

荧光寿命分析法鉴别食用植物油品种的可行性研究

陈斌, 郭丽, 陈晖, 陆道礼

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要: 本文通过时间相关单光子计数法, 采用 HORIBA Scientific 时间分辨荧光光谱仪对食用植物油品种鉴别做了研究, 结合 DAS6 和 OriginPro 8.5 数据处理软件, 实现对山茶油、花生油和葵花籽油的种类鉴别。通过非线性最小二乘法对数据进行拟合, 从拟合优度 χ^2 和残差分布两个角度确定最佳的拟合方法, 从而得到 3 种食用植物油的荧光寿命, 结果发现, 山茶油的平均荧光寿命最长, 花生油的荧光寿命最短, 而葵花籽油的荧光寿命与花生油的荧光寿命相差 0.11 ns, 并通过山茶油-花生油-葵花籽油混合油样进行了掺杂对比试验, 从而证明了荧光寿命分析法识别植物油种类的方案具有可行性。此方法的优点在于利用荧光寿命分析法可以避免光源波动、外界杂散光的影响, 因此荧光寿命分析法对植物油的种类鉴别表现出更好的检测精度和准确度, 检测结果准确可靠, 为植物油品种鉴别提供了一种新思路。

关键词: 植物油; 鉴别; 荧光寿命

文章编号: 1673-9078(2017)6-303-308

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.044

Feasibility Study of Application of Fluorescence Lifetime Analysis in the Identification of Vegetable Oils

CHEN Bin, GUO Li, CHEN Hui, LU Dao-li

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: The ability to identify types of vegetable oils by using a time-correlated single photon counting method and a HORIBA Scientific time-resolved spectrofluorometer was investigated. In combination with the data-processing software applications DAS6 and OriginPro8.5, camellia oil, peanut oil, and sunflower seed oil were successfully identified. Data fitting was performed using nonlinear least squares method, the optimal fitting method was determined by the goodness-of-fit (χ^2) and residual distribution, and the fluorescence lifetimes of three edible vegetable oils were obtained. The experimental results showed that the longest and shortest fluorescence lifetimes were presented by camellia oil and peanut oil, respectively, and the difference between sunflower oil and peanut oil was only 0.11 ns. Subsequently, a comparison test was performed with a mixture of camellia oil, peanut oil, and sunflower oil, to prove the feasibility of the fluorescence lifetime analysis method to identify types of vegetable oils. This method avoids the effects of light source fluctuation and external stray light, and can therefore provide better precision and accuracy in the identification of vegetable oils, with reliable results. This study provides a new approach for the identification of vegetable oils.

Key words: vegetable oil; identification; fluorescence lifetime

油脂是维持人体正常代谢必不可少的成分之一, 其安全性受到越来越多的关注与重视^[1,2]。常见食用植物油主要有菜籽油、大豆油、葵花籽油、花生油、山茶油和橄榄油等, 由于食用植物油的品质及价位之间的巨大差异, 不法生产经营者为牟取暴利进行违法掺

收稿日期: 2016-11-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31271874); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 陈斌 (1960-), 男, 博士, 教授, 主要从事食品与农产品无损检测技术方面的研究

通讯作者: 郭丽 (1989-), 女, 硕士, 主要从事食品与农产品无损检测技术方面的研究

杂, 一般是将廉价植物油掺入到价格昂贵的高档植物油中^[3-5], 或者是将橄榄油、山茶油以及葵花籽油等几种高档食用油混淆销售。因此对食用植物油进行品种鉴别具有重要的实际价值。山茶油被誉为“东方橄榄油”, 具有高效抗氧化力, 是一种绿色、无污染、营养丰富的高端食用油, 深受国内百姓青睐^[6]; 葵花籽油中不饱和脂肪酸含量高达 90% 以上, 在中国消费者心中属于优质高端食用油品, 市场需求旺盛^[7]; 花生油具有独特风味和丰富营养, 是中国家庭中理想烹调用油之一, 其价格和信誉度在近年来也是不断提高^[8,9]。

食用植物油中的荧光成分主要包括维生素、叶绿素和类胡萝卜素等具有共轭结构的分子, 不同植物油

中荧光成分的种类和含量也存在差异, 这为荧光寿命分析法鉴别植物油品种提供了物质基础。Mu 等人通过时间分辨荧光强度衰减谱与等高线图相结合的方法对 9 种植物油做了种类鉴别的研究。结果显示, 该方法可以实现 9 种植物油的种类鉴别, 且鉴别结果准确可靠^[10]。需要指出的是, 基于荧光强度的检测结果容易受到荧光分子的不均一性、荧光物质浓度等因素的干扰, 从而导致荧光强度检测的不准确性。荧光寿命是荧光物质的本征参量, 检测时不易受荧光分子浓度、杂散光、荧光散射角度以及某些荧光物质易分解因素的干扰, 可以直观地反映植物油中荧光物质的荧光信号的衰减过程, 因此以荧光寿命作为检测指标受到了广泛关注^[11-15]。植物油作为一个复杂体系^[16], 单纯通过植物油的荧光光谱, 很难得到体系的准确信息, 尤其是当有些植物油油样的荧光光谱峰形相似, 最大发射峰值相近的情况下, 不能准确认定油种, 此时可以借助荧光寿命来予以分辨^[17-20]。

本研究的目的在于利用荧光寿命分析法对食用植物油品种进行鉴别研究, 本文选定山茶油、葵花籽油和花生油 3 种植物油作为研究对象, 通过荧光强度衰减曲线结合荧光寿命的差异, 实现了植物油的品种鉴别, 为食用油品种鉴别提供新的思路与方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

花生、葵花籽, 二者均为油用原料, 购于镇江某商店; 山茶油由江西仰山园油茶开发有限公司提供; 正己烷(分析纯), 由镇江华东器化玻有限公司提供; 三组分混合油样由山茶油和下述自行压榨的花生油、葵花籽油按照 1:1:1 的比例混合而成。

1.2 仪器与设备

油夫人(YFR) WMTL-A3 家用智能榨油机, 中山市唯美天丽电器有限公司; 时间分辨荧光光谱仪 HORIBA Scientific 仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 葵花籽油和花生油制备

葵花籽油制备的工艺流程: 选择市售油用带壳的葵花籽, 经过挑选脱壳处理, 采用家用智能榨油机进行螺旋压榨, 毛油经过静置 48 h 取上层油样作为试验用葵花籽油。

花生油制备的工艺流程: 选择市售油用带壳花生, 经过挑选去壳后, 采用家用智能榨油机进行螺旋压榨, 毛油静置 48 h 取上层油样作为试验用花生油。

1.3.2 试验检测方案

利用 HORIBA Scientific 时间分辨荧光光谱仪, 采用时间相关单光子计数法, 以二氧化钛作为仪器响应函数测定的标品, 在相同环境条件下对 3 种纯食用植物油及 3 组分混合油样的荧光衰减谱进行测定和分析。结合课题组之前做的预备试验分析, 试验所用食用植物油的激发波长为 405 nm, 而山茶油、葵花籽油、花生油、混合油样的接收波长分别为 675 nm、675 nm、470 nm 和 675 nm; 光谱仪的狭缝和计数通过前期预备试验分析结果, 分别设定为 4 nm 和 10000 (Peak Press)。

将待测油样装于光程为 10 mm 的石英比色皿中, 以 HORIBA Scientific 时间分辨荧光光谱仪在上述的参数条件下进行光谱数据的测定, 每个油样重复 2 次试验, 油样测定完成后用正己烷清洗比色皿, 然后进行下个油样的测量。最终结果利用 DAS6 和 OriginPro 8.5 数据处理软件对所得光谱数据进行处理。

1.4 荧光寿命计算

$$\text{平均寿命}(\tau) = \frac{B_1 T_1^2 + B_2 T_2^2 + B_3 T_3^2}{B_1 T_1 + B_2 T_2 + B_3 T_3}$$

式中: T_1 、 T_2 和 T_3 为拟合所得各荧光组分的荧光寿命; B_1 、 B_2 和 B_3 分别为各荧光组分的相对浓度。

2 结果与讨论

2.1 3 种食用植物油的荧光衰减谱分析

检验拟合合理性的判据主要有残差分布和拟合度 χ^2 。合理的拟合结果在不同瞬间的残差权重应该在零值附近呈现随机分布状态, 否则拟合结果不合理。 χ^2 是用作检验拟合结果质量好坏程度的直接标志, 当用最小二乘分析处理理论模型数据 $Y(x_i)$ 和实测数据 $y(x_i)$ 时, 拟合结果的 χ^2 越接近于 1 说明该拟合结果越好。在实际检测中, 测量结果必然包含系统误差, 而实践经验表明, 测量系统误差通常可使拟合的最终 χ^2 增大 10%~20%, 所以根据数学运算和经验认为拟合结果 $\chi^2 \leq 1.08$ 都是“可接受”的合理结果。^[21-23] 本试验数据处理方法是首先假定一个指数函数作为模型函数, 然后将该假定函数与仪器响应函数卷积运算, 卷积结果再与实测强度衰减曲线进行拟合, 直到得到的结果拟合度接近于 1, 并且残差权重在零值附近均衡分布, 说明拟合结果较为理想。

山茶油的荧光衰减曲线与拟合结果如图 1 所示。图 1a 显示山茶油的荧光强度在荧光光子数达到 10000 后缓慢衰减至荧光消失; 对于山茶油中荧光物

质组成的混合体系，若按照单一寿命（单指数）进行拟合，所得结果的拟合度 $\chi^2=1.0099$ ，但是残差波动范围较大；当采用两寿命进行拟合时，拟合结果的 $\chi^2=1.0029$ ，而且残差分布与单一指数相比更加均衡，因此选择两寿命拟合的数据为最终结果。

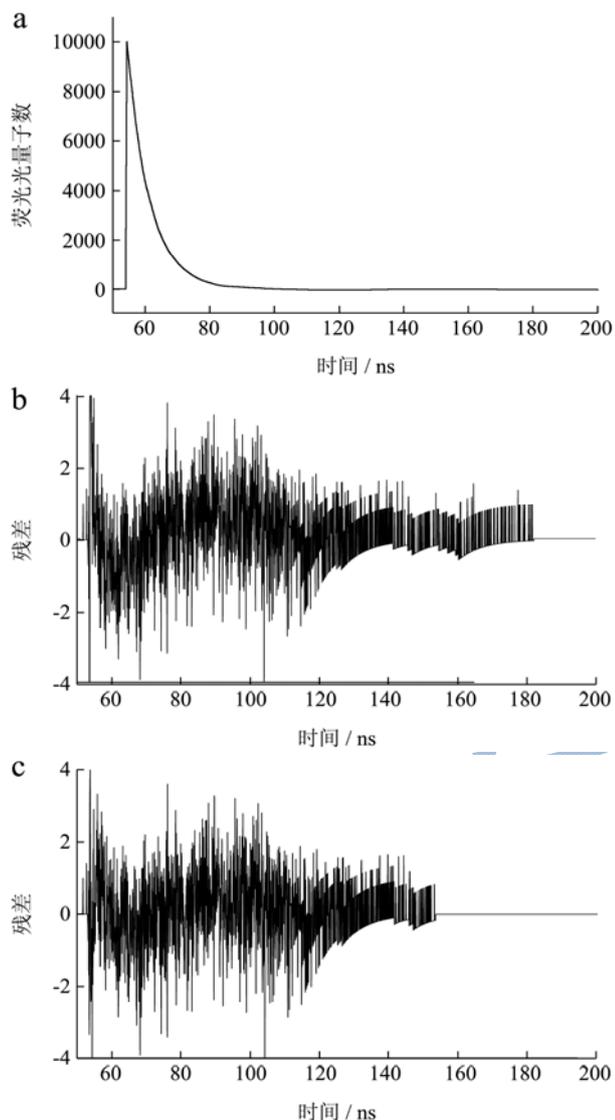


图1 山茶油的荧光衰减曲线及残差分布

Fig.1 Decay curve and residual distribution of camellia oil

注：a 山茶油的荧光衰减曲线；b 单指数拟合， 1τ ， $\chi^2=1.0099$ ；c 双指数拟合， 2τ ， $\chi^2=1.0029$ 。

花生油的荧光衰减曲线及拟合结果如图2所示。图2a可以看到花生油的荧光强度是从荧光光子数累积达到10000时瞬间衰减至6500，然后以较低的衰减速度衰减，直至荧光强度减小到零。对花生油中的荧光物质体系分析如下：若按照单一寿命进行拟合，所得到的拟合结果 $\chi^2=11.955$ ，与1相差甚远，而且残差权重并非随机分布（如图2b），明确显示这并不是一个单一荧光寿命的体系；当采用两寿命进行拟合时，情况有1很大改善，但仍然不够理想；而采用3个寿命

进行拟合发现，可以得到比较理想的结果，拟合度 $\chi^2=1.0052$ ，残差权重呈均衡分布，如图2d所示。

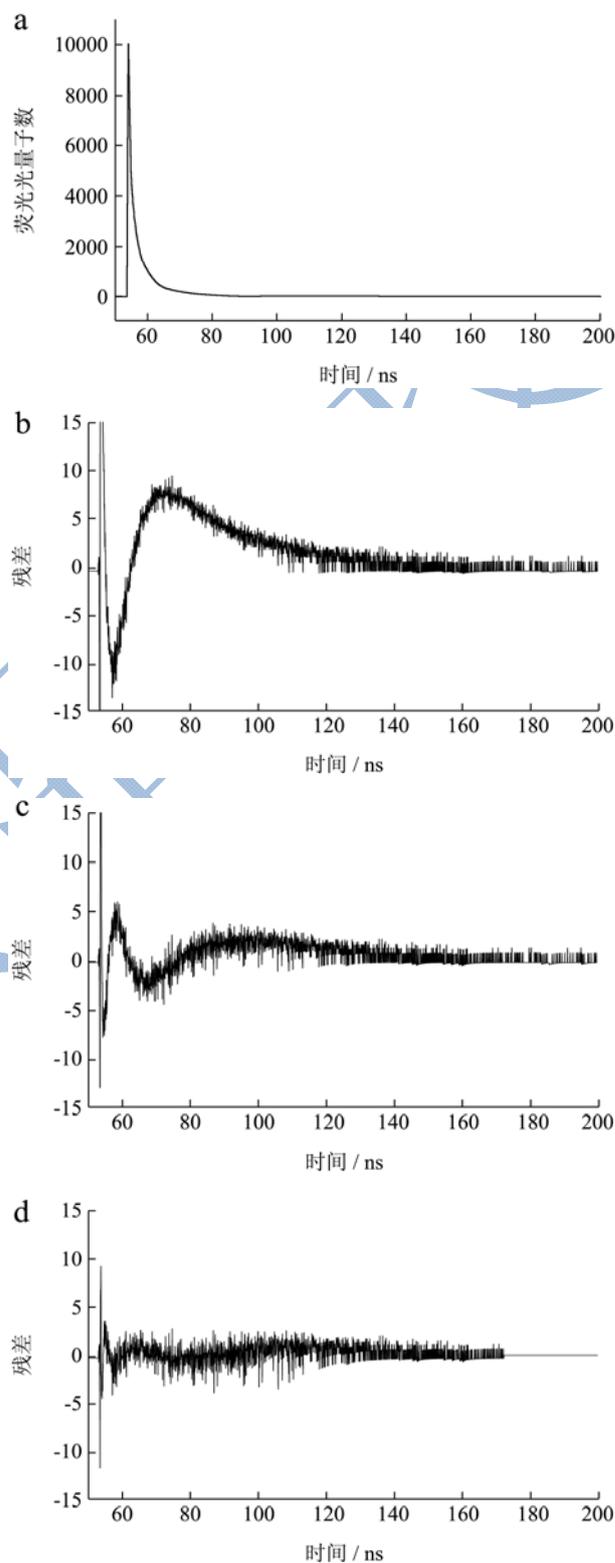


图2 花生油的荧光衰减曲线及残差分布

Fig.2 Decay curve and residual distribution of peanut oil

注：a 表示花生油的荧光衰减曲线；b 表示单指数拟合， 2τ ， $\chi^2=1.9065$ ；c 表示双指数拟合， 1τ ， $\chi^2=11.9550$ ；d 表示三指数拟合， 3τ ， $\chi^2=1.0052$ 。

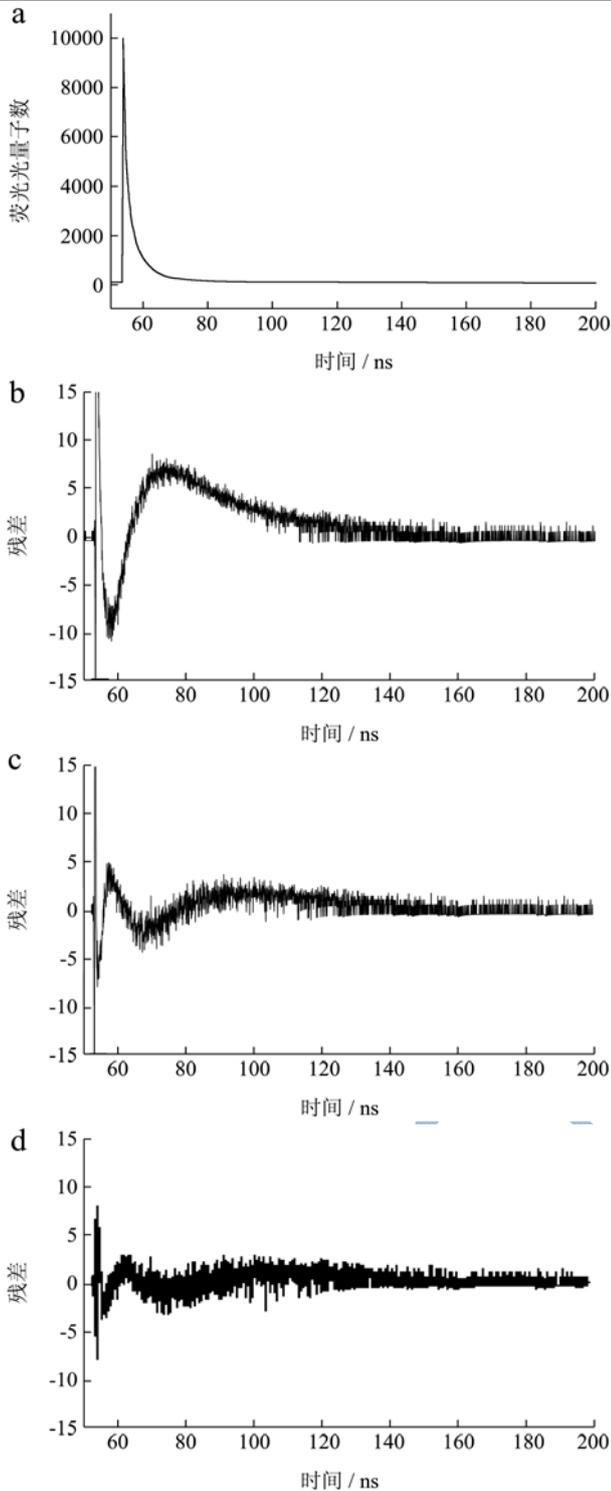


图3 葵花籽油的荧光衰减曲线及残差分布

Fig.3 Decay curve and residual distribution of sunflower seed oil

注: a 表示葵花籽油的荧光衰减曲线; b 表示单指数拟合, 1τ , $\chi^2=10.8414$; c 表示双指数拟合, 2τ , $\chi^2=2.3111$; d 表示三指数拟合。

葵花籽油的荧光衰减曲线及拟合结果如图 3 所示。从图 3a 可以看出葵花籽油的荧光强度在荧光光子数达到 10000 后急剧衰减至 5000, 然后持续衰减。

对葵花籽油中荧光物质组成的混合体系, 采用单指数拟合方法, 所得结果的拟合度 $\chi^2=10.8414$, 与 1 相去甚远; 当采用双指数拟合时, 可以得到拟合度 $\chi^2=2.3111$ 的结果, 与 1 偏差仍然较大, 而且单一指数和双指数拟合结果的残差均不是在零值随机分布的; 当采用三指数拟合方法运算时, 可以得到较好的结果, 残差权重在零值附近呈均衡分布。

2.2 山茶油-花生油-葵花籽油三组分混合油样的荧光衰减谱分析

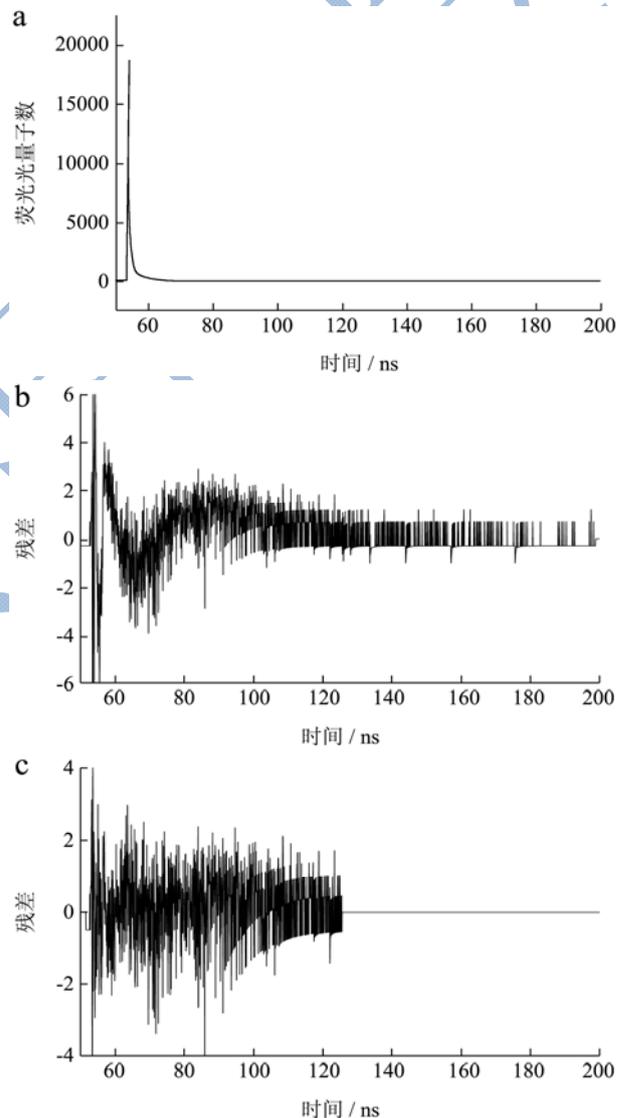


图4 混合油样的荧光衰减曲线及残差分布

Fig.4 Decay curve and residual distribution of the mixed oil sample

注: a 表示混合油样的荧光衰减曲线; b 表示三指数拟合, 3τ , $\chi^2=1.0079$; c 表示四指数拟合, 4τ , $\chi^2=0.9972$ 。

将山茶油、花生油、葵花籽油三种食用植物油按 1:1:1 比例混合, 所得混合油样的荧光衰减曲线与拟合

结果如图 4 所示。混合油样的荧光衰减曲线明显不同于山茶油、花生油和葵花籽油的荧光衰减曲线,该曲线显示当荧光光子数达到 10000 时迅速衰减,其衰减速率较快。由三种纯食用植物油的拟合结果可知,当三种植物油混合后的油样中荧光基团的个数或种类至少为三个或三种,因此在对数据进行拟合时可以直接选用三指数或四指数拟合。对于混合油样,当采用三指数进行数据拟合时,所得结果的拟合度 $x^2=1.0079$,残差权重分布如图 4b 所示,明确表明该拟合结果的残差并没有在零值附近呈现随机分布;当采用四指数进行数据拟合时,拟合结果的 $x^2=0.9972$,而且残差在零值附近呈现均衡分布,因此对于混合油样选择四指数拟合的数据为最终结果。

2.3 3 种食用植物油与混合油样的荧光寿命分析

将以上 3 种食用植物油荧光强度衰减曲线的最佳

表 1 3 种食用植物油的荧光强度衰减曲线的拟合结果

植物油种类	拟合方法	x^2	T_1/ns	T_2/ns	T_3/ns
山茶油	双指数	1.0029	6.6598	7.0925	
葵花籽油	三指数	1.0025	2.3456	0.1514	8.6227
花生油	三指数	1.0052	2.7287	0.4272	9.3853

荧光衰减本质的平均荧光寿命可以理解为荧光体系中各荧光成分的综合贡献,是荧光体系的一种总体反应^[21,24]。本试验中 3 种植物油和混合油样的平均荧光寿命计算结果整理如表 2 所示。从表 2 中可以看出山茶油的荧光寿命明显高于葵花籽油和花生油的荧光寿命,而花生油的荧光寿命比葵花籽油的荧光寿命也高出了约 0.11 ns。与葵花籽油的荧光寿命相比,山茶油的荧光寿命明显增强了 54.22%,而花生油的荧光寿

拟合结果整理成表格如表 1 所示, T_1 、 T_2 和 T_3 为拟合所得各荧光组分的荧光寿命。从表 1 中可以看出 3 种食用植物油的荧光强度衰减曲线的拟合过程具有明显差异。采用激发波长 405 nm 条件下,对山茶油通过双指数拟合可得到理想结果,其荧光寿命分别是 6.6598 ns 和 7.0925 ns,而且两个寿命仅仅相差 0.4327 ns,怀疑是同种荧光物质的不同结构体或同种荧光物质存在于两种不同微环境中;对于葵花籽油而言,采用 3 指数拟合方法得到拟合优度为 1.0025 的理想效果,表明在该试验条件下,检测到葵花籽油中存在 3 种或 3 类荧光基团,其荧光寿命分别为 2.3456 ns、0.1514 ns 和 8.6227 ns,每种荧光物质的荧光寿命具有差异性;对花生油而言,采用 3 指数拟合时可得拟合优度为 1.0052 的效果,表明检测到花生油中存在 3 种或 3 类荧光基团,其荧光寿命分别为 2.7287 ns、0.4272 ns 和 9.3853 ns,而每种荧光物质的荧光寿命具有明显不同。

命有所降低,降低幅度为 2.33%,因此通过比较 3 种植物油的平均荧光寿命发现山茶油、葵花籽油、花生油的平均荧光寿命具有显著差异。对于三种油的混合油样,采用四指数进行数据拟合可以得到拟合优度为 0.9972 的结果,表明检测到混合油中含有 4 种或是 4 类荧光基团,而且混合油样的平均荧光寿命仅为 0.9669 ns,明显不同与 3 种纯食用植物油的平均荧光寿命。

表 2 3 种植物油和混合油样的平均荧光寿命

植物油种类	T_1/ns	T_2/ns	T_3/ns	T_4/ns	B_1	B_2	B_3	B_4	平均寿命/ns
山茶油	6.6598	7.0925			0.0216	0.1800			7.0487
葵花籽油	2.3456	0.1514	8.6227		0.0968	0.3050	0.0203		4.5706
花生油	2.7287	0.4272	9.3853		0.0861	0.1680	0.0151		4.4641
混合油样	0.4765	2.0905	8.2746	0.0236	0.1637	0.0321	0.0037	11.7194	0.9669

3 结论

本文以山茶油、葵花籽油、花生油为试验材料,在各植物油对应的最佳接收波长下通过荧光寿命分析法对食用植物油的品种进行鉴别,得出各食用植物油的平均荧光寿命具有显著差异,再通过山茶油-花生油

-葵花籽油混合油样进行的掺杂对比试验,发现混合油样的平均荧光寿命与 3 种纯植物油的平均荧光寿命截然不同,表明该方法鉴别植物油品种效果明显。利用荧光寿命分析法识别植物油种类的检测结果准确可靠,时间分辨率高,在实际测量中检测步骤也相对简单,体现了其更加快速直观的优点,为植物油种类鉴

别提供了一种有效的途径。综上分析可得出:通过对植物油的荧光衰减曲线和平均荧光寿命进行有效分析,可以更快速、直观地鉴别食用植物油。

参考文献

- [1] 田萍.二维相关荧光光谱分析技术在食用植物油掺杂鉴别中的应用研究[D].镇江:江苏大学, 2013
TIAN Ping. Study of application of two-dimensional correlation fluorescence spectroscopy analytical technology in identification of adulterated edible oil [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2013
- [2] Chen B, Tian P, Lu D L, et al. Feasibility study of discriminating edible vegetable oils by 2D-NIR [J]. Analytical Methods, 2012, 4(12): 4310-4315
- [3] 薛雅琳,龙伶俐,史文青,等.植物油品质特性和掺伪检验技术研究[J].粮油食品科技,2012,20(3):20-23
XUE Ya-lin, LONG Ling-li, SHI Wen-qing, et al. Research of quality characteristics and adulteration tests in vegetable oil [J]. Science and Technology of Cereals Oils and Foods, 2012, 20(3): 20-23
- [4] 纳鹏军.葵花籽油中掺入少量地沟油的检测方法[J].宁夏大学学报(自然科学版)2012,33(4):385-387
NA Peng-jun. Study of determination for hogwash oil mixed with sunflower seed oil [J]. Journal of Ningxia University (Natural Science Edition), 2012, 33(4): 385-387
- [5] 蔡尽忠,赖源发,王理玲.分子荧光光谱法检测食用油质量方法研究[J].广东化工,2013,40(24):151
CAI Jin-zhong, LAI Yuan-fa, WANG Li-ling. Molecular fluorescence spectroscopy for detecting the quality of oil [J]. Guangdong Chemical Industry, 2013, 40(24): 151
- [6] 崔之益,易立飒,李文锋,等.基于电导率变化的油茶籽油掺假鉴别方法探讨[J].中国油脂,2014,4:67-70
CUI Zhi-yi, YI Li-sa, LI Wen-feng, et al. Electrical conductivity measurement in identification of authentic oil-tea camellia seed oil [J]. China Oils and Fats, 2014, 4: 67-70
- [7] 王瑞元.葵花籽油是中国的优质食用油源[J].粮油加工:电子版,2015,12:1-3
WANG Rui-yuan. Source of high quality edible oil-sunflower seed oil in China [J]. Grain and oil Processing (Electronic Edition), 2015, 12: 1-3
- [8] 彭丹,王靖云,毕艳兰.花生油中掺入大豆油的鉴别研究[J].河南工业大学学报(自然科学版),2015,36(6):26-31
PENG Dan, WANG Jing-yun, BI yan-lan. Detection and quantification of adulteration peanut oil with soybean oil [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2015, 36(6): 26-31
- [9] Rao Y L, Xiang B R, Zhou X H, et al. Quantitative and qualitative determination of acid value of peanut oil using near-infrared spectrometry [J]. Journal of Food Engineering, 2009, 93(2): 249-252
- [10] Mu T, Chen S, Zhang Y, et al. Characterization of edible oils using time-resolved fluorescence [J]. Analytical Methods, 2013, 6(3): 940-943
- [11] 韩晓爽,刘德庆,栾晓宁,等.基于激光诱导时间分辨荧光的原油识别方法研究[J].光谱学与光谱分析,2016,36(2):445-448
HAN Xiao-shuang, LIU De-qing, LUAN Xiao-ning, et al. Discrimination of crude oil samples using laser-induced time-resolved fluorescence spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(2): 445-448
- [12] Latterini L, Elisei F, Aloisi G G, et al. Space-resolved fluorescence properties of phenolphthalein-hydrotalcite nanocomposites [J]. Physical Chemistry Chemical Physics, 2002, 4(12): 2792-2798
- [13] Loge G W, Tice J J, Wampler F B. Fluorescence lifetimes and Zeeman quantum beats of single rotational levels in $^{33}\text{S}/^{32}\text{S}$ carbon disulfide [J]. J. Chem. Phys.(United States), 1986, 84: 7
- [14] Collier B B, Mcshane M J. Time-resolved measurements of luminescence [J]. Journal of Luminescence, 2013, 144(12): 180-190
- [15] Brandao M P. Time resolved fluorescence of cow and goat milk powder. [J]. Spectrochimica Acta Part A Molecular & Biomolecular Spectroscopy, 2016, 171: 193-199
- [16] 王彦吉,宋庆芳.利用荧光寿命分辨植物油[J].公安科技情报,1992,3:23-26
WANG Yan-ji, SONG Qing-fang, distinguish vegetable oil by fluorescence lifetime [J]. Public Security Science and Technology Intelligence, 1992, 3: 23-26
- [17] 张玉莹.二维相关荧光光谱分析技术在油茶籽油品质分析中的应用研究[D].镇江:江苏大学,2015
ZHANG Yu-ying. Study of application of two-dimensional correlation fluorescence spectroscopy analytical technology in quality analysis of tea seed oil [D]. Zhenjiang: Jiangsu University, 2015
- [18] Zhang X X, Würth C, Zhao L, et al. Femtosecond broadband fluorescence up-conversion spectroscopy: improved setup and photometric correction [J]. Review of Scientific Instruments, 2011, 82(6): 063108

- [19] Nakashima K, Xing S, Gong Y, et al. Characterization of humic acids by two-dimensional correlation fluorescence spectroscopy [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2008, 883(1): 155-159
- [20] 房喻,王辉. 荧光寿命测定的现代方法与应用[J]. *化学通报*, 2001, 64(10): 631-636
FANG Yu, WANG Hui. Modern method and application of fluorescence lifetime measurement [J]. *Chemistry Bull.*, 2001, 64(10): 631-636
- [21] Lakowicz J R. Principles of fluorescence spectroscopy [M]. Plenum Press, 1983
- [22] Becker W. Advanced time-correlated single photon counting techniques [M]. Springer Berlin Heidelberg, 2005
- [23] 郭础. 时间分辨光谱基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 2012
GUO Chu. Introduction to time-resolved spectroscopy [M]. Beijing: Higher Education Press, 2012
- [24] 陈明惠, 范云平, 李昊, 等. 荧光寿命分析法在地沟油鉴别中的应用研究[J]. *激光生物学报*, 2016, 25(3): 76-80
CHEN Ming-hui, FAN Yun-ping, LI Hao, et al. Application of fluorescence lifetime analysis on identification of waste oil [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2016, 25(3): 76-80