

利用核磁共振法定量分析植物油中多种脂肪酸及水含量

李添宝, 吴越, 罗敬

(湖南师范大学化学与化工学院, 湖南 长沙 410081)

摘要: 采用核磁共振波谱分析技术, 归属了植物油中亚麻酸、亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸甘油酯、饱和脂肪酸甘油酯及水的核磁共振质子谱的主要特征峰。在无需预处理条件下, 以苯甲酸作为内标, 对植物油中各种脂肪酸及水进行定量分析, 加标回收率可达98%~102%。亚麻酸、亚油酸、油酸、总饱和脂肪酸、水的精密度分别为0.11%、0.12%、0.68%、0.70%、2.65%。该法取样量少、无需昂贵的标样, 可直接快速定量, 结果准确, 可为植物油的质量标准研究提供一种简单可行的新方法。

关键词: 核磁共振; 不饱和脂肪酸; 饱和脂肪酸; 水

Quantitative Analysis of Fatty Acids and Water in Vegetable Oils by Nuclear Magnetic Resonance

LI Tian-bao, WU Yue, LUO Jing

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: The main characteristic peaks of linolenic, linoleic, oleic acid, saturated fatty acids and water in vegetable oils were analyzed by ^1H -NMR spectroscopy. Benzoic acid was selected as an internal standard to quantify the contents of linolenic, linoleic, oleic acid, saturated fatty acids and water in vegetable oils by this method without any pretreatment. The recoveries were 98%–102% with RSD of 0.11%, 0.12%, 0.68%, 0.70% and 2.65% for linolenic, linoleic, oleic acid, total saturated fatty acids and water, respectively. The contents of linolenic, linoleic, oleic acid, total saturated fatty acids and water can be determined directly and accurately with less sample consumption and without using expensive standards. This new method is simple and applicable for studying quality standards for vegetable oils.

Key words: nuclear magnetic resonance (NMR); unsaturated fatty acid; saturated fatty acids; water

中图分类号: O65

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 16-0212-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201416041

市场上常见的植物油主要是由多种不饱和脂肪酸和饱和脂肪酸混合脂肪酸的甘油酯组成, 在测定植物油里各脂肪酸含量的方法中, 最常用的方法有气相色谱法^[1-4], 气相色谱-质谱联用法^[5-8], 但这些方法存在许多问题, 比如: 测定之前繁琐的甲酯化预处理, 长链碳的酯不容易气化, 不饱和脂肪酸酯的热不稳定性, 绘制标准曲线的复杂, 标准样品的昂贵等, 这些都造成了在检测食用油中脂肪酸时步骤繁多, 样品用量大, 耗时长, 结果也不一定准确。

目前, 利用核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR) 定量分析植物油中亚麻酸、亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸、总饱和脂肪酸以及水含量的方法研究很少^[9-15]。本实验通过核磁共振技术, 在对原料无需任何预处理的情况下, 通过分析各种植物油的 ^1H -NMR谱, 归属了植物油中亚麻酸、亚油酸、油酸等不饱和脂肪酸、饱和脂肪酸

以及水等的质子特征峰, 并且以苯甲酸为内标, 测定了以上各种物质的含量及方法的精密度, 通过加标回收率验证方法的准确性。同时增加对比实验, 利用气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 联用仪检测各种植物油, 通过面积归一化法测出各植物油中亚麻酸、亚油酸、油酸和饱和脂肪酸的含量, 也验证了该方法准确可靠。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

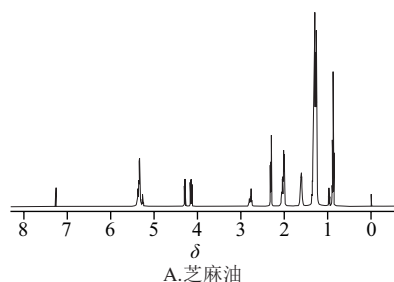
9种常见植物油 (紫苏籽油、芝麻油、大豆油、菜籽油、橄榄油、玉米油、花生油、茶油、葵花籽油)、氘代氯仿 青岛腾龙微波科技有限公司; 苯甲酸 成都化学试剂厂; 油酸甲酯 美国Sigma公司; 无水乙

收稿日期: 2013-10-21

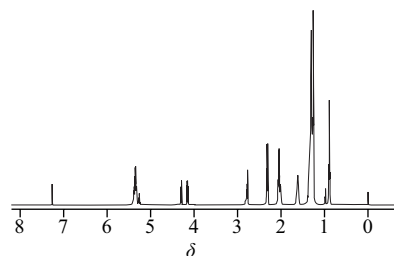
作者简介: 李添宝 (1965—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为色谱与波谱分析。E-mail: ltbsir@yahoo.com.cn

甲基上的1号H; $\delta=2.02$ 归属为与—C=C双键相邻的亚甲基上的4号H; $\delta=1.60$ 归属为与—C=O相隔一个—CH₂的亚甲基上的2号H, 其油中微量水的质子峰也在该处; $\delta=1.29$ 为—CH₂上的3号H; 因为受到双键个数的影响, $\delta=0.96$ 归属为亚麻酸末端—CH₃上的7号H, 而 $\delta=0.85$ 为其余的脂肪酸末端—CH₃上的8号H^[6]。

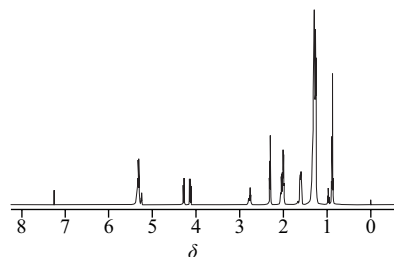
芝麻油、大豆油、菜籽油、橄榄油、玉米油、花生油、茶油、葵花籽油¹H-NMR图谱见图3。



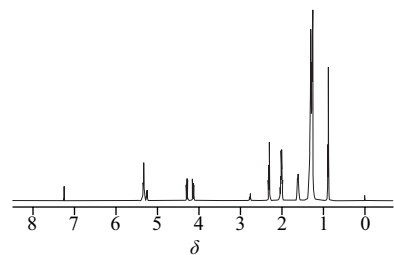
A. 芝麻油



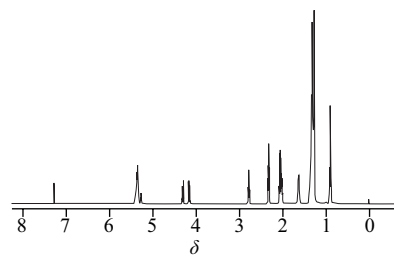
B. 大豆油



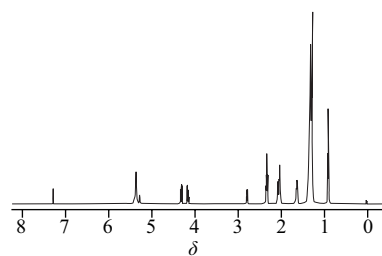
C. 菜籽油



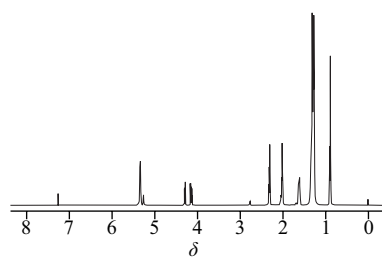
D. 橄榄油



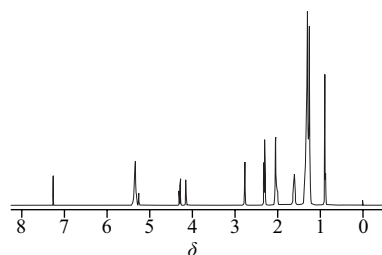
E. 玉米油



F. 花生油



G. 茶油



H. 葵花籽油

图3 8种植物油的¹H-NMR谱Fig.3 ¹H-NMR spectra of eight kinds of vegetable oils

2.2 脂肪酸及水含量的计算

利用吸收峰面积与氢质子数成正比, 通过加入苯甲酸作为内标能准确算出亚麻酸、亚油酸、油酸、饱和脂肪酸及水的含量。根据上述对各质子峰的归属, 可以看出 $\delta=0.96$ 的7号H的为亚麻酸末端—CH₃的特征峰; $\delta=2.78$ 的6号H包含了亚油酸和亚麻酸; $\delta=5.32$ 的5号H包含了油酸、亚油酸和亚麻酸。

按公式(1)计算亚麻酸的峰面积:

$$A_{\text{亚麻酸}} = A_{7\text{号H积分值}} \quad (1)$$

按公式(2)计算亚油酸的峰面积:

$$A_{\text{亚油酸}} = A_{6\text{号H积分值}} - A_{\text{亚麻酸}} \times 4/3 \quad (2)$$

按公式(3)计算油酸的峰面积:

$$A_{\text{油酸}} = A_{5\text{号H积分值}} - A_{\text{亚麻酸}} \times 2 - A_{\text{亚油酸}} \times 2 \quad (3)$$

按公式(4)计算所含水的峰面积: $\delta=1.60$ 的峰面积为6个2号H的面积和微量水的氢的面积之和, 所以总面积减去6后, 剩下的为水的峰面积。

$$A_{\text{水}} = A_{2\text{号H积分值}} - 6 \quad (4)$$

$$m_{\text{S}} = \frac{A_{\text{S}}/n_{\text{S}}}{A_{\text{R}}/n_{\text{R}}} \times \frac{M_{\text{S}}}{M_{\text{R}}} \times m_{\text{R}} \quad (5)$$

式中： m_s 为样品质量/g； A_s 为样品质子吸收峰面积； n_s 为样品吸收峰所包含质子数； m_R 为内标物质量/g； A_R 为内标物吸收峰面积； n_R 为内标物吸收峰所包含质子数； M_s 为样品摩尔质量/(g/mol)； M_R 为内标物摩尔质量/(g/mol)；S为脂肪酸；R为苯甲酸。

$$m_{\text{饱和脂肪酸}} = m_{\text{总脂肪酸}} - m_{\text{亚麻酸}} - m_{\text{亚油酸}} - m_{\text{油酸}} \quad (6)$$

$$m_{\text{水}} = \frac{A_{\text{水}}/n_{\text{水}}}{A_{\text{R}}/n_{\text{R}}} \times \frac{M_{\text{水}}}{M_{\text{R}}} \times M_{\text{R}} \quad (7)$$

按公式(8)、(9)计算各种植物油中各脂肪酸及水的含量：

$$W_{\text{脂肪酸}}/\% = \frac{m_{\text{脂肪酸}}}{m_{\text{总}}} \times 100 \quad (8)$$

$$W_{\text{水}}/\% = \frac{m_{\text{水}}}{m_{\text{总}}} \times 100 \quad (9)$$

根据上述计算方法，分别计算出各种植物油中各脂肪酸及水的含量，结果见表1。

表1 植物油中各种脂肪酸及水的含量

Table 1 Contents of fatty acids and water in vegetable oils

食用油种类	亚麻酸	亚油酸	油酸	饱和脂肪酸	水
紫苏籽油	59.54	15.63	17.23	7.48	0.12
芝麻油	12.07	14.71	68.01	5.12	0.09
大豆油	8.01	51.98	19.39	20.65	0.17
菜籽油	10.00	12.03	63.33	14.64	0.16
橄榄油	0	14.08	74.54	11.38	0.02
玉米油	0	50.41	33.50	16.09	0.13
花生油	0	23.54	55.77	20.70	0.02
茶油	0	7.08	84.92	8.00	0.06
葵花籽油	0	59.48	22.94	17.58	0.09

从表1得到，在常见的植物油里紫苏籽油中亚麻酸和饱和脂肪酸含量最高，葵花籽油中亚油酸最高，茶油中油酸含量最高，其中大豆油中水的含量最高。

2.3 回收率

称取大豆油约70 mg，分别添加28.2、62.4、77.5 mg 油酸甲酯标准样品，约18 mg苯甲酸作为内标，充分摇匀后测定，通过计算油酸甲酯的量与实际添加的量进行比较，得出回收率，结果见表2。

表2 回收率实验结果

Table 2 Results of recovery tests

测定结果/mg	添加量/mg	回收率/%
27.71	28.2	98.26
63.53	62.4	101.81
76.13	77.5	98.23

3次测得的回收率分别为98.26%、101.81%、98.23%，回收率较高，表明该方法能够准确地测量出样品的含量，结果可靠。

2.4 精密度

表3 精密度计算结果

Table 3 Results of precision tests

物质	测定结果/% (n=6)						平均值/%	标准偏差/%	相对标准偏差/%
亚麻酸	8.01	7.99	8.01	8.01	8.01	8.01	8.01	0.008 9	0.11
亚油酸	51.98	51.98	51.98	52.13	51.98	52.01	52.01	0.061 5	0.12
油酸	19.39	19.56	19.39	19.39	19.21	19.56	19.42	0.131 1	0.68
饱和脂肪酸	20.65	20.41	20.65	20.81	20.46	20.58	20.59	0.144 9	0.70
水	0.17	0.17	0.17	0.18	0.17	0.17	0.17	0.004 5	2.65

由表3可以得出，各种脂肪酸和水含量的精密度均小于3%，说明该方法的重复性和准确度较好。

2.5 GC-MS检测各种植物油脂肪酸的含量

为了进一步验证上述核磁方法的准确性，本实验还利用GC-MS手段，通过面积归一化法对各种植物油中的饱和与不饱和脂肪酸的含量进行了检测，结果见表4。

表4 植物油中各种脂肪酸的含量

Table 4 Contents of fatty acids in vegetable oils

食用油种类	亚麻酸	亚油酸	油酸	饱和脂肪酸
紫苏籽油	60.82	12.23	19.03	7.92
芝麻油	11.34	17.83	63.94	6.89
大豆油	7.86	49.10	22.58	20.46
菜籽油	8.19	17.63	51.53	7.51
橄榄油	0	13.87	74.44	11.69
玉米油	0	50.52	33.60	15.88
花生油	0	22.19	56.90	20.91
茶油	0	8.87	84.57	6.56
葵花籽油	0	61.45	23.71	14.84

从表4可以看出，采用GC-MS手段通过面积归一化法得到的各种脂肪酸含量与表2中核磁结果相差不大，说明利用核磁共振仪加入内标的方法检测植物油中亚麻酸甘油酯、亚油酸甘油酯、油酸甘油酯和饱和脂肪酸甘油酯的含量结果可靠。

3 结论

核磁共振法测定植物油中脂肪酸含量的方法不仅避免了传统气相色谱检测法中繁琐的前处理和色谱条件的摸索，且在定量分析中可以快速计算出其中各种脂肪酸和水的含量^[17-20]。其中的回收率和精密度都在允许范围内，为研究脂肪酸含量的测定提供了有效可靠的新方法。

参考文献：

- [1] 鲍忠定, 秦志荣, 顾秀英, 等. 毛细管气相色谱法测定食品中反式脂肪酸[J]. 食品工业科技, 2005, 26(3): 176-177.
- [2] 常理文, 徐桂芸. 痕量长链脂肪酸的气相色谱分析[J]. 分析化学, 1991, 19(12): 1432-1434.

- [3] 陈新焕, 张莹, 李拥军, 等. GC-MS法分析植物油酸中的脂肪酸[J]. 分析科学学报, 2001, 17(5): 438.
- [4] 李长秀, 唐忠, 杨海鹰. 气相色谱法测定生物柴油样品中脂肪酸甲酯和脂肪酸甘油酯的含量[J]. 分析测试学报, 2005, 24(5): 66-68.
- [5] 马亭, 陈文锐, 胡国昌, 等. 深海鱼油中脂肪酸的分析[J]. 分析化学, 1999, 27(4): 415-418.
- [6] 吴惠勤, 黄晓兰, 林晓珊, 等. 脂肪酸的色谱保留时间规律与质谱特征研究及其在食品分析中的应用[J]. 分析化学, 2007, 35(7): 998-1003.
- [7] 国内贸易部谷物油脂化学研究所. GB/T 17377—1998动植物油脂脂肪酸甲酯的气相色谱分析[S].
- [8] 杨春英, 刘学铭, 陈智毅, 等. 15 种食用植物油脂肪酸的气相色谱-质谱分析[J]. 食品科学, 2013, 34(6): 211-214.
- [9] 关剑秋, 孝延文, 张杰, 等. 利用 ^{13}C -NMR方法测定植物油的脂肪酸组成[J]. 分析化学, 1984, 12(6): 484-488.
- [10] SOON N. ^{13}C -NMR spectroscopic analysis of the fatty acid composition of palm oil[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1983, 60(7): 1266-1268.
- [11] KNOTHE G, KENAR J A. Determination of the fatty acid profile by ^1H -NMR spectroscopy[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2004, 106(2): 88-96.
- [12] 顾小红, 任璐, 陈尚卫, 等. 核磁共振技术在食品研究中的应用[J]. 食品工业科技, 2005, 26(9): 189-194.
- [13] FAUHL C, RENIERO F, GUILLOU C. ^1H -NMR as a tool for the analysis of mixtures of virgin olive oil with oils of different botanical origin[J]. Magnetic Resonance in Chemistry, 2000, 38(6): 436-443.
- [14] 周凝, 刘宝林, 王欣. 核磁共振技术在食品分析检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 325-329.
- [15] MAZZANTI G, MUDGE E M, ANOM E Y. In situ Rheo-NMR measurements of solid fat content[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2008, 85(5): 405-412.
- [16] PRETSCH E, BUHLMANN P, AFFOLTER C. 波谱数据表: 有机化合物的结构解析[M]. 荣国斌, 译. 上海: 华东理工大学出版社, 2002: 152-237.
- [17] 王乐, 黎勇, 胡健, 等. 华核磁共振法鉴别食用植物油掺伪餐饮业废油[J]. 中国油脂, 2008, 33(10): 75-77.
- [18] RUDI T, GUTHAUSEN G, BURK W, et al. Simultaneous determination of fat and water content in caramel using time domain NMR[J]. Food Chemistry, 2008, 106(4): 1375-1378.
- [19] SANTANA A, FERNANDEZ X, LARRAYOZ M A, et al. Vegetable fat hydrogenation in supercritical-fluid solvents: melting behavior analysis by DSC and NMR[J]. Journal of Supercritical Fluids, 2008, 46(3): 322-328.
- [20] 阎政礼, 杨明生, 李添宝, 等. 蜂蜜中葡萄糖、果糖和蔗糖NMR定量分析研究[J]. 食品科学, 2009, 30(14): 253-255.