

采用降温扰动二维相关拉曼光谱鉴别掺假橄榄油

于迎涛¹, 王季锋¹, 孙玉叶¹, 李福娟², 万超³

1. 大连海事大学环境科学与工程学院, 辽宁 大连 116026
2. 国家海洋局北海环境监测中心, 山东 青岛 266033
3. 中华人民共和国大连海关检验检疫技术中心, 辽宁 大连 116001

摘要 食用油掺假侵害消费者权益, 危害公众健康, 相关鉴别研究具有重要意义。当掺假食用油中的假冒组分含量降低时, 掺假油与正品油的相似度较高, 通常难以精准鉴别。因此, 低量掺假食用油是打假鉴别的难点和重点。选取降温作为扰动因子, 采用同步二维拉曼相关谱, 结合系统聚类分析, 针对橄榄油低量掺假(5%, 10%, 20%)开展鉴别研究。选取与橄榄油相似度很高的大豆油作为假冒组分。结果显示, 在+15~0℃范围, 纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱近乎相同, 谱图随温度变化不明显; 在2 850, 2 874, 2 906, 2 933, 2 958和3 005 cm⁻¹附近出现特征峰; 2 850 cm⁻¹处的特征峰对应于亚甲基(CH₂)的对称伸缩振动, 相对峰强最大。当温度降至0℃以下时(-5~-20℃), 纯橄榄油和掺假橄榄油的拉曼光谱, 均随温度降低发生较显著变化; 相应地, 拉曼光谱差异随之增大。主要特征峰位于2 848, 2 883, 2 933, 2 956和3 005 cm⁻¹附近。在2 848 cm⁻¹处的特征峰为亚甲基对称伸缩振动的特征峰(2 850 cm⁻¹)随温度降低发生红移所致, 其相对峰强随温度降低呈现减弱趋势。在2 883 cm⁻¹处的特征峰对应于CH₂的反对称伸缩振动, 其相对强度随温度降低逐渐增大, 成为最强特征峰。同步二维拉曼相关谱显示, 纯橄榄油在2 925 cm⁻¹的自相关峰强度最大, 此自相关峰的强度排序为: 纯橄榄>掺假5%橄榄油>掺假10%橄榄油>掺假20%橄榄油。纯橄榄油在2 925和2 883 cm⁻¹处的负交叉峰强度最大, 此负交叉峰强度排序为: 纯橄榄>掺假5%橄榄油>掺假10%橄榄油>掺假20%橄榄油。对同步二维拉曼相关谱的系统聚类分析显示, 纯橄榄油和低量掺假橄榄油的盲样均得到准确鉴别。采用降温作为扰动因子的同步二维拉曼相关谱具有很高的辨识力, 对橄榄油中掺杂地沟油等其他假冒组分, 以及其他油品的防伪鉴别也具有理论和实用价值。

关键词 拉曼光谱; 二维相关; 聚类分析; 食用油

中图分类号: O657.37 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)12-3727-05

引言

食用油掺假侵害消费者权益, 危害公众健康, 相关鉴别研究具有重要意义。随着掺假手段不断翻新, 对鉴别辨识度提出更高要求, 传统方法面临严峻挑战。尤其是, 当掺假食用油中假冒组分比例降低时, 掺假油与正品油非常相似。目前, 低量掺假食用油已成为打假鉴别的难点和重点。

二维相关谱通过引入微扰因子, 获得比一维光谱更丰富的样品特征信息, 在聚合物^[1-2]、液晶^[3]、蛋白质和多肽^[4]、爆炸物^[5]等研究中得到广泛应用。有关中药材(比如, 半夏、金银花^[6]、贝母^[7-8]、金盏菊、葛根^[9])以及食品(比如, 牛

奶^[10]、基酒)鉴定的二维相关谱研究也取得进展。

橄榄油具有预防心脑血管疾病等多种天然保健功效。采用光谱技术鉴别橄榄油的研究已受关注^[11-12]。本文选取降温作为扰动因子, 采用同步二维拉曼相关谱, 结合系统聚类分析, 开展高辨识度的橄榄油低量掺假鉴别研究, 相关结果对于其他油品鉴别也具有重要的理论和实用价值。

1 实验部分

1.1 样品制备

选取一级大豆油作为假冒组分, 按照掺假质量比为5%, 10%和20%的比例, 分别掺入特级初榨纯橄榄油, 振荡混

收稿日期: 2019-10-25, 修订日期: 2020-02-12

基金项目: 中国石油和化学工业联合会科技指导计划项目(2019-12-09), 国家海洋局海洋溢油鉴别与损害评估技术重点实验室基金项目(201706)资助

作者简介: 于迎涛, 1972年生, 大连海事大学环境科学与工程学院副教授 e-mail: yyu@dlmu.edu.cn

匀,得到三种低量掺假橄榄油。将纯橄榄油与掺假橄榄油,分别封装于硬质玻璃毛细管中待测;每种油样分别制备标样和盲样。

1.2 光谱采集与数据处理

采用 Horiba Jobin Yvon XploRA 显微共焦拉曼光谱仪,配备自动样品台及可控降温样品台。激发光波长 532 nm, CCD 检测器温度 $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$,物镜 $10\times$,曝光时间 5 s,累加 60 次,光栅 2 400 T,采集范围 $2\ 760\sim 3\ 100\text{ cm}^{-1}$ 。降温范围为 $+15\sim -20\text{ }^{\circ}\text{C}$,间隔 $5\text{ }^{\circ}\text{C}$,每个温度恒定 30 min。使用 NGS LabSpec 5.0 软件对采集的一维拉曼谱进行基线扣除和数据归一化;然后,基于 Noda 方法通过 Matlab 编程求算同步二维拉曼相关谱,采用 origin 软件绘制同步二维拉曼相关谱。将同步二维拉曼相关谱转化为一维向量,进行系统聚类分析。聚类方法为组间连接,度量依据为平方欧式距离。

2 结果与讨论

2.1 降温扰动效应

如图 1 所示,纯橄榄油与掺假橄榄油在 $+15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时的拉曼光谱非常相似。在 $2\ 850, 2\ 874, 2\ 906, 2\ 933, 2\ 958$ 和 $3\ 005\text{ cm}^{-1}$ 附近出现特征峰。 $2\ 850\text{ cm}^{-1}$ 的强峰和 $2\ 874\text{ cm}^{-1}$ 的小峰,分别对应于亚甲基和甲基的对称伸缩振动。 $2\ 906\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收,指认为长碳链中与 $\text{C}=\text{C}$ 双键以及 CH_3 的距离均较远的亚甲基的反对称伸缩振动; $2\ 933\text{ cm}^{-1}$ 的肩峰,归属为与 CH_3 相邻近的亚甲基的反对称伸缩振动; $2\ 958\text{ cm}^{-1}$ 的肩峰,归属为甲基的简并伸缩振动。 $3\ 005\text{ cm}^{-1}$ 的特征峰对应于 $\text{C}=\text{C}$ 双键相连的 $\text{C}-\text{H}$ 伸缩振动。掺假 20% 的橄榄油在 $3\ 005\text{ cm}^{-1}$ 处的峰强略高,这可归因于作为掺假组分的大豆油比纯橄榄油包含更多 $\text{C}=\text{C}$ 双键所致。

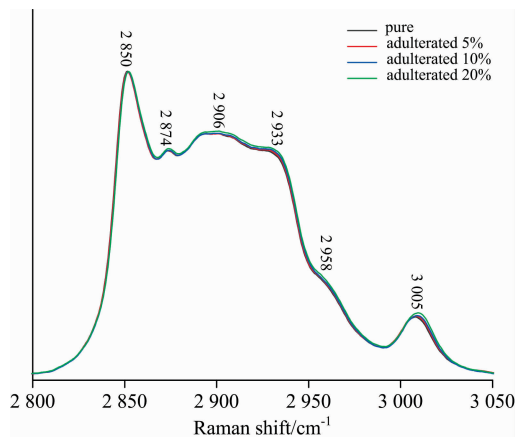


图 1 纯橄榄油及掺假橄榄油的拉曼光谱 ($15\text{ }^{\circ}\text{C}$)

Fig. 1 Raman spectra of the pure and the adulterated olive oils at $15\text{ }^{\circ}\text{C}$

图 2 是不同温度条件下的纯橄榄油拉曼光谱。如图 2 所示,在 $+15\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围,纯橄榄油的拉曼谱峰随温度变化不明显,最强峰位于 2850 cm^{-1} 附近。相比而言,当温度低于 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时 ($-5\sim -20\text{ }^{\circ}\text{C}$),纯橄榄油的拉曼光谱出现显著变化。主要特征峰位于 $2\ 848, 2\ 883, 2\ 933, 2\ 956$ 和 $3\ 005\text{ cm}^{-1}$ 附

近。 $2\ 848\text{ cm}^{-1}$ 为亚甲基对称伸缩振动的特征峰 ($2\ 850\text{ cm}^{-1}$) 随温度降低发生红移所致,相对峰强呈现减弱趋势。

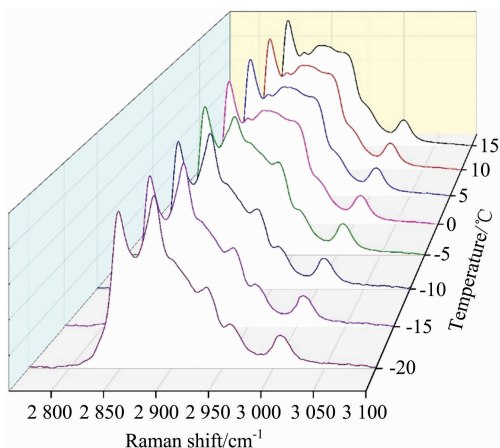


图 2 纯橄榄油在不同温度条件下的拉曼光谱
Fig. 2 Raman spectra of the pure olive oil at different temperatures

在 $2\ 883\text{ cm}^{-1}$ 的强峰,归属为长碳链中与 $\text{C}=\text{C}$ 双键以及 CH_3 距离较远的亚甲基的反对称伸缩振动; $2\ 933\text{ cm}^{-1}$ 的小峰,归属为与 CH_3 相邻近的亚甲基的反对称伸缩振动; $2\ 956\text{ cm}^{-1}$ 的小峰,对应于甲基的简并伸缩振动。随着温度降低, $2\ 883, 2\ 933$ 和 $2\ 956\text{ cm}^{-1}$ 谱峰的相对强度增加。 $2\ 883\text{ cm}^{-1}$ 的谱峰成为最强峰。这可能归因于:温度降低导致油样中分子间距减小,使得 $\text{C}-\text{H}$ 键的对称伸缩振动及反对称伸缩振动均受抑制;相比而言,对称伸缩振动在降温时受到的抑制效应更显著,导致反对称伸缩振动的相对峰强呈现出增大趋势。

与纯橄榄油类似,掺假 5%, 10% 和 20% 的橄榄油的拉曼光谱在 $+15\sim 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围变化不大,纯橄榄油与掺假橄榄油之间的差异不明显(图略)。相比而言,在 $-5\sim -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 范围,掺假橄榄油的拉曼光谱随着温度降低发生明显变化。图 3 (a)–(d) 为 $-5, -10, -15, -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱对比图。如图所示,温度降至 $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ [图 3 (a)] 时,纯橄榄油与掺假 5%、10% 的橄榄油略有差别,与掺假 20% 的橄榄油差异明显。降至 $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ [图 3 (b)] 以及 $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ [图 3 (c)] 时,纯橄榄油与掺假橄榄油的差异增大;掺假 5% 与掺假 10% 的橄榄油拉曼光谱较为相似,二者与掺假 20% 的橄榄油明显不同。温度进一步降至 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ [图 3 (d)] 时,纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼谱差异更为明显,掺假 5% 与掺假 10% 的橄榄油拉曼光谱呈现出较显著差异。

总体而言,大豆油掺混比例增加时,纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱差异增大。当温度降至 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下时,随着温度降低,纯橄榄油与掺假橄榄油的差异变得明显。

2.2 二维拉曼相关光谱

图 4 (a)–(d) 分别为纯橄榄油、掺假 5%, 10% 和 20% 的橄榄油的同步二维拉曼相关谱,表征了以降温为扰动因子时,拉曼信号变化的协同程度。图中,红色表示正相关,蓝紫色表示负相关。主对角线上的自相关峰,表征该波数处的

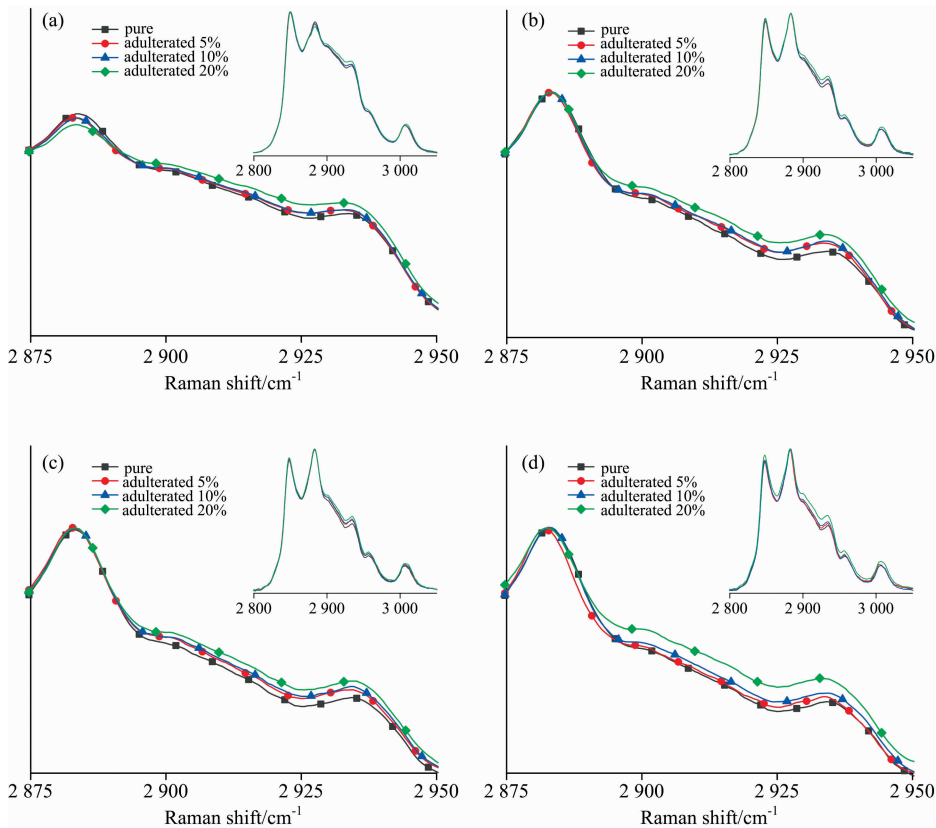


图 3 纯橄榄油与掺假橄榄油在不同温度时的拉曼光谱对比

(a): -5 °C; (b): -10 °C; (c): -15 °C; (d): -20 °C

Fig. 3 Comparison of Raman spectra of the pure and the adulterated olive oils at different temperature

(a): -5 °C; (b): -10 °C; (c): -15 °C; (d): -20 °C

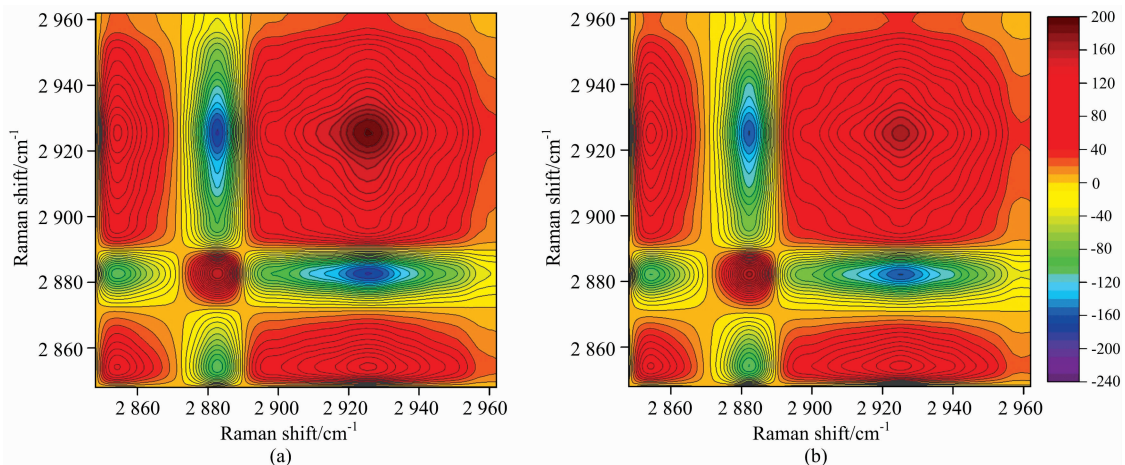
拉曼信号在降温过程中的变化程度；主对角线两侧的交叉峰，反映与交叉峰对应的两个波数处的特征信号随温度变化的相关性。

如图 4 所示，与掺假 5% [图 4(b)]、10% [图 4(c)]、20% [图 4(d)] 的橄榄油相比，纯橄榄油 [图 4(a)] 在 2925 cm^{-1} 附近的自相关峰(红色)强度最大。自相关峰强度对比排序为：纯橄榄油 > 掺假 5% 橄榄油 > 掺假 10% 橄榄油 > 掺假 20% 橄榄油，表明随着掺假组分(大豆油)比例增大，此自相

关峰强度减弱。对比(2925 和 2883 cm^{-1})处的负交叉峰，纯橄榄油的负交叉峰强于掺假橄榄油，随着掺假组分比例增大，此负交叉峰的强度相应减弱。这些结果显示，采用降温作为扰动因子的同步二维拉曼相关谱，可明显探测到纯橄榄油与低量掺假橄榄油的差异。

2.3 系统聚类分析

采用降温作为扰动因子，分别测定及求算纯橄榄油及掺假橄榄油的所有标样(SS)及盲样(BS)的同步二维拉曼相关



(a)

(b)

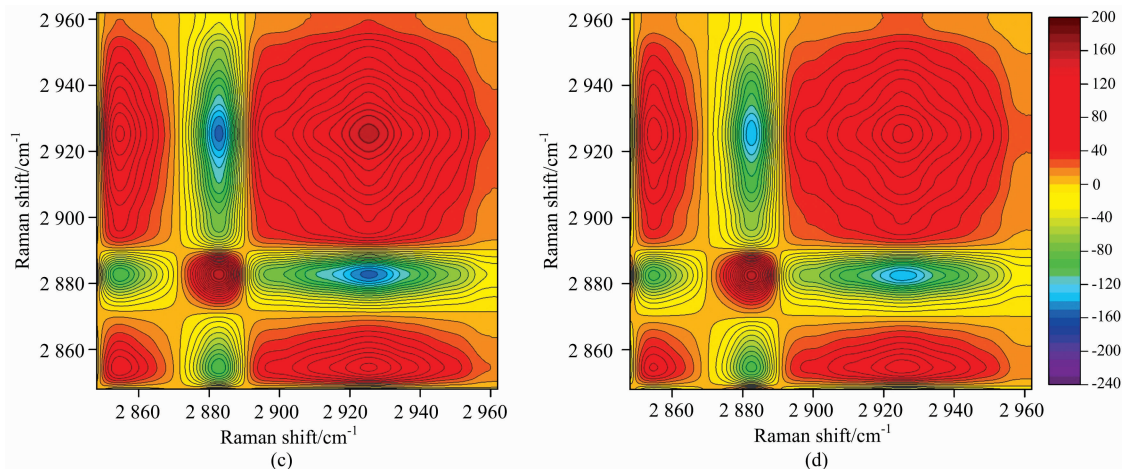


图 4 (a)纯橄榄油及掺假(b)5%, (c)10%, (d)20%的橄榄油的同步二维拉曼相关光谱

Fig. 4 Synchronous two-dimensional Raman correlation spectra of (a) the pure and the adulterated (b) 5%, (c) 10%, (d) 20% olive oils

谱, 然后进行系统聚类分析。在系统聚类过程中, 不对分类数以及类的结构进行事先假定, 根据数据的特征求出各样品的亲疏关系树状图。

如图 5 所示, 纯橄榄油、掺假比例分别为 5%, 10% 和 20% 的掺假橄榄油的盲样及标样, 分别各自聚成一类。纯橄榄油与掺假 5% 大豆油的橄榄油可明显区分。当掺假比例增至 10% 和 20% 时, 纯橄榄油与掺假橄榄油的差异更加显著。

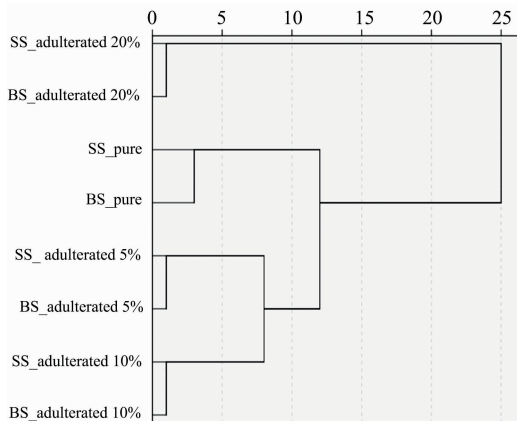


图 5 同步二维拉曼相关光谱的系统聚类分析树状图

Fig. 5 The dendrogram of hierichal clustering analysis based on the synchronous two-dimensional Raman correlation spectra

当食用油掺假比例低于 10% 时, 非法牟利空间已非常有限。本研究采用的假冒组分为与橄榄油相似度较高、杂质很少的一级大豆油。结果表明, 采用降温作为扰动因子的二维同步拉曼相关谱, 可高辨识度地鉴别低量掺假橄榄油。有理由预期, 对于掺入其他假冒组分的掺假橄榄油以及其他种类的食用油鉴别, 这种方法也应具有良好的辨识能力, 对于打击食用油掺假、维护公众健康具有重要意义。

3 结 论

采用降温作为扰动因子, 在 +15~ -20 °C 温度区间, 对比了纯橄榄油和掺入 5%, 10%, 20% 大豆油的掺假橄榄油的拉曼光谱以及同步二维拉曼相关谱。

在 +15~ 0 °C 区间, 纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱非常相似, 谱峰随温度变化不明显。当温度降至 0 °C 以下后, 纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱发生显著变化; 随着温度降低, 纯橄榄油与掺假橄榄油的拉曼光谱差异逐渐增大。

同步二维拉曼相关谱的对比结果显示, 随着掺假比例增加, 2 925 cm^{-1} 附近的自相关峰和 2 925 和 2 883 cm^{-1} 处的负交叉峰强度出现明显减弱。系统聚类分析显示, 纯橄榄油以及掺假橄榄油的盲样, 均可得到准确辨识。采用降温作为扰动因子的同步二维拉曼相关谱, 对于橄榄油低量掺假具有很高的辨识能力, 也可为其他油品鉴别提供理论和技术参考。

References

- [1] Menezes D B, Reyer A, Musso M. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 190: 433.
- [2] Suzuki Y, Furuya H. Journal of Peptide Science, 2018, 24(4-5): e3079.
- [3] Osiecka N, Galewski Z, Juszynska-Galazka E, et al. Journal of Molecular Liquids, 2016, 224: 677.
- [4] Qiu C, Arzhantsev S. Analytical Biochemistry, 2018, 555: 26.
- [5] Xiao Q, Sui H, Yu Q, et al. Propellants Explosives Pyrotechnics, 2019, 44(11): 1375.
- [6] Yan R, Chen J B, Sun S Q, et al. Journal of Molecular Structure, 2016, 1124: 110.

- [7] Chen J B, Wang Y, Rong L X, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1163: 327.
- [8] Chen J B, Wang Y, Liu A X, et al. *Journal of Molecular Structure*, 2018, 1155: 681.
- [9] XU Bei-lei, SUN Su-qin, ZHANG Gui-jun, et al(徐蓓蕾, 孙素琴, 张贵君, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2018, 38(3): 800.
- [10] Zhang Z Y, Sha M, Wang H Y. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2017, 48 (8): 1111.
- [11] Philippidis A, Poulakis E, Papadaki A, et al. *Analytical Letters*, 2016, 50(7): 1182.
- [12] Li Y P, Fang T, Zhu S Q, et al. *Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 189: 37.

Identification of Adulterated Olive Oil by Two-Dimensional Raman Correlation Spectroscopy With Cooling as a Perturbation Factor

YU Ying-tao¹, WANG Ji-feng¹, SUN Yu-ye¹, LI Fu-juan², WAN Chao³

1. College of Environmental Science & Engineering, Dalian Maritime University, Dalian 116026, China

2. North China Sea Environmental Monitoring Center, State Oceanic Administration, Qingdao 266033, China

3. Inspection and Quarantine Technology Center, Dalian Customs District P. R. China, Dalian 116001, China

Abstract The doping of inferior or low-priced oils into the edible oil infringes consumers' rights and harms public health. Therefore, the anti-counterfeiting identification of edible oils is of great significance. When the content of counterfeit components in the adulterated oil decreases, the similarity between the genuine oil and the adulterated oil becomes higher so that the identification of low-doping oil is generally difficult. In this paper, synchronous two-dimensional Raman correlation spectroscopy with cooling as a perturbation factor was used for the identification of the pure and the low-doping (5%, 10%, 20%) olive oils. Soybean oil with high similarity to the olive oil was selected as a counterfeit component. In the range of 15 to 0 centigrade degree, the Raman spectra of the pure and the adulterated olive oils were similar and changed slightly when the temperature decreased. The characteristic peaks appeared at 2 850, 2 874, 2 906, 2 933, 2 958, 3 005 cm^{-1} . The characteristic peak at 2 850 cm^{-1} corresponding to the symmetric stretching vibration of methylene (CH_2) was the strongest peak. When the temperature dropped below 0 centigrade degree, the Raman spectra of the pure and the adulterated olive oils changed significantly along with the decrease of temperature. In the range of -5 to -20 centigrade degree, the characteristic peaks appeared around 2 848, 2 883, 2 933, 2 956, 3 005 cm^{-1} . The peak at 2 848 cm^{-1} was attributed to the redshift of the peak (2 850 cm^{-1}) of the symmetric stretching vibration of CH_2 , and its relative peak strength decreased with the dropping of temperature; meanwhile, the peak at 2 883 cm^{-1} corresponding to the asymmetrical stretching vibration of CH_2 gradually increased and became the strongest peak. Synchronous two-dimensional Raman correlation spectra showed that the strength of the auto peak around 2 925 cm^{-1} and that of the negative cross peak at (2 925, 2 883 cm^{-1}) remarkably decreased with the increase of doping ratio, and the two-dimensional spectral difference among the pure and the low-doping (5%, 10%, 20%) olive oils was significant. Hierarchical clustering analysis based on the synchronous two-dimensional Raman correlation spectra showed that the blind samples of the pure and the low-doping olive oils were all accurately identified. Synchronous two-dimensional Raman correlation spectroscopy with cooling as a perturbation factor is efficient to distinguish the low-doping oils from the genuine olive oil and can be also helpful for the identification of other kinds of oils.

Keywords Raman spectroscopy; Two-dimensional correlation; Clustering analysis; Edible oil

(Received Oct. 25, 2019; accepted Feb. 12, 2020)