

葵花籽油热氧化过程的¹H-NMR 指纹图谱与 LF-NMR 弛豫特性研究

卢海燕, 王欣, 赵婷婷, 刘宝林

(上海理工大学食品质量与安全研究所, 上海 200093)

摘要: 论文应用¹H-NMR 研究了葵花籽油 65 °C 贮藏过程中氧化产物(共轭烯、醛类、氧化物、芳香烃、游离酸相对含量)的变化规律, 并与低场核磁共振(LF-NMR)弛豫特性中的 S₂₁ 的变化进行了相关性分析。¹H-NMR 结果表明, 在 65 °C 贮藏过程中, 油样的初级氧化产物随贮藏时间的延长呈先增加后减小的趋势, 与氢过氧化物相比, 氢过氧化物-共轭二烯优先降解; 次级氧化产物及水解产物如醛、环氧化物、游离脂肪酸等随贮藏时间呈良好指数关系(R²>0.96), 芳香烃则随贮藏时间呈先增加后减小的趋势。而 LF-NMR 检测所得到的油样的 S₂₁ 随贮藏时间延长呈良好的指数增加趋势(R²=0.99)。相关性分析表明, 氧化物、游离脂肪酸与 S₂₁ 的相关性最高, 模型验证合理可靠。该结果可为研究 S₂₁ 特征峰的代表物质、提高 LF-NMR 油脂品质判别率提供研究参考及有益思路。

关键词: 葵花籽油; 贮藏; ¹H-NMR; 氧化物; 峰比例面积 S₂₁

文章篇号: 1673-9078(2014)8-43-50

¹H Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Fingerprints and Low-Field-NMR Relaxation Properties of Sunflower Oil during Thermal Oxidation

LU Hai-yan, WANG Xin, ZHAO Ting-ting, LIU Bao-lin

(Institute of Food Safety and Quality, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China)

Abstract: ¹H nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) was used to study change patterns associated with relative content of oxidation products (conjugated olefins, aldehydes, oxides, aromatic hydrocarbons, and free fatty acids) produced by the process of thermal oxidation during storage of sunflower oil at 65 °C. Correlation analysis with S₂₁ changes in low-field (LF)-NMR relaxation was conducted. The ¹H-NMR results indicated that the amount of primary oxidation products increased initially and then decreased with time, where hydroperoxide-conjugated dienes were preferentially degraded as compared to hydrogen peroxides. The amount of secondary oxidation products and hydrolysates such as aldehydes, epoxides, and free fatty acids increased exponentially with time (R² > 0.96), whereas the amount of aromatic hydrocarbons also increased and then decreased with time. The LF-NMR peak area S₂₁ for the oil sample increased exponentially (R² = 0.99) with time. Correlation analysis showed that oxides and free fatty acids had the highest correlation with S₂₁, which was proved reasonable and reliable by model validation. The results could provide a foundation to further explore the characteristic peak S₂₁ such that the quality of edible oil could be improved using the LF-NMR results as reference.

Key words: sunflower oil; storage; ¹H-NMR; oxides; peak area S₂₁

食用油在加工和贮藏过程中会发生一系列的化学反应, 其中, 油脂的热氧化反应对油脂及含油食品的稳定性影响最大, 产生的氧化产物, 破坏油脂营养风味、影响人体健康。因此, 油脂热氧化反应机理及相关检测

收稿日期: 2014-03-05

基金项目: 国家自然科学基金(NSFC31201365); 上海市科委重点攻关项目(11142200403); 上海市教委科研创新项目(11YZ109)

作者简介: 卢海燕(1988-), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为油脂品质的快速检测。

通讯作者: 王欣(1978-)女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 食品安全控制与检测

方法一直是油脂研究领域的热点之一。

低场核磁共振(LF-NMR)是一种非常有潜力的油脂快速检测新技术, 具有快速、无损、样品需要量少等特点, 在油脂分析中得到了一定应用, 已有研究对油脂的 T₂ 弛豫特性进行了报道。如, 周凝等^[1]发现未精炼的米糠毛油的 T₂ 弛豫图谱中存在一个可与正常食用油区分的特征小峰 T₂₁, 且 T₂₁ 峰面积比例 S₂₁ 可定量反映米糠毛油掺伪量; 史然、王永巍等^[2]应用 LF-NMR 对大豆油的无料/薯条煎炸过程中进行了研究, 发现 S₂₁ 与煎炸时间、酸价、粘度、吸光值和极性组分含量呈现良好的规律性; 卢海燕等^[3]研究葵花

籽油避光贮藏过程中 LF-NMR 弛豫特性与理化指标, 如共轭二/三烯值、茴香胺值、碘价等之间的回归模型。以上研究中均发现, 特征小峰 T_{21} 的出现及其 S_{21} 与油脂的劣变程度显著相关。因此, 若可获知其所代表的具体化合物, 不仅有利于解释 LF-NMR 检测的机理, 亦也有利于检测效果的提高。但由于 LF-NMR 因受自身分辨率的限制, 其弛豫图谱难以实现对具体的官能团的分辨, 因此, 不能实现对 S_{21} 代表油脂中的具体化合物的解析。

另一方面, 目前已有研究利用高场核磁共振 ($^1\text{H-NMR}$) 对油脂中氧化变化进行了研究, 如 Encarnacion G^[4] 等应用 $^1\text{H-NMR}$ 比较了 70 °C 和 100 °C 下葵花籽油氧化过程中初级及次级氧化产物, 尤其是具有细胞毒性的双环氧化物的变化。发现低温氧化仍有不饱和醛产生, 高温更易产生与异白细胞毒素有关的环氧化物; 认为与理化方法相比, 在研究油脂氧化时, $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱技术能提供更准确、详细的信息。蔡波太^[5] 等应用 600 MHz 的 $^1\text{H-NMR}$ 对不同种类植物油和不同来源“地沟油”H 谱的检测, 通过面积归一化处理, 建立了由甘油二酯、双键氢组成的 12 个判别指标, 形成了有效鉴别地沟油的 $^1\text{H-NMR}$ 方法。

因此, 本文拟在利用 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱技术对葵花籽油热氧化过程中典型氧化产物的变化规律进行研究的基础上, 再对其 LF-NMR 峰面积 S_{21} 的变化规律进行研究, 进而分析各氧化产物与 S_{21} 间的相关性, 建立 S_{21} 与相关氧化产物的量效关系, 为进一步解释 LF-NMR 检测油脂品质的机理提供基础数据支持。

1 材料与方法

1.1 主要仪器设备

高场核磁共振波谱仪: 氢谱, 400 MHz, 布鲁克仪器有限公司, 配套 $\Phi 5$ mm 核磁管; 低场核磁共振分析仪: PQ-001 型, 氢谱, 共振频率 23 MHz, 上海纽迈电子科技有限公司, 配套 T-invfit 反演拟合软件和 $\Phi 15$ mm 核磁共振专用测试管。

1.2 油脂贮藏氧化试验

取 500 mL 油样置于 1 L 的烧杯中, 参照文献^[6] 中的烘箱加速氧化实验法 (Schall oven test) 将油样置于 65 °C (44 d) 的烘箱内敞口、避光储存 (实验时间为 11 月~次年 1 月)。每个温度均三份平行油样, 为保证平行样品周围的氧气浓度一致, 每隔 2 d 交换其在烘箱内的位置。在氧化 0~20 d 阶段, 每隔 12 d 取样; 氧化 20~44 d 阶段, 每 4 d 取样。每次均取 20 mL 油

样, 冷却至室温置 4 °C 冷藏备用, 进行 LF-NMR 及 $^1\text{H-NMR}$ 检测, 并以此数据进行相关性分析。

1.3 LF-NMR 横向弛豫时间 (T_2) 测量及数据处理

利用 CPMG 脉冲序列测定样品的横向弛豫时间 (T_2)。参照文献^[2] 设置各检测参数及样品测试条件, 最终结果取三次测量平均值。

利用 T-invfit 软件对 LF-NMR 弛豫测量得到的自由诱导指数衰减曲线进行反演拟合, 可得到油样的多组分弛豫图谱 (T_2), 根据文献^[2] 对 T_2 图谱的命名方法, 按出现顺序将各峰分别命名为 T_{21} 峰、 T_{22} 峰及 T_{23} 峰, 对应的峰面积比例表示为 S_{21} 、 S_{22} 及 S_{23} , 本文重点 T_{21} 峰的峰面积比例 S_{21} 的变化规律。

1.4 $^1\text{H-NMR}$ 试验参数及数据处理

取 1 mL 样品溶于约 5 mL 氘代三氯甲烷 (CDCl_3) 中, 调整其体积比为 1:5, 漩涡震荡 5 s 混匀后, 取 0.6 mL 混合液装入 NMR 管中, 在室温下平衡 5 min 进行测量。

$^1\text{H-NMR}$ 谱测定参数设置: 采样点数 (TD) 64 K; 90°脉冲时间为 11 μs ; 谱宽为 18 ppm; 中心频率 (O1P) 4.0 ppm; 弛豫延迟时间 (D1) 3 s; 化学位移以 ppm 为单位。

1.5 核磁数据处理及定量分析方法

利用 Bruker TOPSPIN2.1 软件对 $^1\text{H-NMR}$ 图谱进行基线校正与相位校正, 然后做后续积分处理。参考厦门大学发明专利^[7], 对以下区域进行积分计算。

醛类化合物的相对含量 = $1000 \times \text{data}[1] / \text{data}[4]$;

芳香烃类化合物的相对含量 = $1000 \times \text{data}[2] / \text{data}[4]$;

共轭烯烃的相对含量 = $1000 \times \text{data}[3] / \text{data}[4]$;

氧化物的相对含量 = $200 \times \text{data}[5] / \text{data}[4]$;

游离酸的相对含量 = $100-300 \times \text{data}[4] / \text{data}[6]$;

注: data[1] 代表醛类化合物的总积分值, 化学位移在 9.0~10.2 ppm 区间的积分面积; data[2] 代表芳香烃类化合物的总积分值, 7.5~8.8 ppm 区间的积分面积; data[3] 代表反式共轭烯烃的总积分值, 6.5~6.7 ppm 区间的积分面积; data[4] 代表甘油酯的总积分值, 4.2~4.6 ppm 区间的积分面积; data[5] 代表氧化物的总积分值, 3.3~3.7 ppm 区间的积分面积; data[6] 为 2.2~2.5 ppm 区间的积分面积。游离酸的相对含量为未形成甘油酯的脂肪酸占总脂肪酸的摩尔百分含量。此外, 除游离脂肪酸外, 其他产物计算得到的值以相对含量表示, 与实际含量并

非严格的 1:1 关系, 无法以具体的比例关系衡量, 故以上物质含量均没有单位。

1.6 相关性分析

利用 SPSS 的多元回归分析法建立在 65 °C 氧化中葵花籽油 LF-NMR 弛豫特性中的 S_{21} 与 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱中获知的典型氧化产物的相关性模型。

1.7 模型的验证

首先参照 1.2 中的方法制备 65 °C 氧化油样, 氧化 0~20 d 阶段, 从 6 d 开始每隔 12 d 取样; 氧化 20~42 d 阶段, 从 22 d 开始每 4 d 取样。每次均取 20 mL 油样, 冷却至室温置 4 °C 冷藏备用, 进行 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱分析及 LF-NMR 检测, 并将获得的 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱的典型氧化产物代入 1.6 中建立各典型氧化产物与 S_{21} 的相关性模型, 计算获得 S_{21} 的理论预测值, 并分析其与实测值的相关性, 对模型的可靠性进行验证。

2 结果与讨论

2.1 葵花籽油热氧化过程氧化产物的 $^1\text{H-NMR}$ 指纹图谱分析

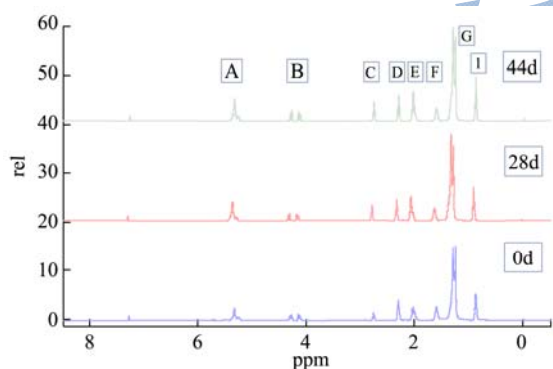


图 1 65 °C 氧化过程中葵花籽油不同时间的 $^1\text{H-NMR}$ 化学位移图谱 (0~8.5 ppm)

Fig.1 $^1\text{H-NMR}$ spectra of sunflower oil samples submitted to 65 °C with aeration, during different periods of time indicated in days region between 0~8.5 ppm

如图 1 所示, 新鲜及不同氧化程度的葵花籽油的 $^1\text{H-NMR}$ 图谱在 0~5.5 ppm 处均出现 9 个信号峰, 7.26 ppm 处为氘代氯仿的溶剂峰, 这些信号峰主要由葵花籽油中的甘油三酯的不同结构中的 H 质子产生, 其峰值的高低与该化学环境下 H 质子的含量有关, 各峰具体的归属及所代表的官能团如表 1 所示, 这也与文献报道相符^[4, 8-9]。葵花籽油在 65 °C 氧化过程中, 分别代表烯族类 (不饱和双键)、二烯丙基、烯丙基的 A、

C、E 信号峰幅值则出现不同程度的降低, 饱和脂肪酸所连的甲基 (I 峰附近) 则相应增加, 说明随着油脂氧化程度的加剧, 脂肪酸组成发生了一定的变化, 且由此产生了一系列的油脂氧化产物, 其信号峰集中在 5.5~10.0 ppm (见 2.1.1 和 2.1.2 部分的图谱及分析)。

表 1 葵花籽油 $^1\text{H-NMR}$ 波谱中各信号峰的归属^[8]

Table 1 Assignment of the signals in the $^1\text{H NMR}$ spectra of sunflower oil

峰编号	化学位移/ppm	官能团名称
A	5.26~5.40	不饱和双键
B	4.10~4.32	甘油基
C	2.70~2.82	二烯丙基
D	2.23~2.36	α 位羰基邻位甲基
E	1.94~2.14	双键邻位的亚甲基
F	1.52~1.70	β 位羰基邻位甲基
G	1.22~1.42	饱和亚甲基
I	0.83~0.93	末端的甲基 (饱和酸、油酸、亚油酸酰基)

2.1.1 初级氧化产物

油脂在热氧化过程初期所形成的氢过氧化物及共轭烯等初级氧化产物的 $^1\text{H-NMR}$ 波谱信号主要集中在 5.0~9.0 ppm 处。研究表明^[4], 氢过氧化物主要在 8.20 ppm 附近产生信号, 如图 2a 所示。新鲜葵花籽油在此处无信号, 但在氧化 6 d 时, 出现了少量信号, 并随着氧化时间的延长, 信号幅度逐渐增大, 38 d 时达到最大, 随后降低。油脂初级氧化生成共轭二烯氢过氧化物稳定结构, 主要包括 Z、E 及 E、E 两种结构, 信号主要集中在 6.48 ppm 和 5.98 ppm 附近^[9], 如图 2b 所示, 其中 5.51、5.56、6.00、6.58 ppm 处为 Z、E 共轭二烯物, 5.47、5.76、6.06、6.25 ppm 为 E、E 共轭二烯物。共轭二烯的变化规律与氢过氧化物类似, 随时间延长, 其信号幅值逐渐增大, 随后逐渐降低, 但不同结构的共轭二烯物达到最大值的时间稍有区别。Z、E 共轭二烯物的信号幅值在 32 d 时已达到最大, 明显早于 E、E 共轭二烯物的最大信号幅值出现时间 (38 d), 这与 Guille'n 对玉米油在室温下氧化的研究结果一致。这可能是由于, 氧化过程中 Z、E 结构的共轭二烯的活化能低于与 E、E 活化能, 氧化过程更容易分解^[10]。

2.1.2 次级氧化产物

油脂氧化初期的产物很不稳定, 可氧化聚合生成环氧类物质等产物。环氧类化合物在 $^1\text{H-NMR}$ 波谱中出现在 2.9~3.2 ppm 的区域, 而醛类则集中在 9.5~10.2 ppm 间, 葵花籽油在 65 °C 贮藏过程中醛类物质的化学位移图如图 3a 所示。

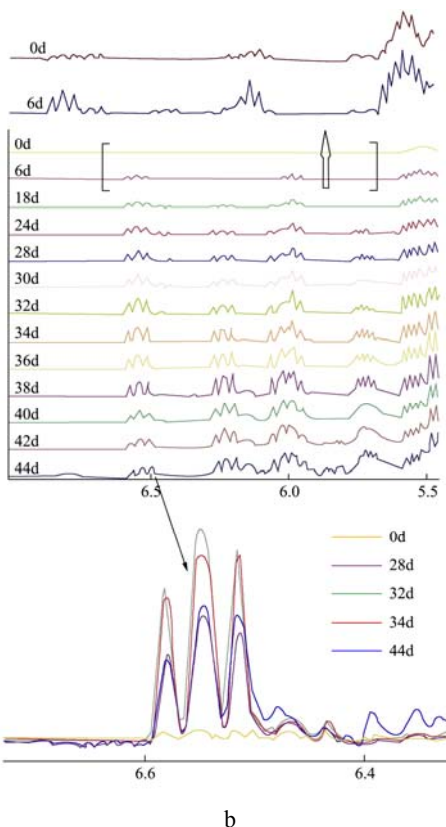
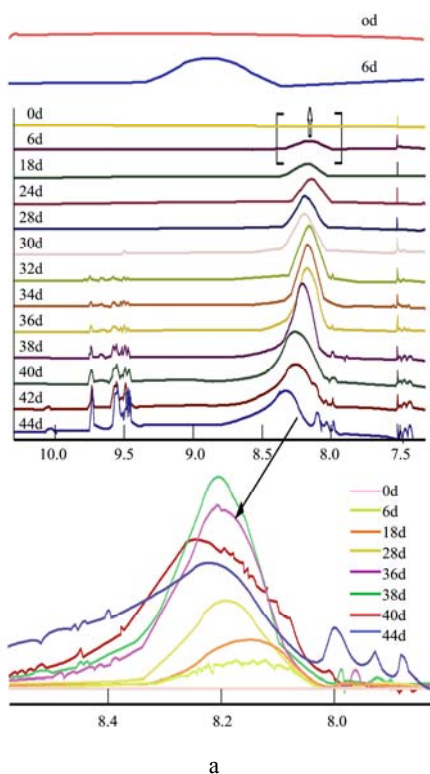


图2 65 °C贮藏过程中葵花籽油不同时间的¹H-NMR波谱在7.6~10.0 ppm及5.5~7.0 ppm的放大图

Fig.2 Expanded regions of 7.6 to 10.0ppm and 5.5 to 7.0 ppm of the ¹H NMR spectra of sunflower oil samples kept at 65 °C during different periods of time indicated in days

注: a: 7.6~10.0 ppm; b: 5.6~7.0 ppm

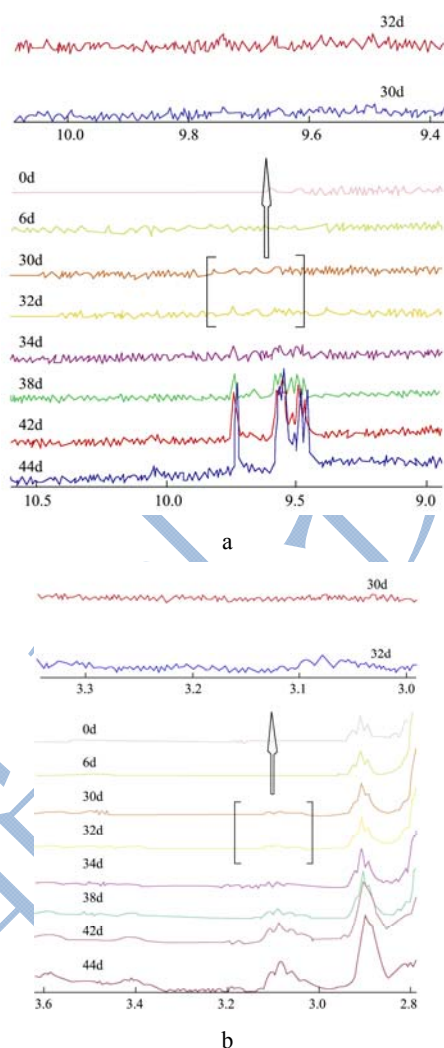


图3 65 °C贮藏过程中葵花籽油不同时间的¹H-NMR波谱在9.0~10.5 ppm (a) 及2.8~3.6 ppm (b)的放大图

Fig.3 Expanded regions of 9.0 to 10.5 ppm and 2.8 to 3.6 ppm of the ¹H NMR spectra of sunflower oil samples kept at 65 °C during different periods of time indicated in days

如图 3a 所示, 新鲜葵花籽油的 ¹H-NMR 谱图在 9.0~10.5 ppm 无任何信号, 在 65 °C 氧化 32 d 后, 则可在其 ¹H-NMR 图谱 9.4~9.6 ppm 处观察到信号峰, 主要为分布在 9.49~9.75 ppm。化学位移为 9.49、9.58 ppm 代表顺-2-烯醛, 9.65、9.75 ppm 则代表反-反-2, 4 链二烯基^[11], 且以上信号峰的峰值均随着贮藏时间的延长而增大。

化学位移为 2.9、3.1 ppm 处可以表征环氧类化合物的存在, 由图 3b 可知该处化学位移在贮藏 32 d 后才开始出现特征信号峰, 这与醛类物质的变化规律相似, 此外, 醛类物质和环氧化物开始出现信号峰的同时, E、E 共轭二烯物信号值达到最大, 明显早于氢过氧化物达到最大值时的时间, 说明在氧化过程中, 与氢过氧化物相比, E、E 共轭二烯物优先分解为次级氧

化产物, 这可能与产物本身的性质有关, 具体的原因仍需深入研究。

2.2 葵花籽油贮藏过程氧化产物的定量分析

根据参考文献^[8]中的方法, 对葵花籽油在 65 °C 贮藏过程中的 ¹H-NMR 谱图的六个不同的区域分别进行积分, 从而得到共轭烯、醛类、氧化物、芳香烃、游离酸相对含量随贮藏时间的变化规律。

2.2.1 共轭烯 (化学位移为 6.5~6.7 ppm)

葵花籽油 ¹H-NMR 谱图中化学位移为 6.5~6.7 ppm 代表的物质主要为 Z-E 氢过氧化物-共轭二烯结构^[10]。65 °C 贮藏过程中葵花籽油共轭二烯含量随贮藏时间的变化如图 4 所示。

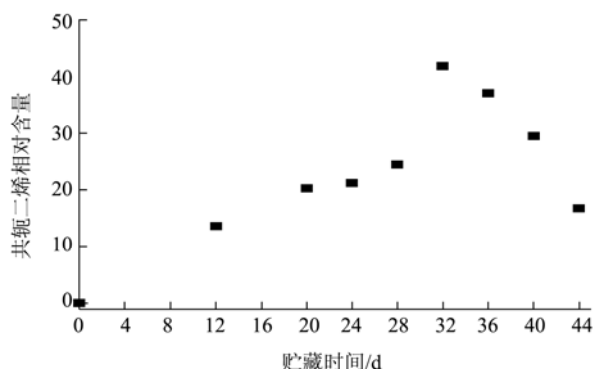


图 4 65 °C 贮藏过程中葵花籽油共轭二烯含量随贮藏时间的变化

Fig.4 Evolution of conjugated diene content in sunflower oil during storage process at 65 °C

由图4可知, 在65 °C 贮藏初期, 葵花籽油中Z-E氢过氧化物-共轭二烯含量随时间延长而逐渐增加, 在32 d时达到最大值, 随后则呈逐渐减小趋势。这与上文的分析结果一致。但与研究中发现的葵花籽油在65 °C 贮藏0~44 d期间其共轭二烯值 (K_{232}) 随贮藏时间的呈指数增加趋势有所区别^[3]。这主要由于理化指标共轭二烯值表征包括Z-E、E-E等不同结构在内的共轭二烯的总量, 而6.5~6.7 ppm化学位移处, 所表征的Z-E结构的共轭二烯物活化能相对较低, 更易氧化分解, 因而其共轭二烯值的信号幅值出现随时间呈先增加后减少的变化规律。

2.2.2 醛类 (化学位移为 9.0~10.2 ppm)

在葵花籽油¹H-NMR波谱中烯醛类物质, 如(Z, E)-2, 4-己二烯醛, (E, E)-2, 4-二烯醛等物质的特征信号主要体现在化学位移为9.0~10.2 ppm处^[12]。65 °C 贮藏过程中葵花籽油醛类含量随贮藏时间的变化如图5所示。

由图5可知, 在65 °C 贮藏过程中, 葵花籽油中的醛类含量随贮藏时间的延长呈指数增加趋势 ($R^2=0.962$), 这与p-茴香胺值的变化趋势相同^[3]。这是由于, 新鲜植

物油在贮藏初期, 即油脂氧化诱导期内, 主要产生氢过氧化物, 而不饱和醛等二次氧化产物含量较少; 诱导期结束后进入氧化期, 游离的氢过氧化物自由基不稳定分解为醛、酮等小分子物质, 从而使得醛类物质增加。

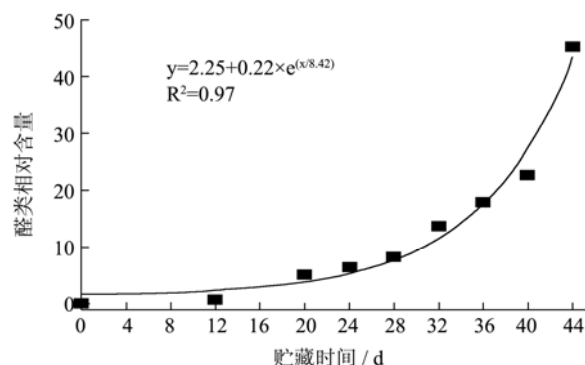


图5 65 °C 贮藏过程中葵花籽油醛类含量随贮藏时间的变化

Fig.5 Evolution of aldehyde content in sunflower oil during storage process at 65 °C

2.2.3 氧化物 (化学位移为 3.3~3.7 ppm)

在葵花籽油¹H-NMR波谱中, 化学位移为3.3~3.72 ppm主要为环氧化物及单/二甘油酯。环氧化物主要包括单/二环氧基丁烷酰基衍生物, 环氧甘油三酯、二环氧酰基衍生物, 还包括醇、醚等含氧的化合物^[8]。而单/二甘油酯则主要为1, 2-双甘酯、1-单甘酯、2-单甘酯等。65 °C 贮藏过程中葵花籽油氧化物含量随贮藏时间的变化如图6所示。

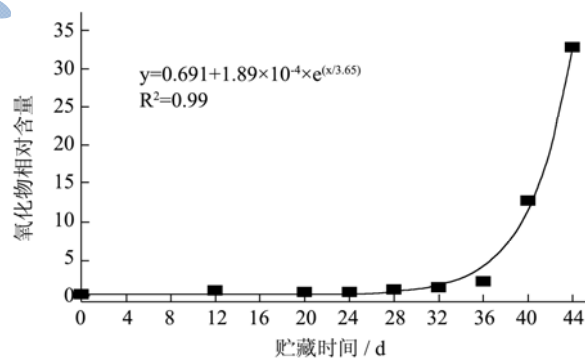


图6 65 °C 贮藏过程中葵花籽油氧化物含量随贮藏时间的变化

Fig.6 Evolution of oxide content in sunflower oil during storage process at 65 °C

由图6可知, 在贮藏过程中, 葵花籽油中的氧化物含量在0~36 d内随贮藏时间延长而缓慢增加, 随后显著增加, 至贮藏结束 (44 d) 时其氧化物已高达32.78, 经拟合发现, 二者间呈良好的指数关系 ($R^2=0.99$)。这是由于, 新鲜植物油在贮藏初期即诱导期内反应缓慢, 诱导期结束后进入氧化期, 游离的氢过氧化物自由基不稳定分解为不同的环氧化物及其衍生物, 从而使得氧化物含量增加。

2.2.4 芳香烃 (化学位移为7.5~8.8 ppm)

葵花籽油¹H-NMR波谱中化学位移为7.5~8.8 ppm处主要表征含有芳香环类的化合物,如1,6-二甲基萘、联二苯、9H-芴等具有致癌及遗传毒性的物质^[13]。65℃贮藏过程中葵花籽油中的芳香烃含量随时间的变化如图7所示。

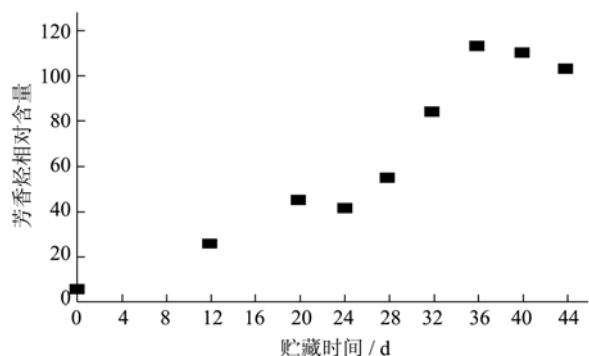


图7 65℃贮藏过程中葵花籽油芳香烃含量随贮藏时间的变化
Fig.7 Evolution of aromatic hydrocarbon content in sunflower oil during storage process at 65℃

图7表明,在贮藏0~24 d期间,葵花籽油中的芳香烃含量随贮藏时间的延长而显著增加 ($p < 0.05$),36 d时达到最大值,随后逐渐降低,这可能与芳香烃物质本身的强挥发性有关^[14],随着贮藏时间的延长,油样体积不断减少,芳香烃的挥发量超过反应生成量,故呈现降低趋势。

2.2.5 游离脂肪酸 (FFA, 化学位移为2.2~2.5 ppm)

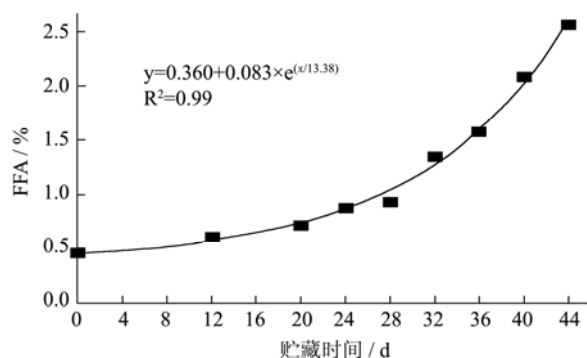


图8 65℃贮藏过程中葵花籽油游离脂肪酸含量随贮藏时间的变化

Fig.8 Evolution of FFA content in sunflower oil during storage process at 65℃

植物油在高温氧化过程中,甘油酯与水经高温催化生成游离脂肪酸和甘油酯。化学位移为2.2~2.5 ppm处主要为形成甘油酯的脂肪酸,公式中的游离脂肪酸代表未形成甘油酯的脂肪酸占总脂肪酸的摩尔百分含量。65℃贮藏过程中葵花籽油中游离脂肪酸含量随贮藏时间的变化如图8所示。

图8表明:在贮藏0~32 d期间,葵花籽油的游离脂肪酸含量变化相对缓慢,随后显著增加。拟合发现,游离脂肪酸含量与贮藏时间呈良好的指数关系 ($R^2=0.99$)。这是由于,新鲜植物油在贮藏初期水分较少,水解反应缓慢,诱导期结束后进入氧化期,随着贮藏时间延长,油样体积不断减少,其比表面积增加,溶氧量及与水蒸汽接触面积增加,从而加剧了油脂的水解反应导致游离脂肪酸显著升高。

2.3 葵花籽油贮藏氧化过程的 LF-NMR 弛豫特性

葵花籽油在65℃贮藏过程中 LF-NMR 检测得到 T_2 图谱如图9a所示,随贮藏时间增加 T_2 整体有逐渐左移趋势,进一步分析 S_{21} 的变化如图9b所示,葵花籽油的 S_{21} 随贮藏时间呈良好的指数关系 ($R^2=0.99$)。这是由于, T_2 特征峰一方面反映氧化产物中区别于甘油三酯成分的一类氧化产物的形成及积累^[2],随着贮藏时间的延长,具有类似 T_{21} 的化合物含量增加,从而使其 LF-NMR 的信号响应增加,导致 T_2 图谱中相应的峰面积 (S_{21}) 增加。

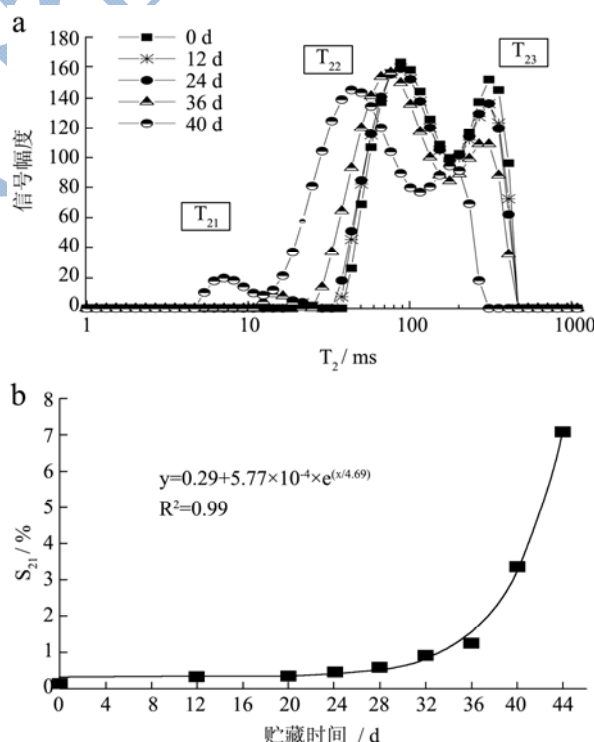


图9 葵花籽油在65℃贮藏过程中 T_2 图谱及 S_{21} 随时间的变化
Fig.9 Distribution of the T_2 relaxation time and S_{21} of sunflower oil during the storage process at 65℃

2.4 葵花籽油氧化产物与 S_{21} 的相关性

为避免不同变量的量纲对数据分析的影响,首先

进行标准化处理,再进行相关性分析,结果如表2所示。

表2 S_{21} 与各氧化产物的相关性分析

Table 2 Correlation coefficients between S_{21} and oxidation products

氧化产物相对含量					
	醛类	芳香烃	共轭烯	氧化物	游离脂肪酸/%
$S_{21}/\%$	0.949	0.701	0.086	0.992	0.884

除共轭烯外,其余油脂氧化产物都与 S_{21} 呈较好的相关性($R^2>0.7$),其中醛类和氧化物的相关性最高,相关系数达 0.94 以上。为进一步求得各氧化产物对 S_{21} 的具体贡献值,以 S_{21} 为因变量,五个氧化产物指标作为自变量,利用多元回归分析法建立 S_{21} 与氧化产物的相关模型。利用向后筛选策略进行多元回归分析,最终得到的相关性模型分析如表3所示。

表3 向后多元线性回归分析的 S_{21} 模型

Table 3 BMLR results for S_{21} Model Summary

模型	预测变量	Adj- R^2	Sig F
1	醛类,芳香烃,共轭烯,氧化物,FFA	0.997	0.000
2	芳香烃,共轭烯,氧化物,FFA	0.998	0.692
3	共轭烯,氧化物,FFA	0.998	0.091
4	氧化物,FFA	0.998	0.016

由表2可知,利用向后筛选策略可实现相关性模型的建立,从模型建立的过程来看,自变量的个数不影响 R^2 。依次被剔除出模型的自变量是醛类、芳香烃、共轭烯,这是由于其偏 F 检验 (Sig F) 结果均大于显著性水平 $\alpha(0.05)$,因此均不能拒绝检验的原假设,说明它们对因变量的线性解释没有显著贡献,不应保留在模型中,最终保留在模型中的变量是氧化物、游离脂肪酸含量,此时该线性关系显著,可实现较高的预测精度。最终确定的标准化回归方程为: $S_{21}=-2.65*10^{-17}+0.799*O+0.255*FFA$ (O:氧化物; $R^2=0.998$)。

通过以上分析可知,氧化物对 S_{21} 的影响最大,其次为 FFA,由此可见,氧化产物的累积会影响油脂的弛豫特性,从而使得 S_{21} 发生改变。究其原因,主要是新鲜植物油几乎全部由甘油三酯组成,甘油三酯本身存在类似于晶格结构的稳定的群聚现象,均一性较好,油脂氧化过程生成醛类、环氧化物、游离脂肪酸等区别于甘油三酯的一类小分子物质,分子极性增加,使得氢质子所受的束缚力增强,弛豫时间缩短,表现为 T_2 弛豫时间的减小,从而出现 T_{21} 特征峰,随着氧化产物的积累,导致特征峰峰比例面积 S_{21} 相应增大。

此外对以上模型进行了验证试验,将 ^1H-NMR 指纹图谱的典型氧化产物代入所建立的相关性模型中计

算获得 S_{21} 的理论预测值,发现 S_{21} 理论预测值与实测值之间具有较高的相符性, R^2 可达 0.99,说明在实验范围内,建立回归方程具有较好的预测效果。

3 结论

3.1 通过上述实验可知,葵花籽油贮藏于 65 °C 的过程中,油样初级氧化产物如氢过氧化物、共轭二烯物的 ^1H-NMR 信号幅值随贮藏时间的延长呈先增加后减小的趋势;与氢过氧化物相比,氢过氧化物-共轭二烯优先降解,且 Z-E 结构的共轭二烯更易降解;次级及水解产物如醛、环氧化物、游离脂肪酸等物质的 ^1H-NMR 信号幅值随贮藏时间呈良好指数关系,芳香烃则随贮藏时间呈先增加后减小的趋势。

3.2 LF-NMR 检测发现,葵花籽油样的 S_{21} 随贮藏时间延长呈良好的指数增加趋势 ($R^2=0.99$)。相关性分析结果表明,氧化物、游离脂肪酸与 S_{21} 的相关性最高,模型相关系数达 0.99 以上,模型经验证后合理可靠。该结果可为研究 S_{21} 特征峰的代表物质、提高 LF-NMR 油脂品质检测效果提供研究基础数据。

参考文献

- [1] 周凝,刘宝林,王欣,等.米糠毛油掺伪食用植物油的低场核磁共振检测[J].食品发酵与工业,2011,3:177-181
ZHOU Ning, LIU Bao-lin, WANG Xin, et al. Discrimination of edible vegetable oil adulterated with rice bran crude oil by low-field nuclear magnetic resonance [J]. Food and Fermentation Industries, 2011, 3: 177-181
- [2] 史然,王欣,刘宝林,等.大豆油煎炸过程理化指标与 LF-NMR 弛豫特性的相关性研究[J].分析测试学报,2013,32(6): 653-660
SHI Ran, WANG Xin, LIU Bao-lin, et, al. The relationship between analytical indicators of soybean oil and LF-NMR characteristics during frying process [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2013, 32(6): 653-660
- [3] 卢海燕,王欣,赵婷婷,等.葵花籽贮藏过程理化性质与 LF-NMR 弛豫特性的相关性[J].分析测试学报,2014,33(4): 395-402
LU Hai-yan, WANG Xin, ZHAO Ting-ting, et,al. Relationship between analytical indicators of sunflower oil and the LF-NMR characteristics during storage process [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2014, 33(4): 395-402
- [4] Encarnaci G, Maria D G. Analysis of hydroperoxides, aldehydes and epoxides by 1H Nuclear Magnetic Resonance in sunflower oil oxidized at 70 and 100 °C [J]. Agric Food Chem, 2010, 58: 6234-6245

- [5] 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(1):1-10
CAO Bo-tai, YUAN Long-fei, ZHOU Ying, et, al. Identification of illegal cooking oils by using ^1H NMR fingerprints combined with multivariate analysis [J]. Scientia Sinica (Chimica), 2013, 43(1): 1-10
- [6] Liang C, Schwarzer K. Comparison of four accelerated stability methods for lard and tallow with and without antioxidants [J]. J. Agric. Food Chem., 1998, 75: 1441-1443
- [7] 厦门大学,通过特征化合物特征相对含量判断地沟油的方法: 中国专利 [P] CN 103207200 A. [2013-07-17]. <http://dbpub.cnki.net/grid2008/dbpub/detail.aspx?QueryID=4&CurRec=1&dbcode=SCPD&dbname=SCPD2013&filename=CN103207200A&urlid=&yx=&uid=WEEvREcwSIJHSldSdnQ0UDlnQzY2S0kwaUp0UjZjZkUzszZmEweC9xMGtLaERmSHJwdndJWnRrMXdmclFGRWI4PQ==>
- [8] Gardner H W, Weisleder D. Hydroperoxides from oxidation of linoleic and linolenic acids by soybean lipoxygenase: proof of the trans-11 double bond [J]. Lipids, 1972, 7(3): 191-193
- [9] Guille'n 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 ^1H Nuclear Magnetic Resonance data [J]. Food Chemistry, 2009, 116(1): 183-192
- [10] Guille'n 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 ^1H Nuclear Magnetic Resonance [J]. J. Agric. Food Chem., 2009, 57(17): 7790-7799
- [11] Maria D, Guillen, Encarnacion G. Detection of primary and secondary oxidation products by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and ^1H Nuclear Magnetic Resonance (NMR) in sunflower oil during storage [J]. J. Agric. Food Chem., 2007, 55(26): 10729-10736
- [12] Christina S, Panagiotis S, Thomas K. ^1H NMR approach as an alternative to the classical p-anisidine value method [J]. Eur. Food Res. Technol., 2012, 10(6): 1113-1125
- [13] 冯志强,庄俊钰,岑素玉,等.餐厨废油脂的脂肪酸指纹图谱构建及识别初探[J].现代食品科技,2014,30(2):259-233
FENG Zhi-qiang, ZHUANG Yun-yu, CHEN Su-yu, et,al. Establishment and discriminate of fatty acid fingerprint from waste cooking oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(2): 259-233
- [14] 杨永存,李浩,杨冬燕,等.傅立叶变换红外光谱鉴别“地沟油”的有效性评估[J].现代食品科技,2014,30(1):227-232
YANG Yong-cun, LI Hao, YANG Dong-yan, et al. Effectiveness evaluation of illegal cooking oil identification based on Fourier Transform Infrared Spectroscopy [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 227-232