

植物油沥青中总甾醇的分析

叶爱英¹, 张培培², 姚 成²

(1. 常州工程职业技术学院 应用化学技术系, 江苏 常州 213164; 2. 南京工业大学 理学院, 江苏 南京 210009)

[摘要] 采用改进的 Lieberman-Burchard 比色法, 建立了测定植物油沥青中总甾醇含量的方法. 采用不加显色剂的样品溶液作空白, 甾醇含量在 0.034~0.344 mg/mL 范围内服从比耳定律, 线性良好. 测得植物油沥青中总甾醇含量在 12.1% 左右, 提取物中总甾醇含量为 74.5% 左右. 标准偏差 $s=0.060\%$, 样品回收率在 94.8%~98.1% 之间. 该法操作简单, 检验费用低, 显色反应明显, 并且能稳定 0.5 h, 适于企业化验室操作, 能对植物油沥青中高附加值组分的开发应用提供参考.

[关键词] 植物油沥青, 分光光度法, 甾醇, 甾醇酯

[中图分类号] TQ645.9⁺8 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1672-1292(2007)02-0045-04

Determination of Total Sterol in Plant Oil Pitch

Ye Aiyang¹, Zhang Peipei², Yao Cheng²

(1. Department of Applied Chemistry, Changzhou Institute of Engineering Technology, Changzhou 213164, China

2. College of Sciences, Nanjing University of Technology, Nanjing 210009, China)

Abstract The determination of total sterol content in plant oil pitch was studied by improved Lieberman-Burchard colorimetry. The sample solution without chromogenic agent was used as the blank solution, and the sterol content obeyed Lieberman-Burchard law in the range of 0.034~0.344 mg/mL with good linearity. The total content of sterol in plant oil pitch was about 12.1% and in the extraction the content of sterol was about 74.5%. The SD was 0.060%; the sample recovery rate was between 94.8% and 98.1%. This method was simple and the detection was costs low. The color reaction was distinct and color stabilization time was 0.5 hour. The method would be suitable for corporations' laboratory and offers it important reference for the application of high-value components in the pitch.

Key words plant oil pitch, spectrophotometry, sterol, phytosterol esters

0 引言

植物甾醇广泛存在于植物及植物种子中, 是植物体内构成细胞膜的成分之一, 也是多种激素及甾族化合物生物合成的前体^[1]. 通过研究发现, 植物甾醇和甾醇酯在动物体内的作用和胆固醇相当, 特别是植物甾醇酯比植物甾醇具有更佳的脂溶性^[2]. FDA 已认定植物甾醇酯为 GRAS(一般认为安全)产品, 临床观察发现, 它有明显的降血脂作用^[3].

植物油沥青是植物油皂脚经皂化、酸解、精馏分出各种脂肪酸后的残留物, 沸点高、颜色深、成分复杂, 目前主要采用焚烧处理, 没有得到充分利用. 经对植物油沥青提取物的 GC-MS 分析可知, 其中含有一定量甾醇, 主要由谷甾醇、 β -谷甾醇、菜油甾醇等组成^[4,5].

甾醇和甾醇酯的分析方法^[6-10]主要有毛地黄皂苷法、Lieberman-Burchard 比色法、薄层扫描法、气相色谱分析^[11]、高效液相色谱分析、液相色谱分析^[12]、紫外分光光度法等. 上述各种方法主要用于样品颜色较浅的体系分析, 有关植物油沥青中甾醇含量的分析研究未见报道. 本文针对植物油沥青样品的特点, 采用

收稿日期: 2006-10-08

基金项目: 江苏省农业科技攻关重大课题 (BE2006322) 资助项目.

作者简介: 叶爱英 (1971-), 女, 助教, 主要从事天然产物分析和分离的教学与研究. E-mail: ayy@nail.czie.net

通讯联系人: 姚 成 (1961-), 教授, 博士生导师, 主要从事分析和合成的教学与研究. E-mail: yaocheng@njut.edu.cn

改进的 Lieberm an-Burchard 比色法, 以不加显色剂的样品溶液作空白, 建立了测定植物油沥青中总甾醇含量的方法, 取得了较为满意的结果.

1 材料与方法

1.1 原料试剂

植物油沥青: 江苏永林油脂有限公司提供, 以植物油脚为原料制得.

β 甾醇标准液: 准确称取 β -谷甾醇标准品 50 mg 置于 50 mL 小烧杯中, 加少量乙酸酐于 60℃ 水浴中溶解, 转移入 50 mL 容量瓶中, 加乙酸酐至刻度, 浓度为 1.00 mg/mL.

沥青样品液: 准确称取 65 mg 植物油沥青于 50 mL 小烧杯中, 加少量乙酸酐于 60℃ 水浴中溶解, 转移入 50 mL 容量瓶中, 加乙酸酐至刻度, 浓度为 1.30 mg/mL.

甾醇样品溶液: 准确称取 52.2 mg 甾醇样品 (植物油沥青经提取得到) 置于 50 mL 烧杯中, 加少量乙酸酐于 60℃ 水浴中溶解, 转移入 50 mL 容量瓶中, 加乙酸酐至刻度, 浓度为 1.04 mg/mL.

正己烷、乙醇、乙酸酐、硫酸等为分析纯, β -谷甾醇由 Fluka Chemie GmbH 提供.

1.2 主要仪器

722 光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂).

1.3 方法

(1) 甾醇样品制备. 将植物油沥青用碱先进行皂化, 然后用异丙醇和苛性钾醇解, 得到的反应液放置冰箱中冷却, 析出粗甾醇制品.

(2) β -谷甾醇标准曲线的制作. 用移液管分别准确移取 0.3、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 标准溶液于 10 mL 容量瓶中, 用乙酸酐稀释至刻度, 其浓度分别为 0.030、0.050、0.100、0.200、0.300、0.400、0.500 mg/mL. 然后分别加入 10 滴浓硫酸于容量瓶中, 显色 10 min, 在 660 nm 下用分光光度计分别测定其吸光度 A , 以谷甾醇量为横坐标, 吸光度 A 为纵坐标, 绘制标准曲线.

(3) 样品中总甾醇含量测定. 准确移取 2.0 mL 配制好的沥青溶液和甾醇样品溶液分别于 10 mL 容量瓶中, 用乙酸酐定容, 加入 10 滴浓硫酸, 溶液颜色由无色经红色变成暗绿色, 稳定 10 min 后用分光光度计在 660 nm 处测其吸光度. 由回归曲线方程计算样品中总甾醇的含量.

2 结果与讨论

2.1 体系最大吸收波长的确定

将 β -谷甾醇标准溶液稀释 10 倍, 于 600~ 710 nm 范围内测定吸光度, 得到 β -谷甾醇吸收曲线, 以确定最大吸收波长. 吸收曲线如图 1 所示. 可以看出, 在 660 nm 处有最大吸收峰, 实验选择 660 nm 作为测定吸收波长, 并且在此波长范围内用样品的基质溶液作空白对样品的测定没有影响.

2.2 显色时间的选择

准确移取标准溶液 2.0 mL, 置 10 mL 容量瓶中. 加乙酸酐稀释至刻度, 摇匀. 加入 10 滴浓硫酸, 颜色由无色经红色最后变成深绿色. 考查显色时间的不同, 得到的吸光度如表 1 所示.

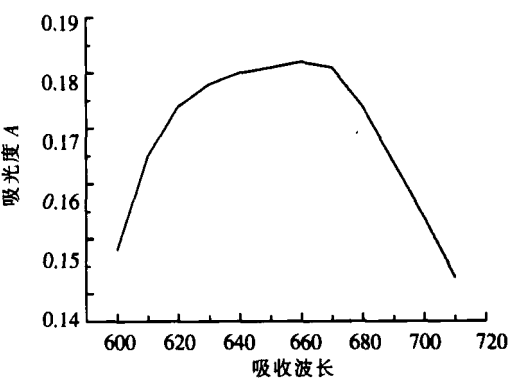


图 1 β -谷甾醇的吸收曲线
Fig.1 The absorbance curve of β -sitosterol

表 1 显色时间对吸光度的影响
able 1 Effect of stand ing tim e on absorbency

t/min	3	5	7	10	15	20	30	35
吸光度 A	0.295	0.315	0.330	0.331	0.331	0.331	0.329	0.315

由表 1 可知, 溶液显色 10~ 20 min 时, 吸光度基本不变; 大于 20 min 以上, 溶液吸光度降低. 故本实验选择显色时间为 10 min 测定.

2.3 标准曲线

按 1.3 中标准曲线制作方法绘制标准曲线如图 2 所示. 计算其回归方程为: $y = 1.705x - 0.00553$ 相关系数 $r = 0.99908$ 结果表明在 0.030~0.300 mg/mL 范围内, 线性良好, 符合比尔定律.

2.4 未知样品总甾醇含量测定

分别准确移取甾醇样品溶液、沥青样品溶液各 2.00 mL 于 10 mL 容量瓶中, 测定其吸光度, 根据回归方程计算各自样品的甾醇含量 (以 β -谷甾醇计), 结果如表 2 所示.

2.5 回收率试验

分别准确吸取甾醇样品溶液、沥青样品溶液各 2.00 mL 于 6 只 10 mL 容量瓶中, 其中 3 只容量瓶中加入甾醇标样 1.00 mL, 按 1.3 中含量测定方法测定吸光度, 由回归曲线求出总甾醇含量, 计算回收率, 结果如表 3 所示.

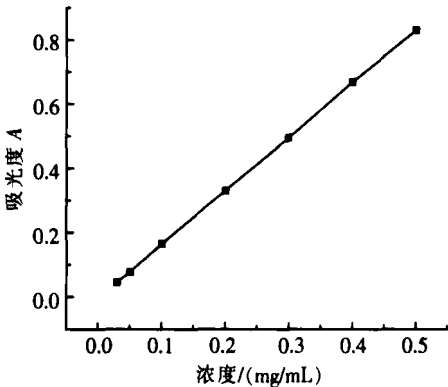


图 2 β -谷甾醇标准曲线
Fig.2 The standard curve of β -sitosterol

表 2 未知样品的测定结果
Table 2 The determination result of sample

样品名称	测定值 I /(mg/mL)	平均值 I /(mg/mL)	标准偏差 $\%$	甾醇含量 $\%$ (以 β -谷甾醇计)
甾醇样品	0.158 0.154 0.153 0.155	0.155	0.216	74.5
沥青	0.032 6, 0.031 4, 0.030 8, 0.031 4	0.031 6	0.060 3	12.1

表 3 样品中甾醇回收率测定结果
Table 3 Result for the recovery of sterol from sample

样品名称	样品量 I /(mg/mL)	加入标准量 I /(mg/mL)	加标后测定值 I /(mg/mL)	回收率 $\%$
甾醇	0.155	0.115	0.262	94.8
沥青	0.031 6	0.115	0.146	98.1

3 结论

- (1) 通过分析可以看出, 分光光度法测定沥青中总甾醇含量, 样品的呈色反应明显, 显色稳定时间达 20 min, 以不加显色剂的样品溶液作空白, 能得到较好的精密度和回收率. 该方法操作简单, 检验费用低, 适合企业化验室快速检验, 以便及时调整工艺, 使产品稳定生产.
- (2) 由分光光度测定得知, 植物油沥青中总甾醇含量达到 12.1%, 提取物中甾醇含量为 74.5%.
- (3) 采用改进的 Lieberman-Burchard 的分光光度法测定样品中甾醇含量, 相对标准偏差为 0.0603% ~ 0.216%, 回收率为 94.8% ~ 98.1%, 证明此方法准确、可靠.
- (4) 分光光度法测定植物油沥青的甾醇含量, 对植物油沥青中高附加值组分的开发应用能够提供参考.

[参考文献] (References)

[1] 曹栋, 裴爱永. 植物油中甾醇的快速分析 [J]. 食品与发酵工业, 1989(6): 60-62
Cao Dong, Q i A iyong. Quick analysis of sterol in vegetable oil [J]. Food and Fermentation Industries 1989(6): 60-62 (in Chinese)

[2] Wester I. Fat composition for use in food: USA, 6162483 [P]. 2000-12-19.

[3] 郭玉宝, 裴爱永. 植物甾醇酯降血脂作用的研究 [J]. 中国油脂, 2003, 28(9): 49-51.
Guo Yubao, Q i A iyong. Study on blood-fat-lowering effect of phytosterol esters [J]. China Oils and Fats 2003, 28(9): 49-51. (in Chinese)

[4] 姚成, 叶爱英. 一种从植物油沥青中提取植物甾醇乙酸酯的方法: 中国, CN1763068 [P]. 2006
Yao Cheng, Ye A iyong. Extract of phytosterol acetates in plant oil pitch: China, CN1763068 [P]. 2006 (in Chinese)

[5] 姚成, 叶爱英, 徐永林, 等. 一种从植物油沥青中提取植物甾醇的方法: 中国, CN 1807444A [P]. 2006
Yao Cheng Ye A i y i n g , Xu Y o n g l i n , e t a l . E x t r a c t o f p h y t o s t e r o l i n p l a n t o i l p i t c h C h i n a C N 1807444A [P]. 2006 (i n C h i n e s e)

[6] 高瑜莹, 裘爱永, 潘秋琴, 等. 植物甾醇的分析方法 [J]. 中国油脂, 2001, 26(1): 25- 28
G a o Y u y i n g Q i u A i y o n g P a n Q i u q i n , e t a l . T h e a n a l y s i s o f p h y t o s t e r o l s [J]. C h i n a O i l s a n d F a t s 2001, 26(1): 25- 28 (i n C h i n e s e)

[7] Knights B A . I d e n t i f i c a t i o n o f p l a n t s t e r o l s u s i n g c o m b i n e d G L C M a s s s p e c t r o m e t r y [J]. J G a s C h r o m a t o g r 1967(5): 273

[8] 王三永. 含脂肪食品中植物甾醇的气相色谱法测定 [J]. 分析测试学报, 2001, 20(4): 42- 43
W a n g S a n y o n g G a s c h r o m a t o g r a p h i c d e t e r m i n a t i o n o f p l a n t s t e r o l s i n f a t t y f o o d [J]. J o u r n a l o f I n s t r u m e n t a l A n a l y s i s 2001, 20(4): 42- 43 (i n C h i n e s e)

[9] 周宝兰. 油脂中无甲基甾醇定量分析方法的研究: 薄层色谱—氯胺 T 浓硫酸比色法 [J]. 中国粮油学报, 1993, 8 (4): 31- 35
Z h o u B a o l a n S t u d y o n t h e m e t h o d f o r q u a n t i t a t i v e a n a l y s i s o f d e m e t h y l a t e s t e r o l i n r e f u s e o f r e f i n e d o i l a t h i n l a y e r c h r o m a t o g r a p h y (T L C) - c o b r i n e t r i c m e t h o d [J]. J o u r n a l o f t h e C h i n e s e C e r e a l s a n d O i l s A s s o c i a t i o n , 1993, 8(4): 31- 35 (i n C h i n e s e)

[10] Careri M, Elvirio L, Mangia A. L i q u i d c h r o m a t o g r a p h y - U V d e t e r m i n a t i o n a n d l i q u i d c h r o m a t o g r a p h y - a t m o s p h e r i c p r e s s u r e c h e m i c a l i o n i z a t i o n m a s s s p e c t r o m e t r i c c h a r a c t e r i z a t i o n o f s i t o s t e r o l a n d s t i g m a s t e r o l i n s o y b e a n o i l [J]. J o u r n a l o f C h r o m a t o g r a p h y A , 2001, 935: 249- 257

[11] Plank C. A n a l y s i s o f f r e e a n d e s t e r i f i e d s t e r o l s i n v e g e t a b l e o i l m e t h y l e s t e r s b y c a p i l l a r y G C [J]. H R C , 1993, 16(8): 483- 490

[12] Abidi S. L - c h r o m a t o g r a p h i c a n a l y s i s o f p l a n t s t e r o l i n f o o d s a n d v e g e t a b l e o i l s [J]. J C h r o m a t o g r A , 2001, 935(2): 173- 201

[责任编辑: 严海琳]

日本 N h o n K a i s u i 公司来动力工程学院访问

4 月 24 日, 应我校动力工程学院水处理研究所的邀请, 日本 N h o n K a i s u i 公司 (海水公司) 环境事业部海外担当 营业部长东勇 (I S A M U A Z U M A) 先生、环境事业部制造部长四元利夫 (T O S H I D Y O T S U M O T O) 先生等一行四人到我校动力工程学院参观访问, 双方对国内外除氟、除砷水处理材料的研究进展、离子交换膜与水处理产品的开发、销售及其工程设计经验进行了交流, 对进一步合作、共同开发高性能除氟材料及其工程化应用的可行性进行了探讨, 对建立长期有效的定期的交流机制达成了初步的意向. 东勇部长作了“ R E A D 系列树脂在水处理行业中的应用”的学术报告. 动力工程学院赵孝保院长、候小刚书记等有关院领导、环境工程系张显球主任及相关专业的师生 200 余人参加了交流.



日本海水公司专家与我校教师的合影