

食用植物油中桐油蓖麻油的确证检验方法研究

杨元¹, 高玲¹, 譙斌宗², 邹艳³

(1. 成都市疾病预防控制中心, 成都 610041;

2. 成都市食品药品检验中心, 成都 610041; 3. 湖北职业技术学院, 湖北孝感 432000)

[摘要] 食用植物油是人们日常生活的必需品, 它的质量好坏直接关系到广大消费者的切身利益。由于污染、掺假等原因, 误食桐油、蓖麻油导致中毒的事件时有发生。目前食用植物油中蓖麻油的检验方法不多, 而食用植物油中桐油的检测方法虽然较多, 但是适用性和定性准确度都不够。本文利用气相色谱-质谱分析技术, 辅以简便可靠的样品前处理方法, 建立了测定食用植物油中掺(混)入桐油、蓖麻油的确证分析方法。本法准确度高, 定性结果尤为可靠。经抽取 30 余份市售各种植物油样品测定, 方法精密度高, 测定相对标准偏差 < 6%, 检出限可达 0.1%, 结果满意。

[关键词] 植物油; 桐油; 蓖麻油; 确证检验; 气相色谱/质谱技术

[中图分类号] R155.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1004-8685(2007)11-1923-04

Confirming test of tung oil and castor oil

Yan Yuan¹, Gao Ling¹, Qiao Bin-zong², Zou Yan³

(1. Chengdu Center for Disease Control and Prevention, Chengdu 610041, China; 2. Chengdu Institute for Drug and Food Control, Chengdu 610041, China; 3. Hubei Institute of Technology, Xiaogan 432000, China)

[Abstract] Vegetable oils are necessary for people's daily life. The quantity degree of edible oils is directly related to consumers. Poisonous incidents are accidentally taken place because of mis-eating tung oil and castor oil. Up to now, the method for determination of castor oil has less been reported. Although the method for determination of tung oil has been reported more, practicability and qualitative ability are not satisfied for requirement. A confirming analytical method for determination of tung oil and castor oil in vegetable oils with simple sample pretreatment by GC-MS was suggested. The accuracy, especially qualitative ability, is high for this method. Precision is good and RSD% is less than 6%. The detection limitation is 0.1%.

[Key words] Vegetable oil; Tung oil; Castor oil; Confirming analysis; GC-MS

食用植物油是人们日常生活的必需品, 它的质量好坏直接关系到广大消费者的切身利益。因此, 国家标准 GB1536-86 中明确规定, 食用植物油中不容许掺入非食用油^[1]。但近年来, 摄入污染桐油、蓖麻油的食用植物油或误食桐油、蓖麻油, 导致群体性中毒事件时有发生^[2-4], 严重的影响了广大群众身体健康。

桐油是用油桐树果实的油, 误食桐油后普遍表现为强烈的恶心、呕吐和腹泻, 严重者有惊厥、昏迷等症状。桐油主要成分是桐酸(9, 11, 13-十八碳三烯酸), 含有三个双键的不饱和脂肪酸, 对胃肠道有强烈的刺激作用, 引起恶心、呕吐和腹泻, 粪便带血, 继发性脱水和酸中毒症状。严重者可意识模糊、呼吸困难, 或惊厥, 进而引起昏迷和休克。

蓖麻油是蓖麻子经榨制而成。引起中毒的主要成分是蓖麻毒素和蓖麻碱。蓖麻毒素是一种细胞原浆毒, 可损害肝、肾, 引起中毒性肝病、中毒性肾病、出血性胃肠炎、小血管栓塞等等^[5]。

食用植物油中桐油的检测方法较多。中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.137-2003 测定食用植物油中掺混桐油的方法有三种, 即三氯化锑-三氯甲烷界面法、亚硝酸盐法和硫酸法^[6], 但是在实际工作中这三种检验方法检测不同桐油样品的适用性有差别^[6]。此外, 也可采用乙醇法^[7]、凝聚反应和沉淀素试验^[8]来检测中毒患者体液中蓖麻毒素, 但是, 凝聚反应特异性差, 而沉淀素试验需要制造抗体血清, 血清制作至少需要 3 周时间, 方法时限性和实用性差, 用于实际样品测试有困难。

上述方法在实际样品测定时干扰较大, 准确度、灵敏度低。因此, 研究一种测定食用植物油中桐油、蓖麻油的确证检验方法具有实际意义。

气相色谱-质谱联用技术是食品研究强有力的工具, 具有强大的定性功能。桐酸和蓖麻酸是桐油和蓖麻油中的特有成分, 其他油类中都不含有, 所以气相色谱-质谱检测到桐酸和蓖麻酸就可以作为检出食用植物油中含有桐油和蓖麻油的确切证据。本法检出限(桐油、蓖麻油/植物油)为 0.2% (W/W)。方法精密度 RSD < 6%, 对数十个植物油样品进行加标和不加标比对研究, 结果满意。

[作者简介] 杨元 (1951-), 男, 主任技师, 主要从事卫生理化检验研究。

本文得到四川省医学重点实验室, 成都市医学重点实验室建设资金资助。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

气相色谱-质谱仪: HP6890GC-5973MSD; 色谱柱 DB-225MS弹性石英毛细柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$, 50% 氰丙基苯基-50% 二甲基硅氧烷聚合物); HP-5MS弹性石英毛细柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$, 5% 二苯基-95% 二甲基硅氧烷聚合物); 桐油(市售); 蓖麻油(AR); 市售食用植物油三十余份; 石油醚(SP), 乙醚(AR), 1+4(V/V)石油醚-乙醚混合溶液, KOH(AR), 甲醇(AR), 0.4 mol/L KOH-甲醇溶液。

1.2 色谱-质谱条件

炉温: 程序升温, 起始温度 170°C , 以 $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230°C , 保持 2.5 min; 进样口温度: 280°C ; 质谱接口温度: 280°C ; 进样方式: 分流模式, 分流比 10:1, 进样量 $1\text{ }\mu\text{l}$; 载气: 氦气, 流量 $1.2\text{ mL}/\text{min}$; 线速度 $42\text{ cm}/\text{sec}$; 恒流模式; EI 70 eV; 电子倍增器电压: 1750 V。

1.3 实验方法

1.3.1 按上述色谱-质谱工作条件稳定好仪器, 调谐合格后进行进样分析。植物油样品进样前需按下述方法甲酯化后测定。

1.3.2 甲酯化: 取样品 0.1~0.2 g 于 10 ml 比色管中, 加 4.0 ml 1+4 石油醚-乙醚混合溶液, 混匀; 再加 1.5 ml 0.4 mol/L KOH-甲醇溶液, 混匀; 放置 10 min, 滴加去离子水 18 滴, 混匀; 至分层, 吸取上层清液于进样瓶中待测。

2 结果和讨论

2.1 检测项目的确定

桐油和蓖麻油由多种不同碳链长度的脂肪酸组成。其中, 桐油含有 85% 的桐酸, 桐酸为含有三个双键的不饱和脂肪酸。蓖麻油中含 80% 以上蓖麻酸, 蓖麻酸是含羟基酸为主的脂肪酸。桐酸为桐油所独有, 蓖麻酸为蓖麻油所独有, 尚未见到其他植物油含有桐酸或蓖麻酸的报道。因此, 本实验确定以检出桐酸作为检出桐油的依据, 检出蓖麻酸作为检出蓖麻油的依据。

2.2 样品前处理方法的研究

前处理是气相色谱-质谱分析的重要组成, 气相色谱-质谱分析成功与否很大程度上依赖于样品前处理。植物油主要成分各种不同碳链长度的脂肪酸, 其中, 待测组分桐酸和蓖麻酸极性很强, 不能直接通过 GC/MS 测定, 需要甲酯化处理。

2.2.1 桐酸和蓖麻酸甲酯化方法优选 本文在前人^[9]基础上, 对桐酸和蓖麻酸的甲酯化方法及条件进行实验研究。实验发现, 碱催化法简便、快捷。

2.2.2 衍生化条件优化

2.2.2.1 KOH-甲醇用量的选择: 实验表明, 加 1.5 ml 0.4 mol/L KOH-甲醇溶液, 衍生率高。

2.2.2.2 石油醚-乙醚用量的选择: 实验表明, 采用 1+4 石油醚-乙醚 4.0 ml 提取, 提取效率高。

2.2.2.3 衍生时间: 实验发现, 衍生时间达到 10 min 衍生完全。

2.2.2.4 滴加纯水量的选择: 加入一定量的水可便于提取液与样品分离。实验发现, 不同种类植物油对加水量需求不完全一致, 当加纯水 18 滴左右, 多数样品与提取液分离良好。

2.3 色谱条件的优化

2.3.1 色谱柱的优选 植物油主要由不同长度碳链的脂肪酸组成, 根据脂肪酸甲酯化衍生物的理化特性, 本文比较了 HP-5MS 弹性石英毛细柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$, 5% 二苯

基聚硅氧烷-95% 二甲基硅氧烷共聚物色谱柱) 和 DB-225MS 弹性石英毛细柱 ($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$, 50% 氰丙基苯基-50% 二甲基硅氧烷聚合物), DB-225MS 弹性石英毛细柱分离效果良好, 故选用 DB-225MS 弹性石英毛细柱为分析柱。

2.3.2 炉温的优选 采用等温方式, 待测组分与其它组分分离不佳。实验表明, 采用程序升温模式, 起始温度 170°C , 以 $6^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230°C , 保持 2.5 min, 在此条件下, 分离良好, 见图 1~图 3。

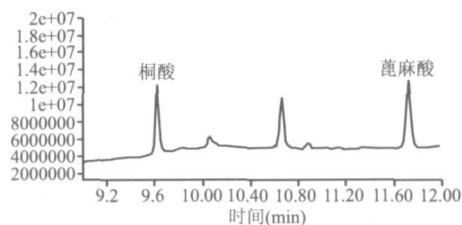


图1 桐油和蓖麻油的 TIC 图

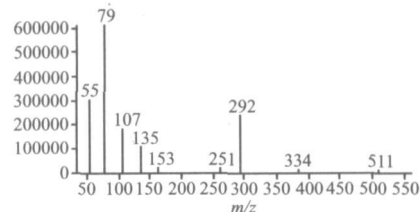


图2 桐酸质谱图

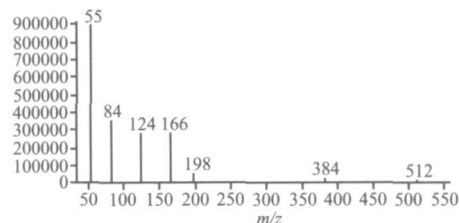


图3 蓖麻酸质谱图

2.3.3 柱流量优选 实验表明, 当柱流量 $1.2\text{ mL}/\text{min}$ 线速度 $42\text{ cm}/\text{sec}$ 时, 分离良好, 本法选用柱流量为 $1.2\text{ mL}/\text{min}$ 。

2.3.4 进样口温度优选 脂肪酸甲酯化衍生物具有较好的热稳定性, 为保持进样口清洁, 使高沸点脂肪酸甲酯化衍生物充分挥发, 本法选用进样口温度为 280°C 。

2.3.5 进样量及进样模式优选 采用分流进样模式可减少干扰, 提高分离度; 本法进样量选用 $1\text{ }\mu\text{l}$ 分流比 10:1。

2.3.6 气质接口温度 本法气质接口温度采用 280°C 。

2.4 方法学指标考察

2.4.1 方法灵敏度实验 如果导出色谱分析检测限的概念来表达方法灵敏度, 则在本法中不太适用。因为气相色谱-质谱定性检测, 多以人工检索为主。即如果做定性检测, 首先应当出现肉眼可见的色谱峰, 再在可疑色谱峰处检索。所以, 出现肉眼可见峰是前提。

本方法采用逐级稀释 1+1 (W/W) 桐油-蓖麻油混合标准的办法, 考察其方法灵敏度。实验发现, 当植物油中桐油/蓖麻油含量在 0.5% (W/W, 下同, 不再标注) 时, 可见非常明显的桐酸/蓖麻酸离子峰; 当植物油中桐油/蓖麻油含量在 0.25% 和 0.1% 时, 仍可检出桐酸/蓖麻酸, 见图 4 和图 5 当植物油中桐油/蓖麻油含量在 0.05% 时, 无肉眼可见峰出现, 桐酸/蓖麻酸皆不可检出。

因此, 将本方法灵敏度确定在桐油、蓖麻油含量各在 0.1% 是完全能达到的。这样的灵敏度, 对于检测食用植物油中掺(混)入桐油、蓖麻油的方法灵敏度要求是完全够用的。

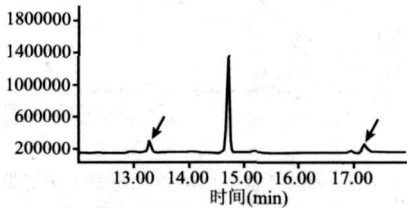


图 4 0.25%桐油 - 蓖麻油混合标准 TIC 图

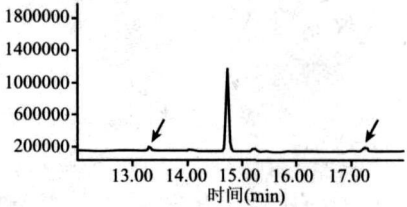


图 5 0.1%桐油 - 蓖麻油混合标准 TIC 图

2.4.2 方法准确度考察

2.4.2.1 样品加标检测实验 选取了 30份不同种类、不同品牌的食用植物油, 每个植物油分为两份, 每份 2 g。一份不添加桐油和蓖麻油, 作为样品空白, 另一份加入桐油蓖麻油混合油 0.02 g 混匀, 此样品含桐油蓖麻油各 0.5%, 作为加标样品。将两份样品按 1.4.2方法进行甲酯化, 再用 1.2色谱-质谱条件进行测定, 所有 30份加标样品均检出桐酸、蓖麻酸, 所有空白样品都未检出桐酸、蓖麻酸, 方法准确可靠。结果见图 6~图 11、表 1。

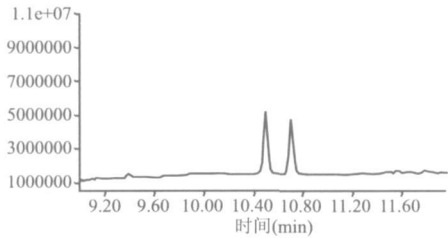


图 6 菜籽油 TIC 图

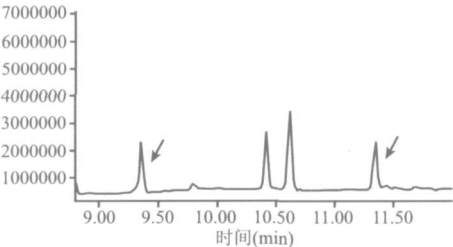


图 7 添加桐油 - 蓖麻油后菜籽油 TIC 图

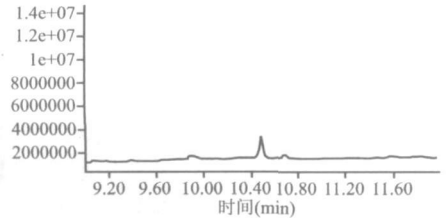


图 8 小磨麻油 TIC 图

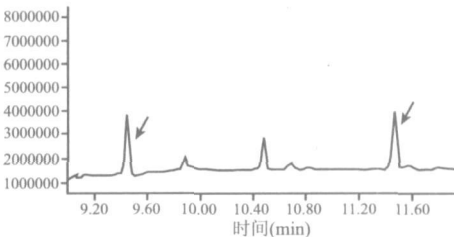


图 9 添加桐油 - 蓖麻油后小磨麻油 TIC 图

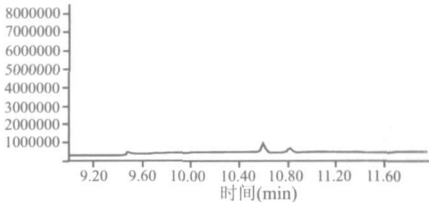


图 10 初榨橄榄油 TIC 图

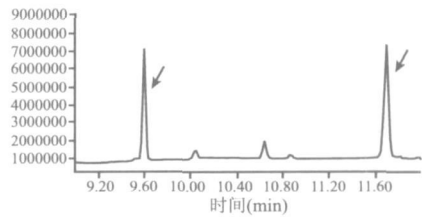


图 11 添加桐油 - 蓖麻油后初榨橄榄油 TIC 图

表 1 样品和加标样品测定结果

样品 编号	样品名称	未加标样品 测定结果	加标样品 测定结果
1	纯香精制菜籽油	-	+
2	花生调和油	-	+
3	天然坚果油	-	+
4	纯正芝麻香油	-	+
5	食用调和油	-	+
6	坚果调和油	-	+
7	压榨一级花生油	-	+
8	清香玉米胚芽油	-	+
9	第二代食用调和油	-	+
10	特级初榨橄榄油	-	+
11	花椒油 1	-	+
12	小磨麻油	-	+
13	菜籽油	-	+
14	压榨纯香菜籽油	-	+
15	纯香营养菜籽油	-	+
16	花椒油 2	-	+
17	花椒油 3	-	+
18	芝麻香油	-	+
19	一级大豆油	-	+
20	葵花籽油	-	+
21	玉米油	-	+
22	核桃油	-	+
23	天然谷物调和油	-	+
24	橄榄葵花油	-	+
25	野茶油	-	+
26	意大利特级初榨橄榄油	-	+
27	蒜油	-	+
28	葱油	-	+
29	姜油	-	+
30	芥末油	-	+

2.4.2.2 与标准方法比对实验: 以 19号植物油一级大豆油稀释桐油, 使其浓度分别为 0.01%, 0.2%, 0.4%, 0.6%, 0.8%, 1.0%, 2.0% 和 4.0%。然后按照中华人民共和国国家标准 GB/T5009.137-2003亚硝酸盐法检测桐油。结果表明: 采用亚硝酸盐法测定食用植物油中掺混桐油, 桐油在 4.0% 时可以观察到白色絮状沉淀, 桐油在 2.0% 时可见混浊, 而桐油在 2.0% 以下时不能检出, 出现假阴性, 可能导致漏检。而采用气相色谱-质谱技术, 桐油 0.1% 也能检出, 灵敏度较国家标准方法更高, 可避免漏检。方法与国家标准推荐的亚硝酸盐法进行比对分析, 检测结果有良好的一致性。

2.4.3 方法精密性考察 取 1.0% 桐油-蓖麻油的石油醚乙醚溶液一份, 按实验部分和实验方法项下调试好仪器, 重复测定 7次, 分别计算桐油、蓖麻油的保留时间及峰面积相对标准偏差, 结果见表 2、表 3 和图 12。

表 2 保留时间重现性									
组分	7次测定的保留时间 (m in)							均值	RSD
								(m in)	(%)
桐酸	9. 371	9. 371	9. 372	9. 370	9. 370	9. 370	9. 367	9. 370	0.02
蓖麻酸	11. 357	11. 356	11. 358	11. 355	11. 353	11. 353	11. 351	11. 355	0.02

表 3 峰面积重现性										
组分	7次测定的峰面积								均值	RSD
									(峰面积)	(%)
桐酸	52248600	48930724	56598934	56398053	53144336	57812695	56041395	54456391	5.76	
蓖麻酸	57563307	57099141	64702781	64035112	58471287	65372177	60437399	61100172	5.82	

由表 2 可见, 桐酸和蓖麻酸测定保留时间的相对标准偏差都是 0.02%, 可见本方法具有良好的时间重现性; 由表 3 可见, 桐酸和蓖麻酸测定峰面积的相对标准偏差都不超过 6%, 方法精密性符合要求。

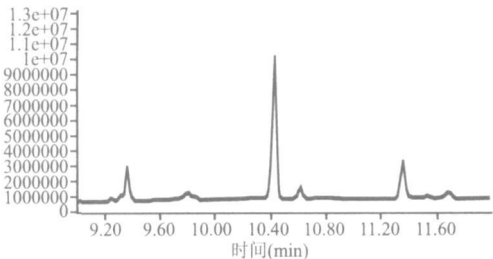


图 12 0.5%桐油-蓖麻油混合标准 7次进样测定的重叠 TIC图

图 12 是 7 次进样测定的重叠 TIC 图, 每一个重叠离子峰犹如一次进样测定所得, 可见本方法具有良好的测定精密性和高度的时间重现性。同时, 实验表明, 系统具有非常良好的稳定性。

[参考文献]

[1] GB1536-86. 菜籽油[S].

[2] 高观敏, 谢利, 燕东盛, 等. 一起小学生桐油中毒的调查分析[J]. 职业与健康, 2006, 22(10): 756

[3] 钟金群, 钟国京, 杨焯林. 一起误食桐油果引起食物中毒的调查[J]. 职业与健康, 2006, 22(3): 199.

[4] 关明珠. 一起植物油掺假引起桐油中毒的调查[J]. 热带病与寄生虫学, 2005, 3(1).

[5] GB/T5009.137-2003. 食用植物油标准的分析方法[S].

[6] 卢明丽, 张春旺. 三种食用植物油掺假检验方法的比较[J]. 广东卫生防疫, 2000, 26(3): 16.

[7] 彭珊珊, 许柏球, 冯翠萍. 食品掺伪鉴别检验[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2004. 80

[8] 李焕德, 许树梧. 急性中毒读物检测与诊疗[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2000. 479.

[9] 寇秀颖, 于国萍. 脂肪和脂肪酸甲酯化方法的研究[J]. 食品研究与开发, 2005, 26(2): 46.

(收稿日期: 2007-08-06)

2007全国现代免疫诊断方法暨高通量检测技术临床研究发展论坛

时间: 2007年 12月 5-9日 地点: 北京

主办单位: 首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心

报名费用: 研讨班 600元/人, 研究生或在读学生凭学生证 200元/人

学分证书: 国家级继续教育 I类学分 10分 [2007年国家级继续医学教育项目 2007-11-00-010(国)]

联系人: 张国军、王雅杰、周亚莉

通讯地址: 首都医科大学附属北京天坛医院实验诊断中心 (北京市崇文区天坛西里 6号 100050)

联系电话: 010-67096875/6881 传真: 010-67017658

电子邮件: tiantanlab@yahoo.com.cn 网址: <http://www.jydzxx.com.cn/>

会议内容:

免疫诊断的现状、发展趋势; 微生物免疫诊断的临床应用; 血液学免疫诊断的临床应用进展; 常见传染病实验室检查进展; 感染性疾病的实验室检查进展; 化学发光常见问题的探讨; 免疫诊断的标准化; 自身抗体检测常见问题; 肿瘤标志物的临床应用; 脑卒中实验室检查的进展; 分子影像学的临床应用进展; 免疫标记技术的临床应用进展; 量子检测与临床检验; 性病的实验室检查进展; POCT在国外的应用现状; POCT的质量控制及国内应用现状; 我国临床实验室管理现状; 流式细胞仪的临床应用进展; 蛋白芯片的临床应用进展; 微生物芯片的临床应用前景; 基因芯片的临床应用前景; 微流控技术与医学; 生物芯片的研究现状及应用前景; 临床工作者如何申请或参加科学研究; 系统生物信息学的临床应用; 液体芯片的临床应用; 统计学在医学研究及日常工作中的应用; 衰老的免疫学机制及临床实验室检测指标的建立; 重大疾病防治十一五战略