

氧化除杂-气相色谱/质谱联用测定食品中的石蜡

吴玉銮, 陈意光, 罗东辉, 罗海英, 朱丽萍, 冼燕萍, 陈立伟, 董浩

(广州市质量监督检验研究院, 国家加工食品质量监督检验中心(广州), 广州市食品安全检测技术重点实验室, 广州市食品安全风险动态监测与预警研究中心, 广东广州 510110)

摘要: 本文建立了氧化除杂-气相色谱/质谱联用测定食品中石蜡的检测方法。样品加入环己烷超声浸提2次, 离心收集浸提液, 加入复配氧化试剂(三氧化铬:浓硫酸:水=1:1:2)氧化除杂, 过硅胶小柱净化, 气相色谱-质谱联用检测。结果表明:富含油脂的火锅底料样品方法线性范围40~800 mg/kg, 相关系数0.9991, 最低检测限8 mg/kg; 油脂含量低的干香菇、粉条样品方法线性范围10~400 mg/kg, 相关系数0.9995, 最低检测限3.5 mg/kg, 加标实验方法平均回收率在90~117%, 相对标准偏差在2.7~6.4%。该方法反应温和, 未引入干扰检测的副产物, 操作简便, 通用性强, 适用于富含油脂的火锅底料以及油脂含量较低的干香菇、粉条、大米、瓜子等食品。

关键词: 石蜡; 氧化除杂; 气相色谱-质谱联用; 检测

文章编号: 1673-9078(2014)1-165-169

Determination of Paraffin in Food by Oxidation Purification and GC-MS

WU Yu-luan, CHEN Yi-guang, LUO Dong-hui, LUO Hai-ying, ZHU Li-ping, XIAN Yan-ping, CHEN Li-wei, DONG Hao

(Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou Key Laboratory of Detection Technology for Food Safety, Guangzhou Research Center of Risk Dynamic Detection and Early Warning for Food Safety, Guangzhou 510110, China)

Abstract: In this paper, an oxidation purification and GC-MS method was established for the determination of paraffin in food. Samples were extracted twice with cyclohexane and the supernatant was collected by centrifugation, then the extraction was purified by mixed oxidation reagents (chromium trioxide: concentrated sulfuric acid: water = 1: 1: 2, V/V) and silica gel column. After that, the purified extraction was detected by GC-MS. The results indicated that the linearity range, the correlation coefficient (r) and the detection limit of greasy hotpot condiment were 40~800 mg/kg, 0.9991 and 8 mg/kg, respectively; while those of the low-fat dry shiitake mushroom and vermicelli were 10~400 mg/kg, 0.9995 and 3.5 mg/kg, respectively. The recoveries ranged from 90% to 117% and the relative standard deviations were between 2.9% and 6.6%. This method is simple, sensitive and accurate, which might be used for the detection of paraffin in greasy hotpot condiment and low-fat food such as dry shiitake mushroom, vermicelli, rice and sunflower seeds.

Key words: paraffin; oxidation purification; gas chromatograph-mass spectrometer; detection

石蜡是一种石油产品, 主要由不同碳原子数的正烷烃 C_nH_{2n+2} ($n=14\sim34$) 组成, 其分解出的低分子化合物, 容易引发人体肠胃功能紊乱, 降低人体免疫功能和诱发人体细胞变异疾病, 国标《食品添加剂使用卫生标准》中严格规定了石蜡的用途和使用范围。由于石蜡能改善食品的部分感官性能, 有助于谋取非正当利益, 因而将石蜡滥用于各类食品中的事件时有发生, 比较常见的案例为改善火锅底料硬度、抛光干香菇增加光泽, 增加粉丝韧性等。近年中山“假红薯粉案”

收稿日期: 2013-09-03

基金项目: 广州市质量技术监督局科技项目(2012kj03); 广州市科技计划项目([2011]233-34)

作者简介: 吴玉銮(1965-), 女, 博士, 教授级高工, 主要从事食品安全及风险预警方面的研究

事件的发生, 进一步引起社会各界的广泛关注^[1~5]。

要解决石蜡滥用问题, 食品生产加工行业自律固然重要, 相关检测技术和标准更是不可或缺。目前国内主要有以下几种典型的有关石蜡的检测方法:(1)物理法, 如荧光法根据石蜡在紫外光下具有荧光而植物油类没有荧光的性质进行鉴别;(2)化学法, 如皂化法根据掺入食用油中的石蜡不能被皂化, 其不溶于水而使溶液混浊或呈现油珠样物质鉴别;(3)色谱定性法, 如薄层色谱法、气相色谱-质谱法等^[6~10]。GB/T 21309-2007《涂渍油脂或石蜡大米检验》提供了油斑法、气相色谱法和微柱层析法三类检测方法, 可用于定性判断大米是否涂渍油脂或石蜡^[11]。GB/T 24313-2009《蜂蜡中石蜡的测定气相色谱-质谱法》用石油醚提取, 气相色谱-质谱检测, 该标准适用于中华

蜜蜂蜂蜡、意大利蜜蜂蜂蜡中石蜡烃类物质的测定,对蜂蜡中石蜡烃类物质的判别限为 10%^[12]。《GC-MS、GC-FID 测定粉丝中的石蜡含量》采用氢氧化钾-甲醇溶液进行皂化除杂,适用于粉丝类、大米等相对简单的基质。《食用菌中石蜡的气相色谱/质谱联用法测定》局限于定性地鉴别食用菌中是否有掺杂石蜡。《傅里叶红外光谱法检测火锅底料中的固体石蜡》加入热水速冻提取脂肪层进行皂化除杂,但其定量程序比较繁琐,而且皂化过程可能产生较多固形物,需要较多水或溶剂,同时鉴于指纹领域中的指纹图谱是红外光谱的特征之一,容易受到溶剂及其它因素的影响^[13-17]。

现有文献针对一类食品中石蜡的检测方法较多,较少涉及食品中石蜡检测的通用型方法;净化除杂是事关检测结果的重要一环,缺少对各类净化除杂方法的比较研究;此外,最低检出限低于 50 mg/kg 的检测方法鲜见报道。本文优化前处理方法,建立了适用于多类食品的高灵敏度气相色谱-质谱检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

Agilent7890A-6975C 气相色谱质谱联用仪,Agilent 公司;LD5-2A 离心机,北京京立离心机有限公司;MS3 basic 漩涡混合器,德国 IKA 公司;KQ-250DV 型数控超声波清洗仪,昆山市超声仪器有限公司;Milli-Q 去离子水发生器,美国 Millipore 公司;N-EVAP 112 水浴氮吹仪,美国 Organomation Associates 公司;硅胶固相萃取小柱:500 mg/3 mL, Supelclean, 临用前用 6 mL 环己烷活化。

市售 52-54 切片工业石蜡。环己烷 (HPLC 级,德国 Merck 公司),三氧化铬、浓硫酸(分析纯,广州化学试剂厂),超纯水(18.2 MΩ)。复配氧化剂:1 g 三氧化铬,1 mL 浓硫酸,2 mL 水配制而成的溶液。

以市售 52-54 切片工业石蜡为标样,用环己烷配制标准溶液。

1.2 样品前处理

火锅底料等富含油脂类凝固态样品:称取经均匀化处理的试样 1.0~5.0 g,加入 20 mL 环己烷,超声浸提 30 min,2500 r/min 离心 5 min,收集上清液,重复浸提 2 次,合并环己烷浸提液定容至 40 mL,混匀。取 1.0 mL 浸提液于 10 mL 具塞离心管中,加入 1.0 mL 氧化试剂,振荡反应 30 min;加入 5 mL 环己烷,涡旋振荡提取 1 min,2500 r/min 离心 5 min,将上清液移至 10 mL 试管中,重复提取 2 次,合并上清液。将上

清液倾入已活化的硅胶小柱,接收流出液,待上清液全部流出小柱后,用 5 mL 环己烷淋洗,合并淋洗液和流出液,置于 50 °C 氮吹至干,用环己烷定容至 1.0 mL,待 GC-MS 检测。

红薯粉、干香菇等低含水量固态样品:称取经粉碎等均匀化处理的试样 0.2~1.0 g,加入 5 mL 环己烷,超声浸提 10 min,2500 r/min 离心 5 min,收集上清液,重复提取 2 次,合并环己烷浸提液定容至 10 mL,混匀。余下步骤同火锅底料等富含油脂类凝固态样品进行。

1.3 测试条件

色谱柱:DB-5 MS 30 m×0.25 mm×0.25 μm 石英毛细管柱;载气:氦气,纯度≥99.999%,流速 1.0 mL/min;进样口温度:250 °C;程序升温:150 °C 保持 1 min,以 20 °C/min 升温至 200 °C,保持 1 min,再以 10 °C/min 升温至 300 °C,保持 7 min;进样方式:无分流进样,1.0 min 后开阀;进样量:1 μL。

质谱电离方式:EI,70 eV;色谱/质谱接口温度:280 °C;离子源温度:230 °C;四极杆温度:150 °C;测定方式:全扫描(Scan)检测方式;溶剂延迟:8 min。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂和提取方式的选择

根据石蜡的化学性质,选用本底干扰少的色谱纯环己烷作为萃取溶剂。多次浸提过程中,理论上每次浸提的目标产物浓度比上一次低,固定浸提溶剂用量,浸提溶剂总量一定时,分多次浸提一般比一次性全部加入浸提效果要好,此即为浓度梯度浸提。本文浸提方式为采用浓度梯度 2 次超声浸提,少量多次超声提取利用了浓度差,确保浸提充分,提取回收率比一次浸提提高了 10.2~15.3%,提取更彻底,结果更可靠。

2.2 净化条件的优化

火锅底料主要由油脂和各种调味料构成,油脂是火锅底料中石蜡检测的主要干扰因素,也是最难除去的物质。通过减少取样量来可减少油脂带入的干扰,但是火锅底料样品均匀性较差,取样量少,会影响检测结果的准确性和方法的检出限;取样量多,可以提高取样的代表性程度,但是又会引入过多的干扰杂质,污染仪器设备,同时会影响方法的检出限。文献报道的关于食品中石蜡的净化方法有:浓硫酸磺酸化除杂;氢氧化钠-甲醇溶液皂化除杂;氧化铝、硅胶等固相萃取小柱净化。本文通过综合比较各类净化除杂方法,

实验发现,以浓硫酸磷酸化除杂时,反应剧烈存在安全隐患,易产生一定量的十四烷酸和十六烷酸,振荡过程体系容易乳化,处理后的待测样品呈酸性,大量检测对仪器设备易产生不良影响;氢氧化钠-甲醇溶液皂化会产生大量脂肪酸钠盐,导致提取难度增大,所用试剂增多,后续需用无水硫酸钠脱水后才能用气相色谱等仪器检测;氧化铝、硅胶等固相萃取小柱的净化效果也不好。本实验选用 Jones 试剂氧化除杂,通过试剂的强氧化性将食品中的一些物质通过以下 1 个或多个步骤最终氧化为酯:醇-醛-酸-酯,并采用一定的方式除去。本实验优化了不同配比的三氧化铬、浓硫酸和水配成的氧化剂,发现三氧化铬、浓硫酸和水的比例为 1:1:2 时,氧化反应温和,除杂效果好,而且不会带入副产物杂质,操作安全;加入氧化剂后,充分振荡以确保非均相液态反应体系的充分反应。在称取火锅底料样品 1~5 g 时,均能获得满意的除杂效果。氧化除杂反应后,采用高效的液液非均相高效萃取方式萃取目标组分,然后通过离心分离,分离后有机溶液相 pH 值>6.0,不至于呈强酸性而对检测仪器产生不良影响。复配氧化剂氧化除去了大量的油脂类杂质后,针对可能仍存在的一些极性杂质,本实验采用硅胶固相萃取小柱进一步净化,即实验通过 2 步高效净化除杂,达到满意的净化效果,该复配氧化剂氧化除杂前处理方法及既适用于油脂含量高的火锅底料,同时适用于油脂含量低的干香菇、大米、瓜子等食品。

2.3 测定条件的优化

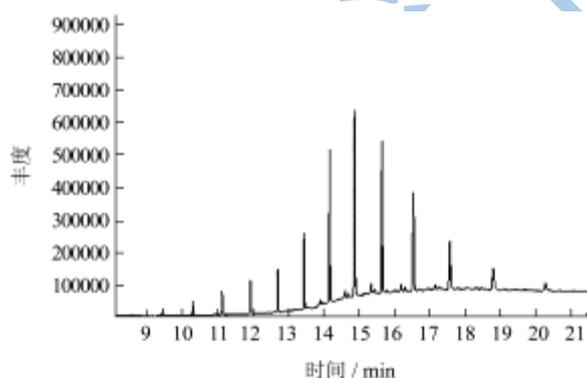


图 1 石蜡标准溶液的 TIC 色谱图

Fig.1 TIC chromatogram of paraffin standard

石蜡主要由多种正构烷烃组成,成分比较复杂。为使各成分实现有效分离,本实验采用 DB-5 MS (30 m×250 μm×0.25 μm) 色谱柱进行实验。由于石蜡中各成分沸点一般都在 200 °C 以上,为缩短分离时间,最终将升温程序设为:150 °C 保持 1 min,以 20 °C/min 升温至 200 °C,保持 1 min,再以 10 °C/min 升温至 300 °C,保持 7 min。在本实验的仪器条件下,石蜡标

准溶液的 TIC 色谱图和选择离子 (m/z 57) 色谱图分别如图 1 和图 2 所示,各组分分离效果良好。

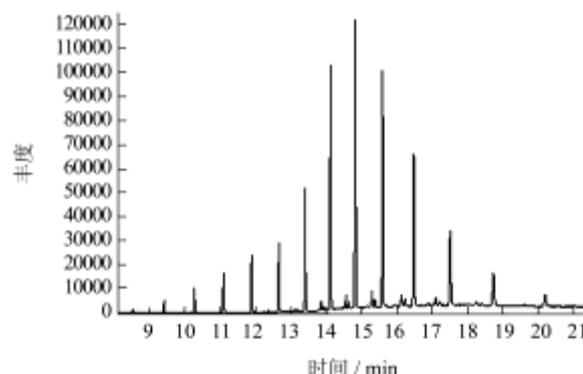


图 2 石蜡标准溶液的选择离子色谱图 (m/z 57)

Fig.2 Selective ion chromatogram of paraffin standard (m/z 57)

2.4 线性范围和检出限

本实验选择正构烷烃的峰为定量峰。将标准溶液中正构烷烃的 m/z 57 提取离子峰峰面积相加之和为纵坐标,相应的浓度为横坐标,绘制标准曲线。方法线性范围 5~800 mg/kg,曲线方程为 $y=9.19x+39.64$,相关系数 0.9997,最低检测限 2 mg/kg。

将石蜡标样依次添加于火锅底料和干香菇空白样品中,进行样品前处理并检测分析,以 3 倍信噪比作为最低检测限。对于火锅底料等含脂类较多的样品:方法线性范围 40~800 mg/kg,曲线方程为 $y=9.43x+77.85$,相关系数 0.9991,最低检测限 8 mg/kg;对于干香菇等水份较低的样品:方法线性范围 10~400 mg/kg,曲线方程为 $y=10.11x+36.69$,相关系数 0.9995,最低检测限 3.5 mg/kg。可见方法的相关性良好,灵敏度高。

2.5 方法的回收率及精密度

表 1 回收率及精密度

Table 1 Recoveries and RSD

样品	添加量 / (mg/kg)	检出量 / (mg/kg)	平均回收率 / %	相对标准偏差 / (% , n=6)
火锅底料	40	41	102.5	2.7
	80	79	98.8	3.5
	400	432	108	3.2
干香菇	10	9	90.0	4.2
	20	23	115	5.1
	100	109	109	3.8
粉条	10	9	90.0	6.4
	20	21	105	5.5
	100	117	117	4.0

选取阴性火锅底料、干香菇和粉条进行添加回收实验 (n=6),实验结果如表 1 所示,方法平均回收率

在90~117%，相对标准偏差在2.7~6.4%，表明方法的回收率高，精密度良好。

火锅底料及其添加 40 mg/kg 浓度石蜡的 TIC 色谱图如图 3 所示，可见，净化效果良好。

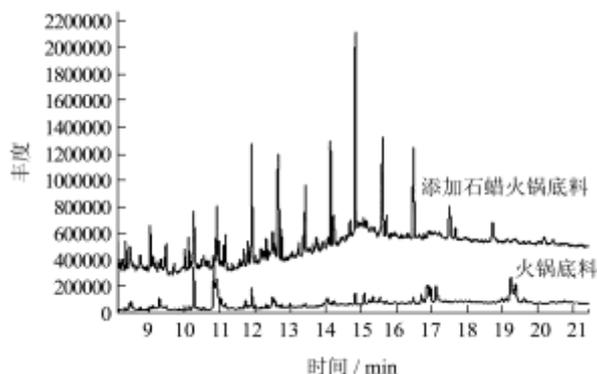


图3 火锅底料及其添加40 mg/kg石蜡的TIC色谱图

Fig.3 TIC chromatogram of hotpot condiment and hotpot condiment with 40 mg/kg paraffin

2.6 实际样品的检测

应用本实验建立的方法，对市售火锅底料、干香菇、粉条、大米、瓜子等样品进行了检测，其中有1份红薯粉条样品检出为阳性，色谱图如图4所示。

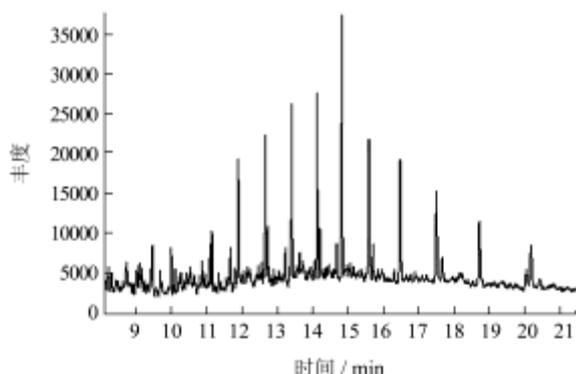


图4 阳性红薯粉条样品的提取离子色谱图 (m/z 57)

Fig.4 Extraction ion chromatogram of positive sweet potato vermicelli (m/z 57)

3 结论

本实验通过优化实验，首次建立了高效氧化除杂结合气相色谱/质谱联用测定不同食品中石蜡的方法。与目前已报道的方法相比，本方法前处理简单，灵敏度高；样品在前处理中损失较少，定量结果准确，回收率高；方法适合多类食品基质，基质干扰少，推广适应性好，有利于对食品生产销售环节非法添加石蜡行为进行遏制和查处。

参考文献

[1] Katell Fiselier, Dennis Fiorini, Koni Groba. Activated

aluminum oxide selectively retaining long chain n-alkanes: Part II. Integration into an on-line high performance liquid chromatography-liquid chromatography-gas chromatography - flame ionization detection method to remove plant paraffins for the determination of mineral paraffins in foods and environmental samples [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 634: 102-109

[2] 范璐,毕艳兰,蔡凤英,等.涂石蜡大米的石蜡含量测定方法的研究[J].*中国粮油学报*,2006,21(4):136-139

Fan L, Bi Y L, Cai F Y, et al. Determination of Liquid Paraffin for Paraffin Coated Rice [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2006, 21(4): 136-139

[3] Paquot C, Hautfenne A. IUPAC Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Perivatives [M]. Ind edn, Blackwell Scientific Publications Ltd, 1987

[4] 孙文通,祝红昆,李波,等.快速准确检测食品中石蜡含量[J].*监督与选择*,2006,7:60-61

Sun W T, Zhu H K, Li B, et al. Fast and Accurate Detection of Paraffin in the Food [J]. *Chinese Journal of Supervision and Choice*, 2006, 7: 60-61

[5] 刘飞.食用菌中石蜡的气相色谱/质谱联用法测定[J].*食品研究与开发*,2010,31(12):133-135

Liu Fei. Determination of the Paraffin in Edible Fungus by GCMS [J]. *Chinese Journal of Food Research and Development*, 2010, 31 (12): 133-135

[6] 毕艳兰,李潇颖,郭兴凤,等.火锅底料中固体石蜡的定性检测方法研究[J].*中国粮油学报*,2006,21(6):180-184

Bi Y L, Li X Y, Guo X F, et al. Qualitative Determination Methods of Paraffin [J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2006, 21 (6): 180-184

[7] 周颖,陈亚林,张学.傅里叶变换红外光谱法检测火锅用牛油中固体石蜡[J].*理化检验-化学分册*,2008,44:653-657

Zhou Y, Chen Y L, Zhang X. FT-IR Spectrometric Testing of Paraffin in Butter Used in Chafing Dishes [J]. *Chinese Journal of Physical Testing and Chemical Analysis Part B-Chemical Analysis*, 2008, 44: 653-657

[8] Simal-Gandara, Sarria-vidal M, Rijk R. Determination of Paraffins in Food Simulants and Packaging Materials by Liquid Chromatography with Evaporative Mass Detection and Identification of Paraffin Type by Liquid Chromatography/Gas Chromatography and Fourier Transform Infrared Spectroscopy [J]. *Journal of AOAC International*, 2000, 83(2): 311-319

[9] Petra Štejnarová, Mehmet Coelhan, Romana Kostrounová, et al. Analysis of short chain chlorinated paraffins in sediment

- samples from the Czech Republic by short-column GC/ECNI-MS [J]. *Chemosphere*, 2005, 58: 253-262
- [10] M N Marikkar, H M Ghazali, Y B Che Man, et al. The use of cooling and heating thermograms for monitoring of tallow, lard and chicken fat adulterations in canola oil [J]. *Food Research International*, 2002, 35: 1007-1014
- [11] GB/T 21309-2007, 涂渍油脂或石蜡大米检验法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007
GB/T 21309-2007, Test of Oil and Liquid Paraffin Spread on Rice [S]. National Standard of the People's Republic of China, Beijing: Standards Press of China, 2007
- [12] GB/T 24313-2009, 蜂蜡中石蜡的测定气相色谱-质谱法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009
GB/T 24313-2009, Determination of Olefin in Beeswax-Gas Chromatographic-mass Spectrum Method [S]. National Standard of the People's Republic of China, Beijing: Standards Press of China, 2009
- [13] 毕艳兰, 范璐, 孙尚德, 等. 掺矿物油大米的定性分析方法研究[J]. *粮食与饲料工业*, 2005, 4(1): 3-5
Bi Y L, Fan L, Sun S D, et al. On Qualitative Analysis Method of Rice Mixed with Mineral Oil [J]. *Chinese Journal of Cereal and Feed Industry*, 2005, 4 (1): 3-5
- [14] 盛旋, 胡艳云, 张蕾, 等. 正相液相色谱-蒸发光散射法测定食品中的石蜡[J]. *分析化学*, 2009, (32)12: 1765-1770
Sheng X, Hu Y Y, Zhang L, et al. Application of Normal Phase Liquid Chromatography-Evaporative Light-Scattering Detection for Determination of Paraffin Wax in Food [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2009, (32) 12: 1765-1770
- [15] 廖怀平, 蔡元庠, 肖伦. 傅里叶红外光谱法检测火锅底料中的固体石蜡[J]. *中国卫生检验*, 2005, 15(12): 1456-1457
Liao H P, Cai Y Y, Xiao L. FT-IR Spectrometric Testing of Paraffin in Butter Used in hotpot condiment [J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2005, 15 (12): 1456-1457
- [16] 罗东辉, 洗燕萍, 刘春生, 等. 一种检测食品中石蜡含量的方法及其样品前处理方法[P]. 中国: CN102662016
Luo D H, Xian Y P, Liu C S, et al. A Detection Method of Paraffin in Food and Its Sample Preparation [P]. China: CN 102662016
- [17] 舒平, 杨卫花, 甘献明. GC-MS, GC-FID 测定粉丝中的石蜡含量[J]. *大理学院学报*, 2010, 9(4): 61-63
Shu P, Yang W H, Gan X M. Determination of Paraffin in Bean Thread Noodles by Employing GC/MS and GC/FID Technology [J]. 2010, *Chinese Journal of Dali University*, 2010, 9 (4): 61-63

欢迎订阅 EI 收录期刊、中文核心期刊

《现代食品科技》

邮发代号: 46-349 刊号: ISSN 1673-9078/CN 44-1620

地址: 广州五山华南理工大学轻工与食品学院麟鸿楼 508, 邮编: 510640

电话: 020-87113352

E-mail: xdspkj@126.com

投稿系统: www.xdspkj.cn