



# (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105486744 B

(45)授权公告日 2019.07.02

(21)申请号 201410538320.2

(22)申请日 2014.10.13

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105486744 A

(43)申请公布日 2016.04.13

(73)专利权人 香港理工大学深圳研究院

地址 518000 广东省深圳市南山区高新园  
南区粤兴一道18号香港理工大学产学  
研大楼205室

(72)发明人 姚钟平 吴子浚 苏培坚

(74)专利代理机构 深圳中一专利商标事务所

44237

代理人 张全文

(51)Int.Cl.

G01N 27/64(2006.01)

(56)对比文件

Folahan O. Ayorinde et.

al..Determination of the fatty acid  
composition of saponified vegetable oils  
using matrix-assisted laser desorption/  
ionization time-of-flight mass

spectrometry.《RAPID COMMUNICATIONS IN  
MASS SPECTROMETRY》.2000,第14卷608-615.

胡晓等.沙门菌MALDI-TOF-MS标准菌库的建  
立及应用研究.《卫生研究》.2014,第43卷(第1  
期),401-409.

Beate Fuchs et. al..An update of  
MALDI-TOF mass spectrometry in lipid  
research.《Progress in Lipid Research》  
.2010,第49卷450-475.

Changli Shao et. al..The Use of  
Principal Component Analysis in MALDI-TOF  
MS: a Powerful Tool for Establishing a  
Mini-optimized Proteomic Profile.《Am J  
Biomed Sci》.2012,第4卷85-101.

G. Reid Asbury, et. Al.,.Analysis of  
Triacylglycerols and Whole Oils by  
Matrix-Assisted Laser Desorption/  
Ionization Time of Flight Mass  
Spectrometry.《J Am Soc Mass Spectrom》  
.1999,第10卷983-991. (续)

审查员 蒋超

权利要求书2页 说明书6页 附图6页

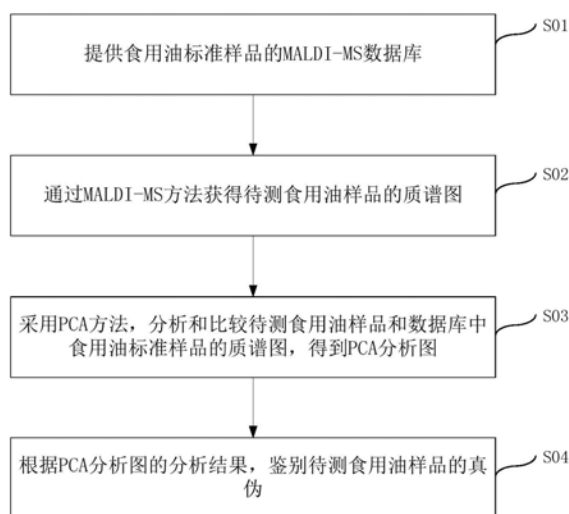
(54)发明名称

鉴别食用油的方法

(57)摘要

本发明提供了一种鉴别食用油的方法,包  
括:提供食用油标准样品的MALDI-MS数据库;通  
过MALDI-MS方法,获得待测食用油样品的质谱  
图;采用PCA方法,分析和比较所述待测食用油样  
品和所述MALDI-MS数据库中所述食用油标准样  
品的质谱图,获得PCA分析图;通过所述PCA分析  
图,鉴别所述待测食用油样品的真伪,识别所述  
待测食用油样品为所述食用油标准样品、假冒食  
用油、掺假食用油或者回收食用油。本发明建立  
了食用油的新型MALDI-MS样品制备方法,结合  
PCA方法,可快速、简便、准确地鉴别食用油的真  
伪。

CN 105486744 B



[待续页]

[接上页]

(56)对比文件

Tiao-Lai Huang et al.Principle component analysis combined with matrix-assisted laser desorption ionization mass spectrometry for rapid diagnosing the sera of patients with major depression.《Clinica Chimica Acta》.2013,第424卷175-

181.

Jackson O. Lay Jr. et. Al..Rapid characterization of edible oils by direct matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis using triacylglycerols.《Rapid Communications in Mass Spectrometry》.2006,第20卷952-958.

1. 一种鉴别食用油的方法,其特征在于,包括:  
提供食用油标准样品的基质辅助激光解吸电离质谱MALDI-MS数据库;  
通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图;  
采用主成分分析PCA方法,分析和比较所述待测食用油样品和所述MALDI-MS数据库中所述食用油标准样品的质谱图,获得PCA分析图;  
通过所述PCA分析图鉴别所述待测食用油样品的真伪,识别所述待测食用油样品为所述食用油标准样品、假冒食用油、掺假食用油或者回收食用油;  
其中,所述通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图的过程包括:  
将第一基质溶液加载到MALDI基板上,第一基质结晶形成第一基质层,所述第一基质溶液为2,5-二羟基苯甲酸溶液;  
将所述待测食用油样品滴加到所述第一基质层上;  
将滴加有所述待测食用油样品的MALDI基板加载到质谱仪中,通过MALDI-MS方法获得所述待测食用油样品的质谱图;  
提供所述食用油标准样品的MALDI-MS数据库的过程包括:  
将第二基质溶液加载到MALDI基板上,第二基质结晶形成第二基质层,所述第二基质溶液为2,5-二羟基苯甲酸溶液;  
将所述食用油标准样品滴加到所述第二基质层上;  
将滴加有所述食用油标准样品的MALDI基板加载到所述质谱仪中,通过所述MALDI-MS检测方法获得所述食用油标准样品的质谱图;  
存储不同种类的所述食用油标准样品的质谱图,形成所述食用油标准样品的MALDI-MS数据库;  
所述待测食用油样品和食用油标准样品均未用溶剂处理。
2. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:所述第一基质溶液为50mg/mL至400mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸溶液,溶剂为乙腈/水二元混合液或丙酮,所述第一基质溶液的加载体积为0.1至5微升。
3. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:滴加的所述待测食用油样品的体积为0.1至5微升。
4. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:所述第二基质溶液为50mg/mL至400mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸溶液,溶剂为乙腈/水二元混合液或丙酮,所述第二基质溶液的加载体积为0.1至5微升。
5. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:滴加的所述食用油标准样品的体积为0.1至5微升。
6. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:采用所述PCA方法,分析和比较所述待测食用油样品和所述MALDI-MS数据库中所述食用油标准样品的质谱图的峰强度,获得所述PCA分析图。
7. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:所述通过所述PCA分析图鉴别所述待测食用油样品真伪的过程为:通过所述PCA方法得到所述食用油标准样品在所述PCA分析图上的椭圆置信区间,如果所述待测食用油样品在所述PCA分析图上位于所述椭圆置信区间之外,则所述待测食用油样品与所述椭圆置信区间所代表的所述食用油标准样品的

种类不符,为所述假冒食用油、所述掺假食用油或所述回收食用油;如果所述待测食用油样品在所述PCA分析图上位于所述食用油标准样品分布范围之内,则所述待测食用油样品为所述椭圆置信区间所代表的所述食用油标准样品的种类。

8. 如权利要求1所述的鉴别食用油的方法,其特征在于:所述MALDI-MS方法的检测目标为所述食用油标准样品或者所述待测食用油样品中的甘油三酯TAGs。

## 鉴别食用油的方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于食用油检测技术领域,具体涉及一种鉴别食用油的方法。

### 背景技术

[0002] 鉴别食用油的真伪是食品分析领域的重要任务。目前,市售食用油存在假冒(用价格低、品质低的食用油冒充价格高、品质高的食用油)和掺假(价格高、品质高的食用油中掺杂价格低、品质低的食用油)等问题,特别是近年来频频曝光的地沟油(属于回收油)问题,引起广大社会对商用食用油品质和安全的高度关注。因此,研发快速、简便、准确鉴定食用油的检测技术势在必行。识别假冒、掺假或回收(包括地沟油)食用油,帮助鉴别市售食用油是否以假乱真、以次充好,避免消费者受到虚假信息的欺骗和有害回收油的毒害。

[0003] 目前,鉴定食用油的常用技术是气相色谱法和液相色谱法。但是,上述方法需要耗时的色谱分离过程及化学衍生化,使其无法实现快速地鉴别食用油。当需要处理大量的样品时,检测技术的快速和高通量至关重要,可以大幅提高检测效率,缩短分析时间。同时,现有技术中缺少广泛认可和采用的识别回收油(包括地沟油)的方法。虽然已有通过检测油中食品成分的残留物和热反应产物来识别回收油的报道,但是该技术受限于特定种类的回收油,并需要较长的分析时间,特别是回收油经过提纯工序之后,该技术可能检测不到食品残留物及其热反应产物。

[0004] 另一方面,基质辅助激光解吸电离质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry, MALDI-MS)方法能够在不采用化学衍生化和色谱分离的基础上,快速、简便地检测食用油。现有技术已经采用MALDI-MS区分不同种类的纯食用油,并且检测结果清楚、灵敏,这表明MALDI-MS方法是一种出众的快速区分纯食用油的技术。但是,目前通常采用MALDI-MS方法分析食用油时,样品制备过程中需要对待检测样品进行溶解,与基质溶液混合、均匀化,及基质结晶。当处理大量样品时,上述的步骤非常繁琐,需要消耗大量的时间和人力。此外,现有技术中也没有可用的食用油标准样品的质谱图数据库。

### 发明内容

[0005] 本发明实施例的目的在于克服现有技术的上述不足,提供一种鉴别食用油的方法,可以鉴别食用油的真伪,从而识别假冒、掺假或回收(包括地沟油)食用油。

[0006] 为了实现上述发明目的,本发明实施例的技术方案如下:

[0007] 提供食用油标准样品的MALDI-MS数据库;

[0008] 通过MALDI-MS方法,获得待测食用油样品的质谱图;

[0009] 采用PCA(Principal Component Analysis)方法,分析和比较所述待测食用油样品和所述MALDI-MS数据库中所述食用油标准样品的质谱图,获得PCA分析图;

[0010] 通过所述PCA分析图,鉴别所述待测食用油样品的真伪,识别所述待测食用油样品为所述食用油标准样品、假冒食用油、掺假食用油或者回收食用油。

[0011] 本发明实施例的方法通过MALDI-MS方法检测待测食用油样品,快速、简便。采用

PCA方法对MALDI-MS检测结果进行统计分析,可以准确地鉴别食用油的真伪,从而识别假冒、掺假或回收(包括地沟油)食用油,帮助鉴别市售食用油是否以假乱真、以次充好,是否为其标签所标注的食用油种类,避免消费者受到虚假信息的欺骗和有害回收油的毒害。

## 附图说明

[0012] 下面将结合附图对本发明作进一步说明,附图中:

[0013] 图1为本发明实施例的鉴别食用油的方法的流程图;

[0014] 图2为本发明实施例的采用MALDI-MS方法获得的食用油标准样品的典型质谱图,其中,a)花生油的质谱图( $m/z$ 范围500-1000Da),b)图a)中TAGs区域的放大图;

[0015] 图3为本发明实施例的采用MALDI-MS方法获得的食用油标准样品的典型质谱图,其中,a)花生油,b)玉米油,c)芥花籽油,d)大豆油,e)橄榄油,f)葵花籽油,g)猪油;

[0016] 图4为本发明实施例的采用MALDI-MS方法获得的回收油的典型质谱图,其中,a)回收油样品1,b)回收油样品2,c)回收油样品3,d)回收油样品4,e)回收油样品5;

[0017] 图5为本发明实施例的采用PCA方法分析MALDI-MS结果得到的区分不同种类的食用油标准样品的PCA分析图;

[0018] 图6为本发明实施例的采用PCA方法分析MALDI-MS结果得到的区分混合油和食用油标准样品的PCA分析图,其中,实心点表示的分别是橄榄油、芥花籽油和葵花籽油标准样品(即纯橄榄油、纯芥花籽油和纯葵花籽油);M1-M3的空心点表示的是市售食用调和油(即混合油,含橄榄油成分);其它的空心点表示的是橄榄油标准样品和芥花籽油标准样品的混合油,橄榄油含量分别为67%、50%、33%和20%;

[0019] 图7为本发明实施例的采用PCA方法分析MALDI-MS结果,得到的区分回收烹调用油和食用油标准样品的PCA分析图,其中,实心的样品点表示的是食用油标准样品,空心的样品点表示的是回收烹调用油。

## 具体实施方式

[0020] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白,以下结合附图及实施例,对本发明进行进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0021] 如图1所示,为本发明实施例的鉴别食用油的方法的流程图。本发明实施例的鉴别食用油的方法,包括如下的步骤:

[0022] 步骤S01:提供食用油标准样品的MALDI-MS数据库;

[0023] 步骤S02:通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图;

[0024] 步骤S03:采用PCA方法,分析和比较待测食用油样品和MALDI-MS数据库中食用油标准样品的质谱图,获得PCA分析图;

[0025] 步骤S04:通过PCA分析图鉴别待测食用油样品的真伪,识别待测食用油样品为食用油标准样品、假冒食用油、掺假食用油或者回收食用油。

[0026] 其中,假冒食用油指的是用价格低、品质低的食用油冒充价格高、品质高的食用油;掺假食用油指的是用价格高、品质高的食用油中掺兑价格低、品质低的油;回收食用油指的是使用过的食用油重新装瓶销售,包括地沟油等。

[0027] 本发明实施例的方法通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图,快速、简便;采用PCA方法对MALDI-MS检测结果进行统计分析,比较待测食用油样品与食用油标准样品是否存在显著性差异,从而鉴别待测食用油样品的真伪,可以准确地鉴别待测食用油样品是否是其标签所标注的食用油种类。本发明实施例的方法,五分钟之内就可以分析一个样品。当处理大量样品时,可以预先在MALDI基板上加载好基质结晶层,检测时直接将食用油样品加载到基质层上,可进一步缩短检测时间,提高检测效率。具体地,步骤S01的过程为:

[0028] 步骤S11:将第二基质溶液加载到MALDI基板上,溶剂挥发后,第二基质结晶形成第二基质层;

[0029] 步骤S12:将食用油标准样品滴加到第二基质层上;

[0030] 步骤S13:将MALDI基板加载到质谱仪中,通过MALDI-MS方法获得食用油标准样品的质谱图;

[0031] 步骤S14:存储不同种类的食用油标准样品的质谱图,形成食用油标准样品的MALDI-MS数据库。

[0032] 其中,第二基质溶液为50mg/mL至400mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸溶液(即溶质为2,5-二羟基苯甲酸),溶剂为丙酮或乙腈/水二元混合液。乙腈/水二元混合液中的水的体积百分含量范围为0~70%。第二基质溶液的加载体积为0.1至5微升。滴加的食用油标准样品的体积为0.1至5微升。

[0033] 优选的,第二基质溶液为200mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸的丙酮溶液。优选的,第二基质溶液的加载体积为1微升。优选的,滴加的食用油标准样品的体积为1微升。

[0034] 具体地,该食用油标准样品可以是花生油、芥花籽油、橄榄油、玉米油、大豆油、葵花籽油、猪油等等。

[0035] 本发明实施例通过步骤S01可以获得多种食用油标准样品的质谱图,并可以建立相应的谱图库,依据该数据库可以明确的鉴别待测食用油样品与其标签是否匹配。

[0036] 具体地,步骤S02的过程为:

[0037] 步骤S21:将第一基质溶液加载到MALDI基板上,溶剂挥发后,第一基质结晶形成第一基质层;

[0038] 步骤S22:将待测食用油样品滴加到第一基质层上;

[0039] 步骤S23:将MALDI基板加载到质谱仪中,通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图。

[0040] 其中,第一基质溶液为50mg/mL至400mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸溶液(即溶质为2,5-二羟基苯甲酸),溶剂为丙酮或乙腈/水二元混合液。乙腈/水二元混合液中的水的体积百分含量范围为0~70%。第一基质溶液的加载体积为0.1至5微升。滴加的待测食用油样品的体积为0.1至5微升。

[0041] 优选的,第一基质溶液为200mg/mL的2,5-二羟基苯甲酸的丙酮溶液。优选的,第一基质溶液的加载体积为1微升。优选的,滴加的待测食用油样品的体积为1微升。

[0042] 现有技术中,在制备用于MALDI-MS检测的样品,需要将待测样品和基质溶液均匀混合,滴加到MALDI基板上,等溶剂挥发且基质形成结晶,才能加载在质谱仪上进行检测。而且对于油类待测样品,为了使样品和基质可以混合均匀,往往还需预先用有机溶剂萃取样

品,使其充分溶解。因此,传统的食用油MALDI-MS检测的样品制备过程非常繁琐和耗时。

[0043] 本发明实施例的步骤S01和步骤S02在MALDI-MS检测的食用油样品制备过程中,不需要预先用有机溶剂萃取待测样品、混合和均匀化样品溶液和基质溶液、混合溶液在MALDI基板上溶剂挥发和基质形成结晶等复杂过程,而是直接将待测样品滴加在基质结晶层表面即可,简化了操作流程,样品与基质并无混合,分别是上、下两个单独层。实际检测过程中,可以预先在MALDI基板(含有多个检测凹点)形成基质结晶层,食用油样品无需做任何处理,直接加载到检测凹点的基质层上,即可进行检测。每个食用油样品的样品制备在5秒钟之内就可以完成,如果使用自动化点样设备,可更加缩短每个食用油样品的处理时间。虽然本发明实施例省略了溶解样品、混合样品溶液和基质溶液的过程,但是激光会将样品消融气化(ablation)进而离子化,因此省略溶解和混合步骤不会对测试结果有影响。本发明实施例的实验结果也证明了省略上述步骤,仍然可以得到高质量、准确的质谱图。此外,本发明实施例的样品制备技术由于非常简便和规范,很容易实现自动化点样,是一种快速、高通量、样品消耗少、重现性好的分析技术。

[0044] 本发明实施例所用的质谱仪是Waters MALDI Micro MX。检测过程中,该质谱仪的相关参数包括:

[0045] 极性:正极;激光波长:337纳米;激光能量:260%-280%;采用反射模式;反射电压:-5200伏特;飞行管电压:12000伏特;脉冲电压:2000伏特;检测器电压:2350伏特。

[0046] 步骤S01和步骤S02中,MALDI-MS方法的检测目标为食用油标准样品或者待测食用油样品中的甘油三酯TAGs。因为TAGs是食用油中的主要成分,不同种类的食用油中所含的TAGs的分布不同,这种差异在MALDI-MS检测中具体反映为TAGs的质谱峰强度的分布差异。通过MALDI-MS方法检测食用油时,TAGs的质谱峰是食用油的特征质谱峰,所以TAGs可作为鉴别食用油的标记化合物。

[0047] 具体地,步骤S03过程中,采用PCA方法,分析和比较待测食用油样品和MALDI-MS数据库中食用油标准样品的质谱图的TAGs质谱峰强度,获得PCA分析图。

[0048] 通过PCA统计学方法,归纳并具象出不同种类食用油TAGs质谱峰强度的分布特征,进而鉴别食用油的种类。步骤S03中的PCA方法为现有技术中的常用的统计方法,是一种已有的数据处理技术。常用的统计软件,比如R、SPSS和SIMCA都能进行PCA统计计算。本发明实施例的PCA分析结果是通过SIMCA 13.0软件进行PCA计算得到的。将MALDI-MS检测得到的TAGs质谱峰强度输入软件,计算即可得到结果。

[0049] 具体地,步骤S04的过程中,通过PCA分析图可得到食用油标准样品在PCA分析图上的椭圆置信区间。如果待测食用油样品在PCA分析图上位于椭圆置信区间之外,则待测食用油样品与椭圆置信区间所代表的食用油标准样品的种类不符,为假冒、掺假或回收(包括地沟油)食用油;如果待测食用油样品在PCA分析图上位于食用油标准样品分布范围之内,则待测食用油样品为该椭圆置信区间所代表的食用油标准样品的种类。

[0050] 下面以具体实施例对发明的技术方案做进一步说明。

[0051] 实施例1

[0052] 步骤S101:通过MALDI-MS方法采集花生油、芥花籽油、橄榄油、玉米油、大豆油、葵花籽油、猪油标准样品(即单一品种的纯食用油)的质谱图,并将上述各食用油标准样品的质谱图组建成MALDI-MS数据库。以花生油为例,如图2所示,为本发明实施例的采用MALDI-



MS方法获得的食用油标准样品的典型质谱图。其中,a)花生油的质谱图( $m/z$ 范围500-1000Da),b)图a)中TAGs区域的放大图。图b)中的DAGs表示的是甘油双酯。如图3所示,为本发明实施例的采用MALDI-MS方法获得的食用油标准样品的典型质谱图,其中,a)花生油,b)玉米油,c)芥花籽油,d)大豆油,e)橄榄油,f)葵花籽油,g)猪油。

[0053] 步骤S102:通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图。实施例1中的该待测食用油样品为混合油。其中,M1-M3是市售食用调和油(即混合油,含橄榄油成分);另外,还人为混合橄榄油标准样品和芥花籽油标准样品,调配成混合油,橄榄油含量分别为67%、50%、33%和20%。

[0054] 步骤S103:采用PCA方法,分析和比较待测食用油样品和MALDI-MS数据库中食用油标准样品的质谱图,获得PCA分析图。图5为本发明实施例采用PCA方法分析MALDI-MS结果得到的区分不同种类的食用油标准样品的PCA分析图。从图5可以看出,每一种特定种类的食用油标准样品(即单一品种的纯食用油)在PCA分析图中都位于相应的椭圆置信区间中。因此,可以认为本发明的方法在用于区分不同品种纯食用油时(即食用油假冒现象),具有较高的准确率。另外,图6为本发明实施例采用PCA方法分析MALDI-MS结果得到的区分混合油和食用油标准样品的PCA分析图。其中,M1-M3的空心点表示的是市售食用调和油(即混合油,含橄榄油成分),其它的空心点表示的是橄榄油标准样品和芥花籽油标准样品的混合油,橄榄油含量分别为67%、50%、33%和20%。从图6中可以看出,无论是市售的混合油还是人为配制的混合油,其样品点都位于食用油标准样品(即单一品种的纯食用油)的椭圆置信区间的区域外。因此,可以认为本发明的方法在用于区分混合油和食用油标准样品(即纯食用油)时(即食用油掺假现象),具有较高的准确率。

[0055] 实施例2

[0056] 步骤S201:同实施例1的步骤S101。

[0057] 步骤S202:通过MALDI-MS方法获得待测食用油样品的质谱图。实施例2中的待测食用油样品为回收烹调用油。如图4所示,为本发明实施例的采用MALDI-MS方法获得的回收油的典型质谱图,其中,a)回收油样品1,b)回收油样品2,c)回收油样品3,d)回收油样品4,e)回收油样品5。

[0058] 步骤S203:通过PCA方法,对待测食用油样品和MALDI-MS数据库中食用油标准样品的质谱图进行分析、比较,获得PCA分析图。图7为本发明实施例采用PCA方法分析MALDI-MS结果得到的区分回收烹调用油和食用油标准样品的PCA分析图。其中,实心的样品点表示的是食用油标准样品(即单一品种的纯食用油),空心的样品点表示的是回收烹调用油。如图7所示,回收烹调用油的样品点完全落在食用油标准样品的椭圆置信区间之外。因此,可以认为本发明的方法在用于区分回收油和食用油标准样品(即纯食用油)时,具有较高的准确率。

[0059] 综上所述,本发明实施例的方法先通过MALDI-MS方法检测得到待测食用油样品的质谱图,然后采用PCA方法对MALDI-MS检测结果进行统计分析,可以准确地区分不同种类的食用油标准样品(即纯食用油)、混合油与食用油标准样品(即纯食用油)以及回收油与食用油标准样品(即纯食用油)。在食用油检测中,MALDI-MS样品制备方法的改进,以及与PCA方法联用,不仅大大提高分析效率、缩短检测时间,而且结果准确率高,是一种快速、简便、准确、高通量的食用油检测技术。

[0060] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已,并不用以限制本发明,凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包括在本发明的保护范围之内。

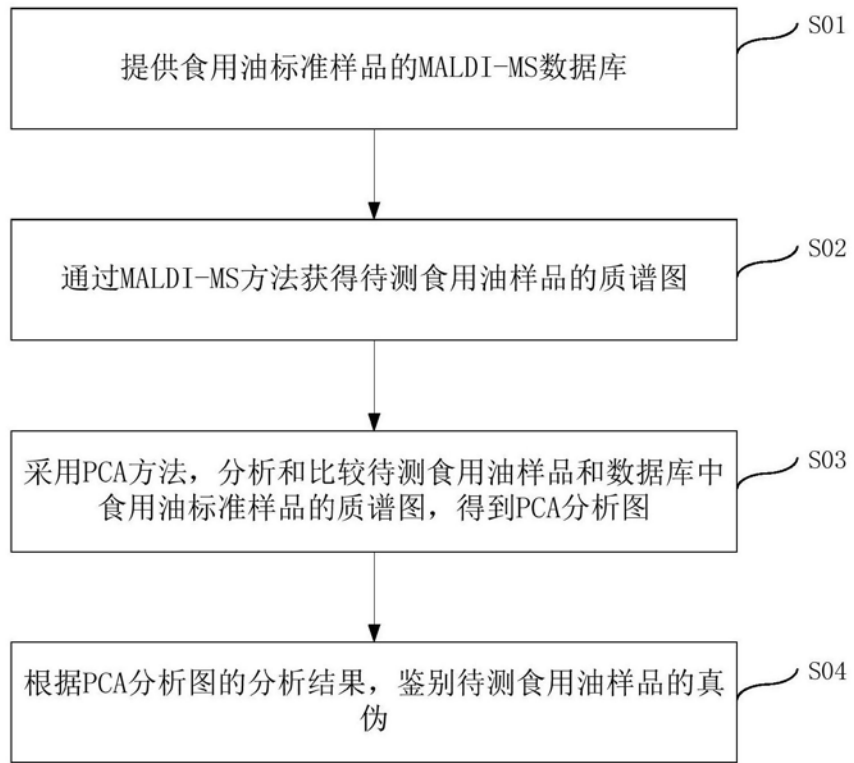


图1

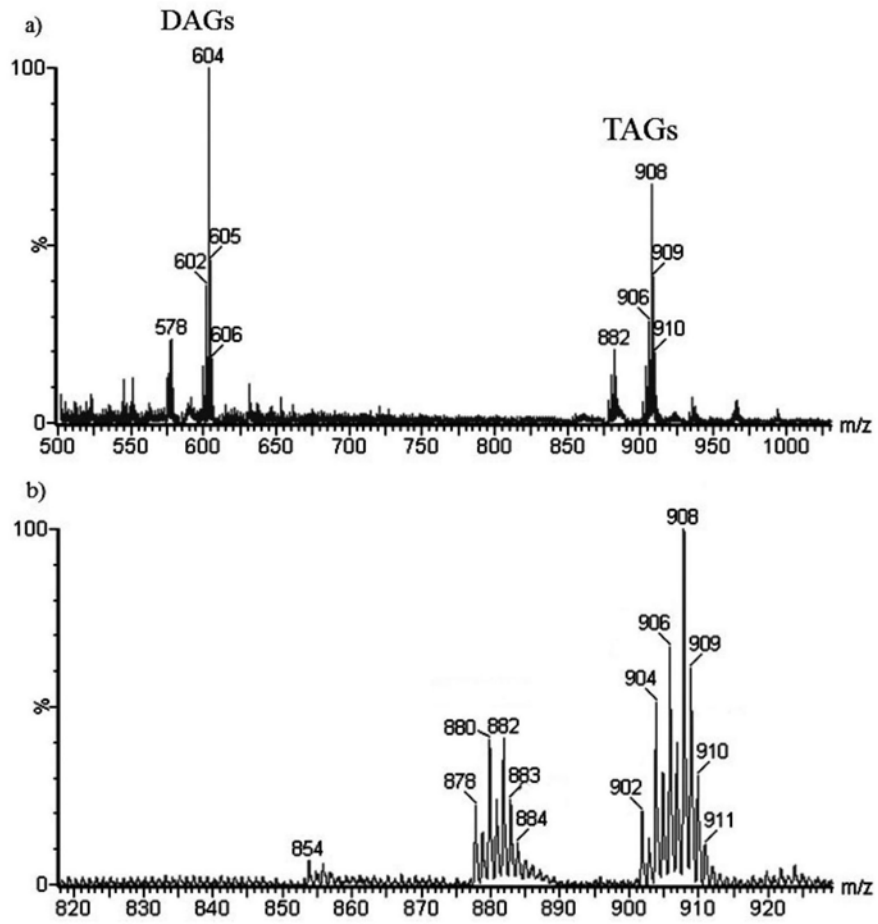


图2

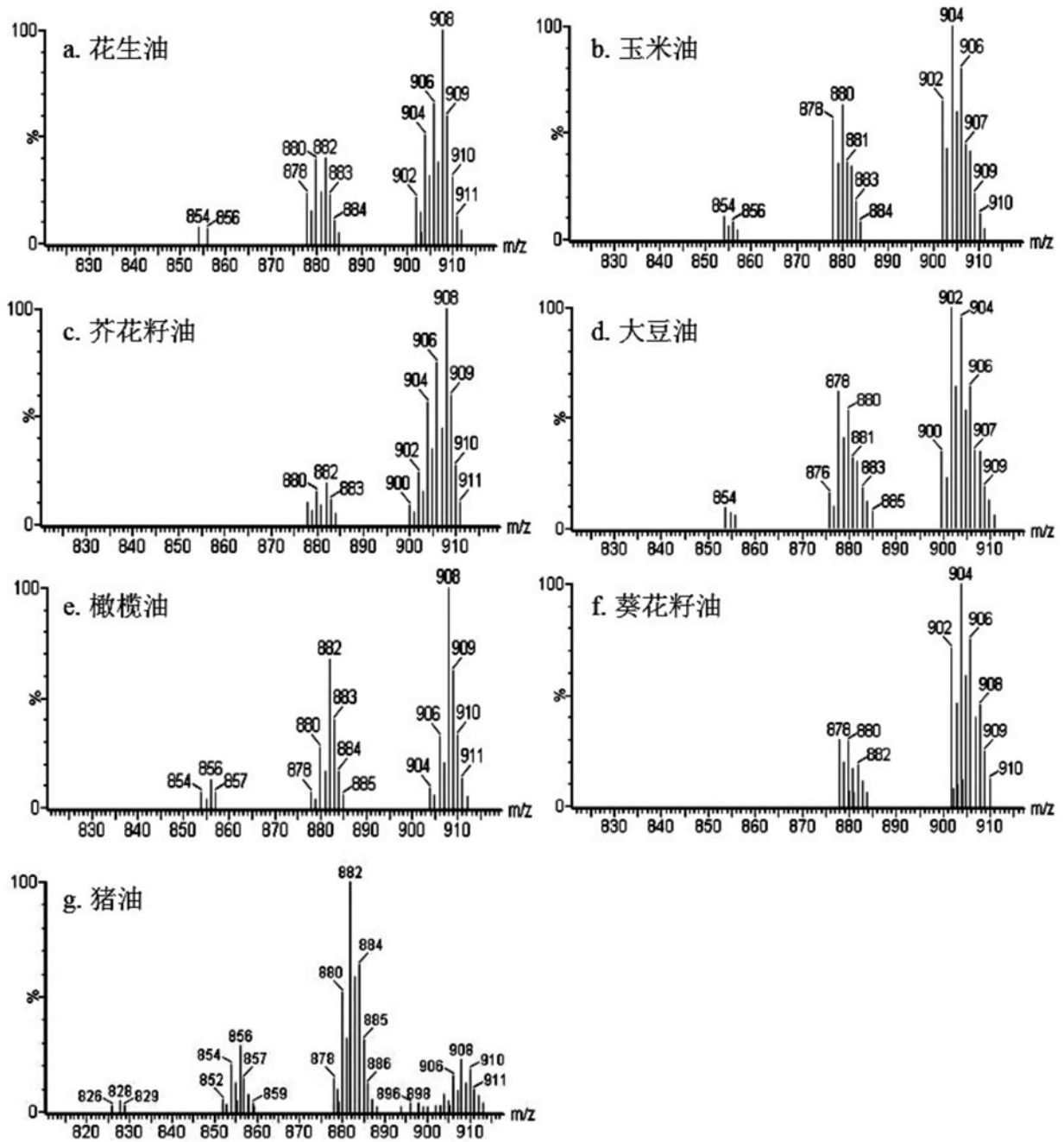


图3

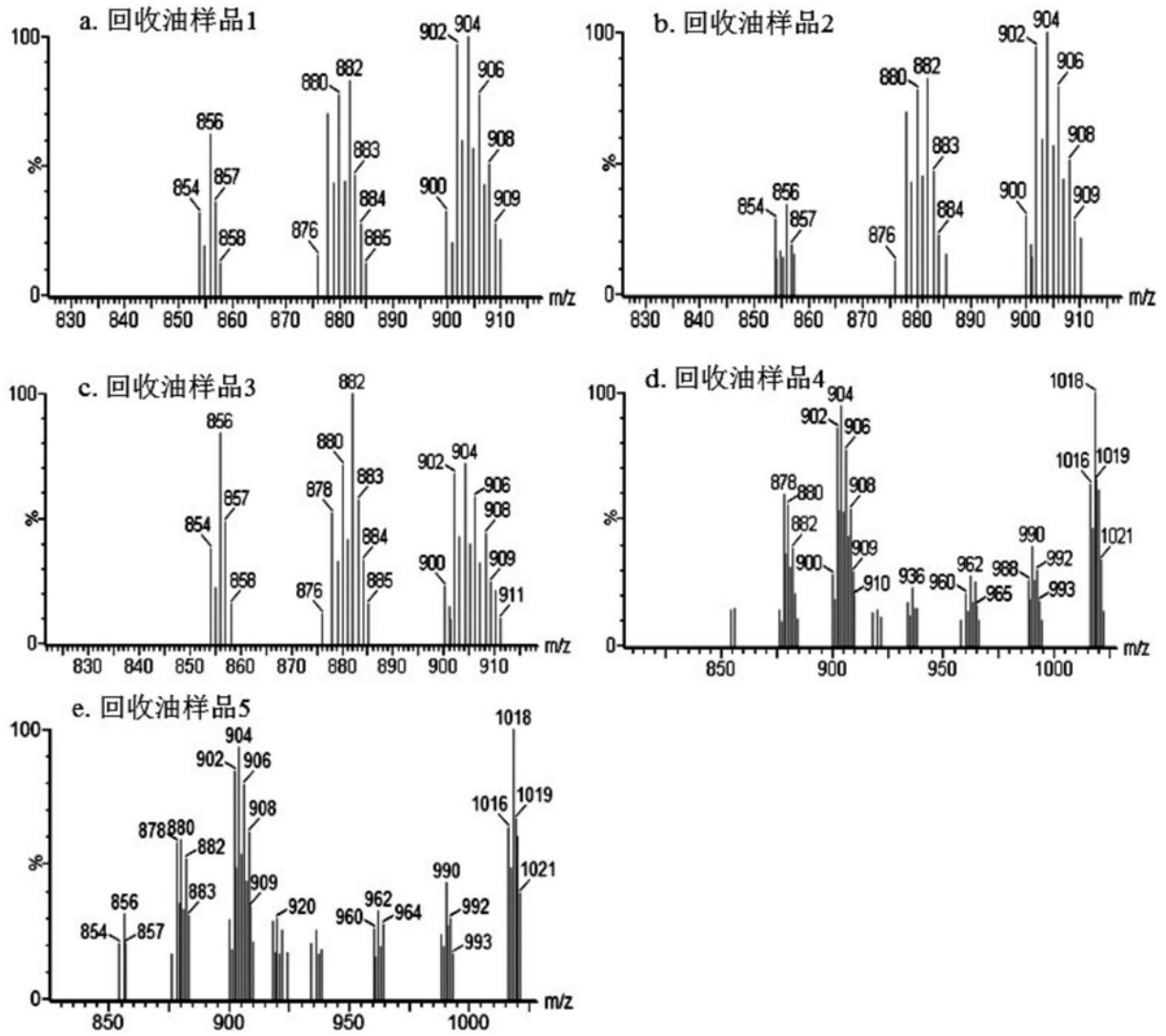


图4

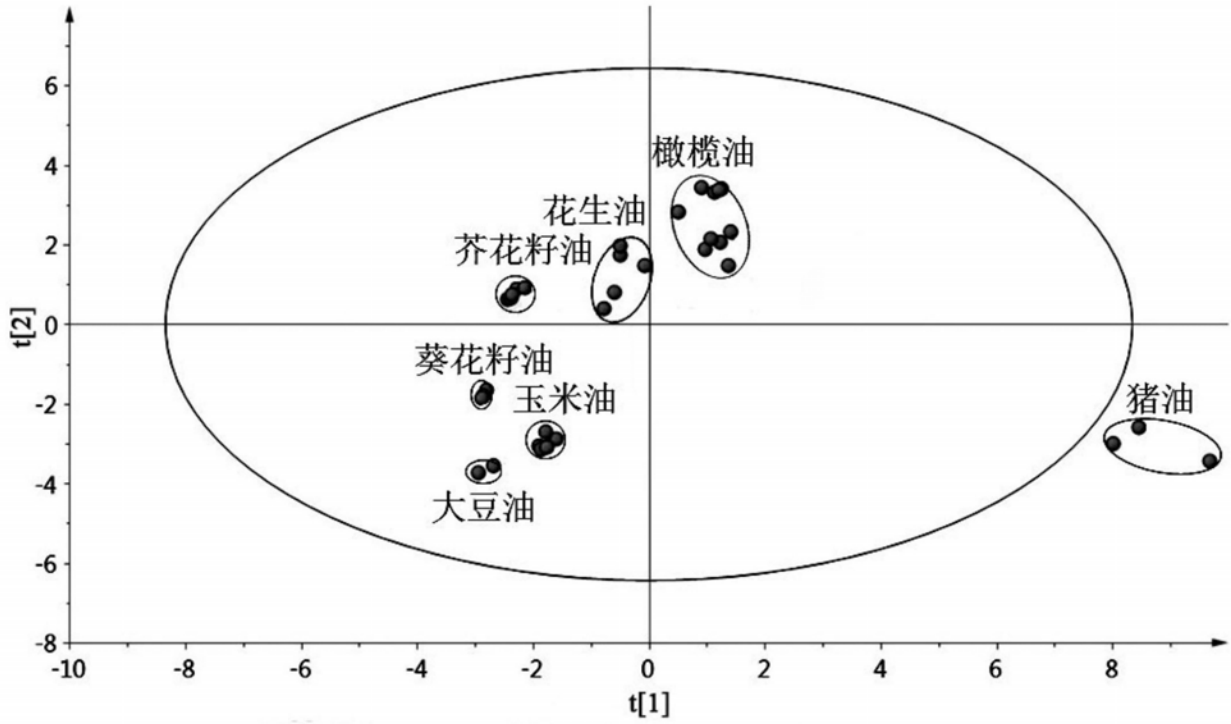


图5

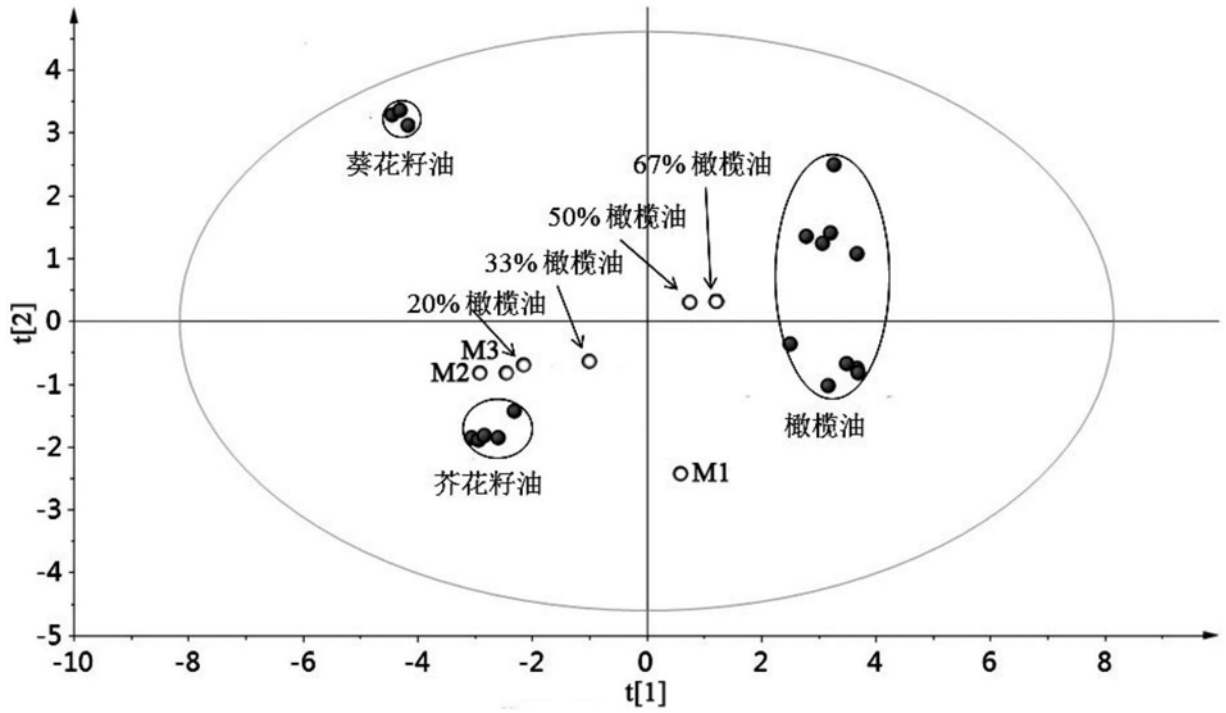


图6

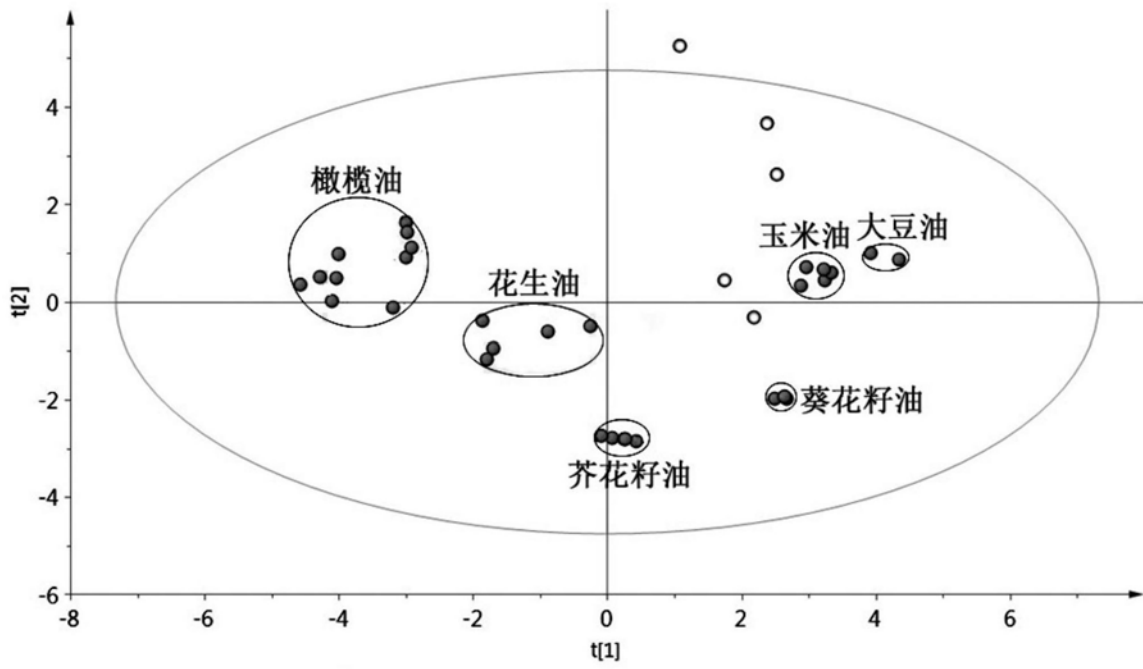


图7