

## 实验技术与方法

## 特征脂肪酸鉴别餐厨废弃油脂方法有效性评估

康莉, 廖仕成, 陈春晓, 毛丽莎, 刘红河

(深圳市疾病预防控制中心, 广东 深圳 518055)

**摘要:**目的 建立食用油脂中特征脂肪酸的气相色谱-质谱联用检测方法并评估特征脂肪酸鉴别餐厨废弃油脂的有效性。方法 采集植物油混合地沟油 22 份、煎炸老油 20 份、纯精炼地沟油 7 份、植物原油 9 份、精炼植物油 48 份、棕榈油 6 份、正常食用油加香精 5 份, 油样经甲酯化处理后, 采用 UF-mFFAP 毛细管气相色谱柱 (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), 经气相色谱-质谱法检测样品中十一烷酸甲酯和 13-甲基十四烷酸甲酯的含量, 对检测结果以样品类别进行统计学检验, 评估特征脂肪酸鉴别废弃油脂的有效性。结果 通过特征脂肪酸指标鉴别地沟油的方法是有效的。13-甲基十四烷酸可选为是否含有动物源性油脂的指标物, 十一烷酸可选为反复煎炸油脂的指标物。两者结合可为鉴别正常植物油和餐厨废弃油提供有利依据。结论 特征脂肪酸检测灵敏度高, 特异性较强, 但由于地沟油基本都是勾兑正常植物油出售, 判定结果会出现假阴性, 需结合其他指标进行研判, 以提高鉴别的有效性。

**关键词:**餐厨废弃油脂; 特征脂肪酸; 有效性; 评估; 地沟油; 检测方法; 鉴别

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2016)05-0620-05

DOI: 10.13590/j.cjfh.2016.05.014

Efficiency evaluation of special fatty acid to discriminate  
bio-waste oils from edible vegetable oils

KANG Li, LIAO Shi-cheng, CHEN Chun-xiao, MAO Li-sha, LIU Hong-he

(Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Guangdong Shenzhen 518055, China)

**Abstract:** **Objective** To establish a method of gas chromatography-mass spectrometry to discriminate characteristic fatty acid from edible oil and evaluate the potential application to identify bio-waste oil from edible vegetable oil. **Methods** 22 mixtures of edible vegetable and bio-waste oils, 20 fried waste oils, 7 refined bio-waste oils, 9 original edible vegetable oil, 48 refined edible vegetable oil, 6 palm oils and 5 edible oils with flavor were prepared. After methyl esterification treatment, using UF-mFFAP capillary column gas chromatography column (30 m × 0.25 mm, 0.25 μm), oil samples were analyzed by gas phase chromatography tandem-mass spectrometry for the detection of undecanoic acid methyl ester and 13 methyl tetradecanoic acid methyl ester. **Results** were under statistical tests according to sample categories to evaluate the effectiveness of waste oil identification using characteristic fatty acids. **Results** Dodecanoic acid could be used as the indicator for oils derived from animals, undecanoic acid could be used as the indicator for repeatedly fried oil. The combination of them could provide a sound basis for identification of edible vegetable oil and bio-waste oil. **Conclusion** The method for examining undecanoic acid methyl ester and dodecanoic acid methyl ester was of high sensitivity and good specificity, but false negative results can be obtained when vegetable oil is mixed with bio-waste oils. Other measures are necessary to improve the effectiveness to identify bio-waste oil from edible vegetable oil.

**Key words:** Bio-waste oil; special fatty acid; efficiency; evaluation; gutter oil; detection method; identification

餐厨废弃油脂是指居民日常生活和餐饮企业在食物加工过程中产生的不可再食用的动植物油

脂或油水混合物, 包括地沟油、泔水油、反复煎炸油脂等。这些油脂经过提炼可转化成工业油脂原料再利用, 但是不法商贩在利益的驱使下使这些废弃油脂经非法渠道回流到餐桌, 带来严重食品安全隐患。国家对地沟油采取非常严厉的打击措施, 国家卫生计生委于 2011 年起在全国范围内征集检测废弃油脂的方法, 各地实验室开发的方法有气相色谱法、气相色谱-质谱联用法、液相色谱法、液相色谱-质谱联用法、电子鼻法、拉曼光谱

收稿日期: 2016-03-24

基金项目: 深圳市战略性新兴产业发展专项基金技术研究开发项目  
(JSGG20120615085737935)

作者简介: 康莉 女 主任技师 研究方向为卫生检验

E-mail: 13501580108@139.com

通信作者: 刘红河 男 主任技师 研究方向为卫生检验

E-mail: 532294960@qq.com

法、紫外光谱法等,目标物有脂肪酸、胆固醇、辣椒碱、柠檬烯、气味等<sup>[1-5]</sup>,但由于餐厨废弃油脂在进入市场之前,都要经过脱酸、脱色、脱臭等处理,这些处理手段与普通油脂加工过程基本相似,处理后的废弃油脂不仅感观上与正常植物油无异,甚至理化指标如酸价、过氧化值、水分等也能达到国家卫生指标的要求<sup>[6]</sup>,因此到目前为止国家卫生计生委还没有公布有效的检测餐厨废弃油脂的方法。

本试验源于对特征脂肪酸鉴别餐厨废弃油脂的方法进行验证<sup>[3-4]</sup>,收集了包括植物油混合地沟油、煎炸老油、纯精炼地沟油、植物原油、精炼植物油等油脂样品,采用内标法测定油脂因烹饪过程产生的特征脂肪酸含量水平,并按样品类别对其进行统计学分析,评估特征脂肪酸鉴别餐厨废弃油脂的有效性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品来源

精炼植物油 48 份,从某市各大超市购买;植物油混合地沟油 22 份,混合物中地沟油比例占 10%~50% 不等,由国家食品安全风险评估中心提供;煎炸老油 20 份,分别从某市各餐饮店采集;纯精炼地沟油 7 份,由本实验室分批制备<sup>[7]</sup>;植物原油 9 份、棕榈油 6 份,由某油脂工业有限公司提供;正常食用油加香精 5 份,由本实验室制备。

1.1.2 主要仪器与试剂

气相色谱质谱联用仪(美国 Agilent)、电子天平(精确到 0.000 1 g 及 0.000 01 g)、超纯水系统(美国 Millipore)、低温高速离心机、旋涡混合器。

甲醇、正己烷(重蒸后使用)、壬烷均为色谱纯,2 mol/L 的氢氧化钾甲醇溶液,饱和氯化钠溶液,标准物质:十一烷酸甲酯(CAS: 1731868,纯度≥99%)、十二烷酸甲酯(CAS: 111820,纯度≥98%)、13-甲基十四烷酸甲酯(CAS: 5129599,纯度≥98%)、十八烷(CAS: 593453,纯度≥98%)均购自美国 Sigma,载气为高纯氦气。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液的配制

精确称取十一烷酸甲酯、十二烷酸甲酯、13-甲基十四烷酸甲酯标准物质各 100 mg,用壬烷溶解并定容至 10.0 ml,配成浓度各为 10.0 mg/ml 的混合标准贮备液 I;精确称取十八烷标准物质 100 mg,用壬烷溶解并定容至 10.0 ml,配成浓度为 10.0 mg/ml 的标准贮备液 II;用正己烷为溶剂将标准贮备液 I 及标准贮备液 II 进行逐级稀释,配成浓度比

为 1:10、1:5、1:1 的标准系列混合溶液,每个浓度标准溶液中均含内标正十八烷的浓度为 15.0 mg/L,现用现配,每个浓度分别进行测定,进样量 1.0 μl。

1.2.2 样品前处理

准确称取 0.10 g 样品于 1.5 ml eppendorf 管中,加入 500 μl 15.0 mg/L 十八烷内标溶液和 500 μl 2 mol/L 氢氧化钾甲醇溶液,旋涡 3 min,1 000 r/min 离心 10 min,取上层有机相加入 1 ml 饱和氯化钠溶液,旋涡 1 min 后 1 000 r/min 离心 10 min,取上层有机相进行测定,进样量 1.0 μl。

1.2.3 仪器条件

色谱条件:UF-mFFAP 毛细管气相色谱柱(30 m×0.25 mm,0.25 μm),载气流速 0.6 ml/min,柱温 150 ℃保持 8 min,以 6 ℃/min 升至 240 ℃保持 28 min,进样口温度 260 ℃,分流比 10:1,溶剂延迟时间 4 min。

质谱条件:离子源温度 200 ℃,传输线温度 250 ℃,四极杆温度 150 ℃;选择离子模式;定量及定性离子:十一烷酸甲酯( $m/z$ )200\*,169;十二烷酸甲酯( $m/z$ )214\*,183;13-甲基十四烷酸甲酯( $m/z$ )256\*,225;十八烷( $m/z$ )254\*,225;\* 为定量离子。

1.2.4 结果判定

以标准系列对油样中的十一烷酸甲酯(C<sub>2</sub>)、十二烷酸甲酯(C<sub>3</sub>,用于扣除干扰)、13-甲基十四烷酸甲酯(C<sub>1</sub>)的含量进行计算,得到油样中 3 种物质的浓度。

根据文献[3-4]的方法,13-甲基十四烷酸在反刍动物如牛、羊等油脂中的含量是正常植物油的几千到几万倍,可选为动物源性废弃油脂的指标物。正常植物油在加热至 180 ℃后,十一烷酸的含量会增加 6~7 倍,可选为反复煎炸废弃油脂的指标物。由于餐厨废弃油脂基本都是经过反复煎炸,且不可避免的含有动物源性油脂成分,因此综合十一烷酸和 13-甲基十四烷酸含量指标,可以为鉴别正常植物油与餐厨废弃油提供有利依据。由于一些正常植物油(如棕榈油、椰子油)中含有一定量的十一烷酸和 13-甲基十四烷酸,因此需要对于干扰进行扣除后,采用校正结果进行判断。

除棕榈油外,正常植物油中的 13-甲基十四烷酸含量普遍较低,扣除棕榈油干扰后的 C<sub>1</sub>'计算方法如下:C<sub>1</sub>'=C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>/2 000×0.4

除椰子油外,正常植物油中的十一烷酸含量普遍较低,扣除椰子油干扰后的 C<sub>2</sub>'计算方法如下(该扣减方法在 C<sub>3</sub>>15 000 mg/kg 时不适用):C<sub>2</sub>'=C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>×2 000/5 000 000。

扣除干扰后,油样中的十一烷酸浓度为 C<sub>2</sub>',13-

甲基十四烷酸浓度为  $C_1'$ , 当  $C_1' \geq 1.5 \text{ mg/kg}$  或  $C_2' \geq 2.0 \text{ mg/kg}$  时, 该油样可以判定为餐厨废弃油脂或地沟油。

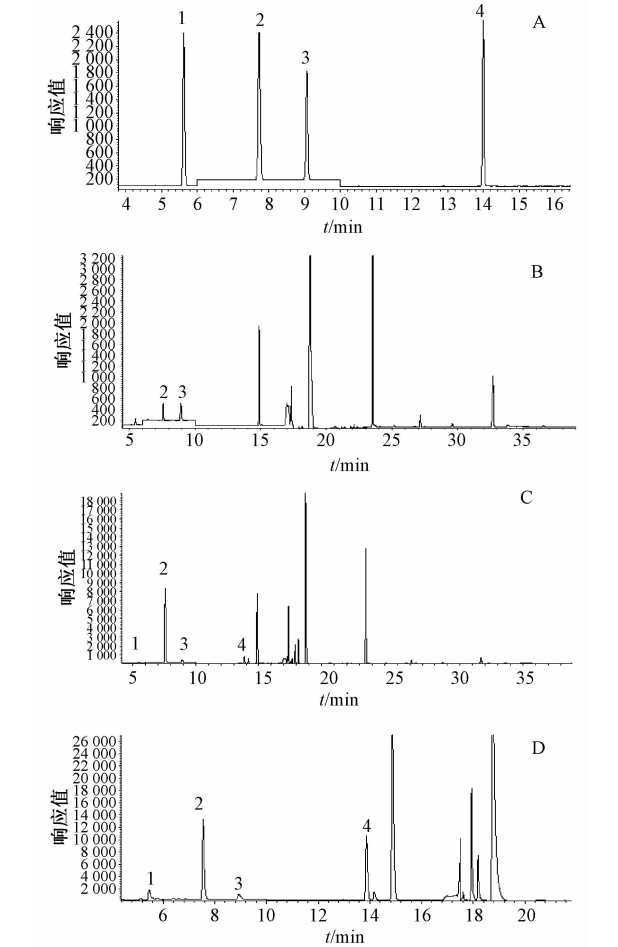
### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计分析软件对样品测定结果进行统计学分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品检测

按照与测定标准品同样的色谱、质谱条件调试仪器, 将油样处理后上机检测, 标准及典型样品色谱图见图 1。



注: 1 为十一烷酸甲酯 5.62 min; 2 为十二烷酸甲酯 7.74 min; 3 为十八烷 9.07 min; 4 为 13-甲基十四烷酸甲酯 13.99 min; A 为标准色谱图; B 为正常植物油色谱图; C 为地沟油精炼油色谱图; D 为煎炸老油色谱图

图 1 标准及典型样品色谱图

Figure 1 Chromatogram of a standard and typical samples

### 2.2 不同样品特征脂肪酸检出阳性率比较

按照结果判定要求, 依照各类样品中的 13-甲基十四烷酸甲酯、十一烷酸甲酯的含量, 对各样品进行是否为餐厨废弃油脂或地沟油的判定, 结果见表 1。

表 1 各类油样阳性检出率统计结果					
Table 1 Statistics analysis of positive rates for oils					
样品类别	总样品数 /份	判为地沟油数 /份	地沟油检出率 /%	$\chi^2$	P
精炼植物油	48	3	6.2	—	—
棕榈油	6	0	0	0.397	>0.50
纯精炼地沟油	7	7	100	36.094	<0.005
煎炸老油	20	12	60.0	23.723	<0.005
植物油混合地沟油	22	12	54.5	20.899	<0.005
植物原油	9	0	0	0.594	>0.25
正常食用油加香精	5	0	0	0.331	>0.50

注: —表示以精炼植物油为参比, 该项不统计

将各种类别油样的检出情况分别与精炼植物油的检出情况采用四格表资料的卡方检验进行统计学分析, 由表 1 中统计结果可见, 包括棕榈油、植物原油和正常植物油加香精等正常油与精炼植物油比较, 被误判为地沟油的检出率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。而纯精炼地沟油、煎炸老油和植物油混合地沟油的检出率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。统计学结果表明通过特征脂肪酸指标鉴别地沟油的方法是有效的。

### 2.3 各种样品检测结果正确率判断

表 2 中可以看到, 棕榈油、纯精炼地沟油、植物原油和正常食用油加香精等判定正确率均为 100%, 精炼植物油的判定正确率为 93.8%, 但煎炸老油和植物油混合地沟油的判定正确率只有 60.0% 和 54.5%, 经过分析可能的原因如下: 采集的煎炸老油中部分样品有检出 13-甲基十四烷酸甲酯或十一烷酸甲酯, 但由于含量低于判定要求, 被判为未检出; 个别煎炸老油样品中未检出 13-甲基十四烷酸甲酯和十一烷酸甲酯, 可能是由于该油样煎炸次数较少, 样品中的特征脂肪酸含量未达到检出限; 植物油混合地沟油是由正常植物油按照一定比例添加餐厨废弃油脂而得到的, 由于部分样品中添加的餐厨废弃油脂较少, 造成特征脂肪酸含量未达到判定要求而被判为阴性。

表 2 各类样品正确率判断结果			
Table 2 Accuracy of analysis for oils			
样品类别	总样品数/份	判断正确数/份	正确率/%
精炼植物油	48	45	93.8
棕榈油	6	6	100.0
纯精炼地沟油	7	7	100.0
煎炸老油	20	12	60.0
植物油混合地沟油	22	12	54.5
植物原油	9	9	100.0
正常食用油加香精	5	5	100.0

### 2.4 各种样品中特征脂肪酸含量分析

各类样品中 13-甲基十四烷酸甲酯 ( $C_1'$ ) 和十

一烷酸甲酯( $C_2'$ )检测结果及统计分析结果见表3。通过对各种油类检测结果进行正态性检验,显示各种油类中 $C_1'$ 和 $C_2'$ 值均为非正态分布,因此采用计算中位数及四分位间距来描述结果的集中及离散趋势。对表3中数据应用非参数检验方法中两独立样品检验的Mann-Whitney U统计法,将各类样品与精炼植物油进行比较,棕榈油、植物原油和正常植物油加香精的 $C_1'$ 和 $C_2'$ 结果与精炼植物油的结果均差异无统计学意义( $P>0.05$ ),棕榈油、植物原油和正常植物油加香精等只是未深加工或加有添加

剂的正常植物油,也算是正常油的范畴,其特征脂肪酸含量与正常植物油含量基本一致。纯精炼地沟油、煎炸老油的 $C_1'$ 和 $C_2'$ 结果与精炼植物油的结果比较均差异有统计学意义( $P<0.05$ ),其四分位间距高于精炼植物油,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。植物油混合地沟油与精炼植物油结果比较, $C_1'$ 含量差异有统计学意义( $P<0.05$ ),而 $C_2'$ 差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明通过 $C_1'$ 和 $C_2'$ 作为区分精炼植物油和植物油混合地沟油的指标有较大误差,可能导致较高的误判率。

表3 各类样品中特征脂肪酸检测结果  
Table 3 Results of special fatty acids in oils

样品类别	数量 /份	C <sub>1</sub> '				C <sub>2</sub> '			
		结果范围 /(mg/kg)	中位数 /(mg/kg)	四分位 间距	P	结果范围 /(mg/kg)	中位数 /(mg/kg)	四分位 间距	P
精炼植物油	48	0~5.86	0	0	—	0~1.30	0	0.15	—
棕榈油	6	0~0	0	0	>0.05	0~0.92	0	0	>0.05
纯精炼地沟油	7	10.01~350.1	14.90	301.9	<0.05	0~71.1	8.94	9.28	<0.05
煎炸老油	20	0~418.3	0	28.7	<0.05	0~46.7	0	2.34	<0.05
植物油混合地沟油	22	0~74.5	0	14.2	<0.05	0~10.5	1.21	3.40	>0.05
植物原油	9	0~0.75	0	0	>0.05	0~0	0	0	>0.05
正常食用油加香精	5	0~1.05	1.05	1.05	>0.05	0~1.20	0	1.10	>0.05

注:—表示以精炼植物油为参比,该项不统计

根据从公安系统侦破的制售和贩卖地沟油案件调查的情况以及媒体暗访的报道来看,目前市售地沟油的销售,多为采用正常植物油按一定比例掺入地沟油制成混合油的方式来售卖。由于地沟油来源及掺入的比例不同,导致特征脂肪酸 $C_1'$ 和 $C_2'$ 的含量有较大的差异,因此仅通过特征脂肪酸作为判断是否含有一定比例的地沟油会有一定的误差,需结合其他检测指标来进行综合判断。

2.5 正常植物油中特征脂肪酸本底检测结果

在结果的判定中,需要对特征脂肪酸的本底进行扣除,根据文献方法<sup>[3-4]</sup>,扣除本底的公式是通过试验数据推算出来的。从表1可以看出,精炼植物油中确实检出有13-甲基十四烷酸和十一烷酸,被判定为地沟油的检出率为6.2%,表4为4类正常油中检出13-甲基十四烷酸和十一烷酸的样品数量及浓度范围,由表中可以看出,在正常植物油中均检出13-甲基十四烷酸或十一烷酸,与文献[3-4]的结果一致,但含量有一些差异,本试验检出率分别为17.6%(12/68)和20.6%(14/68),检出浓度为0.58~5.86 mg/kg和0.05~1.30 mg/kg,这可能与采集的油样品牌、成分及产地有关。其中有一份某品牌的深海鱼油调和油检出13-甲基十四烷酸浓度为5.86 mg/kg,高出1.5 mg/kg的判定标准较多,由于本试验只选取了一个含深海鱼油的植物油样品,无法判定是否为加入深海鱼油引起的13-甲基十四烷酸含量偏高,有待采集

更多品种的这类植物油进行测定后再确证。

表4 正常植物油中特征脂肪酸浓度  
Table 4 Concentration of special fatty acids in normal vegetable oils

样品类别	样品数 /份	检出数量/份		检出浓度范围/(mg/kg)	
		C <sub>1</sub> '	C <sub>2</sub> '	C <sub>1</sub> '	C <sub>2</sub> '
精炼植物油	48	6	11	1.12~5.86	0.05~1.3
棕榈油	6	0	1	0	0.92
植物原油	9	2	0	0.58~0.75	0
正常食用油加香精	5	4	2	0.90~1.05	0.05~1.10
合计	68	12	14	0.58~5.86	0.05~1.30

2.6 有效性评估

本研究利用特征脂肪酸的检测技术在对地沟油判别中,判别棕榈油、纯精炼地沟油、植物原油和正常食用油加香精等样品时判定有效性均为100%,但在判定煎炸老油和植物油混合地沟油的时只达到60.0%和54.5%,出现假阴性的原因主要是:①待判定的样品并非纯精炼地沟油,而是混合了大部分正常油脂的勾兑油,使待测指标浓度降低;②采集的部分煎炸老油样品并非经过多次煎炸,样品中的特征脂肪酸含量低而未被检出。要提高判定结果的有效性,减少假阴性的结果,建议结合其他指标如辣椒碱或柠檬烯等来进行综合研判,以提高鉴别的有效性。

3 小结

本试验评估的食用油中特征脂肪酸的检测方



法,检测灵敏度高,特异性强,对正常植物油脂类样品进行鉴别时有效性较高,但在判定某油样是否为地沟油时有假阴性出现,作出结论时需保持谨慎。除了在地沟油制作现场能找到纯地沟油外,其他地方售卖的可能都是已经混合了正常植物油的混合地沟油,所以如果要对市场采集的某一油样作鉴别时,要结合其他的指标来进行研判,以提高鉴别的有效性,减少误判现象的发生。

参考文献

[ 1 ] 陈红,杨梅,朱蓉,等.超高效液相色谱三重四极杆质谱法测定火锅油、潮水油及地沟油中胆固醇含量[J].中国食品卫生杂志,2011,23(5):429-432.

[ 2 ] 杨冬燕,李浩,杨永存,等.基于电子鼻技术的地沟油鉴别方法[J].食品科技,2014,39(6):311-315.

[ 3 ] 金静,王龙星,陈吉平,等.非正常食用油鉴别新方法(二):特征基数碳脂肪酸的多维气相色谱-质谱检测[J].色谱,2012,30(11):1100-1107.

[ 4 ] 金静,陈吉平,田玉增,等.内标法测定甘油酯上的十一烷酸和13-甲基十四烷酸及其在非正常油脂掺伪识别上的应用[J].色谱,2013,31(6):556-560.

[ 5 ] 毛丽莎,仲岳桐,康莉,等.柠檬烯鉴别地沟油的有效性评估[J].中国卫生检验杂志,2014,24(10):1373-1375.

[ 6 ] 吴才武,夏建新.地沟油的危害及其应对方法[J].食品工业,2014,35(3):237-240.

[ 7 ] 李浩,杨冬燕,杨永存,等.“地沟油”标准物质候选物的研制[R].深圳:第十九届全国食品卫生理化检验学组交流会,2013.

[ 8 ] 张忠,任飞,张盼,等.液液萃取-液相色谱-串联质谱法测定“地沟油”中辣椒碱类化合物及丁香酚[J].色谱,2012,30(11):1108-1112.

实验技术与方法

超高效液相色谱-串联质谱法测定黄芪中黄芪甲苷的含量

夏义平,李建平,党亚敏,渠志华,王辰  
(天津市疾病预防控制中心,天津 300011)

**摘要:**目的 建立超高效液相色谱-串联质谱法测定黄芪中黄芪甲苷的含量。方法 黄芪经甲醇-氨水(3:1, V/V)超声提取 30 min,采用多反应监测(MRM)模式,以  $m/z$  785.4/143.108 和  $m/z$  785.4/473.391 为定性离子对,  $m/z$  785.4/143.108 为定量离子对,外标法测定黄芪甲苷。结果 黄芪甲苷在 60.0~12 000 ng/ml 浓度范围内有良好线性关系( $r=0.999\ 3$ ),平均回收率为 91.7%,最低检测限为 68.2  $\mu\text{g/kg}$ 。结论 该方法具有简便、快速和灵敏度高的特点,可用于黄芪中黄芪甲苷的测定。

**关键词:**黄芪甲苷;超高效液相色谱-串联质谱法;多反应监测;功效成分;定量分析;黄芪;检测方法

中图分类号:R155.5 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2016)05-0624-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2016.05.015

Determination of astragaloside IV in *Radix astragali* by ultra high performance  
liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XIA Yi-ping, LI Jian-ping, DANG Ya-min, QU Zhi-hua, WANG Chen  
(Tianjin Center for Disease Control and Prevention, Tianjin 300011, China)

**Abstract: Objective** To establish a method for determination of astragaloside IV in *Radix astragali* by UPLC-MS/MS. **Methods** *Radix astragali* was extracted with methanol-ammonia (3:1, V/V) for 30 min by ultrasonic, the astragaloside IV was monitored via the ESI+ionization model and quantified by multiple reaction monitoring (MRM), using  $m/z$  785.4/143.108 and  $m/z$  785.4/473.391 as qualitative ion pair and  $m/z$  785.4/143.108 as quantitative ion pair. **Results** The calibration curve of astragaloside IV was in good linearity over the ranges of 60.0-12 000 ng/ml ( $r=0.999\ 3$ ), the average recovery was 91.7%, and the detection limit was 68.2  $\mu\text{g/kg}$ . **Conclusion** This method was accurate, rapid, easy to operate, and the methodology validation showed that it was suitable for the determination of astragaloside IV in *Radix astragali*.