

# 固相萃取-气相色谱/质谱法检测 泔水油中的辣椒素类物质

范翔, 冯家力, 李谭瑶, 陈东洋, 丁力

湖南省疾病预防控制中心, 湖南 长沙 410005

**摘要:** **目的** 建立离子交换固相萃取-气相色谱/质谱检测油脂中辣椒素类物质的新方法。 **方法** 油脂类样品通过正己烷稀释、分散后, 乙腈提取其中待测物, 并经固相萃取浓缩、净化, 氨化甲醇洗脱, 衍生后气相色谱-质谱 (gas chromatography-mass sepetrometry, GC-MS) 测定。 **结果** 新方法对辣椒素类物质的检出限可达 0.001 mg/kg, 在浓度 0.003~0.50 mg/kg 范围内线性关系良好, 样品加标回收率为 84.0%~116%, 相对标准偏差 $\leq 5.1\%$  ( $n=5$ )。 **结论** 新方法灵敏、准确, 检测辣椒素类由烹饪过程带入而非油脂固有的成分, 作为鉴别泔水油的手段, 具有良好的操作性。

**关键词:** 泔水油; 辣椒素; 固相萃取; 气相色谱-质谱法

**中图分类号:** R155.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2021)10-1198-03 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2021.10.012

## Determination of capsaicins in hogwash oil using solid-phase extraction and gas chromatography-mass sepetrometry

FAN Xiang, FENG Jia-li, LI Tan-yao, CHEN Dong-yang, DING Li

Hunan Provincial Center of Disease Control and Prevention, Changsha, Hunan 410005, China

Corresponding author: DING Li, E-mail: 1703068@qq.com

**Abstract:** **Objective** To develop a new analytical method for determination of capsaicins in hogwash oil using solid-phase extraction and gas chromatography-mass sepetrometry (GC-MS). **Methods** The samples were extracted with acetonitrile after separation of oil with hexane, and further clean-up procedures were used through liquid-liquid extraction and solid-phase extraction to remove co-extracted molecular interference. **Results** The results showed that the detection limit of the new method was 0.001 mg/kg, and it presented favorable linearity in the range of 0.003-0.50 mg/kg. The recoveries of capsaicins were 84.0%-116%, and the relative standard deviations (RSDs) were less than or equal to 5.1% ( $n=5$ ). **Conclusion** This new method is sensitive, accurate and easy to operation, and it can be applied to detecting capsaicins as an exogenous index in hogwash oil.

**Keywords:** hogwash oil; capsaicin; solid-phase extraction; gas chromatography-mass sepetrometry

泔水油是餐饮行业的剩饭、剩菜 (俗称泔水) 收集后, 经渣水分离、碱炼、加热脱水、脱色和脱臭等处理后精炼而成的油。泔水油在极其恶劣的卫生条件下流转、加工, 极易滋生细菌、真菌, 产生如黄曲霉毒素等强致癌物质, 也易存在重金属、反式脂肪酸超标等严重的问题, 食用后对健康危害巨大。然而, 受利益驱使, 泔水油又极易流回餐桌。因此, 研究鉴定泔水油的标志性成分及其检测方法对于泔水油的监管和执法, 意义重大。

目前, 国内外研究泔水油检测的指标有电导率<sup>[1]</sup>、

高光谱透射率<sup>[2]</sup>、黄曲霉毒素和苯并芘<sup>[3]</sup>、长链脂肪醛<sup>[4]</sup>、钠离子<sup>[5]</sup>等。辣椒是被广泛食用的蔬菜和调味品, 其标志性成分辣椒素类物质是一类化学性质稳定、脂溶性强的有机化合物。在油脂地再提炼加工过程中, 辣椒素类物质难以被破坏和清除。烹饪使用辣椒后, 辣椒素溶入油脂中, 从而作为油脂已被使用的标记物, 进入各个环节的流转和处理。因此, 以辣椒素作为鉴别泔水油的标志物质, 有其合理性和可行性。

本文以辣椒素等外源性成分为鉴别泔水油的指标, 通过研究其理化性质, 确立待测物在油脂中的提取、净化和浓缩方法, 建立气相色谱-质谱法 (gas chromatography-mass sepetrometry, GC-MS) 准确鉴别食用油脂是否为泔水油和掺兑泔水油的方法。研究过程中, 应用新方法在动植物油等样品间进行加标回收

**基金项目:** 湖南省卫生计生委科研基金 (B2012-117) 资助

**作者简介:** 范翔 (1981-), 男, 湖南长沙人, 副主任技师, 主要从事食品安全检测工作。

**通信作者:** 丁力, E-mail: 1703068@qq.com。

实验,回收率和稳定性均取得了满意的效果。

1 材料与方法

1.1 主要仪器和试剂 主要仪器:7890B GC system/5977A MSD 气相色谱质谱联用仪(美国 Agilent 公司);BT125D 型万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司);英泰 TGL16 高速离心机;Milli-Q Advantage A10 超纯水仪(美国 Millipore 公司);Vortex-Genie2 旋涡振荡器(美国 Scientific Industries 公司);DEX-9073B-1 烤箱(上海福码实验设备);TTL-DCII 型氮吹仪(北京同泰有限公司)。

主要试剂:Oasis MCX 6cc 150 mg 固相萃取小柱(美国 Waters 公司);正己烷、二氯甲烷、乙酸乙酯、甲醇均为色谱纯(天津市化学试剂研究所);乙腈为色谱纯(国药集团化学试剂有限公司);氨水为色谱纯(天津光复精细化工研究所)。

标准品:辣椒素(capsaicin,纯度>60%)、二氢辣椒素(dihydrocapsaicin,纯度 97%)、壬酸香草酰胺(nonylic acid vanillylamide,纯度 90%)均购自阿拉丁试剂公司。

衍生剂:N,O-双(三甲基硅)三氟乙酰胺[Bis(trimethylsilyl)-trifluoroacetamide,BSTFA](美国 SIGMA-ALDRICH 公司),含三甲基氯硅烷。

1.2 仪器条件

1.2.1 色谱条件 色谱柱:DB-1701P,30 m×250 μm×0.25 μm;载气:He;恒流,柱流量:1 ml/min;不分流进样;进样量:1 μl;进样口温度:250 ℃;柱温,程序升温:始温 100 ℃,保持 0.5 min;30 ℃/min 升温至 190 ℃;然后 20 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 10 min。

1.2.2 质谱条件 离子源:EI 源;离子源温度:230 ℃;四级杆温度:150 ℃;色谱-质谱连接口温度:280 ℃;EM 电压:1 359 V;扫描方式:选择离子模式(selected

ion monitor,SIM);溶剂延迟:8 min。三种辣椒素类物质的保留时间、监测离子,见表 1。

表 1 三种辣椒素类物质的 GC-MS 保留时间、定量及定性离子

名称	保留时间(s)	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)
壬酸香草酰胺	12.280	365	137,209,365
辣椒素	12.725	377	137,209,377
二氢辣椒素	13.001	379	137,209,379

1.3 样品处理 称取 2.00 g 食用油于 50 ml 具塞塑料离心管中,先后加入 5 ml 乙腈饱和的正己烷和 5 ml 正己烷饱和的乙腈,充分涡旋 5 min,6 000 r/min 离心 5 min,小心移出管中下层乙腈相于 10 ml 试管中;再加入 5 ml 正己烷饱和的乙腈,充分涡旋提取,并离心、移出乙腈相,合并于 10 ml 试管中;将乙腈提取液以 1.0 ml/min 流速通过用 5 ml 二氯甲烷、5 ml 乙腈活化的 MCX 小柱;上样后,用 5 ml 二氯甲烷、5 ml 乙腈淋洗小柱;再用 5 ml 1%氨化甲醇洗脱小柱上的待测物,收集洗脱液,待衍生。

移取标准溶液或洗脱液到 5 ml 具塞试管中,40 ℃下用氮气小心吹干;残渣中加入 100 μl 衍生剂,充分混匀,70 ℃衍生 2 h;衍生完后,取出放冷,将衍生剂氮吹至干;加入 1.0 ml 正己烷充分溶解残渣,进样 GC-MS 分析。

2 结果与讨论

2.1 GC-MS 检测滴水油指标的选择 辣椒素和二氢辣椒素是辣椒中天然存在的能够引起辛辣感的物质;壬酸香草酰胺(即脱甲基辣椒素)是不使用辣椒的情况下,人工合成的常用辣味食品添加剂,它们统称为辣椒素类物质,分子结构如图 1 所示。由其结构可知,这类物质都拥有长碳链结构和苯环结构。因此,它们都有非常理想的脂溶性。

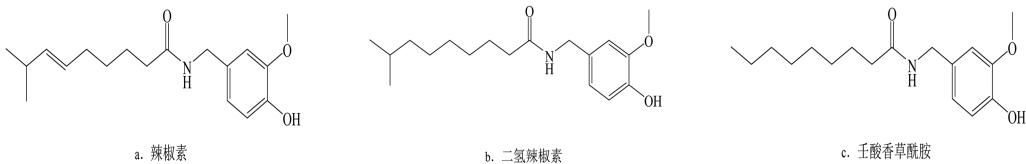


图 1 3 种辣椒素的分子结构式

辣椒素类物质是特殊的有辛辣感的物质,食用油脂在企业生产和加工过程中,均不会引入。因此,正常食用油脂中该类物质不得检出。烹饪过程中由于辣椒的使用,该类物质极易进入到油脂中,作为油脂已被使用的标记。而辣椒素类物质由于其良好的稳定性和脂溶性,在泔水各个流转、处理环节,均不能完全被清除;

加上辣椒作为一种食物,既可作主材,也可作配料,有着广泛使用性。因此,以辣椒素作为鉴定滴水油的标志物,有非常理想的指示价值。

2.2 样品的提取 辣椒素类物质结构式表明,该类物质除长碳链以及苯环等脂溶性基团外,还有酰胺基、羟基、甲氧基等强极性基团,因此,分子呈中等极性。相

比之下,油脂分子碳链更长,强极性基团少,分子极性更弱。因此,本文采用乙腈来提取弱极性油脂中的中等极性待测物。由于油脂粘稠度高,用乙腈直接提取其中的辣椒素类物质时,乙腈难以完全分散油脂而影响其提取效率。因此,本文在乙腈提取前,采用正己烷对油脂进行分散降低粘稠度后,再用乙腈进行提取。实验过程中,使用正己烷和乙腈时,先分别用乙腈饱和和正己烷,用正己烷饱和和乙腈。

2.3 样品净化 从图 1 辣椒素类物质的分子结构可知,该类物质中均含有一个酰胺基,该基团可与酸性阴离子基团形成离子键。因此,可采用键合有磺酸基填料的固相萃取小柱将样品中待测物进行保留,实现与乙腈提取液中非碱性杂质的分离。本文选用 Oasis MCX 柱为载体,进行固相萃取。

Oasis MCX 柱使用前,先后用 5 ml 二氯甲烷和 5 ml 乙腈活化;手动上样时,样液在固相小柱中自然流出即可,自动固相萃取仪,上样速度从 0.5~5 ml/min,回收率无变化;上样完全后,再用 5 ml 二氯甲烷、5 ml 乙腈淋洗小柱中残存的杂质;最后用 5 ml 1% 氨化甲醇洗脱小柱中待测物。洗脱液 40 ℃ 下氮气吹干,加入 100 μl 亲核衍生剂 BSTFA,70 ℃ 衍生 2 h,消除待测物分子中羟基在气相色谱分析中的干扰;衍生后,将衍生剂吹干,加入 1.0 ml 正己烷充分溶解残渣,进样 GC-MS 分析。

2.4 线性范围及检出限 用乙腈将浓度均为 10 μg/ml

表 3 油样中辣椒素类物质的加标回收率和精密度 (n=5)

名称	本底值 (mg/kg)	加标浓度 (0.025 mg/kg)			加标浓度 (0.50 mg/kg)		
		检测值 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)	检测值 (mg/kg)	回收率 (%)	相对标准偏差 (%)
壬酸香草酰胺	<0.001	0.026~0.029	104~116	4.2	0.47~0.52	94.0~104	4.5
辣椒素	<0.001	0.021~0.024	84.0~96.0	5.1	0.44~0.49	88.0~98.0	3.9
二氢辣椒素	<0.001	0.024~0.027	96.0~108	4.5	0.48~0.52	96.0~104	3.3

3 结 论

本文选择检测辣椒素类物质作为鉴定泔水油的外源性指标,以气相色谱-质谱仪为检测手段,综合考虑泔水油中各种复杂成分的理化性质,通过液液萃取、离子交换固相萃取等样品前处理技术,在保证待测物回收率的同时,充分净化了样品基质;通过羟基衍生化技术减少色谱柱对待测物造成拖尾作用的影响,有效保证了方法的灵敏度。新方法的检出限为 0.001 mg/kg,样品加标回收率为 84.0%~116%,相对标准偏差值≤5.1%。应用新方法可准确、快速地完成泔水油中辣椒素类物质的检测工作,能够有效鉴别流入市场的泔水油和掺兑泔水油的问题,可为有关部门对食用油监督

的辣椒素类物质混合标准溶液稀释配制成浓度为 0.012、0.025、0.050、0.10 以及 0.20 μg/ml 的混合标准系列,各系列点均取 1.0 ml 氮吹至干,衍生后进样测定,以辣椒素类物质浓度对衍生后辣椒素类物质色谱峰面积做线性回归,三种辣椒素均呈良好的线性关系。以 3 倍信噪比溶液浓度确定仪器检出限,10 倍信噪比溶液浓度确定仪器定量限,方法检出限和定量限见表 2。三种辣椒素衍生物的选择离子色谱图见图 2。

表 2 三种辣椒素的检出限、定量限、线性范围、线性方程及相关系数

名称	检出限 (mg/kg)	定量限 (mg/kg)	线性关系		
			线性范围 (mg/kg)	线性方程	系数
壬酸香草酰胺	0.001	0.003	0.003~0.2	y=11.732x+8.2083	0.9997
辣椒素	0.001	0.003	0.003~0.2	y=6.1169x-12.458	0.9996
二氢辣椒素	0.001	0.003	0.003~0.2	y=17.638x-40.333	0.9995

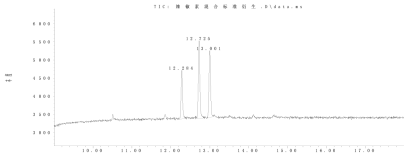


图 2 三种辣椒素衍生混合标准溶液的选择离子质谱图

2.5 方法精密度与回收率 对空白油样进行加标回收实验,分别取浓度为 0.50、10 μg/ml 辣椒素混合标准溶液 100 μl 加入到 2.0 g 空白油样中,每组平行做 5 份,同时做空白,按 1.3 处理后测定,并计算回收率,见表 3。

管理提供技术支持,保障广大消费者的身心健康。

参考文献

[1] 宋崇富,田志美,杨海城,等. 基于电导率测定的地沟油快速检测方法研究 [J]. 广州化工,2017,45 (2):104-106.

[2] 张慧,毛润乾,郑基焕,等. 地沟油高光谱透射检测分析 [J]. 粮食与油脂,2017,30 (5):31-32.

[3] 吴春英,白鹭,谷风,等. UPLC-MS/MS 测定地沟油中黄曲霉毒素和苯并芘 [J]. 食品工业,2017,38 (1):285-288.

[4] 王婉,于清峰,肖莹,等. 高效液相色谱-荧光衍生法快速测定地沟油中的长链脂肪醛 [J]. 分析化学,2017,45 (5):770-776.

[5] 陶玉仑,曹朕宇,凌方成,等. 聚苯胺传感器的制作及地沟油快速检测的应用 [J]. 广州化工,2019,47(11):115-120.