

嘉南藥理學院教師專題研究計畫成果報告

計畫名稱：油脂之 GC 分析

計畫編號：CNAC-89-06

執行期間：88 年 9 月 1 日至 89 年 6 月 30 日

計畫類別：個別型

整合型

主持人：郭玉萍

計畫總主持人：

協同研究：

協同研究：

摘要：油脂之 GC 分析

本實驗乃延續食用油脂之 FTIR 分析計畫，另以 GC 法來進行相同目的之分析—定量反式不飽和脂肪酸。在和標準脂肪酸甲酯混合物之 GC 圖譜比較後，可以分離、定性並定量市售油脂中各種飽和、及不飽和脂肪酸之含量，以為品保品管及飲食控制參考。實驗結果顯示，在所測樣品中 C18 脂肪酸含量佔油脂之百分之九十以上；不飽和脂肪酸含量較飽和者為高，主要為 cis-結構；而 trans-不飽和脂肪酸又以 C18:3t 之含量為最高，約佔樣品油脂中之 0.99%—1.55%，且 trans-不飽和脂肪酸總量和 cis-不飽和脂肪酸總量之比值則為 1.15%—1.83%，和 IR 實驗組中對大豆油及橄欖油組之結果相近。

關鍵字：GC, FAME, cis-, trans-, FTIR

前言：

飽和脂肪會使血液中膽固醇提高，引起心臟疾病，例如奶油(動物性)；而植物油與魚油中之不飽和脂肪則有降低心臟病風險，其相關研究(例如人造奶油)也有許多，因此一般鼓勵減少飽和油脂之食用量。但在加工過程中，常在高溫下通氫氣以使植物油保持固體，結果可能造成約 25% 之不飽和脂肪轉變為飽和脂肪，還會使約 25% 之 cis-不飽和脂肪轉變為 trans-結構。曾有研究指出不飽和脂肪中 trans 結構比 cis 結構對心臟的害處與飽和脂肪甚至不相上下⁽¹⁾，因此曾以 FTIR 藉由 trans-結構在~960 cm⁻¹ 處之 H-C=C-H 振動模式判讀 cis- 及 trans- 分別之含量⁽²⁾。但因 IR 能量較低，在定量上靈敏度有限，且對吸收峰進行積分時 baseline 之選擇常會造成因人而異的結果，尤其低含量時之訊雜比低，更容易造成誤差，因此本實驗改以 GC 方法定性定量之。

本文：

在 FTIR 之油脂分析實驗中，並未將所有脂肪酸甲酯(fatty acid methyl ester, FAME)加以分離，僅以雙鍵之 IR 特殊吸收位置為定量標準，以順、反油酸甲酯為標準參考製作檢量線，相當於以總量—包括各種不同 C 數之脂肪酸甲酯來定量 trans-結構對 cis-結構之比例。除了其中有五分之三樣品中 trans-結構含量低於偵測極限無法測得外，也不能確定信號來自於那一種脂肪酸，對於油脂系統的了解而言，較為籠統而不準確。因此大部份研究報告趨向於以層析方法來分離並定量之^(3,4)。在 Eder⁽⁴⁾的回顧報告中針對 FAME 之 GC 分析過程中，包括油脂之甲酯化、樣品注入、分離管柱、鑑定及定量等條件做了詳情探討，因此本計畫內

容仍 follow 一般標準方法⁽⁵⁾，對市售幾種食用油樣品作不飽和結構之分析。為了能以 GC 分析，油脂必須先製成甲酯衍生物以降低其氯化及分離管柱溫度。

儀器設備及步驟

本實驗所使用之設備為氣相層析儀(AutoSystem GC and autosampler)，以 FID 為偵檢器，固定相為 SP-2340 熔矽毛細管柱(Supelco #24023，Supelco, Inc., USA, 60m x 0.25 mm, 高極性)，移動相為 N₂(99.5 %，線性流速為 15 cm/min)，injector 溫度為 230 °C，管柱溫度加至 200 °C (program rate 1.3 °C/min)，detector 溫度為 210 °C，樣品注入量 1μl。

所使用之藥品包括 C14–C22 之標準脂肪酸甲酯混合物(#19050, Alltech-Associate, Inc., Deerfield, IL, USA)、前處理步驟所須反應藥品如甲醇、NaOH、BF₃ 及 solvent 等均為光譜級以上純度。

樣品前處理方法同前⁽²⁾，將約 0.2 g 市售油脂樣品與甲醇/BF₃ 行皂化反應(esterification)後，以正己烷溶解取得各油脂樣品之甲酯衍生物。經已知體積之有機溶劑適量析釋後即可注射入 GC 進行分析。配製混有各種 FAME 之參考標準品(50–500 ppm)，注射後調整最適當分離條件並和文獻值⁽⁵⁾比較確認各種化合物後，注射待分析樣品，積分各 peak 面積，normalized 而算得各樣品中 cis- 和 trans- 結構之含量。

結果與討論：

如圖一所示，(A)為標準品混合物(200 ppm)之 GC 圖譜，經和文獻資料⁽⁵⁾比較可知，從滯留時間低至高，依序沖提者分別為 C14(飽和)、C16(飽和)、C18(飽和)、C18:1t (C18 鍊上第 9-10 位置有一 trans- 雙鍵結構)、C18:1c (C18 鍊上第 9-10 位置有一 cis- 雙鍵結構)、C18:2 t (C18 鍊上第 9-10 及 12-13 位置兩雙鍵呈 trans- 結構)、C18:2c (C18 鍊上第 9-10 及 12-13 位置兩雙鍵呈 cis- 結構，以下符號依此類推)、C18:3t、C20、C18:3c、及 C22 之 FAME 化合物。含 C 數越高，所需滯留時間(t_R)越多，存在所謂 equivalent chain length (ECL) 和 t_R 之關係⁽⁶⁾。圖(B)–(D)則分別為樣品 1–3 之層析結果。和標準參考品比較可知，所選用樣品油脂中不飽和脂肪酸含量較飽和者為多，主要為 18 個碳不飽和脂肪酸，16 個碳飽和脂肪酸次之，而 18 個碳飽和脂肪酸含量相對而言卻微少。不飽和脂肪酸中又以 cis-C18 化合物為主要成分(包括一至三個雙鍵)，且 trans- 結構者含量非常微少。三種不同品牌之沙拉油樣品組成大致相同。

若積分計算各吸收峰面積大小，每一種成分之標準參考品檢量線如圖二所示，其線性相關係數 r 均大於 0.99，偵測極限為數至數十 ppm。內插取得三種樣品中各成分含量如表一、表二所示。在本實驗所取油脂樣品中 C18:1t 和 C18:2t 含量均低於偵測極限，僅測得少量之 C18:3t。以 C18:3t 含量和所有 cis-C18 之總和相比較，定義為不飽和脂肪酸油脂中 trans- 結構之總量和 cis- 結構總量之比值則分別為 1.83 %、1.76 % 及 1.15 %。若和 FTIR 實驗結果比較⁽²⁾，和大豆油及橄欖油組之結果相近(1.38 % 和 1.87 %)。

比較兩種方法，基本上均可達到 trans- 不飽和脂肪酸之定量目的。FTIR 方法測量上操作較 GC 法簡單，但因使用溶劑 CS₂ 容易吸熱揮發，常造成吸附大量水氣而使 IR 之 liquid cell 潮解，增加測量之難度及誤差；反之，GC 之實驗條件最適化較費時，但配合 autosampling 之裝置，一旦確定實驗條件，反而便利。但兩者之樣品前處理步驟都是將油脂轉換成脂肪酸甲酯，若反應不完全，將是主要誤差來源。因此減少樣品前處理步驟，將是值得發展並

探討的方向。以 GC 而言，受限於油脂氣化溫度太高，似乎不適合未來發展方向，FTIR 或是 HPLC 則將是可考慮研究的方法。

總之，以 GC 分析油脂樣品中 trans-不飽和脂肪酸含量和先前以 FTIR 光譜學法所獲得結果相近。而且可明確的顯示出油脂各種脂肪酸組成，對於了解油脂對生物體之影響將更有幫助。

誌謝詞：

感謝嘉南藥理學院之研究經費補助，亦感謝成功大學化學系陳淑慧教授之協助，使本實驗得以完成。

參考文獻：

1. 何子樂，*Chemistry*, 56(4) 1998, 123-126 and references therein.
2. 吳淑芬、許雅蓉、郭玉萍，“trans-食用不飽和油脂之 IR 光譜分析”，嘉南藥理學院 86 學年度研究計畫報告，1998.09。
3. S. H. Chen, K. C. Chen and H. M. Lieu, *J. of Chromatography A*, 849 (1999), 357-369。
4. K. Eder, *J. of Chromatography B*, 671 (1995), 113-131。
5. AOCS Official Method Ce 1C-89, update 1995。
6. K. Stransky, T. Jursik, A. Vitek, *J. High Resolu. Chromatogr.*, 20 (1997), 143。

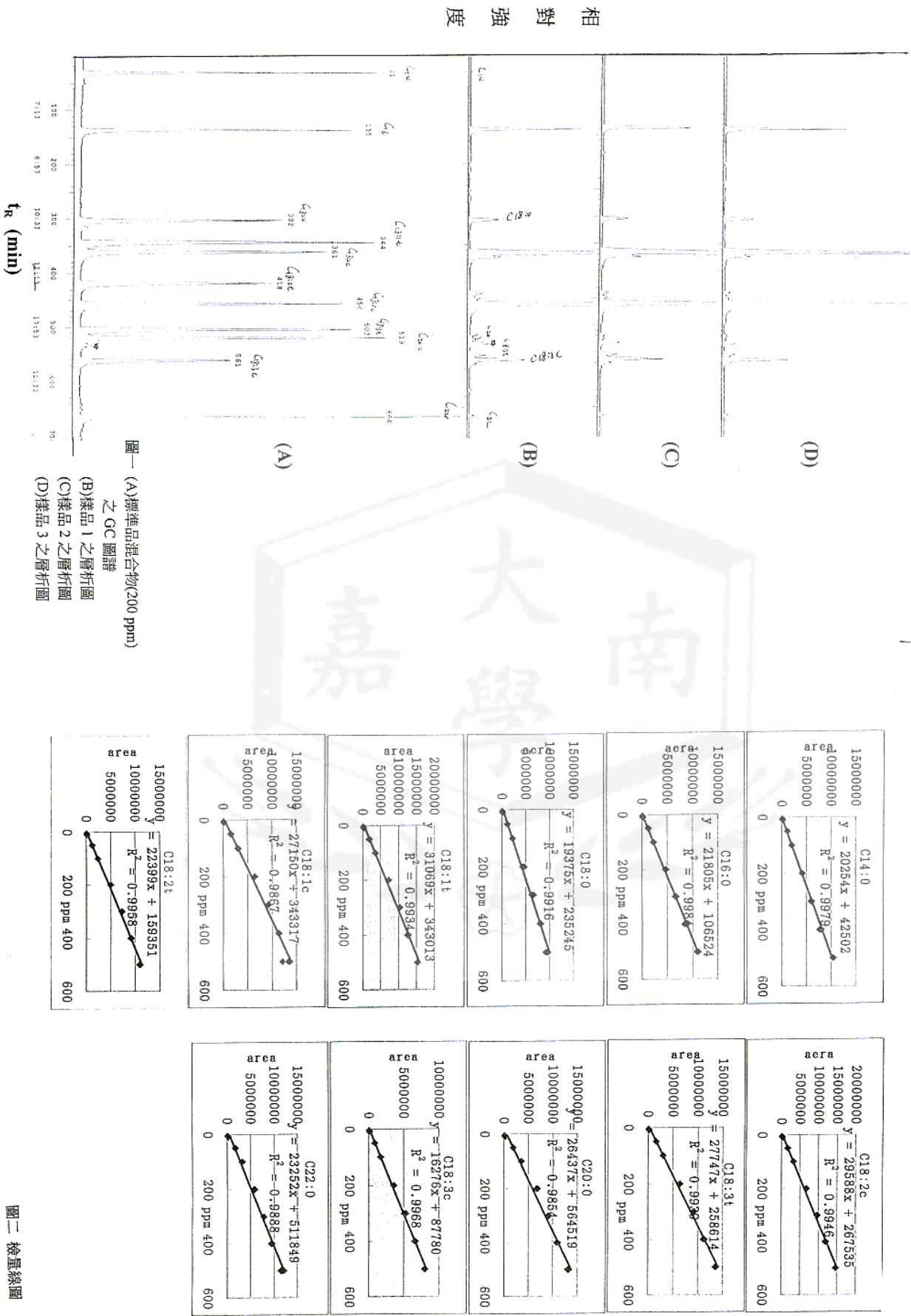
表一 油脂中各脂肪酸成分之絕對濃度(ppm)

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
C14	331.2	255.4	328.6
C16	56469.6	35007.1	54944.2
C18	92633.2	13154.9	16645.0
C18:1t	ND	ND	ND
C18:1c	172391.9	174639.9	137404.8
C18:2t	ND	ND	ND
C18:2c	285580.5	168896.8	272493.6
C18:3t	1981.0	6207.1	5311.1
C20	45450.2	2005.7	1804.4
C18:3c	48993.5	44416.6	59337.0
C22	1865.6	1468.6	2035.9

表二 食用油脂中脂肪酸成分百分比

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
C14	0.11	0.08	0.09
C16	9.84	8.08	10.51
C18	3.22	1.20	1.35
C18:1t	ND	ND	ND
C18:1c	30.94	41.99	28.77
C18:2t	ND	ND	ND
C18:2c	48.51	39.96	51.73
C18:3t	1.54	1.55	0.99
C20	0.64	0.63	0.38
C18:3c	4.86	6.20	5.94
C22	0.34	0.32	0.24
cis _T	84.31	88.15	86.44
The ratio of trans/cis _T	1.83	1.76	1.15

cis_T : total amount of cis-structure



圖一 (A)標準品混合物(200 ppm)
之GC圖譜

(B)樣品 1 之層析圖

(C)樣品 2 之層析圖

(D)樣品 3 之層析圖

圖二 檢量線圖