

气相色谱法测定食用豆中主要脂肪酸含量

杨亚琴, 周其芳, 刘进玺, 胡永建, 冯书惠, 王会锋, 钟红舰*

(河南省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所, 农业部农产品质量安全风险评估实验室(郑州),
河南省粮食质量安全与检测重点实验室, 郑州 450002)

摘要: **目的** 测定以食用籽粒为主的鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆、赤豆、黑豆和黄豆等7种食用豆中主要脂肪酸的含量。**方法** 乙醚和石油醚提取食用豆中的油脂, 采用皂化和甲酯化方法将脂肪酸转化为脂肪酸甲酯, 通过气相色谱仪火焰离子化检测器对脂肪酸甲酯的含量进行测定。**结果** 棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和 α -亚麻酸为食用豆中所含的5种主要脂肪酸, 其中亚油酸的相对含量均为最高。绿豆和赤豆中棕榈酸的相对含量分别为24.46%和20.01%, α -亚麻酸分别为20.13%和27.86%, 两种脂肪酸的含量明显高于其他5种豆类。对油酸、亚油酸和 α -亚麻酸等3种不饱和脂肪酸相对含量进行加和可得, 绿豆和赤豆中总不饱和脂肪酸含量较低, 分别为61.82%和69.28%, 鹰嘴豆中最高, 为86.55%, 豌豆中为84.66%, 蚕豆中为82.25%, 黑豆中为84.47%, 黄豆中为84.01%。**结论** 食用豆中主要脂肪酸含量差异较大, 但不饱和脂肪酸含量均较高, 方法所得实验数据科学、准确, 能够为评价食用豆的营养价值及综合开发利用提供基础数据支撑。

关键词: 食用豆; 脂肪酸; 气相色谱法; 油酸; 亚油酸; α -亚麻酸

Determination of the content of main fatty acids in food legumes by gas chromatography

YANG Ya-Qin, ZHOU Qi-Fang, LIU Jin-Xi, HU Yong-Jian, FENG Shu-Hui, WANG Hui-Feng,
ZHONG Hong-Jian*

(Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Henan Academy of Agricultural Sciences,
Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Agro-Products (Zhengzhou), Ministry of Agriculture,
Henan Cereal Quality and Safety Testing Key Laboratory, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT: Objective To determine the components of fatty acids in 7 kinds of food legume's seeds (chickpea, garden pea, broad bean, mung bean, adzuki bean, black soybean and yellow soybean). **Methods** The seed oils were extracted with diethyl ether and petroleum ether and the fatty acids were transferred into fatty acid methyl esters by saponification and methyl esterification methods. The relative amounts of fatty acid methyl esters were determined by gas chromatography-flame ionization detector. **Results** Five main fatty acids were contained in each kind of food legumes and the relative content of linoleic acid was the highest. The relative amounts of palmitic acid in mung bean and adzuki bean were 24.46% and 20.01% and the relative amounts of α -linolenic acid were 20.13% and 27.86%, respectively. The content of palmitic acid and α -linolenic acid in mung bean and adzuki bean were significantly higher than those in the other five food legumes. Summing the relative amounts of the 3 main unsaturated fatty acids, total

基金项目: 国家农产品质量安全风险评估项目(GJFP2015002)

Fund: Supported by the National Agro-Product Quality and Safety Risk Assessment Project of China (GJFP2015002)

*通讯作者: 钟红舰, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究及农产品质量安全风险评估。E-mail: sszbzx@126.com

*Corresponding author: ZHONG Hong-Jian, Associate Researcher, Institute of Agricultural Quality Standards and Testing Technology, Henan Academy of Agricultural Sciences, No. 116, Huayuan Road, Jinshui District, Zhengzhou 450002, China. E-mail: sszbzx@126.com

relative amounts of unsaturated fatty acids in mung bean and adzuki bean were low, which were 61.82% and 69.28%, in chickpea was the highest, which was 86.55%, and in garden pea, broad bean, black soybean, and yellow soybean were 84.66%, 82.25%, 84.47%, and 84.01%, respectively. **Conclusion** The content of main fatty acids in different food legumes are distinguishable, but the total amount of unsaturated fatty acids in each seed is high. The veracious experimental data in this study can provide the basic data support for the evaluation of nutritional value and integrated development and utilization of food legumes.

KEY WORDS: food legume; fatty acid; gas chromatography; oleic acid; linoleic acid; α -linolenic acid

1 引言

食用豆类是指以食用籽粒为主, 包括食用其干、鲜籽粒和嫩荚的各种豆类作物的统称^[1]。食用豆类中富含蛋白质、淀粉、热量、多种维生素和矿物质元素, 在人类营养学中发挥着重要的作用^[2,3]。长期以来, 中国作为食用豆类的主要生产国和贸易国, 在世界食用豆生产、消费和贸易中均占据着非常重要的位置^[4]。食用豆类不仅是传统蛋白质和淀粉的主要来源, 其营养成分与生物活性正逐渐成为食品及生物医学领域的研究热点^[5-7]。作为 21 世纪人类的健康食物资源, 豆类植物的抗氧化活性尤其受到人们的广泛关注^[8-11]。

常见食用豆类中, 除兼做油料作物的大豆(包括黄豆和黑豆等)外, 其余种类中脂肪含量均较低, 一般在 0.5%~2.5%^[3,12,13]。然而, 食用豆类脂肪中所含的脂肪酸种类却较多, 如油酸、亚油酸、亚麻酸、花生酸、山萘酸、棕榈酸、硬脂酸等。研究表明, 亚油酸和亚麻酸是营养学明确确定的人体不能自身合成而必须从食物中摄取的两多不饱和脂肪酸, 对人体健康有着极其重要的意义。亚油酸具有降低血脂、预防心脑血管疾病、抗肿瘤、抗氧化、降低动物和人体胆固醇与甘油三酯、抗动脉粥样硬化、提高骨骼密度、防治糖尿病等多种生理功能活性; 亚麻酸则具有增强免疫力、抗凝血、抗炎、降血脂、延缓脑细胞衰老等药理作用^[14,15], 这些具有特殊功效的脂肪酸已逐渐成为评价和开发功能性食品的重要参数依据。本研究选取以食用籽粒为主的鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆、赤豆、黑豆和黄豆等 7 种食用豆的种子, 对其各自主要脂肪酸的组成及含量进行测定, 以期对评价食用豆的营养价值及综合开发利用提供基础性数据支撑。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 6890N 型气相色谱仪(美国安捷伦科技公司); RE-52AA 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂); HY-6 双层摇瓶机(江苏省金坛市医疗仪器厂)。

无水乙醚(分析纯, 洛阳市化学试剂厂); 石油醚(60~90 °C)、无水硫酸钠、氢氧化钾(分析纯, 国药集团

化学试剂有限公司); 甲醇(色谱纯, 默克化工技术(上海)有限公司); 正己烷(色谱纯, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司); 水为二次蒸馏水; 脂肪酸甲酯标准品(上海安普实验科技股份有限公司)。

鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆、赤豆、黑豆和黄豆样品: 各 10 份, 取自全国各地, 均为收获种子的风干样品。

2.2 试验方法

2.2.1 脂肪提取

参考 GB/T 14772-2008 略有改动。称取粉碎均匀的鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆和赤豆豆粉样品约 5.0 g(精确到 0.001 g)或黑豆和黄豆豆粉样品约 0.5 g(精确到 0.001 g)于 150 mL 磨口三角瓶中, 加 50 mL 体积比为 1:1 的无水乙醚和石油醚混合液, 置于摇瓶机上振荡 1 h 后继续静置约 15 h, 使油脂溶出完全。吸取静置提取后的乙醚-石油醚层, 经无水硫酸钠除水后过滤至 150 mL 旋转蒸发瓶中。再次加入 50 mL 无水乙醚和石油醚混合液, 洗涤三角瓶中残渣后一并滤入旋转蒸发瓶中, 于 40 °C 水浴减压挥发除去乙醚-石油醚, 得食用豆样品脂肪提取物。

2.2.2 皂化与甲酯化

参考 GB/T 17376-2008/ISO 5509: 2000 略有变动。用 5 mL 正己烷将提取到的食用豆样品脂肪提取物溶解并转入 15 mL 具塞试管中, 加入 2 mL 质量分数为 5.4% 的氢氧化钾甲醇溶液, 涡旋 2 min 后静置 3 h, 使甲酯化完全。沿试管壁加水至刻度线, 继续静置 1 h 后吸取正己烷层清液约 1.2 mL, 待上机测定。

2.3 色谱条件

色谱柱: DB-FFAP 毛细管柱(30 m×0.32 mm, 0.25 μ m); 检测器: FID 检测器, 温度 250 °C。载气为氮气, 流速 1 mL/min; 进样量 1 μ L; 分流比 20:1。燃气为氢气, 流速 30 mL/min, 助燃气为空气, 流速 300 mL/min。

升温程序: 初始温度 180 °C, 保持 3 min, 以 10 °C/min 升温至 260 °C, 保持 10 min, 检测时间共计为 21 min。

2.4 脂肪酸确定与数据处理

根据脂肪酸甲酯标准品在气相色谱条件下的出峰保留时间鉴定食用豆中脂肪酸类别。采用峰面积归一化法计算脂肪酸各组分在总组分中的含量百分比。

2.5 脂肪酸绝对含量的测定

本研究选取黑豆样品为例,采用外标法对黑豆样品中主要脂肪酸的绝对含量进行测定。

3 结果与分析

3.1 定性分析

按照上述色谱条件对脂肪酸甲酯标准品进行分析,得到各组分的气相色谱图与保留时间,分别如图1和表1所示。由图1可知,18种脂肪酸甲酯标准品在2.3中所列气相色谱条件下,基本按照烷基碳链长度由短至长出峰,各个色谱峰峰形良好且分离度高,满足气相色谱法对脂肪酸含量的测定要求。表1中列出了与18种脂肪酸甲酯标准品相对应的脂肪酸种类和名称,其中饱和脂肪酸9种,分别为十二烷酸、十三烷酸、十四烷酸、棕榈酸、十七烷酸、硬脂酸、山萘酸、花生酸和木焦油酸;不饱和脂肪酸9种,分别为油酸、亚油酸、 γ -亚麻酸、 α -亚麻酸、花生一烯酸、花生四烯酸、二十碳五烯酸、芥酸和二十四碳一烯酸。

3.2 食用豆中5种主要脂肪酸及相对含量

按照上述实验步骤对食用豆样品进行分析,分别得到鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆、赤豆、黑豆和黄豆等7种食用豆中脂肪酸甲酯的气相色谱图并通过参照脂肪酸甲酯标准品谱图对其化学成分进行鉴定,如图2所示。

由图2可知,不同种类食用豆中各脂肪酸的组成有所差异,其中绿豆和赤豆所含脂肪酸种类最多,主要有棕榈酸($t_r=5.55$ min)、硬脂酸($t_r=7.87$ min)、油酸($t_r=8.16$ min)、亚油酸($t_r=8.76$ min)、 α -亚麻酸($t_r=9.56$ min)及少量的花生酸($t_r=10.33$ min)、山萘酸($t_r=13.08$ min)、木焦油酸($t_r=17.15$ min);鹰嘴豆和蚕豆则所含种类相对较少,主要有棕榈酸、油酸、亚油酸及少量的硬脂酸、 α -亚麻酸。豌豆、黑豆和黄豆中所含脂肪酸主要有棕榈酸、油酸、亚油酸、 α -亚麻酸及少量的硬脂酸,且黑豆和黄豆的脂肪酸组成结构极为近似。

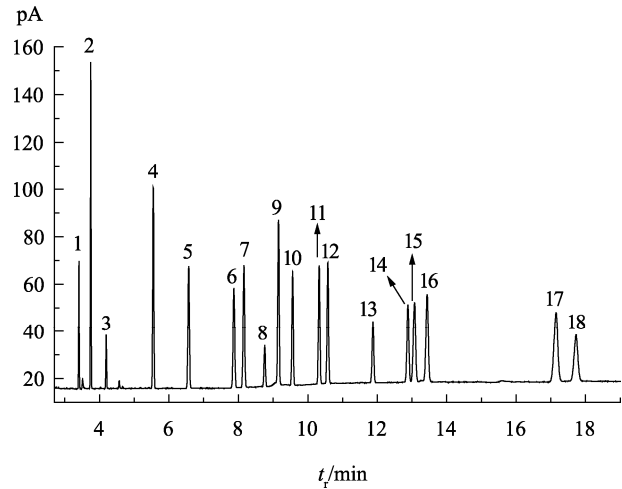


图1 脂肪酸甲酯标准品的气相色谱图
Fig. 1 Chromatogram of 18 kinds of fatty acid methyl ester standards

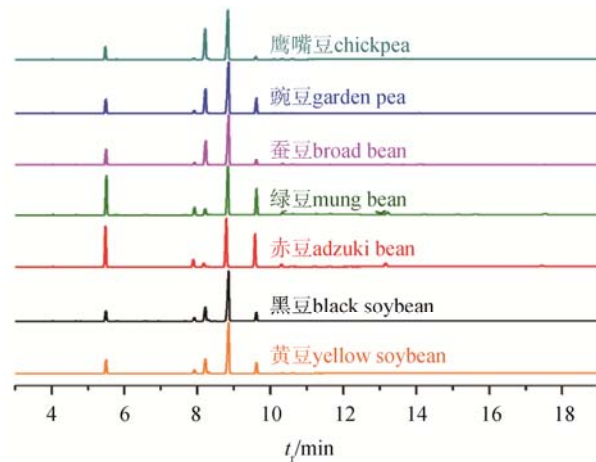


图2 食用豆中脂肪酸甲酯的气相色谱图
Fig. 2 Chromatograms of fatty acid methyl esters in each food legume

表1 脂肪酸甲酯标准品在气相色谱条件下的保留时间及相对应的脂肪酸名称
Table 1 Retention time and fatty acid names of 18 kinds of fatty acid methyl ester standards

序号	保留时间 (t_r /min)	化合物	序号	保留时间 (t_r /min)	化合物
1	3.41	十二烷酸 C12:0	10	9.56	α -亚麻酸 α -C18:3
2	3.75	十三烷酸 C13:0	11	10.33	花生酸 C20:0
3	4.28	十四烷酸 C14:0	12	10.58	花生一烯酸 C20:1
4	5.55	棕榈酸 C16:0	13	11.89	花生四烯酸 C20:4
5	6.57	十七烷酸 C17:0	14	12.88	二十碳五烯酸 C20:5
6	7.87	硬脂酸 C18:0	15	13.08	山萘酸 C22:0
7	8.16	油酸 C18:1	16	13.44	芥酸 C22:1
8	8.76	亚油酸 C18:2	17	17.15	木焦油酸 C24:0
9	9.16	γ -亚麻酸 γ -C18:3	18	17.73	二十四碳一烯酸 C24:1

表 2 食用豆中 5 种主要脂肪酸的相对含量比较($n=10$, %)
Table 2 Comparison of the relative amount of 5 main fatty acids in food legumes($n=10$, %)

豆名	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	α -亚麻酸
鹰嘴豆(chickpea)	9.51±0.27	1.57±0.31	36.90±4.61	47.30±4.50	2.35±0.26
豌豆(garden pea)	10.03±0.73	3.01±0.18	24.75±2.57	47.36±2.22	12.55±0.98
蚕豆(broad bean)	12.18±0.46	2.20±0.31	24.30±1.31	52.89±1.02	5.06±0.50
绿豆(mung bean)	24.46±0.87	6.52±0.47	4.40±0.48	37.29±1.37	20.13±0.75
赤豆(adzuki bean)	20.01±1.90	3.94±0.23	5.65±0.98	35.77±1.25	27.86±1.85
黑豆(black soybean)	10.64±0.66	4.00±0.51	21.60±4.21	54.68±3.46	8.19±1.14
黄豆(yellow soybean)	11.22±0.47	3.82±0.48	20.89±0.97	54.73±1.44	8.39±0.30

按照步骤 2.4, 采用峰面积归一法测得各样品中脂肪酸组分的相对含量。不同种类食用豆的 10 份样品进行数据分析, 可得不同食用豆中 5 种主要脂肪酸的平均相对含量, 如表 2 所示。

脂肪酸包括不含碳碳双键的饱和脂肪酸与含有碳碳双键的不饱和脂肪酸。不饱和脂肪酸根据碳链中所含双键数目分为单不饱和脂肪酸(含单个双键)和多不饱和脂肪酸(含两个及两个以上双键)。由表 2 可以看出, 在不同种类食用豆中, 饱和脂肪酸主要为棕榈酸和硬脂酸。棕榈酸在绿豆和赤豆中的相对含量较高, 分别为 24.46% 和 20.01%, 在其他种类食用豆中的相对含量则均在 10% 左右; 硬脂酸在 7 种食用豆中相对含量均较低, 鹰嘴豆中最少(约 1.57%), 绿豆中最多(约 6.52%)。食用豆中单不饱和脂肪酸为油酸, 其相对含量在绿豆和赤豆中较低(分别为 4.40% 和 5.65%), 鹰嘴豆中最高(约 36.90%)。多不饱和脂肪酸为亚油酸和亚麻酸。其中, 亚油酸是食用豆中相对含量最高的脂肪酸, 其含量范围为 35.77%~54.73%。而亚麻酸在不同种类食用豆中其相对含量分布较为分散, 赤豆中最多(约 27.86%), 鹰嘴豆中最少(约 2.35%)。

对不同种类食用豆中 3 种不饱和脂肪酸相对含量进行加和后, 可得食用豆中总不饱和脂肪酸含量数值。结果表明, 绿豆和赤豆中总不饱和脂肪酸含量较低, 分别为 61.82% 和 69.28%, 鹰嘴豆中最高, 为 86.55%, 豌豆中为 84.66%, 蚕豆中为 82.25%, 黑豆中为 84.47%, 黄豆中为 84.01%。

3.3 黑豆中 5 种主要脂肪酸的绝对含量

分别配制浓度为 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.00 mg/mL 的棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、 α -亚麻酸等 5 种脂肪酸甲酯标准品混合溶液, 按照步骤 2.3 所示脂肪酸甲酯测定的色谱条件进行测定, 记录峰面积, 以峰面积对浓度进行一元线性回归, 绘制标准曲线, 其线性方程相关系数及线性范围如表 3 所示。

表 3 5 种脂肪酸甲酯标准品的线性方程、相关系数和线性范围
Table 3 Linear equations, correlation coefficients (r^2) and linear ranges of 5 kinds of fatty acid methyl ester standards

化合物	线性方程	相关系数 (r^2)	线性范围/(mg/mL)
棕榈酸 C16:0	$Y=1434X+13.513$	0.9990	0.05~2.00
硬脂酸 C18:0	$Y=1536X+13.696$	0.9991	0.05~2.00
油酸 C18:1	$Y=1481X+14.184$	0.9990	0.05~2.00
亚油酸 C18:2	$Y=723.7X+7.9192$	0.9989	0.05~2.00
α -亚麻酸 α -C18:3	$Y=1540.6X+17.275$	0.9989	0.05~2.00

采用外标法对 10 份黑豆样品中 5 种主要脂肪酸的绝对含量进行测定, 每个样品平行测定 2 次, 其含量值见表 4。

对不同黑豆样品中 5 种主要脂肪酸绝对含量进行加和, 得黑豆中脂肪酸含量总值均超过 205 mg/g, 其中油酸、亚油酸、 α -亚麻酸 3 种不饱和脂肪酸的绝对含量加和数值范围则在 187.77~223.53 mg/g 之间, 不饱和脂肪酸绝对含量约为总脂肪酸绝对含量的 90%, 与 3.2 面积归一法所得总不饱和脂肪酸相对含量比值(84.47%)相近。

4 结 论

鹰嘴豆、豌豆、蚕豆、绿豆、赤豆、黑豆和黄豆等 7 种食用豆中所含脂肪酸主要为棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸和 α -亚麻酸; 亚油酸是食用豆中相对含量最高的脂肪酸, 硬脂酸是相对含量最低的脂肪酸; 棕榈酸在绿豆和赤豆中的相对含量较高, 在其他豆类中的含量差异不大。

鹰嘴豆中油酸的相对含量最高, α -亚麻酸的相对含量最低, 其不饱和脂肪酸组成特点为“高油酸、低 α -亚麻酸”; 绿豆和赤豆与之相反, 其不饱和脂肪酸组成为“高 α -亚麻酸、低油酸”。

表4 不同黑豆样品中5种主要脂肪酸的绝对含量($n=2$, mg/g)
Table 4 Content of 5 main fatty acids in different black soybean samples ($n=2$, mg/g)

黑豆样品 化合物	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#
棕榈酸	14.54	13.33	13.69	15.74	15.56	17.54	16.64	13.63	15.70	17.05
硬脂酸	3.91	4.20	3.80	4.42	4.45	6.71	5.77	4.66	5.58	5.85
油酸	22.07	23.76	31.75	47.60	33.91	32.71	34.58	29.66	35.16	35.35
亚油酸	172.25	180.58	147.93	157.25	163.98	169.98	167.55	180.41	170.73	168.98
α -亚麻酸	11.93	11.65	8.10	8.32	9.26	11.24	11.67	13.46	11.37	11.64
总计	224.70	233.52	205.27	233.33	227.16	238.18	236.21	241.82	238.54	238.87

以不饱和脂肪酸相对含量总值计, 绿豆和赤豆中较低, 鹰嘴豆中最高, 豌豆、蚕豆、黑豆和黄豆中则基本相近。

采用外标法测定黑豆样品中脂肪酸的绝对含量总值大于 205 mg/g, 其中不饱和脂肪酸含量范围在 187.77~223.53 mg/g 之间。

参考文献

- [1] Iqbal A, Khalil IA, Ateeq N, *et al.* Nutritional quality of important food legumes [J]. Food Chem, 2006, 97(2): 331-335.
- [2] Deshpande SS. Food legumes in human nutrition: a personal perspective [J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 1992, 32(4): 333-363.
- [3] Wani IA, Sogi DS, Hamdani AM, *et al.* Isolation, composition, and physicochemical properties of starch from legumes: A review [J]. Starch, 2016, 68(9-10): 834-845.
- [4] 刘慧. 中国食用豆贸易现状与前景展望[J]. 中国食物与营养, 2012, 18(8), 45-49.
Liu H. Situation of Chinese pulse trade and its development prospect [J]. Food Nutr China, 2012, 18(8): 45-49.
- [5] Kim EH, Kim SH, Chung JI, *et al.* Analysis of phenolic compounds and isoflavones in soybean seeds (*Glycine max* (L.) Merrill) and sprouts grown under different conditions [J]. Eur Food Res Technol, 2006, 222(1): 201-208.
- [6] 辛敏, 黄昀, 郝鹏飞, 等. 鹰嘴豆铁蛋白提取工艺优化研究[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26: 283-288.
Xin M, Huang Y, Hao PF, *et al.* Optimization of extraction conditions of ferritin from chickpea seed [J]. Nat Prod Res Dev, 2014, 26: 283-288.
- [7] Kumar V, Rani A, Dixit AK, *et al.* A comparative assessment of total phenolic content, ferric reducing-anti-oxidantive power, free radical-scavenging activity, vitamin C and isoflavones content in soybean with varying seed coat colour [J]. Food Res Int, 2010, 43(1): 323-328.
- [8] Lopez A, El-Naggar T, Duenas M, *et al.* Influence of Processing in the phenolic composition and health-promoting properties of lentils (*Lens culinaris* L.) [J]. J Food Proc Pres, 2016, DOI: 10.1111/jfpp.13113.
- [9] Heimler D, Vignolini P, Dini MG, *et al.* Rapid tests to assess the antioxidant activity of *Phaseolus vulgaris* L. dry beans [J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(8), 3053-3056.
- [10] Terrence M, Marian N, Fereidoon S. Antioxidant activity of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) [J]. J Food Lipids, 2005, 11(3): 220-233.
- [11] Cheng KC, Wu JY, Lin JT, *et al.* Enhancements of isoflavone aglycones, total phenolic content, and antioxidant activity of black soybean by solid-state fermentation with *Rhizopus* spp. [J]. Eur Food Res Technol, 2013, 236(6): 1107-1113
- [12] 胡谟彪, 傅绍清, 罗苹. 食用豆脂肪及脂肪酸含量研究[J]. 西南农业学报, 1996, 9: 186-188.
Hu MB, Fu SQ, Luo P. A study on oil and fatty acid contents in food legumes [J]. Southwest China J Agric Sci, 1996, 9: 186-188.
- [13] 傅翠真, 李安智, 张丰德, 等. 食用豆种质资源品质鉴定及营养特性 [J]. 中国农业科学, 1994, 27(5): 33-38.
Fu CZ, Li AZ, Zhang FD, *et al.* Quality identification and nutrient characteristics of the germplasm resources of good legumes [J]. Sci Agric Sin, 1994, 27(5): 33-38.
- [14] Lunn J, Theobald HE. The health effects of dietary unsaturated fatty acids [J]. Nutr Bull, 2006, 31(3): 178-224.
- [15] Demaison L, Moreau D. Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids and coronary heart disease-related mortality: a possible mechanism of action [J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(3): 463-477.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



杨亚琴, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究及农产品质量安全风险评估。
E-mail: yqyang87@163.com



钟红舰, 硕士, 副研究员, 主要研究方向为农产品质量安全检测技术研究及农产品质量安全风险评估。
E-mail: sszbzx@126.com