

食用植物油中残留溶剂的高温顶空气相色谱分离与测定

汪海峰¹, 鞠兴荣¹, 杨晓蓉¹, 杨 军²

(1. 南京财经大学食品科学与工程学院 江苏省粮油品质控制及深加工技术重点实验室, 江苏 南京 210003 2. 南京市产品质量监督检验所, 江苏 南京 210028)

摘 要: 对食用油中 C₅~C₈ 烃类残留溶剂的高温顶空气相色谱分离与测定进行方法学考察。样品在 90℃ 进行顶空平衡以提高样品残留溶剂组分在顶空气相中的分配, 并采用 25% 角鲨烷填充色谱柱对溶剂组分进行分离和定量分析。结果表明, 30min 内的高温平衡对组分测定无干扰; 不同组分保留时间的 RSD 均不超过 0.2%、峰面积的 RSD 也均小于 5%, 方法的回收率为 99.2%, 最低定量限均低于 0.5mg/kg; 顶空分析的相平衡条件、色谱分离模式不同导致本方法与国家标准方法的测定结果间存在显著差异; 国家标准方法中六号溶剂标准溶液的配制对定量分析结果影响显著。本方法可用于监控油脂加工中溶剂残留的变化以及精炼油的质量检测。

关键词: 植物油; 残留溶剂; 高温顶空; 分离; 气相色谱法

Isolation and Determination of Residual Solvents in Edible Vegetable Oils by High Temperature Headspace Gas Chromatography

WANG Hai-feng¹, JU Xing-rong¹, YANG Xiao-rong¹, YANG Jun²

(1. School of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Jiangsu Provincial Key Lab of Quality Control and Further Processing of Cereals and Oils, Nanjing 210003, China 2. Nanjing Product Quality Supervision and Testing Institute, Nanjing 210028, China)

Abstract: By combining HTHS sampling with GC separation, a method for the confirmation and quantification of residual hydrocarbons having a number of carbon atoms ranging from 5 to 8 in edible oil samples has been developed and tested. The sample was heated at 90℃ to achieve equilibrium and increase the transfer of residual hydrocarbons into the headspace, and then, a 25% squalane packed-column was used to perform the isolation and determination. The results showed that no interferences were noted within 0.5h equilibrium. The repeatability of the analytes (expressed as a relative standard deviation, RSD) for simulant sample is: <0.2% for retention time and <5% for peak area, the total recovery 99.2%, and LOQ (limit of quantitative) less than 0.5mg/kg. The equilibrium model, chromatographic separation model and quantitative method lead to a significant difference between the new method and the current GB method. The making-up of standard solution of No. 6 solvents from different resources definitely affects the quantification of analytes by GB method. The achieved method may better be used to follow variations of residual solvents during vegetable oil manufacturing process and to detect the quality of refined oil.

Key words vegetable oil; residual solvents; high temperature headspace (HTHS); separation; gas chromatography (GC)

中图分类号: TS201

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0235-04

国内浸出油的生产多以六号溶剂油为萃取剂, 六号溶剂以 C₆~C₈ 烷烃类化合物为主要成分, 尚含少量芳烃, 长期接触会麻醉呼吸中枢、损伤皮肤屏障功能、

损害周围神经和造血功能^[1, 2]。加强对浸出原油、成品油中溶剂残留量的监控, 有利于促进食用植物油加工环节的工艺控制, 切实提高产品的卫生和安全品质。

收稿日期: 2005-03-31

作者简介: 汪海峰(1972-), 男, 实验师, 从事食品分析及天然产物的研究与开发。

国家标准规定以六号溶剂油为标准物配制标准溶液,以顶空气相色谱法测定食用植物油中的残留溶剂^[3]。该方法的测定误差主要来源于六号溶剂内在组成、样品残留溶剂内在组成、相平衡条件以及色谱分离模式等差异:六号溶剂的内在组成受原料、生产工艺、循环使用等众多因素影响,并导致标准溶液的色谱响应差异较大^[4~7];浸出油中残留溶剂的种类、含量受油脂浸出溶剂的组成及脱溶工艺控制;液上气体分析的色谱响应受平衡时间、平衡温度以及气液相比的影响^[8];极性固定液不能实现对C₆~C₈烷烃及芳烃类化合物的有效分离。

本文对高温顶空平衡和非极性色谱柱分离条件下食用植物油溶剂残留量测定的方法学进行考察,以期为食用植物油的品质评价提供更准确的依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

六号浸出溶剂 江苏、安徽及山东等省份的油脂加工企业;食用植物油 南京市产品质量监督检验所;新鲜机榨油(无干扰色谱峰)南京市江宁植物油厂。

1.2 仪器与试剂

1.2.1 实验试剂

N,N-二甲基乙酰胺(DMF)(化学纯级) 中国医药(集团)上海化学试剂公司。

对照品均为色谱标准上海试剂一厂及Merck公司。

1.2.2 主要仪器与设备

电子天平(PL303型、AL204型) 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;恒温水浴 深圳天南海北有限公司;汽化瓶、100ml输液瓶,体积经标定^[3];气相色谱仪(GC-7AG具氢火焰离子化检测器(FID)) 日本岛津公司;数据处理机(C-R1B) 日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 色谱条件

色谱柱:25% squalane Shimalite NAW(101), 60~80目, 2m×3.2mm i.d. 不锈钢柱;柱温:65℃;汽化室温度:150℃;检测器温度:150℃;N₂:55ml/min;H₂:0.6kg/cm²;Air:0.5kg/cm²;检测器量程:10;衰减:2²。

1.3.2 标准溶液制备

以对照品单体及不同来源六号溶剂分别配制不同浓度标准溶液系列(以新鲜机榨油为基质)^[3]。

1.3.3 样品测定

称取油脂样品50.00g于130ml顶空瓶中,密塞后置90℃水浴中平衡30min;准确吸取顶空气100μl进样,以组分的保留时间定性、外标法计算其残留量。

2 结果与讨论

2.1 标准溶液的线性

前期研究中,对30~115℃平衡温度下模拟样品中各溶剂组分峰面积的变化进行了测定,通过提高平衡温度可以提高样品残留溶剂组分在顶空气相中的分配,各溶剂组分的峰面积均随平衡温度的升高而呈显著的指数规律递增。由组分的峰面积与顶空气体的浓度呈线性相关可知,仪器条件不变时,平衡温度为90℃时比50℃时的最低定量限(L_{0Q}, s/n=10:1)降低3倍左右,检测的灵敏度得到明显提高^[9]。

对平衡温度为90℃时不同浓度标准溶液的线性规律进行了考察。以组分峰面积(A)为纵坐标、组分浓度(C)为横坐标进行线性回归(表1),所得线性方程的相关系数均大于0.9990,各组分的最低检出限(L_{0D}, s/n=3)均不超过0.1mg/kg,最低定量限(L_{0Q}, s/n=10)也均低于0.5mg/kg。

基于烃类化合物在FID上的相对质量校正因子基本相同,对烃类化合物混合溶液采用FID检测时可直接采用面积归一化法求出组分的质量百分数^[10],而做顶空气相色谱分析时,由于分配系数的差异,达到平衡时,同浓度不同组分的溶液在气相中的实际浓度产生差异,从而导致初始溶液中组分浓度与顶空分析色谱响应值的线性关系发生改变。

表1 不同组分标准溶液的线性方程
Table 1 Linearity of standard solutions

组分	线性范围 (mg/kg)	线性方程	相关系数	L _{0D} (mg/kg)	L _{0Q} (mg/kg)
正戊烷	0.67~66.9	A=2409.2C+32.1	0.9997	0.06	0.20
2,2-二甲基丁烷	0.71~71.0	A=2378.9C+98.8	0.9999	0.06	0.20
2,3-二甲基丁烷	0.73~73.4	A=2300.4C+152.0	0.9993	0.04	0.14
2-甲基戊烷	0.70~69.8	A=2020.1C+55.5	1.0000	0.06	0.21
3-甲基戊烷	0.86~86.1	A=1921.3C+78.6	0.9999	0.06	0.21
正己烷	1.01~101.4	A=1678.9C+287.3	0.9999	0.03	0.11
甲基环戊烷	1.38~137.9	A=1502.3C+98.6	0.9999	0.08	0.25
苯	0.56~56.3	A=720.1C+152.1	0.9993	0.10	0.32
环己烷	1.08~108.5	A=996.5C+216.0	0.9994	0.07	0.23
3-甲基己烷	1.13~113.2	A=853.4C+317.2	1.0000	0.05	0.16
正庚烷	1.09~108.6	A=803.8C+280.7	0.9997	0.05	0.18

2.2 方法的精密度

在设定的样品处理与仪器条件下,采用模拟样品对方法的精密度进行了考察,分析结果表明,各组分保留时间的RSD均不超过0.2%、峰面积的RSD也均小于5%,即组分的定性、定量分析具有良好的重现性(表2)。

2.3 方法的回收率

在模拟样品中添加一定量混合标准溶液进行回收率实验,测定结果表明,各组分的回收率在95.9%~102.5%之间,总量回收率为99.2%(表3),方法的准确度可以

表2 方法的精密度测定结果
Table 2 Precision of the assay

组分	保留时间 (min)					峰面积 (mV·s)				
	1	2	3	$\bar{R}_t$	RSD (%)	1	2	3	$\bar{A}$	RSD (%)
正戊烷	2.93	2.94	2.94	2.94	0.20	5563	5466	5593	5541	1.20
2,2-二甲基丁烷	3.54	3.54	3.53	3.54	0.16	6251	6203	6291	6248	0.71
2,3-二甲基丁烷	4.77	4.76	4.77	4.77	0.12	7700	7764	7805	7756	0.68
2-甲基戊烷	6.13	6.12	6.14	6.13	0.16	17390	17400	17483	17424	0.29
3-甲基戊烷	6.96	6.95	6.95	6.95	0.08	18355	17899	17853	18036	1.54
正己烷	7.89	7.88	7.88	7.88	0.07	14456	14538	14498	14497	0.29
甲基环戊烷	10.18	10.18	10.19	10.18	0.06	5660	5682	5534	5625	1.42
苯	11.28	11.30	11.29	11.29	0.09	2103	2067	2165	2112	2.35
环己烷	13.89	13.86	13.86	13.87	0.12	4489	4430	4379	4433	1.24
3-甲基己烷	15.06	15.08	15.06	15.07	0.08	3383	3357	3296	3345	1.33
正庚烷	18.37	18.39	18.39	18.38	0.06	2704	2812	2751	2756	1.96

表3 不同组分的回收率测定结果
Table 3 Recoveries of the assay

组分	本底值(mg/kg)	添加量(mg/kg)	测定值(mg/kg)	回收率(%)
正戊烷	2.21	1.11	3.27	95.9
2,2-二甲基丁烷	2.58	1.29	3.89	101.6
2,3-二甲基丁烷	3.31	1.66	4.93	97.9
2-甲基戊烷	8.60	4.30	12.85	98.8
3-甲基戊烷	9.35	4.68	13.95	98.4
正己烷	8.46	4.23	12.72	100.7
甲基环戊烷	3.68	1.84	5.48	97.8
苯	2.72	1.36	4.05	97.8
环己烷	4.23	2.12	6.35	100.2
3-甲基己烷	3.55	1.78	5.37	102.5
正庚烷	3.08	1.54	4.59	98.1
总量	51.77	25.89	77.45	99.2

满足日常分析要求。

2.4 样品测定

采用本方法(高温平衡与色谱分离相结合的方法,以下同)与国家标准方法对不同样品分别进行测定(表4),并对4种定量结果分别进行成对双样本均值检验。除本方法与C法间无显著差异外,其余各成对结果间均存在显著差异($p < 0.05$),分析结果表明,不同来源样品中残留溶剂存在显著差异;国家标准方法中标准溶液配制时六号溶剂的来源不同对测定结果影响显著;溶剂中不同组分在顶空气中分配系数的差异是导致各方法的定量结果间存在显著差异的主要原因。

商品六号溶剂的来源、浸出油生产中脱溶工艺的差异导致浸出油中残留溶剂的内在组成及含量存在差异、六号溶剂标准溶液内在组成的不同等均构成按国家标准方法进行溶剂残留定量测定结果不确定性的的重要因素;采用标准化的六号溶剂^[4,5]、正己烷^[6]、石油醚^[7]以及与生产植物油时相同的溶剂^[6]等配置标准溶液的方法探讨在实际操作中均具有一定的局限性。

新鲜机榨油经110℃密闭加热8h处理后无干扰峰出现,说明高温平衡对测定结果无影响,烃类组分的检

表4 不同测定方法的定量结果(mg/kg)

Table 4 Quantitative determination results between different methods(mg/kg)

样品	I	II	III	IV	V	毛油-1	毛油-2	机榨油
正戊烷	0.25	<LOQ	<LOQ	0.31	<LOQ	0.96	0.15	<LOD
2,2-二甲基丁烷	0.32	<LOQ	<LOQ	0.46	<LOQ	1.32	0.93	<LOD
2,3-二甲基丁烷	0.39	0.69	0.21	0.39	<LOQ	1.57	0.30	<LOD
2-甲基戊烷	4.24	2.34	0.69	0.56	9.91	16.51	10.23	<LOD
3-甲基戊烷	4.65	2.60	0.65	0.98	7.05	14.36	16.28	<LOD
正己烷	13.98	5.61	2.92	3.26	12.38	28.09	23.89	<LOD
甲基环戊烷	17.80	4.23	0.68	2.07	7.66	13.28	9.04	<LOD
苯	1.19	1.85	<LOQ	<LOQ	2.08	0.83	1.88	<LOD
环己烷	19.95	3.66	1.09	0.38	1.52	5.08	5.37	<LOD
3-甲基己烷	17.00	3.30	0.88	0.32	2.93	4.67	4.83	<LOD
正庚烷	2.31	1.81	0.63	0.10	3.75	2.53	1.84	<LOD
残留量A	82.08	26.09	7.75	8.83	47.28	89.20	74.74	0.00
残留量B	80.51	28.05	9.48	12.31	56.10	111.43	90.96	0.00
残留量C	68.54	23.86	8.05	10.47	47.75	94.87	77.44	0.00
残留量D	90.77	31.58	10.63	13.83	63.22	125.66	102.57	0.00

注:A:单组分残留量的总和; B、C、D:按GB法以不同来源六号溶剂配制标准溶液所测得的残留量;机榨油:新鲜机榨油110℃密闭加热8h。

出均源于样品中的残留溶剂。

在溶剂残留总量较低的产品(如:样品IV)中出现部分样品中低沸点组分比例较高的现象,一方面可能与溶剂来源以及脱溶工艺有关,但极可能是个别企业出于经济效益考虑,以低溶残精炼油对溶残超标的精炼油甚至毛油进行直接稀释所导致的,在该类产品的鉴别方面值得深入研究^[11]。

3 结论

对痕量和微量的植物油残留溶剂进行顶空分析时,溶剂组分的色谱响应随平衡温度的提高呈指数规律递增,提高平衡温度至90℃可以大幅度提高分析的灵敏度;高温顶空平衡对样品中残留溶剂组分的定性和定量分析不产生干扰。

AccQ · Tag 法测定绿豆蛋白酶解液中的氨基酸含量

卢珍华, 郭彩华
(集美大学生物工程学院, 福建 厦门 361021)

摘 要: 采用柱前衍生高效液相色谱法(AccQ · Tag 法)同时测定 17 种氨基酸, 氨基酸浓度在 $10\sim 100\mu\text{mol/L}$ (胱氨酸浓度在 $5\sim 50\mu\text{mol/L}$) 时, 其峰面积和氨基酸浓度的线性相关系数均在 0.99 以上, 17 种氨基酸的加标回收率在 92.1%~103.7% 之间, 用此法测定了绿豆蛋白酶解液氨基酸的含量, 取得了满意的结果。

关键词: 高效液相色谱法; 氨基酸; AccQ · Tag 方法; 酶解液

The RP-HPLC Determination of Amino Acids in Mung Bean Protein Hydrolysate by AccQ·Tag

LU Zhen-hua, GUO Cai-hua
(Bioengineering College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstracts: 17 amino acids were determined by HPLC AccQ·Tag. When the concentration of amino acids were $10\sim 100\mu\text{mol/L}$ (with the cysteine among $5\sim 50\mu\text{mol/L}$), the correlation coefficient between the peak area and the concentration of amino acid was above 0.99. The recoveries of 17 amino acids added were 92.1%~103.7%. The satisfactory method applied to amino acids in many bean protein hydrolysate and good results was obtained.

Key words: HPLC; amino acid; AccQ · Tag; the soluble from mung bean protein

中图分类号: 0657

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0238-04

收稿日期: 2005-04-27

作者简介: 卢珍华(1971-), 女, 实验师, 主要从事食品、生物工程方面的研究。

顶空的相平衡条件、色谱分离模式、组分定性和定量分析方法的不同导致本方法与国家标准方法的测定结果间存在显著差异; 国家标准方法中六号溶剂标准溶液的配制对测定结果影响显著。

检测样品中高沸点残留组分尤其是苯的含量及比例较高, 从卫生学角度应加强合理控制。

以非极性色谱柱对残留混合溶剂中各组分进行分离和定量分析可以更科学地评判其在食用植物油中的残留状况, 技术方法对植物油产品的质量仲裁具有一定的参考价值。

参考文献:

- [1] 李艳梅. 关于食用油脂中残留溶剂油对人体危害的探讨及对策[J]. 职业与健康, 2001, 17(6): 46-47.
- [2] 姜宁, 曹继友, 杨德田. 食用油脂中残留溶剂油的测定及对人体的

危害性分析[J]. 中国初级卫生保健, 1997, 11(12): 38.

- [3] GB/T 5009.37-1996, 食用植物油卫生标准的分析方法[S].

- [4] 钱小妹. 食用植物油残留溶剂测定方法探讨[J]. 江苏大学学报(医学版), 2003, 13(2): 166-167.

- [5] 石允生, 刘向华, 李士永, 等. 石油醚顶空气相色谱法测定食用植物油中残留溶剂的研究[J]. 预防医学文献信息, 2002, 8(2): 201-202.

- [6] 曹占文, 史玮, 衣春雨, 等. 不同厂家六号溶剂油对植物油中溶剂残留量测定结果影响的研究[J]. 粮食储藏, 2000, 29(5): 48-50.

- [7] 于渤, 张素春. 不同产地的六号溶剂对溶剂残留测定结果的影响[J]. 粮食储藏, 1997, 26(2): 49-50.

- [8] 陈尊庆. 气相色谱法与气液平衡研究[M]. 天津: 天津大学出版社, 1991. 260.

- [9] 汪海峰, 鞠兴荣, 申海进, 等. 食用植物油中残留溶剂测定的相平衡条件探讨[J]. 中国油脂, 2005, 30(6): 34-36.

- [10] 顾蕙祥, 阎宝石. 气相色谱实用手册(第2版)[M]. 北京: 化学工业出版社, 1996. 524.

- [11] 李雅琴. 市售植物油溶剂残留量调查[J]. 预防医学情报杂志, 2001, 17(2): 117-118.