

白酒中人工合成甘油及环氧氯丙烷的测定

朱作为*, 张文中, 陈 沙, 唐丽君, 曹 璐, 黄宗兰, 罗晨媛

(江西省食品检验检测研究院, 南昌 330001)

摘要: 目的 建立一种白酒中环氧氯丙烷的完善、准确检测方法, 并作为白酒添加人工合成甘油的辅助判定手段。**方法** 白酒中的环氧氯丙烷经过二氯甲烷萃取、浓缩和高弹石英毛细管柱分离, 利用气相色谱-质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)进行测定, 并以灵敏度最高的离子对进行定量分析。**结果** 该方法相对标准偏差(relative standard deviation, RSD) < 10%, 加标回收率为 75.5%~89.0%, 最低检出限为 1.0 $\mu\text{g/L}$ 。**结论** 该方法灵敏度高, 准确性好, 适用于白酒中环氧氯丙烷的测定。

关键词: 白酒; 人工合成甘油; 环氧氯丙烷; 气相色谱-质谱联用仪

Determination of synthetic glycerine and epichlorohydrin in liquor

ZHU Zuo-Wei*, ZHANG Wen-Zhong, CHEN Sha, TANG Li-Jun, CAO Jun,
HUANG Zong-Lan, LUO Chen-Xuan

(Jiangxi Institute for Food Control, Nanchang 330001, China)

ABSTRACT: Objective To establish a perfect and accurate detection method for epichlorohydrin in liquor, and as an auxiliary determination method for the addition of synthetic glycerol in liquor. **Methods** Epichlorohydrin in liquor was extracted and condensed by dichloromethane, separated by high elastic quartz capillary column, and determined by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS). The ion pair with the highest sensitivity was used for the quantitative analysis. **Results** The relative standard deviations (RSDs) of method were less than 10%, the recovery rates were 75.5%~89.0%, and the limit of detection was 1.0 $\mu\text{g/L}$. **Conclusion** This method is sensitive and accurate, which is suitable for the determination of epichlorohydrin in liquor.

KEY WORDS: liquor; synthetic glycerol; epichlorohydrin; gas chromatography-mass spectrometer

1 引言

丙三醇(甘油)是固态法发酵白酒中的违规食品添加剂。白酒发酵过程本身会产甘油, 然而, 一些白酒企业为了去除白酒中醛类的怪气味, 增加产品的甜味^[1-5], 会违规向白酒中添加甘油。由于缺少能有效区分白酒中天然甘油和人工添加合成甘油的方法, 导致白酒中违规添加甘油的监管存在技术支持的真空区。因此, 需要制定一种能有效

测定人为添加合成甘油的方法, 以对白酒进行更好地质量控制。

合成甘油中最重要的生产方法是丙烯氯化法, 其包括 4 个步骤, 即丙烯高温氯化、氯丙烯次氯化、二氯丙醇皂化以及环氧氯丙烷的水解。通过丙烯的氯代过程得到氯丙烯, 然后用次氯酸盐和强碱对其进行处理, 得到环氧氯丙烷^[6,7]。在 150 $^{\circ}\text{C}$ 、1.37 MPa 二氧化碳压力下, 环氧氯丙烷于 10%氢氧化钠和 1%碳酸钠的水溶液中水解, 从而

基金项目: 江西省食品药品监督管理局科技计划(2016sp13)

Fund: Supported by Jiangxi Food and Drug Administration Technology Plan (2016sp13)

*通讯作者: 朱作为, 工程师, 主要研究方向为食品检验和研究。E-mail: 645233198@qq.com

*Corresponding author: ZHU Zuo-Wei, Engineer, Food Inspection and Testing Institute of Jiangxi Province, No.213 Jinggangshan Road, Nanchang 330001, China. E-mail:645233198@qq.com

制得甘油。此时生成的甘油含量为 5%~20%, 经浓缩、脱盐、蒸馏, 可得纯度为 98% 以上的甘油^[8,9]。丙烯氯化法约占合成甘油产量的 80%^[10], 合成路径如下图 1。

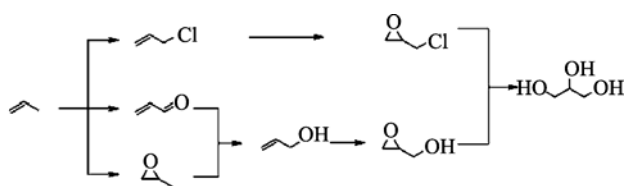


图 1 人工合成甘油的合成路径图

Fig.1 Synthetic route of synthetic glycerol

酒精发酵过程中产生甘油的原因较多: (1)初始还原糖较高, 酵母为了缓解糖对本身的渗透压, 分泌甘油来平衡; (2)酵母数较高; (3)在亚硫酸氢钠的存在下, 会产生较多的甘油; (4)温度和 pH 较高产甘油较多。甘油主要途径在酒精发酵的前期产生的, 途径为: 葡萄糖→1、6 二磷酸果糖→磷酸二氢丙酮→3-磷酸甘油→甘油^[11-13]。

环氧氯丙烷蒸气对呼吸道有强烈刺激性, 反复和长时间吸入能引起肺、肝和肾损害。高浓度吸入致中枢神经系统抑制可致死。蒸气对眼有强烈刺激性, 液体可致眼灼伤。皮肤直接接触液体可致灼伤。口服引起肝、肾损害, 可致死。长期少量吸入可出现神经衰弱综合征和周围神经病变。动物实验证明其有潜在致癌作用^[14-16]。根据 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》规定, 环氧氯丙烷不是食品添加剂, 严禁在食品中添加。并且其作为一种中毒性的潜在致癌物, 监控其在食品中含量也是十分必要的。

固态法发酵的各种香型白酒, 按照各个香型酒的国家标准的规定^[17-22], 是严禁在香型酒里添加非白酒发酵产生的呈香呈味物质的。对比甘油合成原理和白酒天然发酵过程中产生甘油的原理, 发现环氧氯丙烷可作为判定甘油是否为天然发酵过程中产生的依据之一, 因此测定白酒中的环氧氯丙烷含量, 对于判断生产企业的香型白酒是否违规添加合成甘油的确是有指导意义的。

目前国内仅有少量对白酒中添加甘油研究的报道, 但未见有对白酒中的环氧氯丙烷研究的报道, 而且国家标准中无检测方法。本研究主要目的是通过检测白酒中环氧氯丙烷含量, 并由此判断白酒中是否添加了人工合成甘油。本研究填补了白酒中环氧氯丙烷研究的空白, 并丰富了白酒中添加甘油的检测手段, 以期为今后监测白酒中甘油和环氧氯丙烷提供理论依据和技术支持。

2 材料和方法

2.1 材料与试剂

浓香型白酒(市售); 二氯甲烷(色谱纯, 美国 Fisher 公

司); 氢氧化钠、氯化钠(分析纯, 西陇化工股份有限公司); 环氧氯丙烷(1 mL, 98.8%, 北京 Manhage 公司); 超纯水(实验室自制)。

2.2 仪器与设备

DSQ II 气相色谱-质谱联用仪(配 EI 源, 美国赛默飞公司); DB-624ms 毛细管柱(30 m×320 μm, 0.25 μm)(美国安捷伦科技); Syncore Analyst 多样品平行蒸发定量浓缩仪(瑞士 BUCHI 公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 标准溶液的配制

环氧氯丙烷标准储备液(1 mg/mL)的配制: 准确称取 100 mg, 用二氯甲烷溶解并定容至 100 mL。

环氧氯丙烷标准中间液(10 μg/mL)的配制: 准确吸取 1000 μL, 用二氯甲烷定容至 100 mL。

2.3.2 色谱条件

色谱柱: DB-624ms(30 m×320 μm, 0.25 μm); 载气: 高纯氮; 载气流速: 1.0 mL/min。分流比: 不分流; 进样器温度: 280 °C; 电子轰击离子源; 电子能量 70 eV; 传输线温度: 300 °C; 质谱检测器温度 280 °C; 进样量: 1.0 μL。采用选择离子(selected ion monitoring, SIM)模式, 选择 $m/z=57$ 为定量离子, $m/z=62$ 和 $m/z=42$ 为定性离子, 溶剂延迟时间 5 min。柱温: 按照表 1。

表 1 升温程序

Table 1 Heating procedure

升温速率/(°C/min)	柱温/°C	保持时间/min
	40	6
40	280	1

2.3.3 样品前处理

准确量取 200 mL 白酒样品。置于 250 mL 分液漏斗中, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 7, 加入 20 mL 二氯甲烷萃取, 振荡提取 3 min, 静置分层(如果有乳化现象产生, 可往溶液中加入氯化钠 3 g, 振摇后静置分层), 收集二氯甲烷层至另一个 250 mL 分液漏斗中, 重复以上步骤 3 次。合并二氯甲烷层后, 加入 100 mL 超纯水, 振荡 3 min, 静置分层, 收集二氯甲烷层, 重复 3 次。将二氯甲烷层转移至平行蒸发瓶中, 40 °C 水浴浓缩至近干, 用二氯甲烷定容至 5 mL。供气相色谱质谱联用仪(gas chromatography-mass spectrometer, GC-MS)测定。

3 结果与分析

3.1 仪器选择的优化

本实验初期设计用 2 种不同仪器(气相色谱仪和气相色谱质谱联用仪)对白酒中环氧氯丙烷进行测定, 经过实

验,发现虽然环氧氯丙烷在气相色谱仪中有很好的峰形与响应,但在实际样品测定时,因白酒基质中存在大量的醇类、酯类、醛类等化合物,环氧氯丙烷与这些化合物中的某些物质(如:正丙醇、异丙醇、乙酸乙酯、叔戊醇)无法通过色谱柱进行有效的分离,导致样品的假阳性率升高。环氧氯丙烷标准品与样品在气相的色谱图见图2与图3。

如图3所见,在6.848 min到7.789 min,这段时间内有较多化合物的保留时间在此时间段内,比如:乙酸乙酯、正丙醇、异丙醇、叔戊醇、环氧氯丙烷。因此,只通过色谱柱不能将这些化合物进行有效分离。

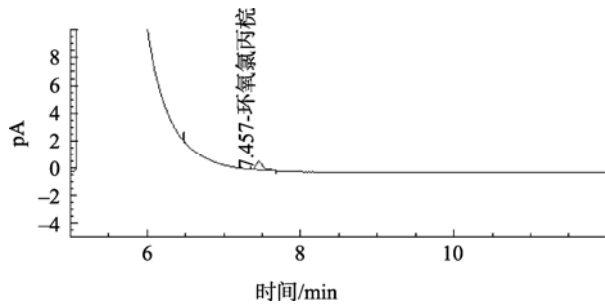


图2 环氧氯丙烷标准品的气相色谱图

Fig.2 Gas chromatogram of standard epichlorohydrin

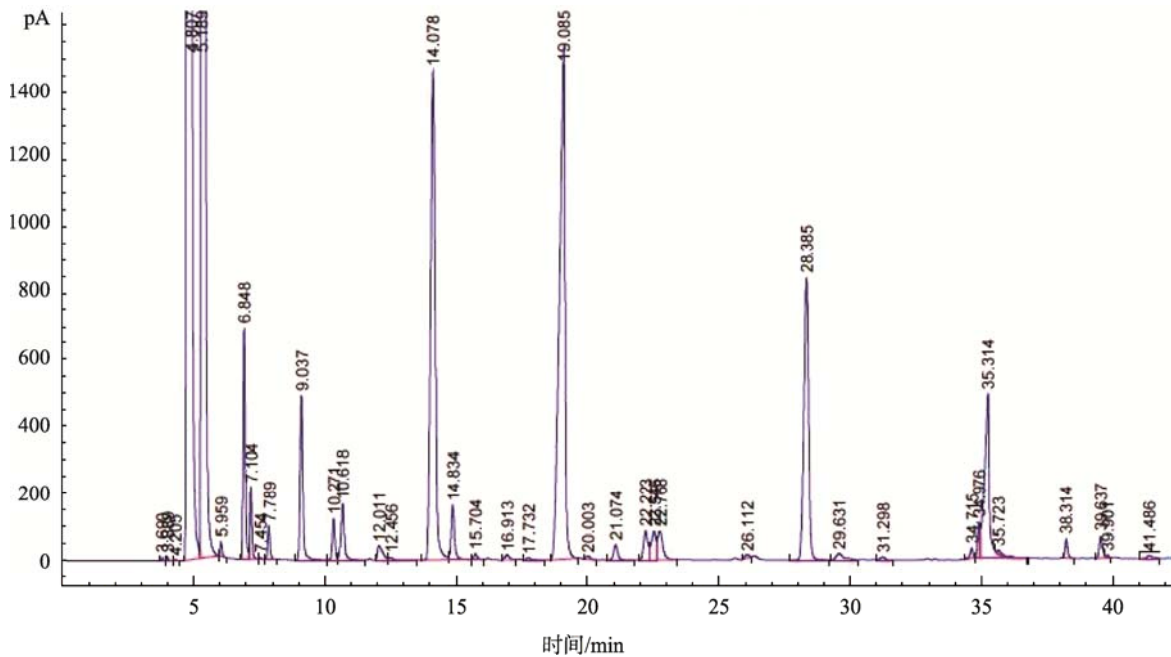


图3 白酒样品的气相色谱图

Fig.3 Gas chromatography of liquor samples

3.2 净化条件的优化

在实验过程中发现,如果环氧氯丙烷提取后不经水洗,由于样品中乙醇含量过高,二氯甲烷层会有少量乙醇溶解于其中,会致使后面浓缩时,环氧氯丙烷先于乙醇被蒸馏出,导致最终结果无回收;经优化,水洗3次后,回收率最好,而随着水洗次数的增加,环氧氯丙烷的回收率会缓慢下降。其潜在原因为:环氧氯丙烷在水相与有机相中是动态平衡,过多的水洗次数,会缓慢带走有机相内溶解的环氧氯丙烷,导致回收率下降。水洗实验重复次数为4次时,回收率与水洗次数关系如图4。

3.3 线性关系与定量限

用环氧氯丙烷标准中间液准确配制标准溶液,浓度分别为0.50、1.00、2.00、5.00、10.00 $\mu\text{g/mL}$,上GC-MS进行分析,以标准溶液的浓度为横坐标,定量离子对的峰面积为纵坐标做标准曲线,获得良好的线性关系

($Y=3700570X+109614$, $r^2=0.9997$),其相关系数大于0.99。本方法采用空白基质进行加标实验,以其定量离子色谱峰的信噪比(S/N) ≥ 3 确定检出限为1.00 $\mu\text{g/L}$ 。标准溶液质谱图、基质空白的谱图和加标后的谱图见图5~7。

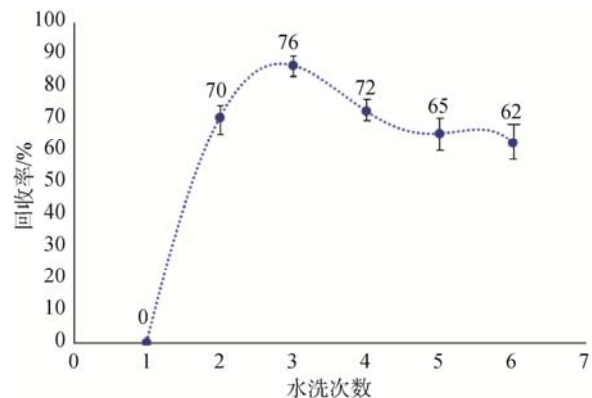


图4 水洗次对回收率的影响($n=4$)

Fig.4 The influence of washing times on the recovery rate ($n=4$)

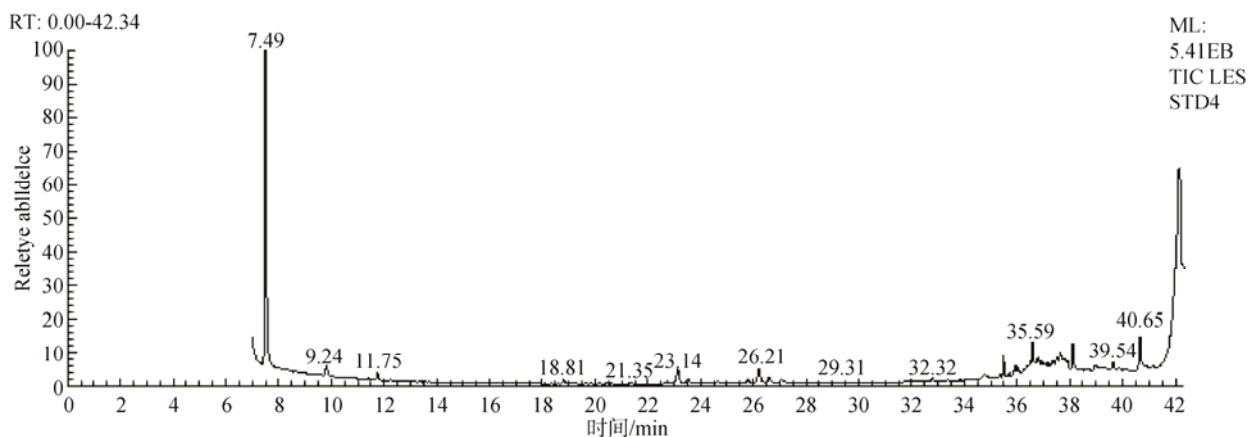


图 5 标准溶液的谱图

Fig.5 Mass chromatogram of standard solution

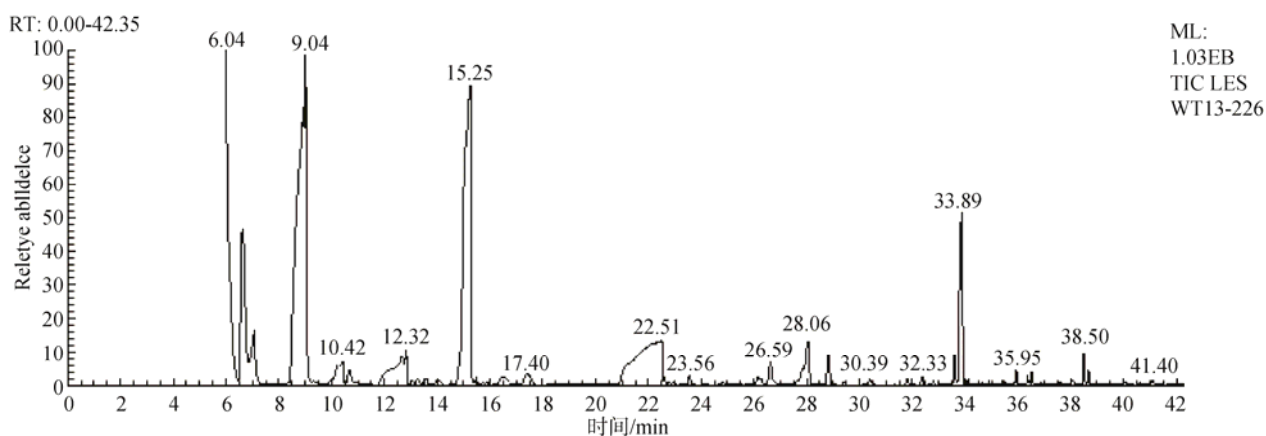


图 6 白酒空白基质的谱图

Fig.6 Mass chromatogram of liquor substrate

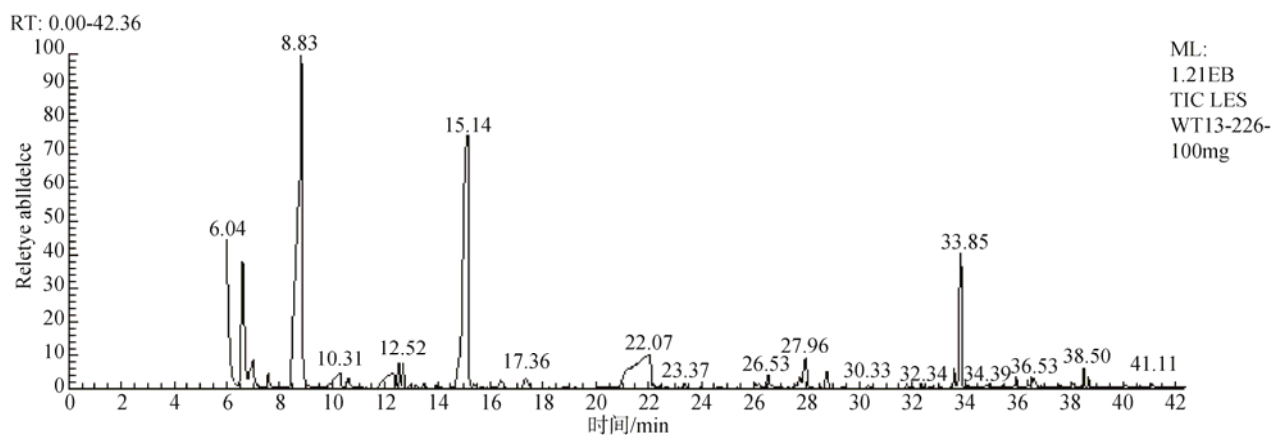


图 7 白酒基质加标后的谱图

Fig.7 Mass chromatogram of liquor substrate after adding standard

通过图 5~7 可见, 环氧氯丙烷标样保留时间为 7.48 min, 空白基质在此时间无响应, 空白基质加标样在此时间亦有良好响应。

3.4 方法重现性与加标回收率实验

为考察方法的准确度, 在相应线性范围内进行白酒基质中低、中、高(1、20、100 $\mu\text{g/L}$)3 个水平的添加回收

率实验。取同一份白酒样品,进行样品加标回收实验,每个水平测定6次,在3个浓度添加下加标回收率分别为75.5%、80.3%、89.0%,精密度分别为5.23%、3.33%、2.14%,检出限为1.0 μg/L。白酒基质中环氧氯丙烷的保留时间为7.50 min、相关线性方程为 $Y=3700570X+109614$, $r^2=0.9997$ 。

4 结论

本实验建立了一种基于GC-MS技术的白酒中环氧氯丙烷的检测方法。将此方法应用于实际白酒中环氧氯丙烷的检测,具有指导作用和实际意义,并可作为白酒中添加人工合成甘油的辅助检测手段。

参考文献

- [1] 王效山,李端.酒精饮料中加入甘油的作用研究[J].食品科学,1988,(1):30-31.
Wang XS, Li D. Study on the effects of glycerol in alcoholic beverages [J]. Food Sci, 1988, (1): 30-31.
- [2] 稳定同位素质谱技术在酒行业的应用[N].华夏酒报,2015,C48:1-3.
Application of stable isotopic ratio mass spectrometry in wine industry [N]. Huaxia Wine Newspaper, 2015, C48: 1-3.
- [3] 杨会.白酒中不挥发呈味有机酸和多羟基化合物研究[D].无锡:江南大学,2017.
Yang H. Characterization of non-volatile gustatory organic acids and polyhydroxy compounds in Chinese liquors [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017.
- [4] 徐扬.几种酵母酒精及甘油等生成动力学研究[D].大连:大连工业大学,2011.
Xu Y. Production kinetics of alcohol and glycerin in several yeasts [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2011.
- [5] 张国英,郭忠鹏,张梁,等.甘油代谢对酿酒酵母酒精发酵的影响[J].酿酒科技,2008,8(170):20-24.
Zhang GY, Guo ZP, Zhang L, et al. Effects of glycerol metabolism on ethanol fermentation by industrial *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2008, 8(170): 20-24.
- [6] Christoph R, Schmidt B, Steinberner U, et al. Ullmann's encyclopedia of industrial chemistry [Z]. 2006.
- [7] 王军,杨鸿,张孟瑶.环氧氯丙烷下游产品生产现状及市场前景[J].氯碱工业,2004,(2):28-31.
Wang J, Yang H, Zhang MY. Present production situation and market prospects of epichlorohydrin downstream products [J]. Chlor-Alkali Ind, 2004, (2): 28-31.
- [8] 楼亨达.合成甘油工艺路线的探讨[J].化学世界,1964,(7):301-303.
Lou HD. Discussion on the process route of synthetic glycerine [J]. Chem World, 1964, (7): 301-303.
- [9] Eric J, Walter HC, Neumann. Glycerine a key cosmetic ingredient [M]. New York: Routledge, 2018.
- [10] 沈伟.甘油的生产应用现状及技术开发新进展[J].广州化工,2009,37(6):62-67.
Shen W. Production and application of glycerol and its new utilization [J]. Guangzhou Chem Ind, 2009, 37(6): 62-67.
- [11] 朱济义,杜金华,王秀菊,等.葡萄酒中甘油的生成及其影响因素[J].酿酒,2010,37(2):23-27.
Zhu JY, Du JH, Wang XJ, et al. Glycerin formation in wine and its influencing factors [J]. Liquor Mak, 2010, 37(2): 23-27.
- [12] 王宏华,蒋爱英,刘振胜.啤酒酿造过程中甘油的变化规律[J].酿酒科技,2015,2(248):62-64.
Wang HH, Jiang AY, Liu ZS. The change rules of glycerol content in beer brewing [J]. Liquor-Making Sci Technol, 2015, 2(248): 62-64.
- [13] 大森俊郎,小川清.大麦烧酒醒中甘油的来源及其构成[J].酿酒科技,1995,6(72):82.
Dasen JL, Xiao CQ. Origin and composition of glycerin in barley waking [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 1995, 6(72): 82.
- [14] 孙筱萍,袁雅文.固相萃取-气相色谱质谱法测定水中环氧氯丙烷[J].河南预防医学杂志,2018,29(9):669-670
Sun XP, Yuan YW. Determination of epichloropropane in water by solid phase extraction-gas chromatography [J]. Henan J Prev Med, 2018, 29(9): 669-670.
- [15] 李旭霞.液液萃取-气相色谱法测定水中环氧氯丙烷[J].能源与环境,2018,(3):77-78.
Li XX. Determination of epichloropropane in water by liquid extraction and gas chromatography [J]. Energy Environ, 2018, (3): 77-78.
- [16] 甘平胜,黄聪,朱惠扬,等.吹扫捕集/三重四极串联四极杆气质联用法测定饮用水中环氧氯丙烷[J].华南预防医学,2015,41(5):477-478.
Gan PS, Huang C, Zhu HY, et al. Determination of epichlorohydrin in drinking water by purge-trap/triple quadrupole tandem quadrupole gas chromatography-mass spectrometry [J]. South China J Prev Med, 2015, 41(5): 477-478.
- [17] GB/T 10781.1-2006 浓香型白酒[S].
GB/T 10781.1-2006 Strong flavour Chinese spirits [S].
- [18] GB/T 10781.2-2006 清香型白酒[S].
GB/T 10781.2-2006 Mild flavour Chinese spirits [S].
- [19] GB/T 10781.3-2006 米香型白酒[S].
GB/T 10781.3-2006 Rice flavour Chinese spirits [S].
- [20] GB/T 20823-2017 特香型白酒[S].
GB/T 20823-2017 Te xiang xin Chinese spirits [S].
- [21] GB/T 23547-2009 浓酱兼香型白酒[S].
GB/T 23547-2009 Nongjiang-flavour Chinese spirits [S].
- [22] GB/T 26760-2011 酱香型白酒[S].
GB/T 26760-2011 Jiang- flavour Chinese spirits [S].

(责任编辑:武英华)

作者简介



朱作为,工程师,主要研究方向为食品检验和研究。
E-mail: 645233198@qq.com