

GPC-GC-MS 测定糕点和麻辣食品中的富马酸二甲酯

邹洁¹, 张征^{2,*}, 颜春荣², 卢剑²

(1.江苏省食品质量安全监控中心, 江苏 南京 210007; 2.江苏省产品质量监督检验研究院, 江苏 南京 210007)

摘要:建立快速凝胶柱的全自动凝胶净化系统(gel permeation chromatography, GPC)-气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)检测食品中防腐剂富马酸二甲酯。以环己烷:乙酸乙酯(1:1, V/V)为提取液, 利用 GPC 对样品进行净化和浓缩, 应用选择离子监测(selected ion monitoring, SIM)模式, 以 m/z 113、85、59 为定量离子, GC-MS 进行定性和定量分析, 建立富马酸二甲酯的提取和检测方法。该方法回归方程为 $Y=4018974X - 56743$, 线性范围为 0.02 ~ 20.0mg/L, 相关系数 0.9991, 检出限为 0.02mg/kg, 添加水平为 0.05、0.5、1.5mg/kg 时加标回收率为 89.5% ~ 94.0%、相对标准偏差为 4.0% ~ 5.7%($n=6$)。结果表明, 该法具有回收率高、检出限低、自动化程度高等优势。

关键词:富马酸二甲酯; 凝胶净化色谱(GPC); 气相色谱-质谱联用(GC-MS); 糕点; 麻辣食品

Determination of Dimethyl Fumarate in Pastry and Spicy Snacks by GPC-GC/MS

ZOU Jie¹, ZHANG Zheng^{2,*}, YAN Chun-rong², LU Jian²

(1. Jiangsu Monitoring Center for Food Safety, Nanjing 210007, China;

2. Jiangsu Product Quality Supervision & Inspection Institute, Nanjing 210007, China)

Abstract: Dimethyl fumarate is widely used in the food industry as an antifungal agent. Because of the high content of oil and spice in pastry and spicy snacks, extraction and determination of dimethyl fumarate from these matrices is challenging. In this study, a GPC-GC/MS method to determine dimethyl fumarate residues in pastry and spicy snacks was established. Samples were extracted with a mixture of cyclohexane and ethyl acetate (1:1, V/V) and the extract was cleaned up and concentrated in an automated GPC system. Dimethyl fumarate was analyzed by GC-MS in the selective ion monitoring mode using m/z 113, 85, and 59 as qualitative ions. A regression equation was built for the method as follows: $Y = 4018974X - 56743$, with a linear range of 0.02 - 20.0 mg/L and a correlation coefficient of 0.9991. The detection limitation of the method was 0.02 mg/kg. The average recoveries across the spike levels of 0.05, 0.5 mg/kg and 1.5 mg/kg were between 89.5% and 94.0% with a relative standard derivation ranging from 4.0% to 5.7% ($n = 6$). The method was of high recovery, low detection limit and high automation.

Key words: dimethyl fumarate; gel permeation chromatography(GPC); gas chromatography-mass spectrometry(GC-MS); pastry and spicy snacks

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)24-0267-03

富马酸二甲酯是一种良好的抗菌剂和防霉剂, 常用于纺织品和皮革制品的防霉。由于其抑菌能力强、抑菌种类多、不受环境影响等特点, 还被用于食品、粮

食、饲料、化妆品、烟草等防腐防霉及保鲜, 不仅可使食品不易霉变、保质期长, 还可保持色泽鲜艳^[1]。但过量摄入富马酸二甲酯会损害肠道、内脏和引起过

收稿日期: 2011-11-01

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局项目(YKY2010001)

作者简介: 邹洁(1973—), 女, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测与风险分析。

E-mail: zoujie1991@yahoo.com.cn

* 通信作者: 张征(1972—), 男, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品安全检测与风险分析。

E-mail: zz_spjkzx@jsqts.gov.cn

敏,可在体内转化成甲醇,对眼睛等器官有损害作用,尤其对儿童的成长发育会造成很大危害^[2-3]。欧盟颁布的指令 2009/251/EC 规定,由 2009 年 5 月 1 日起,所有欧盟成员国一律禁止向市场投放或出售含有超过 0.1mg/kg 富马酸二甲酯的产品,我国卫生部公布富马酸二甲酯不允许在食品中使用^[4],说明该物质的危害已经引起了世界范围内的广泛关注。一些不法食品生产者仍然将富马酸二甲酯作为糕点和麻辣食品的防霉剂,给消费者健康带来威胁。据刘小康^[3]分析,除了富马酸二甲酯的毒性作用,目前种类多且不规范的检测方法,是富马酸二甲酯存在的潜在风险。

关于富马酸二甲酯前处理方法的报道,包括中性氧化铝-活性炭法^[5-6]、固相萃取法^[7]、超声提取法^[8]等,涉及的检测方法有薄层法^[9]、气相色谱法^[10-11]、液相色谱法^[8-9]、气相色谱-质谱联用法^[5-6,12-13]、串联气质法^[14]等,但将凝胶净化色谱(gel permeation chromatography, GPC)和气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)相结合检测糕点和麻辣食品中富马酸二甲酯的方法未见报道。糕点和辣条中油脂和麻辣香辛料含量较高,富马酸二甲酯的提取和净化复杂,成为检测工作的瓶颈。GPC 基于体积排阻的分离机理,近年来国内外不断有报道将 GPC 用于样品的前处理^[15-16],以除去色素、脂肪等大分子杂质,具有自动化程度高、重现性好的优势。本实验旨在为建立食品中富马酸二甲酯的 GPC-GC-MS 检测方法提供一定参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

以小麦粉为原料制成糕点和麻辣食品 市售。

富马酸二甲酯标准品 Dr Ehrenstorfer 公司;环己烷、乙酸乙酯(均为色谱纯)。

1.2 仪器与设备

HP6890 气相色谱与 HP5973 质量选择检测器(MSD)联用仪(化学工作站) 美国 Agilent 公司;GPC 凝胶渗透色谱仪 德国 LC-TECH 公司;AE-160 十万分之一电子天平 梅特勒-托利多公司;KQ-300E 超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;FW100 高速万能粉碎机 天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

称取 5g 样品到 50mL 三角瓶中,加入环己烷:乙酸乙酯(1:1, V/V)20mL,充分振摇,超声 10min,上清液经 0.45 μ m 滤膜后,取 10.0mL 于 GPC 专用进样瓶中。

1.3.2 GPC 条件

GPC 配有快速凝胶色谱柱,填料为 50.0g Bio-Beads S-X3 (Bio-Rad);进样量为 5mL;流动相为乙酸乙酯:环己烷(1:1, V/V);流速 4.5mL/min;杂质丢弃时间和主要收集时间分别为 500s 和 200s;高位激光真空度 180mbar;低位激光真空度 210mbar;浓缩温度为 40 $^{\circ}$ C,浓缩后定容体积为 2mL。

1.3.3 GC-MS 联用条件

色谱柱:HP-5-MS(5% 苯基甲基聚硅氧烷毛细管柱, 30m $\times$ 0.32mm, 0.25 μ m);初始柱温 60 $^{\circ}$ C,以 20 $^{\circ}$ C/min 升至 280 $^{\circ}$ C,保持 2min;柱中载气(高纯氮)流量 1.0mL/min;进样口不分流;溶剂延迟时间 4min;温度 250 $^{\circ}$ C;检测器 MSD 离子源温度 230 $^{\circ}$ C;接口温度 250 $^{\circ}$ C;四极杆温度 150 $^{\circ}$ C;EMV1076;离子扫描范围 50~400u;进样量 1 μ L;选择离子模式监测,定量选择离子为 113、85、59。

2 结果与分析

2.1 样品处理条件优化

本实验初期采用 10mL 刻度试管,测得糕点中加标量为 0.5mg/kg 时,回收率在 65%~90% 之间,RSD 为 11.2%,在改用三角瓶作为提取容器后,回收率在 89.55%~94.0% 之间,RSD 为 4.2%。所以处理样品时,务必使用三角瓶或烧杯之类的器皿,避免使用刻度试管、离心管等空间狭长的器皿,因为糕点或其他面制品含有面筋容易结块,造成样品和提取液不能充分接触,导致回收率变化较大。

2.2 GPC 条件的优化

糕点和麻辣食品中含有大量油脂及各种香辛料,分析前必须进行有效净化处理。有报道采用中性氧化铝-活性炭法^[6],但是中性氧化铝的加入量太少达不到净化效果,太多则回收率下降,使得中性氧化铝和活性炭的活性和数量没有统一的标准,给方法带入很多不确定因素。GPC 样品制备是用于将少量小分子物质从大分子基质中分离的有效工具。本研究为进一步提高净化速度、节约溶剂,选用了快速柱,500s 为杂质丢弃时间,从第 501s 开始,每 50s 收集一份样品,共收集 12 份样品溶液,样品经 GC-MS 分析检测,发现富马酸二甲酯集中流出在第 1~4 瓶中,在第 5~12 瓶中未检出。因此,选择收集时间为 501~700s。结果表明,油脂和色素等大分子物质在前 500s 流出,成功实现与目标物的分离。

在最佳前处理优化条件下,依照 1.3.3 节条件对样品进行测定,色谱与质谱图见图 1、2。

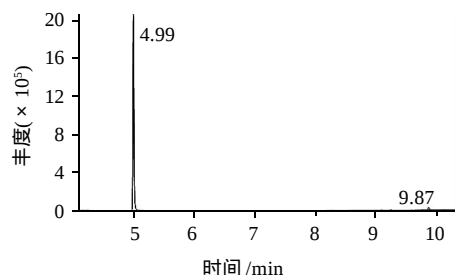


图1 富马酸二甲酯总离子流图

Fig.1 Total ion current chromatography of dimethyl fumarate

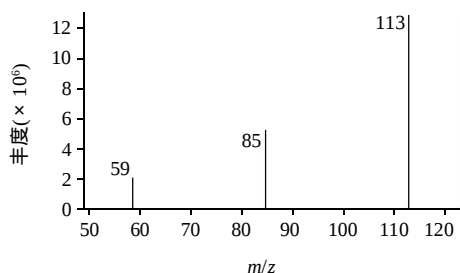


图2 富马酸二甲酯质谱图

Fig.2 Mass spectrum of dimethyl fumarate

2.3 回归方程、相关系数和检出限

以200mg/L标准品溶液为母液,以乙酸乙酯为稀释溶剂分别制备0.02、0.1、0.5、2.0、5.0、10.0、20.0mg/L系列标准溶液。以标准溶液质量浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。回归方程为 $Y = 4018974X - 56743$,相关系数(R^2)为0.9991。富马酸二甲酯检出限($R_{SN} = 3$)为0.02mg/kg,低于欧盟对富马酸二甲酯的限量(0.1mg/kg)。

2.4 添加回收率和精密度

分别选择糕点和麻辣食品作为空白基质作加标回收实验。添加0.05、0.5、1.5mg/kg,每个水平重复测定6次,其平均回收率和相对标准偏差(RSD)见表1。加标回收率为89.5%~94.0%、相对标准偏差为4.0%~5.7%($n=6$)。

表1 空白基质中富马酸二甲酯的添加回收率和精密度实验结果
($n=6$)

Table 1 Spike recovery and relative standard deviation (RSD) of dimethyl fumarate in blank matrix ($n=6$)

基质	添加水平/(mg/kg)	平均回收率/%	RSD/%
糕点	0.05	89.5	4.8
	0.5	91.2	4.2
	1.5	93.3	4.3
麻辣食品	0.05	90.0	5.7
	0.5	90.7	4.0
	1.5	94.0	4.0

3 结论

采用自动凝胶渗透色谱净化前处理方法,去除糕点和麻辣食品中的油脂和香辛料,用GC-MS测定样品中富马酸二甲酯的含量。本方法充分发挥GPC在食品前处理中的优势,与固相萃取法和活性炭法相比具有自动化程度高、易于标准化操作的优势。气相色谱-质谱联用法在定性定量方面比气相色谱法和液相色谱法具有明显优势,可以避免假阳性物质的干扰,而串联质谱-气相色谱虽然在灵敏度和准确度方面也有较大优势,但是由于仪器价值昂贵,普及率低,很难推广。本方法适用性广、可操作性强,在回收率和灵敏度等方面都能满足糕点和麻辣食品中富马酸二甲酯的检测。

参考文献:

- [1] ISLAM M N, LIRIO M E, Del VALLE F R. Mold inhibition in tortilla by dimethyl fumarate[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 1984, 8(1): 41-45.
- [2] 吴晖,刘磊,李晓凤,等. 防腐剂富马酸二甲酯的研究现状及应用[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(6): 160-163.
- [3] 刘小庚. 富马酸二甲酯的毒性研究进展[J]. 中国粮油学报, 2010, 25(4): 116-120.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 食品中可能违法添加的非食用物质名单(第二批)[B]. (2009-02-04)[2011-11-01].
- [5] 曹华娟,冯家力,潘振球,等. 食品中富马酸二甲酯残留量的GC-MS法测定[J]. 实用预防医学, 2005, 12(1): 173-174.
- [6] 寇立娟,梁春实,臧金海. 中性氧化铝柱净化-气相色谱/质谱法测定食品中富马酸二甲酯的含量[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 134-136.
- [7] 周建科,杨冬霞,徐鹏. 固相分散萃取-液相色谱法测定豆沙中的富马酸二甲酯[J]. 食品工程, 2010(3): 57-59.
- [8] 庞艳苹,赵志磊,吴广臣,等. 高效液相色谱法测定面制品中富马酸二甲酯的含量[J]. 食品工业科技, 2009, 30(6): 311-352.
- [9] 张杨,陈伟强. 薄层法检测富马酸二甲酯方法探讨[J]. 中国卫生杂志, 2001, 11(6): 722.
- [10] 金良正,胡浩军. 高脂糕点中富马酸二甲酯的气相色谱测定[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16(10): 1209.
- [11] LAMAS J P, SANCHEZ-PRADO L, GARCIA-JARES C, et al. Determination of dimethyl fumarate in desiccant and mouldproof agents using ultrasound-assisted extraction gas chromatography with electron-capture detection[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(30): 5755-5758.
- [12] NARIZZANO R, RISSO F, VENTURELLI G, et al. Gas-chromatography-mass spectrometry analysis of dimethyl fumarate in consumer products[J]. Journal of Chromatography A, 2009, 1216(39): 6762-6766.
- [13] LAMAS J P, SANCHEZ-PRADO L, REGUEIRO J, et al. Determination of dimethyl fumarate and other potential allergens in desiccant and antimould sachets[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 394(8): 2231-2239.
- [14] 张清智,孙忠松,王境堂. 气相色谱-串联质谱法测定食品中的富马酸二甲酯[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 314-317.
- [15] WANG J H, CAI F, WANG Y L, et al. Pesticide multiresidue analysis of peanuts using automated gel permeation chromatography clean-up/gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Additives and Contaminants, 2009, 26(3): 333-339.
- [16] 徐晓琴. 凝胶色谱净化-气相色谱串联质谱法测定猪肉中16种有机氯农药残留[J]. 福建分析测试, 2011, 20(4): 1-5.