

基于核磁共振技术对亚麻籽油进行脂肪酸组成检测与品质鉴别

李刚, 康乐, 何建昇, 张松

(山西省科技资源与大型仪器开放共享中心, 太原 030012)

摘要:采用核磁共振(NMR)技术对山西省内生产的亚麻籽油进行脂肪酸组成检测及品质鉴别。首先运用气相色谱-质谱联用(GC-MS)法确认纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油脂肪酸组成的差异;然后通过核磁共振谱仪确认差异核磁共振氢谱(^1H NMR)和碳谱(^{13}C NMR)的特征峰,以快速判别亚麻籽油是否掺杂;最后,采用 ^1H NMR法计算亚麻籽油中的脂肪酸含量,并与国标GC法进行对比。结果表明:与纯亚麻籽油相比,掺杂亚麻籽油中含有花生一烯酸和芥酸;通过花生一烯酸和芥酸 ^1H NMR和 ^{13}C NMR特征峰可以定性鉴别亚麻籽油是否掺杂;采用 ^1H NMR法计算的亚麻籽油中亚麻酸含量与GC法一致。说明基于NMR技术对亚麻籽油脂肪酸组成进行检测,可以快速鉴别亚麻籽油品质。

关键词:核磁共振技术;亚麻籽油;脂肪酸组成;品质鉴别

中图分类号:TS225.1;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)06-0148-05

Fatty acid composition detection and quality identification of linseed oil based on nuclear magnetic resonance technology

LI Gang, KANG Le, HE Jiansheng, ZHANG Song

(Scientific and Technological Resources and Instrument Sharing Center of Shanxi Province, Taiyuan 030012, China)

Abstract: The fatty acid composition and quality identification of linseed oil produced in Shanxi province were studied by nuclear magnetic resonance (NMR). Firstly, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method was used to detect and confirm the difference in fatty acid composition between pure linseed oil and adulterated linseed oil. Secondly, the characteristic peaks of the different fatty acids in the adulterated linseed oil were identified by the hydrogen nuclear magnetic resonance spectrum (^1H NMR) and carbon nuclear magnetic resonance spectrum (^{13}C NMR) so as to quickly determine whether the linseed oil was adulterated. Finally, the contents of fatty acids in linseed oil were quantitatively calculated by ^1H NMR method and national standard GC method, respectively. The results showed that compared with the pure linseed oil, the adulterated linseed oil contained eicosenoic acid and erucic acid; the ^1H NMR and ^{13}C NMR characteristic peaks of eicosenoic acid and erucic acid could be used to qualitatively identify whether linseed oil was adulterated; the content of linolenic acid in linseed oil calculated by ^1H NMR method was consistent with that by GC method. The detection of fatty acid composition in linseed oil based on NMR technology can quickly identify the quality of linseed oil.

Key words: NMR; linseed oil; fatty acid composition; quality identification

收稿日期:2021-04-15;修回日期:2021-11-22

基金项目:山西省青年基金项目(201901D211554)

作者简介:李刚(1985),男,工程师,硕士,研究方向为食品检测与分析(E-mail)wlxiaogang@163.com。

亚麻籽油是从亚麻籽中提取的食用油,其富含 α -亚麻酸^[1],具有很高的营养价值^[2]。亚麻籽生性喜寒耐旱,适合生长在我国西部、北部高寒干旱地区。亚麻籽是山西省北部地区特产^[3],山西省兴县岢底村亚麻籽油压榨技艺和神池梁榨亚麻籽油技艺

被评为山西省省级非物质文化遗产。植物油中脂肪酸检测常用的方法气相色谱(GC)法^[4-6]和气相色谱-质谱联用(GC-MS)法^[7-9]前处理烦琐,检测成本较高,实验过程复杂,耗时较长,而基于核磁共振技术检测植物油脂肪酸,样品无需预处理,可以实现快速检测^[10-17]。

山西省市场上正规厂家生产的亚麻籽油,压榨原料为纯亚麻籽,而某些小油坊在原料中可能会掺入压榨工艺类似的黄芥、油菜籽等油料,降低了亚麻籽油的品质。为此,本文首先采用GC-MS分析了纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油的脂肪酸组成,确认掺杂亚麻籽油除含有亚麻酸、亚油酸、油酸、棕榈酸、硬脂酸外,还含有单不饱和脂肪酸花生一烯酸和芥酸。再运用核磁共振谱仪确认花生一烯酸和芥酸¹H NMR和¹³C NMR特征峰,从而可快速判别亚麻籽油是否掺杂,为亚麻籽油品质鉴别提供参考。最后采用¹H NMR法计算亚麻籽油中脂肪酸含量,并与国标GC法进行了对比。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

亚麻籽油:从山西北部亚麻籽油生产厂家采集了3种不同品牌的亚麻籽油,编号分别为L1、L2、L3;从小油坊中采集了3种亚麻籽油,编号分别为M1、M2、M3。

花生一烯酸甲酯标准品(CAS号为2390-09-2,100 mg),美国NU-CHEK公司;芥酸甲酯标准品(CAS号为1120-34-9,100 mg),美国Accustandard公司;异辛烷(分析纯),天津市申泰化学试剂公司;甲醇(色谱纯),美国奥泰科技有限公司;无水硫酸钠,天津市天大化工实验厂;氢氧化钾(分析纯)、硫酸氢钠(优级纯),天津市光复精细化工研究所;氘代氯仿(CDCl₃,氘代率99.8%,批号174611),百灵威科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

Bruker 600 MHz AVANCE III NMR Spectrometer、Bruker 400 MHz AVANCE III NMR with Autosampler、5 mm核磁管,德国布鲁克公司;Thermo TSQ 8000 Evo GC-MS;ZKAT-20M色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm);Agilent 7890B GC;Agilent DB-wax色谱柱(30 m×320 μm×0.5 μm)。

1.2 实验方法

1.2.1 GC-MS分析

样品前处理:称取60.00 mg油样于具塞试管中,加入4 mL异辛烷溶解,必要时可以微热使样品

溶解,再加入200 μL质量分数为2%的氢氧化钾甲醇溶液,盖上玻璃塞猛烈振摇30 s后静置澄清。向试管中加入约1 g硫酸氢钠,猛烈振摇,待盐沉淀后,将上层溶液移至上机瓶中待测。

GC-MS条件:升温程序为初始柱温60℃,以4℃/min升至250℃,保持15 min;进样口温度250℃;进样量1 μL;分流比10:1;离子源(EI)温度250℃;质量扫描范围33~500 u;溶剂延迟时间4 min。

1.2.2 ¹H NMR分析

样品前处理:取5 μL样品于离心管中,加入600 μL含四甲基硅烷(TMS)的CDCl₃(氘代率99.8%),用涡旋混匀仪充分混匀,转移至5 mm核磁管待测。

仪器测试条件:温度300 K;频率600.13 MHz;氢谱宽度12 335.5 Hz;扫描12次;延迟时间d1 20 s;谱图处理时以TMS定位,数据采用Mestrenova软件处理。

1.2.3 ¹³C NMR分析

样品前处理:处理方法同1.2.2,标准品取样30 μL,亚麻籽油取样80 μL。

仪器测试条件:温度295.8 K;频率400 MHz;氢谱宽度102 700 Hz;扫描32次;延迟时间d1 2 s;谱图处理时以TMS定位,数据采用Mestrenova软件处理。

1.2.4 GC分析

GC分析参考文献[4]。样品前处理:处理方法同1.2.1。

GC条件:升温程序为柱温60℃,以4℃/min升至250℃,保持15 min;进样口温度220℃;检测器温度250℃;分流比10:1;进样量1 μL。采用外标法定量。

2 结果分析

2.1 纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油脂肪酸组成的确认

运用GC-MS分别对6个样品进行测试,得到纯亚麻籽油(L1、L2、L3)和掺杂亚麻籽油(M1、M2、M3)的总离子色谱图(由于纯亚麻籽油谱图各峰都一致,只是强度不同,定性分析时任选一谱图即可;掺杂亚麻籽油谱图选择同理。下同),如图1所示。

由图1可见,正规厂家生产的纯亚麻籽油中主要含有棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)和亚麻酸(C18:3),而小油坊生产的亚麻籽油中除上述脂肪酸外,还含有花生一烯酸(C20:1)和芥酸(C22:1)。通过实际调研和查阅文献[18]可知,掺杂亚麻籽油中花生一烯酸和芥酸主要是由当地产的黄芥、油菜籽等油料混入产生的。

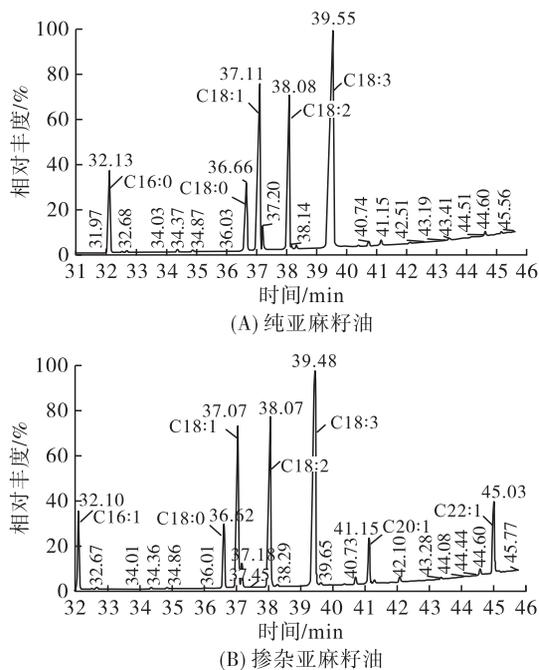


图1 纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油的GC-MS总离子色谱图

2.2 亚麻籽油¹H NMR图谱及特征峰归属

纯亚麻籽油¹H NMR谱图如图2所示。为方便确认掺杂亚麻籽油特征峰及对亚麻籽油中脂肪酸进行定量分析,根据食用油核磁共振特性及相关资料^[19],对纯亚麻籽油¹H NMR特征峰进行归属,结果见表1。

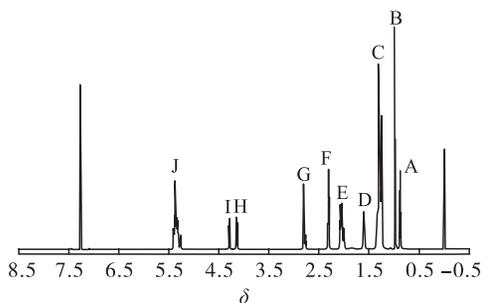


图2 纯亚麻籽油¹H NMR谱图

表1 纯亚麻籽油¹H NMR特征峰归属

峰号	化学位移(δ)	质子	质子的功能基团
A	0.88	—CH ₃	饱和酸、单不饱和脂肪酸、双不饱和脂肪酸
B	0.96	—CH ₃	亚麻酸
C	1.29	—(CH ₂) _n	所有酰基链
D	1.60	—OCO—CH ₂ —CH ₂ —	羟基β位质子氢
E	2.02	—CH ₂ —CH=CH—	烯丙基质子氢
F	2.25	—OCO—CH ₂ —	羟基α位质子氢
G	2.78	=CH—CH=CH—	双烯丙基质子(多不饱和脂肪酸)
H	4.18	—CH ₂ —OCOR	甘油骨架的sn-1位置
I	4.30	>CH ₂ —OCOR	甘油骨架的sn-2位置
J	5.32	—CH=CH—	所有不饱和脂肪酸

2.3 掺杂亚麻籽油中花生一烯酸和芥酸¹H NMR特征峰的确

花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品的¹H NMR谱图如图3所示,谱图中特征峰的归属如表2所示。由表2可见,花生一烯酸甲酯和芥酸甲酯的¹H NMR谱图中特征峰为烯丙基质子氢,化学位移(δ)在1.99~2.03之间。

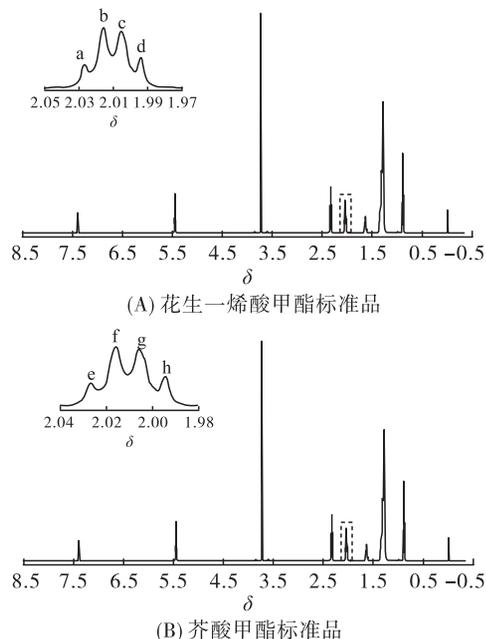


图3 花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品¹H NMR谱图

表2 花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品¹H NMR特征峰的归属

峰号	化学位移(δ)	质子	归属
a	2.027	—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —	花生一烯酸甲酯
b	2.016		
c	2.006		
d	1.994		
e	2.028	—CH ₂ —CH=CH—CH ₂ —	芥酸甲酯
f	2.017		
g	2.007		
h	1.995		

测定了纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油¹H NMR谱图,并重点比较了二者在化学位移为1.98~2.04区间的¹H NMR特征峰,结果如图4所示。

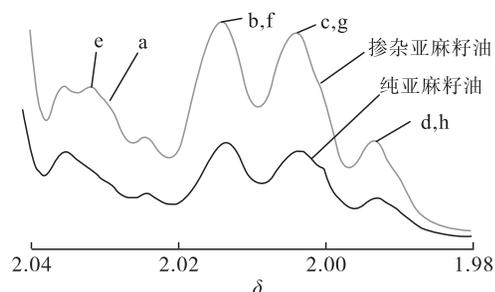


图4 纯亚麻籽油与掺杂亚麻籽油在化学位移为1.98~2.04的¹H NMR谱图

由图4可见, b峰与f峰、c峰与g峰、d峰与h峰重叠,且在纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油中都存在,而a峰和e峰只在掺杂亚麻籽油中出现,对比表2,可确认掺杂亚麻籽油中a峰为花生一烯酸特征峰,e峰为芥酸特征峰。

2.4 掺杂亚麻籽油中芥酸和花生一烯酸¹³C NMR特征峰的确认

花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品¹³C NMR谱图如图5所示,谱图中双键位置特征峰的归属如表3所示。

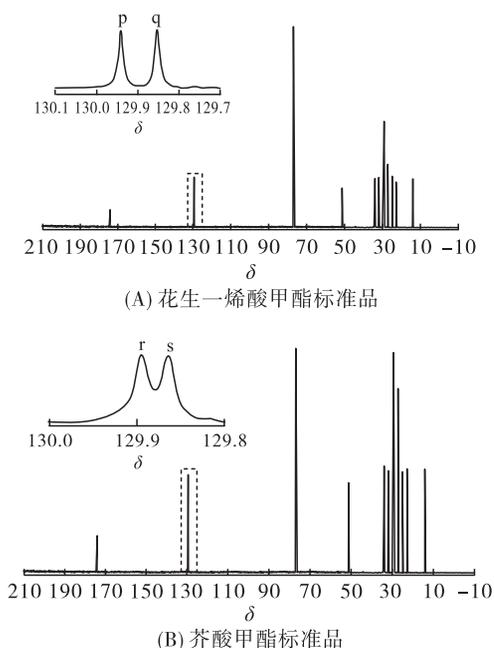


图5 花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品的¹³C NMR谱图

表3 花生一烯酸甲酯标准品和芥酸甲酯标准品的¹³C NMR谱图中双键位置特征峰的归属

峰号	化学位移(δ)	质子	归属
p	129.94	—CH=CH—	花生一烯酸甲酯
q	129.85	—CH=CH—	
r	129.91	—CH=CH—	芥酸甲酯
s	129.89	—CH=CH—	

由表3可见,花生一烯酸和芥酸的¹³C NMR特征峰的化学位移在129附近,与脂肪酸碳链中¹³C NMR双键谱峰多出现在化学位移129.8~130.1区域^[20]的研究结果一致。测定了纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油的¹³C NMR谱图,并重点对比了二者在化学位移129.8~130.1区间的¹³C NMR特征峰,结果如图6所示。由图6可见,p、q、r、s 4个峰只在掺杂亚麻籽油中出现,再与表3对比,可确认掺杂亚麻籽油中p、q峰为花生一烯酸的特征峰,r、s峰为芥酸的特征峰。

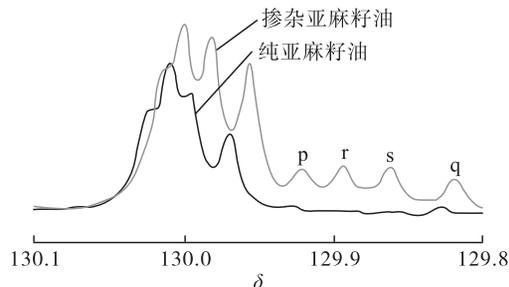


图6 纯亚麻籽油与掺杂亚麻籽油在化学位移为129.8~130.1区间的¹³C NMR谱图

综上,基于核磁共振技术,根据¹H NMR中a峰和¹³C NMR中p、q峰可以判定亚麻籽油中是否含有花生一烯酸,根据¹H NMR中e峰和¹³C NMR中r、s峰可以判定亚麻籽油中是否含有芥酸,从而可以快速鉴别亚麻籽油中是否掺杂。

2.5 亚麻籽油中脂肪酸的定量分析

对亚麻籽油¹H NMR特征峰准确归属后,参考文献^[19]按式(1)~式(4)定量计算亚麻籽油中亚麻酸、亚油酸、单不饱和脂肪酸、饱和脂肪酸的含量。

$$Y_3 = \frac{B}{A+B} \quad (1)$$

$$Y_2 = \frac{3G-4B}{2(A+B)} \quad (2)$$

$$Y_1 = \frac{3E}{4(A+B)} - Y_3 - Y_2 \quad (3)$$

$$Y_0 = \frac{A}{A+B} - Y_3 - Y_2 - Y_1 \quad (4)$$

式中: Y_3 为亚麻酸含量; Y_2 为亚油酸含量; A 、 B 、 E 、 G 分别对应表1中相应谱峰的积分值; Y_1 为油酸、花生一烯酸等单不饱和脂肪酸的含量; Y_0 为棕榈酸和硬脂酸等饱和脂肪酸的含量。为提高¹H NMR法定量计算各脂肪酸的准确性,通过取少量样品,实验中增大延迟时间d1实现。

表4和表5分别为采用GC法(按1.2.4方法)和¹H NMR法测定的纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油的各脂肪酸含量。

表4 GC法纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油脂肪酸含量 %

样品	亚麻酸	亚油酸	单不饱和脂肪酸	饱和脂肪酸
L1	54.51	16.47	19.83	9.18
L2	52.87	17.39	21.43	9.20
L3	51.41	16.47	22.47	9.40
M1	46.82	20.10	24.18	8.90
M2	40.27	20.74	33.59	8.10
M3	41.77	18.32	32.20	7.68

由表4、表5可以看出:纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油中¹H NMR法计算的亚麻酸含量与GC法一致,

相对误差均小于 1%,结果准确可靠;其他脂肪酸含量与 GC 法相比有一定误差,仅可作为参考。纯亚麻籽油中亚麻酸含量在 50% 以上,而掺杂亚麻籽油中亚麻酸含量显著降低。以亚麻酸含量评价亚麻籽油的品质,亚麻酸含量越高亚麻籽油品质越好。基于 ^1H NMR 技术计算亚麻籽油中亚麻酸含量可以鉴别亚麻籽油品质。

表 5 ^1H NMR 法纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油脂肪酸含量 %

样品	亚麻酸	亚油酸	单不饱和脂肪酸	饱和脂肪酸
L1	54.00	14.90	22.41	8.65
L2	52.40	14.30	23.34	10.00
L3	51.30	14.10	24.66	9.89
M1	46.80	18.40	25.93	8.88
M2	40.10	17.30	37.25	5.36
M3	41.70	17.50	37.87	2.93

3 结论

本实验基于核磁共振技术对亚麻籽油脂肪酸组成进行了检测和品质鉴别。运用 GC-MS 法分析了掺杂亚麻籽油比纯亚麻籽油中多含有芥酸和花生一烯酸,再运用核磁共振谱仪确认掺杂亚麻籽油中花生一烯酸、芥酸的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 特征峰,作为纯亚麻籽油和掺杂亚麻籽油快速判别的方法。采用 ^1H NMR 法定量计算亚麻籽油中脂肪酸含量,并运用 GC 法对比其准确性,结果表明, ^1H NMR 法计算的亚麻酸含量准确可靠,以此可定量分析亚麻籽油的亚麻酸含量,并鉴别其品质。基于 NMR 技术对亚麻籽油脂肪酸组成进行检测,可快速鉴别亚麻籽油品质。

参考文献:

[1] KRIS - ETHEERTON P M, PEARSON T A, WAN Y, et al. High - monounsaturated fatty diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations[J]. *Am J Clin Nutr*, 1999, 70(6): 1009 - 1015.

[2] 邓乾春,禹晓,黄庆德,等. 亚麻籽油的营养特性研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2010, 22(4): 715 - 721.

[3] 杨建春,吴瑞香,王利琴. 山西亚麻籽产业现状与发展对策[J]. *农业科技通讯*, 2017(7): 10 - 14.

[4] 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定: GB 5009. 168—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.

[5] 亚麻籽油: GB/T 8235—2008[S]. 北京: 中国标准出版

社, 2008.

[6] 杨培慧, 郑志雯, 赵秋香, 等. 食用植物油脂脂肪酸的高分辨气相色谱分析[J]. *中国油脂*, 2003, 28(7): 48 - 50.

[7] 娄婷婷, 赵婷, 王伟, 等. 植物油中脂肪酸组成的 GC-MS 分析[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(21): 100 - 102.

[8] 刘冰. GC-MS 分析测定 5 种植物油中脂肪酸成分研究[J]. *食品工业*, 2014, 35(4): 222 - 224.

[9] 杨明, 范筱京, 魏岩. GC-MS 分析测定植物油中脂肪酸组成[J]. *现代科学仪器*, 2017(1): 95 - 99, 104.

[10] 肖新生, 杨交如, 唐满生, 等. 核磁共振技术在食用油脂分析中的应用研究进展[J]. *中国油脂*, 2018, 43(12): 134 - 139.

[11] 李添宝, 吴越, 罗敬. 利用核磁共振法定量分析植物油中多种脂肪酸及水含量[J]. *食品科学*, 2012, 35(16): 212 - 216.

[12] 鲁惠玲, 孙青霞, 徐锦忠. 核磁共振指纹图谱法快速分析鱼油的品质[J]. *分析实验室*, 2018, 37(12): 1436 - 1440.

[13] MAVROMOUSTAKOS T, ZERVOU M, BONAS G, et al. A novel analytical method to detect adulteration of virgin olive oil by other oils[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2000, 77(4): 405 - 411.

[14] JNOTHE G, KENAR J A. Determination of the fatty acid profile by ^1H - NMR spectroscopy[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2004, 106(2): 88 - 96.

[15] BARISON A, DA SILVA C W P, CAMPOS F R, et al. A simple methodology for the determination of fatty acid composition in edible oils through ^1H NMR spectroscopy[J]. *Magn Res Chem*, 2010, 48(8): 642 - 650.

[16] LONGOBARDI F, VENTRELLA A, NAPOLI C, et al. Classification of olive oils according to geographical origin by using ^1H NMR fingerprinting combined with multivariate analysis[J]. *Food Chem*, 2012, 130(1): 177 - 183.

[17] 蔡波太, 袁龙飞, 周影, 等. 基于 ^1H NMR 指纹图谱结合多变量分析的地沟油检测方法[J]. *中国科学: 化学*, 2013, 43(5): 558 - 567.

[18] 江波, 杨瑞金. 食品化学[M]. 2 版. 北京: 中国轻工业出版社, 2018: 9.

[19] 张琰. 基于核磁共振技术的植物油成分检测与品质鉴别研究[D]. 福建 厦门: 厦门大学, 2017.

[20] 杨峻山, 马国需. 分析化学手册 7B 碳 - 13 核磁共振波谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 2016: 135 - 136.