

# 基于<sup>1</sup>H NMR 分析不同储存条件下大豆油的氧化稳定性

姜相宇<sup>1,2,3</sup>, 杨丹<sup>1,2,3</sup>

(1. 国贸食品科技(北京)有限公司, 北京 102209; 2. 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209;  
3. 老年营养食品研究北京市工程实验室, 北京 102209)

**摘要:**为探讨大豆油在不同包装材料以及有无抗氧化剂条件下的氧化稳定性,基于<sup>1</sup>H NMR 分别对大豆油自动氧化过程中的一级氧化产物和二级氧化产物峰信号进行量化分析。以墨绿磨砂瓶、白色磨砂瓶、透明玻璃瓶包装的大豆油以及透明玻璃瓶包装的含 TBHQ 的大豆油作为试验对象,将 4 组油样置于充足日光灯光照的 40℃ 烘箱中进行恒温氧化,定期取样进行<sup>1</sup>H NMR 分析。结果表明:采用<sup>1</sup>H NMR 可有效鉴别出大豆油中 5 种氧化产物,分别为一级氧化产物 *Z, E* 型和 *E, E* 型共轭烯烃类氢过氧化物,以及二级氧化产物正构醛、*E, E*-共轭二烯醛和 *E*-共轭烯醛;利用<sup>1</sup>H NMR 可有效监控氧化产物含量,经单因素 ANOVA 统计分析,抗氧化剂 TBHQ(0.05 g/kg)对大豆油储存初期(70 d 内)的一级氧化过程有显著的延缓作用( $p < 0.05$ ),墨绿磨砂瓶包装(避光)对大豆油的二级氧化过程有显著的延缓作用( $p < 0.05$ )。

**关键词:**<sup>1</sup>H NMR;大豆油;包装材料;抗氧化剂;氧化稳定性

中图分类号:O657;TS5225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)11-0099-05

## Analysis of oxidation stability of soybean oil stored under different conditions based on <sup>1</sup>H NMR

JIANG Xiangyu<sup>1,2,3</sup>, YANG Dan<sup>1,2,3</sup>

(1. Internal Trade Food Science and Technology (Beijing) Co., Ltd., Beijing 102209, China;  
2. Beijing Key Laboratory of Nutrition & Health and Food Safety, Beijing 102209, China;  
3. Beijing Engineering Laboratory of Geriatric Nutrition & Foods, Beijing 102209, China)

**Abstract:**In order to investigate the oxidation stability of soybean oil stored under different packaging materials and the presence or absence of antioxidants, the peak signals of the primary oxidation products and secondary oxidation products in auto-oxidation process of soybean oil were quantitatively analyzed based on <sup>1</sup>H NMR method. Soybean oils packaged in dark green frosted bottle, white frosted bottle, transparent glass bottle, and soybean oil containing TBHQ packaged in transparent glass bottle were used as experimental objects, and they were placed in a 40℃ oven with sufficient fluorescent light to perform constant temperature oxidation, and sampling analysis was performed regularly. The results showed that <sup>1</sup>H NMR method could effectively identify five kinds of oxidation products in soybean oil, which were the primary oxidation products of *Z, E* type and *E, E* type conjugated olefin hydroperoxide, and the secondary oxidation products of *N*-aldehyde, *E, E*-conjugated dienal and *E*-conjugated alkenal; <sup>1</sup>H NMR method could effectively monitor the content of oxidation products. After single-factor ANOVA

收稿日期:2019-12-02;修回日期:2020-06-02

基金项目:北京市科技计划

作者简介:姜相宇(1991),男,检测专员,硕士,主要从事食用油品质鉴定及食品行业检测数据管理工作(E-mail) jiangxiangyu1@cofco.com。

statistical analysis, the antioxidant TBHQ (0.05 g/kg) had a significant delay effect on the primary oxidation process of soybean oil in the early stage (within 70 d) ( $p < 0.05$ ), and the dark green frosted bottle packaging (protected

from light) had a significant delay effect on the secondary oxidation process of soybean oil ( $p < 0.05$ ).

**Key words:**  $^1\text{H}$  NMR; soybean oil; packaging material; antioxidant; oxidation stability

大豆油作为国内食用油消费主力产品,需求量长期居高不下<sup>[1]</sup>。大豆油中含有丰富的不饱和脂肪酸,使其在生产、储存和流通过程中极易氧化酸败,产生有害人体健康的劣变物质。目前,国内陆续开发出多种方法抑制大豆油的氧化酸败,如充氮储藏<sup>[2]</sup>、添加抗氧化剂等<sup>[3]</sup>。衡量油脂氧化酸败的指标有过氧化值、不饱和脂肪酸含量等,但在实际的油脂品质检定过程中,这些指标需要较长的前处理过程,检测周期长,且消耗样本量较大。因此,寻找更快且高效的油脂品质鉴定技术有重大意义。

核磁共振技术因其快速、无损检测等特点,在食用油分析领域发挥着重要作用,如 $^1\text{H}$  NMR 谱图解析可以实现食用油的产地溯源、品类甄别、掺假检测等<sup>[4-6]</sup>。目前,将 $^1\text{H}$  NMR 用于油脂氧化稳定性的研究较少<sup>[7-8]</sup>。本文通过对大豆油样品的 $^1\text{H}$  NMR 分析及谱图解析,识别监控大豆油因氧化产生的劣变因子(一级、二级氧化产物),对大豆油在不同条件下劣变因子含量变化规律进行了研究,以期对油脂品质快速鉴别技术发展提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

大豆油(不含特丁基对苯二酚),中粮营养健康研究院提供。氘代氯仿( $\text{CDCl}_3$ , 分析纯,纯度 99.8%),特丁基对苯二酚(TBHQ)。

AVANCE III HD400M 核磁共振波谱仪(5 mm CPPBBO 超低温探头),瑞士布鲁克有限公司; Hitachi U-3900 紫外分光光度计。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 大豆油氧化处理

取大豆油样品 100 g 等质均分为 4 组,其中 3 组分别保存在不同的玻璃器皿内(a 墨绿磨砂瓶, b 白色磨砂瓶, c 透明玻璃瓶),另一组添加 0.05 g/kg TBHQ 保存于透明玻璃瓶中(d)(根据 GB 2760—2014 相关规定,油类物质中 TBHQ 添加上限不超过 0.2 g/kg,以此为参考确定 TBHQ 添加量)。4 组样品置于充足日光光照的 40 °C 烘箱中进行恒温氧化。定期取等量样品置于洁净样品瓶中冷冻保存,待分析。

#### 1.2.2 $^1\text{H}$ NMR 分析

称取待测样品 60 mg 于液相小瓶中,加入 0.6 mL  $\text{CDCl}_3$  溶液(质量分数 0.2%),涡旋 1 min,使样品充分混合,取 0.5 mL 至核磁管中,上机检测分析。

仪器参数:90°脉冲;虚拟扫描次数 4;扫描次数

64;谱线宽度 5 597.24 Hz;采集时间 5.852 365 s;频率偏移 6.500;温度 25 °C。

#### 1.2.3 劣变因子含量计算

试样中所加内标物  $\text{CDCl}_3$  的摩尔量( $C_{\text{IS}}$ )计算见式(1),劣变因子含量( $b_s$ )计算见式(2)。

$$C_{\text{IS}} = \frac{m_{\text{IS}}}{M_{\text{IS}}} = \frac{\rho \times V \times 0.2\%}{M_{\text{IS}}} \quad (1)$$

$$b_s = \frac{A_s}{m_s} \times \frac{C_{\text{IS}}}{A_{\text{IS}}} \quad (2)$$

式中: $m_{\text{IS}}$ 为内标物  $\text{CDCl}_3$  的质量,g; $\rho$ 为内标物  $\text{CDCl}_3$  溶液密度(1.500 g/mL, 25 °C); $V$ 为内标物溶液体积,mL; $M_{\text{IS}}$ 为内标物的摩尔质量,g/mol; $A_s$ 为目标组分的峰面积; $A_{\text{IS}}$ 为内标物峰面积; $m_s$ 为样品质量,g。

## 2 结果与分析

### 2.1 劣变因子在 $^1\text{H}$ NMR 谱图中的鉴别

油脂发生自氧化过程,首先发生一级氧化过程,产生脂类氢过氧化物。脂类氢过氧化物在常温或无金属离子存在的情况下,进入二级氧化过程十分缓慢,但在有金属离子存在或高温条件下,很容易进一步氧化生成醛、酮、酸、酯及短链羰基化合物<sup>[9]</sup>。图 1 为 40 °C 下透明玻璃瓶中储存 60 d 的大豆油样品 $^1\text{H}$  NMR 谱图。

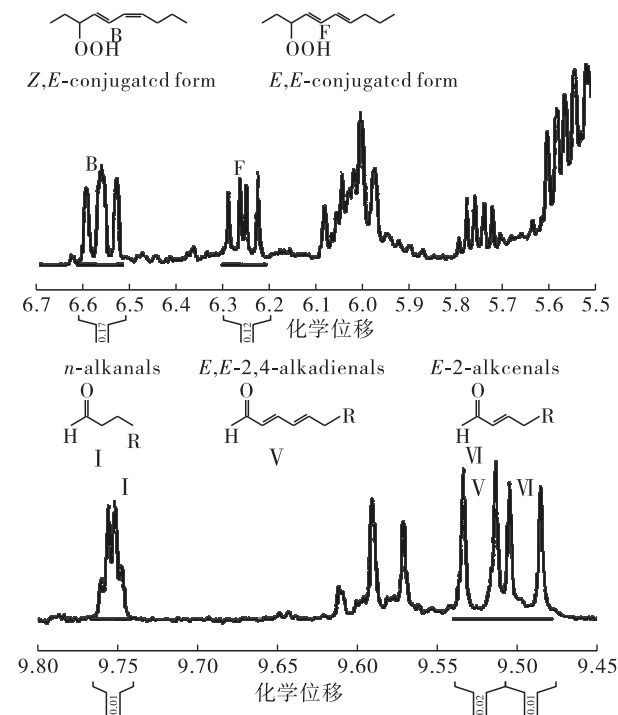


图 1 大豆油的 $^1\text{H}$  NMR 谱图

由图 1 可知,共鉴定出 5 个特征组分,通过比对

信号峰的化学位移与峰的类型归属<sup>[10-12]</sup>,分别为大豆油中一级氧化产物脂类氢过氧化物的氢特征峰信号(B、F)和二级氧化产物中醛的氢特征峰信号(I、V、VI)(见表1)。其中B、F分别为大豆油在一级

氧化过程时产生的Z,E型和E,E型共轭烯烃类氢过氧化物中碳碳双键上的氢,I、V、VI分别为二级氧化过程中产生的正构醛、E,E-共轭二烯醛和E-共轭烯醛中的醛基氢。

表1 大豆油一级、二级氧化产物的<sup>1</sup>H NMR 信号峰鉴别

峰信号	化学位移	信号峰多重性	官能团	
			质子类型	化合物类型
B	6.55	m	—CH=CH—CH=CH—	Z,E-conjugated double bonds
F	6.25	dd	—CH=CH—CH=CH—	E,E-conjugated double bonds
I	9.75	t	—CHO	n-alkanals
V	9.52	d	—CHO	E,E-2,4-alkadienals
VI	9.49	d	—CHO	E-2-alkanals

## 2.2 TBHQ 对各劣变因子的影响

取c、d 2组样品,按照1.2.1进行氧化处理,比较同种包装材料中TBHQ对大豆油氧化过程中一级

氧化产物和二级氧化产物含量的影响,结果分别见图2、图3。

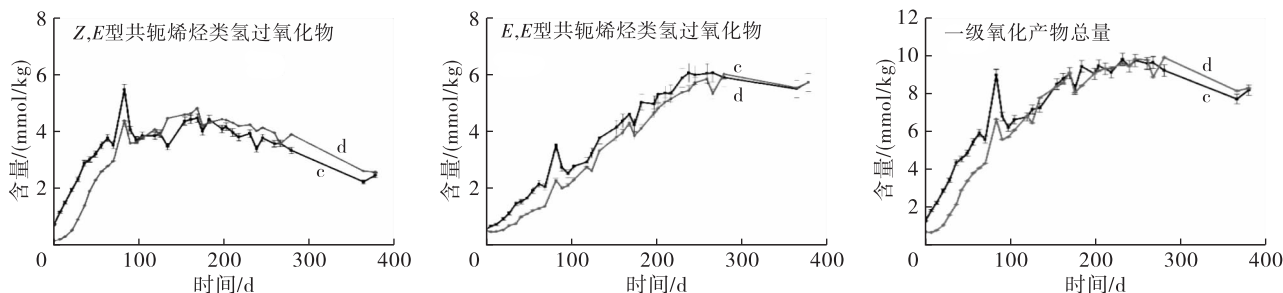


图2 TBHQ对大豆油一级氧化产物含量的影响

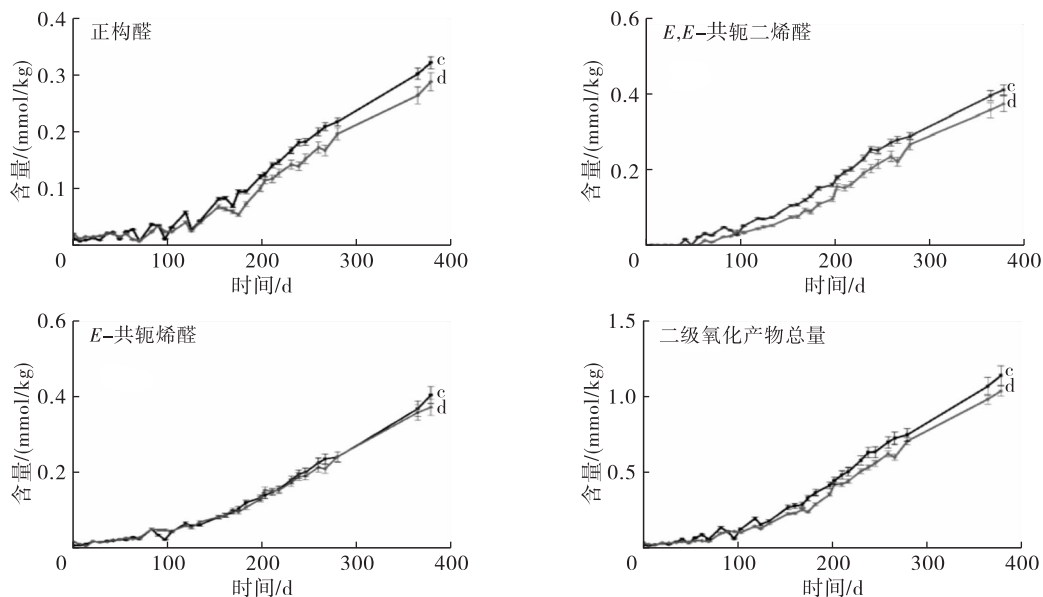


图3 TBHQ对大豆油二级氧化产物含量的影响

由图2可以看出,与未添加TBHQ相比,含有0.05 g/kg TBHQ的大豆油样品(d)有一段明显的延缓氧化的时期。经单因素ANOVA统计分析,最初70 d内,添加TBHQ的大豆油中Z,E型、E,E型共轭烯烃类氢过氧化物含量及一级氧化产物总量变化增长趋势明显延缓,70 d后其延缓作用均不明显。

因此,在大豆油储存前期(70 d内),TBHQ对大豆油的一级氧化过程有明显的延缓作用,而后期作用不明显。

由图3可以看出,大豆油二级氧化产物正构醛、E,E-共轭二烯醛受TBHQ影响,其含量增长趋势有所下降,而E-共轭烯醛几乎不受TBHQ的影响,

二级氧化产物总量变化不大,单因素 ANOVA 统计分析表明,TBHQ 对大豆油的二级氧化过程没有显著性影响。

综上,TBHQ 作为抗氧化剂在大豆油一级氧化阶段前期有明显的抑制作用,因 TBHQ 中的酚羟基存在,能够使得油脂中自氧化过程的自由基链反应

中断,从而延缓大豆油的一级氧化过程,而在二级氧化阶段,TBHQ 的作用则不是很明显。

### 2.3 不同包装材料对各劣变因子的影响

取 a、b、c 3 组样品按 1.2.1 进行氧化处理,考察不同材料包装的大豆油样品中一级氧化产物和二级氧化产物含量的变化,结果分别见图 4、图 5。

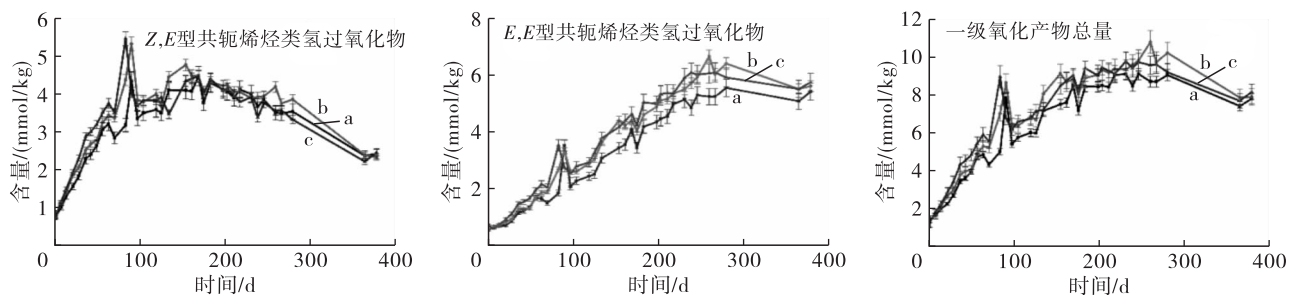


图 4 不同包装材料对大豆油一级氧化产物含量的影响

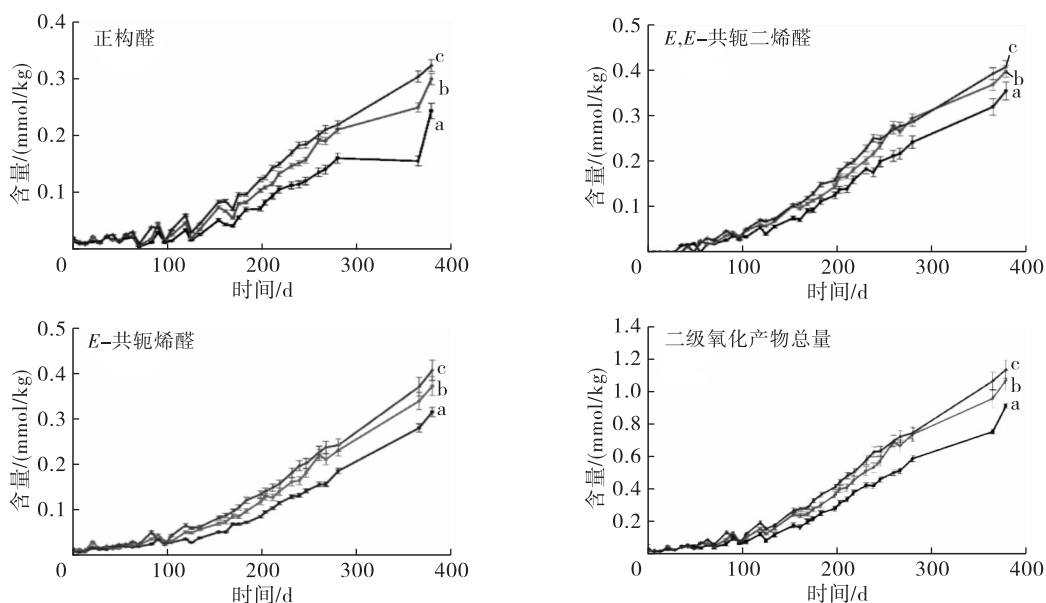


图 5 不同包装材料对大豆油二级氧化产物含量的影响

由图 4 可以看出,3 种包装材料对应的组分含量的变化趋势基本一致,其中墨绿磨砂瓶包装(a)对大豆油氧化过程有较好的延缓效果。经单因素 ANOVA 统计分析得出,在整个储存期内,不同包装材料对大豆油一级氧化过程无显著性影响( $p > 0.05$ )。

由图 5 可以看出,相较白色磨砂瓶(b)和透明玻璃瓶(c),墨绿磨砂瓶(a)装大豆油二级氧化产物正构醛、*E,E*-共轭二烯醛、*E*-共轭烯醛含量随时间延长增长较慢。经单因素 ANOVA 统计分析发现,墨绿磨砂瓶包装对大豆油二级氧化过程影响显著( $p < 0.05$ )。

综合 2.2、2.3 结果可得出,避光(墨绿磨砂瓶包装)条件虽然能够抑制油脂一级氧化过程中的光氧化反应,但在一级氧化阶段对于自由基的链反应没有明显的抑制作用,因此避光对于油脂的一级氧化

过程抑制作用有限,而在二级氧化阶段,避光包装材料能够比较明显地抑制二级氧化过程中特征产物的含量。因此,储存后期更应该注意避光保存。

### 3 结论

采用 $^1\text{H}$  NMR 对大豆油氧化过程中的劣变因子进行分析,发现在氧化大豆油中可鉴别出 5 种氧化产物。探讨了 40℃ 下不同储存环境条件下大豆油氧化过程中这 5 种劣变因子含量的变化规律,从而研究储存条件对大豆油氧化过程的影响。结果表明,抗氧化剂 TBHQ(0.05 g/kg)对大豆油的一级氧化过程(前期 70 d 内)有显著延缓作用( $p < 0.05$ ),而避光包装对于大豆油的二级氧化过程有显著的延缓作用( $p < 0.05$ )。以上表明,5 种劣变因子初步具备监控大豆油品质变化的特性,可作为今后核磁技术在大豆油品质快速鉴别领域的应用依据。

## 参考文献:

- [1] 王瑞元. 2014年中国油脂油料的市场现状[J]. 粮食与食品工业, 2015, 22(3): 1-5.
- [2] 李庆鹏, 程宏, 陈钊. 规模型食用油氮气储藏工艺参数的研究[J]. 食品科技, 2014, 39(12): 186-189.
- [3] 王若兰, 徐卫星, 李守星, 等. 食用油不同储藏技术的效果研究[J]. 中国油脂, 2012, 37(10): 41-44.
- [4] ALONSO-SALCES R M, MORENO-ROJAS J M, HOLLAND M V, et al. Virgin olive oil authentication by multivariate analyses of  $^1\text{H}$  NMR fingerprints and  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^2\text{H}$  data [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(9): 5586-5596.
- [5] FAUHL C, RENIERO F, GUILLOU C.  $^1\text{H}$  NMR as a tool for the analysis of mixtures of virgin olive oil with oils of different botanical origin [J]. Magn Reson Chem, 2000, 38(6): 436-443.
- [6] D'IMPERIO M, GOBBINO M, PICANZA A, et al. Influence of harvest method and period on olive oil composition: an NMR and statistical study [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(20): 11043-11051.
- [7] MARTIN-RUBIO A S, SOPELANA P, IBARGOITIA M L, et al. Prooxidant effect of  $\alpha$ -tocopherol on soybean oil. Global monitoring of its oxidation process under accelerated storage conditions by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance [J]. Food Chem, 2018, 245: 312-323.
- [8] GUILLEN M D, GOICOECHEA E. Oxidation of corn oil at room temperature: primary and secondary oxidation products and determination of their concentration in the oil liquid matrix from  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance data [J]. Food Chem, 2009, 116(1): 183-192.
- [9] FRANKEL E N. Recent advances in lipid oxidation [J]. J Sci Food Agric, 1991, 54(4): 495-511.
- [10] NIEVA-ECHEVARRÍA B, GOICOECHEA E, GUILLÉN M D. Behaviour of non-oxidized and oxidized flaxseed oils, as models of  $\omega$ -3 rich lipids, during in vitro digestion. Occurrence of epoxidation reactions [J]. Food Res Int, 2017, 97: 104-115.
- [11] GUILLÉN M D, URIARTE P S. Contribution to further understanding of the evolution of sunflower oil submitted to frying temperature in a domestic fryer: study by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance [J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(17): 7790-7799.
- [12] GOICOECHEA E, GUILLEN M D. Analysis of hydroperoxides, aldehydes and epoxides by  $^1\text{H}$  nuclear magnetic resonance in sunflower oil oxidized at 70 and 100  $^{\circ}\text{C}$  [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(10): 6234-6245.
- (上接第98页)
- [3] PANPIPAT W, XU X B, GUO Z. Improved acylation of phytosterols catalyzed by *Candida antarctica* lipase A with superior catalytic activity [J]. Biochem Eng J, 2013, 70: 55-62.
- [4] ZHENG M M, WANG L, HUANG F H, et al. Ultrasonic pretreatment for lipase-catalyzed synthesis of phytosterol esters with different acyl donors [J]. Ultrason Sonochem, 2012, 19: 1015-1020.
- [5] ZHENG M M, MAO L J, HUANG F H, et al. A mixed-function-grafted magnetic mesoporous hollow silica microsphere immobilized lipase strategy for ultrafast transesterification in a solvent-free system [J]. RSC Adv, 2015, 5: 43074-43080.
- [6] TORRES C F, TORRELO G, VAZQUEZ L, et al. Stepwise esterification of phytosterols with conjugated linoleic acid catalyzed by *Candida rugosa* lipase in solvent-free medium [J]. J Biosci Bioeng, 2008, 106: 559-562.
- [7] HE W S, ZHU Y, CHEN Z Y. Plant sterols: chemical and enzymatic structural modifications and effects on their cholesterol-lowering activity [J]. J Agric Food Chem, 2018, 66: 3047-3062.
- [8] MARTEN B, PFEUFFER M, SCHREZENMEIR J. Medium-chain triglycerides [J]. Int Dairy J, 2006, 16: 1374-1382.
- [9] 谭天伟, 陈必强. *Candida* sp. 99-125 脂肪酶及其在化学品合成中的应用 [J]. 化工学报, 2010, 61: 1687-1692.
- [10] KIM B H, AKOH C C. Modeling and optimization of lipase-catalyzed synthesis of phytosteryl esters of oleic acid by response surface methodology [J]. Food Chem, 2007, 102: 336-342.
- [11] ZHENG M M, LU Y, DONG L, et al. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on hydrophobic/strong cation-exchange functional silica particles for biocatalytic synthesis of phytosterol esters [J]. Bioresour Technol, 2012, 115: 141-146.
- [12] HE W S, CUI D D, ZHEANG Y L, et al. Highly efficient synthesis of phytosterol linolenate catalyzed by *Candida rugosa* lipase through transesterification [J]. Food Sci Technol Res, 2017, 23: 525-533.
- [13] 万晓红. 脂肪酶 *Candida*. sp 99-125 催化合成环氧油酸(酯)的工艺研究 [D]. 北京: 北京化工大学, 2016.