



## 油脂中总不饱和脂肪酸的紫外光谱测定

赵娟, 杨志岩, 闫仲丽, 降升平

(天津科技大学现代分析技术研究中心, 天津 300457)

**摘要:** 利用紫外光谱测定油脂中不饱和成分, 以动物油为对照, 主要分析检测了常见的 7 种植物油. 本文确定了紫外光谱分析油脂的检测条件, 将原始油配制成 0.2% 的环己烷溶液; 以相似度为指标比较光谱曲线, 验证该检测方法具有很好的重现性和特异性; 用 W 检验法确定了共有峰, 运用紫外光谱图检测化合物共轭结构的原理, 对各种油脂中总不饱和脂肪酸进行识别并计算相对含量. 紫苏油和核桃油中的不饱和脂肪酸种类最丰富, 紫苏油中不饱和双键数 4 的脂肪酸含量为核桃油的 1.5 倍, 橄榄油中包含的不饱和脂肪酸主要为此种脂肪酸. 其次, 葵花籽油、玉米油、花生油、杏仁油的总不饱和脂肪酸含量依次递减, 动物油中的不饱和脂肪酸未检出. 经过碱皂化、甲酯化等方法处理后的样品中, 不饱和脂肪酸的紫外吸收光谱特性明显减弱, 因此该方法可以简单、快速、准确地测定油脂中的不饱和脂肪酸.

**关键词:** 紫外光谱; 油脂; 不饱和脂肪酸; 紫苏油

中图分类号: TQ658 文献标志码: A 文章编号: 1672-6510(2012)02-0039-05

## Detection of All Unsaturated Fatty Acids in Oil Based on Ultraviolet Spectra

ZHAO Juan, YANG Zhiyan, YAN Zhongli, JIANG Shengping

(Research Centre of Modern Analysis Technology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The unsaturated components mainly in 7 kinds of vegetable oil were studied with ultraviolet spectra and analyzed against animal oil. The testing method was thus determined. 0.2% of the original oil with cyclohexane was first of all prepared. Comparisons of ultraviolet curves' features with similarity is an indicator showed that the method had excellent reproducibility and differentiae. The common peaks were identified with W testing method, and then all unsaturated fatty acids in different oil were recognized in spectrum and their relative contents were obtained by applying the principles of the conjugate structures of the compounds analyzed with ultraviolet spectra. The analytical results showed that the unsaturated fatty acids were the most abundant in perilla oil and walnut oil, though the content of fatty acid of unsaturated double bond number 4 in perilla oil was 1.5 times as much as in walnut oil, and this kind of fatty acid was the major of all unsaturated fatty acid in olive oil. The content of all unsaturated fatty acids in sunflower seed oil, corn oil, and peanut oil decreased successively, and no unsaturated fatty acids were detected in animal oil. The ultraviolet spectra characteristic of unsaturated fatty acids weakened obviously in the oil samples, after being pre-treated with alkali, saponification, or transesterification. Therefore, this is an easy, fast, accurate method to determine the unsaturated fatty acids in oil.

**Key words:** ultraviolet spectra; oil; unsaturated fatty acids; perilla oil

我国的油料资源十分丰富, 天然油脂中含有丰富的脂肪酸, 脂肪酸可以分为饱和脂肪酸和不饱和脂肪酸. 有研究<sup>[1-2]</sup>表明, 多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) 可以降低血液中胆固醇和甘油三酯的含量, 调节心脏功能, 降低血液黏稠度, 增

强记忆力和思维能力<sup>[3]</sup>, 抑制癌细胞生长等. 不饱和脂肪酸主要为油酸、亚油酸、 $\gamma$ -亚麻酸. 亚油酸在体内转变成具有扩张血管作用的前列腺素, 保持与血管收缩血栓素平衡, 防止血栓形成<sup>[4]</sup>.  $\gamma$ -亚麻酸主要存在于月见草种子油、紫苏油中, 稳定性强, 不易酸败,

收稿日期: 2011-11-15; 修回日期: 2012-01-19

基金项目: 与天津出入境检验检疫局合作项目 (0000102)

作者简介: 赵娟 (1984—), 女, 天津人, 助理实验师, zhaajuan@tust.edu.cn.

长期食用不仅能降低人体血清的胆固醇、血浆纤维蛋白、血脂,而且对高血压、心脑血管、肥胖症等疾病有明显疗效,对婴幼儿的大脑、视网膜和生长发育也有重要作用<sup>[2]</sup>.油酸具有降低低密度脂蛋白胆固醇的效果,可以预防动脉硬化,且不降低对人体有益的高密度脂蛋白胆固醇水平.因此,油脂的营养价值较大程度是取决于它的脂肪酸组成及其配比.

传统测定油脂成分的方法主要是测定其皂化值、碘价和酸价,可以得出油脂中总不饱和脂肪酸的含量.如果要测定不饱和脂肪酸的种类及其含量,目前普遍采用的是气相色谱法和高效液相色谱法,均需对待测样品进行前处理,其步骤冗长繁杂,而光谱分析技术可实现油脂的快速检测.紫外光谱分析的特点是能够反映化合物分子的电子结构变化,明确表征分子的不饱和程度.本文采用紫外光谱法测定不同油脂中的不饱和脂肪酸的种类及含量,不仅操作简单,而且可以快速、准确地测定油脂中的不饱和脂肪酸.

## 1 材料与方法

### 1.1 样品来源

福临门牌葵花籽油、花生油、玉米油,中粮食品营销有限公司;橄榄油,西班牙默雷诺公司生产MUSA 特级初榨油;杏仁油,天津市蓟县民间食用油;紫苏油,某厂家实验产品;晋玉牌核桃油,山西威特食品有限公司;动物油(猪油),市售.

### 1.2 试剂与仪器

无水乙醇,天津市北方天医化学试剂厂;环己烷,天津市光复精细化工研究所;正己烷,天津市彪仕奇科技发展有限公司.

UV-2550 型双光束紫外-可见分光光度计、10 mm 的石英比色皿,日本岛津仪器公司;AR2140 型分析天平,奥豪斯国际贸易(上海)有限公司.

### 1.3 方法

#### 1.3.1 测试样品制备

分别在 100 mL 的 10% NaOH 水溶液和 100 mL 的 10% NaOH 甲醇溶液中,加入 10 g 紫苏油摇匀,90 °C 水浴搅拌 2 h,待分层后取下层,制得紫苏油的碱皂化溶液和甲酯化溶液.前者是不饱和脂肪酸,后者是不饱和脂肪酸甲酯.将这两种样品和未经处理的紫苏油分别与无水乙醇、环己烷、正己烷配制质量分数为 1% 的溶液,进行紫外吸收曲线扫描,确定样品处理方法.

对于各种油脂,分别用无水乙醇、环己烷、正己烷配制原始油的质量分数为 5%、1%、0.2%、0.1%、0.02% 的系列溶液.以对应的溶剂为空白,扫描波长范围 190 ~ 400 nm,扫描速度中等,取样间隔 0.2 nm,狭缝宽度 1.0 nm.石英比色皿厚度 1 cm;以扫描 3 次光谱数据平均值作为最终样品紫外光谱数据.

#### 1.3.2 可靠性实验

紫外吸收光谱曲线的相似度<sup>[5-7]</sup>按照下式计算:

$$S = 1 - \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n \left| \frac{h_{1j} - h_{2j}}{h_{1j} + h_{2j}} \right|$$

式中: $n$  为取样点个数; $h_{1j}$ 、 $h_{2j}$  分别为第 1、2 条曲线在第  $j$  个取样点的吸光度.

以相似度  $S = 0.90$  为临界值,当  $S > 0.90$  时认为两条曲线为同一种油脂的紫外扫描曲线;当  $S < 0.90$  时认为两条曲线为不同油脂的紫外扫描曲线<sup>[4]</sup>.

#### 1.3.3 数据分析

采用 UV Probe 岛津紫外分光光度计的光谱软件、Origin 8.5 数据分析与作图处理系统及 Excel 数据处理系统进行数据处理.

## 2 结果与讨论

### 2.1 紫外光谱检测油脂的实验条件确定

#### 2.1.1 样品处理和稀释溶剂的选择

将紫苏油原样品、紫苏油的碱皂化溶液、紫苏油的甲酯化溶液分别配制质量分数 1% 的无水乙醇、环己烷、正己烷溶液,测定其紫外光谱曲线,如图 1 所示.由图 1 可知,相比于经过碱皂化、甲酯化的样品的图谱,紫苏油原始样品的紫外吸收图谱吸收峰数目多,而另外两个样品没有明显的吸收峰.紫苏油以环己烷作为溶剂的紫外图谱在 250 ~ 350 nm 的吸收峰数目最多,有 4 个,分别是:316.00、301.40、269.80、235.00 nm,因此选用环己烷直接将油脂配制成溶液进行紫外扫描.碱皂化溶液中的  $\text{OH}^-$  和甲酯化溶液中甲醇极性很强的羟基可能会破坏脂肪酸的分子结构,峰的最大吸收波长发生了变化,这种色谱的前处理方法不适用于紫外光谱的样品.紫外光谱样品的处理更为简单,可见这种检测方法更为快速便捷,影响因素更少,检测结果更准确.

最优溶剂的选择,首先溶剂对于各种油脂的溶解性,环己烷和正己烷明显优于无水乙醇,溶液澄清透明.比较各种油脂不同溶液的紫外图谱,对于紫苏油,3 种溶剂对于油脂的紫外吸收峰数目和位置没有

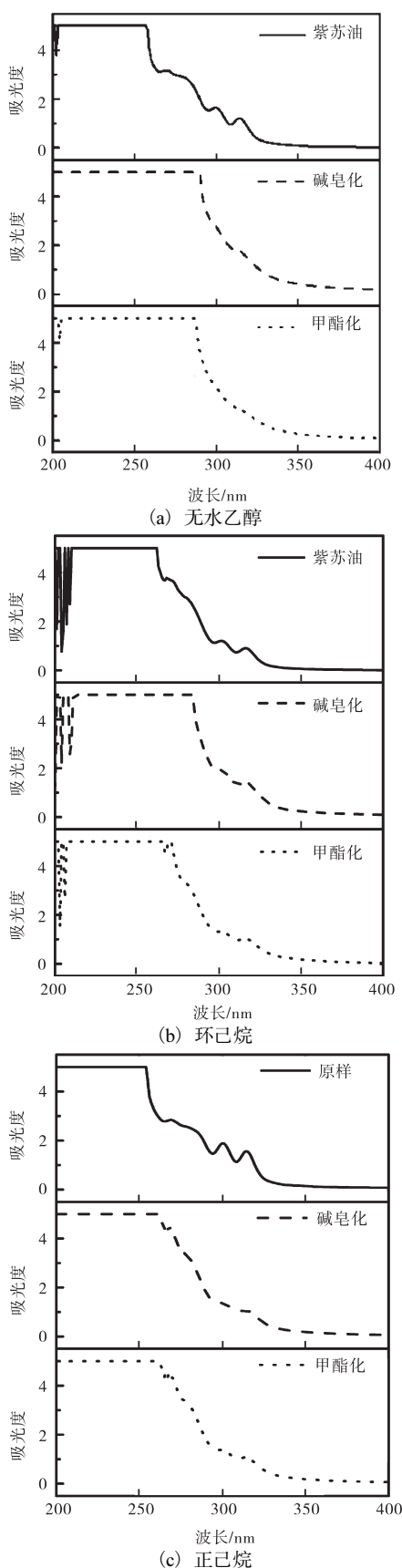


图1 不同方法制备的样品紫外光谱曲线

Fig.1 Ultraviolet absorption curves of the samples made with different methods

很大影响;对于吸光度的大小有影响,吸光度越大,不同吸收峰间的差异越明显,越能提供更多的信息用于比较各种油脂的差异.环己烷溶剂中的紫苏油吸收峰值最大,其次是无水乙醇.对于浓度高的油脂溶液,环己烷溶液和正己烷溶液的图谱在350 nm之后吸光度值几乎为0,正己烷溶液的图谱在200 nm左右的溶剂峰很少,易于分辨油脂的吸收峰.

玉米油的环己烷溶液在258 nm处明显有吸收峰,其吸光度值大小与附近269、279 nm处吸收峰的值相当,无水乙醇、正己烷溶液此处没有吸收峰.3种溶剂中玉米油的吸光度值,正己烷中最大,环己烷其次.

3种溶剂对核桃油、葵花籽油、花生油、杏仁油、橄榄油的图谱产生影响不大,吸收峰数目、位置相同,吸光度值近似.其中杏仁油的正己烷与环己烷溶液的图谱中吸收峰更尖锐,橄榄油的环己烷溶液图谱吸收峰数最多,正己烷溶液的图谱不仅吸收峰数目最少,而且很多峰值为负值.由于橄榄油图谱中部分吸收峰的值很小,并且光谱软件识别出的吸收峰位置随溶液浓度变化而变化,所以没列入计算.

动物油的3种溶液图谱近似,没有明显差异,没有固定位置的吸收峰.

综上所述,3种溶剂对于不同油脂的图谱产生的影响各有利弊,对于大多数油脂而言,环己烷溶液产生的紫外图谱能提供更多的信息,因此本文采用环己烷溶液的图谱进行计算.

#### 2.1.2 油脂浓度的选择

紫外图谱分析以紫苏油为例.将紫苏油原样品配制成质量分数为5.00%、1.00%、0.20%、0.10%、0.02%的环己烷溶液,以环己烷为参比,在波长190~400 nm的范围内进行紫外吸收曲线扫描,如图2所示.采用UV Probe光谱软件分析,以阈值0.001、点5的参数进行峰值检测,紫外谱图的吸收峰数目与溶液质量分数之间的关系见表1.

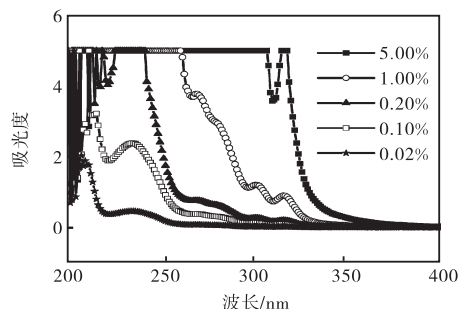


图2 不同质量分数的紫苏油环己烷溶液的紫外光谱曲线  
Fig.2 Ultraviolet absorption curves of different concentration of perilla oil with cyclohexane

表1 不同浓度紫苏油环己烷溶液紫外谱图的峰值检测结果

Tab.1 Results of Peak Pick for UV spectra of different concentration of perilla oil with cyclohexane

质量分数/%	5.00	1.00	0.20	0.10	0.02
吸收峰数	2	4	3	4	7

结果表明, 油脂溶液的质量分数影响吸收峰的数量和形状. 当光谱曲线中吸收峰的吸光度小于或接近于1时, 峰的最大吸收波长基本不随浓度变化而变化; 吸收峰越多, 越能反映分子内部电子结构的变化. 由图2和表1综合分析得出, 油脂的质量分数为0.10%时最好, 其图谱有4个主要吸收峰, 分别位于316.00、301.40、269.80、235.00 nm. 油脂质量分数为0.20%时有3个主要的吸收峰, 在235 nm处的吸收值超出检测限, 即在5.0以上. 同理, 玉米油、葵花籽油、核桃油、杏仁油的环己烷溶液适宜质量分数为0.20%, 其中, 杏仁油溶液的图谱, 主要在267、226 nm处有吸收峰, 随着溶液的稀释, 267 nm处的吸收峰消失. 橄榄油的环己烷溶液适宜浓度为5.00%, 在317、272 nm处均有吸收峰, 随着溶液稀释, 272 nm处的吸收峰消失. 花生油的质量分数为1.00%时最好, 在279、268 nm处有吸收峰, 随着溶液稀释, 279 nm处的吸收峰消失. 对于动物油溶液的图谱, 光谱软件标识出的吸收峰波长不固定, 说明没有明显的吸收峰, 因此其浓度可任选. 综合考虑各种因素的影响和谱图效果, 最终确定溶液质量分数为0.20%时最能充分展示油脂的特点和差异.

2.2 油脂紫外指纹图谱的重现性和特异性分析

2.2.1 油脂紫外指纹图谱的重现性分析

0.20% 紫苏油的环己烷溶液 3次平行的紫外光谱曲线如图3所示. 结果表明3条曲线基本重合, 计算平行样的相似度值, 均在0.90以上. 一种样品重复多次检测而得到相同的结果, 说明用紫外分光光度法扫描油脂的紫外光谱曲线的重现性好, 数据可靠.

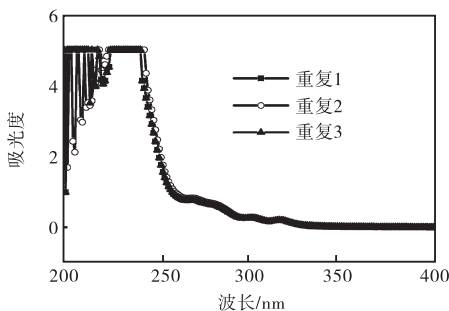


图3 紫苏油3次重复的紫外吸收曲线

Fig.3 Ultraviolet absorption curves of perilla oil samples repeated three times

2.2.2 油脂紫外指纹图谱的特异性分析

8种油脂质量分数0.20%的环己烷溶液的紫外吸收光谱曲线如图4所示, 8种油脂的相似度计算结果见表2. 结合图4和表2可以看出, 8种油脂的紫外吸收光谱曲线之间有十分明显的差异, 相似度值均在0.90以下, 说明8种油脂的紫外吸收光谱曲线各自之间均为不同类型, 因此用紫外分光光度法检测油脂的种类时具有很大的区分度和良好的特异性.

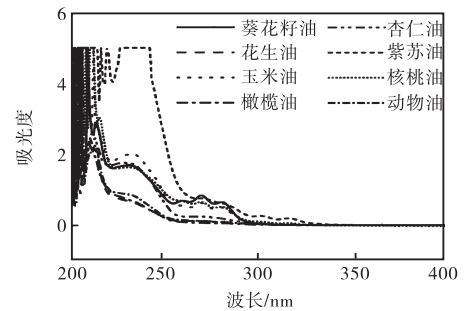


图4 不同油脂的紫外吸收曲线

Fig.4 Ultraviolet absorption curves of different oils

表2 不同油脂的紫外光谱曲线相似度

Tab.2 Similarity of UV spectra of different oils

油脂	a	b	c	d	e	f	g	h
a	1.0	0.64	0.80	0.68	0.77	0.64	0.20	0.74
b		1.0	0.71	0.79	0.82	0.47	0.25	0.87
c			1.0	0.55	0.85	0.67	0.48	0.64
d				1.0	0.65	0.42	0.043	0.84
e					1.0	0.57	0.38	0.76
f						1.0	-0.072	0.49
g							1.0	0.063
h								1.0

注: a为葵花籽油, b为花生油, c为玉米油, d为橄榄油, e为杏仁油, f为紫苏油, g为核桃油, h为动物油.

2.3 不同油脂中特征吸收峰的确认和选择

由于不同油脂中的化学成分存在物理化学性质的变化, 这些变化一般表现在与分子中的电磁波吸收基团相联的取代基的变化, 使基团的吸收峰波长发生不同程度的偏移, 且服从正态分布. 类似地, 同类化合物的混合物的叠加光谱吸收峰波长的变化也服从正态分布. 也有些变化使分子结构发生大的变异, 产生新的吸收峰. 因此对于紫外指纹图谱, 同一吸收峰在不同的图谱中最大吸收波长一般没有一个固定的变化范围, 可采用W正态分布检验判别法, 对各种共有峰进行识别<sup>[8]</sup>.

对于一组非常接近的吸收峰, 它们相差很小, 但不满足正态分布, 可采用如下方法确定共有峰: 对于一组吸收峰, 若组内吸收峰波长的最大差异显著小于该组与相邻组之间的平均波数差, 就确定该组峰是一

组共有峰<sup>[9]</sup>. 不同油脂的质量分数为 0.20%的环己烷溶液的紫外指纹图谱吸收峰波长数据及共有峰的识别见表 3.

表 3 不同油脂的环己烷溶液当中的紫外指纹图谱的吸收峰波长

Tab.3 The wavelengths of peaks in UV fingerprint spectra of different oils with cyclohexane

样品	吸收峰波长/nm			
葵花籽油	280.40	269.60	259.40	230.60
花生油	279.80	269.20		
玉米油	280.60	269.60	258.40	231.60
橄榄油	316.80			
杏仁油		269.00		227.20
紫苏油	316.00	301.40	269.80	235.00
核桃油	315.80	280.20	269.40	231.00
动物油				

注: 对吸收峰波长进行  $W_a = 0.05$  检验<sup>[8]</sup>, 满足正态检验的一组峰是共有峰, 否则是变异峰, 表 3 中的吸收峰均为共有峰.

## 2.4 油脂中不饱和脂肪酸的紫外光谱

### 2.4.1 不饱和脂肪酸的紫外光谱

紫外图谱能够检测和估算化合物共轭结构的原理, 可以识别出共轭体系的基本结构. 一般认为脂肪酸均具有共轭烯酮结构, 不饱和脂肪酸的共轭键数目越多, 紫外吸收的最大吸收波长越长.

理论上讲, 不饱和酸或酯的母体基值含有  $\alpha$ 、 $\beta$  二烷基或  $\beta$ 、 $\beta$  二烷取代者  $\lambda_{\max}$  值为 217 nm, 延伸一个共轭双键  $\lambda_{\max}$  值增加 30 nm, 因此依据脂肪族有机化合物的 Nielsen 规则, 对  $\alpha$ 、 $\beta$  不饱和酸或酯的  $\lambda_{\max}$  值进行估算, 在 313 nm 以上有吸收峰的油脂中含有 5 个共轭双键结构; 在 270 ~ 300 nm 有吸收峰的油脂中含有 4 个共轭双键结构; 在 250 ~ 270 nm 有吸收峰的油脂中含有 3 个共轭双键结构; 在 220 ~ 230 nm 有吸收峰的油脂中含有两个共轭双键结构, 即脂肪酸母体基值. 对表 3 中不同油脂的共有峰位置进行分析, 得出这些油脂中多不饱和脂肪酸按照双键数目不同的分类结果, 见表 4.

表 4 不同油脂中不饱和脂肪酸的类别

Tab.4 Class of unsaturated fatty acid in various oils

样品	双键数 1	双键数 2	双键数 3	双键数 4
葵花籽油	+	+	+	-
花生油	+	+	+	-
玉米油	+	+	+	-
橄榄油	+	-	-	+
杏仁油	+	+	-	-
紫苏油	+	+	+	+
核桃油	+	+	+	+
动物油	-	-	-	-

注: “+”表示已检出, “-”表示未检出.

由表 4 的数据可知: 紫苏油、核桃油中的不饱和脂肪酸种类最丰富, 其次为葵花籽油、玉米油、花生油, 橄榄油与杏仁油中较少, 动物油中未检出不饱和脂肪酸. 7 种植物油都含有脂肪酸的烯酮结构, 都存在两个不饱和双键结构的吸收, 动物油中脂肪酸甘油脂的分子质量大, 因此两个共轭双键的吸收很小.

### 2.4.2 油脂中不同样品不饱和脂肪酸的相对含量

分析不同油脂的 0.20% 环己烷溶液的紫外指纹图谱, 对共有峰对应的吸光度按归一化法计算得到各种油脂中不同样品不饱和脂肪酸的相对含量, 结果见表 5.

表 5 不同样品中不饱和脂肪酸的相对含量

Tab.5 Relative contents of unsaturated fatty acid in various oils

样品	相对含量/%			
	双键数 1	双键数 2	双键数 3	双键数 4
葵花籽油	43.4	39.6	17	0
花生油	78.4	12	9.57	0
玉米油	54	32.3	13.7	0
橄榄油	99.4	0	0	0.575
杏仁油	87.4	12.6	0	0
紫苏油	80	12.3	4.37	3.3
核桃油	56.5	23	18.2	2.34
动物油				

由表 5 可知, 紫苏油中不饱和双键数 4 的脂肪酸相对含量为核桃油的 1.5 倍, 因此紫苏油具有很高的营养价值, 值得进一步研究.

## 3 结论

(1) 采用紫外指纹图谱技术检测油脂, 其油脂不用进行前处理, 可直接配制成溶液进行扫描. 本方法可以简单、快速、准确地测定油脂中的不饱和脂肪酸.

(2) 以相似度为指标, 对紫外指纹图谱技术检测油脂方法的稳定性和差异性进行了分析. 结果表明: 同一油脂 3 个平行样品测定的指纹图谱具有非常好的重现性和稳定性; 不同油脂的紫外指纹图谱之间有十分明显的差异, 紫外指纹图谱具有一定的特异性.

(3) 紫苏油和核桃油中的不饱和脂肪酸种类最丰富, 紫苏油中不饱和双键数 4 的脂肪酸含量为核桃油的 1.5 倍; 橄榄油中主要包含不饱和双键数为 4 的脂肪酸; 葵花籽油、玉米油、花生油、杏仁油中的总不饱和脂肪酸含量依次递减, 动物油中的不饱和脂肪酸未检出.

(下转第 78 页)