

Research  
Agricultural Engineering—Article

## 高油酸油菜中甘油三酯的组成及结构研究

官梅<sup>a</sup>, 陈洪<sup>b</sup>, 熊兴华<sup>a</sup>, 吕昕<sup>b</sup>, 李柁<sup>a</sup>, 黄凤洪<sup>b,\*</sup>, 官春云<sup>a,\*</sup><sup>a</sup> Department of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China<sup>b</sup> Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430062, China

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 5 November 2015

Revised 5 February 2016

Accepted 26 May 2016

Available online 22 June 2016

## 关键词

油菜

脂肪酸

甘油三酯

位置异构体

## 摘要

植物油中甘油三酯 (TAG) 的脂肪酸组成及其在甘油主链上的位置决定了植物油脂的营养价值。本研究采用气相色谱法 (GC) 和高效液相色谱-串联质谱联用 (HPLC-MS/MS) 分析了不同油酸含量的甘蓝型油菜籽油的甘油三酯的脂肪酸组成和结构。结果表明: 高油酸油菜籽油的油酸含量为 80% 左右。TAG 酰基总碳数 (CN 值) 为 54 的甘油三酯的相对含量占 80% 以上。主要的甘油三酯为 OOO, 相对含量最高达 71.75%, 其次是 OOL 7.56%、OOLn 4.81% 和 SOO 4.74%。在高油酸的品种中油酸主要集中在甘油三酯上的 *sn*-2 位, 而在高芥酸品种中, 油酸主要集中在甘油三酯上的 *sn*-1/3 位置。结果表明, 高油酸油菜籽油是一种具有极高营养价值的植物油。

© 2016 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

## 1. 引言

随着老年化社会步伐加快, 预防心血管疾病、老年痴呆等慢性疾病对于全世界的医生来说是一个重要的议题。大量的研究表明, 脂质营养对心血管疾病的形成具有重要影响, 过度的脂肪摄入是诱发心血管疾病的重要原因。经比较发现, 摄取具有合理结构和功能的食用油能延缓心血管疾病等慢性疾病的发生, 不同来源的脂肪酸具有不同的碳链长度、双键数目以及双键位置, 因此表现出不同的化学和物理性质。油中高含量的脂肪酸(大约95%), 其组成、饱和度、链长以及在甘油三酯 (TAG) 脂肪酸双键的位置, 一段时间被认为与食用油的营养相关[1]。而且因为立体定向分布的可变性, 具有相同的结构和组成的脂肪酸对甘油三酯的吸收和新陈代谢

会产生不同的影响[2,3]。

随着不同脂肪酸酰化位置(stereospecific number, SN)测定技术的发展, 脂肪酸在甘油骨架上的位置能被有效地确定[4,5]。在甘油三酯中测定酰化脂肪酸的分布对于改良甘油三酯的结构很重要, 优化它的物理化学性质, 并且提高食用油的营养价值, 开发更健康的油供人类食用。改良油菜籽油的脂肪酸组成是油菜育种的一个重要目标[6], 之前成功培育了双低油菜(低芥酸、低硫苷)品种, 目前的研究集中在培育高油酸品种, 因为高油酸油可降低血液中低密度脂蛋白含量和胆固醇含量, 能有效降低心血管疾病的风险, 在某些研究中, 包括降低癌症发生的风险。此外, 高油酸油菜籽油具有较好的热稳定性, 不易氧化, 货架期较长。我们通过 $\gamma$ 60电离辐射获得了油酸含量在80%以上的高油酸油菜品种系[7-10]。经连续

\* Corresponding author.

E-mail address: [huangfh@oilcrops.cn](mailto:huangfh@oilcrops.cn); [guancy2011@aliyun.com](mailto:guancy2011@aliyun.com)

自交和对农艺性状的选择, 已培育出一些性状稳定的自交品系和品种。为弄清这些品系的甘油三酯的分子结构和营养品质, 特进行本研究。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

共采用6份材料, 样品1、2为高油酸材料(含油酸80%以上); 3、4为中油酸材料(含油酸60%左右), 即低芥酸材料; 5、6为低油酸材料(含油酸30%以下), 即高芥酸材料。以上材料均为湖南农业大学油料作物研究所提供的自交种子。

### 2.2. 实验方法

#### 2.2.1. 从油菜籽中萃取油

根据参考文献[4]中的方法萃取油。简单地说, 首先采用微玻璃槌使少量的油菜干种子变成颗粒大小小于0.5 mm的微粒均匀分布, 然后, 将这些样品放入2 mL装有石油醚的离心管, 放入微型离心机, 在45℃超声波水浴1.5 h萃取, 离心分离后, 通过液氮使石油醚蒸发, 使上清液干燥分离。

#### 2.2.2. 脂肪酸组成和甘油三酯脂肪酸酰基链总碳数(CN值)分析

甲酯化方法与参考文献[4]相同, 脂肪酸组成的分析根据ISO标准[4,5]下的动物和植物脂肪和油脂分类进行, 即脂肪酸甲酯的气相色谱分析法。我们采用气相色谱仪安捷伦7890A分析脂肪酸的组成, 毛细管色谱柱为安捷伦HP-FFAP(30 m×0.25 mm, 0.25 μm, 分离分析脂肪酸甲酯), FID检测器。甘油三酯脂肪酸的酰基链的总数目采用气相色谱仪安捷伦7890A分析, 瓦里安色谱柱VF-5ht(30 m×0.32 mm, 0.1 μm), FID检测器。

#### 2.2.3. 菜籽油中甘油三酯(TAG)组成含量的分析测定

甘油三酯定性分析方法根据参考文献[11]。简单地说, 菜籽油被溶解在大约65 mg·mL<sup>-1</sup>己烷中, 然后被乙腈(CAN)/含有0.5%氨的异丙醇(7:3, V/V)稀释到0.65 mg·mL<sup>-1</sup>。采用电喷雾(ESI)串联质谱, 中性丢失(NL)扫描模式, 并以增强产物离子(EPI)扫描模式辅助判断, 定量分析使用的仪器分析方法为高效液相色谱-串联质谱联用(HPLC-MS/MS), 色谱柱为Zorbax Eclipse Plus C18[150 mm×4.6 mm(内径), 粒径5 μm]。为了分离菜籽油中的甘油三酯, 溶剂A为100%乙腈, 溶剂B为含0.5%氨水的异丙醇, 以A和B为流动相, 使用如下梯度模式: 0~20 min, 70%~30% A; 20~23 min, 30% A; 23~23.1 min, 30%~70% A; 23.1~28.0 min, 70% A。流速: 1 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量: 20 μL; 柱温: 35℃。大气压化学电离(APCI), 多重反应离子监测(MRM)模式, 色谱柱为C18柱。串联四级杆线性离子阱质谱API 4000 Q-Trap购自美国AB Sciex公司; 色谱仪安捷伦1200系列HPLC系统购自美国安捷伦公司。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 菜籽油中脂肪酸的组成

使用HP-FFAP毛细管色谱柱GC-FID检测甲酯化处理的6种样品, 分析测试样品的脂肪酸组成及其相对百分含量。结果表明, 1、2号样品油酸含量为85.31%和74.67%, 为高油酸材料; 3、4号样品油酸含量为60.47%和64.90%, 为低芥酸材料(即中油酸材料); 5、6号样品油酸含量为23.05%和24.07%, 芥酸以及花生烯酸含量较高(即低油酸材料), 结果详见表1。

### 3.2. 菜籽油中甘油三酯脂肪酸酰基链总碳数的组成分析

使用VF-5ht毛细管色谱柱GC-FID检测6个菜籽油

表1 GC-FID分析甲酯化处理后的6种油中的脂肪酸组成及其相对百分含量

Composition	1	2	3	4	5	6
Palmitic acid (C16:0)	3.63%	4.03%	4.40%	5.28%	3.98%	3.68%
Stearic acid (C18:0)	2.32%	2.33%	1.72%	2.61%	1.85%	1.74%
Oleic acid (C18:1)	85.31%	74.67%	60.48%	64.90%	23.05%	24.07%
Linoleic acid (C18:2)	3.41%	11.74%	21.44%	18.91%	14.52%	14.30%
Linolenic acid (C18:3)	4.40%	6.20%	10.72%	8.30%	10.61%	10.24%
Eicosenoic acid (C20:1)	0.94%	1.03%	1.25%	—	15.32%	16.21%
Erucic acid (C22:1)	—	—	—	—	30.66%	29.76%

样品中的TAG的不同脂肪酸酰基链总碳数的分布及其相对百分含量,发现1~4号样本TAG的CN值主要为C52和C54,而5、6号样本TAG的CN值分布较宽(从C52到C62),结果详见表2。

### 3.3. 菜籽油中甘油三酯的组成及其相对百分含量

使用Shotgun MS中性丢失扫描模式(NL)以及高效液相色谱-质谱联用(LC-MS)的多重反应离子监测模式(MRM)的方法,对6种油进行定性和定量分析,一共鉴定出41种TAG分子,其中,高油酸样品(1、2号样品)和低芥酸样品(3、4号样品)中TAG分子种类为16种,高芥酸样本(5、6号样品)共鉴定出41种TAG分子,其相对百分含量见表3。

### 3.4. 菜籽油中甘油三酯的基本结构

菜籽油中甘油三酯几种基本结构的相对百分含量的计算结果见表4。

## 4. 讨论

高油酸油菜籽油具有优良的营养成分。从表1可看出,高油酸油菜籽油(1、2号样品)中除含有85.31%、74.67%油酸外,还含有亚油酸(3.41%、11.74%)、亚麻酸(4.40%、6.20%)、棕榈酸(3.63%、4.03%)、硬脂酸(2.32%、2.33%)以及少量花生烯酸。而常规高芥酸油菜籽油中长链脂肪酸花生烯酸和芥酸含量较高。

高油酸油菜籽油的甘油三酯主要有4种类型。我们育成的两个高油酸品种(1、2号样品)中甘油三酯的组成:U18/U18/U18分别占87.48%和88.09%;其次为S18/U18/U18,分别占4.74%、3.99%;第三为U18/S16/U18,分别占3.31%和3.30%;第四为U20/U18/U18,分别占3.41%和2.81%。另外,还有U18/S18/U18和S16/U18/U18,所占份额均在1%以下(仅样品2为1.4%)。可见高油酸品种甘油三酯的甘油主链上三个位置的酰基脂肪酸均为油酸,或至少有两个位置的酰基脂肪酸为油酸。

表2的结果表明,高油酸油菜(1、2号样品)和低芥酸油菜(3、4号样品)中甘油三酯酰基总碳数分布比较简单,主要是酰基总碳数为52和54的甘油三酯,且酰基总碳数为54的甘油三酯的相对含量占80%以上。表3的分析结果表明,酰基总碳数为54的甘油三酯主要为OOO。而高芥酸油菜(5、6号样品)中甘油三酯酰基总碳数分布相对较宽,且以酰基总碳数为56和58的甘油三酯为主,这是由于高芥酸菜籽中含有较高含量的花生烯酸

表2 GC-FID分析6种油中TAG酰基链总碳数组成及其相对百分含量

CN value	1	2	3	4	5	6
C52	12.73%	14.48%	17.10%	17.31%	7.04%	7.31%
C54	87.27%	85.52%	82.90%	82.69%	16.35%	15.74%
C56	—	—	—	—	26.57%	27.13%
C58	—	—	—	—	32.45%	33.06%
C60	—	—	—	—	12.69%	12.44%
C62	—	—	—	—	4.90%	4.32%

CN value: total number of acyl carbon atoms in fatty acid of TAG molecules. For example, the CN value for both the TAG 18:1/18:1/18:1 and TAG 18:0/18:2/18:2 are 54.

(C20:1)和芥酸(C22:1)所致。从表3的结果可以看出,高芥酸品种菜籽油中甘油三酯OOO的含量明显下降,而含有芥酸的甘油三酯的含量明显上升,这是酰基总碳数为54的甘油三酯的含量较低而酰基总碳数为56和58的甘油三酯的含量较高的原因。

在植物种子中,脂肪酸是甘油三酯生物合成的前体。甘油三酯是由1分子的甘油与3分子的脂肪酸通过酯键相结合而成[12,13]。油脂中脂肪酸组成决定了甘油三酯的种类[14]。表3的甘油三酯分析结果表明,高油酸油菜样品(1、2号样品)中OOO的相对含量为71.75%和60.19%,低芥酸油菜样品(3、4号样品)中OOO的相对含量为42.98%、49.21%,而高芥酸油菜样品(5、6号样品)中的OOO的相对含量低至5%左右,而GOEr、ErErO等的相对含量则有明显增加。从高油酸、低芥酸和高芥酸油菜籽油中含有油酸组分的甘油三酯的相对含量分布图(图1)中可以非常明显地看到,油酸含量对甘油三酯OOO的含量有着很大的影响。高油酸油菜籽油中OOO的相对含量要明显高于其在低芥酸菜籽油中的水平。从这个变化图中也可以看出由于低芥酸油菜籽油中含有较高的亚油酸(21.44%和18.91%),使得其甘油三酯OOL的含量要高于高油酸油菜籽油中的含量。从这个结果分析可以得知,正是由于高油酸油菜样品中有着高的油酸含量,使得其菜籽油中甘油三酯OOO的含量明显高于普通油菜。

与高油酸油菜相比,由于高芥酸油菜籽油中含有较高的亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3)、花生烯酸(C20:1)和芥酸(C22:1),所以甘油三酯的种类更为复杂,含有ErLnP、GGLn、ErLnO、OOG、ErLP、GGL、OLEr、ErLnG、ErLnL、SLEr、OOEr、ErLG、ErErLn、SOEr、GOEr、ErErL、ErErO等。针对这种情况,我们推测在高油酸样本中OOO的含量很高,从而导致油酸的高水平,而在高芥酸样本中,OOO含量很低,影响油酸水平的物质为GOEr、ErErO等,故而油酸的水平是总体低于芥酸的水平并受芥酸水平的影响。

表3 6种菜籽油中TAG的组成及其相对百分含量

Sequence	M/Z	TAG structure	CN:DB	ECN	TAG percentage (%)					
					1	2	3	4	5	6
1	895	OLnLn	54:7	40	0.21	0.39	1.07	0.57	0.31	0.22
2	895	LLLn	54:7		—	—	1.33	0.68	0.49	0.40
3	871	LnPL	52:5	42	—	—	—	—	0.28	0.21
4	897	LLnO	54:6		0.33	1.42	5.04	3.20	1.37	1.10
5	923	GLnLn	56:7		—	—	—	—	0.69	0.62
6	873	OPLn	52:4	44	0.57	0.62	1.00	0.75	0.58	0.52
7	899	LOL	54:5		2.82	3.72	8.72	6.62	1.75	1.48
8	899	OOLn	54:5		4.81	5.10	6.67	5.49	1.21	1.27
9	875	POL	52:3	46	0.77	1.40	2.31	2.01	1.07	0.98
10	901	LnPG	54:4		—	—	—	—	0.66	0.56
11	901	OSLn	54:4		0.29	0.41	0.51	0.45	0.33	0.27
12	901	OOL	54:4		7.56	17.27	23.08	22.80	1.68	1.46
13	927	GLnO	56:5		0.17	0.18	0.27	0.19	2.89	2.70
14	927	LLG	56:5		—	—	—	—	2.20	1.88
15	877	OPO	52:2	48	2.73	2.68	2.29	2.56	0.95	0.99
16	903	GLP	54:3		—	—	—	—	1.12	1.01
17	903	OOO	54:3		71.75	60.19	42.98	49.21	5.44	4.63
18	929	GLO	56:4		0.24	0.52	0.73	0.69	5.28	5.04
19	929	ErLnP	56:4		—	—	—	—	2.50	2.48
20	955	GGLn	58:5		—	—	—	—	4.02	3.55
21	955	ErLnO	58:5		—	—	—	—	7.37	6.89
22	905	SOO	54:2	50	4.74	3.99	0.00	—	0.00	0.00
23	905	GOP	54:2		—	—	2.27	3.00	1.78	1.73
24	931	OOG	56:3		3.00	2.11	1.73	1.78	10.10	10.88
25	931	ErLP	56:3		—	—	—	—	2.86	2.62
26	957	GGL	58:4		—	—	—	—	5.07	4.85
27	957	OLEr	58:4		—	—	—	—	8.50	9.09
28	983	ErLnG	60:5		—	—	—	—	1.16	2.07
29	933	OPEr	56:2	52	—	—	—	—	0.62	0.96
30	953	ErLnL	56:2		—	—	—	—	2.04	1.82
31	959	SLEr	58:3		—	—	—	—	5.80	6.64
32	959	OOEr	58:3		—	—	—	—	1.86	2.78
33	985	ErLG	60:4		—	—	—	—	2.21	2.22
34	1011	ErErLn	62:5		—	—	—	—	0.62	0.39
35	961	ErGP	58:2	54	—	—	—	—	0.09	0.10
36	961	SOEr	58:2		—	—	—	—	1.48	1.58
37	987	GOEr	60:3		—	—	—	—	6.49	8.11
38	1013	ErErL	62:4		—	—	—	—	1.52	1.79
39	989	ErGS	60:2	56	—	—	—	—	0.24	0.25
40	1015	ErErO	62:3		—	—	—	—	4.73	3.25
41	1015	ErGG	62:3		—	—	—	—	0.64	0.63

P: palmitic acid; S: stearic acid; O: oleic acid; L: linoleic acid; Ln: linolenic acid; G: eicosenoic acid; Er: erucic acid.  
ECN value = CN value - 2 × DB (double bonds) value. For example, for TAG 18:1/18:1/18:1, ECN = 54 - 2 × 3 = 48.

在不同的植物油中，TAG的脂肪酸是非随机分布的，Vichi等[1]研究表明橄榄油中不饱和脂肪酸，特别是多不饱和脂肪酸在TAG中的偏好性为 $sn-2 > sn-1 > sn-3$ 。我们育成的高油酸材料的油酸的TAG的含量分别是95%、91%和80%(1号样品)，这与Vichi等的研究一致。就Kennedy途径而言，高油酸材料的LPAT对油酸的亲和性比GPAT和DGAT要高。我们育成的高油酸品种的 $sn-3$ 位上没有检测到饱和脂肪酸(表3)，说明高油酸材

料中DGAT对饱和脂肪酸的亲和性不高。

相关文献研究表明，海甘蓝和高芥酸甘蓝型油菜油中的长碳链的芥酸主要位于甘油三酯的 $sn-1$ 、 $sn-3$ 位，而 $sn-2$ 位芥酸含量较低，因此一般认为难以从这些资源材料中育成芥酸含量大于66%的高芥酸品种[9]。油菜的DGAT转化卷心菜后能利用1,2-二芥酰甘油合成三芥酰甘油，而卷心菜的TAG的 $sn-3$ 位没有芥酸[10]。这也说明油菜DGAT具有转化芥酸的能力。高油酸材料就不存



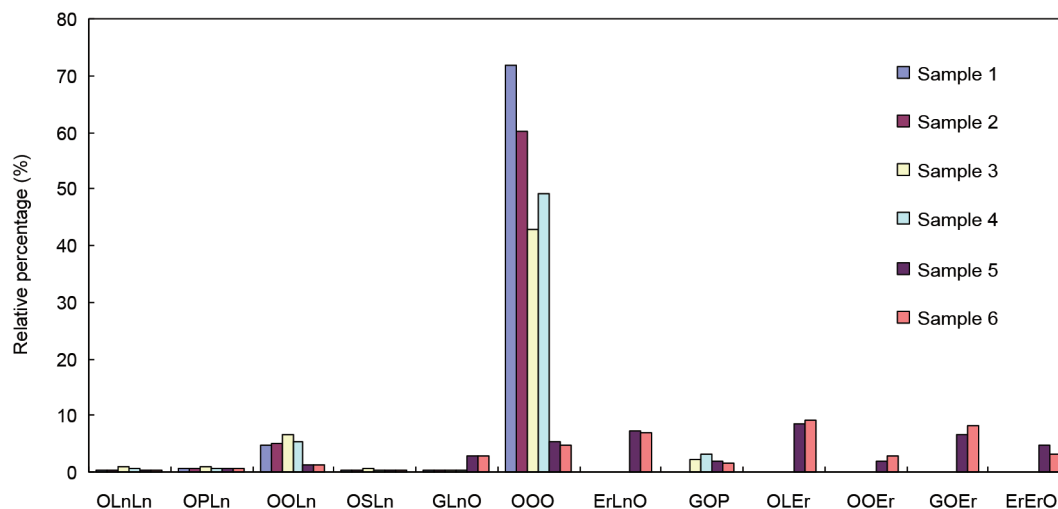


图1. 高油酸、低芥酸和高芥酸油菜籽油中含有油酸组分的甘油三酯的相对含量分布图

表4 6个样品几种基本结构的相对百分含量

Type	1	2	3	4	5	6
U18/U18/U18	87.48%	88.09%	88.90%	88.56%	12.25%	10.56%
U18/S18/U18	0.29%	0.41%	0.51%	0.45%	0.33%	0.27%
S18/U18/U18	4.74%	3.99%	0.00%	—	0.00%	0.00%
U18/S16/U18	3.31%	3.30%	3.28%	3.31%	1.53%	1.50%
S16/U18/U18	0.77%	1.40%	2.31%	2.01%	1.07%	0.98%
U20/U18/U18	3.41%	2.81%	2.73%	2.66%	18.28%	18.63%
U20/U18/S16	—	—	2.27%	3.00%	1.78%	1.73%
S18/U18/U22	—	—	—	—	21.48%	24.01%
U18/U22/U22	—	—	—	—	58.26%	60.13%
U18/U18/U22	—	—	—	—	20.26%	15.86%

S16: 16-carbon saturated fatty acid acyl; S18: 18-carbon saturated fatty acid acyl; U18: 18-carbon unsaturated fatty acid acyl; U20: 20-carbon unsaturated fatty acid acyl; U22: 22-carbon unsaturated fatty acid acyl.

在这个问题，在甘油三酯的 $sn$ -1/3和 $sn$ -2位置都能连接油酸分子，说明在油菜育种中进一步提高油酸含量是可能的，我们就曾获得油酸含量为93.50%的超高油酸油菜的育种材料。

## 致谢

本研究由引进国际先进农业科学技术计划(“948”计划)(2006-G04)和油料脂质化学与营养湖北省重点实验室开放基金项目支持。

## Compliance with ethics guidelines

Mei Guan, Hong Chen, Xinghua Xiong, Xin Lu, Xun Li,

Fenghong Huang, and Chunyun Guan declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

## References

- [1] Vichi S, Pizzale L, Conte LS. Stereospecific distribution of fatty acids in triacylglycerols of olive oils. *Eur J Lipid Sci Tech* 2007;109(1):72–8.
- [2] Li X, van Loo EN, Gruber J, Fan J, Guan R, Frentzen M, et al. Development of ultra-high erucic acid oil in the industrial oil crop *Crambe abyssinica*. *Plant Biotechnol J* 2012;10(7):862–70.
- [3] Ji SX, Wei F, Hu N, Lv X, Dong XY, Chen H, et al. Advances on analysis of triacylglycerols in plant oils based on chromatography methods. *J Instrumental Anal* 2014;33(1):112–8. Chinese.
- [4] Wei F, Gao GZ, Wang XF, Dong XY, Li PP, Hua W, et al. Quantitative determination of oil content in small quantity of oilseed rape by ultrasound-assisted extraction combined with gas chromatography. *Ultrason Sonochem* 2008;15(6): 938–42.
- [5] Wei F, Ji SX, Hu N, Lv X, Dong XY, Feng YQ, et al. Online profiling of triacylglycerols in plant oils by two-dimensional liquid chromatography using a single column coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A* 2013;1312:69–79.
- [6] Guan CY. Quality improvement and analysis method of rapeseed. Changsha: Hunan Science and Technology Press; 1985. Chinese.
- [7] Guan M, Li X, Guan CY. Microarray analysis of differentially expressed genes between *Brassica napus* strains with high- and low-oleic acid contents. *Plant Cell Rep* 2012;31(5):929–43.
- [8] Guan M, Li X. Study on inheritance law of oleic acid character on *Brassica napus*. *Life Sci Res* 2009;13(2):152–7. Chinese.
- [9] Guan CY, Liu CL, Chen SY, Peng Q, Li X, Guan M. High oleic acid content materials of rapeseed (*Brassica napus*) produced by radiation breeding. *Acta Agron Sin* 2006;32(11):1625–9. Chinese.
- [10] Taylor DC, Barton DL, Giblin EM, MacKenzie SL, Van Den Berg CG, McVetty PB. Microsomal lyso-phosphatidic acid acyltransferase from a *Brassica oleracea* cultivar incorporates erucic acid into the  $sn$ -2 position of seed triacylglycerols. *Plant Physiol* 1995;109(2):409–20.
- [11] Hu J, Wei F, Dong XY, Lv X, Jiang ML, Li GM, et al. Characterization and quantification of triacylglycerols in peanut oil by off-line comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Sep Sci* 2013;36(2):288–300.
- [12] Liu C, Xiao DW, Shi CL, Hu XF, Wu KB, Guan CY, et al.  $sn$ -glycerol-3-phosphate acyltransferases (GPATs) in plants. *Hereditas* 2013;35(12):1352–9. Chinese.
- [13] Snyder CL, Yurchenko OP, Siloto RM, Chen X, Liu Q, Mietkiewska E, et al. Acyltransferase action in the modification of seed oil biosynthesis. *N Biotechnol* 2009;26(1–2):11–6.
- [14] Li-Beisson Y, Shorrosh B, Beisson F, Andersson MX, Arondel V, Bates PD, et al. Acyl-lipid metabolism. *Arabidopsis Book* 2013;11:e0161.