] 张青龄. 食用油中反式脂肪酸的气相色谱分析法研究[J]. 粮油食品科技, 2011, 19(4): 20-22.
Zhang QL. Determination of *trans* fatty acids in edible vegetable oil by GC-MS [J]. *Sci Technol Cereals oils Food*, 2011, 19(4): 20-22.
- [13] 宋志华,王兴国,金青哲,等. 植物油中反式脂肪酸含量及人体摄入量初估[J]. 中国油脂, 2008, 33(12): 76-79.
Song ZH, Wang XG, Jin QZ, *et al.* *Trans* fatty acids content of vegetable oils and daily dietary intake level estimation [J]. *China Oils Fat*, 2008, 33(12): 76-79.
- [14] 寇秀颖,余国萍. 脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 46-47.
Kou XY, Yu GP. Research in methyl esterification of fatty and fatty acids [J]. *Food Res Dev*, 2005, 26(2): 46-47.
- [15] GB 5413.27-2010 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定[S].
GB 5413.27-2010 Determination of fatty acids in foods for infants and young children, milk and milk products [S].

(责任编辑:李振飞)

作者简介



王 浩, 工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: wanghao3@cofco.com



杨永坛, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: yangyongtan@cofco.com



补充说明

本刊 2015 年第 3 期(2015, 6(3): 1088-1096)宋愿智等作者“汉莲牌红曲灵芝丹参胶囊的动物毒理学安全性评价研究”一文中作者姓名英文对照由“SONG Yuan-Zhi^{1*}, LI Qiu-Fei¹, MOU Xiao¹, LIAO De-Hong², WANG Min², SUN Ji-Wen³, LIU Jian-Shu⁴, GAN Zhi-Jie⁵, XU Xue-Feng⁵, ZHANG Qing-Lan⁶”修改为“SONG Yuan-Zhi^{1*}, LI Qiu-Fei¹, MOU Xiao¹, LIAO De-Hong², WANG Min², SUN Wen-Ji³, LIU Jian-Shu⁴, GAN Zhi-Jie⁵, XU Xue-Feng⁵, ZHANG Qing-Lan⁶”。

《食品安全质量检测学报》编辑部