

# GC-MS 检测挥发性碳氢化合物法鉴定辐照海虾的研究

李淑荣<sup>1</sup> 林琼<sup>1,2</sup> 马涛<sup>2,3</sup> 高美须<sup>1</sup> 王志东<sup>1</sup> 朱捷<sup>1</sup>  
周洪杰<sup>1</sup> 李庆鹏<sup>1</sup> 范蓓<sup>1</sup> 王锋<sup>1</sup>

<sup>1</sup> (中国农业科学院农产品加工研究所 农业部农产品加工与质量控制重点开发实验室 北京 100193)

<sup>2</sup> (沈阳农业大学食品学院 沈阳 110161)

<sup>3</sup> (辽宁省农科院 沈阳 110161)

**摘要** 用<sup>60</sup>Co  $\gamma$ 射线辐照处理市售大虾,辐照剂量分别设定为1、3、5和7 kGy,用弗罗里硅土固相萃取法净化索氏法提取的脂肪,通过GC-MS检测试样液中挥发性碳氢化合物的种类和含量。结果表明,辐照组中C17:1和C16:1两种物质是辐照后新产生的碳氢化合物,回收率分别为78.2%和88.06%,且随辐照剂量的增加,两种物质的含量逐渐增加。

**关键词** 辐照,海虾,碳氢化合物,气相色谱-质谱联用

**中图分类号** Q345, R733

辐照技术是减少食品损失,提高食品卫生安全的有效手段,已被列入2001年WTO确保食品安全的推广技术之一。目前,世界上已经有52个国家批准了250余种食品进行辐照处理<sup>[1]</sup>。1981年,辐照食品安全联合专家委员会(JECFI)宣布:任何食物受到10 kGy以下照射量的辐照,都不会因辐照引起毒性危害。因此,用辐照方法处理的食物是卫生安全的,不再需要进行毒理学方面的检验,同时在营养学和微生物学上也是安全的<sup>[2,3]</sup>。

国外早在几十年前就开展了辐照食品检测方法的研究<sup>[4-8]</sup>,特别是在1989年国际原子能机构(IAEA)将为期5年的食品辐照检测方法研究成果推向了实际应用<sup>[9-11]</sup>,1996年,研究取得了重要进展,欧洲标准化委员会批准了4种方法作为欧盟检测辐照食品的标准,即ESR检测辐照含骨和含结晶纤维素的食品,热释发光法检测含硅酸盐矿物质的食品,以及利用食品辐照后产生挥发性碳氢化合物和2-烷基环丁酮的检测来确认含脂食品是否经过辐照加工。辐照食品检测方法研究是近20年来辐照食品较为活跃的研究领域之一,虽然我国在辐照食品商业化应用方面一直处于世界领先水平,但缺乏必要的鉴定、检测技术作为支撑。因此,加强对辐照食品检测方法的研究既符合消费者的利益,也对我

国辐照食品的国际贸易和商业化进程,消除外国对我国辐照食品的贸易壁垒有着积极作用。

本文利用气相色谱-质谱联用技术,检测海虾辐照前后所含碳氢化合物的变化,检测海虾经辐照后产生的特征碳氢化合物,标定辐照吸收剂量与特征碳氢化合物含量的相关性。该研究为我国辐照食品检测技术标准的建立提供参考,为我国辐照食品检测标准的建立提供依据。

## 1 试验材料

### 1.1 材料与试剂

海虾:购于北京超市;石油醚分析纯(沸程:30—60℃)、正己烷(色谱纯)、无水硫酸钠、十五烷、1-十四烯、1-十七烯、8-十七烷烯、正十七烷、1,7-十六烷二烯、1-十七烯:购于Sigma Aldrich。

### 1.2 主要仪器

气相色谱-质谱联用仪器为日本岛津G1701BA;RZ-2000旋转蒸发仪为上海亚荣生化仪器厂产;6 mL的Florisol固相萃取小柱购自天津博纳艾杰尔科技有限公司;索氏脂肪提取器购自北京广达恒益科技有限公司。

农业部公益性行业科技专项“核技术农业应用”项目(200803034)资助

第一作者:李淑荣,女,1968年3月出生,2009年于沈阳农业大学获博士学位,副研究员,研究方向为食品辐照工艺及鉴定技术的研究

通讯作者:王志东, wzd5109@yahoo.com.cn

收稿日期:初稿2009-11-26,修回2010-01-07

## 2 试验方法

### 2.1 辐照处理

辐照在中国农业科学院原子能利用研究所进行, 辐照剂量分别为 0、1、3、5 和 7 kGy。

### 2.2 脂肪的提取<sup>[12,13]</sup>

按照 GB/T 5009.6—1985 进行索氏提取。

### 2.3 油脂的净化<sup>[14]</sup>

取海虾油 0.1 g 置于 5 mL 的试管中, 向其中加入 1 mL 色谱纯正己烷, 用 6 mL 的弗罗里硅土固相萃取小柱净化油脂, 收集流出液; 之后用 5 mL 正己烷洗脱小柱, 合并流出液。氮气吹干溶剂, 加入 1 mL 的正己烷振荡溶解后待测。

### 2.4 标准品储备液的配制<sup>[15]</sup>

以色谱纯正己烷为溶剂, 将 6 种标准品碳氢化合物全部配成浓度为 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的贮备液。取贮备液各 5 mL 加入到 50 mL 容量瓶中, 以正己烷定容。得到浓度是 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合标准溶液。贴上标签, 生胶带密封保存于  $-4^\circ\text{C}$  的冰箱中待用。

### 2.5 标准曲线的绘制

本试验采用外标法对 6 种碳氢化合物进行定量分析。分别配制浓度梯度为 0.02、0.5、2 和 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合标准溶液待用。以标准液的峰面积 (mv) 为纵坐标, 浓度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 为横坐标, 绘制出标准曲线, 求得线性回归方程和相关系数。

### 3.2 辐照剂量对海虾辐照前后的挥发性碳氢化合物的影响

3.2.1 GC-MS 对虾肉中六种挥发性碳氢化合物的定性定量分析 海虾中的主要脂肪酸含量由高到低依次是二十五碳五烯酸, 棕榈酸, 二十二碳六烯酸, 油酸和硬脂酸。但限于二十五碳五烯酸和二十二碳六烯酸辐解的挥发性碳氢化合物无法购得, 因此本

### 2.6 GC-MS 法检测碳氢化合物

GC 采用 DB-5 柱子进行分离, 柱温  $50^\circ\text{C}$ ; 柱流量 1.5 mL/min; 载气为氦气; 检测器温度  $300^\circ\text{C}$ ; 进样口温度  $200^\circ\text{C}$ ; 进样量 1  $\mu\text{L}$ , 不分流; 程序升温条件: 初始温度  $50^\circ\text{C}$ , 稳定 2 min,  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $130^\circ\text{C}$ , 然后  $5^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $200^\circ\text{C}$ , 稳定 2 min, 再以  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  升至  $250^\circ\text{C}$ , 稳定 2 min。总分析时间: 26 min。MS 分析采用 EI 源; 离子源温度:  $200^\circ\text{C}$ ; 接口温度:  $250^\circ\text{C}$ ; 溶剂延迟时间: 10 min; 扫描模式: 选择离子扫描; 扫描质量数: 30—250  $m/z$ 。

### 2.7 回收率

未辐照的样品中分别添加 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的混合标准品溶液 0.5 mL, 按照 2.2、2.3 和 2.5 节所示方法进行提取和分析, 计算 C17:1 和 C16:1 的回收率, 每个样品重复 3 次, 计算回收率 ( $R_T\%$ )。

$$R_T = Q_T / Q_T^0 \times 100\%$$

式中,  $R_T$  为回收率;  $Q_T$  为加标后测得的量;  $Q_T^0$  为加入标样的量。

## 3 结果与分析

### 3.1 辐照对海虾提油率的影响

从表 1 可以看出, 海虾 (不包括头部) 的脂肪含量在 4.23%—4.69%, 脂肪含量较低。用 SAS 软件对各组进行显著性分析, 结果显示辐照对海虾中脂肪提取率无显著影响。同时观察试验所提的海虾油, 发现海虾油与其他的动物油脂的颜色明显不同, 呈现暗红色, 粘性大, 易干而成固体。

Table 1 Extraction ratio of the shrimp by soxhlet

( $n=3$ ,  $\bar{x} \pm s$ , SSR)

Irradiation Dose / kGy	0	1	3	5	7
Fat extraction ratio / %	4.67 $\pm$ 0.0912a	4.72 $\pm$ 0.2381a	4.64 $\pm$ 0.1752a	4.23 $\pm$ 0.1705a	4.69 $\pm$ 0.2260a

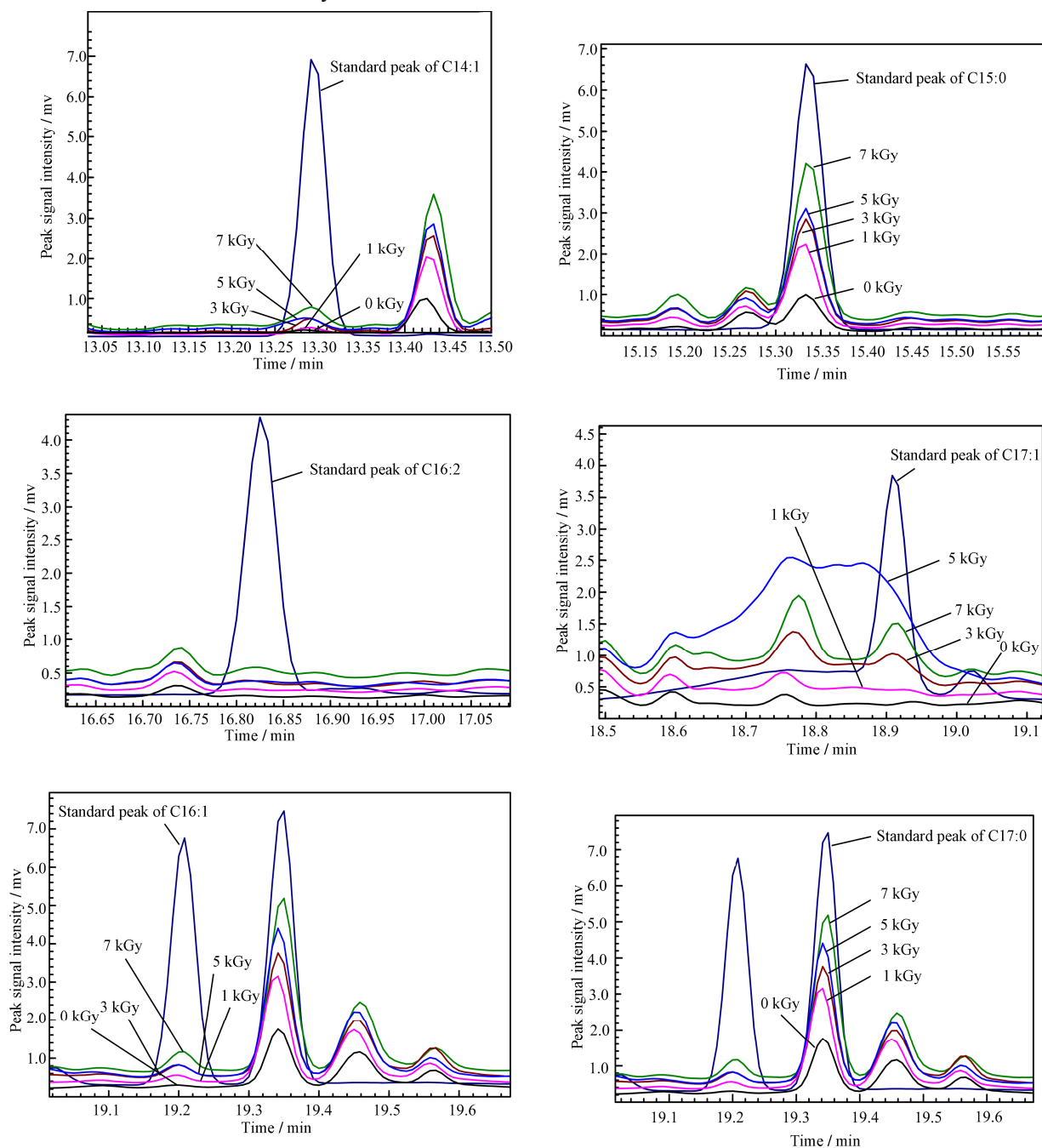
试验以棕榈酸, 油酸, 硬脂酸, 辐解所得挥发性碳氢化合物作为标准物分析, 结果见表 2。从表 2 可以看出, 随着物质分子量的增加 6 种碳氢化合物的出峰时间逐渐延后, 最低检测限为 0.02  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。同时可以看出几种烷烃化合物的定性离子极为相似, 而烯烃的定性离子也是极为相似。以各标准品的峰面积为纵坐标, 标准品浓度为横坐标的制定的标准曲线列于表 2, 相关系数为 0.9988—0.9996。

**Table 2 The basis of various hydrocarbons on qualitative and quantitative by GC-MS**

Volatile hydrocarbons	Retention time / min	Qualitative ion/ $m\cdot z^{-1}$	Quantitative ion / $m\cdot z^{-1}$	Linear equations	$R^2$
C14:1	13.270	97.00, 111	83.00	$y=105628.5x-10412.32$	0.99938
C15:0	15.310	71.00, 85.0	57.00	$y=289432.2x-23619.63$	0.99954
C16:2	16.800	82.00, 96.0	67.00	$y=88795.89x-8102.21$	0.9988
C17:1	18.880	97.00, 111	83.00	$y=61953.57x-8844.803$	0.99947
C16:1	19.177	69.00, 97.0	83.00	$y=120066.2x-16487.42$	0.9988
C17:0	19.313	71.00, 85.0	57.00	$y=325472.3x-27888.96$	0.99956

3.2.2 虾肉辐照前后各碳氢化合物随辐照剂量的变化 试验以选择离子扫描的方式对各组样品进行定量分析, 现将 0、1、3、5 和 7 kGy 的选择离子扫描

色谱图叠加放大如图 1 所示, 并对各组中碳氢化合物的含量进行了定量分析, 结果列于表 3。



**Fig.1** Selected ion scan of the six hydrocarbons in shrimp

**Table 3 The content of six hydrocarbons in fat before and after shrimp irradiation** ( $\mu\text{g/g}$  fat)

Irradiation Dose / kGy	0	1	3	5	7
C16:2	0.5291	0.7301	0.9618	1.2156	1.576
C17:1	—	2.962	4.1735	4.0218	5.4266
C16:1	—	2.12	2.881	2.606	2.91
C17:0	2.586	2.5494	3.353	4.5040	5.7996
C15:0	1.4991	1.8111	2.3265	2.6500	4.6686
C14:1	1.765	2.6579	2.691	3.3016	4.8900

从图 1 和表 3 可以看出, 海虾脂肪中的挥发性碳氢化合物组成和含量在辐照前后产生明显的差别, 在未辐照的样品中未检出 C17:1 和 C16:1 两种挥发性碳氢化合物, 而 C14:1, C15:0, C16:2, C17:0 为辐照组和对照组共检出物质, 因此, C17:1 和 C16:1 是辐照后海虾肉中产生的特征性碳氢化合物。分析表 3 还可以看出, 测定的 6 种挥发性碳氢化合物随着辐照剂量的增加而增加。

**3.2.3 特征性碳氢化合物的回收率试验** 从表 4 可以看出, 随着标准样品添加浓度的增加回收率增加, C16:1 的回收率 68.4%—91.2%, 平均值为 78.2%, C17:1 的回收率在 72.8%—100.0%, 平均回收率为 88.9%; 两者相比 C17:1 的回收率高于 C16:1 的回收率。

**Table 4 The recovery of characteristic hydrocarbons in irradiated shrimp**

Concentration of mixed standard / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Recovery rate / %	
	C16:1	C17:1
0.5	68.4%	72.8%
1	75.2%	93.4%
2	91.2%	98.0%
Aver	78.2%	88.0%

## 4 结论与讨论

测定的 6 种挥发性碳氢化合物的含量随着辐照剂量的增加而增加; 在未辐照的海虾样品中未检出 C17:1 和 C16:1 两种挥发性碳氢化合物, 并且这两种物质的回收率分别到达 88.06% 和 78.2%, GC-MS 图谱中还有 2、3 种物质仅在辐照组中出现。通过 GC-MS 确认这几种物质是属于烷烃类, 但限于目前国内外仅能购买到上述 6 种碳氢化合物的标准品, 因此, 这几种物质的结构等有待进一步确认。故 C17:1 和 C16:12 种挥发性碳氢化合物可以作为辐照海虾鉴定的特征性碳氢化合物。

本研究中的特征挥发性碳氢化合物的种类仅有 2 种, 而 Morehouse<sup>[16]</sup>采用相同的对样品前处理方法, 研究结果表明, C16:1、C16:2、C17:1、C17:2 是其特征性碳氢化合物。分析差别的原因,

Morehouse<sup>[16]</sup>所采用的气相色谱分析柱是 DB-23, 本试验采用的是 DB-5; 其次本研究所采用的标准物质仅有 6 种, 而 Morehouse<sup>[16]</sup>的研究中使用了 8 种标准碳氢化合物, 并且本研究中还有 2 种物质需要进行定性。

不同脂肪酸的辐解产物不同, C15:0 和 C14:1 是棕榈酸辐解产生的挥发性碳氢化合物, C17:0 和 C16:1 是硬脂酸辐解产生的挥发性碳氢化合物, C16:2 和 C17:1 是油酸辐解产生的挥发性碳氢化合物。各脂肪酸辐解的机理<sup>[17]</sup>不同, 少一个碳原子的烷烃类形成途径比较多。比如  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{COO}$  脱去羧基,  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_x\text{CO}$  脱掉一个 CO 基团都会生成成比母体少一个碳的烷烃; 而比母体脂肪酸少二个碳的烷烃则少得多。

## 参考文献

- McMurray C H, Stewart E M, Gray R, *et al.* Detection methods for irradiated foods-current status. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 1996
- Diehl J F. Radiation Physics and Chemistry, 2002, **63**(3): 211-215
- Report of a Joint FAO/LAEA/WHO expert committee. Technical Report, 1981, **659**: 7-34
- Kyong-su K, Hye-young Seo, Myung-woobyun. Journal of Food Protection, 2004, **67**(1): 142-147
- Morehouse K, Kiesel, Ku Y. J. Agric Food Chem, 1993, **41**: 758-763
- Rahman R, Matabuldall D, Haque A K, Sumar S, *et al.* Food Research International, 1996, **29**: 301-307
- Stewart E M, McRoberts W C, Hamilton J T, *et al.* 2001, Journal of AOC Int, **84**(3): 976-986
- Tewfik I H, Ismail H M, Sumar S. Lebensm-Wiss Technol, 1998, **31**(4): 366-370
- Bögl K W. Radiat Phys Chem, 1990, **35**: 301-310
- Desrosiers M F, Simica M G, Eichmiller F C. Appl Radiat Isot, **40**: 1195-1197
- Morehouse K M, Ku Y. Radiat Phys Chem, 1990, **35** (1-3): 337-341

- 12 EN 1784. Food stuffs-Detection of irradiated food containing fat-Gas chromatographic analysis of hydrocarbons. CEN, (1996-10)
- 13 Moreno A O, Dorantes L, Galindez J. J Agric Food Chem, 2003, **51**(8): 2216-2221
- 14 Schulzki G, Spiegelberg A, Bögl K W, *et al.* J Agric Food Chem, 1995, **43**: 372-376
- 15 Canadian Food Inspection Agency. Detection of irradiated food containing fat by GC-MS analysis of hydrocarbons. 1998
- 16 Morehouse K M, ku Y. J Agric Food Chem, 1992, **40**: 1963-1971
- 17 Nawar W. Food Reviews international, 1986, **2**(1): 45-78

## Detetermination of hydrocarbons by GC-MS for identification of irradiated shrimp

LI Shurong<sup>1</sup> LIN Qiong<sup>1,2</sup> MAO Tao<sup>2,3</sup> GAO Meixu<sup>1</sup> WANG Zhidong<sup>1</sup> ZHU Jie<sup>1</sup>  
ZHOU Hongjie<sup>2</sup> LI Qingpeng<sup>1</sup> FAN Pei<sup>1</sup> WANG Feng<sup>1</sup>

<sup>1</sup>(Institute of Agri-food Science and Technology, Chinese Academy of Agriculture Science, Key Laboratory of Agricultural Product Porcessing and Quality Control, Ministry of Agriculture, Beijing 100193, China)

<sup>2</sup>(Shenyang Argiculture University, Shenyang 110161, China)

<sup>3</sup>(Institute of Agricultural Sciences and Technology, Liaoning Academy of Agriculture Science, Shenyang 110161, China)

**ABSTRACT** The shrimp were irradiated by <sup>60</sup>Co  $\gamma$  rays at the dose of 1, 3, 5, and 7 kGy. The shrimp was firstly Soxhlet extracted and then purification of the shrimp oil was carried out by solid-phase extraction column to remove the fat and pigment. The hydrocarbons contained in the shrimp were determined by GC-MS among irradiated and unirradiated samples. The results show that C17:1 and C16:1 produces were the new types of hydrocarbons in irradiated shrimp with recovery of 78.2% and 88.06%, respectively. Content of C17:1 and C16:1 increased with the increase of the absorbed dose.

**KEYWORDS** Irradiation, Shrimp, hydrocarbons, GC-MS

**CLC** R155, O621, TS207