

近红外光谱法结合化学计量学测定 油茶籽油中脂肪酸组成

张菊华, 朱向荣, 尚雪波, 帅 鸣

(湖南省农业科学院, 湖南省食品测试分析中心, 湖南 长沙 410125)

摘 要: 选择 97 个标称纯油茶籽油样品经过皂化、甲酯化后, 先经气相色谱分析得到脂肪酸组成相对含量, 然后利用透反射模式采集所有样品的近红外光谱, 采用偏最小二乘法(partial least squares analysis, PLS)建立油茶籽油的饱和脂肪酸($C_{16:0} + C_{18:0}$)、油酸($C_{18:1}$)和亚油酸($C_{18:2}$)相对含量的校正模型, 并将模型用于预测, 并对光谱预处理方法进行优化。结果表明: $C_{16:0} + C_{18:0}$ 、 $C_{18:1}$ 和 $C_{18:2}$ 的交叉验证均方根误差(root mean square error in cross-validation of prediction, REMSECV)分别为 0.143、0.448、0.392, 预测均方根误差值(root-mean-square error value, RMSEP)分别为 0.180、0.598 和 0.269, 上述 3 种成分预测集相关系数(R_p^2)依次分别为 0.996、0.999 和 0.999。近红外光谱法可作为一种快速、无损和准确的方法用于测定油茶籽油的脂肪酸组成, 从而鉴别纯油茶籽油的真伪。

关键词: 油茶籽油; 近红外光谱(NIRS); 化学计量学; 脂肪酸组成; 相对含量

Analysis of Fatty Acid Profile of Camellia Oil by Near-infrared Spectroscopy and Chemometrics

ZHANG Ju-hua, ZHU Xiang-rong, SHANG Xue-bo, SHUAI Ming

(Hunan Food Test and Analysis Centre, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: In the present work, after being saponified and methyl esterified, the fatty acid composition of 97 camellia oil samples was analyzed by gas chromatography. Meanwhile, the near-infrared spectra of all samples were acquired in the transreflection mode. Calibration models for the relative contents of saturated fatty acids ($C_{16:0} + C_{18:0}$), oleic acid ($C_{18:1}$) and linoleic acid ($C_{18:2}$) were established by partial least-squares regression method were applied. Additionally, the pretreatment of spectra was optimized. The results showed that the root mean square errors of cross-validation (RMSECV) for $C_{16:0} + C_{18:0}$, $C_{18:1}$ and $C_{18:2}$ were 0.180, 0.598 and 0.269, respectively. The root-mean-square errors of prediction (RMSEP) for $C_{18:0}$, $C_{18:1}$ and $C_{18:2}$ were 0.180, 0.598 and 0.269, respectively. The correlations of determination (R_p^2) of the three components were 0.996, 0.999 and 0.999, respectively. These findings indicate that near-infrared spectroscopy can be used to identify the authenticity of camellia oil as a simple, rapid, nondestructive and reliable method for analyzing fatty acid profile.

Key words: camellia oil; near infrared spectroscopy (NIRS); chemometrics; fatty acid composition; relative percentage

中图分类号: TS227

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)18-0205-04

茶油全称是油茶籽油, 是油茶树(*Camellia oleifera* Abel)所产富含脂肪的种子经压榨或浸提得到的植物油脂, 因此有“东方橄榄油”、“油王”及“油中珍品”等称号^[1]。茶油的高营养价值与其脂肪酸组成有关, GB 11765—2003《油茶籽油》中列出了茶油的主要脂肪酸组成, 即油酸($C_{18:1}$)74%~87%、亚油酸($C_{18:2}$)7.0%~14%、饱和酸 7%~11%。其中饱和脂肪酸为棕

榈酸和硬脂酸^[2]。茶油中油酸的含量为天然植物油中之冠; 含有的亚油酸、亚麻酸等多不饱和脂肪酸为人体生长和生理活动不可缺少的必需脂肪酸, 茶油食用后人体的消化吸收率达 97%; 茶油富含生理活性物质甾醇、生育酚、角鲨烯等, 对提高人体抗病能力, 延缓衰老有重要作用^[3]。联合国粮农组织把它列为首推的食用油料作物加以推广, 它的市场价格大约是普通食用油的 3~6

收稿日期: 2010-11-15

基金项目: 湖南省农业科学院科技创新项目(2009hnnkycx29)

作者简介: 张菊华(1971—), 女, 副研究员, 硕士, 主要从事食品加工和食品分析研究。E-mail: zhangjuhua99@163.com

倍。因此,一些不法商人将油茶籽油用廉价的大豆油、棕榈油和菜籽油等掺杂,掺杂油的营养特性发生变化,但消费者很难识别。

GB 11765—2003采用油茶籽油的特征指标——脂肪酸组成,作为油茶籽油真实属性的主要判定依据。油脂脂肪酸组成测定国家标准 GB/T 17377—2008《动植物油脂:脂肪酸甲酯的气相色谱分析》及相关文献^[2,4]主要采用传统的气相色谱法,色谱法定量成本较高,耗时且对样品具有破坏性,同时对实验操作人员技术要求较高。这些缺点限制了对大批量样品脂肪酸组成的测定,所以有必要寻找一种简单、快速、准确定量分析油茶籽油脂肪酸组成的方法保证茶油品质。在近红外光谱(near infrared spectroscopy, NIRS)法测定油脂脂肪酸组成方面,国内外已经有部分研究报道^[5-9],然而,尚未见到NIRS用于油茶籽油中脂肪酸组成快速测定的报道。因此,本研究主要是针对国家标准中规定(符合市场流通习惯)的油茶籽油脂肪酸组成要求,采用NIRS结合化学计量学方法测定其含量,从而达到快速鉴别油茶籽油的真实属性。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

97个样品(产自湖南、江西、广西、上海、北京),包括油茶籽原油(19个,由常德当地农户提供);标称的油茶籽油(78个,部分样品购于长沙、常德市、益阳市、武汉、北京各大超市,部分样品从广西、江西等地网购)。

脂肪酸甲酯标样[包括油酸甲酯(CAS 0000112629)、亚油酸甲酯(CAS 0000112630)、棕榈酸甲酯(CAS 0000112390)和硬脂酸甲酯(CAS 0000112618)] 美国Sigma-Aldrich公司;甲醇(色谱纯) 美国Tedia公司;异辛烷(色谱纯) 天津市科密欧化学试剂有限公司;KOH(分析纯) 汕头市西陇化工有限公司;NaHSO₄(分析纯) 上海市振兴化工有限公司。

2010气相色谱仪(包括自动进样器进样口、柱温箱、FID检测器及GC SOLUTION数据处理工作站) 日本Shimadzu公司; Nicolet Antaris II傅里叶变换近红外光谱仪(配有积分球漫反射采样系统、InGaAs检测器、Omnice7.3光谱采集软件) 美国Thermo公司;金反射板的样品杯 丹麦FOSS公司。采用Matlab7.8软件(Mathwork Inc.)进行数据处理。

1.2 方法

1.2.1 气相色谱条件

气相色谱前处理方法:采用GB/T 17376—2008《动植物油脂脂肪酸甲酯制备》。称取油样60mg于10mL具塞试管中,用移液管移取4mL异辛烷溶解试样,再用

微量移液管加入200μL氢氧化钾甲醇溶液(2mol/L),盖上玻璃塞剧烈振摇30s后静置至澄清。向溶液中加入约1g硫酸氢钠,剧烈振摇,中和氢氧化钾。待盐沉淀后,将上层甲酯溶液倒入进样瓶中上GC分析。

气相色谱条件:色谱柱为RTX-WAX(30m×0.25mm, 0.25μm);进样口温度:250℃;柱流速:氮气1.1mL/min;程序升温:170℃保持0.5min,升温速度为12℃/min,终温230℃保持21min;检测器氢火焰离子化(flame ionization detector, FID):280℃;氢气流速:40.0mL/min;空气流速:400mL/min;尾吹:30.0mL/min;分流进样:分流比30:1。

1.2.2 近红外光谱方法

NIRS采用透反射检测系统,扫描波数10000~4000cm⁻¹,扫描次数32次,分辨率8cm⁻¹,以内置背景为参照。每批样品4次平行实验,取其平均光谱。在样品杯中置入3mL样品,然后用金反射板小心盖压在样品杯中,在盖压过程中避免气泡压入。所用透反射光程为0.1mm,以消除气泡对光程的影响。每次采集光谱之后,依次用洗涤剂、自来水以及蒸馏水将样品杯与金反射板洗净,然后用电风吹干,待用。

2 结果与分析

2.1 纯茶籽油脂肪酸组成的测定

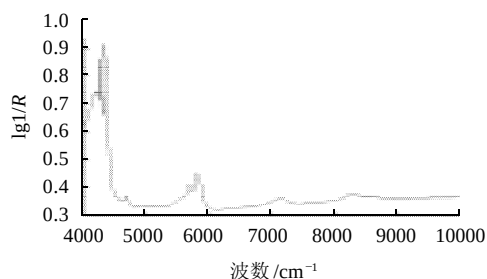


图1 样品近红外光谱图

Fig.1 NIR spectrum of a typical camellia oil sample

图1为油茶籽油代表性样本的近红外光谱图,记录10000~4000cm⁻¹波数范围内样本的NIR光谱。光谱范围4500~4800cm⁻¹是顺式双键的—C—H伸缩振动组合频,此范围的峰强度随着总不饱和度的增加而增加;在5500~6000cm⁻¹光谱范围的吸收峰是由油脂中的—CH₂、—CH₃和—CH=CH—官能团的—C—H伸缩振动的第一组合频产生的;在7100~7400cm⁻¹光谱范围是由油脂中的—CH₂和—CH₃官能团的—C—H伸缩振动的二级倍频产生的;在8000~9000cm⁻¹光谱范围是由油脂中的—CH₂、—CH₃和—CH=CH—官能团的—C—H伸缩振动的第二组合频产生的^[10]。Westad等^[11]报道了油脂

中不同脂肪酸所属的近红外光谱波数, 饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)位于 5682cm^{-1} 、 $\text{C}_{18:1}$ 位于 5797cm^{-1} 、 $\text{C}_{18:2}$ 位于 5824cm^{-1} 、 $\text{C}_{18:3}$ 位于 5868cm^{-1} 。

本实验收集 97 个标称油茶籽油样品(其中部分为掺杂茶油), 首先通过上述已经优化好的样品预处理方法以及气相色谱条件测定这些样品中饱和脂肪酸($\text{C}_{16:0}$ + $\text{C}_{18:0}$)、不饱和脂肪酸 $\text{C}_{18:1}$ 、 $\text{C}_{18:2}$ 的相对含量。油茶籽油脂肪酸各组分色谱图如图 2 所示。

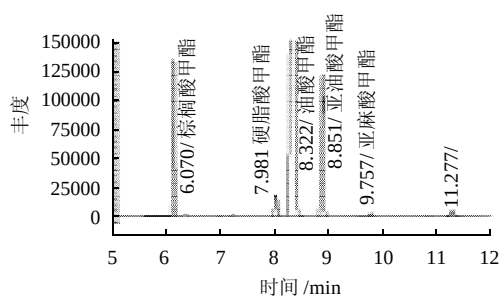


图 2 样品的脂肪酸组成色谱图

Fig.2 Chromatogram of fatty acid composition of camellia oil sample

2.2 油茶籽油脂肪酸含量的近红外模型建立

Kernard-Stone(KS)法是把所有的样本都看作训练集候选样本, 依次从中挑选部分样本进入训练集^[12-13]。本实验采用 KS 法将样品集分为校正集和验证集两部分。校正集样品用来建立样本脂肪酸含量模型, 验证集用以检验所建模型的效果。

表 1 饱和脂肪酸、油酸、亚油酸的 PLS 模型建立结果

Table 1 PLS model parameters for saturated fatty acids, oleic acid and linoleic acid obtained from raw and pretreated spectra

	饱和脂肪酸	油酸	亚油酸
主成分数	20	19	20
原始光谱			
REMSECV	0.159	0.533	0.418
RMSEP	0.183	0.641	0.355
R_p^2	0.989	0.999	0.999
光谱预处理方法	一阶微分、MSC*、一阶微分、MSC*、二阶微分、Norris 平滑	一阶微分、MSC*、一阶微分、MSC*、二阶微分、Norris 平滑	一阶微分、MSC*、一阶微分、MSC*、二阶微分、Norris 平滑
光谱预处理后			
主成分数	13	14	8
REMSECV	0.143	0.448	0.392
RMSEP	0.180	0.598	0.269
R_p^2	0.996	0.999	0.999

采用偏最小二乘法^[14](partial least squares analysis, PLS)建立上述 3 种脂肪酸含量的全光谱数学模型, 并进行预测; 同时, 采用平滑、一阶微分(first derivative)、二阶微分(second derivative)和多元散射校正(multiplicative scatter correction, MSC)等方法对光谱进行预处理。一阶微分可以去除同波长无关的漂移, 二阶微分可以去除

同波长线性相关的漂移^[15]。多元散射校正后得到的光谱数据可以有效地消除散射影响, 增强与成分含量相关的光谱吸收信息^[16]; Norris 平滑是滤去噪音信号最常用的方法。通过优化, 本实验分别确定了饱和脂肪酸、油酸、亚油酸 NIR 模型最佳光谱预处理方式。模型性能采用主成分数(principal component, PC)、交叉验证均方差(root mean square error in cross-validation, RMSECV)、预测均方差(root mean square error value of prediction, RMSEP)和验证集相关系数(R_p^2)4 个指标来共同评价。

由表 1 可以看出, 原始光谱经过光谱预处理方法处理后, 饱和脂肪酸、油酸和亚油酸的主成分数都相应地减少, 这样有效地降低了模型的过拟合风险。同时, 处理后的上述 3 种成分的 NIR 模型的 RMSECV 和 RMSEP 值都减小, 这说明本实验采用的预处理方法有效性。

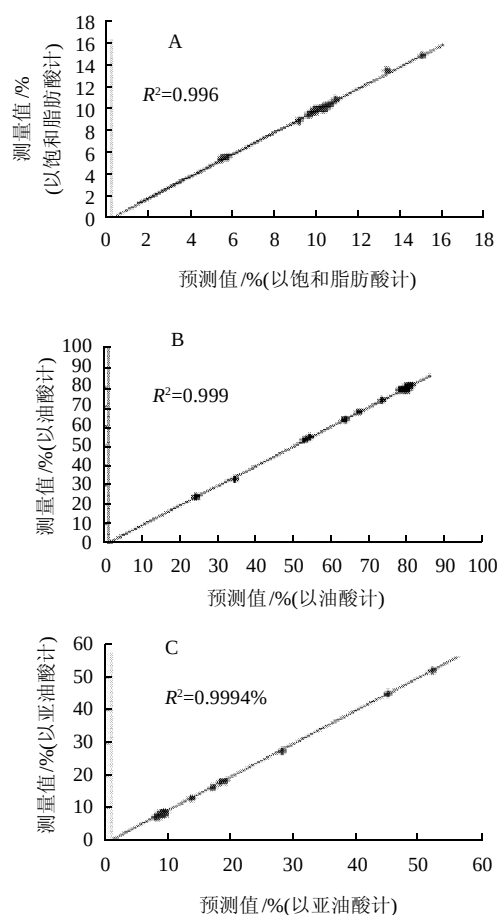


图 3 饱和脂肪酸(A)、油酸(B)和亚油酸(C)的测量值与预测值相关图

Fig.3 Correlation between predicted and measured values of saturated fatty acids, oleic acid and linoleic acid contents

由图 3 可知, 采用气相色谱法测定的油茶籽油总饱和脂肪酸、油酸、亚油酸含量化学值与近红外光谱预测值之间存在较好的线性关系, 总饱和脂肪酸、油酸、亚油酸相关系数分别为 0.996、0.999、0.999, 相关性

显著。这说明上述方法建立的油茶籽油脂肪酸组成相对含量的近红外光谱模型是可行的,能够较好地测定油茶籽油中饱和脂肪酸、油酸、亚油酸的相对含量。

2.3 预测模型对样品的分析

表2 样品脂肪酸组成测量值与预测值的比较

Table 2 Predicted and instrumentally determined fatty acid composition of camellia oil %

样品号	饱和脂肪酸相对含量			油酸相对含量			亚油酸相对含量		
	测量值	预测值	相对误差	测量值	预测值	相对误差	测量值	预测值	相对误差
1	8.94	9.02	0.89	53.2	52.6	-1.12	27.6	27.8	0.72
2	9.99	9.82	-1.70	80.8	81.2	0.49	7.28	7.28	0
3	10.3	10.3	0	79.3	79.6	0.37	8.06	8.87	10.0
4	10.3	10.4	0.97	79.1	79.6	0.63	8.78	8.94	1.82
5	13.6	13.3	-2.2	33.2	33.9	2.10	45.3	44.9	-0.88
6	10.1	10.3	1.98	79.0	78.8	-0.25	8.57	8.79	2.56
7	10.4	10.5	0.96	78.9	78.2	-0.88	8.68	8.71	0.34
8	10.0	9.86	1.40	80.8	80.3	-0.61	7.28	7.68	5.49
9	10.1	10.2	0.99	80.6	79.9	-0.86	7.56	8.14	7.67
10	10.5	10.6	0.95	67.5	67.2	-0.44	16.4	16.7	1.82
11	10.9	10.8	-0.91	73.4	73.4	0	13.1	13.2	0.76
12	5.54	5.59	0.90	63.4	63.2	-0.31	18.2	18.0	-1.09
13	5.42	5.34	-1.47	54.3	54.0	-0.55	18.5	18.6	0.54
14	15.0	15.0	0	23.8	23.7	-0.42	52.6	52.4	-0.38
15	10.1	9.92	-1.78	79.4	79.7	0.37	8.54	8.22	-3.74
16	9.71	9.66	-0.51	79.7	79.6	-0.12	8.50	8.35	-1.76
17	9.59	9.61	0.20	80.2	80.0	-0.24	7.82	7.98	2.04
18	9.56	9.52	-0.41	79.7	80.1	0.50	8.56	8.13	-5.02
19	9.81	9.84	0.30	78.7	80.1	1.77	8.01	7.91	-1.24
20	10.1	10.1	0	80.3	80.8	0.62	7.98	7.69	-3.63

本实验分别采用气相色谱法和NIRS建立油茶籽油样品饱和脂肪酸、油酸、亚油酸建立NIRS模型,预测20个油茶籽油样品中饱和脂肪酸、油酸和亚油酸含量,结果见表2。饱和脂肪酸、油酸和亚油酸的NIR模型预测误差范围分别为 $\pm 2.2\%$ 、 $\pm 2.1\%$ 、 $\pm 10\%$ 。亚油酸预测误差比饱和脂肪酸和油酸要大,这可能是由于所收集的样本中亚油酸含量梯度较大,最高含量是最低含量的7~8倍,数据的不均衡性可能对模型预测的结果产生影响,直接导致个别样本的预测偏差稍大。但3种成分预测集偏差较低,这表明采用NIR法建立并预测油茶籽油中饱和脂肪酸、油酸和亚油酸相对含量方法是可靠的。

3 结 论

本实验采用近红外光谱技术结合化学计量学方法建

立PLS模型,用于油茶籽油脂肪酸组成含量测定。结果表明,NIR法可以作为一种简单、可靠、快速、准确和无损的检测方法定量分析油茶籽油中饱和脂肪酸、油酸和亚油酸组分,从而达到鉴别油茶籽油的真实属性目的。本研究可在原茶油收购、市场上油茶籽油真伪鉴别及油脂工业茶油品质的现场检测上加以广泛应用。

参考文献:

- [1] 柏云爱,宋大海,张富强,等.油茶籽油与橄榄油营养价值的比较[J].中国油脂,2008,33(3):39-41.
- [2] 郭华,周建平,罗军武,等.茶籽油的脂肪酸组成测定[J].中国油脂,2008,33(7):71-73.
- [3] 刘玉兰,汪学德.油脂制取工艺学[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [4] 钟红英,徐炎.茶叶籽油理化特性及脂肪酸组成初步研究[J].粮食与油脂,2010(4):22-23.
- [5] 柴玉华,谭克竹.基于近红外分析技术检测大豆脂肪酸含量的研究[J].农业工程学报,2007,23(1):238-241.
- [6] 于燕波,臧鹏,付元华,等.近红外光谱法快速测定植物油中脂肪酸含量[J].光谱学与光谱分析,2008,28(7):1554-1558.
- [7] 徐永群,汤俊明.近红外光谱法定量分析亚麻油中的主要成分[J].河南科学,2002,20(3):245-248.
- [8] WU Di, CHEN Xiaojing, SHI Pinyan, et al. Determination of α -linolenic acid and linoleic acid in edible oils using near-infrared spectroscopy improved by wavelet transform and uninformative variable elimination [J]. Analytica Chimica Acta, 2009, 634: 166-171.
- [9] CHRISTY A A, EGEBERG P K. Quantitative determination of saturated and unsaturated fatty acids in edible oils by infrared spectroscopy and chemometrics[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2006, 82(1/2): 130-136.
- [10] HOURANT P, BAETEN V, MARIA T, et al. Oil and fat classification by selected bands of near-infrared spectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2000, 54(8): 1168-1174.
- [11] WESTAD F, SCHMIDT A, KERMIT M. Incorporating chemical band-assignment in near infrared spectroscopy regression models[J]. Journal of Near Infrared Spectrosc, 2008, 16(3): 265-273.
- [12] KENNARD R W, STONE L A. Computer aided design of experiments [J]. Technometrics, 1969, 11(1): 137-148.
- [13] PRADOVA V, WALCZAK B, MASSART D L, et al. A comparison of two algorithms for warping of analytical signals[J]. Analytical Chimica Acta, 2002, 456(1): 77-92.
- [14] 陆婉珍.现代近红外光谱分析技术[M].北京:中国石化出版社,2006.
- [15] 梁逸增,俞汝勤.分析化学手册(第十分册):化学计量学[M].北京:化学工业出版社,2000.
- [16] HELLAND I S, NAES T, ISAKSSON T. Related versions of the multiplicative scatter correction method for preprocessing spectroscopic data[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 1995, 29(2): 233-241.