

油脂氧化常用检测方法及其评价

韩玉莲 卫生部食品卫生监督检验所 (100021)

现普遍认为,油脂氧化则导致食品变质,食品质量的好坏取决于脂质氧化的程度。因此,一些评价油脂氧化程度的分析方法和标准,在食品卫生学中具有相当重要的意义。现就常用的油脂氧化检测方法及其评价作一简要介绍。

1 油脂氧化产生的一般机理

从食品脂质氧化的观点看,主要是食品中脂质的不饱和脂肪酸尤其是油酸、亚油酸和亚麻酸吸收空气中的氧而进行所谓的自动氧化反应,产生脂肪酸氢过氧化物以及由其分解、聚合而生成的一系列氧化产物。〔1、2〕如图1所示。此时油脂氧化并呈现毒性。

2 油脂氧化常用研究方法及其评价

总的来讲,用于研究油脂氧化的方法可分为以下三类。(1)感官检验。(2)化学方法:a.油脂氧化第一生成物氢过氧化物或过氧化物的测定;b.过氧化物分解产物的测定;(3)物理方法。由于脂质氧化过程的复杂性,通常认为选择单一方法进行油脂氧化的评价是不全面和不可靠的。因此,常常采用多种方法,检测、分析、从不同的角度进行油脂氧化程度的评价。

2.1 感官检验

油脂因氧化而失去了原来固有的色、香、味,产生了令人不愉快的异味。这种异味认为是氧化反应的分解产物蓄积的结果。所以首先对油脂要进行感官鉴定,主观评价。感官鉴定虽然方法简单,但结果因人的误差而重现性差,还必须以化学方法测定,以确证感官检验。

2.2 化学方法

2.2.1 氢过氧化物或过氧化物的测定

油脂氧化反应过程中的第一个主要产物就是氢过氧化物(见图1)。氢过氧化物分子中的氧具有较强的氧化能力,利用这一性质可检测其形成的量,它的定量测定对评价油脂氧化程度提供最基本的信息。具体的检测方法有如下几种。

2.2.1.1 硫氰酸铁法

硫氰酸铁法最初由 Lips〔3〕创立,后被 Stine〔4〕

改进。该法的原理是亚铁离子可被氢过氧化物氧化成高铁离子,其反应为 $Fe^{2+} + 2H^+ + O \longrightarrow Fe^{3+} + H_2O$, 然后加入硫氰酸铵与 Fe^{3+} 形成红色的硫氰酸铁。通过比色即可测出氢过氧化物的含量,该法虽然简便,易于掌握,但因有氧气的存在,常发生明显的干扰,而使结果不可靠。该法仅适用于奶粉中脂质过氧化物的测定。Stine 用无离子表面活性剂破坏乳化改进了硫氰酸铁法。该法对乳及乳制品中脂肪过氧化物的测定具有重现性好和灵敏度高等优点。

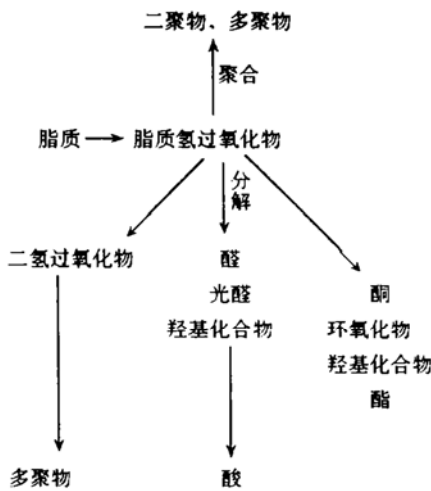


图1 脂质氢过氧化物的分解历程

2.2.1.2 碘量法 早在1932年, Wheeler〔5〕的碘量法已被使用于油脂中过氧化物的测定,随后又进行了多次地改进。〔6、7、8〕该法的原理是油中的过氧化物与碘化钾作用产生碘 I_2 , 然后通过测定 I_2 的含量间接求出过氧化物的含量。 I_2 的测定方法主要有滴定法和比色法,而比色法具有较高的灵敏度。Barthel〔9〕用 Wheeler、Sully 和 Stine 三种方法测量了五种油的过氧化值。认为 Wheeler 法同 Sully 法在实验条件差别不大时,得到较近似的结果。

低。原因是 Sully 法的实验条件可促使 15% 的氢过氧化物分解。Sully 的硫氰酸铁法测定值高于碘量法, 这是因为过氧化酰基二次反应的结果。

为了克服初期氧化阶段测定用量多及碘滴定其终点判断困难等缺点, 提出了多种改进的微量测定法。Swobda 和 Lea 报道的碘量法所需样品为 1 ~ 50mg, 即能达到微量测定范围。Fiedler^[10] 为了测量过氧化值在 1mg/Kg 以下油脂, 改良了 AOCS^[11] 标准法, 即使用一个铂电极在标准电位下滴定还原释放的碘的电位差滴定法。该法测得过氧化值范围在 0.06 ~ 20mg/Kg。AOCS 法与电位差滴定法测定 POV 比较见表 1。

由表 1 可知, 电位差滴定法有较高的灵敏度, 对测量脂质初期氧化是很方便的。原节子和户谷^[12、13] 在 Fiedler 方法的基础上进一步改进可测定各种脂质中 $(3 \sim 5) \times 10^{-2}$ 的过氧化物。该法在加入 0.3ml 饱和碘化钾后的滴定液必须在冰水中冷却, 这样能得到良好的精确度。

表 1 AOCS 法和电位差滴定法测定 POV 的比较

样 品	AOCS 法		电位差法	
	POV(meq/Kg)	POV(meq/Kg)	变异系数	
大豆 (除臭)	0.35 ~ 0.45	0.309(5) [△]	3.8	
调料用固体脂	0.40 ~ 0.50	0.369(3)	2.7	
玉米油	0.43 ~ 0.49	0.441(4)	1.0	
大豆油 (脱色)	0.55 ~ 0.65	0.563(5)	1.5	
菜籽油	0.80 ~ 0.90	0.830(3)	1.3	
大豆油 (磷酸处理)	2.06 ~ 2.16	1.885(5)	0.44	
大豆油 (粗制品)	3.98 ~ 4.08	3.842(5)	0.39	
菜籽油	3.61 ~ 3.71	3.574(5)	0.29	
花生油	12.30 ~ 12.40	11.40(5)	0.38	
菜籽油	14.53 ~ 14.63	13.30(4)	0.27	

* 为 2 次测定平均值, 由于指示剂对滴定终点影响, 使测定值有一定变化范围

△ 括号内的数字为测定次数

2.2.1.3 高压液相色谱法 (HPLC)

近年来, 高压液相色谱 (HPLC) 法也已用于测量油脂中的过氧化物。由 Chan^[14] 等人用 HPLC 分析亚油酸甲基过氧化物以来, 多是关于过氧化物的定性报道, 定量测定报告不过 2—3 个。原节子^[15] 等人用非选择型 RI 检测器测定自动氧化脂肪酸中乙基位过氧化物, 提高了分析的灵敏度。HPLC 法与电位差滴定法测定的 POV 十分一

致 (见表 2)。

表 2 HPLC 法和电位差滴定法测定 POV 比较

样 品	POV(meq/Kg)	
	HPLC	电位差滴定法
油 酸	50	42.3
亚油酸	250	227.0
橄榄油	1572	1535.9
红花油 A	28	30.9
红花油 B	1787	1770.9
亚麻仁油	2080	2046.2

再者, Park 和 Matsushita^[16] 用 UV 检测器测定自动氧化植物油中的过氧化物, 其定量范围在 10 ~ 50meq/Kg。但样品中过氧化物含量低时不能充分分离, 其检测下限为 0.1 μ eq。对 HPLC 法进行必要地改进将成为氧化油脂同时定性、定量测定发展的方向。

2.2.2 脂质过氧化物分解产物的测定

脂质过氧化物是极不稳定的, 进一步分解形成许多短链的羰基化合物。对这些分解产物的检测被认为是最能有效地反映油脂氧化水平。但因对这些分解产物的化学性质尚未完全明了, 加之分解产物的相对成分因不同的多不饱和和脂肪酸而异, 这就为油脂氧化产物的系统分析带来一定的困难。业已证明, 目前已建立的对某些分解产物的检测方法是研究油脂氧化重要而有效的手段, 并得到越来越广泛的应用。

2.2.2.1 硫代巴比妥酸值的测定 (TBA 法)

TBA 法是研究油脂氧化程度的一个较简便的方法, 于 30 年代创立。其原理如图 2 所示。在酸性条件下 2 分子 TBA 与过氧化物的分解产物丙二醛 (MDA) 起缩合反应, 生成红色化合物, 进行比色或用荧光定量。

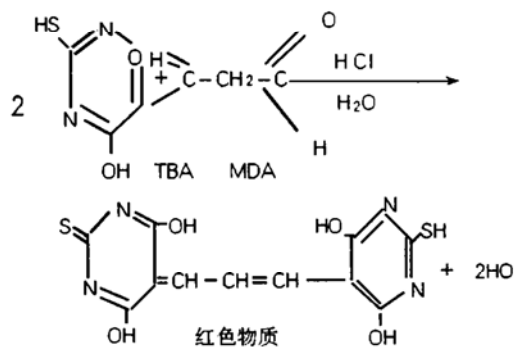


图 2 TBA 的显色结构

Kohn^[17]首先应用该法测量脂质氧化产物,后来发现许多问题。^(18、19、20)该生成物在532nm、450nm、432nm都有吸收。Marcuse和Jahanncsn等人同时也研究了TBA与各种类型醛的反应,发现TBA和饱和醛、单烯醛、甘油醛、羟甲基糠醛等反应生成在波长450nm有最大吸收的黄色化合物,而且在450nm和532nm测得值同样表明油脂氧化的程度。但532nm一般作为丙二醛的特征吸收波长。Dahle^[21]在对丙二醛形成机理的研究中指出,由含三个或较多双键的脂肪酸产生的TBA,颜色随脂肪酸不饱和程度的增加而加深。表明不饱和脂肪酸过氧化物在 β 、 γ 结构的过氧基可能经过环合最后形成了丙二醛,因此过氧化物仅可以从含三个或较多双键脂肪酸中产生,了解试验样品的结构特征是有必要的。Tarlodgis^[22]对TBA试验也作了评价,认为酸、热及氧化剂对TBA试剂有影响。Yu和Simhuber^[23]在鱼油的试验中也发现,在加热的过程中,TBA试剂在试管的边缘形成了一层薄的油膜,因为薄膜可以进一步地氧化,所以可能是引进误差的原因。

2.2.2.2 总羰基化合物的测定 油脂中羰基化合物的测定方法文献报道很多。^(22~33)目前广泛使用的方法是比色法和气相色谱法。Henick(1954)介绍的2,4-二硝基苯肼(DNPH)比色法,虽然非常灵敏,但对过氧化物含量较高的油脂测其羰基含量则有许多缺点。在羰基测量的条件下(使用三氯醋酸、60℃水浴)氢过氧化物分解成羰基化合物,使结果高于油脂中实际的羰基化合物的含量。Mizuno和Chipault提出了一个改进方法。在羰基测定之前,在苯和甲醇溶剂中用氯化亚锡还原氢过氧化物为非羰基化合物。SnCl₂虽然不影响反应,羰基化合物也不损失,但该法也相当令人讨厌。因为羰基化合物必须用苯从还原混合物中提取。同年,Florit找到一个用控制pH和低温减少氢过氧化物干扰的方法,但该法需20hr。Tochiyaki等人最近报道了一个在羰基测定之前,用三苯膦(TP)还原氢过氧化物的简单方法。由于使用TP作为还原剂,还原时间由Mizuno's方法2小时,缩短为30min。而且还原混合物可直接应用于后面的测定。Johnson和Hammond在70年代报道了三氯苯肼比色法,该法虽然能定量测定氧化油脂中毫微克水平的羰基,但如作为氧化油脂的常规分析则耗时间。Pamela在Hammond方法的基础上研究了三氯苯肼气相色谱法。即油脂用环己烷:乙醚(99:1)溶解、通过弗罗里土(Florisil)柱除去碳氢化合物的干扰,再用乙醚提取,提出物与三氯苯肼在弗罗里土柱上反应,然后在具有10-m涂以SE30的毛细管柱气相色谱仪上进行

测定。该法的灵敏度为0.1ppm,是近年来广泛使用而且很有前途的方法。

2.3 物理方法

2.3.1 气相色谱(GLC)法

Horvat^[34]和Selke^[35]研究了用GIC法分离脂质氧化生成物并同时检测脂质自动氧化初期短链碳氢化合物的种类。利用这一方法可了解脂质过氧化状态及生成的戊烷同氧化油脂的官能团测定结果有良好的相关性,认为是研究油脂氧化的简便方法。

2.3.2 共轭二烯法(CDHP)

St. Angelo^[36]认为共轭二烯(CDHP)法,是测量油脂氧化程度比较广泛使用的方法之一。但文献中仅有少数资料详细报道。St. Angelo等人通过测量过氧化值和二烯氢过氧化物,研究了花生油的自动氧化动态,提出CDHP法比测量过氧化物简单、快速,不需化学反应,适用于含多不饱和脂肪酸油脂氧化程度的分析。

2.3.3 其他方法

除上述方法外,还有红外光谱法、极谱法和折射法等等。这些方法均在某种程度上反映油脂氧化的水平。

3 小结

油脂氧化是处在动态变化的体系中,本文所介绍的测定方法和测定值是指脂质氧化反应中所测量的某特定的化合物或有共性的化合物。在选用油质氧化程度的定量测定方法时,应充分考虑其测定方法的选择性、灵敏度、重现性、操作的繁简等条件。

4 参考文献

- 1 J. I. Gray, Measurement of Lipid Oxidation: A Review. J. Am. Oil Chem Soc 1978;55(6):539—546
- 2 Labuza, T., CRC Crit. Rev. Food Technol 1971;2:355—359
- 3 Lips, A., R. A. Chapman, W. D. Mc Farlane. Oil Soap 1943;20:240—244
- 4 Stine, C. M., et al J. Dairy Sci 1954;37:202—205
- 5 Wheeler, D. H. Oil Soap 1932;9:89—92
- 6 Swaboda, P. A. T. C. H. Lea. Chem Food Agric 1952;3:586—588
- 7 Hamm, D. L, et al. The Determination of Proxides by the Stamm Method. J. Am. Oil Chem Soc 1965; 49: 920—923

(下接封三)