

GC-MS 法研究白油在肉鸡肾脏中残留的动态变化

刘 亮^{1,2*}, 唐善虎², 李阳友¹, 姜 艳¹

(1. 川北医学院实验动物中心, 南充 637100; 2. 西南民族大学, 成都 610041)

摘 要: **目的** 通过模拟疫苗接种模式研究矿物油在肉鸡肾脏残留的动态变化。 **方法** 采用矿物油(白油 7#)肌肉注射 15 日龄雏鸡, 运用 GC-MS 法检测注射后 3、7、14、28 d 和 56 d 时鸡肾脏中矿物油成分。 **结果** 3 d 后就能在肾脏中检测到 10 种烷烃组分; 随后能够检测出的烷烃种类有所减少, 但在注射 56 天时仍能从肾脏中检测出 6 种烷烃成分。 **结论** 矿物油会随血液循环到达肾脏, 代谢周期长, 使用矿物油作为佐剂存在残留问题, 有一定的食用安全隐患。

关键词: 肾脏; 矿物油; GC-MS; 残留; 食品安全

Determination of mineral oil residues in chicken's kidney by GC-MS

LIU Liang^{1,2*}, TANG Shan-Hu², LI Yang-You¹, JIANG Yan¹

(1. *Experimental Animal Center, North Sichuan Medical College, Nanchong 637100, China;*
2. *Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China*)

ABSTRACT: Objective To determine the residues of mineral oil components in the chicken's kidney and to investigate the metabolic changes of mineral oil components in a simulated vaccination model. **Methods** Chickens of 15-day-old were injected im with white oil No.7 (a commercially available mineral oil adjuvant) and the residues of oil components in kidney were determined using GC-MS method on the d 3, d 7, d 14, d 28, and d 56 after injection. **Results** It was found that on d 3 after the injection, 10 alkanes were detected among the 11 alkanes detected in white oil No.7 in the kidney, and on d 56 after injection there were still 6 alkanes detected in the kidney. **Conclusion** The results showed that the mineral oil reached the kidney via circulation, and using mineral oil as an adjuvant in food production of animal origin might bring some safety risks.

KEY WORDS: kidney; mineral oil; gas chromatography-mass spectrometry; residue; food safety

矿物油是主要成分为 C15~C31 的正异构烷烃的混合物^[1], 其中四环、五环和六环结构的多环芳烃均具有致癌和致突变的作用^[2], 其致癌性在雄性 Swiss 小鼠中已经得到证实^[3], 对于女性的子宫和男性的肝脏也具有较强的致癌作用^[4]。畜禽生产中疫苗的使用是一个重要环节, 佐剂作为疫苗的辅助成分, 起着延缓抗原存储时间提高疫苗效价的重要功效^[5]。为了降低成本, 国内在动物性疫苗的生产、使用过程中常以矿物油作为佐剂, 而最为常见的就是白油。以往普遍

认为矿物油作为佐剂使用只存在于注射部位局部不易被动物机体降解的问题, 没有安全问题^[6]。刘亮等^[7]报道了在鸡肉中检测矿物油成分的 GC-MS 法, 发现除注射部位外, 在机体其他器官如小肠、肌胃、腺胃^[8]、皮肤、肝脏、心脏^[9]中均有不同程度的残留, 因此有理由认为如果以矿物油作为疫苗佐剂在畜禽生产中使用, 会导致动物性食品食用时存在一定的安全隐患, 有必要做进一步研究。

目前, 对矿物油的检测方法主要有荧光快速检

*通讯作者: 刘亮, 讲师, 研究方向: 食品卫生与安全, blue0182@126.com

测法^[10]、紫外分光法^[11]、皂化法^[12]、气象色谱法(GC)^[13]和 GC-MS 检测食品中矿物油掺假的方法^[7,14]。食品安全方面国家标准检测方法为皂化法^[12],该方法主要是针对在食用油中掺入矿物油的检测,用此方法检测动物性食品时,容易受到动物性食品中不被皂化的成分所干扰,结果往往不易判断、造成假阳性结果居多^[15]。通过本研究前期实验得出的 GC-MS 法,能很好解决这一问题。本研究通过模拟一般疫苗注射程序对 15 日龄雏鸡进行注射矿物油,采用已建立的 GC-MS 法,检测注射后不同时期内肉鸡肾脏中矿物油的残留情况,进一步验证疫苗使用过程中矿物油佐剂是否会随机体代谢循环到其他组织器官,造成一定的食品安全食用隐患,从而为疫苗佐剂的安全使用做出评价。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

白油: 7#(兴达兽药); 雏鸡饲料(四川新津县盛达饲料); 15 日龄雏鸡(温氏麻矮 1 号); 无水硫酸钠(重庆化学试剂厂, 分析纯), 200 °C 烘 2 h; 正己烷(天津市瑞金特化学品有限公司, 色谱纯)。

1.2 仪器与设备

气相色谱-质谱联用仪: TRACE DSQ™(美国 Thermo Finnigan 公司); 组织匀浆器(瑞士 Kinematica PT2100); 分式冷冻离心机(德国 Eppendorf 5804R); 数控超声波清洗器(昆山 KQ5200DB)

1.3 方法

随机将 121 只 15 日龄体重约为 50~60 g 雌性杂交麻鸡分为实验组和对照组, 实验组右侧腿部肌肉注射 0.5 mL 白油, 对照组注射 0.5 mL 生理盐水。方法参照刘亮等^[7]的研究: 雏鸡脱温前饲喂全价粉料, 密度控制在 10~11 只/m², 室温控制在 20 °C 左右; 30 日龄后常温饲养, 喂全价饲料, 密度控制在 4.8~6.1 只/m²。实验组和对照组每次各取 5 只样本分别于注射后 3、7、14、28、56 d 进行屠宰, 屠宰后取肾脏组织 1 g 左右, 通过组织匀浆器进行匀浆, 组织浆液加入 20 mL 正己烷, 超声萃取 1 h 后于 4 °C 冰箱浸提过夜。次日浸提液通过离心取上层清液, 经过旋转蒸发至 2 mL 左右, 再用正己烷定容至 10 mL, 检测前过无水硫酸钠进行脱水。

GC-MS 法检测样品(根据刘亮等^[7]的报道稍作修改): 采用 TR1-MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)石英毛细柱; 100 °C 保持 3 min, 以 10 °C/min 升温速率至 300 °C 时保持 3 min; 以 He 为载气, 流速控制在 1.0 mL/min, 压力控制为 2.4 kPa, 进样量为 1.0 μL; 分流比 10 : 1; 传输线温度 250 °C; 离子源温度 200 °C; 电子轰击(EI)离子源; 电子能量 70 eV; 激活电压 1.5 V; 母离子 m/z 285; 质量扫描范围 m/z 50~650 进行分析。

1.4 数据处理

采用计算机联机和 NIST 质谱数据库对测定样品的离子片段进行分析, 按照面积归一化法算出相对百分含量并求平均数。

2 结果与分析

7#白油阳性图谱如图 1 所示, 选取 11 种主要组分作为参照, 并将各组分的相对百分含量总结于表 1。空白对照及不同屠宰期肾脏总离子流图如图 2-图 7 所示, 通过与标准图谱进行对照, 以类似碳氢化合物(直链烷烃、支链烷烃、环状烷烃)存在形式为阳性,

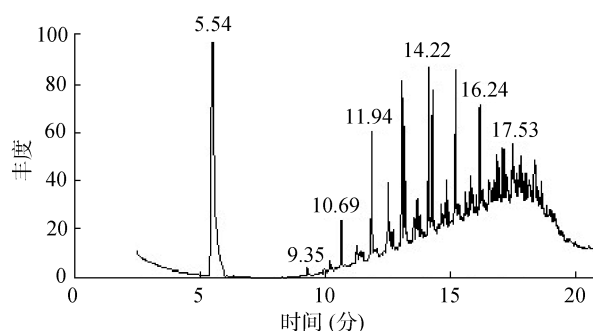


图 1 白油阳性对照总离子流图
Fig. 1 Chromatogram of white oil No.7

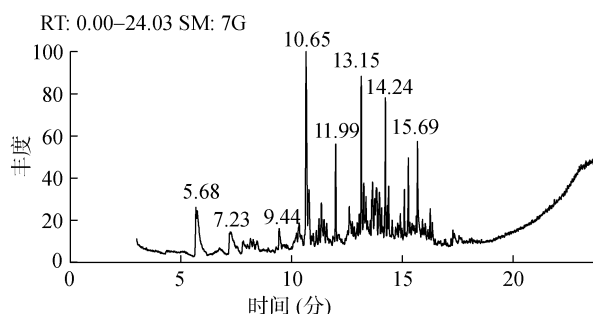


图 2 肾脏空白对照总离子流图
Fig. 2 Chromatogram of chicken kidney without mineral oil injection

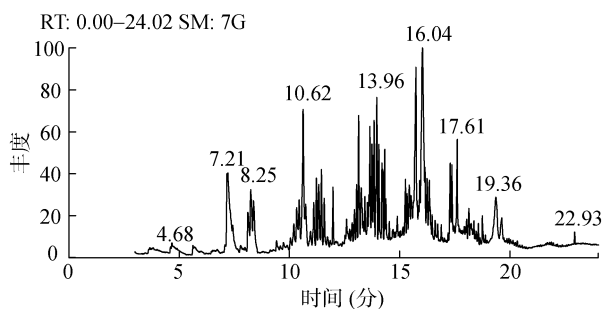


图3 注射3 d后肾脏总离子流图

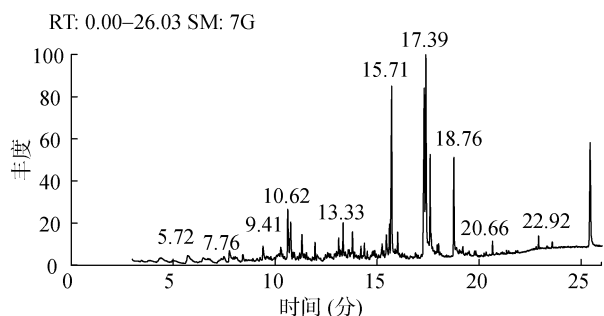
Fig. 3 Chromatogram of chicken kidney on the 3rd day after mineral oil injection

图4 注射7 d后肾脏总离子流图

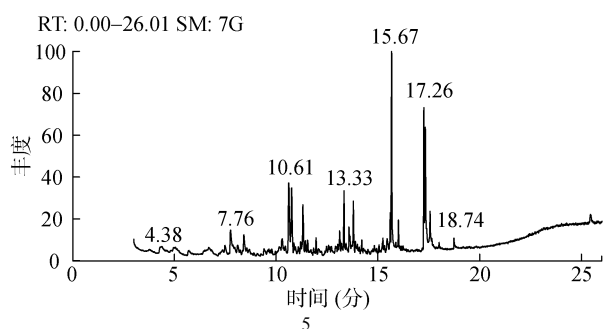
Fig. 4 Chromatogram of chicken kidney on the 7th day after mineral oil injection

图5 注射14d后肾脏总离子流图

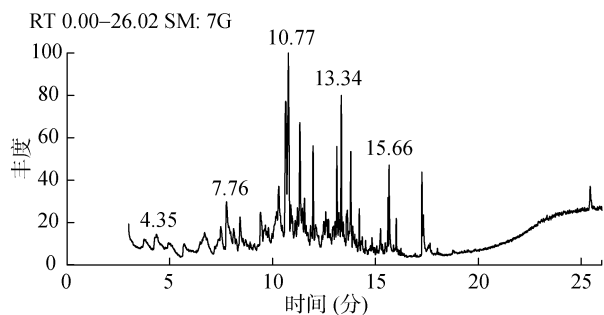
Fig. 5 Chromatogram of chicken kidney on the 14th day after mineral oil injection

图6 注射28 d后肾脏总离子流图

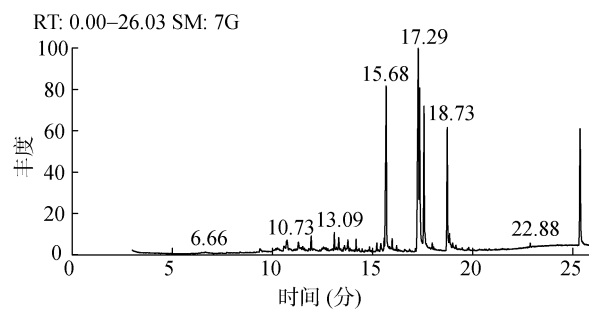
Fig. 6 Chromatogram of chicken kidney on the 28th day after mineral oil injection

图7 注射后56 d肾脏总离子流图

Fig. 7 Chromatogram of chicken kidney on the 56th day after mineral oil injection

按照面积归一化法确定不同屠宰期肾脏内白油各组分平均相对百分含量和标准偏差(Std)总结于如表2。

从表1和表2可以看出,注射白油3天后,就能从肾脏中检测出白油阳性对照11个组分中的10种,检测结果平均相对百分含量最高的是正十七烷,正十七烷也是7#白油中相对百分含量最高的一种组分,在随后不同屠宰期检测结果也显示出这一特性。正十八烷,这种在阳性对照中相对百分含量较高的组分,在随后的检测中,其相对百分含量也较高,这一现象同阳性对照趋势大致相同。在不同屠宰期检测到的各烷烃结果分析中可以看出:容易随血液代谢扩散到其他组织器官的是正十五烷、正十六烷,这类烷烃属于短链的、分子量较小的种类,因而相对百分含量也较高,而像9-辛基十七烷、2,6,10,14-四甲基十六烷分子量较大、结构较复杂的烷烃随代谢扩散的速度较慢,或不易扩散;正二十烷分子量大,但作为白油阳性对照中含量第2的组分,在随后的检测中也均能被检测得到。刘亮等^[8,9]报道了白油在鸡体其他组织器官中残留情况,同这些器官相比,肾脏在14、28、56天均能检测到6种烷烃成分,检测到的烷烃种类并没有随着代谢时间的延续而减少,这一现象说明两个问题:矿物油代谢缓慢,56天时仍能从鸡体器官组织中检测得到;肾脏是体内主要的代谢器官,56天时仍能检测得到大部分烷烃种类,很可能是由于血液循环带来至此的其他部位残留。在研究中还发现:同组对照中可能由于个体代谢快慢有所差异,一些本身相对百分含量较小的烷烃,在不同屠宰期的检测结果不大相同,造成一些数据平均相对百分含量标准偏差较大。

表 1 白油阳性对照中主要烷烃成分鉴定结果
Table 1 Identified alkanes and their relative contents in white oil N0.7

	序号	保留时间(分)	分子式	化合物名称	相对含量(%)
白油主要成分	1	10.68	C ₁₅ H ₃₂	正十五烷	4.19
	2	11.94	C ₁₆ H ₃₄	正十六烷	11.66
	3	12.55	C ₁₈ H ₃₈	2, 6, 10-三甲基十五烷	6.53
	4	13.11	C ₁₇ H ₃₆	正十七烷	14.32
	5	13.22	C ₁₉ H ₄₀	2, 6, 10, 14-四甲基十五烷	9.78
	6	14.21	C ₁₈ H ₃₈	正十八烷	13.54
	7	14.35	C ₂₀ H ₄₂	2, 6, 10, 14-四甲基十六烷	12.29
	8	14.86	C ₁₉ H ₄₀	2-甲基十八烷	4.30
	9	15.25	C ₂₀ H ₄₂	正二十烷	15.16
	10	15.87	C ₂₅ H ₅₂	9-辛基十七烷	4.53
	11	17.17	C ₂₁ H ₄₄	正二十一烷	3.64

表 2 不同屠宰期肾脏中各烷烃组分平均相对百分含量及标准差
Table 2 Mean relative percentages of residual alkanes in chicken kidney at different days after mineral oil injection

成分	白油注射时间/d									
	3		7		14		28		56	
	平均相对百分含量(%)	标准差	平均相对百分含量(%)	标准差	平均相对百分含量(%)	标准差	平均相对百分含量(%)	标准差	平均相对百分含量(%)	标准差
正十五烷	15.49	±16.16	33.20	±24.89	16.37	±22.45	12.53	±28.01	25.28	±23.69
正十六烷	14.43	±4.89	22.07	±5.17	19.09	±14.52	6.23	±9.07	9.77	±11.02
2, 6, 10-三甲基十五烷	6.26	±3.90	5.37	±5.27	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
正十七烷	28.29	±6.48	23.86	±7.03	39.14	±17.61	37.79	±38.23	35.27	±26.94
2, 6, 10, 14-四甲基十五烷	10.24	±6.67	3.28	±4.70	0.00	0.00	0.00	0.00	1.94	±3.36
正十八烷	13.33	±9.40	9.86	±9.15	6.53	±10.13	12.08	±13.49	19.56	±12.61
2, 6, 10, 14-四甲基十六烷	4.43	±7.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2-甲基十八烷	3.29	±7.36	0.00	0.00	10.86	±12.05	3.51	±7.85	0.00	0.00
正二十烷	3.45	±5.21	2.35	±5.25	8.01	±11.63	7.75	±17.34	6.14	±10.63
9-辛基十七烷	0.81	±1.80	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
正二十一烷	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

3 结 论

据报道,矿物油会随机体代谢在植物细胞间隙进行扩散^[16],本研究也证实了矿物油会随鸡体代谢到肾脏,而且代谢速度缓慢,残留情况严重。以往医学研究发现:白油被人体误食后,对机体造成的伤害主要呈现出慢性中毒和急性中毒的症状。其中慢性中毒症状较轻,可引发痤疮、皮炎等以及神经衰弱综合症等,而急性中毒在严重时会引发油脂性肺炎乃至死亡^[17];因此这种由疫苗带入动物体内的蓄积作用不容忽视。此外矿物油中往往还多含有苯并芘、重金属等多种毒害物质,可危及人体神经系统,增加老年

人患老年痴呆症的可能性,并严重影响儿童发育,危害更大^[18]。苯并芘的长期潜伏危害性更加不容忽视,它是目前世界公认三大致癌物质之首。我国饮食结构中一直有食用动物脏器的风俗,通过此次实验研究也再次表明:即使将注射部位的肌肉剔除,食用该动物产品的也存在一定的安全隐患。农药残留是导致我国农产品出口的重大安全隐患^[19],由于监管力度等原因在畜产品生产中也存在使用兽药不够规范等现象^[20],目前我国正在提倡绿色食品工程^[20],而在此过程中面临较多的就是化学污染的问题^[21]。新世纪主导绿色食品^[22],为此国际社会也在做不断的努力,美国政府早已重视绿色食品生产方式的研究、推广^[23],

日本制定了绿色食品生产法^[24],澳大利亚联邦政府推出了“洁净食品”计划^[24],欧盟在推行苛刻卫生检疫制度^[25],而我国的农牧产品的现状是质量安全检测体系与社会需求之间存在一定差距^[26],食品原料的质量与食品质量的好坏有直接关系^[27],我国加入WTO后,既是机遇也带来挑战:食品卫生安全提出了更高的要求。从本研究也可以看出防微杜渐的重要性:应当加大食品安全卫生检测的力度,要从源头杜绝一切可能存在的食品安全隐患。

参考文献

- [1] 王丽娟. 食品中矿物油的检测[J]. 粮油食品科技, 2005, 13(6): 51-52
- [2] 白满英, 张金诚. 掺伪粮油食品鉴别检验[M]. 北京: 中国标准出版社, 1996. 136-137
- [3] 曾明, 译. 疫苗佐剂的设计和选择: 动物模型和人体实验[J]. 国外医学-预防、诊断、治疗用生物制品分册, 2003, 26(2): 67-70.
- [4] 王本进. 警惕! 化妆品美丽背后的伤害[J]. 首都医药, 2005, 11: 26-27
- [5] Freund J. The mode of action of immuneologic adjuvants[J]. Bibl Tuberc, 1956, 10: 130-148.
- [6] 秦玉明. 国外疫苗佐剂的评价[J]. 中国兽药杂志, 2005, 39(6): 34-37
- [7] 刘亮, 唐善虎, 杨榕生, 等. 采用 GC-MS 法检测鸡肉体中矿物油残留[J]. 中国动物检验杂志, 2009, 26(5): 44-46.
- [8] 刘亮, 李阳友, 李丽芳. GC-MS 法检测白油在鸡体肌胃、腺胃和小肠中的残留[J]. 川北医学院学报, 2011, 26(121): 299-304
- [9] 刘亮, 唐善虎, 陈诺, 等. GC-MS 法研究矿物油在肉鸡体中残留动态变化[J]. 食品科学, 2010, 31(19): 87-91
- [10] 丘慧澄. 食品中矿物油的测定[J]. 食品与发酵工业. 2002, 28(4): 41-43
- [11] 郑健, 王兴华, 宋庆宇, 等. 环境样品中矿物油监测常用萃取剂及其纯化和回收[J]. 中国环境检测, 2002, 6(2): 15-16
- [12] GB/T 5009.1-1996 食品卫生检验方法理化部分[S]
- [13] Concin N, Hofstetter G, Plattner B, *et al.* Mineral oil paraffins in human body fat and milk [J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(2): 544-552
- [14] 回瑞华, 侯冬岩, 李铁纯, 等. 食用植物油掺假的分析与研究[J]. 质谱学报, 2009, 30(4): 216-218
- [15] 李必斌. 二次皂化法测定食品中矿物油[J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14(1): 76-77
- [16] Tan B L. Localization and movement of mineral oil in plants by fluorescence and confocal microscopy [J]. J Exp Bot, 2005, 420(56): 2755-2763
- [17] 白满英, 李芳, 魏义勇. 食用植物油掺入矿物油的鉴别[J]. 中国油脂, 2001, 26(3): 64-65
- [18] 孙晓燕. 对测定食用油掺入矿物油的几种方法的探讨[J]. 粮油仓储科技通讯, 2008, 20(2): 47-51
- [19] 王新雄. 农产品农药残留检测技术的研究进展[J]. 广西农业科学, 2008, 39(5): 700-704
- [20] 朱清时. 绿色化学与新的产业革命[J]. 现代化工, 1998, 11(1): 4-7
- [21] 健民, 富翔. 环境保护[M]. 北京: 科学出版社, 1979, 145-146
- [22] 苏苹, 彭秀健. 食品污染与人类健康[J]. 环境保护, 2000, (5): 47-52
- [23] Hillers Virginia N. Food safety and quality topics in national plans of action for nutrition [J]. Food Contr, 1997, (1): 5-11
- [24] 边红飏. 日本进口食品检验检疫制度分析[J]. 中国检验检疫, 2006, 23(10): 25-27
- [25] 秦富等. 欧美食品安全体系研究[M]. 中国农业出版社, 2003, 153-155
- [26] 孙厚权. 我国食品市场准入制度的研究[J]. 法制与社会, 2009, 13(1): 52-53
- [27] 马德顺, 朱晓文. 467 份食品细菌学抽检分析[J]. 川北医学院学报, 1994, 9(3): 59-60

(责任编辑: 张宏梁)

作者简介



刘亮, 讲师, 研究方向: 食品卫生与安全。
E-mail: blue0182@126.com