

定量核磁共振磷谱在食品分析检测中的研究进展

Research progress of ^{31}P -quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy in food analysis

韩 智^{1,2} 龚 蕾^{1,2} 王会霞^{1,2} 江 丰^{1,2}

HAN Zhi^{1,2} GONG Lei^{1,2} WANG Hui-xia^{1,2} JIANG Feng^{1,2}

朱晓玲^{1,2} 黄宗骞^{1,2} 曹 琦^{1,2}

ZHU Xiao-ling^{1,2} HUANG Zong-qian^{1,2} CAO Qi^{1,2}

(1. 湖北省食品质量与安全监督检验研究院, 湖北 武汉 430070;

2. 湖北省食品质量安全检测工程技术研究中心, 湖北 武汉 430070)

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan, Hubei 430070, China;

2. Hubei Provincial Engineering and Technology Research Center for Food Quality and Safety Test, Wuhan, Hubei 430070, China)

摘要:文章综述了近年来定量核磁共振磷谱在食品活性磷脂、磷酸盐、有机磷农药、标准品纯度鉴定等方面的研究进展,对其定量分析的影响因素进行了分析,并对其未来发展方向进行了展望。

关键词:定量核磁共振;食品分析检测;磷谱

Abstract: The research progress of quantitative nuclear magnetic resonance in phospholipids, phosphates, organophosphorus pesticides, purity identification were reviewed, which could provide reference for the further development of new applications of quantitative nuclear magnetic resonance in food analysis and detection.

Keywords: quantitative nuclear magnetic resonance; food analysis and detection; phosphorus spectrum

定量核磁共振波谱(Quantitative Nuclear Magnetic Resonance, qNMR)是 20 世纪新兴的食品分析检测技术,经过近 60 年的发展,已成为食品科学、食品分析、食品认证、食品质量控制的重要工具。与常用的现代分析技术如色谱法(气相色谱、液相色谱、薄层色谱)、波谱法(质谱、紫外可见光谱、傅里叶变换红外光谱、拉曼光谱)、电泳法(聚丙烯酰胺凝胶电泳、毛细管电泳)、免疫分析法、微生物学和遗传学分析法相比,qNMR 在化合物定量方面具有许多优点,其允许对样品进行无损定量分析,所

需样品量少,还具有高精密度、准确度、灵敏度、特异性、耐用性等优点,具有与色谱技术相媲美的适用性^[1-3]。此外,qNMR 还具有分析时间短、重现性高的特点,也不需要标准品即可进行定量^[4-5]。

磷是人体必需元素,但过量摄入会引起高磷血症,磷的缺乏又会引起软骨病^[6]。 ^{31}P 原子核天然丰度为 100%,灵敏度为 ^1H 的 1/15,在核磁共振扫描(NMR)中具有较大范围的化学位移(约 7.00×10^{-4}),不同的含磷化合物能得到有效分离,因此定量核磁共振磷谱(^{31}P -qNMR)技术是一种可靠的定量分析工具^[7]。近年来, ^{31}P -qNMR 技术被广泛应用于橄榄油等级鉴定、畜禽肉新鲜度鉴别、牛奶中甘油磷酸胆碱定量测定、酪蛋白中磷脂酰丝氨酸定量测定、淀粉来源辨别、聚磷酸盐螯合剂的检测、果蔬中有机磷农药定量测定等^[8]。

目前,国内外有关 ^{31}P -qNMR 的综述包括人体磷脂研究^[9]、橄榄油等级鉴定^[10]、食品科学应用^[11]、土壤分析应用^[12]、食品脂质研究^[13]、qNMR 的高级应用^[14]。但在食品分析检测中的研究尚未见报道。文章拟对 ^{31}P -qNMR 技术在磷脂、磷酸盐、功能成分、纯度分析、有机磷农药降解规律等方面的研究进行系统综述,旨在为 ^{31}P -qNMR 在食品分析检测中的应用提供依据。

1 ^{31}P -qNMR 定量原理

定量核磁的基本原理为图谱中信号的响应值(即峰面积)与所检测的核(如 ^{31}P)的数目呈正比,与核的化学性质无关,一般只需对该化合物中某一基团上质子引起的峰面积进行比较,即可求出其绝对含量^[15]。

基金项目:国家重点研发计划项目(编号:2018YFC1602300)

作者简介:韩智(1990—),男,湖北省食品质量与安全监督检验研究院工程师,硕士。E-mail:han2299@126.com

收稿日期:2020-07-30

qNMR 定量方法主要有两种:① 相对定量法(外标法),称取一定已知含量的标准品配成一系列不同浓度的标准溶液,相同试验条件下,以特征峰面积为纵坐标、浓度为横坐标绘制标准曲线,测定未知样品溶液的 NMR 谱图,计算其相应的峰面积,由标准曲线推算未知样品浓度。② 绝对定量法(内标法),选择已知准确含量的标准物作为内标物,在未知样品溶液中加入已知量的内标,由内标化合物特征峰面积与样品中某一特征峰面积的比值即可计算样品浓度,内标法是 qNMR 最常见的定量方法,其计算公式为^[16]:

$$m_x = \frac{m_{\text{std}} \times M_x \times (A_x / n_x)}{M_{\text{std}} \times (A_{\text{std}} / n_{\text{std}})}, \quad (1)$$

式中:

m_x ——待测物含量,mg/L;

m_{std} ——内标含量,mg/L;

M_x ——待测物分子量;

M_{std} ——内标分子量;

A_x ——待测物定量峰信号面积;

A_{std} ——内标物定量峰信号面积;

n_x ——待测样品定量峰包含的磷原子数;

n_{std} ——内标物包含的磷原子数。

2 ^{31}P -qNMR 定量分析的影响因素

采样参数(观测核、中心频率、谱宽、采样点数、增益)、脉冲序列参数(脉冲宽度、射频场强、延迟时间、扫描次数)、数据处理参数(窗函数、变换点数、线性因子)等都会影响 ^{31}P -qNMR 的定量结果^[17]。在实际分析检测中,标准品的选择、延迟时间、扫描次数对试验结果的影响较大。

2.1 标准品的选择

qNMR 试验所选的标准品应具有结构稳定、纯度较高、易溶于氘代试剂、不与样品中任何成分发生反应、与样品定量峰分离度好、信号明显易识别等特点^[15]。常用的 ^{31}P -qNMR 标准物质有 2-氨基乙基磷酸^[18]、甲胺磷^[19]、胆固醇^[20]、磷酸^[21]、六甲基磷酰三胺^[22]、亚甲基二磷酸^[23]、甲基磷酸^[6]、磷酸钠^[4]等。

2.2 延迟时间

延迟时间(D_1)直接影响激发核能否恢复至平衡基态,而能否恢复基态影响核磁的响应信号,因此合适的 D_1 对 qNMR 定量结果影响较大,一般认为 qNMR 的 $D_1 \geq 5T_1$ (5 倍弛豫时间)。过长的 D_1 增加了单次扫描所需的时间,通过加入顺磁物质可以缩短延迟时间,还可以引入校正因子 f 校正 D_1 时间不足导致的定量偏差^[24-25]。

2.3 扫描次数

相同操作条件下,灵敏度与扫描次数呈正比^[17],扫描

次数太少,数据重现性差,对于痕量物质的分析可以增加扫描次数,以此提高仪器的灵敏度,降低物质的检出限。但扫描次数过多会造成试验效率低,因此 qNMR 定量需优化扫描次数,使扫描时间和灵敏度达到最佳平衡。

3 ^{31}P -qNMR 在食品检测中的应用

3.1 食品活性磷脂分析检测

磷脂几乎存在于所有机体细胞中,动物磷脂主要来源于蛋黄、牛奶、动物体脑组织、肝脏、肾脏及肌肉组织,植物磷脂主要存在于油料种子中;磷脂具有生物学功能,受到世界各国的广泛关注^[18]。传统的磷脂检测方法有索氏提取法、酸水解法和氯仿-甲醇提取法等,但存在耗时长,有机溶剂消耗量大的缺点,且具有毒害作用^[13]。

Spyros 等^[7]使用 2-氯-4,4,5,5-四甲基二氧磷杂环烷与单甘油脂和双甘油三酯的游离羟基进行磷酸化,在 NMR 谱图中将磷的响应峰进行归一化积分,得到初榨橄榄油中单甘油脂和双甘油脂的准确含量。Yao 等^[26]利用 ^{31}P -qNMR 比较了水提和酶辅助水提两种不同处理方法对全脂大豆粉、豆粕、挤压膨化豆粕及奶油中磷脂含量的影响,发现使用酶辅助水提的得率更高,该方法使用氯仿-甲醇-乙二胺四乙酸混合提取液提取磷脂类化合物,通过 NMR 直接上机定量测定,各种磷脂在谱图中得到了较好的分离,奶油中总磷脂含量为 0.09%~0.75%,游离油脂含量为 6%~78%。Brinkmann-Trettenes 等^[27]以磷酸三甲酯为内标,通过改变提取溶液的 pH 值,定量检测二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱、二肉豆蔻酰磷脂酰乙醇胺、二肉豆蔻酰磷脂酰甘油、双磷脂酰甘油 4 种磷脂,此 4 种磷脂化合物在谱图中分离度好,定量限为 1.30 mmol/L,相比于传统的酶法测定,qNMR 法抗干扰能力强,适合深色样品的测定,方法的相对标准偏差(RSD)为 1.0%~8.7%,重复性 RSD<3%。Garcia 等^[28]以 MDPA 为外标,氘代氯仿-甲醇-5 mmol/L 环己二胺四乙酸铯($V_{\text{氘代氯仿}}:V_{\text{甲醇}}:V_{\text{环己二胺四乙酸铯}}=100:40:20$)为提取试剂,分别鉴定出人奶、马奶、骆驼奶、牛奶中含有 12,11,9,7 种磷脂,人奶和骆驼奶中的鞘磷脂和缩醛磷脂含量更高,分别为 78.3,117.5 $\mu\text{g/mL}$,缩醛磷脂含量分别为 27.3,24.0 $\mu\text{g/mL}$,这两种物质对婴幼儿的发育具有重要作用;磷脂总含量从高到低依次为骆驼奶、人奶、牛奶、马奶,含量分别为 0.503,0.324,0.265,0.101 mmol/L,该检测方法具有灵敏度高、前处理简单、损失较少的优点,适合婴儿母乳替代品、营养强化剂和保健食品中磷脂含量的检测。Lucas-Torres 等^[29]利用 ^{31}P -qNMR 研究了常规加热和微波加热对橄榄油质量的变化情况,结果显示常规加热会导致二酰甘油和游离脂肪酸含量显著增加,进而损害橄榄油质量,微波加热可使橄榄油中二酰甘油之间存在异构化反应,可延长橄榄油的保质期。Dais 等^[30]利用高分

分辨率多核(^1H , ^{13}C , ^{31}P)及多维 NMR 光谱,使用复杂的二维 NMR 试验,对鱼油中的各种成分进行了系统的二维分析,结果表明 $n-1$ 酰基链和反式脂肪酸的含量范围分别为 1.9%~2.9%, 3.7%~5.2%。

崔常乐等^[31]利用 ^{31}P -qNMR 测定了大豆磷脂中的磷脂酰胆碱,发现定量结果普遍比高效液相色谱蒸发光散射检测法(HPLC-ELSD)的偏大,可能是因为核磁的 overhauser 效应(NOE)带来了积分误差,通过重复测定,使用校正系数 f 将 ^{31}P -qNMR 的结果进行校正,结果准确。Malmos 等^[32]利用 qNMR 技术对黑巧克力中卵磷脂及铵磷脂类乳化剂类型及含量进行了精确定性定量分析,方法定量限为 1.1~1.9 g/kg,准确度为 4%~12%,精密密度为 11%~19%。Mayar 等^[33]比较了胆酸缓冲盐、 CHCl_3 -MeOH- H_2O 混合提取液及甲醇对磷脂和溶血磷脂的提取效率,结果显示用甲醇重复提取 3 次的回收率和稳定性好,在 400, 700 MHz 核磁波谱仪上的定量限分别为 0.15, 0.10 mg/g, 加标回收率为 96%~108%。Van 等^[34]利用 400 MHz 核磁定量测定了植物油原油和精炼油中磷脂和含磷降解产物,发现不同 pH 对不同磷脂的分离及峰型有显著影响,选择 pH 为 9.0 的提取试剂提取 8 种磷脂,并测定了不同目标物的弛豫时间 T_1 为 0.9~10.6 s,选择 15 s 作为定量,并用校正因子 $f=1.11$ 校正延迟时间最长的化合物,得 8 种化合物的回收率为 94%~100%,定量限为 100 $\mu\text{mol}/100\text{ g}$ 。

3.2 磷酸盐分析检测

磷酸盐是食品工业常用的食品添加剂,可用作水分保持剂、膨松剂、酸度调节剂、稳定剂、凝固剂、抗结剂。常用的磷酸无机盐检测方法为离子色谱法,但该方法存在阴性离子干扰多、前处理复杂的缺点。

Sojka 等^[35]鉴别出市售三聚磷酸钠中含有焦磷酸钠、三偏磷酸钠、磷酸氢二钠 3 种杂质,并定量测出其含量,同时指出使用去耦脉冲序列可能会产生 NOE 效应,使核磁共振信号增强,造成定量结果偏大。Stanislawski 等^[24]在含有多种磷酸盐的混合溶液中添加顺磁试剂 4-氨基-2, 2, 6, 6-四甲基哌啶酰氧基,缩短了各化合物的弛豫时间,猝灭了 NOE 效应,使用 NMR 采集时间 2 h,定量测定了三偏磷酸钠、四偏磷酸钠、磷酸氢二钠、焦磷酸钠,其检出限为 200 mg/kg。Belloque 等^[36]使用 ^{31}P -qNMR 测定了牛奶中的无机磷和磷酸丝氨酸,使用外标法定量,单个样品采集时间 1.7 h,无机磷的线性范围为 162~1 993 mg/kg,磷酸丝氨酸的线性范围为 38~402 mg/kg,利用此方法测得牛奶中含有焦磷酸盐含量为 58~576 mg/kg。Hrynyszyn 等^[23]利用亚甲基二磷酸作为外标,利用硼酸-EDTA 碱式缓冲液提取了肉制品中的 4 种磷酸盐 KH_2PO_4 , $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 和 $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$,其回收率为 95%~99%,回收率变异系数 $\leq 5\%$;该方法具有良好

的精密性,变异系数为 0.39%~3.40%,试验发现利用水直接提取肉制品中磷酸盐的提取率较低($<90\%$),使用缓冲盐提取的回收率较高。Sztyk 等^[22]利用六甲基磷酸三胺作为内标试剂,使用硼酸-EDTA 碱式缓冲液测定了肉制品中的 4 种磷酸盐 $\text{Na}_2\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$, $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$, $\text{Na}_3\text{P}_3\text{O}_9$,使用校正因子 f 校正 HMPA 和磷酸盐的磷原子响应当量,扫描参数为延迟时间 5 s,扫描次数 196,使用此方法的回收率为 96.5%~98.0%,检出限为 32 mg/kg,定量限为 82 mg/kg。Kollo 等^[6]以甲基磷酸作为内标物,对 10 种市售饮料中的磷酸盐进行了分析,饮料经 NaOH 固定 pH 值使其化学位移不发生变化,经直接上机测试,样本中的磷酸盐浓度为 3.5~6.1 mmol/L。卢爱民等^[37]建立了核磁共振磷谱(^{31}P -NMR)快速测定可乐饮料中的磷酸根含量的定量分析方法,以磷酸二氢钾(KH_2PO_4)配制标准工作溶液,在 0.25~4.00 mg/mL 浓度范围内具有良好的线性关系。将该方法用于可乐中磷酸根含量的测定,测得可口可乐和百事可乐中的磷酸根含量分别为 0.846 2, 0.908 4 mg/mL,相对标准偏差分别为 0.44%, 0.46%,加标回收率分别为 96.4%, 109.7%。

3.3 功能成分的分析检测

植物中有效成分的确定一般包含提取、纯化及鉴定,鉴定常采用 X 晶体衍射、紫外及红外辅助定性, NMR 技术则能确定化合物的构型及立体结构。Christophoridou 等^[38]使用亚磷酸化环己醇作为内标物,利用 ^{31}P 核磁共振波谱检测和定量酚类化合物,该方法利用衍生试剂 2-氯-4, 4, 5, 5-四甲基二氧磷杂环烷与酚类化合物的羧基进行衍生结合,根据 ^{31}P 化学位移识别亚磷酸化合物,通过整合 ^{31}P 核磁共振波谱中的适当信号,可实现初榨橄榄油中大量酚类化合物的定量,该研究定量了 20 种酚酸,如邻香豆酸、对香豆酸、阿魏酸、咖啡酸等;研究了不同温度下化学位移的改变,当温度为 20~30 $^{\circ}\text{C}$ 时,化学位移偏移了 $2.0\times 10^{-8}\sim 6.0\times 10^{-8}$;利用顺磁物质乙酰丙酮铬的顺磁性降低了磷原子核的弛豫时间,从而缩短了检测时间。Crestini 等^[20]采用定量 ^{31}P 核磁共振和二维异核磁共振波谱相结合的新分析方法,测定了儿茶、五味子和金合欢中原花青素的化学成分,以乙酰丙酮铬作为松弛剂,吡啶和氘代氯仿($V_{\text{吡啶}}:V_{\text{氘代氯仿}}=1.6:1.0$)作为提取液,胆固醇作为内标,加入 2-氯-4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧磷杂环烷作为衍生试剂,将样品在 20 $^{\circ}\text{C}$ 下温浴 60 min,上机测试,通过分析原花青素中黄烷-3-醇的 A-、B-、C-环基团,鉴定出黄烷-3-醇单元的氧化模式,同时获取了原花青素样品的指纹图谱,并通过异核单量子关系(HSQC)技术测定了其纯度。Melone 等^[39]报道了一种前所未有的 qNMR 分析方法,该方法可以同时单宁中的所有官能团进行结构和定量表征,使用 2-氯-4, 4, 5, 5-四甲基-1, 3, 2-二氧磷杂环烷引物原位标记所有不稳定的 H

基(脂肪族、酚羟基和羧酸),使用 ^{31}P -NMR 定量测定其含磷官能团,为复杂的生物活性多酚化合物的结构鉴定和定量提供了可能。

3.4 有机磷农药检测

^{31}P -NMR 技术在有机磷化合物中应用广泛,包括有机磷农药抑制乙酰胆碱酯酶的机理、有机磷农药的毒性与分子结构关系、人体中有机磷农药代谢研究、有机磷农药的复合解毒剂研究、环境和食品中农药残留研究、有机磷在环境中的降解、有机磷在解毒剂中降解机理研究等^[40]。Gurley 等^[41]利用 ^{31}P -qNMR 技术研究了有机磷农药,通过使用弛豫试剂减少扫描时间,25 min 内的方法检出限为 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。Mortimer 等^[42]使用 ^{31}P -qNMR 测定了 10 个西蓝花和卷心菜中的有机磷农药(二硫醚,二噻酮,乐果、对硫磷、甲基叠氮磷),以三苯基磷作为内标,延迟时间为 1.0 s,扫描次数 4 800 次,其检出限达 0.5 mg/kg。Krolski 等^[43]研究了二硫代磷酸酯类农药在土壤中的代谢,发现硫丙磷主要有硫丙磷亚砷和硫丙磷砷两种代谢产物,90 d 后硫丙磷降解完全,转化为硫丙磷亚砷和硫丙磷砷,其含量分别为 64%,36%。Talebpour 等^[44]利用六甲基磷酰三胺作为内标,用甲醇提取番茄中的敌百虫,并直接进行 NMR 定量分析,方法的检出限为 55 mg/kg,重复性 $\leq 9.0\%$,平均回收率为 99%~112%, ^{31}P -qNMR 技术解决了因敌百虫不稳定而造成气相色谱和液相色谱都不易测定的难题。Molaabasi 等^[45]以苯线磷和乙酰甲胺磷作为内标物质,使用 NMR 研究了环糊精对有机磷农药苯丙胺进行手性对映体的识别,两种手性对映体的化学位移分别为 5.54×10^{-6} , 5.66×10^{-6} ,检出限分别为 0.006 8, 0.006 0 mg/mL,并以香蕉汁为对象进行加标回收试验,其回收率为 94%~107%。Ansari 等^[19]建立了 ^{31}P -qNMR 同时检测水介质中 4 种有机磷农药(丙硫磷、溴苯磷、异柳磷、甲胺磷)的新方法,该方法的延迟时间为 24 s,扫描次数为 128~256 次,内标为甲胺磷,其定量限为 0.10~2.60 mg/L,加标回收率为 82%~94%,相对标准偏差 $<4\%$,该方法简单、无基质干扰、选择性强、快速,可应用于其他样品基体。周霞云^[16]利用磷酸三苯酯作为内标,使用 qNMR 定量测定毒死蜱和甲基对硫磷,两种化合物的加标回收率分别为 87.25%~92.70%,79.8%~93.1%,相对标准偏差分别为 0.90%~2.46%,0.85%~1.56%。Belmonte-Sánchez 等^[46]利用 ^{31}P -qNMR 定量测定了蔬菜中洗涤剂羟基亚乙基二磷酸(HEDP),使用 Na_2HPO_4 作为内标校正,HEDP 的线性范围为 0.01%~0.05%,延迟时间为 0.01 s,扫描时间为 1 min 时方法的检出限为 0.017%,扫描时间为 60 min 时的检出限为 0.003%,方法的加标回收率为 95.0%~105.4%,10 种蔬菜洗涤液中 HEDP 含量为 0.003%~0.050%。

3.5 化合物纯度及不确定度评价

NMR 被广泛应用于食品分析用标准品纯度及不确定度评价、农药纯度鉴定等领域。Greenhalgh 等^[47]使用磷酸三苯酯作为内标,使用乙酰丙酮铬作为顺磁试剂测定了 11 种工业级有机磷杀毒剂的纯度和主要杂质含量。Al-Deen 等^[4]以磷酸钠作为内标物质测定草甘膦和丙溴磷纯度,使用 ^1H -NMR 测得草甘膦纯度为 97.07%, $\sigma = 0.68$,使用 ^{31}P -qNMR 测其纯度为 96.53%, $\sigma = 0.90$;使用 ^1H -NMR 测得丙溴磷纯度为 94.63%, $\sigma = 0.14$,使用 ^{31}P -NMR 测其纯度为 94.62%, $\sigma = 0.59$ 。Al-Deen 等^[48]使用 ^{31}P -qNMR 法测定了草甘膦纯度的不确定度,单次测定纯度的扩展不确定度为 0.82%(95%置信区间, $k=2$)。Shamsipur 等^[21]使用磷酸作为内标,用 ^{31}P -qNMR 检测敌百虫、毒死蜱、杀螟松、二噻农、草甘膦 5 种有机磷农药纯度,其线性范围为 25~300 mg/L,前 4 种农药检出限为 3 mg/L,草甘膦检出限为 16.3 mg/L,分析结果与气相色谱仪检测结果无显著性差异,使用该方法不需要任何前处理,方便简洁,可快速测定农药中的有效纯度。卢爱民等^[49]以重水为溶剂、磷酸二氢钾为内标,以化学位移 δ 0.017, δ 41.86 作为定量峰,根据公式计算出草铵膦原药的有效成分含量,测得同一批次原药中有效成分含量平均值为 98.73%,相对标准偏差为 0.18%,此方法简单、快捷,不需要待测组分标准品,可用作一些特殊样品的定性定量分析。Weber 等^[50]使用同时含有 H 和 P 原子的磷酸三苯酯,以有证标准物质(CRM)磷酸三苯酯为内标,用 ^{31}P -qNMR 法测得磷酸三(2-氯乙基)磷酸酯纯度为 $(98.43 \pm 0.66)\%$,以膦乙酸作为内标测其纯度为 $(98.45 \pm 0.44)\%$ 。分别使用磷酸三苯酯和膦乙酸作为内标,以 ^1H -qNMR 作为定量,其纯度分别为 $(98.41 \pm 0.53)\%$, $(98.88 \pm 0.52)\%$ 。使用 ^{31}P -NMR 的图谱简单、定量分析快速,是一种很有前途的纯度测定方法。

4 结论及展望

定量核磁共振磷谱技术不需要待测物的标准品即可完成对未知物的定量分析,原理易懂、前处理简单、准确度高,被广泛应用于食品活性磷脂检测、磷酸盐检测、有机磷农药检测、生物活性物质检测及标准品纯度鉴定等方面,是一种强大的分析工具。但是定量核磁共振磷谱也存在一定的缺陷,比如灵敏度不高,对微量成分进行准确定量仍存在难度,需进一步开发适合 ^{31}P 检测的高灵敏度的探头;并且核磁共振设备的普及率远不及其他色谱仪器,从而限制了这项技术的广泛应用。但是随着科技的发展量核磁共振技术必将会迎来广阔的应用前景。

参考文献

[1] JUNGnickel J L, FORBES J W. Quantitative

- measurement of hydrogen types by intergrated nuclear magnetic resonance intensities[J]. *Analytical Chemistry*, 1963, 35(8): 938-942.
- [2] SÖYLER A. Developing food analysis methods using benchtop NMR spectrometer [D]. Ankara: Middle East Technical University, 2019: 1-8.
 - [3] MANIARA G, RAJAMOORTHY K, RAJAN S, et al. Method performance and validation for quantitative analysis by ^1H and ^{31}P NMR spectroscopy: Applications to analytical standards and agricultural chemicals[J]. *Analytical Chemistry*, 1998, 70(23): 4 921-4 928.
 - [4] AL-DEEN T S, HIBBERT D B, HOOK J M, et al. Quantitative nuclear magnetic resonance spectrometry II: Purity of phosphorus-based agrochemicals glyphosate (*N*-(phosphonomethyl)-glycine) and profenofos (*O*-(4-bromo-2-chlorophenyl) *O*-ethyl *S*-propyl phosphorothioate) measured by ^1H and ^{31}P QNMR spectrometry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2002, 474(1/2): 125-135.
 - [5] KUMAR D, SINGH B, BAUDDH K, et al. Bio-oil and biodiesel as biofuels derived from microalgal oil and their characterization by using instrumental techniques[C]//*Algae and environmental sustainability*. Springer: New Delhi, 2015: 87-95.
 - [6] KÖLLO M, KUDRJAŠOVA M, KULP M, et al. Methylphosphonic acid as a ^{31}P -NMR standard for the quantitative determination of phosphorus in carbonated beverages [J]. *Analytical Methods*, 2013, 5(16): 4 005-4 009.
 - [7] SPYROS A, DAIS P. Application of ^{31}P NMR spectroscopy in food analysis 1: Quantitative determination of the mono- and diglyceride composition of olive oils[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2000, 48(3): 802-805.
 - [8] HANSEN S H, DAMHUS T, BRASK J. Rapid and simple identification and quantification of components in detergent formulations by nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Journal of Surfactants and Detergents*, 2020, 23 (2): 415-422.
 - [9] SCHILLER J, ARNOLD K. Application of high resolution ^{31}P NMR spectroscopy to the characterization of the phospholipid composition of tissues and body fluids: A methodological review[J]. *Medical Science Monitor*, 2002, 8(11): MT205-MT222.
 - [10] DAIS P, SPYROS A. ^{31}P NMR spectroscopy in the quality control and authentication of extra-virgin olive oil: A review of recent progress[J]. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 2007, 45(5): 367-377.
 - [11] SPYROS A, DAIS P. ^{31}P NMR spectroscopy in food analysis[J]. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2009, 54(3/4): 195-207.
 - [12] CADE-MENUN B, LIU C W. Solution phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy of soils from 2005 to 2013: A review of sample preparation and experimental parameters[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2014, 78(1): 19-37.
 - [13] 刘纯友, 马美湖, 王庆玲, 等. 核磁共振技术在食品脂质研究中的应用新进展[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(12): 342-346.
 - [14] HUANG Ting, LI Hong-mei, ZHANG Wei, et al. Advanced approaches and applications of qNMR [J]. *Metrologia*, 2020, 57(1): 014004.
 - [15] 马晓丽, 邹萍萍, 雷伟, 等. 定量核磁技术参数的优化及其在中草药定量分析领域的应用[J]. *药学报*, 2014, 49(9): 1 248-1 257.
 - [16] 周霞云. 分散液相微萃取一定量核磁共振 ^{31}P 谱测定农田土壤中有机磷农药残留[D]. 南京: 南京农业大学, 2017: 7-9.
 - [17] 毛希安. 现代核磁共振实用技术及应用[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 36-38.
 - [18] 曹栋, 裴爱泳, 王兴国. 磷脂结构、性质、功能及研究现状(1)[J]. *粮食与油脂*, 2004(5): 3-6.
 - [19] ANSARI S, TALEBPOUR Z, MOLAABASI F, et al. Quantitative ^{31}P NMR for simultaneous trace analysis of organophosphorus pesticides in aqueous media using the stir bar sorptive extraction method[J]. *Journal of Applied Spectroscopy*, 2016, 83(4): 717-721.
 - [20] CRESTINI C, LANGE H, BIANCHETTI G. Detailed chemical composition of condensed tannins via quantitative ^{31}P NMR and HSQC analyses: *Acacia catechu*, *Schinopsis balansae*, and *Acacia mearnsii*[J]. *Journal of Natural Products*, 2016, 79(9): 2 287-2 295.
 - [21] SHAMSIPUR M, SARKOUHI M, HASSAN J. Selective monitoring of organophosphorus pesticides by ^{31}P -NMR spectroscopy: Application to purity assay of technical products and concentration determination of formulated samples[J]. *Applied Magnetic Resonance*, 2012, 42(2): 227-237.
 - [22] SZLYK E, HRYNCZYSHYN P. Phosphate additives determination in meat products by ^{31}P -phosphorus nuclear magnetic resonance using new internal reference standard; Hexamethylphosphoramide [J]. *Talanta*, 2011, 84 (1): 199-203.
 - [23] HRYNCZYSHYN P, JASTRZEBSKA A, SZLYK E. Determination of phosphate compounds in meat products by ^{31}P -Phosphorus Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy with methylenediphosphonic acid after alkaline extraction[J]. *Analytica chimica acta*, 2010, 673(1): 73-78.
 - [24] STANISLAWSKI D A, VAN WAZER J R. Determination of phosphorus compounds by phosphorus-31 Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 1980, 52(1): 96-101.
 - [25] 吉鑫, 樊双喜, 杨彤晖, 等. 核磁共振法测定食品中水苏糖的含量[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(19): 251-257.
 - [26] YAO Lin-xing, JUNG S. ^{31}P NMR phospholipid profiling of

- soybean emulsion recovered from aqueous extraction[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(8): 4 866-4 872.
- [27] BRINKMANN-TRETTENES U, STEIN P C, KLÖSGEN B, et al. A method for simultaneous quantification of phospholipid species by routine ^{31}P NMR[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2012, 70: 708-712.
- [28] GARCIA C, LUTZ N W, CONFORT-GOUNY S, et al. Phospholipid fingerprints of milk from different mammals determined by ^{31}P NMR: Towards specific interest in human health[J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(3): 1 777-1 783.
- [29] LUCAS-TORRES C, PÉREZ Á, CABAÑAS B, et al. Study by ^{31}P NMR spectroscopy of the triacylglycerol degradation processes in olive oil with different heat-transfer mechanisms[J]. *Food Chemistry*, 2014, 165: 21-28.
- [30] DAIS P, MISIAK M, HATZAKIS E. Analysis of marine dietary supplements using NMR spectroscopy [J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(12): 5 226-5 238.
- [31] 崔常乐, 滕英来, 汪勇, 等. 核磁共振磷谱内标法测定磷脂酰胆碱的含量[J]. *中国粮油学报*, 2016, 31(5): 158-162.
- [32] MALMOS K G, GOUILLEUX B, SØNDERSKOV P, et al. Quantification of ammonium phosphatide emulsifiers in chocolate using ^{31}P NMR spectroscopy[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(39): 10 309-10 316.
- [33] MAYAR M, DE ROO N, HOOS P, et al. ^{31}P NMR quantification of phospholipids and lysophospholipids in food emulsions[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(17): 5 009-5 017.
- [34] VAN RIJN J H J, LANKHORST P P, GROEN P B M, et al. Robust and reliable quantification of phospholipids in edible oils using ^{31}P NMR spectroscopy[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2020, 97(3): 253-262.
- [35] SOJKA S A, WOLFE R A. Analysis of commercial sodium tripolyphosphates by phosphorus-31 Fourier transform nuclear magnetic resonance spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 1978, 50(4): 585-587.
- [36] BELLOQUE J, DE LA FUENTE M A, RAMOS M. Qualitative and quantitative analysis of phosphorylated compounds in milk by means of ^{31}P -NMR[J]. *Journal of Dairy Research*, 2000, 67(4): 529-539.
- [37] 卢爱民, 李小龙, 陈敏, 等. 核磁共振磷谱快速测定可乐饮料中磷酸根[J]. *分析试验室*, 2018, 37(5): 114-116.
- [38] CHRISTOPHORIDOU S, DAIS P. Novel approach to the detection and quantification of phenolic compounds in olive oil based on ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54(3): 656-664.
- [39] MELONE F, SALADINO R, LANGE H, et al. Tannin structural elucidation and quantitative ^{31}P NMR analysis 2: Hydrolyzable tannins and proanthocyanidins [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(39): 9 316-9 324.
- [40] KOSKELA H. Use of NMR techniques for toxic organophosphorus compound profiling[J]. *Journal of Chromatography B*, 2010, 878(17/18): 1 365-1 381.
- [41] GURLEY T W, RITCHEY W M. Analysis of organophosphorus compounds at the parts-per-million level by phosphorus-31 Fourier transform nuclear magnetic resonance spectroscopy[J]. *Analytical Chemistry*, 1976, 48(8): 1 137-1 140.
- [42] MORTIMER R D, DAWSON B A. A study to determine the feasibility of using phosphorus-31 NMR for the analysis of organophosphorus insecticide residues in cole crops[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1991, 39(5): 911-916.
- [43] KROLSKI M E, BOSNAK L L, MURPHY J J. Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy to the identification and quantitation of pesticide residues in soil[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1992, 40(3): 458-461.
- [44] TALEBPOUR Z, GHASSEMPOUR A, ZENDEHZABAN M, et al. Monitoring of the insecticide trichlorfon by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance (^{31}P NMR) spectroscopy[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2006, 576(2): 290-296.
- [45] MOLAABASI F, TALEBPOUR Z. Enantiomeric discrimination and quantification of the chiral organophosphorus pesticide fenamiphos in aqueous samples by a novel and selective ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopic method using cyclodextrins as chiral selector[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(3): 803-808.
- [46] BELMONTE-SÁNCHEZ J R, AGUILERA-SÁEZ L M, ROMERO-GONZÁLEZ R, et al. Determination of etidronic acid in vegetable-washing water by a simple and validated quantitative ^{31}P nuclear magnetic resonance method[J]. *Microchemical Journal*, 2019, 150: 104083.
- [47] GREENHALGH R, BLACKWELL B A, PRESTON C M, et al. Phosphorus-31 nuclear magnetic resonance analysis of technical organophosphorus insecticides for toxic contaminants[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1983, 31(4): 710-713.
- [48] AL-DEEN T S, HIBBERT D B, HOOK J M, et al. An uncertainty budget for the determination of the purity of glyphosate by quantitative nuclear magnetic resonance (QNMR) spectroscopy[J]. *Accreditation and Quality Assurance*, 2004, 9(1/2): 55-63.
- [49] 卢爱民, 陈敏, 徐江艳, 等. 核磁共振磷谱(^{31}P -NMR)测定草铵膦原药中的有效成分[J]. *农药*, 2018, 57(1): 26-28.
- [50] WEBER M, HELLRIEGEL C, RUECK A, et al. Method development in quantitative NMR towards metrologically traceable organic certified reference materials used as ^{31}P qNMR standards [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015, 407(11): 3 115-3 123.