

傅里叶变换红外光谱法分析乳制品的成分

王 梅

(苏州大学 分析测试中心, 江苏 苏州 215123)

摘要: 利用甲醇沉淀进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉水溶液中的蛋白质, 所得上清液用二氯甲烷萃取, 再经傅里叶变换红外光谱法 (FT-IR) 分析沉淀物和各相中物质的成分. 试验结果表明: 3 种样品沉淀物中均含有蛋白质和脂肪酸甘油三酯, 在萃取时均有乳糖析出. 三者上层 (水+甲醇) 均含有糊精; 而下层 (二氯甲烷-甲醇) 进口奶粉中含有磷脂酰胆碱, 国产奶粉中含有磷脂酰胆碱和长碳链伯酰胺, 奶茶粉中含有咖啡因.

关键词: 傅里叶变换红外光谱法; 奶粉; 奶茶粉

中图分类号: O657.33

文献标志码: A

文章编号: 1006-3757(2016)03-0165-04

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2016.03.007

Analysis of Ingredients of Milk Product Via FTIR Spectrometry

WANG Mei

(Analysis and TestCenter, Suzhou University, Suzhou 215123, Jiangsu China)

Abstract: Proteins in imported milk powder, China-made milk powder and milk tea powder were precipitated via the addition of methanol. The supernatant was extracted by dichloromethane. Then the components of precipitates and substance in the two phases were analysed by Fourier transform infrared spectrometry (FT-IR). Results were as follows: Precipitates of the powders contained proteins and triglyceride. Lactose was separated out during the extraction. The upper layer (mixture of water and methanol) of the powders contained dextrin. The lower layer (mixture of dichloromethane and methanol) of the imported milk powder contained phosphatidylcholine, while that of the China-made milk powder contained phosphatidylcholine and long carbon chain amide, and that of the milk tea powder contained caffeine.

Key words: FT-IR; milk powder; milk tea powder

傅里叶变换红外光谱法 (FT-IR) 是一种常见的测试方法, 它能得到分子结构信息, 从而对物质进行定性和定量分析. 同时, 新型红外技术如衰减全反射技术和显微红外技术的发展大大减少了测试时的样品用量. 邓月娥等^[1] 利用 FT-IR 研究了 11 种奶粉的红外光谱, 通过脂肪、蛋白质和碳水化合物在红外光谱中表现出的差异来评价奶粉品质的优劣. 梁晓琳等^[2] 通过蛋白、脂肪、灰分含量和溶解度 4 个理化指标, 结合 FT-IR 结果采用 SPSS 统计软件进行相似性分析和聚类分析, 能很好的识别 6 种乳粉的产地. 周永国等^[3] 利用 FT-IR 测定奶粉中蛋白质和脂肪含量, 与凯氏定氮法和碱性乙醚提取法测定结果相比较, 其相对误差均小于 $\pm 2.4\%$. 此外, 国内已有利用 FT-IR 对奶粉中的有毒有害添加物如三

聚氰胺、苯甲酸钠的定量测定的报道^[4-5]. 本文利用甲醇沉淀奶粉和奶茶粉水溶液中蛋白质和脂肪酸甘油三酯, 所得清液用二氯甲烷萃取, 再经 FT-IR 测定沉淀物和各相中主物质的成分. 乳制品的 FT-IR 研究多直接采用乳粉测试, 只能得到蛋白质、脂类和糖类的笼统信息. 通过此法可以分离出不同的脂类和糖类, 并加以鉴定. 本方法操作简单, 所用试剂少, 仪器普及率高, 但因共沉淀和萃取效率等问题容易引起体系中各组分的损失, 所以此方法不适用于定量分析.

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

德国布鲁克公司 VERTEX70 傅立叶变换红外

光谱仪,美国 Pike 公司金刚石晶体衰减全反射(ATR)附件,DLATGS 检测器. QUINTIX224-1CN 精密电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司. 80-2B 台式离心机,江苏正基仪器有限公司.

进口奶粉样品为某海淘网站购买的高钙全脂成人牛奶粉,国产奶粉和奶茶粉样品为某购物网站购买的牛奶粉和咸味炒米奶茶. 无水甲醇(分析纯)为国药集团化学试剂有限公司生产,二氯甲烷(分析纯)为江苏强盛功能化学股份有限公司生产.

1.2 样品制备

准确称取奶粉和奶茶粉样品各 1.00 g,置于 10 mL 烧杯中,加入 3 mL 65 °C 蒸馏水,充分搅拌 10 min,加入无水甲醇 7 mL,搅拌均匀后静置 15 min,过滤. 甲醇沉淀机理是降低水的介电常数,导致具有表面水层的蛋白质脱水,相互聚集,最后析出. 沉淀物用蒸馏水清洗,过滤后烘干待用. 两种奶粉的滤液为浅黄色透明胶体,奶茶粉的滤液为棕黄色液体. 滤得的液体用 5 mL 二氯甲烷萃取两次,合并下层溶液. 奶粉样品在萃取中易产生乳化现象,可采用 3 500 r/min 的速度离心 15 min 得到下层清液. 将上层和下层的清液分别滴在铝箔纸上,待溶剂挥发后进行红外测试. 随着体系温度的降低各样品的上层清液在萃取后放置 24 h 后有白色粉末析出,过滤后烘干待用.

1.3 测试

粉末样品的红外测试:可将粉末直接覆盖在 ATR 附件的金刚石晶体上,将压力杆对样品施压后进行测试.

铝箔纸上的样品:可将含有样品的一面直接覆盖在 ATR 附件的金刚石晶体上,再施压进行测试.

各样品红外测试条件如下:扫描范围 4 000 ~ 600 cm^{-1} ,扫描次数 16 次,分辨率 4 cm^{-1} .

2 结果与讨论

2.1 未处理样品的红外谱图

进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉的红外谱图如图 1 所示. 从图 1 可以看出样品中蛋白质、油脂和糖类的特征峰. 1 649 cm^{-1} 处较强宽峰为蛋白质酰胺 I 带 C=O 伸缩振动,1 535 cm^{-1} 处中等强度的峰为酰胺 II 带 N-H 面内弯曲振动和 C-N 伸缩振动峰. 2 922 cm^{-1} 和 2 853 cm^{-1} 处较强尖峰为油脂中亚甲基的 C-H 反对称和对称伸缩振动峰,1 743 cm^{-1} 处较强尖峰为油脂的 C=O 伸缩振动峰. 3 020 ~ 3 640

cm^{-1} 中等强度宽峰为糖类 O-H 伸缩振动峰,925 ~ 1 200 cm^{-1} 最强宽峰为 C-O 伸缩振动产生. 3 种未处理的样品除了代表各种组分的峰相对强度的差异外,各谱峰峰形、峰位几乎没有太大的差异.

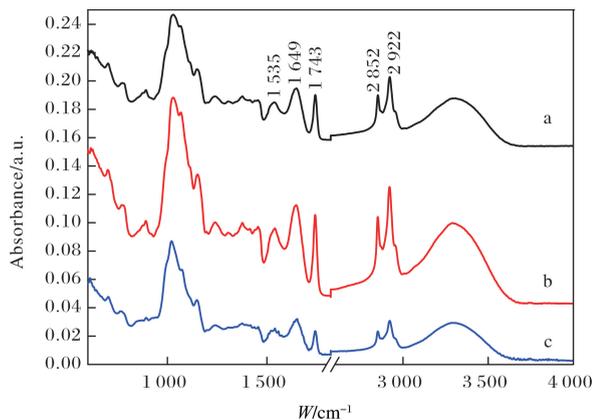


图 1 未处理奶粉、奶茶粉的红外光谱图

(a) 进口奶粉, (b) 国产奶粉, (c) 奶茶粉

Fig. 1 FT-IR spectra of untreated milk powder and milk tea powder

(a) imported milk powder, (b) China-made milk powder, (c) milk tea powder

2.2 沉淀物的红外光谱

进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉沉淀物的红外谱图如图 2 所示. 由图 2 可以看出沉淀物中含有蛋白

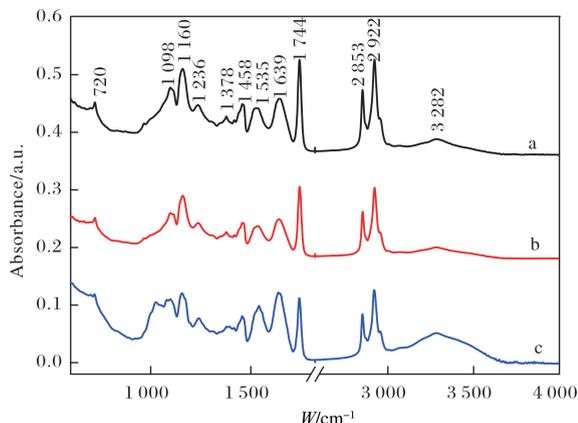


图 2 奶粉、奶茶粉沉淀的红外光谱图

(a) 进口奶粉, (b) 国产奶粉, (c) 奶茶粉

Fig. 2 FT-IR spectra of precipitates

(a) imported milk powder, (b) China-made milk powder, (c) milk tea powder

质和脂肪酸甘油三酯的特征峰. 蛋白质的特征峰: 3 282 cm^{-1} 弱峰为 N-H 伸缩振动峰, 1 639 cm^{-1} 和

1 535 cm^{-1} 分别为酰胺 I、II 带. 脂肪酸甘油三酯的特征峰; 2 922 cm^{-1} 和 2 853 cm^{-1} 分别为亚甲基的反对称和对称伸缩振动峰, 1 458 cm^{-1} 为亚甲基 C-H 弯曲振动峰, 1 744 cm^{-1} 为酯羰基 C=O 伸缩振动峰, 1 098、1 160 和 1 236 cm^{-1} 均为 C-O 伸缩振动产生, 其中 1 160 cm^{-1} 强度最强, 720 cm^{-1} 为长碳链中 C-C 骨架振动峰.

2.3 水相主成分红外谱图

进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉经处理后上层(水+甲醇)红外谱图如图 3 所示. 从图 3 可以看出, 三者均表现为糊精的特征峰. 2 996 ~ 3 630 cm^{-1} 中等强度宽峰为 O-H 伸缩振动峰, 950 ~ 1 200 cm^{-1} 较强宽峰为 C-O 伸缩振动峰. 771 cm^{-1} 和 869 cm^{-1} 为糊精中吡喃糖 α -异构体的特征峰. 此外, C-O 伸缩振动区峰较宽, 进一步证明该糖类为聚合形式存在^[6].

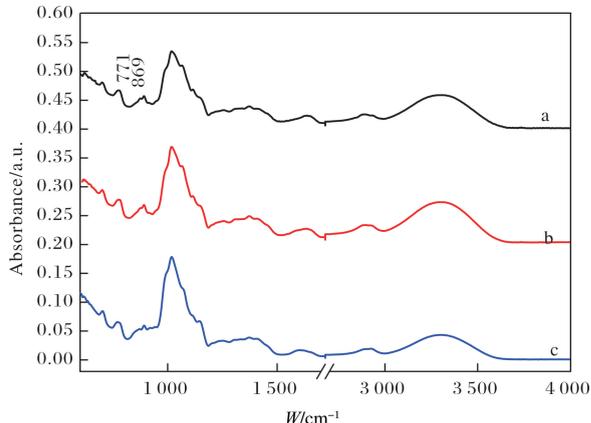


图 3 奶粉、奶茶粉中糊精的红外光谱图
(a) 进口奶粉, (b) 国产奶粉, (c) 奶茶粉

Fig. 3 FT-IR spectra of dextrin

(a) imported milk powder, (b) China-made milk powder, (c) milk tea powder

体系温度降低引起进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉样品溶液中有白色物质析出, 3 种白色物质的红外光谱图如图 4 所示. 由图 4 可以看出三者均表现为乳糖的特征峰. 一分子乳糖由一分子 β -D-半乳糖和一分子 α -D-葡萄糖形成 β -1,4-苷键相连, 因此在红外光谱中出现 α -异构体的 914 cm^{-1} 的振动峰, 同时出现 β -异构体 899 cm^{-1} 的特征峰, 在 750 ~ 777 cm^{-1} 范围内出现两种环的扩张运动引起的宽峰. 与糊精的红外图相比, 乳糖因相互连接的单糖只有两个, 分子中形成的氢键的种类相对于糊精要少, 因此乳糖在 O-H 和 C-O 振动区域表现出比糊精更多的峰^[6].

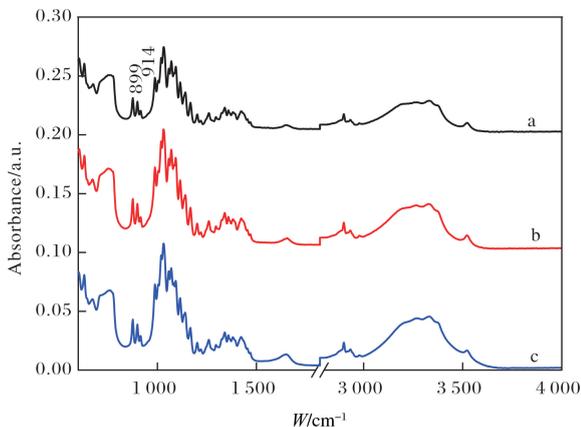


图 4 奶粉、奶茶粉中乳糖的红外光谱图

(a) 进口奶粉, (b) 国产奶粉, (c) 奶茶粉

Fig. 4 FT-IR spectra of lactose

(a) imported milk powder, (b) China-made milk powder, (c) milk tea powder

2.4 有机相主成分红外光谱

乳脂肪中的大部分是脂肪酸甘油三酯, 还有少量的磷脂、甾醇、游离脂肪酸以及脂溶性维生素等. 奶粉和奶茶粉中的脂肪酸甘油三酯在蛋白质沉降过程中随蛋白质一起沉降, 但磷脂因其两亲性特点易与水结合形成胶束状从而保留在水+甲醇相中, 经过二氯甲烷萃取进入二氯甲烷+甲醇相.

进口奶粉、国产奶粉和奶茶粉经处理后下层(二氯甲烷+甲醇)红外谱图如图 5 所示. 从图 5(a) 中可以看出磷脂酰胆碱的特征峰. 2 922 cm^{-1} 和 2 852 cm^{-1} 强吸收峰为亚甲基 C-H 反对称伸缩和

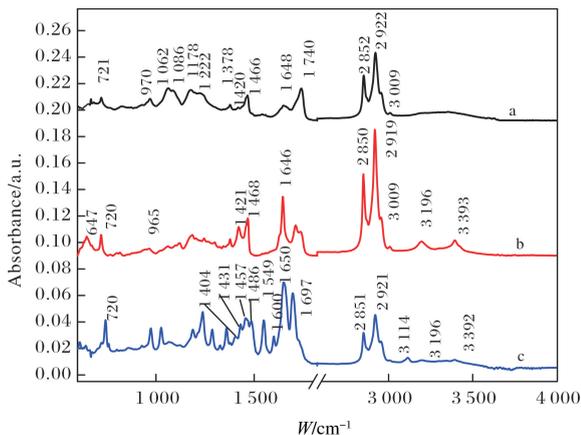


图 5 奶粉、奶茶粉中有机相的红外光谱图

(a) 进口奶粉, (b) 国产奶粉, (c) 奶茶粉

Fig. 5 FT-IR spectra of materials in organic phase
(a) imported milk powder, (b) China-made milk powder, (c) milk tea powder

对称伸缩振动峰, $1\ 466\ \text{cm}^{-1}$ 为亚甲基 C-H 弯曲振动峰, $1\ 378\ \text{cm}^{-1}$ 为甲基 C-H 弯曲振动峰, $721\ \text{cm}^{-1}$ 为长碳链中 C-C 骨架振动峰. $1\ 222\ \text{cm}^{-1}$ 为 PO_2^- 反对称伸缩振动峰, $1\ 178\ \text{cm}^{-1}$ 为 C-O-C 伸缩振动峰, $1\ 086\ \text{cm}^{-1}$ 为 PO_2^- 对称伸缩振动峰, $1\ 062\ \text{cm}^{-1}$ 为 P-O-C 伸缩振动峰, $970\ \text{cm}^{-1}$ 为磷脂中胆碱聚集体 $\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ 的不对称振动峰. $1\ 740\ \text{cm}^{-1}$ 强吸收峰为酯的 C=O 伸缩振动产生, 由红外谱图可以看出进口奶粉样品下层含有磷脂酰胆碱^[7]. 此外, 样品还含有不饱和双键, $3\ 009\ \text{cm}^{-1}$ 较弱的峰为不饱和 C-H 伸缩振动产生, $1\ 420\ \text{cm}^{-1}$ 为与双键相连的碳的 C-H 弯曲振动峰, $1\ 648\ \text{cm}^{-1}$ 为 C=C 伸缩振动峰.

从图 5(b) 可以看出国产奶粉处理后下层(二氯甲烷+甲醇)与进口奶粉相比差别较大, 样品中含有代表磷脂酰胆碱特征的 $965\ \text{cm}^{-1}$ 和 $990 \sim 1\ 300\ \text{cm}^{-1}$ 的峰但强度较低, 而与长碳链有关的 $2\ 919$ 、 $2\ 850$ 、 $1\ 468$ 、 $720\ \text{cm}^{-1}$ 的峰强度较高, 同时亦存在代表双键的 $3\ 009\ \text{cm}^{-1}$ 的峰. 此外, 出现伯胺 N-H 反对称和对称伸缩振动峰 $3\ 393\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 196\ \text{cm}^{-1}$ 、酰胺 I 带特征峰 $1\ 646\ \text{cm}^{-1}$ 、酰胺 III 带特征峰 $1\ 421\ \text{cm}^{-1}$ 、酰胺 V 带氨基 N-H 面外弯曲振动 $647\ \text{cm}^{-1}$ 的宽峰, 综合以上可判断样品中存在长碳链伯酰胺.

图 5(c) 为奶茶粉处理后下层(二氯甲烷+甲醇)的红外光谱. 代表长碳链特征峰的 $2\ 919$ 、 $2\ 850$ 和 $720\ \text{cm}^{-1}$ 依然存在, 氨基特征峰 $3\ 392\ \text{cm}^{-1}$ 和 $3\ 196\ \text{cm}^{-1}$ 也存在. 但由于 $600 \sim 1\ 800\ \text{cm}^{-1}$ 区域有很强的其它物质吸收峰, 导致无法判断样品中是否含有磷脂酰胆碱和长碳链伯酰胺. 除去上述长碳链和氨基特征峰, 剩余峰与咖啡因红外谱图相吻合, 咖啡因的结构式如图 6 所示. 各谱峰归属为: $3\ 114\ \text{cm}^{-1}$

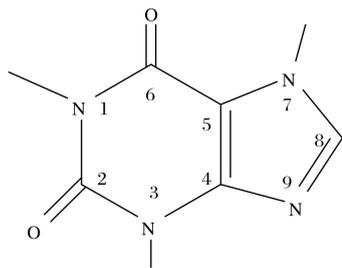


图 6 咖啡因的结构式

Fig. 6 Structure of caffeine

为不饱和 C-H 伸缩振动峰, $1\ 697\ \text{cm}^{-1}$ 为 2 号 C=O 伸缩振动峰, $1\ 650\ \text{cm}^{-1}$ 为 6 号 C=O 伸缩振动峰, $1\ 600\ \text{cm}^{-1}$ 为 C=C 伸缩振动峰, $1\ 549\ \text{cm}^{-1}$ 为 C=N

伸缩振动峰, $1\ 486$ 、 $1\ 457$ 、 $1\ 431$ 和 $1\ 404\ \text{cm}^{-1}$ 为饱和 C-H 弯曲振动峰^[8].

3 结论

未处理乳制品的红外光谱图均含有蛋白质、油脂和糖类特征峰. 经甲醇-二氯甲烷处理, 乳制品中蛋白质和脂肪酸甘油三酯发生沉淀, 而过滤后的清液中测定出水相中含有糊精和乳糖. 有机相进口奶粉中含有磷脂酰胆碱, 国产奶粉中含有磷脂酰胆碱和长碳链伯酰胺, 奶茶粉中含有咖啡因, 可能还含有磷脂酰胆碱和长碳链伯酰胺. 因此, 通过甲醇沉淀蛋白质再用二氯甲烷萃取的方法, 可以方便、快速地获得乳制品中的主成分信息.

本文方法操作简单, 所用试剂少, 仪器普及率高, 但因共沉淀和萃取效率等问题容易引起体系中各组分的损失, 因此, 此方法不适用于定量分析. 虽然此方法不能定量, 但是从整个试验现象上看, 糊精和乳糖含量较高, 磷脂酰胆碱和长链伯酰胺是溶解在有机相的物质, 含量较少, 利用红外 ATR 的技术可以检测. 同时, 对这些物质进行测定可以对奶粉是否掺假、是否添加有害成分进行初步的定性.

参考文献:

- [1] 邓月娥, 周群, 孙素琴. FT-IR 光谱法与奶粉的品质分析[J], 光谱学与光谱分析, 2005, 25(12): 1972-1974.
- [2] 梁晓琳, 刘燕, 谭凯燕, 等. 基于 FTIR 和理化性质的乳粉溯源技术研究[J], 食品工业科技, 2014, 35(4): 49-52.
- [3] 周永国, 侯文龙, 杨越冬, 等. 傅里叶变换红外光谱法同时测定奶粉中蛋白质和脂肪含量[J], 理化检验-化学分册, 2009, 45(1): 66-72.
- [4] 田高友, 鲁长波, 袁洪福. 液体奶和奶粉中三聚氰胺含量红外光谱分析方法研究[J], 现代科学仪器, 2009, (5): 86-91.
- [5] 回瑞华, 侯冬岩, 关崇新, 等. 红外光谱法测定奶粉中苯甲酸钠的含量[J], 食品科学, 2003, 2(48): 121-123.
- [6] 谢晶曦, 常俊标, 王绪明. 红外光谱在有机化学和药物化学中的应用[M], 北京: 科学出版社, 2001: 77
- [7] 薛慧君, 孙润广, 王小梅, 等. 卵黄低密度脂蛋白结构的红外光谱和激光拉曼光谱分析[J], 光谱学与光谱分析, 2010, 30(11): 2998-3001.
- [8] 冯计民, 刘世海. 海洛因、咖啡因的 FTIR 检验及谱图解释[J], 刑事技术, 2005, (2): 23-24.