

大豆粗脂肪酸值的不同提取方法与国标法的比较

陈晨^{1,2,3}, 曲本芳⁴, 程树维^{1,2,3*}

(1. 大连华正检验有限公司, 大连 116001; 2. 国贸食品科学研究院有限公司, 北京 102209; 3. 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 中粮营养健康研究院有限公司, 北京 102209; 4. 中国华粮物流集团北良有限公司, 大连 116601)

摘要: 目的 对大豆粗脂肪酸值的不同提取方法与国标法 GB 5009.229—2016《食品安全国家标准食品中酸价的测定》进行比较。**方法** 本研究分别采用常温浸提法、有机溶剂振荡法和超声波辅助法检测大豆粗脂肪酸值, 并与国标法中要求的索氏抽提法进行比较。**结果** 3种提取方法测得的大豆粗脂肪酸值与国标法基本一致, 且提取速度较国标的索氏抽提法明显加快, 其中, 超声波辅助法提取时间最短, 仅需要 20 min; 样品量增大, 常温浸提法提取效率提升更显著。**结论** 粮油企业日常检测根据样品批量大小选择适合的提取方法, 可缩短时间、降低成本、提高效率。

关键词: 大豆; 提取方法; 粗脂肪酸值

Comparison of different extraction methods of soybean crude fatty acid value with national standard method

CHEN Chen^{1,2,3}, QU Ben-Fang⁴, CHENG Shu-Wei^{1,2,3*}

(1. Dalian Huazheng Inspection Co., Ltd., Dalian 116001, China; 2. International Trade Food Science Research Institute Co., Ltd., Beijing 102209, China; 3. Beijing Key Laboratory of Nutrition Health and Food Safety, Nutrition & Health Research Institute, COFCO Corporation, Beijing 102209, China; 4. China Huiliang Logistics Group Beiliang Co., Ltd., Dalian 116001, China)

ABSTRACT: Objective To compare the different extraction methods of soybean crude fatty acid value with the national standard method GB 5009.229-2016 *National Standard for Food Safety-Determination of Acid Value in Food*. **Methods** The room temperature extraction method, organic solvent oscillation method, and ultrasonic assisted method were used to detect the crude fatty acid value of soybeans, and compared with the Soxhlet extraction method required by the national standard method. **Results** The crude fatty acid value of soybeans measured by 3 kinds of extraction methods is basically consistent with the national standard method, and the extraction speed is significantly faster than the Soxhlet extraction method in the national standard. Among them, the ultrasonic assisted extraction method has the shortest extraction time, only requiring 20 minutes; as the sample size increases, the extraction efficiency of the room temperature extraction method improves more significantly. **Conclusion** Daily testing of grain and oil enterprises can shorten time, reduce costs, and improve efficiency by selecting suitable extraction methods based on sample batch size.

KEY WORDS: soybean; extraction method; crude fatty acid value

0 引言

大豆含有丰富的优质蛋白质和脂肪, 是主要油料储存粮种之一。在储存保管过程中, 易出现发热、生霉等现象, 造成品质劣变进而导致加工制品质量下降。粗脂肪酸值是反映大豆品质优劣的一项重要指标^[1-3], 也是 GB/T 31785—2015《大豆储存品质判定规则》中判定宜存与否的重要依据, 通过测定粗脂

肪酸值, 确保储存大豆品质宜存, 控制品质劣变速度在合格范围内^[4-7]。GB 5009.229—2016《食品国家安全标准食品中酸价的测定》要求先采用索氏抽提法提取大豆粗脂肪, 再以冷溶剂指示剂滴定法测定粗脂肪酸值。索氏抽提法具有提取充分、重现性好等优点^[8]; 但该方法也存在不足, 不仅耗时过长^[9], 步骤烦琐, 而且需要连接上下水, 对场地有特殊要求, 批量检测时消耗大量人力物力。因此, 粗脂肪酸值测定时, 采用快速、

* 通信作者: 程树维, 高级工程师, 主要研究方向: 粮油食品检测。E-mail: chengshuwei@126.com

*Corresponding author: CHENG Shu-Wei, Senior Engineer, Dalian Huazheng Inspection Co., Ltd., Dalian 116001, China. E-mail: chengshuwei@126.com

准确、操作简便的提取方法对于粮油企业日常监测储存大豆品质尤为重要。本研究采用常温浸提、有机溶剂振荡和超声波辅助3种方法提取并测定大豆粗脂肪值,考察了每种方法的精密度,并与国标法 GB 5009.229—2016 的测定结果进行比对验证其准确度。通过不同提取方式的综合分析比较,探寻出最佳的提取方法,保证分析结果的准确性和可靠性,为粮油企业合理选择大豆粗脂肪酸提取方法提供科学依据^[7,10-11]。优化改进大豆粗脂肪酸值测定的提取方法,有助于实现国家和地方粮食储备库短期内快速判定在库大豆品质是否宜存的技术需求,也对我国国产大豆轮换、仓储保管企业规范管理起到重要促进作用^[12-14]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

原料:所选样品为国产东北大豆。

无水乙醚(分析纯)、异丙醇(分析纯)、石油醚(沸点30~60℃,分析纯)、乙醇(95%,分析纯)(天津科密欧化学试剂有限公司);0.1 mol/L 氢氧化钾标准溶液(分析纯,深圳博林达科技有限公司);酚酞(分析纯,天津致远化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

DHG-9240A 电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);AL204 分析天平(感量0.1 mg,上海本昂科学仪器有限公司);RE-52A 旋转蒸发器(深圳亚荣仪器有限公司);HY-4 振荡器(常州凯航仪器有限公司);SHT-60AL 超声仪(深圳市深华泰超声洗净设备有限公司);HH-8 恒温水浴锅(常州亿能实验仪器厂);索氏抽提器(吉高实验设备有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

将适量大豆样品进行除杂,用锤式旋风磨粉碎,进行浸提测定。

1.3.2 常温浸提法

将待测大豆粉碎样品于磨口塞瓶中,加入2倍样品体积的石油醚(30~60℃),于通风橱内室温条件放置8~12 h,浸提后的提取液用滤纸过滤至恒重的锥形瓶中,在水浴锅上蒸发溶剂近干,最后将锥形瓶置于电热鼓风干燥箱中于(103±2)℃条件下烘至恒重^[10-11,15]。

1.3.3 超声波辅助法

称取适量的大豆样品放入锥形瓶中,以石油醚为提取剂,设置超声波频率为50 kHz、超声波功率为300 W、料液比为1:5(g/mL)、提取温度30℃、提取时间20 min,之后取出锥形瓶静置3~5 min,提取液用滤纸过滤至恒重的锥形瓶中,在水浴锅上蒸发溶剂近干,最后将锥形瓶置于电热鼓风干燥箱中于(103±2)℃条件下烘至恒重^[16-18]。

1.3.4 有机溶剂振荡法

将待测大豆粉碎样品于具塞锥形瓶中,加入样品体积2倍的石油醚^[10],加塞振荡5 s后,打开塞子放气,再盖紧瓶塞置于往返式振荡器上振荡2 h。振荡后取下锥形瓶,静置3~5 min,过滤,弃去最初几滴滤液,收集剩余全部滤液^[19-20]于锥形瓶中,在水浴锅上蒸发溶剂近干,最后将锥形瓶置于(103±2)℃电热鼓风干燥箱中烘至恒重^[21-22]。

1.3.5 索氏抽提法

参照 GB 5009.229—2016 规定的索氏抽提法。将大豆粉碎样品装入索氏提取装置中,以石油醚(30~60℃)为提取剂,水浴温度控制在50~60℃,回流速度至少3滴/秒,沸腾适度,无

暴沸现象。抽提6~8 h后回收石油醚,然后在水浴锅上蒸发溶剂近干,最后将锥形瓶置于电热鼓风干燥箱中于(103±2)℃条件下烘至恒重^[23-24]。

4种方法提取粗脂肪后根据 GB 5009.229—2016 第一法冷溶剂指示剂滴定法测定大豆粗脂肪酸价。

1.3.6 大豆粗脂肪酸值计算

粗脂肪酸值计算见式(1)

$$X_{AV} = \frac{(V - V_0) \times c \times 56.1}{m} \quad (1)$$

式中: X_{AV} ——粗脂肪酸价(mg/g); V ——消耗KOH标准滴定溶液的体积(mL); V_0 ——空白消耗KOH标准滴定溶液的体积(mL); c ——KOH标准滴定溶液的浓度(mol/L); m ——试样油的称样量(g);56.1——KOH的摩尔质量(g/mol)。

酸值≤1 mg/g,计算结果保留2位小数;1 mg/g<酸值≤100 mg/g,计算结果保留1位小数;酸值>100 mg/g,计算结果保留至整数位。

根据 GB 5009.229—2016 的要求对检测结果精密度做评估,当酸值<1 mg/g,在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%;当酸值≥1 mg/g,在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的12%。

1.4 数据处理

20份国产大豆样品,每份浸提2次,测定结果表示为平均值,其中,精密度分析时,取一份样品重复6次浸提,测定结果表示为平均值,采用 Excel 2017 进行相对偏差及变异系数数据分析及制表。

2 结果与分析

2.1 大豆粗脂肪酸值不同提取方法的分析比较

2.1.1 精密度分析

采用常温浸提法、超声波辅助法、有机溶剂振荡法提取大豆样品油脂,重复6次,之后测定粗脂肪酸值,并进行精密度分析,结果见表1。采用常温浸提法、超声波辅助法、有机溶剂振荡法检测大豆粗脂肪酸值结果基本一致,6次测定平均值在0.96~0.97 mg/g之间,且平行性较好,其中,超声波辅助法、有机溶剂振荡法检测大豆粗脂肪酸值的相对标准偏差分别为2.73%和2.94%,张明先等人^[7]采用有机溶剂振荡法、超声波辅助法检测大豆粗脂肪酸值的相对标准偏差不大于3%,两者结果基本一致。本研究建立的3种提取方法提取大豆粗脂肪酸值的相对标准偏差均不大于5%,精密度较高。变异系数(coefficient of variance, CV)在2.7%~3.5%之间,符合 GB/T 27404—2008《实验室质量控制规范食品理化检测》中对精密度的要求,即当被测组分含量小于1%时,变异系数范围为2.7%~3.8%。实验结果表明3种方法所测得的结果波动相对较稳定,具有良好的重复性^[21,25]。

2.1.2 准确度分析

利用常温浸提法、超声波辅助法、有机溶剂振荡法和国标中要求的索氏抽提法分别对20份国产东北大豆^[26]样品进行粗脂肪提取,然后测定粗脂肪酸值。常温浸提法测定粗脂肪值为0.46~1.5 mg/g;超声波辅助法测定粗脂肪值为0.45~1.5 mg/g;有机溶剂振荡法测定粗脂肪值为0.46~1.6 mg/g;索氏抽提法粗测定脂肪值为0.49~1.7 mg/g。其中,索氏抽提法提取量较其他3种提取方法偏高,与张明先等人^[7]研究的索氏抽提法所得粗脂肪酸值稍高于其他提取法的结论相似,原因可能是由于

长时间的高温提取, 导致部分油脂分解而产生较多的游离脂肪酸^[24,27]。常温浸提法、超声波辅助法、有机溶剂振荡法检测大豆粗脂肪值的结果与国标中要求的索氏抽提法提取法检测大豆粗脂肪值的结果相对相差范围分别是 3.1%~14.6%、3.1%~14.1%、4.9%~6.6%, 详见表 2。其中, 常温浸提法与索氏抽提法检测大豆粗脂肪酸值的相对相差范围为 3.1%~14.6%, 与赵影等人^[10]

研究大豆粗脂肪酸价常温浸提法与索氏抽提法比较的相对相差范围为 3.1%~14.1% 的结果相似。有机溶剂振荡法与索氏抽提法检测大豆粗脂肪酸值的相对相差范围为 4.9%~6.6%, 与武寅等人^[25]研究东北国产大豆冷溶剂浸提法与索氏抽提法检测大豆粗脂肪酸值的相对相差范围为 8.3%~12.4% 的结果接近。因此, 3 种提取方式均满足 GB 5009.229—2016 对酸价测定准确度的要求。

表 1 3 种大豆粗脂肪酸提取方法精密度结果比较

Table 1 Comparison of the precision results of three soybean crude fatty acid extraction methods

提取方法	测定值(mg/g)				平均值(mg/g)		相对标准偏差(%)	CV(%)	
常温浸提法	0.92	0.94	0.94	0.95	1.0	1.0	0.96	3.52	3.5
超声波辅助法	0.96	0.98	0.93	0.95	1.0	0.99	0.97	2.73	2.7
有机溶剂振荡法	0.92	0.96	0.98	0.98	0.99	1.0	0.97	2.94	2.9

表 2 3 种大豆粗脂肪值提取方法准确度结果比较

Table 2 Comparison of the accuracy results of three methods for extracting crude fat from soybean

样品编号	常温浸提法(mg/g)	超声波辅助法(mg/g)	有机溶剂振荡法(mg/g)	国标法(索氏抽提)(mg/g)	常温浸提法与国标法(索氏抽提)相对相差(%)	超声波辅助法与国标法(索氏抽提)相对相差(%)	有机溶剂振荡法与国标法(索氏抽提)相对相差(%)
1	0.46	0.46	0.50	0.53	14.1	14.1	6.4
2	0.55	0.48	0.46	0.49	11.5	3.1	6.6
3	0.58	0.45	0.50	0.53	9.0	9.0	6.4
4	0.65	0.53	0.57	0.61	6.3	8.4	6.1
5	0.66	0.55	0.60	0.64	3.1	8.2	6.1
6	0.72	0.56	0.61	0.65	10.2	8.1	6.0
7	0.73	0.58	0.63	0.67	8.6	8.0	6.0
8	0.88	0.66	0.72	0.76	14.6	7.6	5.8
9	0.92	0.73	0.78	0.83	10.3	7.3	5.6
10	1.00	0.76	0.82	0.87	13.9	7.1	5.6
11	1.10	0.85	0.91	0.96	13.6	6.9	5.5
12	1.20	0.98	1.00	1.10	8.7	6.5	5.3
13	1.20	0.98	1.0	1.10	8.7	6.5	5.3
14	1.30	1.10	1.10	1.20	8.0	6.3	5.2
15	1.40	1.20	1.20	1.30	7.4	6.2	5.2
16	1.40	1.20	1.20	1.30	7.4	6.2	5.2
17	1.50	1.30	1.30	1.40	6.9	6.0	5.1
18	1.40	1.30	1.40	1.50	6.9	5.9	5.0
19	1.50	1.40	1.50	1.60	6.5	5.8	5.0
20	1.50	1.50	1.60	1.70	12.5	5.7	4.9
平均值	1.00	0.88	0.93	0.99	9.4	7.2	5.6

2.2 不同提取方式综合比较分析

3 种提取方式与国标要求的索氏抽提法在试样称量、提取后水浴锅上蒸发溶剂至干等步骤均相同, 主要区别在于粗脂肪提取的时间、场地、仪器设备等, 详见表 3。

2.2.1 检测时间比较

国标法中索氏抽提提取大豆脂肪需要 6~8 h, 即使检测粗脂肪值不需要抽提出样品中的全部粗脂肪, 至少也需要 4~6 h。而超声波辅助法仅需要 20 min 就可以提取出满足大豆粗脂肪检测^[18]所需的粗脂肪量, 极大缩短了检测时间, 显著提高了工作效率^[25-26,28]。

2.2.2 仪器及场地条件比较

国标提取方法需要索氏抽提器和恒温水浴锅等专用装置, 对实验室空间也有较高要求^[29]。需要使用上下水装置、实验过程均需在通风橱中进行。而其他 3 种提取方法无需使用水浴锅, 且由于瓶口密封, 有机溶剂振荡法、超声波辅助法及常温浸提法无需在通风橱中进行, 对环境条件和仪器设备要求简单。其

中常温浸提法虽然提取时间长, 但是随样品量增大, 其省时效果越显著, 而且实验室空间占用少, 操作简单方便, 显著提高了工作效率^[10,30]。

表 3 不同大豆粗脂肪提取方式实验时间与条件比较

Table 3 Comparison of the experimental time and conditions of different extraction methods of soybean crude fat

提取方式	提取时间(min)	温度(°C)	场地设施
常温浸提	480~720	室温	—
超声波辅助提取	20	30	—
有机溶剂振荡提取	120	室温	—
索氏抽提	360~480	50~60	上下水

2.2.3 消耗成本比较

国标法的索氏抽提需使用自来水不间断冷凝, 水浴锅和通风橱也要消耗大量电能。其他 3 种提取方法只是额外消耗了少量快速滤纸, 水电燃料等检测成本消耗远低于索氏抽提法^[25]。

3 结论

本研究提出的常温浸提法、有机溶剂振荡法和超声波辅助法3种提取方法所测定的大豆粗脂肪值与国标法要求的索氏抽提法提取测定的粗脂肪值相对相差均符合 GB 5009.229—2016 精密度要求, 实验重复性好, 结果准确可靠。此外, 与索氏抽提法比较, 上述3种提取方法显著缩短了检测时间, 操作简便、无需额外实验设备及场地要求。其中, 超声波辅助法仅需 20 min 即可, 提取时间最短。当样品量增大时选择常温浸提法节约时间效果更为显著, 且实验室空间占用少。因此, 粮油企业在日常大批量样品检测时, 受适用场地环境条件限制, 实验室可根据自身需求, 选择常温浸提法、有机溶剂振荡法和超声波辅助法提取检测大豆粗脂肪酸值, 既能缩短检测时间, 又能节约检验仪器费用和水电燃料费用消耗, 大幅度提升了大豆粗脂肪酸值的检测效率^[5], 同时也能对我国国产大豆的轮换、仓储保管企业的规范管理起到重要的促进作用。

参考文献

- [1] 苗霖兴, 苗佳. 大豆粗脂肪含量测定中影响因素的分析[J]. 粮食科技与经济, 2011, 36(03): 42-47.
- [2] 杨富东, 李敏, 农世康, 等. 南方沿海地区进口大豆安全储存工艺研究[J]. 粮食储藏, 2020, 49(04): 29-33.
- [3] 张海生. 大豆的营养价值及功效[J]. 大豆科技, 2012, (01): 51-53.
- [4] 刘春双. 大豆在储藏期间的品质变化[J]. 中国油脂, 2009, 34(12): 65-67.
- [5] 唐守凯, 王晓东, 董光宇, 等. 大豆粗脂肪酸价的测定方法[J]. 北京农业, 2015, (05): 9.
- [6] 赵影, 王文和, 滕娇琴, 等. 两种仪器测定国产大豆粗蛋白含量的比较[J]. 粮食储藏, 2018, 47(04): 37-44.
- [7] 张明先, 张慧. 不同浸提方法对大豆粗脂肪酸价的影响[J]. 粮食深加工及食品, 2020, 45(05): 126-127.
- [8] 吴礼娥. 两种大豆中粗脂肪测定方法的对比[J]. 农业科技与信息, 2018, (02): 46-47.
- [9] 楚屹然, 郭静, 卢美娟. 索氏抽提法测美国大豆粗脂肪含量的影响因素分析[J]. 现代食品, 2019, (24): 170-173.
- [10] 赵影, 孙士鹏, 张东辉, 等. 大豆粗脂肪酸价常温浸提法与索氏抽提法比较[J]. 粮油检测与品质分析, 2021, (03): 43-44.
- [11] 古争艳. 大豆粗脂肪含量检测方法研究现状及延伸探讨[J]. 现代食品, 2022, (22): 30-32.
- [12] 祁亚娟, 易涛. 大豆粗脂肪酸价测定方法的比较[J]. 粮油仓储科技通讯, 2011, (02): 49-50.
- [13] 颜庭辉, 宋鑫, 徐振斌, 等. 大豆粗脂肪酸价测定方法的探讨[J]. 粮食与食品工业, 2014, 21(02): 80-82.
- [14] 杨雪花, 谢维治, 杨菲, 等. 高大平房仓空调控温储存稻谷品质变化规律初探[J]. 粮食科技与经济, 2011, 36(06): 23-26.
- [15] 姜肠. 使用可再生溶剂快速浸出大豆油脂的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2006.
- [16] 黎美冯, 李林杰. 超声波辅助提取大豆粗脂肪技术用于大豆粗脂肪酸值测定的可行性研究[J]. 粮食与食品工业, 2019, (03): 64-66.
- [17] 崔素萍, 张卓敏, 贾鹏宇, 等. 超声波处理对小米脂肪提取率及脂肪酸组成的影响[J]. 食品科技, 2018, (05): 181-185.
- [18] 陈汉辉, 顾镍, 陆兆新, 等. 小米糠油的超声波辅助提取工艺及 GC-MS 分析[J]. 食品科学, 2013, (20): 32-36.
- [19] 杨军, 肖学彬. 响脂肪酸值测定因素探讨[J]. 粮食储藏, 2004, 5(15): 54-56.
- [20] KOWALSKI R. GC analysis of changes in the fatty acid composition of sunflower and olive oils heated with quercetin, caffeic acid, protocatechuic acid, and butylated hydroxyanisole [J]. Acta Chromatogr, 2007, (18): 15-23.
- [21] 李增琴, 杨富东. 旋涡振荡法测定进口大豆粗脂肪含量(干基)的可行性研究[J]. 粮食储藏, 2022, 51(02): 31-34.
- [22] 任志秋, 孙淑华, 乐也国. 测定大豆粗脂肪含量方法SZC-C型脂肪测定仪[J]. 黑龙江粮食, 2003, (05): 36-37.
- [23] 滕娇琴. 同时测定大豆中水分、粗脂肪含量方法研究[J]. 粮食科技与经济, 2018, 43(05): 71-72.
- [24] 卿云光, 罗在粉. 油脂的提取方法对酸价和过氧化值测定的影响[J]. 广州化工, 2015, (05): 147-148.
- [25] 武寅, 王斯峥, 杜娟, 等. 浸提代替索氏抽提检测大豆粗脂肪酸价[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(18): 215-217.
- [26] 刘桂华. 影响大豆粗脂肪测定因素的分析[J]. 粮油科技, 2009, (05): 52-53.
- [27] 薛焕焕, 张海生, 赵鑫帅, 等. 不同提取方法对大扁杏仁油品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(02): 439-446.
- [28] 邱寿宽, 宋鑫, 徐振斌, 等. 不同成熟度的国产大豆及其油脂品质分析[J]. 中国油脂, 2003, (01): 48-50.
- [29] 许安君. 大豆粗脂肪酸值检测方法的改进[J]. 粮油加工(电子版), 2014, (01): 39-41.
- [30] 杨健, 黎万武, 周浩, 等. 不同温度条件下氮气气调储粮对稻谷脂肪酸值的影响[J]. 谷物化学与品质分析, 2013, 3(10): 35-39.

作者简介



陈晨, 硕士, 工程师, 主要研究方向: 粮油食品环境介质检测。



程树维, 高级工程师, 主要研究方向: 粮油食品检测。