

气相色谱法测定婴幼儿乳粉中的1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯

陆雪龙*, 黄芳芳, 王巧云, 李光辉, 马 镇

(淮南益益营养食品科技有限公司, 淮南 232000)

摘要: **目的** 建立气相色谱检测方法测定婴幼儿配方乳粉中1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的含量。**方法** 乳粉中的油脂经过石油醚和乙醚提取后,离心机分层,用正己烷溶解,并过滤膜后,经气相色谱仪氢火焰离子化检测器检测,外标法定量测定乳粉中1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的含量。**结果** 得到的检测峰型良好,在线性范围0.10~5.00 mg/mL内,线性关系良好,相关系数 r^2 大于0.995。回收率在90%~104%之间,重复测定20次,相对标准偏差0.0692%,**结论** 该方法快速,灵敏,准确,适合测定婴幼儿配方乳粉中1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的含量。

关键词: 高效气相色谱; 氢离子火焰检测器; 婴幼儿配方乳粉; 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯

Determination of 1,3-dioleate-2-palmitic triglyceride in infant formula milk powder by gas chromatography

LU Xue-LONG, HUANG Fang-Fang, WANG Qiao-Yun, LI Guang-Hui, MA Zhen

(Huainan Yiyi Nutritional Food Technology Co., Ltd, Huainan 232000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 1,3-dioleate-2-palmitic triglyceride in infant formula milk powder by high performance gas chromatography. **Methods** After the grease in milk powder was extracted by petroleum ether and ethyl ether extract, it was layered in a centrifuge and dissolved by with n-hexane. And after the membrane filtration, the content of 1,3-dioleate-2-palmitic triglyceride was determined by gas chromatography with hydrogen flame ionization detector and quantified by external standard method. **Results** The detection peak was good and in the linear range of 0.10–5.00 mg/mL, the liner relation was good with the liner coefficient r^2 over 0.995. The recovery rate was between 90% and 104% and the relative standard deviation of 20 times repeated determination was 0.0692%. **Conclusion** This method is rapid, sensitive, accurate, which is suitable for the determination of 1,3-dioleate-2-palmitic triglyceride in infant formula milk powder.

KEY WORDS: gas chromatography; hydrogen flame ionization detector; infant formula milk powder; 1,3-dioleate-2-palmitic triglyceride

1 引言

婴幼儿配方奶粉作为婴幼儿主要的营养摄入来源,

其营养成分和安全指标一直备受关注。一般选用牛乳为原料,虽然牛乳的脂肪含量与母乳相似,但其脂肪酸组成差异较大^[1,2]。为了满足婴幼儿的生长发育需求,以牛乳为基

*通讯作者: 陆雪龙, 主要研究方向为乳制品检测。E-mail: 791182797@qq.com

*Corresponding author: LU Xue-Long, Huainan Yiyi Nutritional Food Technology Co., Ltd, No.32, Chaoyang East Road, Huainan 232000, China. E-mail: 791182797@qq.com

质的婴幼儿配方奶粉不断发展变化, 添加了花生四烯酸、DHA(docosahexaenoic acid)等不饱和脂肪酸, 使其更接近母乳^[3,4]。

1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(1,3-dioleoyl-2-palmitoyl triglyceride, OPO)是一种营养强化剂, 是以植物油为原料, 在脂肪酶催化酯交换下, 脂肪酸在丙三醇分子上的位置重新排列而得。它作为一种基本脂肪配料, 模仿母乳的构成和母乳的特性, 从而能最佳的帮助钙和能量的吸收。而 OPO 配方奶粉可以帮助新生儿更好的吸收和消化营养, 减少便秘和排便困难, 减少营养成分流失, 增加益生菌数量, 促进骨骼发育等^[5-8]。2008 年我国卫生部批准了 OPO 作为营养强化剂可用于婴幼儿配方奶粉的生产^[9], 并于 2010 年卫生部的第 1 号文件中明确规定了 OPO 扩大适用范围及使用量^[10]。现有方法主要采用毛氏抽脂瓶或者分液漏斗进行提取, 在分层提取时会出现分层不明显, 有时还会出现不分层的情况, 会造成结果的不准确, 所以本方法对提取步骤进行改良^[11-14]。本研究采用气相色谱法测定婴幼儿配方奶粉中 OPO 含量, 并对提取方法进行优化, 采用在离心管中进行离心萃取的方式进行提取, 从而使分层更容易、更明显, 对准确测定婴幼儿配方乳粉中 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯具有一定的参考价值。

2 材料与方 法

2.1 设备与试剂

2.1.1 设 备

7890A 气相色谱仪(配有氢火焰离子化检测器, 美国 Agilent 公司); WHY-2 型水浴恒温振荡器(江苏金坛市环宇科学仪器厂); ME204 万分之一分析天平、ME55 十万分之一分析天平(瑞士梅特勒公司); H1850R 医用离心机(长沙湘仪科学仪器有限公司); RE-52 旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂)。

2.1.2 试剂与耗材

氨水、乙醚、石油醚(分析纯, 国药集团); 无水乙醇(优级纯, 国药集团); 正己烷(色谱纯, 美国天地试剂公司); 刚果红(分析纯, 成都西亚试剂公司); 刚果红溶液: 称取 1 g 刚果红用一级水溶解稀释, 转移至 100 mL 容量瓶中, 稀释至刻度线, 备用。

2.1.3 标准物质

1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯标准品(纯度: 98%, 加拿大 TRC 公司)

2.1.4 样品来源

奶粉为企业自生产的含有 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的奶粉

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液制备

(1)标准储备液: 称取 100 mg(精确至 0.01 mg)1,3-二

油酸-2-棕榈酸甘油三酯标准品, 用适量的正己烷溶解, 转移至 10 mL 容量瓶中, 用正己烷定容至刻度线, 配成浓度为 10 mg/mL 的标准储备液。

(2)标准工作液: 分别精确移取 0.10、0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 mL 标准储备液分别于 10 mL 容量瓶中, 用正己烷稀释定容, 得到浓度为 0.10、0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 mg/mL 的标准工作液。

2.2.2 样品处理与测定

(1)样品准备

称取奶粉样品 0.8~2.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 40 °C 左右的温水, 待完全溶解后, 加入 3 mL 的氨水, 使溶液成碱性, 充分摇匀。放入 60 °C 水浴恒温振荡器中水浴 15 min, 水浴完成后迅速冷却至室温^[15]。

(2)样品提取

向准备好的样液中加入 10 mL 无水乙醇和 1 滴刚果红溶液, 混匀。再加入 10 mL 乙醚, 震荡 1 min, 再加入 10 mL 石油醚, 摇匀; 放入离心机, 以不低于 5000 r/min 的转速, 离心 5 min, 取上清液于旋转蒸发瓶中, 为第 1 次提取, 在剩余样液中再加入 5 mL 乙醇, 10 mL 乙醚, 10 mL 石油醚重复上述操作进行第 2 次提取。

(3)样品制备

合并上清液于旋转蒸发瓶中, 于(60±2) °C 的水浴条件下旋转蒸发, 除去溶剂, 保留残渣。加入少量正己烷, 将残渣充分溶解后转移至 10 mL 具塞刻度试管中并定容至 10 mL。取少量过有机滤膜, 待测。

2.2.3 气相色谱条件

色谱柱: DB-1HT, 30 m×0.250 mm×0.10 μm; 检测器: FID 检测器, 温度: 370 °C; 进样口: 320 °C; 分流比: 100:1; 尾吹气: 氮气 15 mL/min; 氢气: 30 mL/min; 空气: 300 mL/min; 进样模式: 恒定流量; 升温程序: 详见表 1。

表 1 升温程序
Table 1 Temperature Rise Procedure

升温速率/(°C/min)	目标温度/°C	保持时间/min
-	100	1
50	300	1
20	170	20

注: - 初始温度

2.2.4 绘制标准曲线

配制浓度为 0.10、0.25、0.50、1.00、2.50、5.00 mg/mL 的标准工作液, 按照 2.2.3 中的条件, 用气相色谱仪检测, 外标法定量。以标准工作液的峰面积为纵坐标, 以浓度为横坐标, 绘制 OPO 的标准曲线。

3 结果与分析

了长时间的等待, 提升了检测效率。

3.1 前处理优化

本研究在样品前处理时, 采取在离心管中进行离心萃取的方式对样品中的 OPO 进行提取, 不仅避免了醚溶液分不开, 或者醚溶液中含有少量水相的情况, 而且避免

3.2 标准曲线与线性方程

在线性范围 0.10~5.00 mg/mL 内, 线性回归方程为 $Y=55.9561X+0.1502$, 相关系数 r^2 为 0.99955, 大于 0.995, 说明该方法的定量测定可靠, 标准工作液色谱图见图 1。

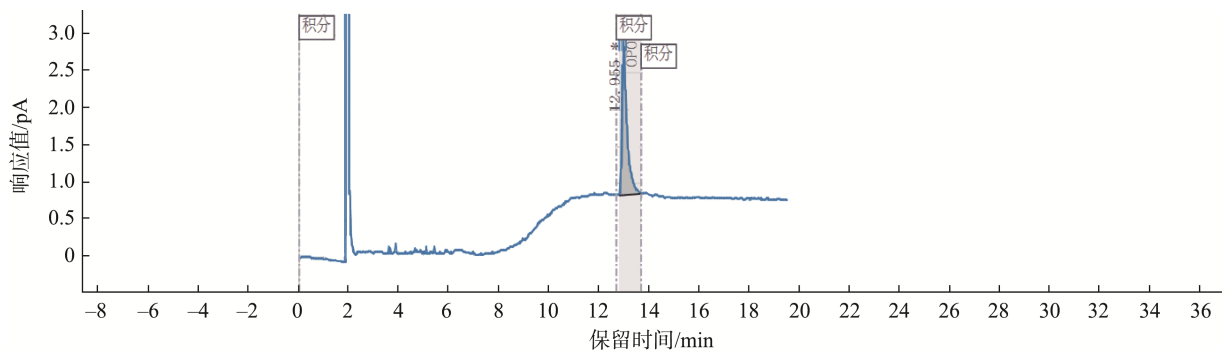


图 1 标准工作液谱图

Fig.1 Chromatogram of standard working fluid

表 2 加标回收率和相对标准偏差(n=3)
Table 2 Recovery rates of adding standard and RSDs(n=3)

样品名称	加标含量/(g/100 g)	实际测得含量/(g/100 g)	加标回收率/%	RSD/%
低浓度加标	0.329	0.333	101	0.30
中浓度加标	0.656	0.685	104	0.59
高浓度加标	0.988	0.890	90	0.92

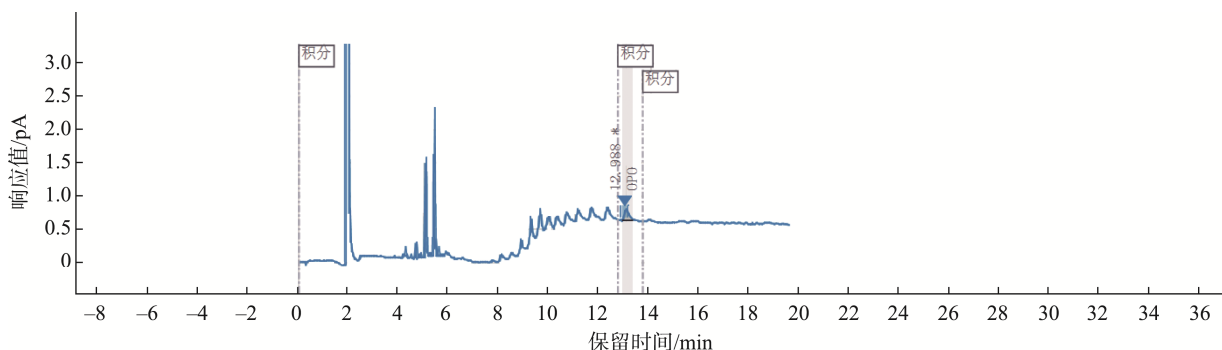


图 2 奶粉样品本底色谱图

Fig.2 Background chromatogram of of milk powder sample

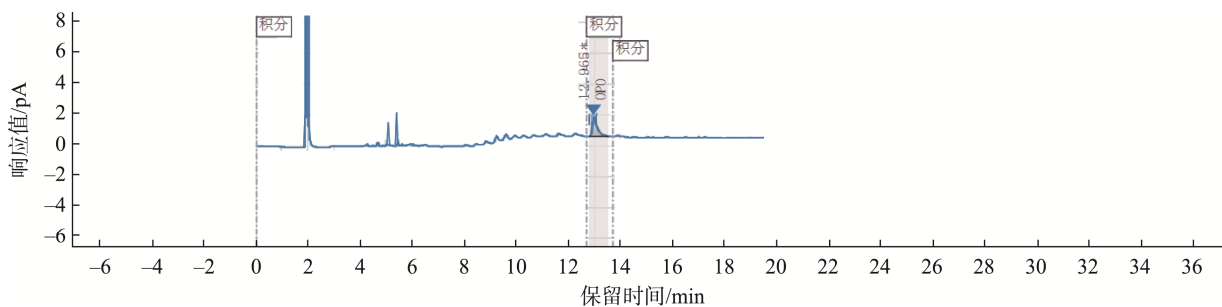


图 3 低浓度加标奶粉样品色谱图

Fig.3 Chromatogram of low concentration standard milk powder sample

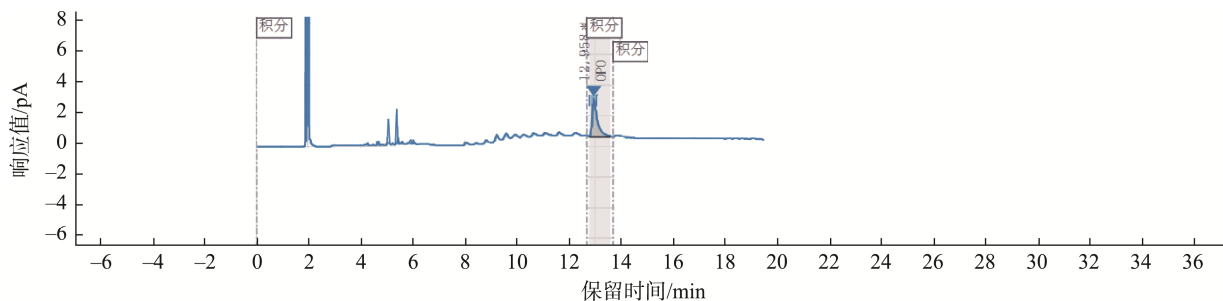


图 4 中浓度加标奶粉样品色谱图

Fig.4 Chromatogram of medium concentration standard milk powder sample

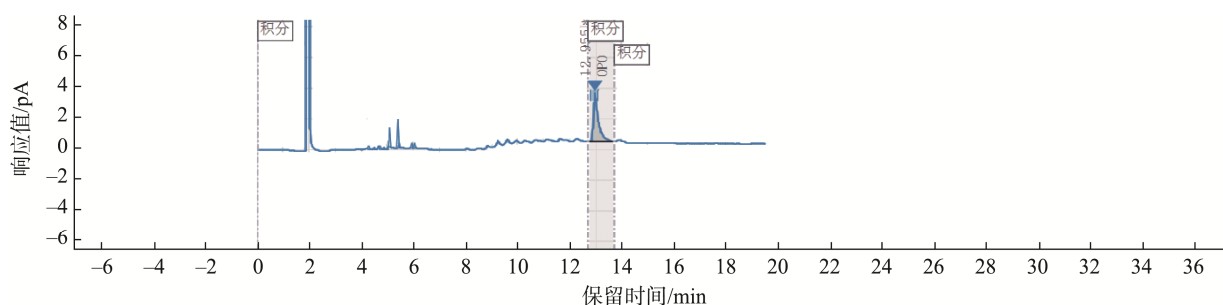


图 5 高浓度加标奶粉样品色谱图

Fig.5 Chromatogram of high concentration standard milk powder sample

3.3 回收率验证实验

按照 2.2 中的方法, 向称取好的样品中加入一定量的标准溶液, 进行样品处理并检测, 重复 3 次, 计算加标回收率。回收率如下表 2, 样品进样情况见色谱图 2~5。由表 3 及色谱图 2~5 可看出, 按上述方法对样品进行处理, 检测 OPO, 得到的峰型较好, 回收率的范围在 90%~104%之间, 3 次平行测定的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 3%, 说明方法准确度高。

3.4 重复性验证

采用上述的方法, 对同一样品采用相同加标浓度进行 10 组 20 次平行处理, 分析方法的重复性, 10 组 20 次平行检测结果的相对标准偏差为 0.0692%, 重复性良好。

4 结论与讨论

本文研究了乳粉中的 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的检测方法, 采用配备有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪对乳粉中的 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯含量进行定量分析, 实验结果表明, 在处理乳粉这样具有复杂组分的样品时, 采用本文方法进行检测, 检测峰型良好, 重复测定相对标准偏差 0.0692%, 回收率在 90%-104%之间, 准确度较高。相比于之前用毛氏抽脂瓶或者分液漏斗的方法, 会出现醚溶液分不开, 或者醚溶液中含有少量水相的情况, 本方法采用在离心管中进行离心萃取的前处理方法, 避免

了长时间的等待。本方法简便快速、准确实用, 适用于婴幼儿配方乳粉中 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的测定。

参考文献

- [1] 常桂芳, 王兴国. 我国母乳脂肪和婴儿奶粉脂肪研究现状[J]. 中国油脂, 2010, 35(4): 1-6.
Chang GF, Wang XG. Research status of breast milk fat and infant formula fat in China [J]. Chin Fat, 2010, 35(4): 1-6.
- [2] 董开衢, 单钱艺, 周静, 等. 上海市婴幼儿摄入配方奶粉的膳食营养调查[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 47-52.
Dong KQ, Shan QY, Zhou J, et al. Dietary nutrition survey of infant formula powder in Shanghai city [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(5): 47-52.
- [3] 张熙桐, 关博元, 孔繁华, 等. 人乳、牛乳、羊乳中乳清部分氨基酸组成及乳清蛋白中蛋白质二级结构的对比[J]. 食品科学, 2017, 38(24): 113-118.
Zhang XT, Guan BY, Kong FH, et al. Comparative study of amino acid composition and secondary structure of whey proteins in human milk, cow milk, and goat milk [J]. Food Sci, 2017, 38(24): 113-118.
- [4] Maduko CO, Akoh CC, Park YW. Enzymatic interesterification of tripalmitin with vegetable oil blends for formulation of caprine milk infant formula analogs [J]. J Dairy Sci, 2007, 90(2): 594-596.
- [5] 王海燕, 贾艾玲, 曹进. 人乳脂替代品 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(7): 2502-2508.
Wang HY, Jia AL, Cao Jin. Research progress on human creamer 1,3-dioleate -2- palmitate triglyceride [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(7): 2502-2508.
- [6] 韩瑞丽, 马健, 张佳程, 等. 棕榈酸在甘油三酯中的位置分布对婴儿营养吸收的影响[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(5): 80-83.

- Han RL, Ma J, Zhang JC, *et al.* Influence of palmitic acid triacylglyceride position on nutrition absorb of newborn [J]. *J Chin Cere Oils Ass*, 2009, 24(5): 80–83.
- [7] Jeung HL, Jeoung MS, Casimir CA, *et al.* Optimized synthesis of 1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich triacylglycerol via interesterification catalyzed by a lipase from *thermomyceslanuginosus* [J]. *New Biotechnol*, 2010, 27(1): 38–45.
- [8] 谷思云, 李阳, 卢蓉蓉, 等. 新型固定化 *Aspergillus oryzae* 脂肪酶催化合成 1, 3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯[J]. *食品与发酵工业*, 2016, (5): 25–30.
- Gu SY, Li Y, Lu RR, *et al.* Catalytic preparation of 1,3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol by a novel immobilized *aspergillus oryzae* lipase [J]. *Food Ferment Ind*, 2016, (5): 25–30.
- [9] 卫生部中华人民共和国卫生部第 13 号公告[J]. *中国食品卫生杂志*, 2008, 20(5): 471–476.
- Ministry of Health. Announcement No.13 of the Ministry of Health of the People's Republic of China [J]. *Chin J Food Hyg*, 2008, 20(5): 471–476.
- [10] 卫生部中华人民共和国卫生部第 1 号公告[J]. *中国食品卫生杂志*, 2010, 22(2): 164–175.
- Ministry of Health. Announcement No.1 of the Ministry of Health of the People's Republic of China [J]. *Chin J Food Hyg*, 2010, 22(2): 164–175.
- [11] 韦伟, 屠海云, 王红青, 等. Silver-ion HPLC 测定 1,3-二油酸-2-棕榈酸三酰甘油的含量[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(1): 105–109.
- Wei W, Tu HY, Wang HQ, *et al.* Silver-ion HPLC determination of 1,3-dioleate -2- palmitate triacylglycerol [J]. *J China Cere Oils Assoc*, 2014, 29(1): 105–109.
- [12] 陈盛, 陈景春, 何亚斌, 等. 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO)检测技术综述[J]. *广州化工*, 2016, 3: 26–27, 58.
- Chen S, Chen JC, He YB, *et al.* Overview of 1, 3-oleic acid-2-palmitic acid triglyceride (OPO) detection techniques [J]. *Guangzhou Chem Ind*, 2016, (3): 26–27, 58.
- [13] 马小宁, 田燕, 宋小莉, 等. 气相色谱法测定婴幼儿配方乳粉中 1,3-二油酸 2-棕榈酸甘油三酯[J]. *检验检疫学刊*, 2013, 23(6): 32–38.
- Ma XN, Tian Y, Song XL, *et al.* Determination of 1,3-dioleate 2-palmitate triglyceride in infant formula milk powder by gas chromatography [J]. *J Inspect Quarant*, 2013, 23(6): 32–38.
- [14] 程利花. 婴幼儿食品中 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯的检测方法研究[D]. 南京: 南京工业大学, 2011.
- Cheng LH. Determination of 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl triglyceride in infants and young children's foods [D]. Nanjing: Nanjing University of Technology, 2011.
- [15] 宋戈, 亢美娟, 杨金宝, 等. 正相液相色谱法测定婴幼儿配方乳粉中 1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯[J]. *色谱*, 2016, 34(3): 351–355.
- Song G, Kang MJ, Yang JB, *et al.* Determination of 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl triglyceride in infant formula milk powder by normal-phase liquid chromatography [J]. *Chin J Chromatogr*, 2016, 34(3): 351–355.

(责任编辑: 李磅礴)

作者简介



陆雪龙, 主要研究方向为乳制品检测。
E-mail: 791182797@qq.com