

流动注射光度法测定植物油中的脂肪醛

龙泽荣¹, 刘莉¹, 赵建勇¹, 鹿毅^{1*}, 王利涛², 赵亮², 董树清², 李辉²

(1. 新疆维吾尔自治区产品质量监督检验研究院, 乌鲁木齐 830001;

2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 兰州 730000)

摘要: **目的** 建立流动注射法检测植物油中醛类化合物的方法。**方法** 利用醛类物质和间苯三酚在酸催化作用下生成红色单甲川类衍生物的原理, 在自制的流动注射分析仪中, 以相同摩尔量的甲醛、乙醛、正丙醛、正丁醛、正戊醛、正己醛、正庚醛、正辛醛和正壬醛配成的混合醛为标准物质, 通过优化反应中的酸催化剂种类及用量、温度、试剂浓度以及流速等参数, 确定最佳的流动注射法检测植物油中的醛类物质方法。**结果** 最佳的流动注射条件为: 两个蠕动泵的流速控制在 0.5 mL/min, 检测波长为 455 nm, 进样量为 100 μ L, 恒温水浴槽的温度为 75 $^{\circ}$ C。在该条件下, 醛类化合物在 0.0006~0.03 mol/L 浓度范围内具有良好的线性关系, 线性方程为 $Y=3.19 \times 10^8 X+1.12 \times 10^5$, $r^2=0.998$; 该方法的相对标准偏差为 0.41%~2.1%, 回收率在 90%以上。**结论** 该方法可用于实际食用油样品中醛类物质的检测, 具有方法简单、测试快速、数据准确的特点, 可在食品检测领域中获得推广。

关键词: 流动注射分析; 分光光度法; 植物油; 醛类化合物

Determination of aldehydes in vegetable oils by flow injection spectrophotometry

LONG Ze-Rong¹, LIU Li¹, ZHAO Jian-Yong¹, LU Yi^{1*}, WANG Li-Tao², ZHAO Liang²,
DONG Shu-Qing², LI Hui²

(1. Xinjiang Uygur Autonomous Region Product Quality Supervision and Inspection Institute, Urumqi 830001, China; 2. Lanzhou Institute of Chemical Physics of the Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of aldehydes content in vegetable oils with flow injection spectrophotometry. **Methods** The standard substance was made up of mixed aldehydes with the same mole of formaldehyde, acetaldehyde, *n*-propanal, *n*-butanal, *n*-pentanal, *n*-hexaldehyde, *n*-heptaldehyde, *n*-octanal and *n*-nonanal. The best determination condition of aldehydes was determined by the optimization of acid catalyst, temperature, concentration and flow rate parameters using the reaction of aldehydes and phloroglucinol to produce the red methenyl derivatives under the acid action by home-made flow injection equipment. **Results** The optimal flow injection conditions for the experiment were as follow: determination wavelength was 455 nm, the flow rates of two peristaltic pumps were 0.5 mL/min, the injection volume was 100 μ L, and the temperature of thermostatic water bath was 75 $^{\circ}$ C. In optimal conditions, the favourable linear relation of aldehydes was in range of 0.0006~0.03 mol/L,

基金项目: 国家自然科学基金项目(21405162, 21405161)、乌鲁木齐市科技局重点项目(Y141320007)

Fund: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21405162, 21405161) and Key Projects of Urumqi City Technology Bureau (Y141320007)

*通讯作者: 鹿毅, 提高待遇高级工程师, 博士生导师, 主要研究方向为食品分析和精细化学。E-mail: luyi_xjxy@163.com

*Corresponding author: LU Yi, Professor, Xinjiang Uygur Autonomous Region Product Quality Supervision and Inspection Institute, Urumqi 830001, China. E-mail: luyi_xjxy@163.com

linear equation was $Y=3.19 \times 10^8 X+1.12 \times 10^5$ ($r^2=0.998$), relative standard deviations were 0.41%~2.1%, and recoveries were above 90%. **Conclusion** The method can be used for the determination of aldehydes in vegetable oils, it is simple, rapid and accurate, which can get promotion in the field of food detection.

KEY WORDS: flow injection; spectrophotometry; vegetable oils; aliphatic aldehydes

1 引言

多年来, 人们对食用植物油的需求不断增加, 产生了大量的餐饮业废弃油脂。但是, 废弃油脂经过精炼以后重回餐桌的事件时有发生。为了防止精炼过的废弃油脂重新流入食用油市场, 实现鉴别伪劣食用油是当前的重要课题, 对保护人们的身体健康与生命安全具有重大意义^[1-3]。食用植物油在高温烹饪或者废弃油脂(地沟油)的高温精炼过程中, 会产生油脂的二级降解产物, 如脂肪醛或酮等多种极性化合物, 如果人们长期食用这种含有脂肪醛或酮等极性化合物的油脂, 将对人们的身体健康带来极大的危害。针对食用植物油中的脂肪醛酮类化合物, 开展快速检测食用植物油中的脂肪醛类物质技术研究, 是目前有效鉴别废弃食用油有潜力的方法之一。脂肪醛类化合物是一类常见的污染物, 对人体健康具有极大的危害。因此, 脂肪醛类物质的检测对于环境保护、工业应用和人体健康都有很重要的意义^[4]。

目前脂肪醛类物质的检测方法主要有分光光度法^[5]、色谱法^[6]、电化学法^[7]等多种检测方法, 这些方法的优点是高精度、高灵敏度、同时测定多种化合物等。在实际应用中, 可针对检测样品的性质和需要选择不同的检测方法^[8,9]。董树清等^[10,11]利用 2,4-二硝基苯肼与醛类物质柱前衍生反应生成肟类物质的实验原理, 通过高效液相色谱技术, 测定了油脂和精炼地沟油中的脂肪醛的含量。沈卫阳等^[12]利用同样的原理, 通过柱前衍生化-高效液相色谱法测定地沟油中的脂肪醛含量。但是这些方法也存在着一些缺点, 如: 大多需要借助于昂贵的仪器、前处理过程复杂、样品检测耗费时间长、检测成本高、不能实现在线检测等。为此, 结合流动注射分析技术的优势, 开发更为简便的脂肪醛类物质检测方法, 能够满足废弃食用油中脂肪醛类物质的快速检测要求, 具有极大的实用价值。流动注射分析技术是建立在平衡体系基础上的一种分析技术, 可大大提高实验分析的效率和准确度^[13]。该技术在大气、水、食品以及室内环境中的醛类污染物的检测中获得应用, 然而在植物油中醛类化合物的检测应用尚未见文献报道。

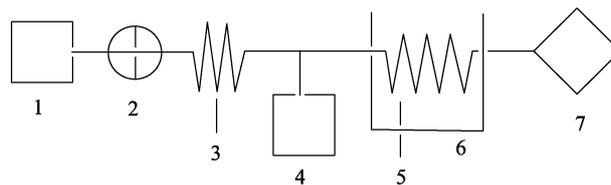
本文利用醛类化合物与间苯三酚在酸性介质中发生高度特异性化学反应生成红色单甲川类衍生物的特性^[14], 建立了流动注射分析法检测食用植物油中醛类化合物的方法, 在实际样品中进行了测试发现, 该方法具有简便、快速、准确、试剂耗量少, 测定结果准确可靠, 并可在现场

完成快速醛类化合物分析, 因此可推广应用于食用植物油品质监测领域。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

自组装流动分析仪如图 1 所示, 由 2 台蠕动泵(中国雷弗流体科技有限公司), SPD-10A-岛津液相紫外检测器(日本岛津公司)、7725i 手动进样阀(美国罗丹尼公司)和恒温水浴槽(郑州市亚荣仪器有限公司)组成; 其附件包括: 70 μL 定量环($\phi=0.7$ mm 的聚四氟乙烯管), 混合圈($\phi=0.7$ mm)和反应管($\phi=0.7$ mm)的长度分别为 0.8 m 和 2 m, 材质为聚四氟乙烯管; 电子分析天平(德国赛多利斯公司)。



1 和 4. 蠕动泵: 控制流速, 以 mL/min 计; 2. 进样阀; 3. 混合圈, 0.8 m; 5. 反应管, 2 m; 6. 恒温水浴槽; 7. 紫外可见检测器

图 1 流动注射分析测定醛类物质工作流程示意图

Fig. 1 Schematic diagram of flow injection analyzer to measure aldehydes

间苯三酚、对甲苯磺酸、甲醛、乙醛、正丙醛、正丁醛、正戊醛、正己醛、正庚醛、正辛醛、正壬醛、乙醇、硫酸、盐酸、乙酸、三氯乙酸均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司。色谱纯乙腈购自于山东禹王实业有限公司。

食用植物油样品, 鲁花 5S 一级花生油、金龙鱼一级菜籽油、金龙鱼三级菜籽油、金龙鱼一级大豆油和金龙鱼调和油为超市购买, 精炼地沟油样品为实验室制备。

2.2 试验原理

醛类物质与间苯三酚在酸性催化及加热条件下, 生成红色的单甲川类衍生物, 在 455 nm 处有强的紫外吸收, 同时食用植物油烹饪过程或地沟油精炼过程中会产生多种醛类化合物油脂二级降解物, 利用此原理, 采用紫外检测器可检测食用植物油中的醛类化合物。

2.3 食用油中醛类化合物的提取分离

取 5 mL 食用油于试管中, 再加入 5 mL 乙腈, 摇匀, 静置 5 min 分层, 由于乙腈与食用油不互溶, 上层清液即为食用油的乙腈萃取液。

2.4 实际样品的测定

两个蠕动泵的流速均为 0.5 mL/min, 检测波长为 455 nm, 进样量 100 μ L, 恒温水浴槽的温度为 75 $^{\circ}$ C。测定过程见图 1, 在蠕动泵 1 的作用下, 将食用植物油样品的乙腈萃取液, 通过进样针注入进样阀 2, 间苯三酚和醛类物质在混合圈 3 中混合均匀; 通过蠕动泵 4 将催化剂对甲苯磺酸, 送入反应管 5 中, 在反应管中, 间苯三酚和醛类物质在对甲苯磺酸催化作用下发生化学反应, 生成红色单甲川类衍生物; 通过紫外可见检测器 7, 实现醛类物质的检测。本文所有实验重复 3 次, 最终数据为 3 次实验结果的平均值。

3 结果与分析

3.1 流动注射条件优化

食用植物油中常有甲醛、乙醛、正丙醛、正丁醛、正戊醛、正己醛等多种脂肪醛^[12], 这主要是由于植物油长时间存放或者经过烹饪很容易氧化变质生成二级产物-脂肪醛类物质^[15], 本研究以相同摩尔的甲醛、乙醛、正丙醛、正丁醛、正戊醛、正己醛、正庚醛、正辛醛和正壬醛配成的混合醛为标准物质, 考察了间苯三酚与混合醛的反应随酸催化剂、溶剂、反应温度及试剂用量的影响, 其衍生化的产率也有显著性差异, 本文对实验条件进行优化, 得到了流动注射光度法检测醛类物质最佳的方法。

3.1.1 酸性催化剂的优化

反应管中的间苯三酚的浓度为 7.8×10^{-3} mol/L, 水浴恒温为 75 $^{\circ}$ C, 混合醛浓度为 0.01 mol/L, 载流溶剂为乙醇时, 分别将浓度均为 0.012 mol/L 的硫酸、盐酸、乙酸、三氯乙酸、对甲苯磺酸, 作为反应的催化剂, 考察间苯三酚与混合醛反应的衍生化率。如图 2 所示, 对甲苯磺酸得到的峰面积值最大, 因此选用对甲苯磺酸作为催化剂。可能是因为甲苯磺酸是强的有机酸, 有利于促进间苯三酚和醛类化合物的化学反应。

3.1.2 反应温度的优化

醛类化合物与间苯三酚反应是吸热反应, 因此升高温度有利于促进反应产率, 同时提高反应速度。以 10 $^{\circ}$ C 为间隔, 考察了 55~85 $^{\circ}$ C 反应产物收率的情况。其他实验条件如对甲苯磺酸的浓度为 0.012 mol/L, 间苯三酚的浓度为 7.8×10^{-3} mol/L, 混合醛浓度为 0.01 mol/L, 载流溶剂为乙醇条件保持不变, 其产物产率如图 3 所示。如图所示, 升高温度, 的确促进了反应的进行, 65~75 $^{\circ}$ C 区间内产率有较为显著的提高, 然而 75 $^{\circ}$ C 之后趋势减缓。尽管提高温度有利于产物的快速生成, 但是从仪器使用和维护的角度

考虑, 在不影响实验结果的前提下, 最佳反应温度为 75 $^{\circ}$ C。

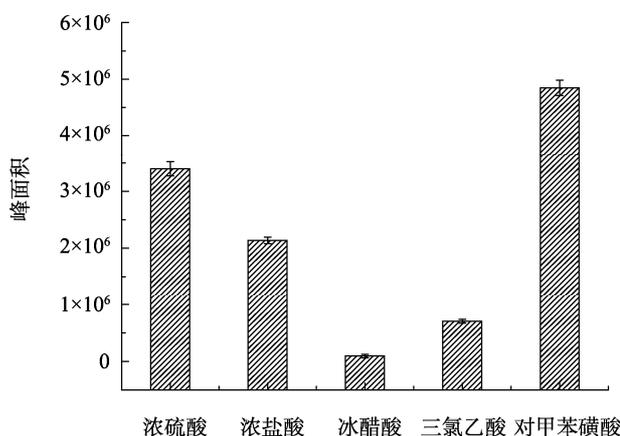


图 2 不同酸催化剂对混合醛检测的影响(n=3)

Fig. 2 Effects of different acids on results of determination of mixed aldehydes (n=3)

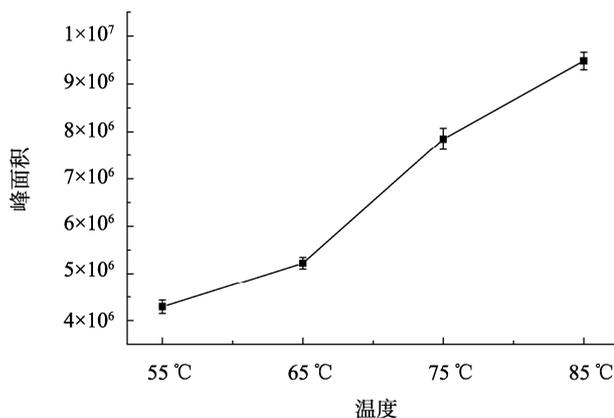


图 3 不同温度对混合醛检测的影响(n=3)

Fig. 3 Effects of different temperatures on results of determination of mixed aldehydes (n=3)

3.1.3 载流溶剂的优化

溶剂效应也是影响醛类物质与间苯三酚反应主要因素之一, 本实验分别考察了甲醇、乙醇、乙腈和异丙醇溶剂对反应过程的影响。其反应中对甲苯磺酸的浓度为 0.012 mol/L, 间苯三酚的浓度为 7.8×10^{-3} mol/L, 混合醛浓度为 0.01 mol/L, 对生成甲川类产物检测的峰面积得到的图见图 4。在图中可以看出, 乙醇和异丙醇中的浓度差别不大, 本实验选用的载流试剂为乙醇。

3.1.4 所用试剂的浓度和流速的优化

上述试验已经确定了所用试剂的类型, 但是所用试剂的量和流动注射的流速, 需要进一步的优化。如图 5(a)

和 5(b)所示, 当对甲苯磺酸和间苯三酚的浓度分别达到 1.2×10^{-2} 和 7.8×10^{-3} mol/L 的时候, 基本达到了平衡, 因此, 本实验确定了最佳的对甲苯磺酸和间苯三酚的用量; 同时在流速的考察试验中, 如图 5(c)所示, 当载流试剂流速为 0.5 mL/min, 检测得到的产物浓度信号最强, 以此确定了最佳的流速。

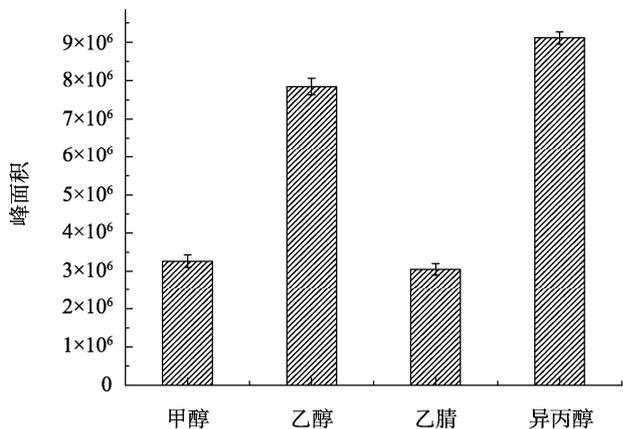


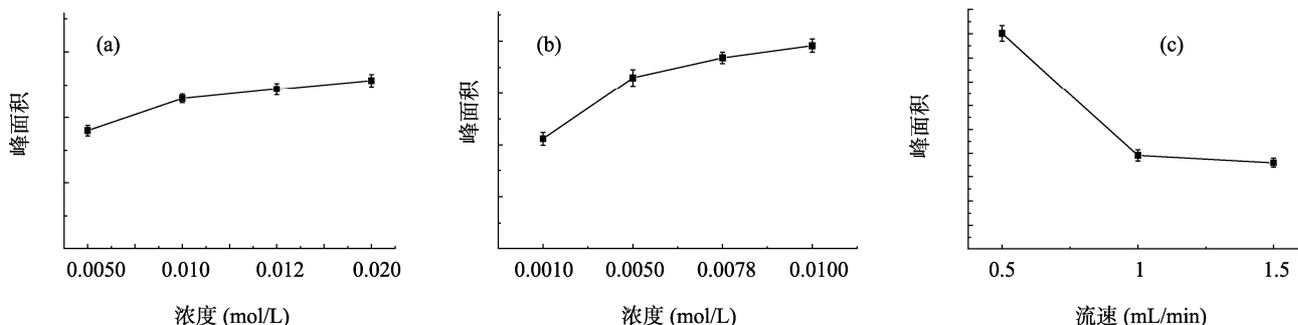
图 4 不同溶剂对混合醛检测的影响($n=3$)

Fig. 4 Effects of different solvents on results of determination of mixed aldehydes ($n=3$)

3.2 体系方法评价

3.2.1 方法的线性范围及检出限

在最优化的条件下, 流动注射检测混合醛物质的标准曲线线性方程为 $Y = 3.19 \times 10^8 X + 1.12 \times 10^5$, (式中 Y 为峰面积, X 为混合醛摩尔浓度, mol/L), 相关系数 0.998, 线性范围为 0.0006~0.03 mol/L, 其线性拟合如图 6 所示。按照仪器的三倍信噪比, 得出最低检出限为 3×10^{-4} mol/L。



(a)对甲苯磺酸; (b)间苯三酚; (c)流速

(a) *p*-toluenesulfonic acid; (b) phloroglucinol; (c) flow rate

图 5 所用试剂的浓度和流动注射流速的优化($n=3$)

Fig. 5 The optimization of different solvents and flow rate ($n=3$)

3.2.2 方法精密度

取 1×10^{-3} 、 5×10^{-3} 和 1×10^{-2} mol/L 混合醛溶液, 分别测定 8 次, 其标准偏差分别为 4.1×10^{-4} 、 8.4×10^{-3} 和 2.1×10^{-2} , 其相对标准偏差为 0.41%、1.68%和 2.1%, 表明方法的重现性很好。

3.2.3 方法准确度

向 2 份食用油中分别加入 2.0×10^{-3} 、 1.5×10^{-3} 和 1.0×10^{-3} mol/L 混合醛溶液, 其平均回收率 94.0%~110.0%, 实验表明此方法准确度很好, 符合食用油中醛类物质的检测要求。

3.3 实际样品测定

按照本实验优化的最佳实验方法, 对市场上的各种食用植物油和精炼地沟油进行了醛类物质的检测, 代表性的流动注射测定图如图 7 所示, 可以明显看出, 流动注射分析法在 3 min 就可以实现对食用植物油样品的检测, 并且对标准混合醛类化合物、食用植物油和精炼地沟油中的醛类化合物具有很好的信号响应。该方法对醛类化合物的检测结果见表 1, 精炼地沟油的醛类物质含量最高, 达到了 0.021 mol/L, 其含量约为合格食用油样品的 10~15 倍, 远远高于好油样品, 可以明显鉴别出地沟油; 其次是花生油中的醛类物质的含量要稍高于其它种类的食用油样品, 并且以一级菜籽油中的醛类物质含量最低, 而三级菜籽油中醛类物质的含量明显偏高, 一级大豆油中的醛类化合物略低于三级菜籽油, 而金龙鱼调和油中的醛类化合物稍高于菜籽油和大豆油。

本实验中合格食用植物油样品的测定结果均低于食用植物油中醛类物质的国家检测标准, 同时与柱前衍生-高效液相色谱法的测定结果相比较^[11, 12], 其测定结果基本一致, 证实本文开发的流动注射检测地沟油的方法真实可靠。

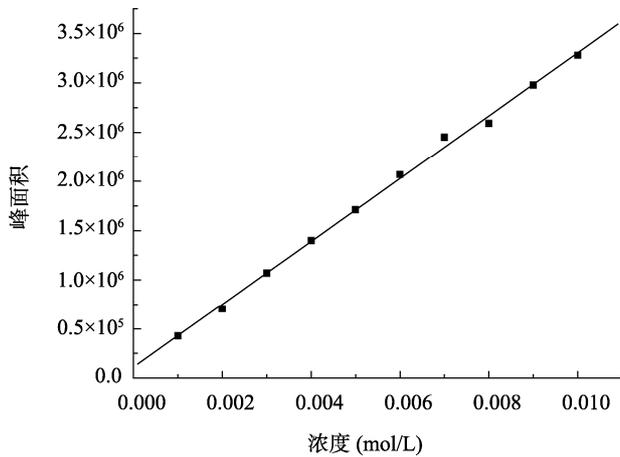
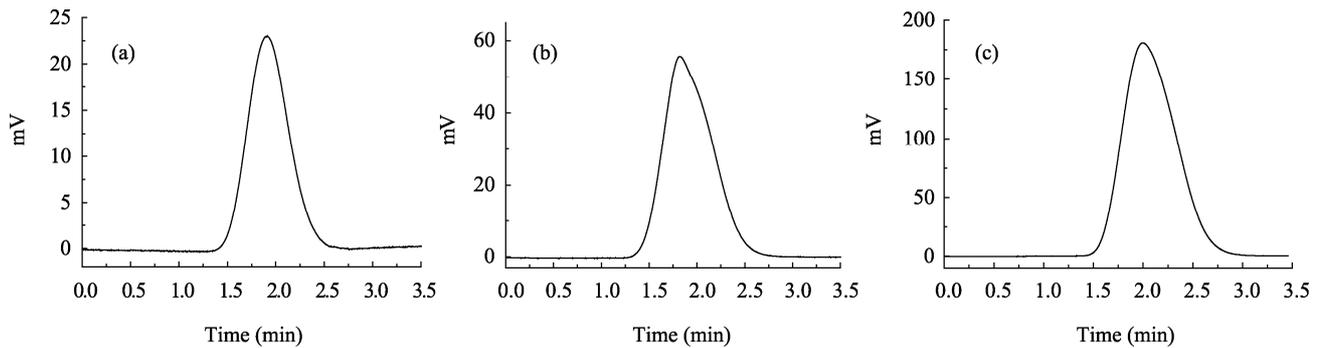


图 6 流动注射测定混合醛的标准工作曲线

Fig. 6 The standard curve of flow injection analyzer to measure mixed aldehydes

表 1 不同油样品中醛类物质的测定结果
Table 1 Determination results of aldehydes in different oil samples

食用油名称	测定值(mol/L)
鲁花 5S 一级花生油	0.0059
金龙鱼一级菜籽油	0.0011
金龙鱼三级菜籽油	0.0030
金龙鱼一级大豆油	0.0021
金龙鱼调和油	0.0039
精炼地沟油	0.021



(a) 混合醛标准物质; (b)鲁花 5s 花生油; (c)精炼地沟油

(a) mixed aldehydes standard; (b) Luhua 5s peanut oil; (c) refined waste oil

图 7 流动注射测定醛类物质

Fig. 7 The schematic diagram of determination for aldehydes

4 结 论

本文利用间苯三酚和醛类化合物反应生成红色单甲川类化合物的原理, 通过优化间苯三酚的浓度、不同酸催化剂、不同温度、不同试剂浓度对醛类物质检测条件, 确定了最合适的检测条件, 建立了食用植物油中醛类化合物的流动注射测定方法。其最佳的检测条件是, 检测波长为 455 nm, 两个蠕动泵的流速均为 0.5 mL/min, 进样量为 100 μ L, 恒温水浴槽的温度为 75 $^{\circ}$ C。醛类物质含量在 0.001~0.01 mol/L 范围内具有良好的线性关系, 线性方程为 $Y=5.98 \times 10^4 + 2.25 \times 10^8 X$, $r^2=0.9997$; 可用于食用油样品中醛类化合物的在线快速检测。

参考文献

[1] 王崑, 刘连利, 仪淑敏. 地沟油鉴别检测方法研究进展[J]. 食品安全

质量检测学报, 2015, 6(1): 218-225.

Wang W, Liu LL, Yi SM. Advances of the distinguishing and detection of illegal cooked oil [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(1): 218-225.

[2] 耿红蕊, 曹文明, 江明. 荧光光谱结合模式识别技术鉴别地沟油[J]. 食品科技, 2015, 40(12): 275-279.

Geng HR, Cao WM, Jiang M. Identification of gutter oils based on fluorescence spectrum combined with pattern recognition technology [J]. Food Sci Tech, 2015, 40(12): 275-279.

[3] 陈娟, 李琰, 孙震宇, 等. 电导率法鉴别地沟油的研究进展[J]. 广东化工, 2016, 43(13): 156-157.

Chen J, Li Y, Sun ZY, et al. Research progress on identification of hogwash oil by conductivity [J]. Guangdong Chem Ind, 2016, 43(13): 156-157.

[4] 韩冬娇, 李敬, 刘红英. 水产品中内源性甲醛的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3953-3958.

Han DJ, Li J, Liu HY. Research progress on endogenous formaldehyde in aquatic products [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(10): 3953-3958.

[5] 周碧青, 张素平, 张金彪. 分光光度法和比色卡法快速测定蜂蜜中羟

- 甲基糠醛[J]. 分析试验室, 2016, 35 (05): 586-589.
- Zhou BQ, Zhang SP, Zhang JB. Rapid determination of 5-hydroxymethylfurfural in honey by spectrophotometry and colorimetric card [J]. Chin J Anal Lab, 2016, 35(05): 586-589.
- [6] 莫新良, 徐岩, 范文来. 液液微萃取-气相色谱/质谱法测定黄酒麦曲中挥发性酸及香草醛[J]. 分析科学学报, 2015, 31(05): 616-620.
- Mo XL, Xu Y, Fan WL. Determination of volatile organic acids and vanillin in wheat qu by liquid microextraction combined with gas chromatography/mass spectrometry [J]. J Anal Sci, 2015, 31(05): 616-620.
- [7] 赖丽燕, 刘峥, 李巍, 等. 基于 3,5-二溴水杨醛席夫碱镍配合物-氧化石墨烯电化学免疫传感器检测 Anti-IgG 含量的研究[J]. 分析科学学报, 2014, 30 (04): 481-484.
- Lai LY, Liu Z, Li W, *et al.* Immuno-electrochemical detection of anti-IgG using 3,5-dibromo alkali nickel complex/graphite oxide composite modified electrode [J]. J Anal Sci, 2014, 30 (04): 481-484.
- [8] 唐穗平. 柱前衍生高效液相色谱法检测水产品中甲醛的含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2016, 7 (7): 2931-2936.
- Tang HP. Determination of formaldehyde in aquatic products by high performance liquid chromatography with precolumn derivatization [J]. J Food Saf Qual, 2016, 7(7): 2931-2936.
- [9] 高夫超, 崔长日, 魏月, 等. 高效液相色谱法测定蜂王浆中 6 种糠醛类物质含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5 (11): 3603-3609.
- Gao FC, Cui CR, Wei Y, *et al.* Determination of 6 furfural compounds contents in royal jelly by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(11): 3603-3609.
- [10] 董树清, 杨孟铭, 王利涛, 等. 高效液相色谱法测定油脂中的脂肪醛[J]. 分析试验室, 2013, 32(11): 67-71.
- Dong SQ, Yang MM, Wang LT, *et al.* Determination of aliphatic monoaldehydes in fats by HPLC [J]. Chin J Ana Lab, 2013, 32(11): 67-71.
- [11] 董树清, 王利涛, 张霞, 等. 高效液相色谱法测定地沟油中脂肪醛类物质[J]. 食品工业科技, 2013, 34(11): 313-316.
- Dong SQ, Wang LT, Zhang X, *et al.* Determination of aliphatic monoaldehydes in hogwash oil by HPLC [J]. Sci Tech Food Ind, 2013, 34(11): 313-316.
- [12] 沈卫阳, 王洁琼, 王婉, 等. 柱前衍生化-高效液相色谱法测定地沟油中的脂肪醛[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 160-164.
- Shen WY, Wang JQ, Wang W, *et al.* Determination of aliphatic aldehydes in waste cooking oil by pre-column derivatization-HPLC method [J]. Food Sci, 2016, 37(14): 160-164.
- [13] 王玮, 段梦茹, 翟一静, 等. 流动注射-化学发光法用于药物分析研究进展[J]. 光谱实验室, 2013, 30 (03): 1488-1491.
- Wang W, Duan MR, Zhai YJ, *et al.* Recent advance of flow injection-chemiluminescence method for pharmaceutical analysis [J]. Chin J Spect Lab, 2013, 30 (03): 1488-1491.
- [14] 杨树德, 周同惠. 间苯三酚-硫酸试剂比色法测定芳香醛[J]. 化学试剂, 1981, (04): 45-47.
- Yang SD, Zhou TH. Colorimetric determination of aromatic aldehydes by phloroglucinol-sulfuric acid reagent [J]. Chem Reag, 1981, (04): 45-47.
- [15] 许艳霞, 倪小英, 杨进. 地沟油检测指标及方法研究现状与展望[J]. 食品与机械, 2014, 30(5): 283-287.
- Xu YX, Ni XY, Yang J. Status and outlooks on detection index and technique of gutter oils [J]. Food Mach, 2014, 30(5): 283-287.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



龙泽荣, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量与安全。
E-mail: long8326rong@163.com



鹿毅, 博士生导师, 提高待遇高级工程师, 主要研究方向为食品分析和精细化学。
E-mail: luyi_xjxjy@163.com