

气相色谱法测定鸡精中 2 种氯丙醇的方法研究

黄琦¹,季晓娟¹,王丹丹²

(1. 浙江科技学院 生物与化学工程学院,杭州 310023;2. 浙江省食品药品检验研究院,杭州 310004)

摘要: 建立一种快速测定鸡精中 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)和 1,3-二氯-2-丙醇(1,3-DCP)质量浓度的衍生化毛细管柱气相色谱法。采用基质固相分散萃取法(MSPD),以硅藻土(Extrelut™ 20)为吸附剂,鸡精样品用正己烷淋洗净化后用乙醚提取,用七氟丁酰咪唑(HFBI)衍生,经毛细管气相色谱柱 DB-5(30 m×0.32 mm×0.25 μm)分离,电子捕获检测器测定,外标法定量。3-MCPD 和 1,3-DCP 均在 0.010~0.250 mg/L 质量浓度范围内线性关系良好,线性相关系数分别为 0.999 1 和 0.999 3;加标水平为 0.05,0.10 和 0.20 mg/kg 时,3-MCPD 的回收率在 95.7%~102.2%之间,1,3-DCP 的回收率在 94.5%~99.3%之间,相对标准偏差均小于 5.0%。3-MCPD 和 1,3-DCP 的定量限均为 0.01 mg/kg。该法操作简单、快捷,灵敏度高,试验结果准确可靠,适用于鸡精样品中 2 种氯丙醇的同时测定。

关键词: 气相色谱法;3-氯-1,2-丙二醇;1,3-二氯-2-丙醇;鸡精

中图分类号: TS264.23;O657.71

文献标志码: A

文章编号: 1671-8798(2012)06-0033-05

Determination of two chloropropanols in chicken essence by gas chromatography

HUANG Qi¹, JI Xiaojuan¹, WANG Dandan²

(1. School of Biological and Chemical Engineering, Zhejiang University of Science and Technology, Hangzhou 310023, China; 2. Zhejiang Institute for Food and Drug Control, Hangzhou 310004, China)

Abstract: A gas chromatographic method was developed for the determination of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 1,3-dichloropropan-2-ol (1,3-DCP) in chicken essence. Matrix solid-phase dispersion extraction(MSPD) was used to the extraction and clean-up of chloropropanols in chicken essence. Samples were eluted from extrelut chromatography column with n-hexane. Chloropropanols was extracted by diethyl ether, derivatised by heptafluorobutyrylimidazole(HFBI) and analyzed by gas chromatography, using DB-5(30 m×0.32 mm×0.25 μm) capillary column for separation and electron capture detector(ECD)for detection. The method of external standards was used in determination. Good linear relationships of the two analytes are obtained over the range of

收稿日期: 2012-09-12

基金项目: 浙江省分析测试科技计划资助项目(2012C37065)

作者简介: 黄琦(1980—),女,河南省开封人,讲师,硕士,主要从事食品分析、药物分析的研究。

0.010—0.250 mg/L, with correlation coefficients of 0.999 1 and 0.999 3, respectively. Average recoveries of 3-MCPD and 1,3-DCP from chicken essence spike at three concentration levels of 0.05, 0.10 and 0.20 mg/kg ranging from 95.7% to 102.2% and 94.5% to 99.3%, respectively. Both relative standard deviations are less than 5.0% and both the limit of quantitation(LOQ) are 0.01 mg/kg. The proposed method is easy to opera, rapid and accurate for precise determination of 3-MCPD and 1,3-DCP in chicken essence with satisfactory results.

Key words: gas chromatography; 3-chloropropane-1,2-diol; 1,3-dichloropropan-2-ol; chicken essence

氯丙醇是国际公认的食品污染物,氯丙醇的污染主要来源于酸水解植物蛋白(HVP),而 HVP 被广泛应用于各种调味品。蛋白水解物中氯丙醇的种类有:3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)、2-氯-1,3-丙二醇(2-MCPD)、1,3-二氯-2-丙醇(1,3-DCP)和 2,3-二氯-1-丙醇(2,3-DCP)。其中 3-MCPD 和 1,3-DCP 是主要检测的对象。毒理学研究表明 3-MCPD 有致癌性、遗传毒性、生殖毒性、神经毒性和免疫毒性等,是氯丙醇中的主要成分^[1]。WHO/FAO 食品添加剂联合专家委员会(JECFA)提出,3-MCPD 的暂定每日最大耐受摄入量(PMTDI)为 2 μg(以每千克体质量计),认为 1,3-DCP 为遗传毒性致癌物,目前不宜制订每日耐受量(TDI)^[2]。许多国家已经制订了 HVP 和酱油中 3-MCPD 的限量标准,欧盟要求 HVP 和酱油中的 3-MCPD 低于 20 μg/kg,德国和澳大利亚规定 1,3-DCP 应低于 50 μg/kg^[3]。目前,对氯丙醇的研究主要集中在日常生活中用到的酱油^[4-6],而鸡精作为常用调味品之一报道较少。氯丙醇定量的主要方法是气相色谱-质谱联用法,该法灵敏度高,专属性好,但是需要采用同位素内标定量,操作繁琐,成本较高,而且仪器价格昂贵,难以普及。本试验采用基质固相分散萃取法(MSPD)提取、净化样品,用七氟丁酰基咪唑(HFBI)衍生化,建立气相色谱-电子捕获检测器(GC-ECD)测定鸡精中 3-MCPD 和 1,3-DCP 的方法。实验表明,该方法简便易行,灵敏度高,结果令人满意,具有较强的实用性。

1 材料与仪器

3-MCPD 和 1,3-DCP(纯度≥99.0%);德国 Merck 公司, HFBI:美国 Pierce 公司;Extrelut™20 硅藻土填料:德国 Merck 公司;正己烷(色谱纯):美国 Sigma 公司;乙醚为分析纯,重蒸后使用;氯化钠和无水硫酸钠为分析纯,经过 600 ℃灼烧 4 h 后得到;水为超纯水;鸡精购于本地超市;除非另有说明,实验所用试剂均为分析纯。

岛津 GC-14C 型气相色谱仪配电子捕获检测器(ECD):日本岛津公司,色谱柱:J&WDB-5(30 m×0.32 mm×0.25 μm),玻璃层析柱(40 cm×2 cm),旋转蒸发器,氮气蒸发器,恒温箱,涡漩混合器,1 mL 气密针。

2 试验部分

2.1 样品的提取、净化

称取试样 2.00 g,置 100 mL 烧杯中,加饱和氯化钠溶液(称取氯化钠 290 g,加水溶解并稀释至 1 000 mL)6 g,超声 15 min。加入 5 g Extrelut™20 硅藻土柱填料,搅拌均匀后,装入已依次充填 1 cm 高的无水硫酸钠和 5 g Extrelut™20 的玻璃层析柱中,压实,再填入 1 cm 高的无水硫酸钠,放置 15 min 后,用正己烷洗脱去除脂溶性杂质,并弃去。用乙醚 140 mL 洗脱,流速约 5 mL/min,收集乙醚洗脱液。在收集的乙醚洗脱液加无水硫酸钠 15 g,振摇,放置 10 min 后,过滤,滤液于 40 ℃温度下旋转蒸发至约 0.5 mL(切勿蒸干),转移至约 5 mL 具塞试管中,用正己烷洗涤旋转蒸发瓶,合并洗涤液至试管中,并用正己烷稀释至刻度。

2.2 衍生化

将上述试样提取液在室温下用氮气浓缩至 2.0 mL,用气密针迅速加入 HFBI 50 μL,立即密塞。涡

旋充分混合后,于 75 ℃下保温 30 min。取出后,放置至室温,加饱和氯化钠溶液 3 mL;涡旋混合 0.5 min,静置使两相分离。取上层正己烷加无水硫酸钠约 0.3 g 干燥,静置 5 min,供气相色谱分析测定^[3]。

2.3 标准溶液的配制

分别准确称取 3-MCPD 和 1,3-DCP 标准品 25 mg(有效成分),分别置于 2 个 25 mL 容量瓶中,用乙酸乙酯溶解并定容,得质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。用正己烷稀释 10 倍,配制 100 mg/L 中间溶液,最后用正己烷配成质量浓度为 0.10、0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mg/L 的混合标准溶液系列。取上述混合标准溶液系列各 0.2 mL,用正己烷定容至 2.0 mL,用气密针迅速加入 HFBI 50 μL,立即密塞,振匀。接下来的步骤与样品的衍生化方法相同,得到质量浓度范围在 0.010~0.250 mg/L 的标准系列 HFBI 衍生物溶液。

2.4 气相色谱条件

DB-5 石英毛细管柱,30 m×0.32 mm×0.25 μm;进样口温度为 240 ℃,检测器温度为 280 ℃;色谱柱温度初温为 60 ℃,保持 1 min,以 4 ℃/min 升至 100 ℃,保持 1 min,再以 30 ℃/min 升至 250 ℃,并保持 5 min;载气为高纯氮气,流速为 2.0 mL/min;进样方式为不分流进样,进样量 1.0 μL;峰面积外标法定量。

3 结果与讨论

3.1 样品提取净化条件的选择

样品纯化时,需要清除基质中的色素、脂肪和蛋白质,而氯丙醇在极性溶剂和非极性溶剂中都有良好的溶解性,所以液液提取方法很难有效进行,必须采用固相提取技术^[7]。试验考察了氧化铝、硅胶、Extrelut™20 硅藻土 3 种吸附剂对样品的吸附作用,结果表明,Extrelut™20 硅藻土效果最佳,其稳定性好、重现性好,具有很好的吸水性。装柱时比较了 2 种方式:一是常规方式用 Extrelut™20 硅藻土装柱;二是把该 Extrelut™20 硅藻土一半先装柱,另一半与样品混合均匀后再装柱。试验结果表明,后者更加有利于提取操作。

采用有机溶剂预洗脱去除样品中的脂溶性杂质和色素等,可减少衍生时的干扰及对色谱柱进样口的污染。试验表明,仅测定 3-MCPD 时可用正己烷-乙醚(体积比 9:1)洗脱去除脂溶性杂质,但是 1,3-DCP 有较大的损失(≥30%),采用正己烷预洗脱即可避免损失。

洗脱氯丙醇常用乙醚或乙酸乙酯^[7]。通过试验比较了这 2 种洗脱溶剂,回收率如表 1 所示。结果表明,采用乙酸乙酯洗脱,用量较大,且杂峰太多,而采用乙醚洗脱,效果较好。采用 140 mL 乙醚洗脱,回收率可达 98.2% 以上。洗脱液含有水分会影响后续的衍生化,采用无水硫酸钠干燥,效果较好,而采用硫酸镁、硫酸钙、氧化钙等干燥会引起较大的损失。

3.2 衍生化方法的选择

3.2.1 衍生化试剂的选择

氯丙醇的极性较大、蒸气压低、沸点较高,衍生化后可以提高分析物的挥发性及检测的灵敏度。可供使用的衍生化试剂有七氟丁酰试剂(HFBI、HFBA)、硼酸类(丁基硼酸、苯基硼酸)、丙酮或庚酮、三氟乙酸酐(TFAA)、N,O-双三甲基-三氟乙酰胺(BSTFA)等试剂。硼酸类、丙酮只能衍生 3-MCPD 等双羟基醇类化合物;TFAA 比 HFBI 的衍生反应容易进行,但产生的有机酸可能会分解氯丙醇衍生物,且灵敏度不如 HFBI 衍生物高;七氟丁酸酐(HFBA)虽然在室温下就可以反应,但是副产物七氟丁酸可能会降解氯丙醇衍生物;BSTFA 主要用于氢火焰离子化检测器(FID)^[8]。相比之下,采用 HFBI 衍生后氯丙醇的电负性明显增强,且 HFBI 衍生的化合物比较稳定、检测灵敏度较高。

表 1 2 种洗脱溶剂的回收率(n=6)
Table 1 Recoveries of 2 elution solvents(n=6)

洗脱溶剂	回收率/%	
	3-MCPD	1,3-DCP
乙醚	99.6	98.2
乙酸乙酯	88.9	82.7

3.2.2 衍生化条件的选择

分别选择 60、70、80、90 ℃ 等不同的衍生化温度,该衍生化反应在 70~80 ℃ 效果最佳,最终选择 75 ℃ 为衍生化温度;在该温度下分别衍生 20、30、40、50 min,结果表明,衍生时间大于 30 min 后,峰面积增加不明显,因此选择反应时间 30 min。在选定的衍生化时间及温度下,分别加入 40、50、60、70 μL 的衍生化试剂,试验发现 50 μL 的 HFBI 已完全满足要求。由于 HFBI 遇水迅速反应,因此环境的湿度影响极大,使用过程中需注意防潮。在相对湿度超过 70% 时,需用气密针迅速加入衍生化试剂。衍生后加入饱和氯化钠或蒸馏水除去过量衍生剂、副产物。

3.3 色谱条件的选择

衍生化后的氯丙醇可用非极性柱或弱极性柱分析。比较了实验室的 2 种色谱柱 DB-1 色谱柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm)和 DB-5 色谱柱(30 m×0.32 mm×0.25 μm),均能满足分析要求;但是采用 DB-5 柱分析,峰形好,出峰快,因此选用 DB-5 色谱柱。为使杂质峰和主峰获得较好的分离效果和合适的保留时间,必须采用程序升温方式。经多次试验,所选条件同 2.4。在该色谱条件下,3-MCPD 和 1,3-DCP 的保留时间分别为约 7.23 min 和 11.85 min。衍生化后的 3-MCPD 和 1,3-DCP 标准溶液色谱图见图 1,含氯丙醇的鸡精样品色谱图见图 2。

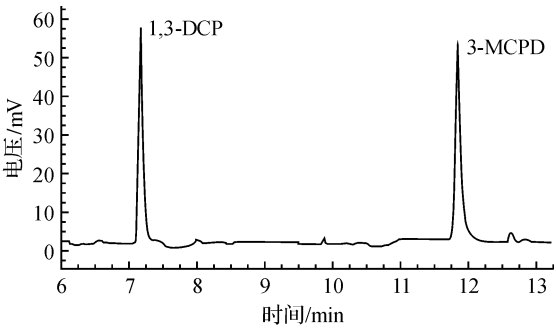


图 1 3-MCPD 和 1,3-DCP 标准 HFBI 衍生物气相色谱图

Fig.1 Gas chromatogram of HFBI derivatives of 3-MCPD and 1,3-DCP standards

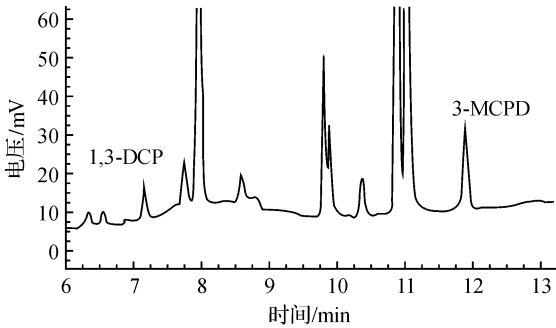


图 2 鸡精样品中 3-MCPD 和 1,3-DCP 的 HFBI 衍生物气相色谱图

Fig.2 Gas chromatogram of HFBI derivatives of 3-MCPD and 1,3-DCP in chicken essence

3.4 线性关系及检测限

分别取混合标准系列 HFBI 衍生物溶液 1.0 μL 进样测定。分别以 3-MCPD 和 1,3-DCP 的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标绘制标准曲线。3-MCPD 的回归方程为: $Y=1\ 136\ 457X-412.62$,相关系数为 0.999 1;1,3-DCP 的回归方程为: $Y=138\ 739X-337.15$,相关系数为 0.999 3。结果表明,2 种氯丙醇在 0.010~0.250 mg/L 范围内,线性关系良好。经多次试验,该方法测定 3-MCPD 和 1,3-DCP 的定量限均为 0.01 mg/kg,能满足检测和定量分析的要求。以 3 倍基线噪音计算,方法的检测限均为 0.005 mg/kg。

3.5 加标回收率试验和方法精密度

取 3-MCPD 和 1,3-DCP 空白的鸡精样品作为基质,分别测定 0.05、0.10 和 0.20 mg/kg 3 种添标水平下 3-MCPD 和 1,3-DCP 的加标回收率,并计算相对标准偏差。每个水平测定 6 次,回收率及精密度结果见表 2。结果表明,3-MCPD 的回收率在 95.7%~102.2% 范围内;1,3-DCP 的回收率在 94.5%~99.3% 范围内,两者相对标准偏差均小于 5.0%。该方法具有较好的准确度和精密度,符合氯丙醇污染测定的技术要求。

表 2 方法的回收率和精密度($n=6$)

Table 2 Recovery and precision of method ($n=6$)

添标水平/(mg·kg ⁻¹)	回收率/%		RSD/%	
	3-MCPD	1,3-DCP	3-MCPD	1,3-DCP
0.05	96.9	94.5	4.5	4.9
0.10	95.7	97.1	3.8	3.6
0.20	102.2	99.3	3.2	4.6

3.6 鸡精样品检测

采用建立的试验方法对市场上 12 种品牌(每种品牌 10 批),共 120 份鸡精产品进行测定,共有 4 个品牌的 21 份鸡精样品中检出 3-MCPD,检出率为 17.5%,其中 4 份质量浓度超过 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$;有 3 个品牌 13 份鸡精样品中检出 1,3-DCP,检出率为 10.8%,质量浓度均未超过 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

4 结 语

本试验所建立的方法能同时测定鸡精中 3-MCPD 和 1,3-DCP 的质量浓度,方法灵敏度较高,回收率较高,相对偏差较小,可以准确地测定鸡精中 2 种氯丙醇的质量浓度;方法定量限 0.01 mg/kg ,能满足鸡精中 2 种氯丙醇限量检测的要求;试验所用仪器易于普及,便于推广应用,是一种较理想的分析方法。本方法也适用于其他调味品和存在氯丙醇污染的食品中 3-MCPD 和 1,3-DCP 的限量测定。

参考文献:

[1] Baer I, De La Calle B, Taylor P. 3-MCPD in food other than soy sauce or hydrolysed vegetable protein (HVP) [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2010, 396(1): 443-456.

[2] FAO, WHO. Summary of the fifty-seventh meeting of the joint FAO/WHO expert committee on food additives[Z]. Rome: FAO/WHO, 2001: 20-21.

[3] GB/T 5009. 191—2006, 食品中氯丙醇含量的测定[S].

[4] 赵文杰, 卢奎, 冯业振. 气相色谱-电子捕获检测法测定酱油中 1,3-二氯-2-丙醇的含量[J]. 食品科技, 2010, 35(11): 285-288.

[5] 周相娟, 谢精精, 赵玉琪, 等. 气相色谱-质谱法测定酱油中氯丙醇类化合物[J]. 中国调味品, 2011, 36(5): 88-90, 120.

[6] Xu X M, Ren Y P, Wu P G, et al. The simultaneous separation and determination of chloropropanols in soy sauce and other flavoring with gas chromatography-mass spectrometry in negative chemical and electron impact ionization modes[J]. Food Additives and Contaminants, 2006, 23(2): 110-119.

[7] 赵广西, 杜伟, 刘浩, 等. 酱油中氯丙醇测定的注意事项[J]. 中国调味品, 2011, 36(9): 23-25.

[8] 傅武胜, 吴永宁. 食品中氯丙醇测定方法研究进展[J]. 食品科学, 2007, 28(3): 353-357.