

本文使用 Agilent 1290 Infinity II 液相系统和 6470 三重四极杆系统对 3 种特征指标进行含量测定，并建立了相应的样品前处理流程。

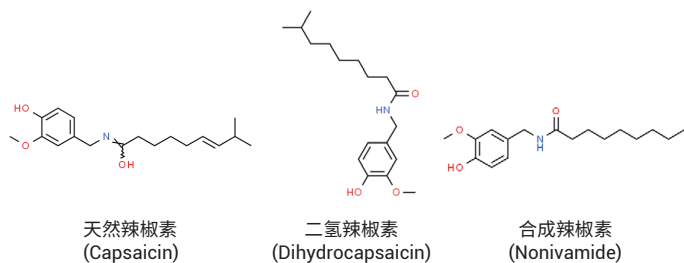


图 1. 3 种辣椒素类化合物的结构式

实验部分

试剂和样品

所有标准品均购自 Accustandards 公司 (New Haven, CT, USA)。质谱所用纯甲酸和乙腈购自 Merck 公司 (Kenilworth, USA)。水由 Milli-Q 超纯水系统制得。

仪器和设备

Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统，配备如下安捷伦组件：G7120A 二元泵、G7167B 自动液体进样器、G7116B 柱温箱和 G7117B 二极管阵列检测器。

所用质谱仪为 Agilent 6470 三重四极杆液质联用系统。

标样前处理

用甲醇将 3 种标准品的混合溶液稀释成 5 pg/mL–100 ng/mL 的校准标样，储存在棕色样品瓶中。

样品前处理

准确称取 0.5 g 样品加入 10 mL 具塞塑料试管中，加入 1 mL 二氯甲烷，再加入 3 mL 2% 氢氧化钠溶液；涡旋提取 10 min，以 4000 r/min 离心 10 min，取上层水相；再用 3 mL 2% 氢氧化钠溶液将残留有机相重复提取一次，合并水相。

Agilent Bond Elut Plexa PAX 小柱预先用 3 mL 乙腈淋洗 3 次，再用 3 mL 纯水淋洗 2 次进行平衡；然后将上述水相提取液加入小柱，控制流速至每秒 1–2 滴，待全部溶液通过 SPE 小柱后，以 3 mL 超纯水淋洗 2 次，弃去流出液；最终以 3 mL 的 5% 甲酸乙腈洗脱 2 次。

用 50 °C 氮气将乙腈洗脱液吹至近干，用 0.5 mL 甲醇溶解后，通过微孔滤膜 (0.22 μm, 有机相) 进行过滤。并将滤液置于样品瓶内衬管中，以供 LC-MS/MS 测定。

液相条件

色谱柱：	Agilent Eclipse Plus-C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm	
柱温：	40 °C	
进样体积：	2 μL	
流动相：	A) 0.1% 甲酸水溶液 B) 0.1% 甲酸乙腈溶液	
运行时间：	10 min	
流速：	0.3 mL/min	
梯度程序：	T (min)	B (%)
	0	25
	1	25
	4	95
	6	95

质谱条件

鞘气温度：	400 °C
鞘气流速：	12 L/min
干燥气温度：	300 °C
干燥气流速：	8 L/min
雾化器压力：	40 psi
毛细管电压：	3000 V
喷嘴电压：	0 V
Delta EMV：	300 V
MRM 离子对：	如表 1

表 1. 用于 3 种辣椒素类化合物的 MRM 离子对方法

化合物名称	母离子	子离子	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)	CAV	极性
二氢辣椒素	308.1	184.2	90	8	4	正
	308.1	137.1	90	20	4	正
天然辣椒素	306.2	182.2	80	8	4	正
	306.2	137.2	80	24	4	正
合成辣椒素	294.2	170.2	90	8	4	正
	294.2	137.1	90	12	4	正

结果与讨论

分离效果

本方法可在 6 分钟内完成 3 种辣椒素类化合物的 LC-MS/MS 分析。天然辣椒素和合成辣椒素的结构类似，极性相似，出峰时间一致。

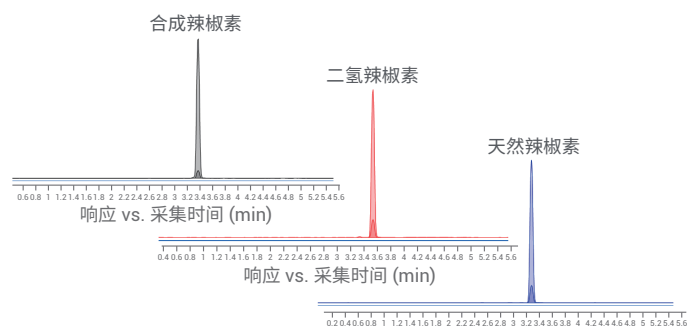


图 2. 3 种辣椒素类化合物的 MRM 色谱图 (1 ng/mL)

检测限和线性范围

使用 Agilent 6470 三重四极杆系统可以对 3 种辣椒素类化合物进行超低浓度的检测，该方法仅为 BJS 201801 《食用油脂中辣椒素的测定》补充检验标准检测限的 1/20-1/10，详见表 2。

表 2. 3 种辣椒素类化合物的检测限和定量限

化合物名称	检测限	定量限
天然辣椒素	5 pg/mL	10 pg/mL
二氢辣椒素	5 pg/mL	10 pg/mL
合成辣椒素	2 pg/mL	5 pg/mL

图 3 为 3 种辣椒素类化合物的线性范围，每种化合物均采用多个浓度级别。每个级别下重复进样 3 次，浓度范围为 5 pg/mL-100 ng/mL，涵盖四个数量级，完全满足原标准中 0.1-100 ng/mL 的要求。

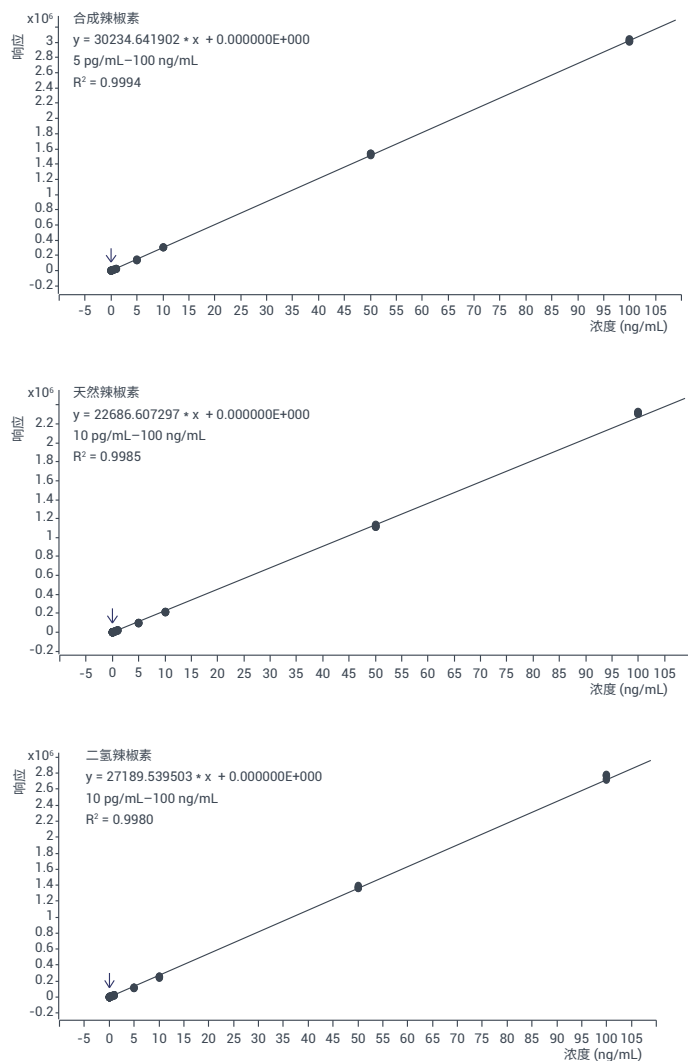


图 3. 3 种辣椒素类化合物的标准曲线和线性范围

加标回收率测试

在空白样品中加入 1 ng/mL 和 10 ng/mL 混标溶液，经过前处理后计算其回收率，结果如图 4 所示。

结论

本文使用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱和 6470 三重四极杆液质联用系统对食用油中的 3 种辣椒素类化合物进行了测定。UHPLC 色谱分析只需 6 分钟，灵敏度是 BJS 201801《食用油脂中辣椒素的测定》补充检验标准方法的 10–20 倍。并对样品前处理方法进行了优化，简化了操作步骤，完全能够满足实际样品的测试需求。

参考文献

1. 卫生部办公厅关于通报“地沟油”筛查方法的函（卫办监督函 [2012] 878号）第 2 部分. 食用植物油中辣椒碱成分的液相色谱-质谱检测方法及其在“地沟油”识别中的应用
2. 重庆市公安局物证鉴定中心. 食用油脂中辣椒素的测定 BJS 201801

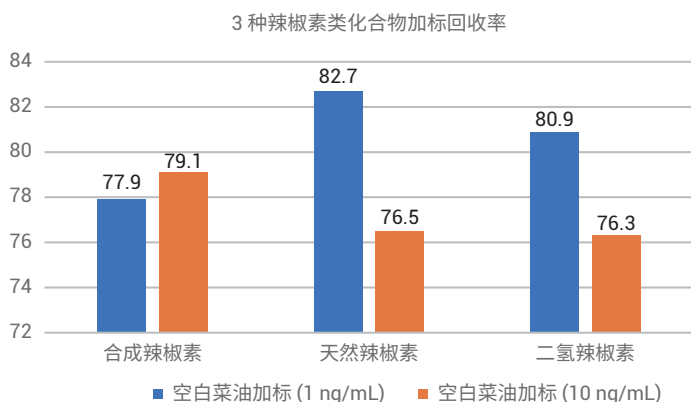


图 4.3 3 种辣椒素化合物的加标回收率

实际样品检测

检测样品均为餐饮调和油，购于成都市食品批发市场，包含 8 个批次不同品牌的样品。检测结果如表 3 所列。

样品编号	合成辣椒素 (ng/mL)	天然辣椒素 (ng/mL)	二氢辣椒素 (ng/mL)	总计 (µg/kg)
1	未检出	未检出	未检出	未检出
2	未检出	0.04	0.03	0.06
3	未检出	未检出	未检出	未检出
4	未检出	0.02	0.02	0.04
5	未检出	0.09	0.04	0.13
6	未检出	0.16	0.11	0.27
7	未检出	0.05	0.04	0.09
8	未检出	0.02	0.02	0.03

由上表可知，8 个品牌样品中有 2 个未检出任何信号，6 个品牌样品中含有少量辣椒素类成分。但根据 BJS 201801《食用油脂中辣椒素的测定》补充检验标准的规定，所测定的样品中辣椒素（合成辣椒素、天然辣椒素和二氢辣椒素）总含量大于或等于 1.0 µg/kg 时，才表明该油脂样品可能有异常，存在使用餐厨回收油脂的可能。这里所有样品中辣椒素的总含量均低于 1.0 µg/kg，因此它们均符合标准要求。

www.agilent.com

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019
2019年8月1日，中国出版
5994-1165ZHCN

