一九八三年 无锡轻工业学院学报 (总第四期)
(第三期) JOURNAL OF THE WUXI INSTITUTE OF LIGHT INDUSTRY

我国牛油果脂的甘油三酯组成测定

汤 逢 温光源

摘 要

用银化硅胶薄层层析——胰脂酶催化水解方法，测定了牛油果脂的甘油三酯组成。牛油果是我国云南引种的非洲的品种。同时测定了可可脂及代可可脂 Fandom 200 的甘油三酯组份以资比较。

样品脂肪经氧化铝柱离析得到纯甘油三酯，在银化硅胶薄层上用正已烷——乙醚——甲醇——醋酸(79:20:1:0.05, v/v)溶剂体系分离成六条谱带。从各谱带回收的甘油三酯用胰脂酶将其水解成β——甘油一酯。用 5%HCl—CH_3OH 酯化脂肪酸成甲酯。以十七烷酸甲酯为内标物进行气相色谱法测定。根据各谱带甘油三酯的脂肪酸的种类与含量和胰脂酶水解而得β——甘油一酯的脂肪酸种类与含量。可计出本谱带中各种甘油三酯组成。

试验结果表明，牛油果脂的脂肪酸组成是由豆蔻酸 0.2%，软脂酸 4.9%，硬脂酸 42.4%，油酸 47.2%，亚油酸 4.4%，亚麻酸 0.2%，花生酸 0.7%。有十六种不同结构的甘油三酯，其中 S_3：2.3%，S_2U：45.9%，SU_2：45.0%，U_3：6.8%。

牛油果脂含β-油酸二饱和酸甘油三酯约 40%，比可可脂中的少得多，而二油酸饱和酸甘油三酯约 42%却比可可脂的高出一倍，若以之代替巧克力的全部可可脂不适当。但可以作为制备代可可脂的原料。

引 言

我国对于油脂的甘油三酯组成测定尚未开展。有些油脂的脂肪酸组成虽然近似，但由这些酸构成的甘油三酯的组成即可能有所不同。因此它们的物化性质与用途就可能有一定差别。国外对甘油三酯的研究十分重视。

我国种植可可很少，食品工业用的可可脂几乎全部靠进口，为此代可可脂资源的探讨是有一定意义的。十几年前，我国云南省元江地区引种了非洲山榄科(Septaceae)的牛油树(Butyrospermum Parkii kotschy)，牛油果脂(Shea butter)在非洲作为食用油脂。我们便选择它作为研究代可可脂的可能性。为了进行比较，我们对可可脂和一种进口合成的代可可脂Fandom 200 进行了测定。

本文收到日期 1983 年 8 月 10 日

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

研究油脂中甘油三酯组份限于分析手段，进展缓慢。1927年，Hildifch[1]首先应用低温分步结晶与氧化法相结合的方法测定油脂中的甘油三酯组份。随后kartha[2]的氧化——分部法，Dutton[3]的逆流分布法在测定油脂的甘油三酯组份中用者较多，由Baker和Williams[4]设计，Hammond等人[5]用于甘油三酯结构测定的热梯度分部法来得到推广，用下述的方法比它更好。Lueos等人[6-12]对金属离子、尤其是银离子与不饱和烃类之间形成络合物的研究，导致Barrett等人[13]把银化硅胶薄层层析技术应用到甘油三酯的分离与测定并得到推广。目前最好的分离甘油三酯的方法的高效液相色谱法。随着生物化学家们对胰脂酶的研究，Mattson[14]于1952年观察到胰脂酶可以水解甘油三酯分子α(α′)位置的脂肪酸，而对β位置的脂肪酸则不起作用。Dutton Savary[15]和Mattson等人[16]用胰脂酶水解研究了许多天然油脂的甘油三酯，并分离测定了β——甘油一酯的脂肪酸组成。用此法Gunstone，[17,18]Blank[19,20]等对很多植物与动物油脂的甘油三酯结构进行测定，结果与Morley等人[21]用合成的甘油三酯作为研究对象所测得的结果相符合。本文对牛油果脂甘油三酯组份研究采用的方法是IUPAC[22]介绍的氧化铝柱层析纯化样品及酶促水解方法，Barrett[13]、Blank[19,20]、Bezard等人[23]介绍的银化硅胶薄层层析分离方法，Luddy[24]介绍的水解产物的分离方法，Stoffel[25]的甲酯化法，IUPAC[26]的气相色谱法，以及Blank[19]的计算方法。

实　验

实验材料

纯净甘油三酯：用正已烷法[27]分别萃取牛油果和可可豆中的脂肪。萃取物用旋转式真空薄膜浓缩器在微弱氮气流、低于50℃的条件下蒸去溶剂。将牛油果脂、可可脂代可可脂Fandom 200通过氧化铝柱，[28]层析纯去除非甘油三酯物，样品的熔点列于表一。

表一　种仁含量及其脂肪熔点

样　品	种仁含油量(%)	熔　点　(℃)	
		纯化前	纯化后
牛油果脂		32.1～36.0	31.2～34.6
可可脂		26.7～33.2	27.8～34.5
代可可脂 Fandou 200		27.3～30.0	29.0～30.5
牛油果	52		
可可豆	53		

脂肪酸组成的气相色谱分析标准物月桂酸、肉豆蔻酸、软脂酸、十七烷酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸、花生酸及山芋酸等十种脂肪酸的纯度为90～99%。

水解用的胰脂酶是本实验室自己制备的，酶的活力为9500单位/克(经科学院北京微生物研究所鉴定)

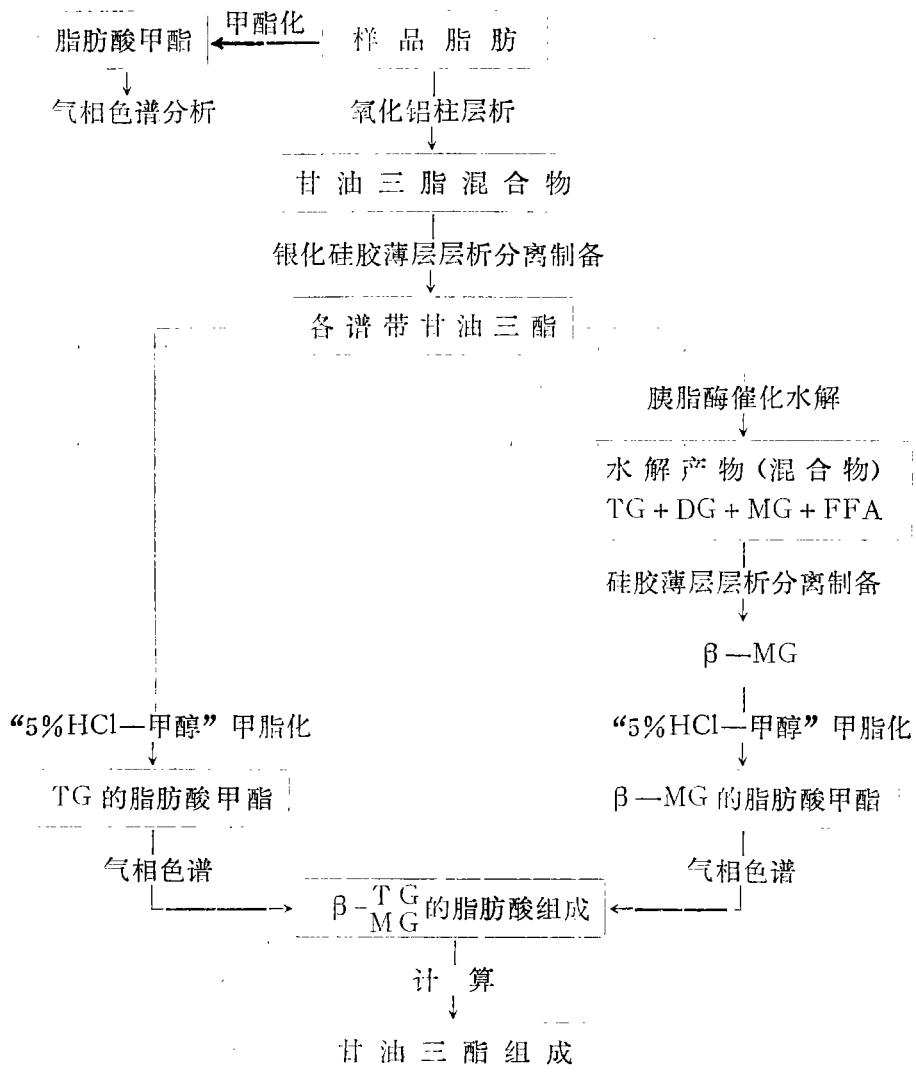
硅胶G(A·R·)、中性氧化铝(A·R·)、硝酸银(A·R·)、2′,7′——二氯萤光素(A·R·)、无水硫酸钠(A·R·)、无水碳酸氢钠(A·R·)、氯化钠(A·R·)、氨水(A·R·)、浓硫酸(A·R·)、

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

乙醇(A·R·95%)、正已烷(C·P·)乙醚(A·R·)、甲醇(A·R·)、醋酸(A·R·)石油醚(A·R·)、氯仿(A·R·)都是国产试剂。

实验程序

全部实验程序见图解一



图解一　甘油三酯结构组成分析过程

MG：甘油一酯　　DG：甘油二酯
TG：甘油三酯　　FFA：游离脂肪酸

1、脂肪酸分析

包括油脂的脂肪的分析以及分离出的甘油酯中的与游离脂肪酸的分析，使用的气相色谱法基本条件是一样的。

油脂与甘油酯转变成甲酯采用5%Hcl-甲醇法[25]，以微量法酯化甘油三酯和游离脂肪酸。在安瓿瓶中加入样品5～20mg，干苯1ml，干燥的5%HCl—甲醇试剂2～3ml，氮气赶

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

去空气后封闭瓶口。在水浴中沸煮2小时，冷却开瓶，加3ml蒸馏水，充分混合后离心分离，取苯层用无水硫酸钠——无水碳酸氢钠(4：1W/W)干燥。

脂肪酸甲酯的气相色谱分析用沪分仪厂100型气相色谱仪，FID检测器，固定相为15% PDEGS，涂于Gas Chrom Q (60～80目)、2m×ϕ4mm的U型不锈钢柱。汽化、层析、检测温度分别为220℃175±0.5℃200℃，N_2，H_2，O_2的流速分别是41.5，43与450ml/分。用已知的混合脂肪酸甲酸定性。定量用的内标为C17:0甲酯，峰高×半峰宽得面积，操作程序同IUPAC[26]法。牛油果脂，可可脂与代可可脂Fandom 200的脂肪酸组份见表二。

表二　牛油果脂，可可脂与代可可脂Fandom 200的脂肪酸组份(克分子%)

	饱和脂肪酸						不饱和脂肪酸			
	14:0	16:0	18:0	20:0	22:0	总计	18:1	18:2	18:3	总计
牛油果脂	0.2	4.9	42.4	0.7	—	48.2	47.2	4.4	0.2	51.8
可可脂	微量	25.7	36.2	0.3	微量	62.3	35.2	2.5	微量	37.7
代可可脂 Fandom 200	0.4	15.5	37.1	4.4	微量	57.4	40.4	2.0	0.2	42.6

按照IUPAC[26]法的介绍，气相色谱固定液浓度在15%时的层析温度宜在185℃左右，层析柱内径4mm时载气流速宜在40～60ml/分。我们以41.5ml/分的载气流速，层析温度为185℃，C_{12}:0和C_{14}:0靠得很扰，且C_{18}:2和C_{20}:0的分离效果较差。温度在175±0.5℃时，既可以使C_{12}:0、C_{14}:0明显分开，也可使C_{18}:2和C_{20}:0较好地分离，并可避免C_{18}:3和C_{22}:0峰形增宽过大。从C_{12}:0、C_{14}:0、C_{14}:0、C_{16}:0、C_{17}:0、C_{18}:0、C_{18}:1、C_{18}:2、C_{18}:3、C_{20}:0、C_{22}:0的甲酯混合物的色谱图(图1)看出，本试验条件对这十种脂肪酸甲酯混合物的分离效果良好。十种脂肪酸甲酯的保留时间列于表三，死时间的计算按照Poterson和Hafer Kamp等人提出的方法[48]。以校正保留时间的对数为纵坐标，碳原子数为横坐标作图，得到一条直线(图2)，表明GEC操作条件是稳定的。定量方面，由于待测样品中的脂肪酸既无短碳链酸存在，也无取代酚存在，故无需作校正因子的测定。按"峰面积＝峰高×半峰宽"用归一化法计算图组成酸的百分数。

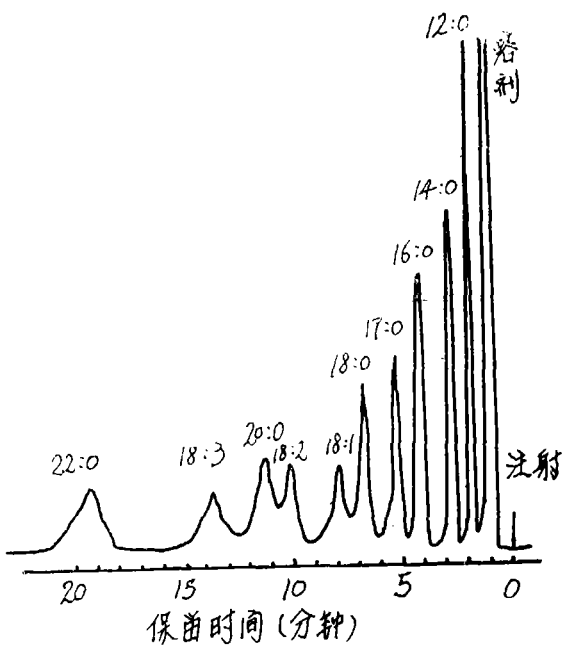


图1　十种脂肪酸甲酯混合物的GLC图

条件：15%PDEGS—Gas Chrom Q(60～80目)，2m×4mm U型不锈钢柱，层析温度175±0.5℃，载气(N_2)41.5ml/分(平均流速)，FID检出，纸速10mm/分。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表三 脂肪酸甲脂的保留时间

	脂肪酸甲脂									
	$C_{12}:0$	$C_{14}:0$	$C_{16}:0$	$C_{17}:0$	$C_{18}:0$	$C_{18}:1$	$C_{18}:2$	$C_{18}:3$	$C_{20}:0$	$C_{22}:0$
t_R	1′50″	2′20″	4′17″	5′29″	7′4″	8′21″	10′42″	11′50″	13′48″	20′29″
t_M	$=(t_{n+i}\times t_{n-i}-t_n^2)/(t_{n+i}\times t_{n-i}-2t_n)=40''$，$n=16$，$i=41$									
t'_R	1′10″	1′40″	3′37″	4′49″	6′24″	7′41″	10′02″	11′10″	13′08″	19′49″

表中 t_R—保留时间，t_M—死时间，t'_R—校正保留时间

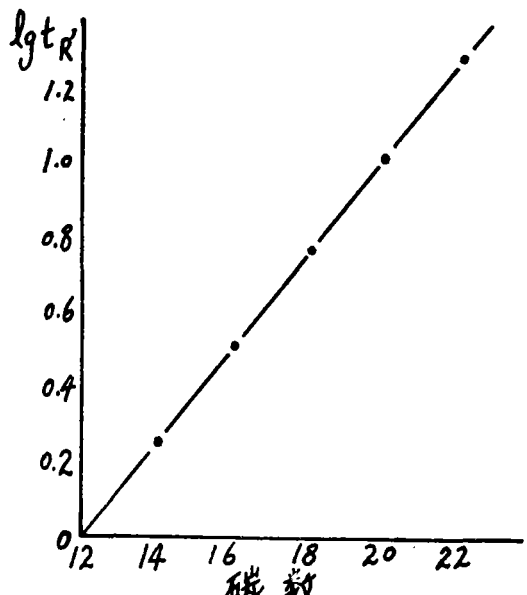


图2. 脂肪酸甲酯校正保留时间的对数与碳数的关系

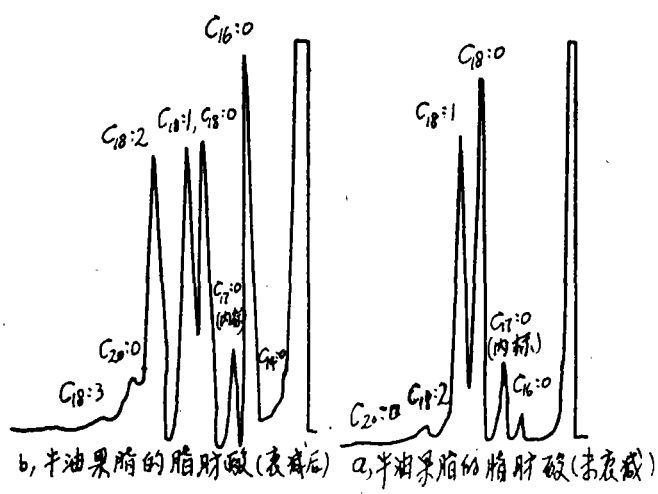


图 3 牛油果脂的脂肪酸(甲酯)气相色谱图

有 $C_{14}:0$，$C_{16}:0$，$C_{17}:0$(内标)、$C_{18}:0$，$C_{18}:1$，$C_{18}:2$，$C_{20}:0$，$C_{18}:3$。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

图3、4分别是本试验条件下测得的牛油果脂和可可脂的脂肪酸甲酯气相色谱图。从图3得知牛油果脂有 C_{14}:0、C_{16}:0、C_{18}:0、C_{18}:1、C_{18}:2、C_{18}:3、C_{20}:0 七种脂肪酸。可可脂(图4)有 C_{14}:0、C_{16}:0、C_{18}:0、C_{18}:0、C_{18}:1、C_{18}:2、C_{18}:3、C_{20}:0 和 C_{22}:0 八种脂肪酸数据列于表二。

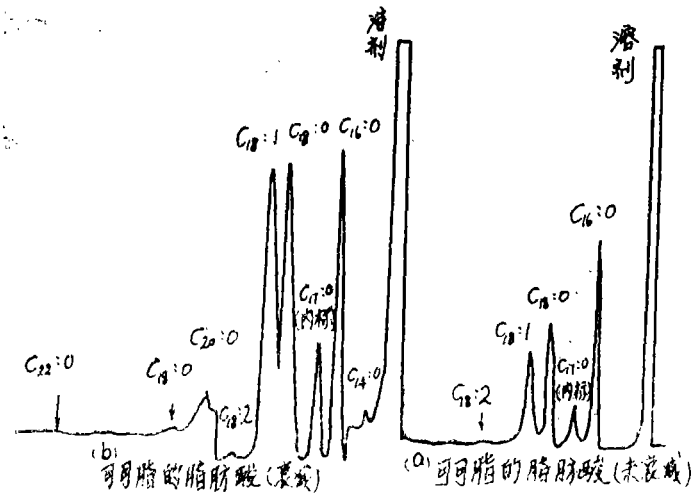


图4 可可脂肪酸(甲酯)气相色谱图

有 C_{14}:0，C_{16}:0，C_{17}:0，(内标)、C_{18}:0，C_{18}:1，C_{18}:2，C_{20}:0，C_{18}:3，C_{22}:0。

2、甘油三酯结构分析

甘油三酯结构分析过程如图解一所示。用氯仿稀释经氧化铝柱层析纯化了的甘油三酯混合物，薄层层析后，喷以显色剂，在UV灯下显出的各谱带分别刮下，用乙醚——甲醇(95:5)混合溶剂萃取。加2～4ml0.5M的氨水到萃取液，混合后分离，再用3×10ml蒸馏水洗三次，最后用无水硫酸钠干燥。将此萃取物一部分甲酯化，测定其脂肪酸组成；另一部分加入一定数量的胰脂酶进行酶催化水解。水解产物用硅胶薄层分离，将其中的甘油一酯谱带直接刮入安瓿瓶中甲酯化。测定甘油一酯的脂肪酸组成均以十七烷酸作为内标物。

甘油三酯结构的确定，首先根据各谱带甘油三酯总的脂肪酸组成（从饱和度不同分为饱和(s)、一烯(M)、二烯(D)、三烯(T)四类)并按各类甘油三酯在银化硅胶薄层上的洗脱顺序[17]，确定每谱带可能存在的甘油三酯，用Blank等人[19]的计算方法，由各谱带甘油三酯及水解得到的β—甘油一酯的脂肪酸组成，分别计算出各谱带中存在的各甘油三酯的含量。

银化硅胶薄层层析分离甘油三酯采用Blank等人[13]的方法。用5%的硝酸银水溶液将硅胶G调成45%浓度的浆状物，涂于20×20cm的玻璃板上，凉干后，80℃烘1小时，在在120℃下活化1小时，薄层厚度约0.4mm。

以线状点样法将10%甘油三酯的氯仿溶液点于薄板上，在容闭层析缸内，用正已烷——乙醚——甲醇——醋酸(79:20:1:0.05v/v)混合溶剂上行法展开80分钟，展开的薄层用氮气吹干，喷以0.2%的2′、7′——二氯萤光素的乙醇(95%)溶液，UV灯下检出各谱带。

胰脂酶催化水解甘油三酯采用IUPAC[22]的水解条件，在5ml的离心试管中加入约20mg甘油三酯，4mg胰脂酶，1ml1.0M的 NH_4Cl/NH_4OH (pH8.0)缓冲溶液，0.05ml22%的 $CaCl_2$ 水溶液、0.1ml0.1%的胆酸钠水溶液。放入40℃水浴中温热一分钟，快速振荡1分30秒，加0.5ml6N的盐酸和2ml乙醚，激烈振荡约1分钟，离心分离，吸出上层乙醚萃取液，供层析分离甘油一酯用。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

硅胶薄层层析分离水解产物的甘油一酯采用 Luddy 等人[24]的方法。样品浓度为5%水产物的氯仿溶液。在厚约 0.4mm 的硅胶 G 薄层上，以后油醚——乙醚——醋酸(60:40:1.6 v/v)作展开剂，操作同甘油三酯的薄层分离。

水解反应时间，酶/底物比的确定。水解反应时间的确定，是将底物与酶的量固定，分别测出不同反应时间得到的游离脂肪酸含量；测定酶/底物比时，固定甘油三酯的量和水解时间，分别测定不同酶用量情况下水解得到的游离脂肪酸含量。

$$\text{水解度}(\%) = \frac{\text{水解释放出的游离脂肪酸重量}}{\text{总脂肪酸重量}} \times 100\%$$

其他操作条件按 Luddy 的方法。

结 果 与 讨 论

1、银化硅胶薄层层析分离甘油三酯

为选择薄层层析的展开剂对 Barrett 等人[13]和 Bezard 等人[23]的实验条件作了比较，观察到后者的溶剂体系在分离效果（可得到六个斑点）和展层时间（约 80 分钟）方面均优于前者。于是，本试验选择了 Bezard[23]的正已烷——乙醚——甲醇——醋酸 (79:20:1:0.05 v/v)体系。

在分离制备薄层色谱中，为了提高制备能力，除了对吸附剂的有效吸附表面积，薄层涂布的均匀性有较严格的要求外，还要考虑点样形式及点样量。我们分别对 5、10、15、20、25、30、40、50mg 点样量作了比较，结果见表四。试验表明，由于样品中高含量组份与低含量组份的百分含量差别太悬殊，增加点样量，出现的谱带数虽然有所增加，但高含量组份之间，分辨率却显著下降，甚至完全无法分辨。为此，我们采取了

表四　不同点样量的层析谱带比较

谱带	点样量 (mg)							
	5	10	15	20	25	30	40	50
1				+	+	+	++	++
2	+	+	+	+	++	++	++	++
3	+	+	+	+	++	++	++	++
4			+	+	+	+	++	++
5					+	+	+	+
6						+	+	+

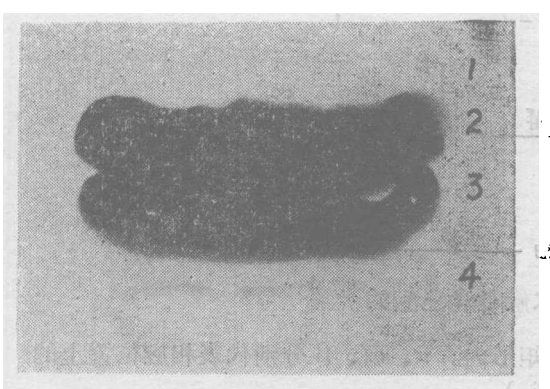


图5　20 mg 点样量的色谱图

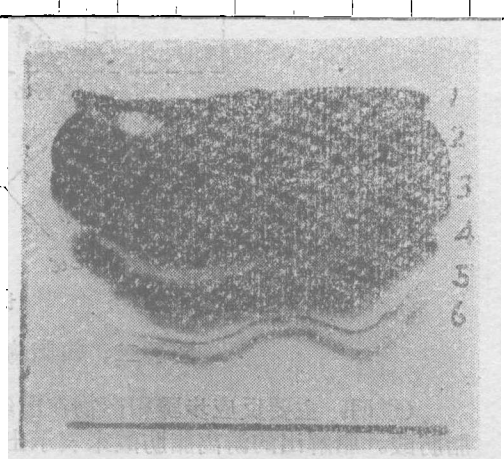


图6　30 mg 点样量的色谱图

条件：10% $AgNO_3$/silica gel G，正已烷—乙醚—甲醇—醋酸(79:20:1:0.05v/v)，20～22℃，上行法展层 80 分钟。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

20mg 和 30mg 两种点样量，见谱图5和图6，以前者测定第2、3两条谱带，以后者测定1、4、5、6四条谱带。

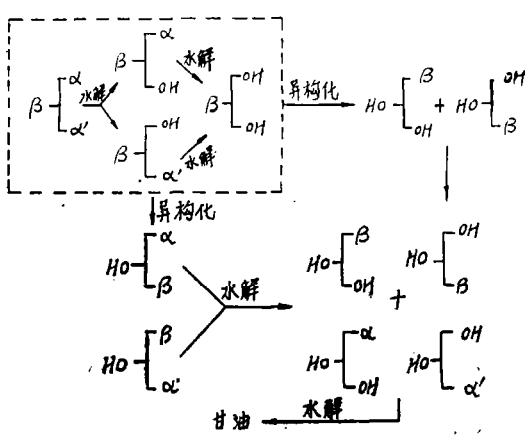
从分离谱带硅胶上洗脱类脂我们对通常采用的三种方法[19'20'30]作了比较，见表五，吸取各法之优点，由于氯仿比量大于水，水洗分离操作麻烦，而且萃取物损失的几率大。乙醚——甲醇的溶剂强度大于乙醚，有利于不饱和酯的洗脱。净化萃取物除去硅胶与萤光显色剂用氨水比水更有效，操作也比柱层析法简便。为此，本试验采取了乙醚——甲醇(95:5)作萃取剂，0.5M 氨水为净化剂从硅胶上回收甘油三酯。

表五　几种从硅胶吸附剂上回收甘油三酯的方法比较

操作条件 / 方法文献 / 项目	[30]	[19]	[20]	本实验
萃取溶剂	氯仿—甲醇(2:1)	乙醚	乙醚—甲醇(95:5)	乙醚—甲醇(95:5)
有机相比重	>水	<水	<水	<水
净化剂与操作	0.5M氨水,水洗	水洗，柱层析	水洗	0.5M氨水,水洗

2、酶促水解及水解产物的分离

胰脂酶催化水解甘油三酯的α(α′)脂肪酸有专一性，而不同于其它脂肪酶，综合 Mattson 和 Beck[16]、Brockerhoff[34]、Mattson[35]及 Savary等人[36]的研究结果，胰脂酶催化水解甘油三酯的基本反应过程可概括如图解二。他们的试验还证明，水解产物中少量的α(α′)——甘油一酯和 α、α′——甘油二酯，是β位置的脂肪酸向α(α′)位置转移的结果。



图解二、胰脂酶水解甘油三酯的步骤

(说明：主要反应步骤和产物在虚线矩形内。α、α′、β分别代表相应位置上的脂肪酸。脂解出的游离脂肪酸来表示出来。)

由于 Dutton 及 Iverson 等人[37-40]研究表明可可脂中的甘油三酯75%是 POP、POS 和 SOS，于是，我们便以银化硅胶薄层分离可可脂时谱带2(见表七)的甘油三酯作为验证胰脂

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酶位置专一性的底物。水解后，分别测定水解产物甘油一酯的脂肪酸和水解下的游离脂肪酸。试验结果表明，水解之前(图7—a)，甘油三酯的脂肪酸有软脂酸(峰1)、硬脂酸(峰3)和油酸(峰4)，水解产物甘油一酯的脂肪酸(图7—b)只有油酸(峰4)；而水解下的游离脂肪酸(图7—c)只有软脂酸(峰1)和硬脂酸(峰3)图中峰2是加入的内标物 $C_{17:0}$ 酸。由此可见，我们使用的方法充分体现了水解 α(α′)脂肪酸的专一性。

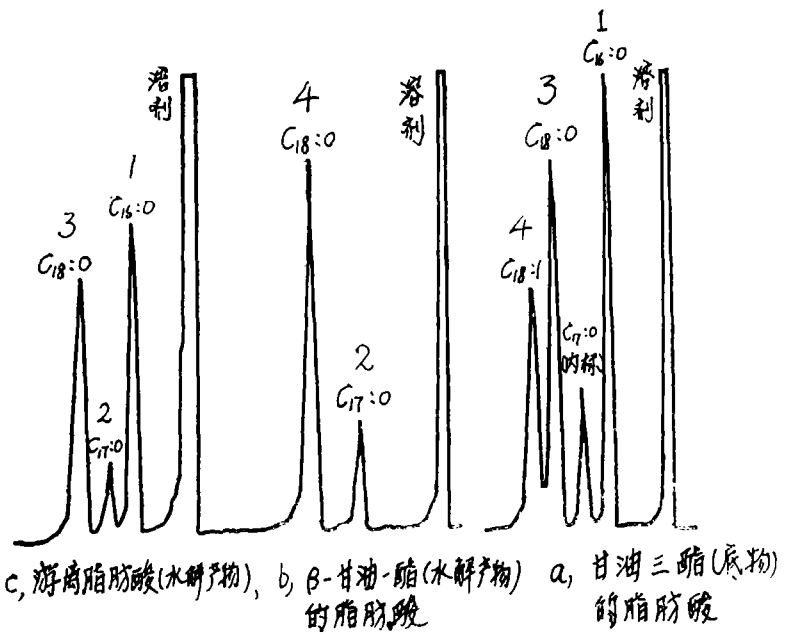


图7　底物水解前后的GLC图

a. SMS含量达94%以上的甘油三酯(水解前)的脂肪酸GLC图；
b. 水解产物甘油一酯(MG)的酯肪酸GLC图；
c. 水解产物游离脂肪酸(FFA)的GLC图。

为了使β—脂肪酸转移到α位降至最低限度使产物β—甘油一酯的含量达到最高，除了反应体系的电解质浓度、钙离子浓度，胆盐浓度、pH值和温度控制在适宜的条件之外，水解反应时间以及酶/底物比是很重要的二个因素。本试验用酶活为9500单位/克胰脂酶丙酮粉催化水解甘油三酯时，测得对于5～20mg重量的底物最适酶用量约为底物的20%。其最适水解时间约1分20秒至1分30秒，以减少β—甘油一酯异构α—甘油一酯同时观察到酶/底物比在5～20%范围内对水解度影响非常大，超过25%则影响比较小。

胰脂酶水解后的液体中除含甘油一酯外还有甘油二酯与未反应的，不论脂肪酸碳链长短及不饱和程度差别的大小，均可在硅胶吸附剂上按甘油酯分子中的羟基数目不同而被层析分离[41-45]。虽然水解产物中的甘油一酯有α(α′)—甘油一酯和β—甘油一酯两种异构体，但从水解历程可知，α(α′)—异构体是由β—异构体异构化而产生的。因此，分离水解产物时，无需将α(α′)和β—甘油一酯异构体分开。我们采用Luddy[24]的方法，层析油脂结果(图8)与Luddy[24]和Blank[19]的结果一致。对照空白试验(图9)以及酶水解纯甘油三酯层析的图谱(图10)，得知图8的七条谱带。虽然本试验无标准甘油二酯和甘油一酯去验证第五、六两条谱带，但根据Blank[19]和Luddy[24]指出 R_f 值是按TG>FFA>DG>MG递减的，

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

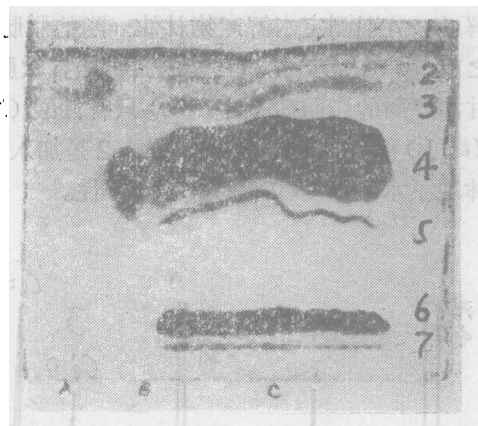


图 8　酶促水解产物的分离 TLC 图

1—溶剂前沿；2—TG；3—污染物；4—FFA；5—DG；
6—MG；7—原点。

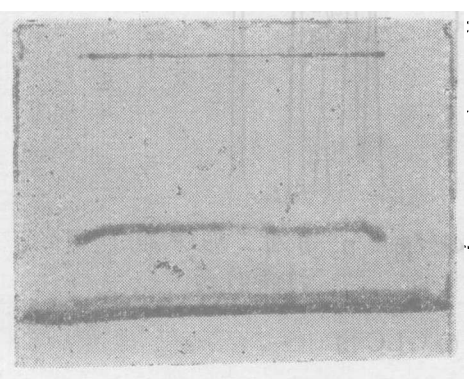


图 9　酶水解空白试验的 TLG 图

1—溶剂前沿；
2—污染物；
3—原点。

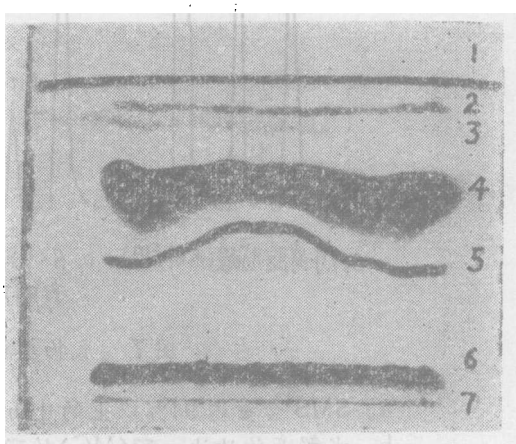


图 10　酶水解纯甘油三酯的 TLC 图

1—溶剂前沿；2—TG；3—污染物；
4—FFA；5—DG；6—MG；7—原点。

图 8～10、胰脂酶催化水解甘油三酯产物的硅胶薄层色谱图条件：石油醚(30～60°)—乙醚—醋酸(60:40:1.6)，时间 40～50 分钟。

本试验条件与他们相同，TG 和 FFA 的洗脱顺序也和上述顺序吻合；同时，MG 比 DG 多一个游离羟基，虽然 MG 与硅胶的吸附作用要比 DG 大。因此可推断出第五条是甘油二酯，

表六　水解产物在硅胶 G 的 TLC 上的 R_f 值[a]

水解产物		R_f	σ_{6-1}[b]
甘油三酯	(TG)	0.92	0.017
游离脂肪酸	(FFA)	0.69	0.015
甘油二酯	(DG)	0.44	0.013
甘油一酯	(MG)	0.09	0.008

a. 条件按[24]　　b. 标准偏差

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

第六条是甘油一酯。本试验测定了相同条件下的六块色谱图上各水解产物的 R_f 值，结果见表六。各平行试验的标准偏差均小于 0.02。

3、各谱带甘油三酯的定性

牛油果酯的甘油三酯在银化硅胶薄层上分离成六条谱带，同样条件下，可可脂、代可可脂 Fandom 200 分别分离成五和六条谱带。我们采用 Bezard[23] 介绍的内标物用甲酯（$C_{15:0}$ 酸甲酯）比用甘油三酯（三癸酸甘油酯）给出甘油三酯含量要准确的方法，测出各谱带上甘油三酯的百分含量，见表七。

表七 各谱带上甘油三酯的百分含量

谱带示意图 编号	甘油三酯（克分子百分数）		
	牛油果脂	可可脂	代可可脂 Fandom 200
溶剂前沿			
1	4.34	2.15	0.64
2	47.98	69.66	65.08
3	36.26	20.98	28.69
4	8.24	5.28	4.15
5	1.94	1.93	1.35
6	1.06		0.09

甘油三酯类别

Gunstone[17] 发现，甘油三酯在银化硅胶薄层上的洗脱顺序，从板顶到板底是 000、001、011、002、111、012、112、022、003、122、013、222、113、023、123、223、033、133、233、333（这里的 0、1、2、3、分别表示脂肪酸是饱和酸、油酸、亚油酸和亚麻酸）。Blank[20] 和 Bezard[23] 用不同的展层溶剂体系，证实了这一洗脱顺序。这些研究表明，甘油三酯在银化硅胶薄层上的洗脱顺序并非简单地由甘油三酯分子总的不饱和度所决定，而与双键在脂肪酸分子中的数目及其分布关系密切。

根据 Blank[19,20]、Bezard[23]、Colemen 等人[49] 的方法，本试验把饱和酸、油酸、亚油酸、亚麻酸分别以 S、M、D、T 表示，将每一谱带的甘油三酯按二元～四元游合物处理，因各谱带之间轻度的相互重叠，以及在 UV 下有时不能十分清晰而准确地描出靠得很拢的锯齿形谱带，以使图谱带之间会有不同程度的相互污染。一般是一条谱带上常有一种甘油三酯含量较高（50～80%），因此，按 Gunslone 等人[17] 的方法，根据各谱带上高含量的甘油三酯的脂肪酸组成，确定出该甘油三酯的类别。主要类别确定之后，次要的则由该谱带含量较低的脂肪酸组成，同时参考其前后谱带情况而确定。表八、九，十、分别是牛油果脂，可可脂、代可可脂 Fandom 200 在各谱带上甘油三酯与甘油一酯的脂肪酸组成，以及由这些数据确定出的甘油三酯类别。

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表八　牛油果脂在各谱带上的脂肪酸组成

	谱带 1				谱带 2				谱带 3			
	TG			MG	TG			MG	TG			MG
	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%
C_{14}:0	0.55	2.27	2.95	0.95	—	—	—	—	0.23	0.95	0.15	—
C_{16}:0	7.06	26.10	33.98	34.29	8.65	31.98	3.76	tr	6.24	23.07	3.59	0.35
C_{18}:0	10.27	34.40	44.78	29.52	137.26	459.80	54.13	0.63	66.86	223.97	34.89	0.62
C_{18}:1	3.54	11.94	15.54	35.24	103.28	348.33	41.01	99.37	108.05	364.42	56.77	88.31
C_{18}:2	—	—	—	—	0.20	0.68	0.08	tr	7.89	26.79	4.17	10.72
C_{20}:0	0.69	2.11	2.75	—	2.77	8.48	1.00	—	0.67	2.05	0.32	—
C_{18}:3	—	—	—	—	0.05	0.17	0.02	—	0.21	0.72	0.11	—
各谱带的摩尔百分数(%)	4.34	4.34	4.34	4.34	47.98	47.98	47.98	47.98	36.26	36.26	36.26	36.26
% S			84.46	64.76			58.89	0.63			38.95	0.97
% M			15.54	35.24			99.37	99.37			56.77	88.31
% D			—	—			tr	tr			4.17	10.72
% T			—	—			—	—			0.11	—
甘油三酯类别	000 001				000 001 011				001 011 002			

	谱带 4				谱带 5				谱带 6			
	TG			MG	TG			MG	TG			MG
	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%
C_{14}:0	0.11	0.45	0.30	—	0.01	0.04	0.12	—	0.02	0.08	0.43	—
C_{16}:0	1.15	4.25	2.85	tr	0.20	0.74	2.15	1.34	0.32	1.18	6.30	8.64
C_{18}:0	6.83	22.88	15.35	tr	1.61	5.39	15.67	—	0.50	1.67	8.92	6.17
C_{18}:1	30.35	102.36	68.67	65.91	4.46	15.04	43.73	41.81	1.29	4.35	23.22	33.33
C_{18}:2	5.31	18.03	12.10	34.09	3.79	12.87	37.43	53.51	3.08	10.45	55.85	45.68
C_{20}:0	0.01	0.03	0.02	—	—	—	—	—	—	—	—	—
C_{18}:3	0.31	1.06	0.71	—	0.09	0.31	0.93	3.34	0.29	0.99	5.28	6.18
各谱带的摩尔百分数(%)	8.42	8.42	8.42	8.42	1.94	1.94	1.94	1.94	1.06	1.06	1.06	1.06
% S			18.52	tr			17.94	1.34			15.65	14.18
% M			68.67	65.91			43.73	41.81			23.22	33.33
% D			12.10	34.09			37.43	53.51			55.85	45.68
% T			0.71	—			0.90	3.34			5.28	6.18
甘油三酯类别	002 111 012				012 112 022				022 003 122			

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表九　可可脂在各谱带上的脂肪酸组成

	谱带 1				谱带 2				谱带 3				谱带 4				谱带 5			
	TG			MG	TG			MG	TG			MG	TG			MG	TG			MG
	Wt.(mg)	μ mol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μ mol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μ mol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μ mol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μ mol.	mol.%	mol.%
C_{16}:0	3.22	11.91	64.55	53.05	43.54	160.98	26.94	1.98	10.08	37.27	20.70	4.41	1.54	5.69	12.57	1.32	0.42	1.55	9.38	tr
C_{18}:0	1.41	4.72	25.58	26.52	73.14	246.35	41.23	3.60	16.29	54.57	30.32	2.11	2.38	7.97	17.60	—	0.16	0.54	3.27	tr
C_{18}:1	0.54	1.82	9.87	20.43	56.38	190.15	31.83	94.42	23.78	80.20	44.56	80.33	7.26	24.49	54.08	54.46	2.85	9.61	58.17	59.04
C_{18}:2	—	—	—	—	—	—	—	—	2.34	7.95	4.42	13.15	2.01	7.13	15.75	44.22	1.42	4.82	29.18	40.96
各谱带的摩尔百分数(%)	2.15	2.15	2.15	2.15	69.66	69.66	69.66	69.66	20.98	20.98	20.98	20.98	5.28	5.28	5.28	5.28	1.93	1.93	1.93	1.93
% S			90.13	79.57			68.17	5.58			51.02	6.51			30.17	1.32			12.65	tr
% M			9.87	20.43			31.83	94.42			44.56	80.33			54.08	54.46			58.17	59.04
% D			—	—			—	—			4.42	13.15			15.75	44.22			29.18	40.96
甘油三酯类别	000 001				000 001				001 011 002				002 111 012				111 012 112			

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表十　代可可脂 Fandom 200 在各谱带上的脂肪酸组成

	谱带 1				谱带 2				谱带 3			
	TG			MG	TG			MG	TG			MG
	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%
C_{14}:0	0.01	0.04	0.70	1.16	0.48	1.98	0.34	—	0.27	1.11	0.41	tr
C_{16}:0	0.33	1.22	21.48	35.04	24.08	89.03	15.39	5.28	9.97	36.86	14.46	4.23
C_{18}:0	0.95	3.18	55.99	21.90	78.54	263.10	45.50	3.36	18.92	63.38	24.86	0.54
C_{18}:1	0.24	0.81	14.26	41.60	56.70	191.23	33.07	91.36	40.03	135.01	52.96	82.93
C_{18}:2	—	—	—	—	—	—	—	—	3.08	10.46	4.10	12.30
C_{20}:0	0.14	0.13	7.57	—	10.76	32.95	5.70	—	2.65	8.11	3.18	—
C_{18}:3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
各谱带的摩尔百分数(%)	0.64	0.64	0.61	0.64	65.08	65.03	65.08	65.08	28.69	28.69	28.69	28.69
% S			85.74	58.40			66.93	8.64			42.92	4.77
% M			14.26	41.60			33.07	91.36			52.92	32.93
% D			—				—	—			1.10	12.30
% T			—				—	—			—	—
甘油三酯类别			000 001				000 001				001 110 002	

	谱带 4				谱带 5				谱带 6			
	TG			MG	TG			MG	TG			MG
	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%	Wt.(mg)	μmol.	mol.%	mol.%
C_{14}:0	0.06	0.25	0.68	0.65	0.02	0.08	0.67	tr	tr	tr	tr	tr
C_{16}:0	1.13	4.18	11.34	6.56	0.45	1.66	13.83	9.73	0.01	0.01	5.06	tr
C_{18}:0	1.18	3.95	10.72	0.81	6.80	2.68	22.33	17.70	0.05	0.17	21.52	tr
C_{18}:1	7.00	23.61	64.05	65.26	1.13	3.81	31.75	32.74	0.03	0.10	12.66	32.35
C_{18}:2	1.24	4.21	11.42	25.59	0.81	2.75	22.92	21.24	0.09	0.31	39.24	35.30
C_{20}:0	0.09	0.28	0.76	—	0.02	0.06	0.50	—	0.01	0.03	3.80	32.35
C_{18}:3	0.11	0.38	1.03	1.13	0.28	0.96	8.00	18.59	0.04	0.14	17.72	—
各谱带的摩尔百分数(%)	4.15	4.15	4.15	4.15	1.35	1.35	1.35	1.35	0.09	0.09	0.09	0.09
% S			23.50	8.03			37.33	27.43			30.38	tr
M %			64.05	65.26			31.75	32.74			12.66	32.35
T %			11.42	25.29			22.92	21.24			39.24	35.30
% D			1.03	1.13			8.00	18.59			17.72	32.35
甘油三酯类别			002 111 012				012 112 003				003 022 122	

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4、甘油三酯组份的定量计算

确定出各谱带甘油三酯类别后，根据该谱带甘油三酯与水解产物β—甘油一酯的脂肪组成，按 Blank[19] 的计算方法算出其甘油三酯的结构组成。计算过程以牛油果脂的第六条谱带为例叙述如下：

表十一　牛油果脂第六条谱带的脂肪酸组成[a]（摩尔百分数）

	TG		MG			可能类别的合计 TG
	%[b]	微克分子数[c]	%[d]	占β位的%[e]	微克分子数[f]	
S	15.56	2.93	11.81	31.15	0.92	112　622　003　122
M	23.22	4.35	33.33	47.85	2.08	MMD, SDD, SST, MDD
D	55.85	10.46	45.68	27.26	2.85	MDM, DSD, STS, DMD
T	5.28	0.99	6.18	39.02	0.39	
合　计		18.73			6.24	

a.取自表八；

b.甘油三酯的脂肪酸的摩尔百分数；

c.甘油三酯的脂肪酸的微克分子数；

d.甘油一酯的脂肪酸摩尔百分数；

$$e = \frac{d}{3 \times b} \times 100$$

$$f = e \times c$$

由表十一中β位置的三烯酸(T)可知

$$STS = \frac{6.18}{5.28 \times 3} \times 0.99\ \mu mol = 0.39\ \mu mol$$

则 $SST = 0.99\ \mu mol - SST = 0.99 - 0.39 = 0.60\ \mu mol$

$DSD = \beta$ 位的 $S - SST = 0.92 - 0.60 = 0.32\ \mu mol$

$SDD = TG$ 中的 $S - (2 \times SST + 2 \times STS + DSD)$

$= 2.93 - (2 \times 0.60 + 2 \times 0.39 + 0.32) = 0.063\ \mu mol$

由 TG 中的 M 得：$2M_2D + MD_2 = 4.35\ \mu mol$ ……(1)

由 TG 中的 D 得：$M_2D + 2MD_2 + 2SD_2 = 10.46\ \mu mol$

则 $M_2D + 2MD_2 = 10.46 - 2\,SD_2$

$= 10.46 - 2(0.32 + 0.63) = 8.56\ \mu mol$ ……(2)

由(1)式得：$MD_2 = 4.35 - 2M_2D$ ……(3)

将(3)式代入(2)式得：$M_2D + 8.70 - 4M2D = 8.56\ \mu mol$

即 $M_2D = \frac{8.70 - 8.56}{3} = 0.047\ \mu mol$

因为 M_2D 含量极少 $\left(\frac{0.047}{6.24} \times 1.06\% = 0.008\% \right)$，

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表十二　各谱带的甘油三酯组成(摩尔百分数)

脂肪	谱带	000	001		011		002		111	012			112		022		003		122		合计
		SSS	SMS	SSM	SMM	MSM	SSD	SDS	MMM	SMD	SDM	MSD	MMD	MDM	SDD	DSD	SST	STS	MDD	DMD	
牛油果脂	1	2.32	1.53	0.49																	4.34
	2		36.18	0.30	11.50																47.98
	3		1.47	—	30.50	—	0.35	3.94													36.26
	4							1.44	5.18	0.37	1.43										8.42
	5									(0.73)		0.29	(0.90)		0.02						1.94
	6														0.11	0.05	0.10	0.07	0.38	0.35	1.06
	合计	2.32	39.18	0.79	42.00	—	0.35	5.38	5.18	(2.53)		0.29	(0.90)		0.13	0.05	0.10	0.07	0.38	0.35	
代可可脂 Fandom 200	1	0.37	0.27	tr																	0.64
	2	0.52	59.49	5.11																	65.08
	3		4.47		19.05	1.37	—	3.53													28.69
	4						0.33	1.04	2.60	0.11	0.07										4.15
	5									(0.57)		0.30	(0.16)		—	—	0.07	0.25			1.35
	6														0.03	—	—	0.03	tr	0.03	0.09
	合计	0.89	64.46	5.11	19.05	1.37	0.33	4.57	2.60	(0.75)		0.30	(0.16)		0.03	—	0.07	0.28	—	0.03	
可可脂	1	1.51	0.44	0.20																	2.15
	2	3.15	65.77	0.74																	69.66
	3		8.35	—	8.50	1.35	0.02	2.76													20.98
	4							2.28	2.79	0.09	0.05	0.07									5.28
	5								0.24	(0.73)		—	(0.96)								1.93
	合计	4.66	74.56	0.94	8.50	1.35	0.02	5.04	3.03	(0.87)		0.07	(0.96)								

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

低于最终结果表示的有效数字，可略去，于是由 (3) 得：MDD + DMD = 4.35.μmol 这里，仅有 DMD β 位有 M，由表十一中 β 位的 M 得：DMD = 2.08 μmol1.

于是：MDD = 4.35 − DMD = 4.35 − 2.08 = 2.27 μmol

由表七可知，该谱带总的甘油三酯含量是1.06%，于是：

$$\%SDD = [0.63/(+0.63+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06\% = 0.11\%$$

$$\%DSD = [0.32/(0.63+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06\% = 0.05\%,$$

$$\%SST = [0.60/(063+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06\% = 0.01\%,$$

$$\%STS = [0.39/(0.63+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06 \approx 0.07\%,$$

$$\%MDD = [2.27/(0.63+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06\% = 0.38\%$$

$$\%DMD = [2.08/(0.63+0.32+0.60+0.39+2.27+2.08)] \times 1.06\% = 0.35\%$$

其他各谱带的甘油三脂组成均同理计算。表十二列出了由此方法算得的牛油果脂、可可脂和代可可脂 Fandom 200 在各谱带的甘油三脂组成。牛油果脂有十六种，可可脂有十一种，代可可脂 Fandom 有十五种。它们最主要的甘油三酯都是 SMS。

牛油果脂与可可脂及代可可脂 Fandom 200 的比较。

以可可脂为基准 (1.00) 用“牛油果脂/可可脂/代可可脂 Fandom 200”的比值来表示，从表二数据得知，它们的主要组成酸 $C_{16:0}$ 是 0.19/1.00/0.60，$C_{18:0}$ 是1. 17/1.00/1. 02，$C_{18:1}$ 是 1.34/1.00/1.15；决定可可脂特性的主要甘油三酯 SMS 自表得知比值是 0.53/1.00/0.86，此外 SMM 是 4.94/1.00/2.24。可见在脂肪酸组成方面，代可可脂 Fandom 200 与可可脂比较接近，而牛油果脂与可可脂却有一定差别。在甘油酯组成上也存在类似情况。兹将本文所得的可可脂及牛油脂甘油三酯主要组成与 Hildicth 等 [51] 的数据列表于下。

表十三　可可脂与牛油果脂的甘油三酯组成(摩尔%)

	可　可　脂		牛　油　果　脂	
脂肪酸重量(%)	Hilditch	本　文	Hilditch	本　文
软　脂　酸	24.4	25.7	5.7	4.9
硬　脂　酸	35.4	36.2	4.10	42.4
花　生　酸	—	0.3	—	0.7
油　　酸	38.1	35.2	49.0	47.2
亚　油　酸	2.1	2.5	4.3	4.4
亚　麻　酸	—	微　量	—	0.2

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（续）表十三

甘油三酯(摩尔%)					
S_3		2.5	4.7	5	2.3
SMS	POS_t	52			
	POP	6.5	74.6		
	S_tOS_t	18.4		34	39.2
SM_2	S_tOO	12	9.9	45	42.0
	POO	8.4		11	
U_3			3.0	5	6.81

本文还检出少量的S_2D，SMD，SDM，SD_2等来列入表中。牛油果脂的SMS从两个不同数据都表明比可可脂的少得多，牛油果脂的SMS在40%以下，可可脂皆在75%左右，由于牛油果脂中软脂酸比可可脂的少得很多，只有可可脂的⅓而硬酯酸却比可可脂多，因此Hilditch数据中牛油果脂的SMS完全为S_tOS_t，同样情况亦存在我们的数据中。而可可脂中S_tOS_t任为POS_t的18.4/52。三者的熔点S_tOS_t>POS_t>POP。但牛油果脂中SM_2是可可脂的2.5至4倍，因此牛油果脂熔点仍与可可脂相近，但由于甘油三酯组份相差很大，用于巧克力上性质与可可脂不能相比，显得不适当，因此直接用牛油果脂于巧克仅任可代替很少一部份可可脂，尚若经过加工改变甘油酯组成，增加一些POS_t，与POP，减少一些StoSt SM_2则可能制出品质较高的代可可脂。Fandom 200组成可资参考。

本研究中得到上海食品工业研究所陈芳烈工程师提供牛油果、代可可脂和部份有关资料，无锡植物油厂提供可可脂。本院蒋雄图付教授，王荣民、沈若荃、裘爱咏讲师与姚金凤老师等的支持与协助，深致谢忱。

主 要 参 考 文 献

[1 1]Hilditch, T.P., et al., J. Chem, Soc., (1972)3106.
[2] Kartha, A.R.S. JAOCS, 30:326(1953).
[3] Dutton, H.J., et al., JAOCS., 27:25(1950).
[4] Baker, C.A., et al., J. Chem, Soc.(London)., 1956:2352.
[5] Magnusson, J.P., et al., JAOCS, 36:339(1959).
[6] Lucas, H.J. et al., J. Amer. Chem.Soc., 56:460)1934).
[7] Eberz, W.F. et al., ibid., 59:45(1937).
[8] Wiastein, S., et al., ibid., 60:836(1938).
[9] Nichols, P.L., ibid., 74:1091(1952).
[10] Dutton, H.J., et al., Chem. & Ind., (London). 1961:1874.
[11] de Vries, B., ibid., 1962:1049.
[12] Morris, L.J., ibid.. 1962:1238.
[13] Barrett, C.B., et al., JAQCS, 40:580(1963).
[14] Mattson, F.H., et al., J. Nutritio, 48:335(1952).
[15] Savary, P., et al., Biochim, Biophys. Acta., 21:349(1956);
(31:26(1956); 50:319(1961).

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[16] Mattson, F.H., et al., J. Biol. Chem, 214:115(1955); 219:735(1956).
[17] Gunstone, F.D. et al., JAOCS, 42:957(1965).
[18] Gunstone, F.D., et al., ibid., 42:961(1965).
[19] Blabk, M.L., et al., J. Dairy Sci, 47:481(1964).
[20] Blank, M.L., et al., JAOCS, 42:87(1965.
[21] Morley, N.H., et al., Lipids, 9:481(1975).
[22] IUPAC: "Standard Methods for the Analysis of oil, Fats and Derivatives," 6th ed. 2.210(1979).
[23] Bezard, et al., J. Chromatg., 10:451(1972).
[24] Luddy, F.E., et al., JAOCS, 41:693(1964).
[25] Stoffel, W., et al., Anal. Chem., 31:307(1959).
[26] IUPAC: "Standard Methods fof the Analysis of oil, Fats and Derivatives", 6th ed. 2.302(1976).
[27] IUPAC: "Standard Methods for the Analysis of oil, Fats and Derivatives", 6th ed. 1.122(1979).
[28] Kuksis, A. "Fatty Acids & Glycerides" (1979) P.363.
[29] William Horwitz, "Offical Metsods of Anaiysisof the Association of offical Analysis chemists.", 20th ed. 28.011(1975).
[30] Rcehm, J.N.et al., Lipids, 5:353(1970).
[31] Sampugna, J.et al., ibid., 3:519(1969).
[32] Morley, N.H., ibid., 9(7)481(1975).
[33] Noma, A., et al., Biochim. Biophys Acts, 227:106(1971).
[34] Brockerhoff, H., Biochim. Biophys Acta, 195(2):296(1968).
[35] Mattson, et al., J.Lipid Res., 9(1):79(1968).
[36] Savary, P. & Desnuelle, P., Biochem. Biophysica Acta,21:349(1956).
[37] Dutton, H.J., et al., JAOCS, 38:96(1961).
[38] Brockerhoff, H., et al., J.Lipid Res., 6:62(1966).
[39] Iverson, J.L. et al., J.ASSOC. off Anal.Chem., 52:685(1969).
[40] Sampugna, J., et al., Lipids, 4:444(1969).
[41] Kaufman. H.P. et al., Fette, Seifen, Anstrichmittel, 62:1014(1960).
[42] Malins, D.C. et al., JAOCS, 37:576(1960).
[43] Mangold, H.K., ibid., 38:708(1961).
[44] Blank, M.L. et al., ibid., 41:371(1964).
[45] Privett, O.S., et al., ibid., 38:312(1961).
[46] Kuksis, A., "Fatty Acids and Glycerides", (1978).P.4.
[47] 韩广甸等人编《有机制备化学手册》上卷 (1977) P.269.
[48] 吉林化学工业公司研究所编《气相色谱实用手册》 1980) P374.
[49] Coleman, M.H., JAOCS, 38:685(1961).
[50] Pollock, J.R.A., et al., "Dicctionary of Organic Compounds" (1965).
[51] Baileys Industrial Oil and Fat Products, Vol.1, 4th ed.1979, P.323.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The Determination of Component Triglycerides of Chinese Shea Butter

Tang Feng Wen Guang-yuan

Abstract

The triglycerides were separated into six bands by Ag^+/silica gel TLC with an eluent composed of n-hexane-diethyl ether-methanol-acetic acid (79:20:1:0.05v/v). Each fraction of the triglycerides recovered from the band was hydrolyzed by pancreatic lipase to the corresponding β-monoglycerides. The fatty acids of the triglycerides and β-monglcerides were determined by GLC in the form of methyl ester. From the fatty acid content of each the fraction the component triglycerides in each band were calculated.

Sixteen triglycerides were found, S_3, S_2U, SU_2, and U_3 are 2.3, 45.9, 45.0 and 6.8% respectively.

The shea butter containing 40% of oledisaturate different from that of cocoa butter quantitatively as well as qualitatively may be used as a partial substitute of cocoa butter or as a substitutive of cocoa butter provided that proper modification of the composition of glycerides is made.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net