

非正常食用油鉴别新方法(二): 特征奇数碳脂肪酸的多维气相色谱-质谱检测

金 静, 王龙星, 陈吉平*, 田玉增, 邹黎黎, 张保琴, 王淑秋, 王幸福

(中国科学院大连化学物理研究所, 辽宁 大连 116023)

摘要:通过对脂肪酸的非靶标/靶标筛查,确立了非正常食用油(俗称地沟油)的内源性特征指示物:两种奇数碳脂肪酸,包括源自动物油的13-甲基十四烷酸和源自加热植物油的十一烷酸。并借助多维气相色谱-质谱技术,依据不同极性气相色谱柱的保留作用,不仅实现了不同碳数烷酸以及同碳数烷酸异构体之间的有效分离,达到了对13-甲基十四烷酸和十一烷酸准确定量的目的;而且实现了对目标化合物的在线净化、富集。凭借该项检测方法,参加了国家食品安全风险评估中心组织的第四、五批地沟油盲样考核。经过不断完善,该方法阴性样品的正确率提高到100%,阳性样品的正确率分别达到71%和75%。再结合辣椒碱指标,从内、外源指示物两方面全面、准确地对食用油样品进行判定,使得阳性样品的正确率分别提高至89%和100%。目前,该方法已经入选国家卫生部公布的四大地沟油鉴定仪器分析方法,正等待权威部门的协同性验证。

关键词:多维气相色谱-质谱法;13-甲基十四烷酸;十一烷酸;奇数碳脂肪酸;地沟油;食品安全

中图分类号:O658

文献标识码:A

文章编号:1000-8713(2012)11-1100-08

A novel method for the identification of illegal cooking oil (2): determination of special odd-chain fatty acids by multidimensional gas chromatography-mass spectrometry

JIN Jing, WANG Longxing, CHEN Jiping*, TIAN Yuzeng, ZOU Lili,
ZHANG Baoqin, WANG Shuqiu, WANG Xingfu

(Dalian Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Dalian 116023, China)

Abstract: Endogenesis referents from illegal cooking oil (ICO), namely, 13-methyl-tetradecanoic acid and undecanoic acid have been confirmed via non-target and target screening of fatty acids. The former is mainly originated from animal oil, and the later from heated vegetable oil. Based on the retention interactions between gas chromatographic columns with different polarities and alkyl acids, the alkyl acids with various carbon chain or their isomers with the same carbon chains can be separated effectively using multidimensional gas chromatography-mass spectrometry. And the accurate quantification of 13-methyl-tetradecanoic acid and undecanoic acid was obtained. The target compounds can be cleaned up online and enriched with the developed method. Subsequently, the fourth and fifth assessments organized by China National Center for Food Safety Risk Assessment were performed in our laboratory. After continuous improvement, the precision of the method was increased. In detail, 100% vegetable oils, 71% ICO (the 4th batch) and 75% ICO (the 5th batch) have been identified. In combination with the capsaicinoid contents, edible oils can be identified in a comprehensive way, and the precision for ICO samples was increased to 89% and 100% for the 4th batch and the 5th batch samples, respectively. Owing to the aforementioned advantages, the developed method has been chosen as one of the four instrumental methods for the identification of ICO by China Ministry of Public Health, waiting for the validation from authoritative departments.

* 通讯联系人:陈吉平,博士,研究员,主要从事分析化学与环境化学及其相关的基础与应用研究。Tel: (0411)84379562, E-mail: chenjp@dicp.ac.cn.

基金项目:国家自然科学基金项目(20977091).

收稿日期:2012-08-29

Key words: multidimensional gas chromatography-mass spectrometry (MDGC-MS); 13-methyl-tetradecanoic acid; undecanoic acid; odd-chain fatty acids; illegal cooking oil (ICO); food safety

非正常食用油(illegal cooking oil, ICO),即我们通常所说的地沟油。它是一个泛指概念,是对各类劣质油的统称,一般包括泔水油、煎炸废油、食品及相关企业产生的废弃油脂等。它主要包括三类:(1)餐厨垃圾提炼油;(2)各类肉及肉制品加工废弃物等非食品原料提炼油;(3)废弃油脂。这些地沟油经过脱色、水洗、除臭等过程后,与食用油无明显感官差异。不法商贩将其掺杂到食用油中,使得地沟油类产品源源不断地流入市场,从而获取巨额的利润。然而,在炼制地沟油的过程中,动植物油经污染后发生酸败、氧化和分解等一系列化学变化,产生对人体有严重毒性的物质。所以食用地沟油会带来许多潜在的健康风险。例如消化不良、腹泻,甚至引发各种癌症。因此,加大执法、监管力度,进一步规范食用油市场势在必行。有效的监管必然要求特异性、准确率高的地沟油鉴定方法。因此,开发一种用于甄别非正常食用油的方法,是我国现阶段迫切需要解决的问题。

现行的地沟油鉴别方法涉及了多种理化指标,如比重、折光率、皂化值、酸值、脂肪酸相对不饱和度、胆固醇^[1-4]、电导率^[5-7]、特定基因、多环芳烃。除此之外,有报道称挥发性组分^[8],如醛^[9]、酮、酸、酯、碳氢化合物、二烯和酰基参数^[10]、脂肪酸^[11,12]等亦可以作为鉴定地沟油的指标。而且,其中一些指标分别从内、外源成分差异出发,对地沟油样品进行了综合性鉴定,阳性样品的正确率较高^[13,14]。然而,这些指标存在如下问题:(1)有些地沟油的常规理化指标与正常食用油无明显差别;(2)有些指标在正常油脂的存放过程中也会自然氧化产生,干扰鉴定结果;(3)有些挥发性组分以及氧化、聚合产物等在地沟油加工过程中容易被去除,导致检测结果无差异性;(4)内、外源性指示物未确定明确、有效的指标,鉴定过程和鉴定指标复杂。简言之,现有的这些鉴定指标存在较多的缺陷,其中特异性差、灵敏度低是主要的问题,往往导致在检测过程中出现错判、漏判的现象。因此,确立一种准确、可靠、特异性强的特征指示物,从而建立用于鉴别地沟油的特异性新方法,对于我国进一步完善新技术标准、开展有效的抽样检测、健全监管政策具有十分重要的意义。

在非正常食用油检测方法(一)中^[15],我们已提出采用外源性特征指示物——辣椒碱作为地沟油鉴定的有效指标。该方法在识别阳性样品时出现了部

分漏检现象,因此仅仅依靠外源性特征指示物,无法全面、准确地甄别地沟油。本项研究立足地沟油与正常食用植物油中脂肪酸的组成差异,通过脂肪酸的非靶标/靶标筛查,探索正常食用植物油与动物油、加热植物油在常规/微量脂肪酸组成的差异性,进而筛选出具有地沟油信息的典型内源性特征指示物——特征奇数碳脂肪酸,并借助多维气相色谱-质谱(MDGC-MS)建立了地沟油检测新方法。同时,通过系统考察特殊奇数碳脂肪酸在正常食用植物油与非正常食用植物油之间的含量分布差异,确立了地沟油判定指标。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

MDGC-GCMS-QP2010 多维气相色谱-质谱仪(日本 Shimadzu 公司);7890A 气相色谱(美国 Agilent Technologies 公司);Vortex Genie2 涡旋混合器(德国 IKA 公司);PCV-2400 离心机(北京首选科技有限公司)。

十一烷酸甲酯(纯度 $\geq 99.0\%$)、13-甲基十四烷酸甲酯(纯度 $\geq 98\%$)和十五烷酸甲酯(纯度 $\geq 99.0\%$)均购自 Sigma-Aldrich 公司。甲醇和正己烷均为色谱纯(Fisher 公司);氢氧化钾和氯化钠为分析纯;壬烷(农残级);大豆油、花生油、玉米油、葵花油、菜籽油、调和油、芝麻油、橄榄油等均为购自地方大型超市的食用油;地沟油或掺杂地沟油的食用油由国家食品安全风险评估中心提供。

UF-1MS 毛细管气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m,中谱科技锐分系列);UF-mFFAP 毛细管气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m,中谱科技锐分系列)。

1.2 实验步骤

1.2.1 样品制备

准确移取 80 μ L 待测油样,加入 500 μ L 正己烷和 500 μ L 2 mol/L 氢氧化钠的甲醇溶液,充分涡旋(约 3 min)。离心,待溶液分层后,取上层溶液加入 500 μ L 饱和食盐水,涡旋约 1 min 后离心。将上层正己烷溶液定容至 500 μ L,待多维气相色谱-质谱测定用。

1.2.2 标准溶液的配制

准确称取十一烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯、十五烷酸甲酯标准品各 10 mg,用壬烷分别溶解

并定容,配制标准储备液,质量浓度均为 10 g/L,置于-20 °C 冰箱中保存。

准确移取上述标准储备液各 10 μ L,用壬烷定容至 1 mL,配制质量浓度均为 100 mg/L 的混合标准溶液,并逐级稀释至 50、25、5、1.0、0.500、0.100、0.050 和 0.025 mg/L,置于-20 °C 冰箱中保存。

1.2.3 相对响应因子的测定

将混合标准溶液注入多维气相色谱-质谱系统,测定十一烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯和十五烷酸甲酯的峰面积。再结合混合标准溶液中目标分析物的已知含量,分别计算十一烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯和十五烷酸甲酯的相对响应因子,求其平均值。

1.2.4 试样溶液的测定

将试样溶液分别注入气相色谱、多维气相色谱-质谱系统中,根据气相色谱面积归一化法测定十五烷酸甲酯的相对含量;根据 MDGC-MS 谱图,分别计算十一烷酸甲酯(m/z 200)、13-甲基十四烷酸甲酯(m/z 256)和十五烷酸甲酯(m/z 256)的峰面积比;再结合十五烷酸甲酯的相对含量,分别计算十一烷酸甲酯和 13-甲基十四烷酸甲酯的含量,平行测定两次。所得结果直接反映待测试样中十一烷酸(C11:0)和 13-甲基十四烷酸(iso-C15-1)的含量。

1.3 仪器条件

1.3.1 气相色谱

色谱柱为 UF-mFFAP 毛细管气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),进样口温度 260 °C,氢火焰离子化检测器(FID),分流进样(分流比 20:1),载气流速 0.6 mL/min,溶剂延迟时间:3.5 min。炉温升温程序:150 °C 保持 8 min,然后以 6 °C/min 升至 240 °C,保持 28 min。

1.3.2 多维气相色谱-质谱

第一维色谱条件:色谱柱为 UF-1MS 毛细管气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m),进样口温度 260 °C, FID 温度 280 °C,不分流进样(不分流时间 0.8 min),载气流速 0.84 mL/min,进样量 1 μ L。炉温升温程序:60 °C 保持 1 min,然后以 30 °C/min 升至 180 °C,保持 1 min,再以 3 °C/min 升至 280 °C,保持 20 min。切割时间段为 11.40~14.67 min 和 18.75~21.00 min。

第二维色谱条件:色谱柱为 UF-mFFAP 毛细管气相色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μ m);炉温升温程序:50 °C 保持 21.5 min,首先以 30 °C/min 升至 100 °C,再以 10 °C/min 升至 200 °C,然后以 30 °C/min 升至 220 °C,保持 20 min。载气流速:1.16

mL/min。

四极杆质谱参数:检测方式:选择离子监测(SIM);电离方式:电子轰击源(EI, 70 eV);离子源温度:200 °C;传输线温度:250 °C;十一烷酸甲酯的定量离子为 m/z 200,定性离子为 m/z 169;13-甲基十四烷酸甲酯的定量离子为 m/z 256,定性离子为 m/z 225;十五烷酸甲酯的定量离子为 m/z 256,定性离子为 m/z 225。

1.4 定量方法

测试溶液中 13-甲基十四烷酸甲酯(iso-C15-1)、十一烷酸甲酯(C11:0)的含量(μ g/g)按照公式(1)、(2)分别进行计算:

$$M_1 = M_0 \times F_1 \times A_1 / A_0 \quad (1)$$

$$M_2 = M_0 \times F_2 \times A_2 / A_0 \quad (2)$$

式中: M_0 为试样中 C15:0 的含量,单位为 μ g/g; M_1 为试样中 iso-C15-1 的含量,单位为 μ g/g; M_2 为试样中 C11:0 的含量,单位为 μ g/g; F_1 为 iso-C15-1 对 C15:0 的相对响应因子; F_2 为 C11:0 对 C15:0 的相对响应因子; A_1/A_0 为测试溶液中 iso-C15-1 特征离子(m/z 256)色谱峰与 C15:0 特征离子(m/z 256)色谱峰的峰面积比值; A_2/A_0 为测试溶液中 C11:0 特征离子(m/z 200)色谱峰与 C15:0 特征离子(m/z 256)色谱峰的峰面积比值。

2 结果与讨论

从地沟油来源看,动物油和加热植物油是其中两个重要的来源。因此本项研究先从正常植物油与加热植物油、动物油的常量及微量脂肪酸出发,探索地沟油的内源性特征指示物。

2.1 常量脂肪酸的非靶标筛查

对 3 类油脂样品中的常量脂肪酸(正癸酸 C10:0、十二烷酸 C12:0、十四烷酸 C14:0、十五烷酸 C15:0、棕榈酸 C16:0、十七烷酸 C17:0、硬脂酸 C18:0、油酸 C18:1、亚油酸 C18:2、亚麻酸 C18:3、二十烷酸 C20:0、二十碳烯酸 C20:1、二十二烷酸 C22:0)的相对含量进行主成分分析(principal component analysis, PCA, SPSS16.0)。主成分分析为无监督模式识别技术,不考虑样品的分类信息,通过对高维数据进行降维处理后,对样品进行判断。其中,主成分分析载荷图可显示化合物的特征差异性,载荷图上的点与原点的距离越远,表明该成分对分类的贡献越大,特征性越强。从图 1a 可以看出,油脂样品中常量脂肪酸大致由两个主成分构成,第一个主成分权重达到 48.5%,第二个主成分权重为 16.2%。每个脂肪酸对分类都有一定贡献,但其贡献大小差别不

明显。另外,主成分分析的得分图可以从整体上直观地显示样品间是否存在差异。如图 1b 所示,三类油脂样本沿着第一、二主成分的轴方向分散性均不

佳,即通过常量脂肪酸难以区分加热植物油、动物油与正常植物油,因此在常量脂肪酸中难以确定地沟油的特征指示物。

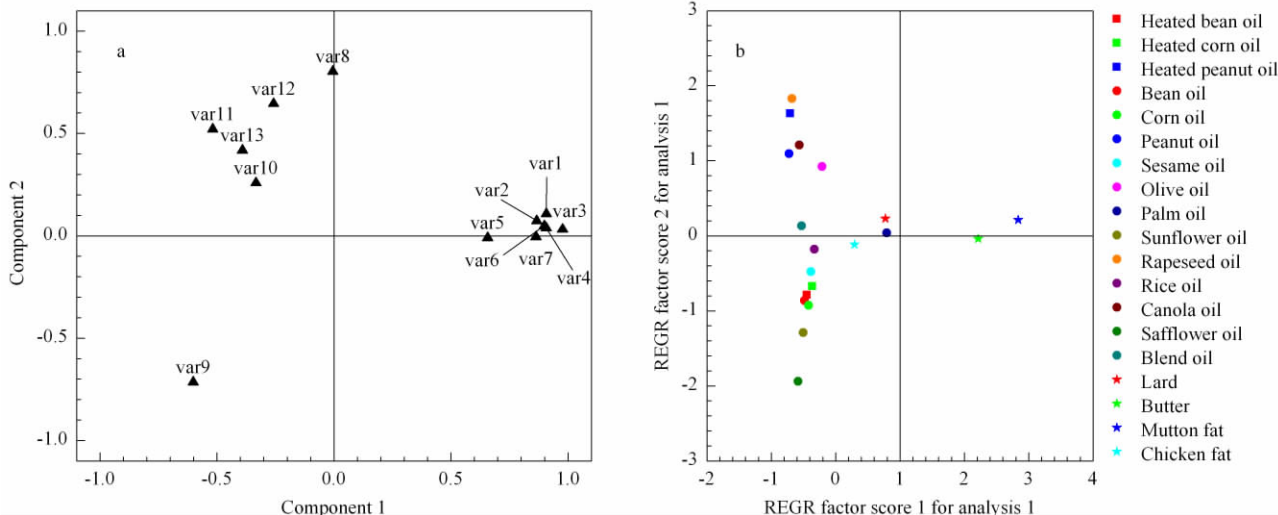


图 1 主成分分析的(a)载荷图和(b)得分图

Fig. 1 (a) Loading plot and (b) score plot of PCA

var1: C10:0; var2: C12:0; var3: C14:0; var4: C15:0; var5: C16:0; var6: C17:0; var7: C18:0; var8: C18:1; var9: C18:2; var10: C18:3; var11: C20:0; var12: C20:1; var13: C22:0. ■: heated vegetable oil at 180 °C; ●: normal vegetable oil; ★: animal oil.

2.2 微量脂肪酸的靶标筛查

由于天然植物油中主要含有偶数碳的脂肪酸,测定偶数碳的脂肪酸必定存在背景值高的问题,因此锁定奇数碳脂肪酸作为微量脂肪酸分析的目标物。一方面,由于正常植物油在自然存放和反复煎炸过程中均容易产生低碳数脂肪酸,且这些脂肪酸在地沟油制造过程中容易被除去,因此低碳数脂肪酸不能作为地沟油的特征性指示物。另一方面,过高碳数的脂肪酸易受高背景偶数碳链的干扰,同样不合作为特征性指示物。因此,在微量脂肪酸筛查过程中,主要以 C10~C18 之间的奇数碳脂肪酸作为靶标化合物。相对于常量脂肪酸而言,这些微量脂肪酸的含量较小。虽然采用修饰的聚乙二醇毛细管柱,通过气相色谱-质谱同样可以实现微量脂肪酸的分离和检测,但相对于多维气相色谱而言,其检出限相对较高,灵敏度相对低。而在应用二维气相色谱-质谱分析时,第一维气相色谱采用不分流模式,发挥在线富集、净化的目的,只允许目标化合物组分进入二维气相色谱进行再次分离,不仅提高了该分析方法的灵敏度,而且可以使在第一维毛细管气相色谱柱上难以分离的十五烷酸甲酯异构体(13-甲基十四烷酸甲酯和 12-甲基十四烷酸甲酯)

在进入第二维气相色谱柱后,达到良好分离的效果,进而实现 13-甲基十四烷酸的准确定量(见图 2)。因此,本研究中以下实验均采用多维气相色谱-质谱对微量脂肪酸进行测定。

2.2.1 正常食用植物油与动物油中微量脂肪酸的含量差异

食用动物油与植物油在脂肪酸组成上具有显著差异^[16],其中食用植物油中偶数碳的脂肪酸占较大比重,而对于一些反刍动物来说,如牛、羊中,奇数碳链脂肪酸甘油酯占有较大的比重。因此,研究正常食用植物油和动物油中奇数碳微量脂肪酸的含量差异,对于确立区分动物源地沟油的特征指示物具有重要作用。从表 1 中可以看出,动物油中 13-甲基十四烷酸(iso-C15-1)、12-甲基十四烷酸(iso-C15-2),15-甲基十六烷酸(iso-C17-1)和 14-甲基十六烷酸(iso-C17-2)4 种奇数碳脂肪酸的含量是正常植物油的几千到几万倍,为研究动物源地沟油中特征指示物提供了理论依据。同时将几种地沟油与食用植物油再次进行对比发现:菜籽油中 iso-C15-2 的含量较高;棕榈油中 iso-C17-1 的含量较高;而大多数植物油中的 iso-C17-2 和地沟油中的相对含量相当,甚至更高;只有 iso-C15-1 对于正常植物油和地沟油具有较好的区分度。因此,为了更好地实现动物源地沟油与正常植物油的良好区分,iso-C15-1

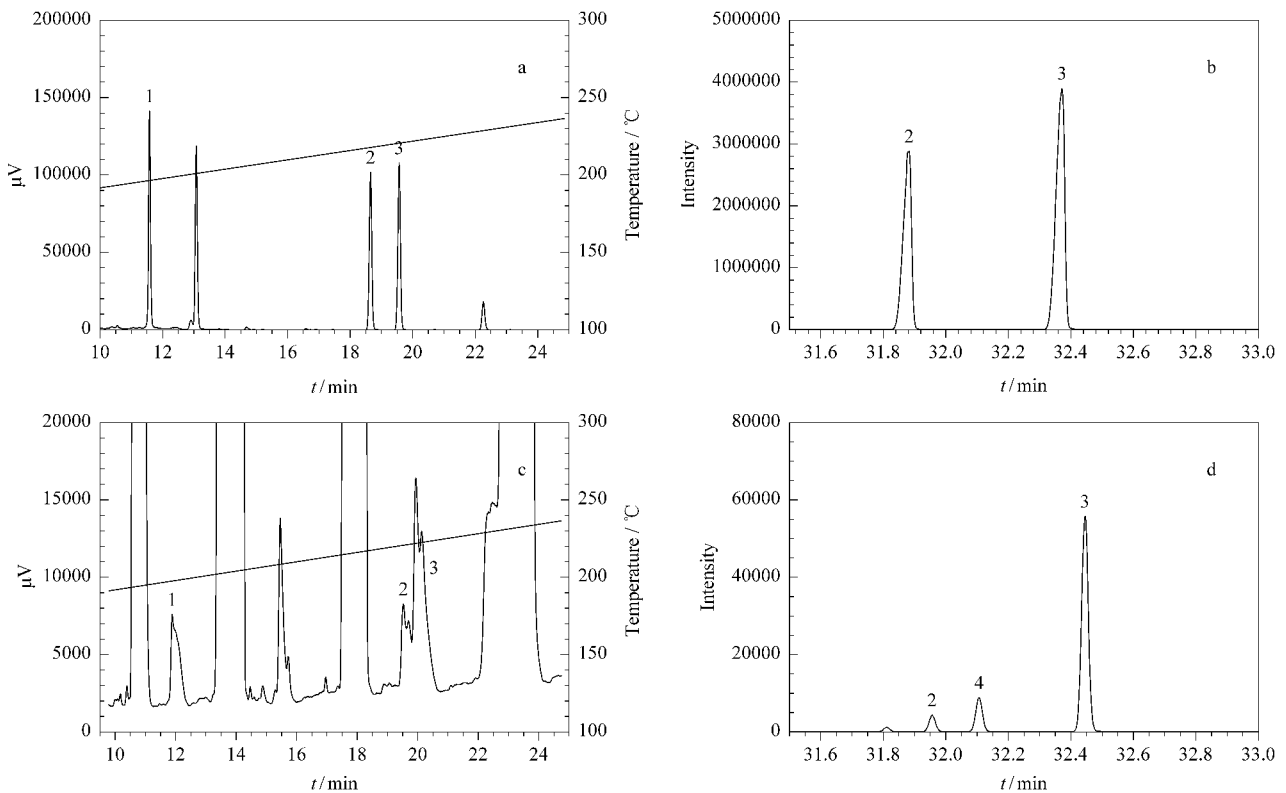


图 2 混合标准溶液中十一烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯和十五烷酸甲酯的(a)第一维气相色谱图(切割前)和(b)第二维提取离子流色谱图(切割后)以及动物油样本中十一烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯和十五烷酸甲酯的(c)第一维气相色谱图(切割前)和(d)第二维提取离子流色谱图(切割后)

Fig. 2 (a) 1st GC chromatogram (before switching) and (b) 2nd GC extracted ion chromatogram (after switching) of methyl undecanoate, methyl 13-methyl-tetradecanoate and methyl pentadecanoate for standard mixture and (c) 1st GC chromatogram (before switching) and (d) 2nd GC extracted ion chromatogram (after switching) of methyl undecanoate, methyl 13-methyl-tetradecanoate and methyl pentadecanoate for animal oil

1. methyl undecanoate; 2. methyl 13-methyl-tetradecanoate; 3. methyl pentadecanoate; 4. methyl-12-methyl-tetradecanoate.

表 1 正常食用植物油与动物油、地沟油中奇数碳脂肪酸的相对含量

Table 1 Relative contents of odd-chain fatty acids in edible vegetable oils, animal oils and illegal cooking oils (ICO) $\mu\text{g/g}$

Sample	iso-C15-1	iso-C15-2	iso-C17-1	iso-C17-2
Bean oil	0.04	0.31	0.77	1.33
Corn oil	0.12	0.46	1.64	3.90
Peanut oil	0.15	0.44	2.08	3.57
Sesame oil	0.10	0.50	1.12	23.77
Olive oil	0.08	0.29	0.55	1.00
Rapeseed oil	0.10	5.55	0.84	22.53
Blend oil	0.12	0.86	0.53	3.51
Palm oil	0.30	0.63	10.13	0.92
Lard	10.68	5.92	117.18	231.53
Butter	4547.41	3373.01	7385.51	8280.19
Mutton fat	3464.40	2814.17	9192.16	7998.30
Chicken fat	15.60	9.31	15.39	30.82
10% ICO ₁ -rapeseed oil	0.89	2.00	2.06	4.98
5% ICO ₂ -blend oil	2.22	1.34	2.96	2.74
ICO ₃	2.62	2.78	2.71	2.28

iso-C15-1: methyl 13-methyl-tetradecanoate; iso-C15-2: methyl 12-methyl-tetradecanoate; iso-C17-1: methyl 15-methyl-hexadecanoate; iso-C17-2: methyl 14-methyl-hexadecanoate.

被确立为动物源性沟油的特征性指示物。

2.2.2 正常食用植物油加热前后微量脂肪酸的含量变化

正常食用植物油经过反复煎炸后即成为地沟油的一种,研究正常食用植物油加热前后微量脂肪酸的含量变化,对于筛选植物源性沟油中的特征指示物具有重要意义。从表 2 中可以看出,植物油加热后,C11:0 的相对含量增大至原来的 6~7 倍,C13

表 2 正常食用植物油与加热食用植物油中奇数碳脂肪酸的相对含量

Table 2 Relative contents of odd-chain fatty acids in edible vegetable oils and heated vegetable edible oils $\mu\text{g/g}$

Sample	C11:0	C13:0	iso-C15-1
Bean oil	0.26	1.75	0.04
Corn oil	0.23	0.80	0.17
Peanut oil	0.41	0.89	0.15
Bean oil heated at 180 °C	1.50	2.98	0.05
Corn oil heated at 180 °C	1.55	3.00	0.21
Peanut oil heated at 180 °C	2.36	5.06	0.19

C11:0: undecanoic acid; C13:0: tridecanoic acid; iso-C15-1: 13-methyl-tetradecanoic acid.

:0 相对含量增大至原来的 2~6 倍,只有 iso-C15-1 的含量基本保持不变,所以动物性地沟油的特征指示物不适用于考核煎炸的植物油。综合 C11:0 相对含量的变化情况以及其在正常植物油中的本底值,C11:0 被确立为植物源地沟油的特征指示物。

2.3 质量控制

2.3.1 方法空白试验

按照相同的样品前处理、分析流程,在不加入待测试样的前提下,进行方法空白操作;目标分析物信噪比低于方法检出限的 1/10,视为未检出。

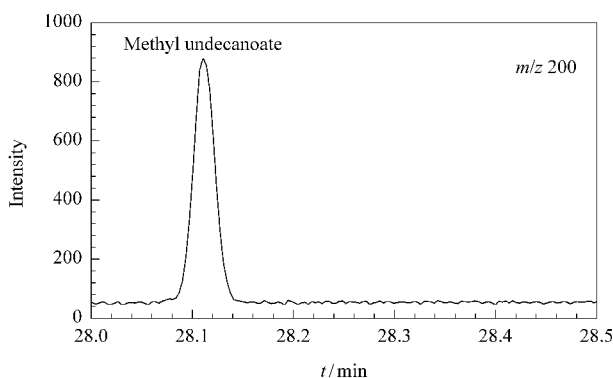
2.3.2 仪器精密度试验

以实际待测油样作为分析对象,经过前处理后,在一天之内重复进样 5 次,所得分析结果的相对标准偏差即为日内精密度。同一样品在不同天进行分析测定,共计 5 天,所得分析结果的相对标准偏差记为日间精密度。其中 C11:0 的日内、日间精密度分别为 3.1%、7.2%, iso-C15-1 的日内、日间精密度分别为 4.6%、5.5%。

2.3.3 方法检出限

以棕榈油为测定对象,按照本方法进行前处理、仪器分析、定性和定量操作,并按照一定比例稀释至目标分析物信噪比为 10,此时重复测定 5 次,计算测定值的标准偏差,取标准偏差的 3 倍,结果修约为 1 位有效数字作为方法检出限。该方法中,C11:0 和 iso-C15-1 的方法检出限分别为 0.02 $\mu\text{g/g}$ 和 0.01 $\mu\text{g/g}$ 。

2.3.4 方法重复性



使用与实际操作相同的试剂,按照本方法由同一操作者对某个样品从取样称量开始,平行做 5 份,测定结果之间的相对标准偏差即为方法重复性。C11:0 和 iso-C15-1 的方法重复性分别为 10.0% 和 11.5%。

2.4 待测油样的检测

将建立的地沟油中内源性特征指示物的检测方法应用于国家食品安全与风险评估中心发放的第四、五批地沟油盲样考核样品,检测结果见表 3,图 3 给出了第四批盲样考核中 18# 样品的质量色谱图。研究发现,第四批盲样考核的样品中,3#、7#、10#、30#、31#、34# 样品所得测定结果中指标 $100M_1/M_0$ 明显较大,表明具有显著的动物源地沟油特征;4#、26#、28#、29#、35# 样品中指标 $100M_2/M_0$ 较大,表明具有显著的植物源地沟油特征。第五批样品中,2#、5#、6#、11#、25#、28#、29#、30# 样品中指标 $100M_1/M_0$ 较高,具有显著的动物源地沟油特征;9#、20#、26# 则具有显著的植物源地沟油特征。因此该方法可以特异性地区分动植物源地沟油。除此之外,对于掺杂了不同比例的地沟油来说,如第五批考核样品 6#、28# 和 5# 中地沟油掺杂比例分别为 10%、20% 和 50%,其测定结果同样可以反映出地沟油的掺杂比例梯度变化,从而满足国家食品安全风险评估中心提出的地沟油鉴定方法要求。

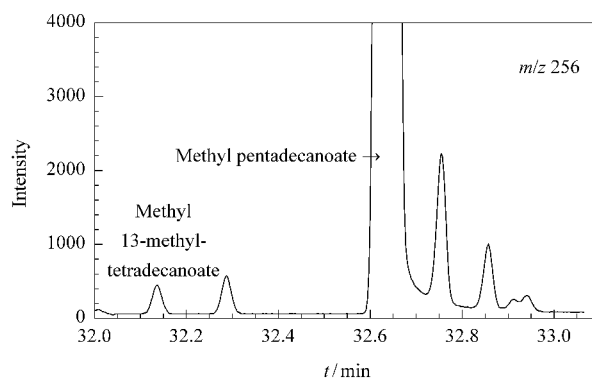


图 3 MDGC-MS 检测某样品中的十一烷酸(C11:0)、13-甲基十四烷酸(iso-C15-1)和十五烷酸(C15:0)的质量色谱图

Fig. 3 Mass chromatograms of undecanoic acid (C11:0), 13-methyl-tetradecanoic acid (iso-C15-1) and pentadecanoic acid (C15:0) in a sample with MDGC-MS

在此基础上,通过系统化实验,结合正常食用植物油中 $100M_1/M_0$ 和 $100M_2/M_0$ 两项指标的测定值,制定其限值,用于判断待测油样是否掺杂地沟油。当两者的限值均定为 0.4 时,第四、五批样品中分别有 8 和 5 个阳性样品漏检,阳性样品的正确率分别达到 71% 和 75%,而阴性样品均全部正确检

出。整体上来看,该方法具有以下特点:(1)阴性样品正确率高,减小了执法过程出现错判的可能;(2)方法针对性强,根据两项指标可以初步确定地沟油的动、植物源性差异;(3)通过测定可以在一定程度上反映地沟油的掺杂比例相对大小;(4)阳性样品的准确率有待提高,需要和其他指标相互配合使用。

表 3 国家食品安全与风险评估中心提供的第四、五批盲样的测定结果

Table 3 Determination results of blind samples (the 4th batch and the 5th batch) from China National Center of Food Safety Risk Assessment

Sample	Oil description* (the 4th batch)	100M ₁ /M ₀	100M ₂ /M ₀	Sample	Oil description* (the 5th batch)	100M ₁ /M ₀	100M ₂ /M ₀
1#	20% ICO(Guangzhou 2)+blend	0.13	0.20	1#	20% ICO(Qianmen 3)+rapeseed	0.12	0.11
2#	blend+peanut+soybean	0.09	0.15	2#	ICO(Chongqing)	53.07	0.60
3#	50% ICO(Chongqing 1)+blend	51.72	0.61	3#	50% ICO(Qianmen 3)+rapeseed	0.26	0.22
4#	20% ICO(Taixin 3)+blend	0.16	4.39	4#	blend	0.02	0.14
5#	50% ICO(Qianmen 4)+blend	0.86	0.17	5#	50% ICO(Chongqing)+rapeseed	40.74	0.48
6#	normal KFC palm oil	0.25	0.13	6#	10% ICO(Chongqing)+rapeseed	13.08	0.24
7#	50% ICO(Chongqing 1)+blend	42.63	0.59	7#	corn	0.15	0.08
8#	10% ICO(Qianmen 4)+blend	0.34	0.16	8#	10% ICO(Qianmen 3)+rapeseed	0.10	0.11
9#	corn oil	0.12	0.09	9#	50% ICO(Taixin 4)+sunflower	0.10	8.08
10#	ICO(Chongqing 2)	51.63	0.59	10#	sunflower	0.05	0.02
11#	blend	0.06	0.19	11#	20% ICO(Guizhou 2)+blend	21.43	0.32
12#	corn+soybean+peanut+blend	0.11	0.13	12#	ICO(Shandong 2)	0.77	0.15
13#	ICO(Baoan 6)	0.23	0.16	13#	rap	0.09	0.10
14#	ICO(Boluo7)	0.70	0.20	14#	peanut	0.14	0.03
15#	ICO(Guangzhou 8)	0.24	0.12	15#	soybean	0.03	0.09
16#	ICO(Changchun 9)	0.42	0.09	16#	ICO(Liaoning)	0.11	0.13
17#	corn+blend	0.07	0.08	17#	ICO(Xinjiang)	1.49	0.16
18#	peanut+blend	0.13	0.17	18#	blend	0.07	0.05
19#	peanut+blend	0.26	0.15	19#	palm+soybean	0.17	0.09
20#	ICO (filtered KFC palm)	0.47	0.46	20#	10% ICO(Taixin 4)+sunflower	0.06	1.90
21#	ICO (KFC palm)	0.45	0.39	21#	ICO(Xinjiang 3)	2.39	0.18
22#	ICO(Double filtered KFC palm)	0.50	0.46	22#	nut	0.03	0.10
23#	soybean	0.03	0.08	23#	ICO(Xinjiang 4)	0.76	0.14
24#	ICO(Liaoning 10)	0.46	0.14	24#	ICO(Guangzhou)	0.25	0.13
25#	ICO(Xinjiang 11)	0.15	0.05	25#	ICO(Guizhou)	43.56	0.52
26#	50% ICO(Taixin 3)+blend	0.23	9.17	26#	20% ICO(Taixin 4)+sunflower	0.07	4.18
27#	20% ICO(Qianmen 4)+blend	0.51	0.18	27#	palm	0.27	0.12
28#	10% ICO(Taixin 3)+blend	0.10	2.42	28#	20% ICO(Chongqing 1)+rapeseed	24.20	0.35
29#	10% ICO(Taixin 3)+blend	0.11	2.43	29#	ICO(Xinjiang 1)	6.12	0.22
30#	10% ICO(Chongqing 1)+blend	19.07	0.32	30#	10% ICO(Guizhou 2)+blend	15.61	0.28
31#	20% ICO (Chongqing 1)+blend	33.45	0.51				
32#	10% ICO(Guangzhou 2)+blend	0.12	0.20				
33#	50% ICO(Guangzhou 2)+blend	0.16	0.18				
34#	10% ICO(Chongqing 1)+blend	16.52	0.37				
35#	50% ICO(Taixin 3)+blend	0.54	7.99				
36#	ICO(Baoan 6)	0.30	0.20				
37#	ICO(Boluo7)	0.60	0.20				

* In description, ICO means illegal cooking oil, the words in bracket show the origin of this sample, and the percentage numbers show the proportion of ICO in this sample.

3 结论

本研究通过化合物的靶标/非靶标筛查,确立了地沟油鉴定的两种特殊奇数碳脂肪酸,即 13-甲基十四烷酸(iso-C15-1)和十一烷酸(C11:0)。这两项指标分别反映动、植物源性特征,有利于开展地沟油溯源性研究。但对于具备复杂性和不可预见性的地沟油而言,这两项指标稍显不足(阳性样品正确率为 70%~80%),需要结合其他特征指标共同完成。当这两项指标与辣椒碱指标^[15]相结合时,不仅可以保证待测试样中阴性样品的完全正确检出(假阳性为 0),还可以进一步提高阳性样品的正确率,减小漏判

的可能性。从实际测定情况来看,两种指标相结合后,第四、五批盲样考核中阳性样品的正确率分别提高到 89% 和 100%,阴性样品的正确率保持在 100%,表明地沟油检测方法取得了新进展。目前该方法正在等待权威部门进行方法协同性验证,有望解决地沟油检测难的问题,为我国食品安全监测做出贡献。

参考文献:

- [1] Chen H, Yang M, Zhu R, et al. Chinese Journal of Food Hygiene (陈红, 杨梅, 朱蓉, 等. 中国食品卫生杂志), 2011, 23 (5): 429
- [2] Guo T, Du L L, Wan H, et al. Food Science (郭涛, 杜蕾蕾,

- 万辉,等. 食品科学), 2009, 30(22): 286
- [3] Zhang R, Zu L Y, Fan T, et al. China Oils and Fats (张蕊, 祖丽亚, 樊铁, 等. 中国油脂), 2006, 31(5): 65
- [4] Zhou Y S, Luo S P, Kong Y. Chinese Journal of Chromatography (周永生, 罗士平, 孔泳. 色谱), 2012, 30(2): 207
- [5] Wang F Y, Yu X Z, Lü M M, et al. Food Science (王飞艳, 于修焯, 吕曼曼, 等. 食品科学), 2011, 32(18): 304
- [6] Zhou Z H, Chen Z H, Mao F J, et al. China Oils and Fats (周智慧, 陈志华, 毛飞君, 等. 中国油脂), 2011, 36(10): 64
- [7] Zhu R, Wang D, Yang X J, et al. Cereals & Oils (朱锐, 王督, 杨小京, 等. 粮食与油脂), 2008(11): 42
- [8] Dlugogorski J B Z, Kennedy E M, Mackie J C. Ind Eng Chem Res, 2012, 51(16): 5653
- [9] Guillen M D, Uriarte P S. Food Chem, 2012, 131(3): 915
- [10] Farhoosh R, Khodaparast M H H, Sharif A, et al. Food Chem, 2012, 131(4): 1385
- [11] Hou J C, Wang F, Wang Y T, et al. Food Control, 2012, 25(1): 211
- [12] Xu X L, Li N, Ren H L, et al. Journal of Inspection and Quarantine (许秀丽, 李娜, 任荷玲, 等. 检验检疫学刊), 2012, 22(2): 6
- [13] Wu H Q, Huang X L, Chen J H, et al. Journal of Instrumental Analysis (吴惠勤, 黄晓兰, 陈江韩, 等. 分析测试学报), 2012, 31(1): 1
- [14] Wu H Q, Huang X L, Lin X S, et al. Journal of Instrumental Analysis (吴惠勤, 黄晓兰, 林晓珊, 等. 分析测试学报), 2012, 31(4): 365
- [15] Wang L X, Jin J, Wang S Q, et al. Chinese Journal of Chromatography (王龙星, 金静, 王淑秋, 等. 色谱), 2012, 30(11): 1094
- [16] Guan Z F, Jiang B, Bai H. Chinese Journal of Public Health (关紫烽, 姜波, 白卉. 中国公共卫生), 2002, 18(12): 1438