

地沟油模式识别技术的研究

骆 珊^{1,2}, 刘 芸^{2,3}, 张 培^{1,2}, 陈小芬^{2,3}, 刘晔玮^{1,*}, 邸多隆^{2,*}, 桑延永¹

(1. 兰州大学公共卫生学院, 营养与食品卫生学研究所, 甘肃兰州 730000;

2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 中科院西北特色植物资源化学重点实验室,

甘肃省天然药物重点实验室, 甘肃兰州 730000;

3. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要:借鉴中药指纹图谱的研究思路,在优选的色谱条件下,采用气相色谱法对16个样品进行分析,利用相似度软件筛选出12个共有峰,通过方法学验证,12个共有峰精密度、稳定性的RSD分别小于2.6%和6.1%。在此基础上,采用主成分分析(PAC)和偏最小二乘判别(PLS-DA),对16个样品的12个共有峰进行化学计量学研究,建立地沟油模式识别模型。利用所建立的地沟油模式识别模型对16个样品(7个正品油,9个地沟油)进行判别分析,结果表明:所建立的模型识别模型能较好的区分地沟油和正品油。本方法仅使用气相色谱(GC),结合化学计量学分析,简单快速,便于推广,可用于地沟油的快速鉴别。

关键词:地沟油,气相色谱,主成分分析,偏最小二乘判别分析,模式识别

Study on gutter oils pattern recognition

LUO Shan^{1,2}, LIU Yun^{2,3}, ZHANG Pei^{1,2}, CHEN Xiao-fen^{2,3}, LIU Ye-wei^{1,*}, DI Duo-long^{2,*}, SANG Yan-yong¹

(1. Institute of Nutrition and Food Hygiene, of Public Health, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Key Laboratory of Chemistry of Northwestern Plant Resources and Key Laboratory for Natural Medicine of Gansu Province,

Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China;

3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract:Based on the strategy of Chinese tradition medicine fingerprint, Gas chromatography (GC) fingerprint with 16 oil samples, including 7 kinds of edible oil and 9 kinds of illegal cooking oil, was established, in which the RSD of relative peak areas and retention time of 12 common peaks in precision and repeatability were less than 2.6% and 6.1%, respectively. Then, illegal cooking oil discrimination model was established, by processing data of 12 common peaks from 16 samples in principal component analysis (PAC) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). Results showed that the method was pattern recognition for identification edible oil and illegal cooking oil. This method was simple, fast, efficient and convenient popularization; it could be used for rapid identification of illegal cooking oil by only using gas chromatography (GC) combined with chemometrics analysis.

Key words: gutter oils; gas chromatography; principal component analysis; partial least squares discriminant analysis; pattern recognition

中图分类号: TS225.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)16-0053-04

油脂作为人体必需的六大营养素之一,是人体新陈代谢不可缺少的元素。在我国,人体对于脂肪的摄入主要来源于食用植物油。“地沟油”主要指餐馆的泔水经加工后返回到餐桌的劣质油。食用油经长时间高温使用后,由于氧化、聚合、水解等反应,油内含有分解成苯、芘、萘、蒽及硝酸盐和亚硝酸盐等有毒、有害、甚至是“三致”物质。近年来一些不法商贩非法加工“地沟油”,长期摄入“地沟油”会对人体健

康产生严重危害。因此,对于地沟油的检测技术研究迫在眉睫。由于食用油、地沟油化学成分十分复杂,加之不法商贩将不同比例的劣质油与食用油勾兑,仅仅用常规卫生学指标、理化指标判别食用油的品质和真伪是十分困难的。气相色谱(GC)因其灵敏度高、分析速度快、操作简便,在食用油掺假分析中得到较好应用^[1]。如黄道平等^[2]用气相色谱法测定地沟油中脂肪酸组成谱,张蕊等^[3]利用气相色谱法测定地沟油中的胆固醇。但是现有的检测方法均不能很好地区别食用油和地沟油。

近年来,随着化学计量学软件的发展,利用模式识别技术进行食用油的分类和质量鉴定越来越受到重视。如张国文等^[4]以色泽、水分、挥发物、密度、折光率、酸价、皂化值和过氧化值等理化性质为变量采用

收稿日期: 2013-03-22 * 通讯联系人

作者简介: 骆珊(1988-),女,在读硕士生,研究方向:食品污染物检测新方法和新技术。

基金项目: 中科院“百人计划”项目;兰州市城关区科技计划项目(2012-3-5)。

多种模式识别技术对合格菜籽油与酸败菜籽油样本进行模式识别;李红等^[5]利用顶空固相微萃取和气相色谱质谱联用技术,运用主成分分析法建立了泔水油挥发成分的指纹图谱评价模型。周志权等^[6]利用改进的BP神经网络与DAPCI-MS(表面解吸常压化学电离质谱)相结合,能够在无需任何样品预处理的条件下,直接对食用油类样品进行高通量分析。本研究借鉴中药指纹图谱的研究方法,仅易于推广操作的气相色谱法,采用SIMCA-P12.0软件对所得数据进行化学计量学分析,建立了地沟油和食用油的模式识别模型。并且,可同时对不同来源的正品油、地沟油进行模式识别,所以具有更加普遍性的意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

正品油、地沟油 信息见表1;无水甲醇、无水乙醚 利安隆博华医药化学有限公司,分析纯;正己烷 天津市凯信化学工业有限公司,分析纯;甲醇 烟台市双双化工有限公司,分析纯;氢氧化钾 北京化工厂,分析纯。

Agilent 7890A气相色谱仪 HP-INNOWAX毛细管色谱柱(30m×0.35mm×0.25μm),美国Agilent公司(包括自动进样器和Agilent Chemstation工作站);化学计量学数据处理采用SIMCA-P 12.0软件 Umetrics AB, Umeå, Sweden。

1.2 实验方法

1.2.1 样品前处理 精密量取样品0.5mL,置于50mL容量瓶中,加入5mL乙醚:正己烷(V:V=1:1),摇匀,然后加入5mL无水甲醇,摇匀,再加入5mL 0.8mol/L KOH-甲醇溶液,摇动5min,加水至刻度,静置分层,澄清后吸取上清液,待测^[7]。

1.2.2 色谱条件 色谱条件1:AT.FFAP毛细管色谱柱(30m×0.25mm×0.5μm);进样口温度:250℃;检测器温度:280℃;柱起始温度为40℃,保持5min,以20℃/min的速率程序升温至180℃,保持5min,再以3℃/min的速率程序升温至240℃,保持20min;载气为氮气(99.999%),流量3mL/min;进样量1μL。

色谱条件2:HP-INNOWAX毛细管色谱柱(30m×0.35mm×0.25μm);进样口温度:250℃;检测器温度:280℃;柱起始温度:100℃,以5℃/min速率程序升温至240℃,保持5min;分流比:1:10,载气为氮气(99.99%),

流量3mL/min;进样量1μL。

1.2.3 指纹图谱建立 16个样品按照1.2.1项样品前处理方法和1.2.2项中色谱条件2分别制备样品和进样分析,以16个样品气相色谱图谱中各色谱峰出峰频次,利用指纹图谱相似度软件筛选样品的共有峰。选择峰面积、保留时间适宜的7号峰为参比峰,计算共有峰相对保留时间 $tr(tr=tri/trs)$ 和相对峰面积 $Ar(Ar=Ai/As)$ 。

1.2.3 模式识别模型建立 利用SIMCA-P12.0软件,采用主成分分析(PAC)和偏最小二乘判别(PLS-DA),以16个样本的12个共有峰的平均峰面积为指标对数据进行分析,建立模式识别模型。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的优化及结果

将按1.2.1项处理后的样品在GC上进样分析,以获取最多色谱峰和最佳分离条件为目标,优选最适宜色谱柱和最佳分析条件。

本研究对样品在AT.FFAP毛细管色谱柱(30m×0.25mm×0.5μm)和HP-INNOWAX毛细管色谱柱(30m×0.35mm×0.25μm)上的不同色谱行为进行了比较,优化了色谱条件。色谱条件1和色谱条件2:见1.2.2项。结果显示,选择色谱条件2,即HP-INNOWAX毛细管色谱柱(30m×0.35mm×0.25μm),柱起始温度为100℃,以5℃/min的速率程序升温至240℃,保持5min的等温升温模式可获得最多色谱峰,达到最好的分离效果。

利用指纹图谱相似度软件筛选,得到12个共有峰,见图1。12个共有峰相对保留时间 $tr(tr=tri/trs)$ 和

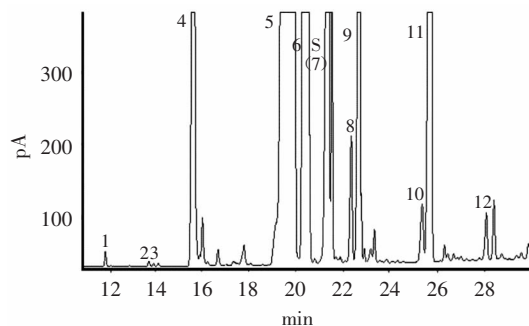


图1 样品气相色谱图

Fig.1 Gas chromatographic chromatogram of samples

表1 样品信息

Table 1 Information of samples

编号	正品油品名	来源	编号	地沟油来源
1	菜籽油	超市	8	兰州市食品药品监督管理局提供
2	黄豆油	超市	9	甘肃驰奈生物能源系统有限公司提供
3	玉米油	超市	10	甘肃驰奈生物能源系统有限公司提供
4	葵花籽油	超市	11	甘肃驰奈生物能源系统有限公司提供
5	花生油	超市	12	甘肃驰奈生物能源系统有限公司提供
6	坚果色拉油	超市	13	甘肃驰奈生物能源系统有限公司提供
7	胡麻油	超市	14	兰州市食品药品监督管理局提供
			15	兰州市食品药品监督管理局提供
			16	兰州市食品药品监督管理局提供

相对峰面积 $Ar(Ar=A_i/A_s)$ 见表2、表3。

2.2 方法学评价

2.2.1 精密度实验 取同一样品油,按1.2.1项方法处理后,在1.2.2项中色谱条件2下连续进样3次,分别考察色谱峰的相对保留时间、相对峰面积。12个共有峰相对保留时间的RSD均小于1%;12个共有峰相对峰面积的RSD小于2.6%。

2.2.2 稳定性实验 取同一样品油,按1.2.1项方法处理制备供试品溶液,分别在0、2、4、8、16、24h在1.2.2项中色谱条件2下进样分析,考察色谱峰的相对

保留时间、相对峰面积,结果12个共有峰在0、2、4、8、16、24h的相对保留时间的RSD($n=5$)均不超过2.7%;12个共有峰在0、2、4、8h相对峰面积的RSD均不超过6.1%。12个共有峰在16h时的相对峰面积的RSD大于10%,表明样品溶液在8h内基本稳定。

2.2.3 重现性实验 取同一样品油,分为5份,按1.2.1项方法处理制备供试品溶液5份,考察色谱峰的相对保留时间、相对峰面积。相对保留时间重现性实验结果的RSD均小于1%,相对峰面积重现性实验结果的RSD均小于3.8%。

表2 样品12个共有峰相对保留时间(min)
Table 2 The relative retention time of 12 samples

样品	峰号											
	1	2	3	4	5	6	7(S)	8	9	10	11	12
1	0.56	0.73	0.78	0.83	0.93	0.96	1.00	1.04	1.06	1.19	1.20	1.31
2	0.56	0.74	0.75	0.81	0.92	0.96	1.00	1.04	1.06	1.18	1.21	1.31
3	0.56	0.74	0.76	0.82	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
4	0.56	0.74	0.75	0.82	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
5	0.56	0.74	0.76	0.82	0.94	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
6	0.56	0.74	0.75	0.81	0.92	0.97	1.00	1.04	1.06	1.18	1.20	1.31
7	0.55	0.73	0.75	0.81	0.92	0.95	1.00	1.04	1.05	1.18	1.19	1.30
8	0.56	0.74	0.76	0.82	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.31
9	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.97	1.00	1.04	1.06	1.18	1.20	1.31
10	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.96	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
11	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.96	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
12	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.96	1.00	1.04	1.06	1.19	1.20	1.32
13	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
14	0.56	0.75	0.76	0.82	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.31
15	0.56	0.74	0.76	0.82	0.93	0.97	1.00	1.05	1.06	1.19	1.20	1.32
16	0.56	0.75	0.76	0.82	0.93	0.97	1.00	1.04	1.06	1.19	1.20	1.32
均值	0.56	0.74	0.76	0.81	0.93	0.97	1.00	1.04	1.06	1.19	1.20	1.32
RSD(%)	0.20	0.47	0.70	0.52	0.43	0.47	0.00	0.40	0.30	0.37	0.40	0.41

表3 样品12个共有峰相对峰面积(pA)
Table 3 The relative peak area of 12 samples

样品	峰号											
	1	2	3	4	5	6	7(S)	8	9	10	11	12
1	0.01	0.67	0.01	0.02	9.15	2.88	1.00	0.10	0.49	0.05	0.90	25.16
2	0.02	1.69	0.02	0.01	4.16	7.87	1.00	0.06	0.04	0.06	0.02	8.45
3	0.05	18.41	0.16	0.10	43.96	82.97	1.00	0.61	0.81	0.20	0.11	15.90
4	0.24	25.00	0.27	0.21	125.12	239.35	1.00	1.60	0.94	3.76	0.49	17.72
5	0.12	30.23	0.23	0.20	120.68	98.54	1.00	4.62	2.67	8.35	0.53	122.46
6	0.01	1.71	0.02	0.01	4.60	8.47	1.00	0.08	0.05	0.11	0.01	19.83
7	0.00	0.32	0.00	0.00	1.08	1.32	1.00	0.01	0.04	0.01	0.09	12.68
8	0.21	4.69	0.32	0.06	9.89	10.83	1.00	0.10	0.27	0.07	0.37	15.31
9	0.21	4.66	0.31	0.07	9.83	10.78	1.00	0.10	0.26	0.07	0.36	10.76
10	0.21	4.70	0.32	0.07	9.95	10.83	1.00	0.10	0.27	0.07	0.37	9.35
11	0.20	4.62	0.31	0.06	9.73	10.68	1.00	0.10	0.26	0.07	0.36	13.68
12	0.21	4.63	0.31	0.07	9.76	10.69	1.00	0.10	0.26	0.07	0.36	12.82
13	4.89	136.52	3.95	0.54	120.96	364.06	1.00	1.76	1.28	0.43	0.33	16.73
14	0.26	10.06	0.44	0.04	22.97	22.86	1.00	0.19	0.38	0.09	0.56	9.20
15	0.81	32.13	1.57	0.12	74.54	67.09	1.00	0.54	0.43	0.23	0.07	8.03
16	0.28	8.75	0.25	0.04	11.38	23.73	1.00	0.15	0.38	0.09	0.66	12.17
均值	0.48	18.05	0.53	0.10	36.74	60.81	1.00	0.64	0.55	0.86	0.35	20.64

2.3 模式识别

2.3.1 主成分分析 运用SIMCA-P12.0软件对16个样品的12个共有峰峰面积数据进行中心化和规格化后,进行主成分分析(PAC)。以主成分矢量为坐标轴作图得主成分得分图(见图2),主成分得分图反映了类别间的差异^[9],各样本之间的距离越接近表明其相似性越好。

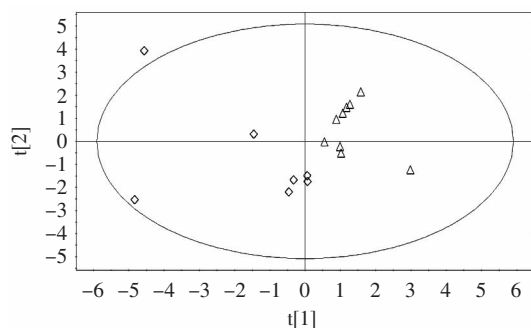


图2 主成分分析得分图

Fig.2 PCA score plot

注:△为地沟油样品;◇为食用油样品;图3同。

图2中t为得分图的得分,在x,y空间上的得分分别为t[1]和t[2]。从图2可以看出,食用油样品和地沟油样品有明显的区域分布。食用油经过再回收的复杂过程之后,其中的脂类等物质发生了改变,使得食用油样品和地沟油样品在组成成分上存在差异。主成分分析(PCA)得分图显示地沟油样品与食用油样品分别聚成一类,完全分离^[9]。说明利用本方法能够正确地区分食用油样品和地沟油样品。

2.3.2 偏最小二乘判别分析 运用SIMCA-P12.0软件对16个样品的12个共有峰峰面积数据进行主成分分析后,进行偏最小二乘判别分析,得最小二乘判别分析得分散点图(见图3)。

由图3可见,在偏最小二乘判别(PLS-DA)统计模型中,食用油样品和地沟油样品两组间的差异得到了最大化的体现,两组样品明显被分为两类。表明实验建立的PLS-DA模型预测能力良好。所建模型采用交叉交叉方法进行验证(y变量的顺序任意置换199次,X矩阵保持不变),结果表明模型稳健、有效且未发生过拟合。因此,利用本方法建立的模式识别模型能够准确的鉴别食用油和地沟油。

3 结论

本方法借鉴中药指纹图谱概念,仅用常用的气

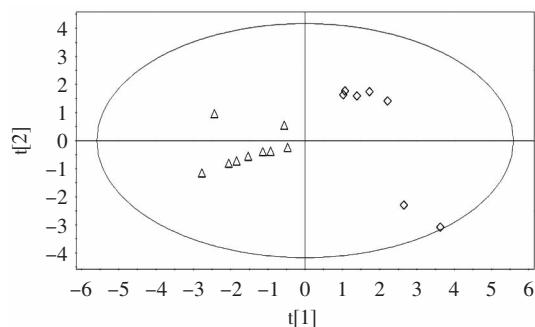


图3 最小二乘判别分析得分散点图

Fig.3 PLS-DA Score plot

相色谱技术,结合化学计量学方法,采用SIMCA-P12.0软件进行数据分析成功建立了食用油和地沟油的模式识别模型。本研究虽为小样本量的实验,但一定程度上可以反映出地沟油和食用油之间的显著性差异,且该研究方法简单快速高效,适用于地沟油的快速检测。后续工作中将继续积累地沟油样品,随着样本数目的增加,所建化学计量学模型将不断修正,模型的有效性也将继续得到验证。

参考文献

- [1] 王斌,杨冠军,叶志能. 油炸过程中油的质量变化及其监测方法[J]. 食品工业科技,2007,28(10):232-234.
- [2] 黄道平,彭进,谢燕湘,等. 滴水油鉴别检测方法研究[J]. 中国卫生检验杂志,2006,16(2):151-153.
- [3] 张蕊,祖丽亚,樊铁,等. 测定胆固醇含量鉴别地沟油的研究[J]. 中国油脂,2006,31(5):65-67.
- [4] 张国文,倪永年,涂北平. 食用植物油的分类和质量鉴别的模式识别研究[J]. 食品科学,2005,26(1):71-75.
- [5] 李红,屠大伟,李根容,等. 固相微萃取及主成分分析用于滴水油GC-MS指纹图谱的分析[J]. 计量学报,2010,31(5A):101-105.
- [6] 周志权,张婷婷,贾滨,等. 人工神经网络用于直接化学电离质谱分析食用油品质的研究[J]. 分析化学,2011,39(11):1665-1669.
- [7] 吴惠勤,黄晓兰,陈江韩,等. SPME/GC-MS鉴别地沟油新方法[J]. 分析测试学报,2012,13(1):1-6.
- [8] 张丽增,张慧芳,刘晓节,等. 基于HPLC指纹图谱多软件分析的山西远志药材质量均一性评价[J]. 山西医科大学学报,2012,43(7):498-502.
- [9] 吴宏伟,李洪梅,唐力英,等. 代谢组学方法研究姜黄根茎及块根次生代谢产物表达差异[J]. 分析化学,2012,40(5):713-717.

(上接第52页)

- [10] 生化-HPLC法测定[J]. 中国医药工业杂志,2011,42(1):54-56.
- [11] 钟其顶,高红波,熊正河,等. PIBC柱前衍生高效液相色谱法测定黄酒中17种氨基酸的研究[J]. 酿酒,2010,37(5):74-76.
- [12] 景延秋,高玉珍. 反相高效液相色谱法在测定白肋烟烟叶游离氨基酸含量中的应用[J]. 河南农业大学学报,2007,41(5):503-505.
- [13] 仲岳桐,何彩. 高效液相色谱法检测食品中氨基酸的方法研究[J]. 中国热带医学,2008,8(1):132-134.

- [14] 夏琴,庄韶华. 高锰酸盐指数分析时加标回收率的测定[J]. 中国环境监测,2006,22(5):38-39.
- [15] 郑小江,向东山,肖浩. 景阳鸡氨基酸组成分析及营养价值评价[J]. 食品科学,2010,31(17):373-375.
- [16] 叶爱英,丁敬敏,吴芳珍. 柱前衍生化高效液相色谱法测定百合中的氨基酸含量[J]. 广东化工,2010,37(9):149-151.
- [17] 赵田,史宏志,姬小明,等. 不同类型烟草游离氨基酸组成和含量的差异分析[J]. 中国烟草学报,2011,17(2):13-16.