

研究报告

液相微萃取-气相色谱-质谱法检测袋泡茶纸袋中
残留的环氧氯丙烷

刘平,李丽萍,李兵,赵耀,罗仁才,薛颖,吴国华
(北京市疾病预防控制中心,北京 100013)

摘要:目的 建立袋泡茶水中环氧氯丙烷(ECH)的液相微萃取-气相色谱-质谱联用(LPME-GC-MS)分析方法。方法 通过溶剂棒液相微萃取法对茶水中的环氧氯丙烷进行富集,气相色谱进行分离,质谱定性定量。结果 环氧氯丙烷的检出限为 0.18 μg/ml,线性范围 0.36~7.30 μg/ml($r^2 = 0.999$)。以不含环氧氯丙烷的茶水为本底,测定方法高浓度平均加标回收率为 93.6%,低浓度平均加标回收率为 90.3%,相对标准偏差小于 10%。结论 本方法操作简便,灵敏度、准确度及精密度较好,具有一定的实用性。

关键词: 环氧氯丙烷;液相微萃取;袋泡茶;气相色谱-质谱;食品污染物;食品安全;包装纸袋

中图分类号: O657.7; TQ223.26 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)06-0506-05

**Determination of epichlorohydrin residues in water from teabag by liquid-phase
microextraction-gas chromatography-mass spectrometry method**

Liu Ping, Li Liping, Li Bing, Zhao Yao, Luo Rencai, Xue Ying, Wu Guohua
(Centers for Disease Control and Prevention of Beijing, Beijing 100013, China)

Abstract: Objective To develop a method for the determination of epichlorohydrin (ECH) residues in water from teabag by liquid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry (LPME-GC-MS). **Methods** Epichlorohydrin in teabag water was enriched by hollow fiber liquid-phase microextraction method, separated by gas chromatography and determined qualitatively and quantitatively by mass spectrometry. **Results** The limit of determination was 0.18 μg/ml and the linear ranges were 0.36~7.30 μg/ml ($r^2 = 0.999$). Taking tea water without ECH as background, the average recoveries of adding high and low concentration of standard ECH were 93.6% and 90.3%, respectively. The relative standard deviation was less than 10%. **Conclusion** The method was simple, with good sensitivity, accuracy and precision, and would have certain practicality.

Key words: Epichlorohydrin; liquid-phase micro-extraction; teabag; gas chromatography-mass spectrometry; food contaminants; food safety; food packaging paper bags

环氧氯丙烷(ECH),即 3-氯-1,2-环氧丙烷(epichlorohydrin),又名表氯醇,是造纸工业最常用的一种合成湿强剂、阳离子醚化剂、助留剂和抗静电剂等的化工原料,用来改善纸张的韧性与强度^[1-3],其分子式为 C₃H₅OCl,相对分子量为 92.53,无色,微溶于水(低于 65 g/L),能与多种有机溶剂混溶。环氧氯丙烷会刺激皮肤和粘膜,欧盟 67/548/EEC 指令及国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer)等将其归类为可能对

人致癌物的 2A 组^[4]。我国国家标准 GB 9685—2008《食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准》中规定,环氧氯丙烷可以作为合法添加剂用于纸包装材料,其最大使用量(%)为“按生产需要适量使用”,特定迁移量/最大残留量为 1 mg/kg。

袋泡茶是一种常见的茶叶包装方式,许多保健食品,如减肥茶、降压茶、养生茶等也采用袋泡茶的形式,在茶叶冲泡饮用过程中造成的特殊高温高湿环境下,茶叶纸袋中残留的环氧氯丙烷在茶水中的迁移量还未见报道。本文旨在通过液相微萃取技术^[5-8]富集茶水中的环氧氯丙烷,并以气相色谱-质谱联用技术进行检测。

收稿日期: 2011-08-23

基金项目: 北京市卫生局、北京市中医药管理局青年科学研究资助项目(QN2009-038)

作者简介: 刘平 女 主管技师 研究方向为食品污染物及功效成分检验 E-mail: pingliu6@hotmail.com

通信作者: 吴国华 男 主任技师 研究方向为食品污染物及功效成分检验

1 材料与amp;方法

1.1 仪器与试剂

6890NGC/5973MS 气相色谱-质谱联用仪(美国

安捷伦科技有限公司),加热磁力搅拌器,中空纤维膜(天津膜天膜科技有限公司,FP-T0008,纤维内径/外径:0.70 mm/1.2 mm,膜壁平均孔径为0.2 μm)。

环氧氯丙烷:Dr. Ehrenstorfer GmbH公司(纯度99%);醋酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷:色谱纯,Merck公司;除特殊说明外,所有实验用水均为超纯水;高纯氮气。

环氧氯丙烷标准储备液的配制:用称重法配制,浓度3.65 mg/ml。冰箱-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,两周内使用。

环氧氯丙烷使用液:不同浓度,临用时现配。

1.2 样品采集

样品部分购自北京各大超市,部分来自于北京市疾病预防控制中心营养与食品卫生所的抽检样品。

1.3 气相色谱条件

色谱柱为安捷伦 HP-INNOWax 石英毛细管柱(30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm);柱温(起始温度)70 $^{\circ}\text{C}$,保留3 min;升温速率:15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到130 $^{\circ}\text{C}$,保留6 min,再以15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升到220 $^{\circ}\text{C}$,保留5 min;进样口温度280 $^{\circ}\text{C}$;柱流量1.0 ml/min;分流比5:1。

1.4 质谱条件

离子源:电子轰击(EI)离子源,电子能量70 eV;离子源温度230 $^{\circ}\text{C}$;四极杆温度150 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度230 $^{\circ}\text{C}$;SIM模式扫描,选择碎片离子49,57,62;溶剂延迟3.0 min;电子倍增器的相对电压为1859 V;nist 2005 谱库检索。

1.5 样品前处理

取4袋袋泡茶纸袋样品(约0.3 g),剪碎置于20 ml比色管中,用新煮沸的茶水定容至20 ml,密封超声10 min后浸泡12 h,将10 ml滤液放入20 ml顶空瓶中,加入磁力搅拌子和装有正己烷的溶剂棒,用封口钳封好顶空瓶口,在30 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中平衡20 min,将平衡好的溶剂棒取出,剪开一端,用微量进样针吸取1 μl 溶剂,注入气相色谱仪测定。将滴加有36.0 μg ECH的茶叶纸袋作为阳性对照,如上所述,进行样品前处理并检测。

1.6 定性及定量

分别选择 m/z 57、49、62 作为环氧氯丙烷的定量离子,以环氧氯丙烷的峰面积和浓度作标准曲线。以保留时间和各对离子的响应强度的比例作为定性标准。实际样品中各对离子的强度比不超过标准样品溶液的 $\pm 20\%$ 。

2 结果与分析

2.1 仪器条件的优化

选择了 HP-INNOWax、HP-5、HP-FFTP、DB-624 色谱柱进行检测,发现环氧氯丙烷在弱极性色谱柱 HP-5 和中等极性色谱柱 DB-624 出峰时间较快,与溶剂峰相近,干扰了环氧氯丙烷的定性定量,在强极性色谱柱 HP-INNOWax 和 HP-FFTP 色谱柱可得到良好峰形,且灵敏度高,最终选择 HP-INNOWax 作为测定环氧氯丙烷的色谱柱。

2.2 萃取溶剂的选择

根据环氧氯丙烷的性质,本实验选择了正己烷、醋酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷4种常见萃取溶剂,用两种液相微萃取方式(单滴溶剂液相微萃取和溶剂棒液相微萃取)进行萃取。

2.2.1 溶剂棒液相微萃取(HPME)

各取5 μl 萃取溶剂注入到2.5 cm长的溶剂棒中,将溶剂棒两端封闭。在20 ml顶空瓶中放入10 ml含有1.82 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ECH的模拟水样,分别放入磁力搅拌子和已制备的溶剂棒,将顶空瓶密封,在温度25 $^{\circ}\text{C}$ 、转速100 r/min的水浴中进行萃取,平衡时间20 min。最后将平衡好的溶剂棒取出,剪开一端,用进样针吸取1 μl 萃取剂,注入气相色谱仪进行分析,由于正己烷萃取峰面积最大,且毒性小,故选择其为萃取溶剂。

2.2.2 单滴溶剂液相微萃取(SDME)

在20 ml顶空瓶中放入10 ml含有1.82 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ECH的模拟水样,放入磁力搅拌子后将顶空瓶密封,用2 μl 进样针吸取2 μl 萃取溶剂,针尖从顶空瓶盖上穿过,置于液面下0.8 cm处。缓慢推动进样针,使萃取溶剂形成一个小液滴悬挂在针尖。将进样针和顶空瓶一同放入25 $^{\circ}\text{C}$ 、100 r/min的水浴中进行萃取,平衡时间20 min。最后回吸1 μl 萃取剂于针管中,将进样针拔出,注入气相色谱仪进行分析。平衡时,正己烷悬挂在针尖时有很好的稳定性,其他三种易脱落,故选择其为萃取溶剂。

实验结果表明,正己烷作为有机萃取剂具有较强的操作性和较高的萃取效率。

2.3 平衡温度的选择

如2.2所述模拟待测体系,在不同平衡温度(20、25、30、35 $^{\circ}\text{C}$)下进行平衡,平衡时间为20 min。以平衡温度为横坐标,以环氧氯丙烷峰面积为纵坐标作图。由图1可见,HPME法当平衡温度为30 $^{\circ}\text{C}$ 时,环氧氯丙烷峰面积最大。SDME法随着温度逐渐升高,液滴变得不稳定,当温度高于25 $^{\circ}\text{C}$,几乎在针尖处不能形成单滴。

实验结果表明,被萃取体系未达到平衡状态,

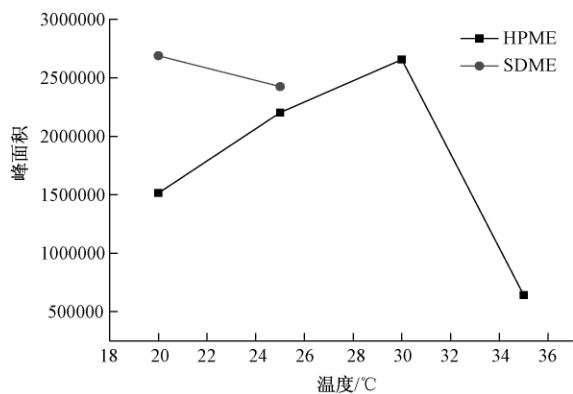


图 1 平衡温度的选择

Figure 1 The selection of balance temperature

动力学因素是影响萃取效率的主要因素。对于以传质阻力为决定性因素的物质,提高温度可以显著地提高萃取效率。传质达到平衡,继续提高萃取温度,有机相中的萃取总量反而有所减少。综合考虑,确定 HPME 法样品的平衡温度为 30 °C,SDME 法样品的平衡温度为 20 °C。

2.4 平衡时间的选择

如 2.2 所述模拟待测体系,在最佳实验条件下,将模拟水样在不同平衡时间(5、10、15、20、25 min)下进行平衡,以平衡时间为横坐标,以环氧氯丙烷峰面积为纵坐标作图。由图 2 可见,SDME 法在前 20 min 的平衡时间里峰面积差异并不显著,这可能是因为环氧氯丙烷在直接接触的液-液两相平衡时间较短,传质很快达到平衡,25 min 时液滴脱落。而 HPME 法在 20 min 时,环氧氯丙烷的峰面积最高,故选择的最佳平衡时间为 20 min。

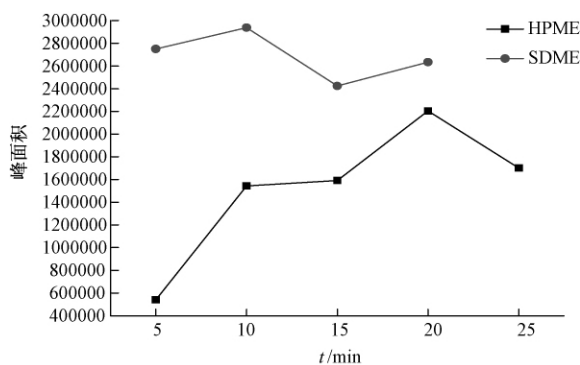


图 2 平衡时间的选择

Figure 2 The selection of balance time

2.5 转速的影响

如 2.2 所述模拟待测体系,在最佳实验条件下,将模拟水样在不同的平衡转速(300、600、900 r/min)下进行平衡,以转速为横坐标,以环氧氯丙烷峰面积为纵坐标作图。由图 3 可见,HPME 法测得的环氧氯丙烷峰面积受转速影响较小。而 SDME 法在 100 r/min 时液滴稳定,300 r/min 时液滴极易脱落,造成液滴回收困难。

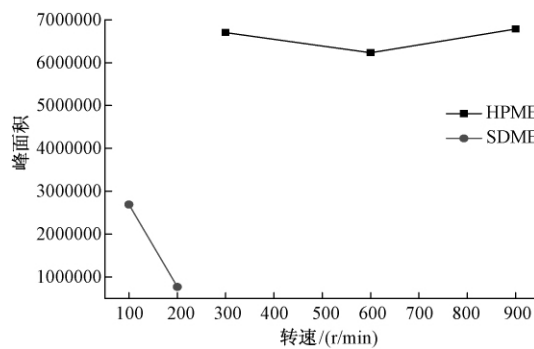


图 3 平衡转速的选择

Figure 3 The selection of balance rotational speed

2.6 溶剂体积的选择

如 2.2 所述模拟待测体系,在最佳实验条件下,将模拟水样在不同溶剂体积下进行平衡,溶剂棒萃取剂体积为 4、6、8、10 μl,单滴液相微萃取剂体积为(1、2、3、4 μl)。以溶剂体积为横坐标,以环氧氯丙烷峰面积为纵坐标作图。SDME 在 2 μl 时液滴稳定存在,其他体积均导致液滴脱落。原因可能为液滴在 1 μl 时过小而不稳定,在 3 和 4 μl 时液滴过大、过重而脱落。如图 4 所示,HPME 在 8 μl 时,环氧氯丙烷峰面积最大,故选择最佳溶剂体积为 8 μl。

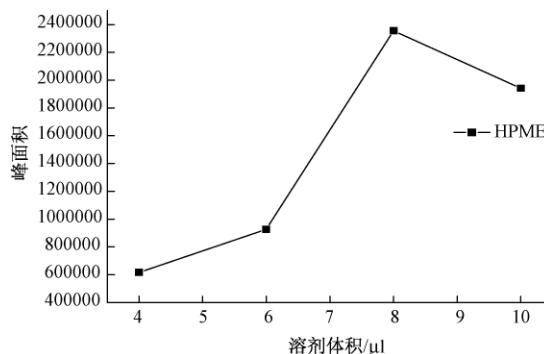


图 4 溶剂体积的选择

Figure 4 The selection of solvent volume

2.7 盐效应的影响

如 2.2 所述模拟待测体系,在最佳实验条件下,将模拟水样在不同浓度(0、5、10、15 mg/ml)氯化钠溶液中进行平衡,以氯化钠溶液浓度为横坐标,以环氧氯丙烷峰面积为纵坐标作图,见图 5。SDME 在没有盐存在时液滴稳定存在,而在盐溶液中液滴比较容易脱落。如图 5 所示,HPME 在没有盐溶液时,环氧氯丙烷峰面积最大,故选择不添加盐的萃取体系。

实验结果表明,氯化钠的加入具有两方面的作用。一方面,由于盐析作用,创造了热力学的有利条件,从而促使被萃取物进入有机相。另一方面,由于盐的加入会提高水的粘度,减慢物质的传质速率,降低被萃取物的萃取效率。因此对于受动力学的传质速率为制约性条件的萃取体系,反而会大大降低被萃取物的萃取效率。在本实验

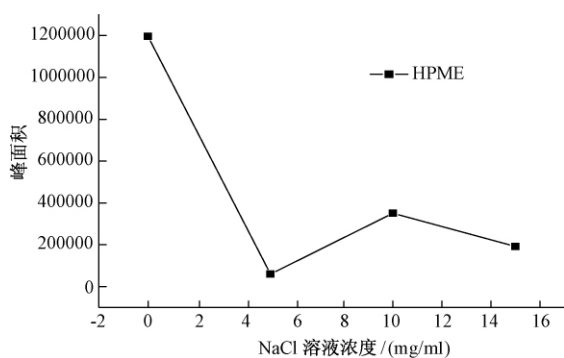


图5 盐效应的影响

Figure 5 The effectiveness of salt

中,盐溶液的使用正是对环氧氯丙烷的萃取起到了抑制作用。

2.8 样品平衡方法的选择

由以上 HPME 和 SDME 实验条件的摸索可以看出,HPME 易操作,较稳定。而 SDME 由于液滴极易脱落,不稳定,方法重现性不好。另外,在萃取过程中,液滴中可能会产生气泡,影响测定。气泡的形成原因主要有两个:微量进样针内管表面不光滑;有机溶剂的沸点较低,溶剂的挥发是形成气泡的主要原因。故最后选择 HPME 法作为样品前处理方法。

2.9 线性范围及检出限

分别取 3.65 mg/ml 环氧氯丙烷储备液 1、5、10、15、20 μl 移入已盛有 10 ml 超纯水及磁力搅拌子的顶空瓶中,加入已封好的正己烷溶剂棒,密封。30 $^{\circ}\text{C}$ 加热 20 min 后,从溶剂棒中抽取 1 μl 液体进样,以环氧氯丙烷的峰面积比为纵坐标,含量为横坐标,绘制标准曲线,如图 6 所示。所得标准曲线的线性回归方程为 $Y = 7.39 \times 10^4 X - 2.47 \times 10^4$ ($r^2 = 0.999$),线性范围 0.36 ~ 7.30 $\mu\text{g/ml}$,方法的定性检出限 0.054 $\mu\text{g/ml}$,方法的定量检出限 0.18 $\mu\text{g/ml}$ 。图 7 为 ECH 标准品的总离子流图,图 8 为 ECH 标准品的质谱图。

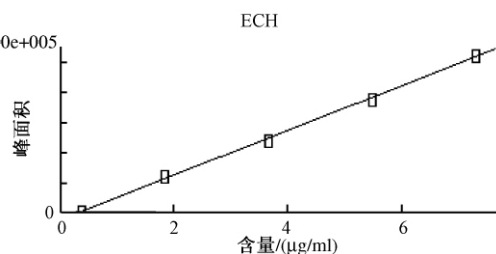


图6 环氧氯丙烷标准曲线

Figure 6 The standard curve of epichlorohydrin

2.10 方法回收率

将阴性茶水样品作为基底,如 1.5 所述模拟样品前处理,进行高低浓度加标回收率实验。如表 1 所示,高浓度样品的平均加标回收率为 93.6%,低浓度样品的平均加标回收率为 90.3%。

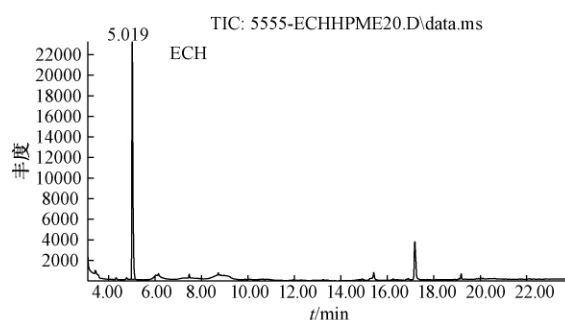


图7 环氧氯丙烷标准的总离子流图

Figure 7 The total ion chromatography of epichlorohydrin

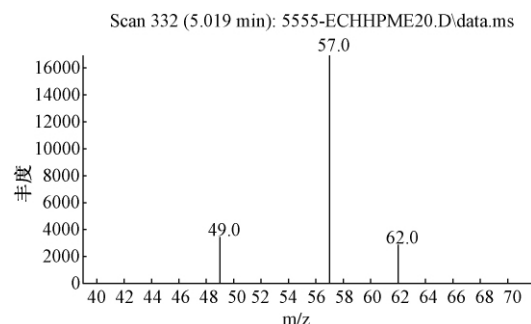


图8 环氧氯丙烷标准的质谱图

Figure 8 The mass spectrogram of epichlorohydrin

表1 样品高低浓度加标回收率实验

Table 1 The recovery of sample added with high or low concentration of standards ($n = 4$)

加标浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	检出浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	回收率 (%)	相对标准偏差 (% $n = 4$)
1.8	1.8	90.3	7.7
	1.6		
	1.6		
	1.5		
5.5	4.8	93.6	5.6
	5.5		
	5.1		
	5.2		
	5.2		

2.11 精密度

对同一袋泡茶茶水加标样品在最佳条件下进行检测,分别考察方法的日间和日内精密度,环氧氯丙烷含量的相对标准偏差均小于 10%。

2.12 实际样品测定

对 27 种袋泡茶水中的环氧氯丙烷含量进行了检测,除了阳性对照样品检出 ECH (含量为 111.2 mg/kg),其他样品均未检出 ECH,图 9 为阳性对照样品的色谱图。

3 结论

应用该方法检测茶水中环氧氯丙烷并未检出。其原因可能为以下三点:一方面可能因为袋泡茶茶袋在生产过程中,ECH 的使用量符合国家标准的规定,即使在高温高湿冲泡条件下迁移到茶水中的含量也很少,造成所测茶水中环氧氯丙烷的浓度低于

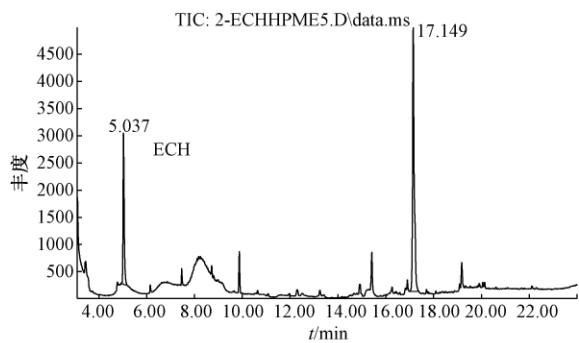


图 9 袋泡茶阳性对照样品的色谱图

Figure 3 9 The chromatogram of positive tea bag sample

本方法的检出限, 从而造成未检出; 另一方面可能因为 ECH 为小分子化合物, 在检测过程中, 干扰物质较多, 检出限达不到 1 mg/kg 的水平; 此外, ECH 在袋泡茶包装袋中的存在形式, 液相微萃取提取过程中, 中空纤维膜的质量、实验条件的掌控等都对痕量 ECH 在两相间的传质有很大影响, 从而造成提取不完全, 也可能引起阴性结果。但液相微萃取法具有低价、溶剂消耗少、对环境友好等特点, 在未来的研究中尝试将环氧氯丙烷衍生为非极性大分子化合物, 用液相微萃取法进行萃取, 并在方法线性范围、检出限、实验的重复性等方面进行深入研究, 力求使该法满足实际样品测定的要求。

参考文献

[1] 顾振华. 中国食品包装材料卫生监管及与美国、欧盟的比较

[J]. 中国食品卫生杂志, 2007, 19(5): 418-421.
 [2] 石岩, 谢来苏. 聚酰胺-环氧氯丙烷(PAE) 湿强剂在造纸中的应用[J]. 黑龙江造纸, 2001, 5(1): 18-20.
 [3] PAULA M, BELGACEM, NACEUR M. Influence of impulse drying on the curjng of polyamide-epichlorohydrin wet strength resin[J]. Cellul Chem Technol 2003, 6: 439-451.
 [4] MICHAEL B, WOLFGANG R, FRANK-MATHIAS G, et al. Quantification of *N*-(3-chloro-2-hydroxypropyl) valine in human haemoglobin as a biomarker of epichlorohydrin exposure by gas chromatogra-phy-tandem mass spectrometry with stable-isotope dilution [J]. J Chromatog B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 2009, 877(13): 1402-1415.
 [5] SUNG J H, LEE Y J, PARK H J. New method for determination of epichlorohydrin in epoxy-coated cans by oxolane derivatization and gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Chromatog A, 2008, 1201: 100-105.
 [6] BODEN L, LUNDGREN M, STENSIO K E, et al. Determination of 1,3-dichloro-2-propanol and 3-chloro-1,2-propanediol in papers treated with polyamidoamine-epichlorohydrin wet-strength resins by gas chromatogra-phy-mass spectrometry using selective ion monitoring [J]. J Chromatog A, 1997, 788: 195-203.
 [7] 漆爱明, 毛丽秋. 中空纤维膜液相微萃取及常规分析用于气相色谱-质谱分析白酒中的正己酸乙酯的比较研究[J]. 分析科学学报, 2009, 25(2): 153-156.
 [8] 刁春鹏, 苑金鹏, 李磊, 等. 中空纤维液相微萃取-气相色谱/质谱联用检测水中的氯化苯[J]. 分析化学, 2008, 36(11): 1559-1562.

研究报告

一种小分子生物活性肽(重组 BMP) 的质谱分析

杨永清¹, 董伯森¹, 赵芳²

(1. 邯郸市疾病预防控制中心, 河北 邯郸 056008; 2. 邯郸职业技术学院, 河北 邯郸 056001)

摘要:目的 对一种小分子生物活性肽(重组 BMP) 样品进行电喷雾质谱测定, 初步确定其一级结构。方法 离子化方式: 电喷雾离子化; 检测方式正离子; 质量扫描范围 m/z 150 ~ 1 000; 干燥气(N_2) 流速 5 arb; 雾化气(N_2) 压力 35 arb; 毛细管出口电压 4.5 kV; 碎裂器电压 100 V; 碰撞诱导解离技术碎裂器电压为 35%; 碰撞气流量为电子流量控制器自动控制; 进样方式: 流动注射进样; 流动相为乙腈: 水(50:50)。结果 利用电喷雾质谱技术, 初步测定重组 BMP 样品的一级结构为 H-Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Pro-OH。结论 该方法能够初步测定小分子生物活性肽的一级结构, 为实验室生物工程菌构建提供准确有效的检测技术。

关键词: 生物活性肽; 食品感官肽; 电喷雾质谱; 一级结构

中图分类号: Q51; Q55 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2011)06-0510-05

收稿日期: 2011-05-25

作者简介: 杨永清 男 主管检验师 研究方向为卫生检验 E-mail: tustyyq@sina.com