

L'indice de saponification des graisses et des huiles, déterminée à partir de données ^1H -RMN

Nadejda Turculeț
Département d'Oenologie et Chimie
Faculté de Technologie Alimentaire.
Université Technique de Moldavie
Chișinău, Moldavie
turculetnadejda@yahoo.com

Nicoleta-Aurelia Chira*
Auteur de correspondance
Dépt. de Chimie Organique « C. Neîțescu »
Faculté de Génie Chimique et Biotechnologies
Univ. Nationale de Science et Technologie
POLITEHNICA Bucarest
Bucarest, Roumanie
nicoleta.chira@upb.ro

Mihaela Ivanova
Département Lait et Produits Laitiers
Faculté de Technologie
Université de Technologies Alimentaires
Plovdiv, Bulgarie
mihaela_18bg@abv.bg

Mihaela Tociu
Dépt. de Chimie Organique « C. Neîțescu »
Faculté de Génie Chimique et Biotechnologies
Univ. Nationale de Science et Technologie
POLITEHNICA Bucarest
Bucarest, Roumanie
mihaelatociu1989@gmail.com

Anamaria Hanganu
Centre de Chimie Organique « C. Neîțescu »
Académie Roumaine
Faculté de Chimie
Université de Technologie
Bucarest, Roumanie
anamaria_hanganu@yahoo.com

Cătălin Laurențiu Duduianu
Dépt. de Chimie Organique « C. Neîțescu »
Faculté de Génie Chimique et Biotechnologies
Univ. Nationale de Science et Technologie
POLITEHNICA Bucarest
Bucarest, Roumanie
laurentiu.duduianu@stud.chimie.upb.ro

Galin Ivanov
Département Lait et Produits Laitiers
Faculté de Technologie
Université de Technologies Alimentaires
Plovdiv, Bulgarie
ivanovgalin.uft@gmail.com

Liliana Popescu
Département d'Oenologie et Chimie
Faculté de Technologie Alimentaire.
Université Technique de Moldavie
Chișinău, Moldavie
liliana.popescu@tpa.utm.md

Aliona Ghendov-Moșanu
Département d'Oenologie et Chimie
Faculté de Technologie Alimentaire.
Université Technique de Moldavie
Chișinău, Moldavie
aliona.mosanu@tpa.utm.md

Rodica Sturza
Département d'Oenologie et Chimie
Faculté de Technologie Alimentaire.
Université Technique de Moldavie
Chișinău, Moldavie
rodica.sturza@chim.utm.md

Cristina Stavarache
Groupe Matériaux Polimériques Avancés
Faculté de Génie Chimique et Biotechnologies
Univ. Nationale de Science et Technologie
POLITEHNICA Bucarest
Centre de Chimie Organique « C. Neîțescu »
Académie Roumaine
Bucarest, Roumanie
crisstavarache@gmail.com

Călin Deleanu
Centre de Chimie Organique « C. Neîțescu »/
Institut de Chimie Macromoléc. « P. Poni »,
Académie Roumaine
Bucarest/Iași, Roumanie
calin.deleanu@yahoo.com

Résumé — L'indice de saponification des graisses et des huiles est l'une des analyses de qualité les plus courantes, reflétant la masse moléculaire moyenne des triacylglycérols constituants. Les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton (^1H -RMN) des graisses et des huiles présentent des résonances spécifiques pour les protons provenant des modèles structuraux des triacylglycérols (c'est-à-dire le squelette du glycérol), des groupes méthylène ($-\text{CH}_2-$), des doubles liaisons ($-\text{CH}=\text{CH}-$) et le groupe méthyle terminal ($-\text{CH}_3$) des trois chaînes acyles gras. Par conséquent, des équations chimométriques basées sur les valeurs intégrales des résonances ^1H -RMN permettent de calculer la masse moléculaire moyenne des espèces de triacylglycérol, conduisant à la détermination du nombre de moles d'espèces de triacylglycérol pour 1 gramme de graisse et ensuite au calcul de l'indice de saponification (IS), exprimé en mg KOH/g de matière grasse. L'algorithme proposé a été vérifié sur une série de mélanges binaires de tributyrine (TB) et d'huiles végétales (huile de soja et de colza) dans différentes proportions, afin d'obtenir une large plage de IS.

Mot-clés — indice de saponification, acides gras, spectroscopie, ^1H -RMN, tributyrine, masse moléculaire moyenne

I. INTRODUCTION

L'un des indices de qualité de l'huile les plus courants est l'indice de saponification (IS) ; il est défini comme la quantité de KOH (exprimée en mg KOH/g d'échantillon) nécessaire pour saponifier une quantité définie d'échantillon

d'huile. Il est classiquement déterminé par saponification d'une quantité précisément connue d'huile/graisse avec une solution en excès de KOH, suivie du titration de la base en excès avec une solution acide en présence de phénolphthaléine comme indicateur. La quantité de base nécessaire à la saponification des chaînes acyles grasses est alors indirectement déterminée à partir de l'excès de base qui n'a pas réagi. Étant donné que la quantité (moles) de base ayant réagi est stœchiométriquement égale à la quantité (moles) de chaînes acyles grasses contenues dans 1 g d'huile/graisse, la valeur IS dépend alors de la longueur des chaînes acyles des triacylglycérols. Par conséquent, une faible valeur de saponification indique des acides gras à longue chaîne sur le squelette glycérol dans un échantillon ; au contraire, une valeur IS élevée indique des triacylglycérols avec des chaînes d'acyle gras plus courtes. Par conséquent, SV devient une approche simple pour évaluer la longueur de la chaîne des acides gras de graisses/huiles spécifiques.

Par exemple, la plupart des huiles/grasses courantes d'origine végétale ou animale (tournesol, soja, colza, saindoux de porc, suif de bœuf, graisse de poulet, etc.) ne contiennent presque que des acides gras à longue chaîne ($\text{C}18$ et $\text{C}16$), ayant valeurs SV similaires (allant de 168 à 196 mg KOH/g d'huile) [1]. Certaines huiles végétales,

comme les huiles de noix de coco et de palmiste, contiennent de grandes quantités d'acides laurique (C12:0) et myristique (C14:0) ; par conséquent, leurs valeurs de saponification sont significativement plus élevées (235 à 260 mg de KOH/g d'huile) [2-5]. La matière grasse du lait diffère considérablement des autres graisses et huiles en termes de profil d'acides gras (FAP), y compris des quantités importantes d'acides gras à chaîne courte (C4-C6) et à chaîne moyenne (C8-C12), ce qui se reflète ensuite par une valeur IS élevée. (213-227 mg de KOH/g de matières grasses) [6,7]. Par conséquent, IS pourrait être utile dans la détection de la falsification de produits laitiers contenant des graisses et des huiles moins chères, car l'ajout d'une huile/graisse riche en C18 à un produit laitier entraînera une diminution du SV.

Bien que simple et précise, la méthode de référence de détermination du SV nécessite une verrerie spécifique et des produits chimiques nocifs et prend du temps (selon le protocole, l'étape de saponification dure une heure, car il est essentiel que la saponification soit complète avant la titration). En plus, plusieurs facteurs peuvent entraîner des erreurs lors de l'étape de titration, notamment une mauvaise évaluation de la couleur de l'indicateur à proximité du point final, une mauvaise lecture des volumes ou une technique défectueuse. Une nouvelle méthode rapide et fiable serait donc préférable.

La spectroscopie ^1H -RMN est une technique rapide (l'enregistrement d'un spectre dure environ 2 minutes) et non destructive qui a été largement appliquée dans l'analyse des huiles alimentaires. Les spectres ^1H -RMN des graisses et des huiles affichent des signaux attribués à la fois aux groupes insaturés et au divers groupes méthylène des chaînes acyles gras. Ces signaux peuvent être utilisés pour calculer la longueur moyenne de la chaîne acyle grasse des échantillons de graisse. La technique ^1H -RMN permet une automatisation complète du processus, depuis l'enregistrement (grâce aux échantillonneurs automatiques) jusqu'au traitement des données. De petites quantités d'échantillons sont nécessaires et, si c'est le cas, peuvent être récupérées simplement par évaporation du solvant, une fois les spectres enregistrés. Très important, la technique ^1H -RMN est également fiable, et plusieurs articles rapportent le profil des acides gras des graisses calculé à partir des données spectrales en accord avec les données chromatographiques [8-12]. Skiera et ses collaborateurs ont brièvement rapporté une méthode rapide pour la détermination de l'IS à partir des données RMN basée sur l'intégrale des protons $-\text{CH}_2-$ adjacents aux groupes ester (δH 2,2–2,4 ppm) et sur l'intégrale du 1,2,4,5- tétrachloro-3-nitrobenzène (TCNB) à δH 7,7 ppm, utilisé comme étalon interne pour les expériences RMN quantitatives. [13].

Le présent travail présente un algorithme général pour le calcul de l'IS des graisses et des huiles à partir des données ^1H -RMN. L'approche consiste en une série de mélanges binaires de tributyrine (TB) et d'huiles végétales dans différentes proportions pour obtenir une large gamme de valeurs IS. En plus, pour obtenir une composition encore plus variée, également en ce qui concerne l'insaturation, des huiles de soja et de colza - HS et HC - ont été utilisées pour préparer les échantillons modèles. La longueur moyenne des chaînes acyles grasses peut être calculée au moyen d'équations chimométriques à partir de données ^1H -RMN, conduisant au calcul de la masse moléculaire moyenne de

chaque échantillon et éventuellement à l'IS. La nouvelle méthode a été évaluée par rapport à la méthode conventionnelle (titrimétrique) et a ensuite été appliquée à une série de graisses et d'huiles comestibles, notamment les graisses extraites du beurre et du fromage. Comparée à d'autres méthodes rapportées pour déterminer l'IS à partir de données spectroscopiques, la méthode proposée n'est pas basée sur des équations de régression et, par conséquent, ne nécessite pas d'étalonnage à partir d'une base de données. L'indice de saponification peut être calculée directement et indépendamment à partir du spectre ^1H -RMN d'un échantillon d'huile/graisse donné.

II. METHODOLOGIE

A. Réactifs

Le CH_2Cl_2 (pureté HPLC) et le MgSO_4 anhydre, ainsi que la tributyrine (TB, 97 %) et le CDCl_3 (pureté isotopique 99,8% D) proviennent de Sigma-Aldrich.

B. Mélanges binaires huile-TB

Une série de mélanges binaires de tributyrine (TB) et d'huiles végétales (HS et HC) dans différents rapports a été préparée pour obtenir une large gamme de valeurs IS. En raison de leurs différents profils d'acides gras, HS et HC ont été choisis comme composants de mélanges binaires afin d'obtenir une composition encore plus variée également en ce qui concerne l'insaturation, conduisant ainsi à des résultats plus fiables.

C. L'indice de saponification

L'indice de saponification a été déterminé selon la procédure standard ISO 3657:2013 [14].

D. L'enregistrement des spectre ^1H -RMN

Les expériences ^1H -RMN ont été enregistrés dans un champ de 6,9 T à l'aide d'un spectromètre Bruker Fourier fonctionnant à une fréquence ^1H Larmor de 300,18 MHz. Les expériences ^1H -RMN ont utilisé la séquence d'impulsions standard zg30, avec les paramètres suivants : impulsion de 30° , temps d'acquisition de 5,37 s, fenêtre spectrale de 6,1 kHz, 16 balayages, 65 000 points, retard de 1 s ; tous les spectres ont été enregistrés à 25°C . Les échantillons (200 mg) ont été dissous dans 0,6 ml de CDCl_3 et transférés dans des tubes RMN de 0,5 mm du type Norell NOR508UP7-5EA (Sigma – Aldrich). Le logiciel MestReNova 6.0.2-5475 (Mestrelab Research) a été utilisé pour traiter les spectres.

III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

A. Caractérisation spectrale ^1H -RMN des graisses et des huiles

Un spectre ^1H -RMN typique est illustré pour l'huile de colza (HC), *Figure 1*. L'attribution des résonances correspondantes est expliquée dans le *Tableau 1*. La *Figure 1* montre également une comparaison des spectres de tributyrine (TB) et deux mélanges binaires huile de colza – tributyrine : HC (30 %) + TB (70 %) et HC (60 %) + TB (40 %).

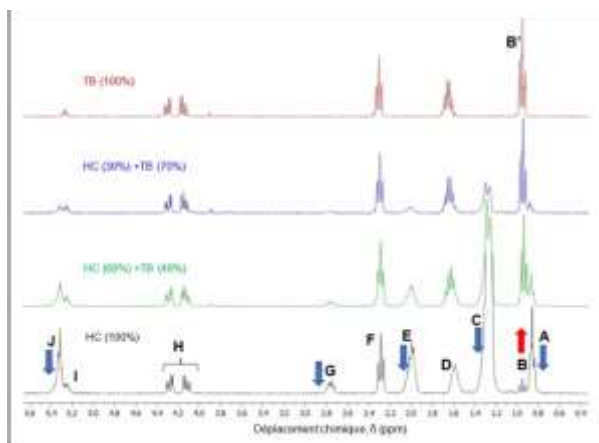


Figure 1. Caractérisation spectrale ^1H -RMN comparative de la tributyrine (TB —), de l'huile de colza (HC —) et des mélanges binaires huile de colza-tributyrine : HC (30 %) + TB (70 %) — et HC (60 %) + TB (40%) —. Les lettres A à J ont été attribuées aux résonances selon les lettres du Tableau 1.

Tableau 1. Déplacements chimiques et attribution des signaux des spectres ^1H -RMN des matières grasses laitières. Adapté avec la permission de Réf. [11,15]. Copyright 2004, Eur. J. Lipid Sci. Technol.; Copyright 2021, J. Dairy Sci.

Signal* δ (ppm)	Proton	Espec
A	0.85	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
B	0.96	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ -OCCC4:0
C	1.24	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
D	1.64	$-(\text{CH}_2)_n-$
E	2.02	$-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}-$
F	2.26	$-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$
G	2.76	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ C18:2 et C18:3
H	4.19	$-\text{CH}_2\text{OCOR}$ position sn-1/3 du glycerol
I	5.15	$-\text{CHOCOR}$ position sn-2 du glycerol
J	5.29	$-\text{CH}=\text{CH}-$

* Les lettres correspondent aux résonances spécifiques selon la Figure 1

Selon la Figure 1, il est évident qu'à mesure que la quantité de TB ajoutée à l'huile végétale augmente, toutes les résonances liées aux groupes spécifiques insaturés (J) et à celles situées à proximité des groupes allyliques et bis-allyliques (E et G) diminuent. L'amplitude du signal C diminue également proportionnellement à l'ajout de TB, car cette résonance dépend de la longueur des chaînes acyles grasses, absente pour la TB.

B. Algorithme pour le calcul IS à partir de données ^1H -RMN

Le modèle général des triacylglycérols (TAG), tel que reflété par la Figure 2, consiste en un squelette d'ester de glycérol et trois chaînes d'acyle gras, chacune avec un groupe méthyle terminal et diverses quantités de doubles liaisons méthylène et $\text{CH}=\text{CH}$.

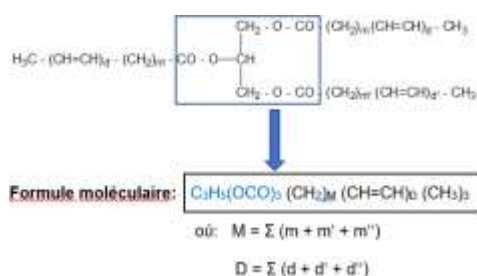
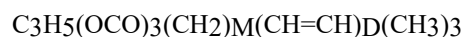


Figure 2. Représentation générale d'une structure de triacylglycérol

Comme le montre la Figure 2, les TAG sont constitués d'un squelette triple ester de glycérol, commun, les différences se reflétant dans les résidus des chaînes acyles gras. À l'exception des groupes méthyles terminaux ($-\text{CH}_3$), les chaînes hydrocarbonées sont constituées uniquement de groupes méthylène $-\text{CH}_2-$ et de doubles liaisons $-\text{CH}=\text{CH}-$, dont le nombre diffère selon la longueur de la chaîne et le degré d'insaturation, caractéristique de chaque acide gras individuel. Par exemple, l'acide oléique contient quatorze groupes méthylène et une simple double liaison, tandis que l'acide linoléique contient douze groupes méthylène et deux doubles liaisons. Par conséquent, la formule moléculaire moyenne d'un triglycéride peut être rendue ainsi :



L'intégrale d'une résonance étant l'aire sous la courbe de résonance, dans les équations suivantes les notations suggestives ont été adoptées pour les valeurs intégrales des résonances correspondantes : $A_{(A+B)}$, A_C , A_D , A_E , A_F , A_G , A_H et $A_{(I+J)}$, respectivement.

Le nombre moyen de groupes méthylène (M) et le nombre moyen de doubles liaisons (D) dans la chaîne alkyle peuvent alors être calculés ainsi :

$$M = \frac{3}{2} \cdot \frac{A_C + A_D + A_E + A_F + A_G}{A_{(A+B)}} \quad (1)$$

$$D = \frac{3}{2} \cdot \frac{A_{(I+J)} - A_H/4}{A_{(A+B)}} \quad (2)$$

Le nombre moyen d'atomes de C dans la chaîne hydrocarbonée (n_C) et le nombre moyen d'atomes H dans la chaîne hydrocarbonée (n_H) peuvent être calculés ainsi :

$$n_C = M + 2D + 1 \quad (3)$$

$$n_H = 2M + 2D + 3 \quad (4)$$

conduisant aux formules moyennes de la chaîne hydrocarbonée ($\text{C}_{M+2D+1}\text{H}_{2M+2D+3}$) et du triacylglycérol, soit $\text{C}_{6+3(M+2D+1)}\text{H}_{5+3(2M+2D+3)}\text{O}_6$. Par conséquent, la masse moléculaire moyenne des TAG devient :

$$M_{\text{TAG}} = 12 \times [6 + 3(M + 2D + 1)] + 1 \times [5 + 3(2M + 2D + 3)] + 16 \times 6 \quad (5)$$

IS représente la quantité de KOH (en mg) nécessaire à la saponification de 1 g de graisse [16]. Par conséquent, IS peut être calculé comme :

$$\text{SV (mg KOH/g fat)} = 3 \times v \times 56 \times 10^3 \quad (6)$$

où v représente le nombre de moles de TAG par gramme de graisse ($v = 1/M_{\text{TAG}}$), tandis que $(3 \times v)$ est le nombre de moles de groupes ester par gramme d'huile.

Les valeurs IS obtenues sont en accord avec les valeurs déterminées par la méthode conventionnelle. Quelques exemples sont présentés dans le Tableau 2.

L'exactitude de la nouvelle méthode a été évaluée en calculant pour chaque échantillon l'écart IS (RMN) par rapport à l'IS (ISO), considéré comme référence et exprimé en pourcentage par rapport au SV (ISO). Le pourcentage moyen d'écart entre IS (RMN) et IS (ISO) est 2 %, ce qui représente un algorithme RMN robuste.

L'ajout de graisses et d'huiles non laitières aux graisses laitières entraînera une diminution des IS. Ainsi, les IS peuvent être un indicateur de falsification de produits laitiers avec d'autres graisses et huiles d'origine non laitière.

Tableau 2. IS déterminé à partir des données ¹H-RMN et par la méthode standard (ISO 3657:2013) pour la série HS-TB (confiance 95 %)

Série HS-TB			
Echantillon	TB (%)	IS * (mg KOH/g graisse)	
		¹ H-NMR	ISO 3657:2013
HS-TB-0	0	196 ± 2 ^{aA}	190 ± 0 ^{aB}
HS-TB-10	10	230 ± 4 ^{bA}	225 ± 6 ^{bA}
HS-TB-20	20	266 ± 2 ^{cA}	274 ± 3 ^{cA}
HS-TB-30	30	302 ± 2 ^{dA}	294 ± 0 ^{dB}
HS-TB-40	40	345 ± 3 ^{eA}	336 ± 12 ^{eA}
HS-TB-50	50	387 ± 2 ^{fA}	374 ± 10 ^{fA}
HS-TB-60	60	412 ± 1 ^{gA}	403 ± 1 ^{gB}

Les moyennes avec des lettres différentes dans une colonne sont significativement différentes ($p < 0,05$). A, B Les moyennes avec des lettres différentes dans une ligne sont significativement différentes ($p < 0,05$). * Déterminé en triple (méthode RMN) et en double (méthode ISO) ; les valeurs sont rapportées sous forme de moyenne $\pm$ sd.

Par conséquent, d'autres études corrélant la quantité de graisses végétales ajoutées aux graisses laitières avec la variation de l'IS pourraient conduire à la détection rapide de produits laitiers frelatés.

IV. CONCLUSIONS

Toutes les caractéristiques structurales des triacylglycérols se reflètent sous forme de résonances spécifiques dans les spectres ¹H-RMN des graisses et des huiles. Les équations conduisant à la masse moléculaire moyenne des espèces de triacylglycérol peuvent être dérivées des valeurs intégrales des signaux ¹H-RMN, qui peuvent en outre être utilisées pour calculer le nombre de moles d'espèces de triacylglycérols par gramme de graisse, ce qui conduit ensuite au calcul de l'indice de saponification, exprimé en mg KOH/g de graisse. Par conséquent, les données ¹H-RMN peuvent être utilisées pour calculer rapidement les valeurs de saponification des huiles et des graisses en fonction des résonances associées aux longueurs de chaînes acyles gras. Les valeurs de obtenues à base de ¹H-RMN diffèrent des valeurs déterminées de manière conventionnelle (titrimétrique) par un pourcentage d'écart moyen de 2,3 %, ce qui est suffisant pour caractériser correctement différents types de graisses. Bien que la méthode RMN soit plus coûteuse que la méthode officielle, comme nous et d'autres groupes l'avons prouvé, on peut encore obtenir plus d'informations (par exemple, la composition en acides gras et l'indice d'iode) à partir de la même analyse RMN dans un temps très court. En conclusion, pour des analyses combinées en vue d'études d'authentification, l'indice de saponification déterminé par RMN constitue une alternative intéressante.

RECONNAISSANCE

Ce travail a été financé grâce au projet international de recherche « Méthode rapide base sur la spectroscopie de ¹H-RMN pour déceler les fromages adultérés par addition de graisses végétales (FRAUDmage) », code AUF-ECO_SRI_2021_FRAUDmage_2144-2638, financé par l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) et cofinancé par l'Université POLITEHNICA de Bucarest (Bucarest, Roumanie), l'Université Technique de Moldavie (Chişinău, République de Moldavie) et l'Université des Technologies

Alimentaires (Plovdiv, Bulgarie). L'article original a été publié dans le journal Foods, 2022, 11 (10), 1466; <https://doi.org/10.3390/foods11101466>. Les frais de publication ont été supportés par l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) grâce par le projet de recherche FRAUDmage.

REFERENCES

- [1] Li, Y.; Watkins, B.A. Unit D1.4: Oil Quality Indices. In Current Protocols in Food Analytical Chemistry; Wrolstad, R.E., Ed.; John Wiley & Sons, Inc.: New York, NY, USA, 2001; Protocol D1.4.3–D1.4.4.
- [2] Toscano, G.; Riva, G.; Foppa Pedretti, E.; Duca, D. Vegetable oil and fat viscosity forecast models based on iodine number and saponification number. Biomass Bioenergy 2012, 46, 511–516. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.07.009>.
- [3] Naksuk, A.; Sabatini, D.A.; Tongcumpou, C. Microemulsion-based palm kernel oil extraction using mixed surfactant solutions. Ind. Crops Prod. 2009, 30, 194–198. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.03.008>.
- [4] Kilic, B.; Ozer, C.O. Potential use of interesterified palm kernel oil to replace animal fat in frankfurters. Meat Sci. 2019, 148, 206–212.
- [5] Marina, A.M.; Che Man, Y.B.; Nazimah, S.A.H.; Amin, I. Chemical properties of virgin coconut oil. J. Am. Oil Chem. Soc. 2009, 86, 301–307. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1351-1>.
- [6] Sbihi, H.M.; Nehdi, I.A.; Tan, C.P.; Al-Resayes, S.I. Characteristics and fatty acid composition of milk fat from Saudi Aradi goat. Grassas y Aceites 2015, 66, e101. <https://doi.org/10.3989/gya.0233151>.
- [7] Salem, E.R.; Awad, R.A.; El Batawy, O.I. Detection of Milk Fat Adulteration with Coconut Oil Depending on Some Physical and Chemical Properties. Int. J. Dairy Sci. 2019, 14, 36–44. <https://doi.org/10.3923/ijds.2019.36.44>. Eason, B. Noble, and I. N. Sneddon, "On certain integrals of Lipschitz-Hankel type involving products of Bessel functions," Phil. Trans. Roy. Soc. London, vol. A247, pp. 529–551, April 1955.
- [8] Alexandri, E.; Ahmed, R.; Siddiqui, H.; Choudhary, M.I.; Tsiafoulis, C.G.; Gerothanassis, I.P. High Resolution NMR Spectroscopy as a Structural and Analytical Tool for Unsaturated Lipids in Solution. Molecules 2017, 22, 1663–1735.
- [9] Yeung, D.K.W.; Lam, S.L.; Griffith, J.F.; Chan, A.B.W.; Chen, Z.; Tsang, P.H.; Leung, P.C. Analysis of bone marrow fatty acid composition using high-resolution proton NMR spectroscopy. Chem. Phys. Lipids 2008, 151, 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2007.10.006>.
- [10] Siudem, P.; Zielinska, A.; Paradowska, K. Application of ¹H NMR in the study of fatty acids composition of vegetable oils. J. Pharm. Biomed. Anal. 2022, 212, 114658. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114658>.
- [11] Knothe, G.; Kenar, J.A. Determination of the fatty acid profile by ¹H NMR Spectroscopy. Eur. J. Lipid Sci. Technol. 2004, 106, 88–96. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200300880>.
- [12] Chira, N.-A.; Todasca, M.-C.; Nicolescu, A.; Rosu, A.; Nicolae, M.; Rosca, S.-I. Evaluation of the computational methods for determining vegetable oils composition using ¹H-NMR spectroscopy. Rev. Chim. 2011, 62, 42–46.
- [13] Skiera, C.; Steliopoulos, P.; Kuballa, T.; Diehl, B.; Holzgrabe, U. Determination of free fatty acids in pharmaceutical lipids by ¹H NMR and comparison with the classical acid value. J. Pharmaceut. Biomed. 2014, 93, 43–50; <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.04.010>.
- [14] ISO 3657:2013; Animal and Vegetable Fats and Oils—Determination of Saponification Value. ISO: Geneva, Switzerland, 2013.
- [15] Hanganu, A.; Chira, N.-A. When detection of dairy food fraud fails: An alternative approach through proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. J. Dairy Sci. 2021, 104, 8454–8466. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19883>.
- [16] ISO 1735:2004; Cheese and Processed Cheese Products—Determination of Fat Content—Gravimetric Method (Reference method). ISO: Geneva, Switzerland, 200