



评述

食品安全检测新技术与新方法专刊

衍生化技术在食品安全色谱分析中的应用

罗夏琳, 李攻科*, 胡玉斐*

中山大学化学与化学工程学院, 广州 510275

*通讯作者, E-mail: cesgkl@mail.sysu.edu.cn; huyufei@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2015-10-06; 接受日期: 2015-10-30; 网络版发表日期: 2016-01-18

国家重大科学仪器设备开发专项(编号: 2011YQ0301240901)、国家自然科学基金(编号: 21127008, 91232703, 21575167)、广东省自然科学基金(编号: 2015A030311020)和广东省公益研究与能力建设专项(编号: 2015A030401036)资助项目

摘要 近年来, 食品安全问题已成为全球关注的焦点, 色谱作为最常用的分析手段被广泛地应用于食品安全检测. 然而, 色谱方法在检测一些分子量小、极性高、挥发性差、热不稳定、生色基团少的分析物时会遇到检测响应值低、柱上保留时间短等问题, 衍生化技术是克服这些问题的常用手段. 本文主要介绍食品安全分析中常用衍生化试剂的使用选择和衍生化方法的建立以及衍生化技术在色谱检测食品中真菌毒素、非法添加剂、农兽药残留等物质的应用.

关键词 衍生化技术, 色谱分析, 食品安全

1 引言

随着经济发展, 人民生活水平不断提高, 食品安全已成为人们关注的焦点. 然而, 近年来环境污染、添加剂滥用、农兽残留超标、储藏不当等因素引发了各种食品安全问题, 因此建立快速准确的食品检测方法对加强食品安全监控具有重要意义. 高效液相色谱(HPLC)以及气相色谱(GC)是食品安全检测中最常用的分析方法, 已广泛用于非法添加剂、农兽药残留、生物毒素等食品安全项目的检验中. GC虽然具有分离能力强、灵敏度高、分析速度快、操作方便等优点, 但是受分离柱使用条件(一般低于 300℃)的限制, 一些沸点过高的物质或热稳定性差的物质需要衍生化转化为低沸点或热稳定性良好的待测物. HPLC 常使用反相色谱模式, 然而食品安全检测项目中的一

些强极性的化合物如生物胺、三聚氰胺等化合物却无法在反相柱上得到保留^[1,2], 采用亲水色谱柱虽然可以改善这些极性待测物的分离效果, 但亲水色谱柱价格昂贵, 因此最常使用的方法是对化合物进行衍生. 此外, 对于食品安全分析中一些发色团较少且含量低的待测物, HPLC 常用的紫外(UV)和荧光(FL)检测器由于灵敏度低而无法达到检测要求, 对这类目标物进行衍生化可以提高 HPLC-UV(FL)检测灵敏度, 达到检测要求. 在色谱检测中对分析物进行衍生化的主要目的有如下几个方面: (1) 改善挥发性, 提高热稳定性, 利于 GC 检测; (2) 降低极性, 利于反相色谱分离; (3) 增强检测的灵敏度; (4) 提高萃取回收率; (5) 去除杂质, 消除干扰等. 总之, 发展衍生化技术于食品安全分析领域中的应用具有重要的意义.

引用格式: 罗夏琳, 李攻科, 胡玉斐. 衍生化技术在食品安全色谱分析中的应用. 中国科学: 化学, 2016, 46: 243–250

Luo XL, Li GK, Hu YF. The application of derivatization techniques in chromatographic analysis of food security. *Sci Sin Chem*, 2016, 46: 243–250, doi: 10.1360/N032015-00204

2 衍生化试剂

衍生化是通过化学反应将难于分析检测的化合物转化为另一种易于分析检测的化合物的一种技术. 需要被衍生的目标物至少含有一种活性基团, 如羟基、羧基、氨基、羰基等. 衍生化试剂通常可以分为硅烷化试剂、酰基化试剂、烷基化试剂等, 表 1 列举了一些常用的衍生化试剂. 硅烷化试剂能置换羟基、氨基等官能团上的活性氢, 形成烷基硅烷基产物. 活性氢被硅烷基取代后降低了化合物的极性, 形成的硅烷化衍生物更容易挥发、热稳定性也得以加强, 此类衍生化试剂在气相色谱中应用广泛^[3]. 其缺点是硅烷化衍生试剂对湿气很敏感, 因此可以使用管内硅烷衍生化^[4]或酰基化衍生方法替代^[5-7]. 酰基化衍生试剂主要通过羧酸或共衍生物的作用将官能团转化为相应的酯或酰胺, 当酰化引入含有卤离子的羰基基团时可提高电子捕获检测器(ECD)对目标分析物的检测灵敏度^[8]. 烷基化衍生试剂是将烷基官能团添加到活性官能团上, 常用的烷基化试剂有重氮甲烷、季铵盐、烷基卤化物等.

传统的衍生化试剂种类很多, 用途广泛, 但其在实际应用中仍存在缺陷, 因此, 开发新型衍生化试剂仍是近年来的研究热点. 目前, 新型衍生试剂的开发主要基于以下 4 个目的:

(1) 增强衍生试剂的稳定性. 一些衍生化试剂在水溶液中不稳定. 例如, 气相-质谱联用(GC-MS)检测烷基磷酸时常使用的硅烷化、甲基化试剂在衍生过程中对水异常敏感, 衍生化产物稳定性差, Nyholm 等^[9]合成的新型的衍生试剂 3-吡啶重氮甲烷可解决这类问题. Nakano 等^[10]合成了一种柱前衍生化试剂 2-氯-4-甲氧基-6-(4-(苄-4-基)丁氧基)-1,3,5-三嗪(CMPT), 衍生日本酱油里的组胺, 该衍生化试剂化

学稳定, 在二甲基甲酰胺(DMF)溶液中亦可保持活性长达 36 d.

(2) 提高衍生反应的选择性, 降低杂质对目标物的干扰. 衍生化反应最大的一个优点是可以根据官能团的选择性不同而选择性地衍生, 然而一些传统的衍生化试剂适用范围较广, 可同时与氨基、羟基等活性氢反应, 选择性较差, 合成新型具有高选择性的衍生化试剂可以减少色谱杂峰, 有利于定性定量分析. Caban 等^[11]合成了一种新型的硅烷化试剂——二甲基(3,3,3-三氟丙基)硅烷基二乙胺用于检测药物中微量的 β -受体阻滞剂和 β -受体激动剂. 相比于双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)等传统的硅烷化试剂, 此新型试剂具有较强的亲核性, 能够提高与羟基反应的选择性.

(3) 加快反应速度, 缩短衍生化时间. 快速检测是分析领域所追求的目标之一, 但是部分衍生化反应耗时较长. 例如, 用 2-硝基苯甲醛衍生氨基胍时需将混合液置于 37℃恒温水浴振荡器中避光振荡反应 16 h^[12], 合成反应活性较高的衍生化试剂是解决该问题的方法之一. Shimbo 等^[13]合成了一种新型的衍生试剂(3-氨基吡啶-*N*-羟基琥珀酰亚胺基氨基甲酸酯), 实现了对生物液体样品中 100 多种带氨基基团的化合物, 包括氨基酸的衍生. 该衍生试剂的活性较高, 在室温条件下 1 s 内即可与带氨基基团的化合物发生反应, 有效克服了衍生化反应耗时较长的问题, 从而显著地加快了整个色谱分析的进程.

(4) 提高检测灵敏度. 液相色谱中荧光和质谱检测器的灵敏度比紫外检测器的灵敏度高出几个数量级, 特别适合痕量分析. 开发新型的衍生试剂增强荧光和质谱检测器的信号响应也是近年来的研究热点之一. 赵怀鑫等^[14]合成了新型荧光标记试剂 10-乙基吡啶酮-2-磺酰氯(EASC), 并采用 EASC 柱前衍生化

表 1 常用衍生化试剂

目标物	目标物官能团	衍生试剂	反应原理	文献
氯丙醇、氯酚类、双酚 A、烷基酚、氨基酸	-OH	苯硼酸	硼烷化反应	[15]
		醋酸酐、七氟丁基咪唑(HFBI)、Dns-Cl	酰化反应	[8,16,17]
		BSTFA、 <i>N</i> -甲基- <i>N</i> -(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(MSTFA)	硅烷化反应	[3,4,18]
甲醛、鞣酐、2-烷基环丁酮	R(H)-C=O	2,4-二硝基苯肼(DNPH)	生成腙	[19,20]
		羟胺	肟化反应	[21,22]
生物胺、杂环胺、 <i>N</i> -甲基氨基甲酸酯类	-NH ₂	邻苯二甲醛(OPA)、2,3-萘二甲醛	希夫碱反应	[23,24]
		BSTFA	硅烷化反应	[25]
		苯甲酰氯、氯甲酸异丁酯、Dns-Cl	酰化反应	[26-29]

方法实现了对雌二醇和雌三醇的 HPLC-FL 分析及柱后 MS 鉴定. 与常用的衍生化试剂丹磺酰氯(Dns-Cl)相比, EASC 对于荧光和质谱检测具有更高的灵敏度, 其荧光发光强度是 Dns-Cl 的 1000 多倍.

3 衍生化方法

衍生化反应按时间先后顺序可分为柱前衍生化和柱后衍生化, 按衍生化反应发生在色谱分离之前称柱前衍生化, 发生在色谱分析之后称柱后衍生化. 柱后衍生化需要额外的装置在分离柱与检测器中间营造一个小型的反应通道. 柱后衍生化通常与色谱在线联用, 要求衍生反应速度足够快, 因此对衍生试剂和反应的条件要求较高, Duval 等^[30]通过在 HPLC 仪器流路上的搭建实现了对硼酸化合物的在线衍生化.

柱前衍生化法具有衍生化效率高, 可选择衍生化试剂较多, 可与多种样品前处理手段联用, 应用范围较广等优点, 并且可以采用超声^[31]、微波^[32]等场辅助手段提高衍生反应效率、缩短反应时间. Casals 等^[33]采用微波加热的方法成功地对 36 种类固醇化合物进行衍生, 反应时间仅需 3 min, 而通过传统加热法进行衍生通常需要 16 h, 此外该方法与经典的加热衍生相比衍生化效率相当. 固相微萃取(SPME)、液相微萃取(LPME)等样品前处理方法具有溶剂耗量少、成本低廉等优点. 将柱前衍生化技术与这些新型样品前处理方法联用有助于衍生化技术向环保、绿色方向发展.

SPME 通常与 GC 联用, 常用的 SPME 衍生化方法可分为 3 种: (1) 在样品基体中衍生化, 即将衍生化试剂加入样品基体中, 反应完成后, 再用 SPME 萃取; (2) 在纤维涂层中衍生化, 即将待分析物和衍生化试剂萃取到 SPME 涂层中进行衍生化反

应, 该方法可以避免样品基体对衍生化的影响; (3) 在 GC 进样口处衍生化, 即将衍生化试剂和目标物通过 SPME 萃取在进样口处借助高温无水条件发生衍生化反应. 相对而言, SPME 在液相色谱的应用没有气相广泛, SPME 衍生化前处理方法与液相联用的报道更是少见. 李攻科课题组^[34]开展了固相微萃取-衍生化-高效液相色谱法(SPME-DE-HPLC)测定油菜、向日葵花粉样品中的内源性 24-表油菜素内酯(24-epiBL), 24-epiBL 通过 9-菲硼酸衍生后能够使用荧光检测器进行分析, 检出限低至 0.13 $\mu\text{g/L}$. 此外, 该课题组^[35]还建立了分子印迹毛细管柱微萃取-衍生化-分步聚焦-超高效液相色谱(MIP-SPME-DE-FSS-UPLC)在线分析方法, 可应用于蚕豆花粉、菜心花朵和玉米种子中痕量 24-epiBL 的检测, 检出限为 0.7 ng/L. MIP-SPME-DE-FSS-UPLC 联用装置如图 1 所示, 该装置通过六通阀的切换即可实现在线样、萃取、衍生、解吸等步骤, 由于经过 MIP 柱固相微萃取后直接进入色谱分析减少前处理过程中对目标物带来的损失.

液相微萃取包括分散液液微萃取(DLLME)、单滴微萃取(SDME)、中空纤维液相微萃取(HF-LPME)等, 这类样品前处理方法集萃取、净化、浓缩于一体, 具有溶剂耗量少、成本低廉、操作便捷和灵敏度高的特点. 衍生化技术与液相微萃取结合可以同时完成萃取、富集、衍生化步骤, 简化实验步骤, 节约衍生化试剂. Yin 等^[36]将单滴微萃取衍生化技术与基质辅助激光解吸-傅里叶变换离子回旋共振质谱(MALDI-FTMS)方法结合, 建立了一种烟气中甲醛和丙烯醛的分析方法, 该方法具有快速、简单、溶剂试剂用量少等特点. Yazdi 等^[37]结合衍生化技术, 同时萃取与衍生目标物, 建立了一种 HF-LPME 法用于牛

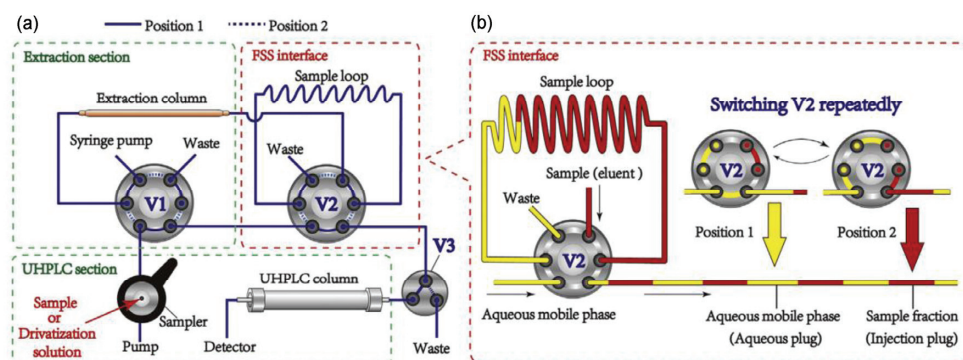


图 1 MIP-SPME-DE-FSS-UPLC 联用装置示意图(a)以及分步聚焦进样方式(b)^[35]

奶中碘化物的检测, 该方法简单、经济环保、灵敏度高、易操作. Mudiam 等^[38]采用超声辅助 DLLME 衍生化前处理方法与 GC-MS 结合, 实现了对头发、尿液及黄豆种子中的 20 种氨基酸的检测. 该方法由于超声场的使用, 同时加快了萃取和衍生化进程, 有效地提高了衍生化效率.

4 衍生化技术在食品安全检测方面的应用

食品与人类的身体健康有着密不可分的关系, 近年来由于环境污染、添加剂滥用、农兽残留超标、储藏不当等因素, 食品安全问题受到了国内外高度重视. 色谱技术已成为检测食品中有毒有害物质的主要手段. 然而, 食品样品的基体十分复杂, 待分析物的种类繁多, 当分析物的理化性质(如沸点、极性、热稳定性、吸光性)不利于色谱分离检测时, 通常采用衍生化技术将其通过化学反应定量地转化成易于分析检测的化合物, 并且通过对衍生产物的定性和定量分析间接达到对目标化合物的检测目的.

4.1 真菌毒素

真菌毒素是真菌在食品或饲料里生长所产生的代谢产物, 对人类和动物都有害, 常见的真菌毒素为黄曲霉毒素. 薄层色谱(TLC)、高效液相色谱法和酶联免疫吸附检测法(ELISA)被广泛用于黄曲霉毒素的分析中, 其中 TLC 法虽然是美国分析化学家协会的官方分析方法, 但是准确度不够, 无法达到对黄曲霉毒素的定量检测要求, 而 ELISA 分析方法虽然能实现快速检测但是定性不准, 会出现假阳性结果, 目前最常使用的方法是 HPLC-FL 法^[39]. 黄曲霉毒素 M1 (AFM1)为黄曲霉毒素 B1 的代谢物, 常存在于牛奶和奶制品中, 对人体有致癌作用. 黄曲霉毒素 M1 本身具有荧光响应, 可以不进行衍生直接采用 HPLC-FL 进行检测, 但灵敏度较低, 为了增强荧光响应值, 提高检测灵敏度, 常采用三氟乙酸(TFA)或者溴化物进行衍生. Manetta 等^[39]采用氢溴酸吡啶过溴化物对 AFM1 进行柱后荧光衍生, 成功地检测出牛奶和奶酪中 AFM1 的含量, 检出限分别为 1 和 5 ng/kg, 低于欧盟规定牛奶中的最大残留限量 50 ng/kg. Lee 等^[40]使用 TFA 为衍生试剂, 在酸性条件下将 AFM1 水解为具有高荧光强度的半缩醛化合物, 并结合 HPLC-FL 对冰淇淋和奶粉样品进行检测.

伏马菌素也是一种真菌毒素, 主要是由串珠镰刀菌和多育镰刀菌产生, 其中伏马菌素 B1 和伏马菌素 B2 是主要的污染物, 通常存在于小麦、玉米、大米等粮食中, 由于伏马菌素具有致癌性, 目前已被世界卫生组织的癌症研究机构划定为 2B 类致癌物^[41]. 伏马菌素既没有紫外吸收也不含荧光基团, 国内外报道的方法中应用最多的是使用 OPA 衍生化试剂对其衍生后结合 HPLC-FL 进行检测^[41,42].

4.2 非法添加剂

目前已报道的食品安全事件中部分是由不法商家为追求更高利益, 违法添加非食用物质引起的. 例如, 三聚氰胺原本是一种化工原料, 由于其含氮量丰富被非法添加到奶制品中提高蛋白质的检测含量. 目前已报道的三聚氰胺常用检测方法有 HPLC-UV、液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)、GC-MS 等. 由于三聚氰胺极性较强且不具有挥发性, 使用 GC-MS 检测时需使用衍生化试剂进行衍生. Zhang 等^[43]采用 BSTFA (包含 1%三甲基氯硅烷)对三聚氰胺进行微波辅助衍生, 并结合 GC-MS 建立了一种快速灵敏分析方法检测水产品中的三聚氰胺, 该方法中采用了微波辅助衍生, 衍生化反应时间仅需 1 min, 检出限低至 0.006 mg/kg. 此外, 2014 年 Zhang 等^[44]首次提出柱前荧光衍生-HPLC-FL 法对三聚氰胺进行检测. 三聚氰胺与荧光衍生试剂 10-甲基-吡啶酮-2-磺酰氯反应后生成的衍生产物具有较高的荧光响应, 检出限低至 0.40 µg/L.

甲醛是细胞原浆毒物, 对人体细胞功能损害较大, 甚至可能致癌, 近年来一些不法商贩将甲醛作为防腐剂加入饮料、米面制品、水发海产品等食品中. 甲醛分子太小, 不利于 GC 色谱柱保留, 并且极性较大、无紫外吸收, 也无法使用 HPLC 直接进行检测. 因此, 食品中甲醛的测定一般采用 DNPH 将其衍生^[45,46], 再使用 HPLC-UV 进行检测.

4.3 农兽药残留

农药和兽药在防治动植物疾病、提高生产效率、改善产品质量等方面起着重要的作用, 然而食品中的农兽药残留过高可引发人体慢性、急性中毒, 危害人们的健康, 农兽药残留的检测是食品安全检测的关注焦点. *N*-甲基氨基甲酸酯类农药(NMCs)是一种有机合成农药杀虫剂被广泛应用于蔬菜、水果、粮食

的病虫害防治. 由于氨基甲酸酯类农药一般热稳定性差, 使用 GC 直接测定时会造成分解, 并且大多数 NMCs 紫外吸收较弱, 因此 Caballo-Lopez 等^[29]采用了柱后荧光衍生的方法结合高效液相色谱-荧光检测器对土壤和食品中的 *N*-甲基氨基甲酸酯类农药进行定量分析, 该方法在食品中的回收率为 50%~101%, 检出限为 12 ng/g.

阿维菌素、多拉菌素、伊维菌素和莫西菌素属于大环内酯类抗生素, 具有杀虫活性高、杀虫谱广等特点, 可用作治疗牛胃肠中的道线虫、蛔虫、蝇蛆病等抗寄生虫的药物, 并且能作为水稻、小麦、蔬菜等农作物的杀虫剂. 国际食品法典委员会规定: 阿维菌素、伊维菌素、多拉菌素、埃普利诺菌素在食品中允许的最大残留量分别为 5、10、15 和 20 $\mu\text{g/L}$. 由于该类物质分子量大, 不易气化, 因此无法直接用 GC 进行检测, 最常使用的检测方法是采用荧光衍生试剂将其衍生化后结合 HPLC-FL 进行检测. Macedo 等^[47]建立了柱前衍生-HPLC-FL 法同时检测黄油中的阿维菌素、多拉菌素、伊维菌素和莫西菌素, 衍生化试剂为三乙胺(TEA)、三氟乙酸酐(TFAA)和 TFA 的混合液; Furlani 等^[48]采用 *N*-甲基咪唑与三氟乙酸酐为衍生化试剂结合 HPLC-FL 检测牛奶和酸奶中的立诺克丁、多拉菌素、莫西菌素、阿维菌素和伊维菌素. 多粘菌素 E 属于多肽类抗生素, 具有抗感染和促生长的作用, 作为兽药广泛使用. 大量使用多粘菌素 E 时会残留在动物体内并通过肉、蛋、奶等动物源性食品传递给人类, 对人类的肾及神经系统有一定毒性. 多粘菌素 E 可以用 HPLC-UV 直接进行检测, 但是灵敏度较差, 因此通常将它衍生化为具有荧光响应的物质进行检测. Morales-Munoz 等^[49]使用 2-巯基乙醇和邻苯二甲醛为衍生试剂采用在线柱前衍生-HPLC-FL 的方法对饲料中的多粘菌素进行检测.

硝基呋喃类化合物和氟喹诺酮类(FQs)是典型的人工合成类抗菌药物, 在动物中得到了广泛应用. 硝基呋喃及其代谢物被疑为具有致癌和致突变的能力, 因此, 在欧盟等许多国家禁止使用该类药物. 硝基呋喃类化合物容易代谢, 从而使母体药物的浓度迅速下降, 因此通常采用灵敏度较高的质谱检测器进行检测. 然而, 硝基呋喃的代谢物具有较强的极性, 不利于反相色谱分离, 并且离子化效果差质谱信号低, 因此, 硝基呋喃类化合物常用 2-硝基苯甲醛(2-NBA)进行衍生后再由质谱检测. Kaufmann 等^[50]采用

2-NBA 作为衍生化试剂结合超高效液相色谱-高分辨率质谱(UHPLC-HRMS)检测动物源性食品中的硝基呋喃(包括常用的呋喃妥英、呋喃唑酮、呋喃西林、呋喃它酮以及不常使用的硝呋索尔、硝呋烯腙、硝呋齐特硝基呋喃类药物)的残留量, 并且已成功应用于肌肉、肝脏、肾脏、鱼类、蜂蜜、鸡蛋和牛奶样品的检测. Valera-Tarifa 等^[51]建立了超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱同时检测海鲜中的 4 种呋喃类代谢物的分析方法, 该方法在固相萃取步骤时同时完成了盐酸水解、2-NBA 试剂衍生和萃取 3 个步骤, 衍生后的呋喃代谢物检出限为 0.5~0.8 $\mu\text{g/kg}$. FQs 可以不进行衍生直接采用 HPLC-UV 直接进行检测^[52,53], 但是紫外的灵敏度比荧光差, 因此为了提高检测灵敏度、降低检出限, 将目标物衍生化为具有荧光响应的物质进行检测. Xia 等^[54]采用 4-氯-7-硝基苯呋喃(NBD-Cl)荧光衍生检测鸡蛋中的诺氟沙星、环丙沙星、沙拉沙星和加替沙星. Yáñez-Jácome 等^[55]使用氧化铽纳米粒子($\text{Tb}_4\text{O}_7\text{NPs}$)为衍生试剂, HPLC-FL 柱前衍生方法检测牛奶中的马波沙星、环丙沙星、达氟沙星、恩诺沙星、沙拉沙星、恶喹酸和氟甲喹.

五氯苯酚(PCP)及其钠盐作为一种清塘药物曾经大量用于渔业生产中, 然而由于 PCP 在生物体内富集率高, 并且具有毒性强、持久性长、难降解等特点, 已被禁止在水生动物生产中使用. 目前国内的标准检测方法是用醋酸酐对待测物进行衍生并结合 GC-ECD 进行检测. Zhao^[56]采用加速溶剂萃取技术用甲醇-2%三氯乙酸(3:1, v/v)萃取, 醋酸酐-吡啶(1:1, v/v)为衍生化试剂, 并使用 GC-ECD 和 GC-MS 定性定量检测猪肝和鱼肉样品中的 PCP.

4.4 其他

食品安全问题来源除了真菌毒素、非法添加以及农兽药残留外, 食品加工、包装、运输过程中也会产生有害物质, 危害人体健康. 双酚 A (BPA)和烷基酚(APs)是内分泌干扰物, 具有雌激素活性, 是一种典型的外源性雌激素, 可引起精子量减少等生殖功能异常. 这类物质具有较弱的紫外和荧光吸收, 并且离子化效率也不高, 因此直接使用紫外、荧光、质谱检测器无法满足定量要求. Lv 等^[16]采用柱前衍生的方法用磺酰氯类衍生试剂将双酚 A、4-辛基酚、4-壬基酚衍生为具有荧光特性的衍生物, 并结合 HPLC-FL 成功地应用于软饮料和乳制品中检测, 与其他方法

相比具有更高的灵敏度。

氯丙醇具有急、慢性毒性作用、致突变性、致癌性,造成肾脏和生殖系统损伤,是国际公认的食品污染物,其主要来源于酸水解植物蛋白、焦糖色素的不合理使用和生产、饮用水及食品包装材料等。氯丙醇具有较高的极性并且挥发性差,目前主要采用的检测方法是气相色谱法并且必须先进行衍生化处理^[57],常用的衍生化试剂为苯硼酸(PBA)^[15]、HFBI^[58]、七氟丁酸酐(HFBA)等^[59]。Carro 等^[60]采用乙腈为分散剂、HFBI 为衍生化试剂、氯仿为萃取溶剂建立了一种新型超声分散液液微萃取(UA-DLLME)辅助衍生的方法对水及多种饮品中的氯丙醇进行前处理。该方法将萃取、衍生、预富集于一体,具有溶剂消耗少、成本效益高等特点。此外,该研究结合 GC-MS 分别对水、果汁、牛奶和豆奶等样品进行检测,结果表明,部分样品中 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)的浓度高于国际标准。

含高淀粉的食品在高温下加工处理,可能生成具有潜在致癌性的丙烯酰胺。丙烯酰胺是一种有毒化合物,可导致细胞遗传物质 DNA 的损伤,应用色谱方法检测的目标化合物既可以是丙烯酰胺单体也可以是其溴化衍生产物。丙烯酰胺的衍生反应多是利用其分子中双键的化学性质,将其转化为 2,3-二溴丙酰胺,再应用对卤族元素具有灵敏响应的 GC-ECD 进行测定^[61]。也有研究采用吨氢醇与丙烯酰胺进行衍生化反应,衍生产物由 GC-MS 进行分析,该方法已成功运用于薯片和炸薯条样品当中,并且为谷物和面包等样品的检测提供了可行性^[62]。

氨基酸是食品中的正常成分,食品发酵或腐败过程中氨基酸脱去羧基便生成相应的生物胺。消费者通过食品摄入过量的生物胺会引起过敏反应,严重的还会危及生命。目前已证实生物胺存在于包括奶酪^[24,63]、鸡肉^[64]、葡萄酒^[65]、咖啡^[23]、啤酒^[66]等多种食品和饮料中,通常使用传统 HPLC 进行检测。

因为生物胺是一种强极性化合物,并且在可见光或紫外光范围均不具有较强的吸收,也没有荧光性质,衍生化已成为广泛增强灵敏度和选择性的方法^[66,67]。液相中最常用的衍生剂有丹磺酰氯^[26]、苯甲酰氯^[27,64]、2,6-二甲基-4-喹啉羧酸 *N*-羟基琥珀酰亚胺酯^[66,68]、邻苯二甲酐^[23]和 2,3-萘二甲酐^[24]。GC-MS 检测生物胺时可采用氯甲酸异丁酯为衍生化试剂^[28]。

5 总结与展望

衍生化技术是分析化学领域中提高分析方法灵敏度的一种常用手段,衍生化技术结合色谱检测手段在食品安全检测中已得到了广泛的应用,成为食品中化学添加剂、生物毒素、农兽药残留素等有毒有害物质的重要检测方法。为进一步提高色谱的检测灵敏度、提高衍生化效率、缩短反应时间、扩大应用范围,衍生化技术在色谱分析方面的主要研究方向有:(1)开发化学活性高、性能稳定、具有专一选择性的新型衍生化试剂;(2)与固相微萃取、液相微萃取等溶剂耗量少、成本低廉、操作便捷的前处理手段联合使用,从而减少衍生化试剂的使用量,实现萃取衍生一体化进行;(3)使用微波、超声等场辅助手段提高衍生效率,节约反应时间;(4)设计实验装置实现衍生化技术与色谱的在线联用。

此外,近年来表面增强拉曼光谱技术(SERS)、实时直接分析质谱(DART-MS)等快速、易于操作的分析方法逐渐在食品检测方面获得应用^[69,70]。SERS 和 DART-MS 虽然能弥补色谱方法分析时间较长、前处理步骤繁琐等缺陷,但是由于该类方法不具备分离功能,存在严重的基质干扰问题,使其无法在复杂体系中得到广泛应用。在未来的研究中,运用衍生化反应的特异选择性消除基质干扰,将衍生化技术与 SERS、DART-MS 等快检方法结合是发展原位快速检测方法的关键。

参考文献

- 1 Zhong JJ, Liao NB, Ding T, Ye XQ, Liu DH. *J Chromatogr A*, 2015, 1406: 331–336
- 2 Goscinnny S, Hanot V, Halbardier JF, Michelet JY, Van Loco J. *Food Control*, 2011, 22: 226–230
- 3 Jiménez-Martín E, Ruiz J, Pérez-Palacios T, Silva A, Antequera T. *J Agric Food Chem*, 2012, 60: 2456–2463
- 4 Iparraguirre A, Prieto A, Navarro P, Olivares M, Fernández L, Zuloaga O. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 401: 339–352
- 5 Cacho JI, Campillo N, Viñas P, Hernández-Córdoba M. *J Chromatogr A*, 2012, 1247: 146–153
- 6 Viñas P, Campillo N, Martínez-Castillo N, Hernández-Córdoba M. *Anal Bioanal Chem*, 2010, 397: 115–125

- 7 Vinas P, Lopez-Garcia I, Campillo N, Rivas RE, Hernandez-Cordoba M. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 404: 671–678
- 8 De Moraes P, Stoichev T, Basto MCP, Carvalho PN, Vasconcelos MTSD. *Anal Bioanal Chem*, 2011, 399: 2531–2538
- 9 Nyholm JR, Gustafsson T, Östin A. *J Mass Spectrom*, 2013, 48: 813–822
- 10 Nakano T, Todoroki K, Ishii Y, Miyauchi C, Palee A, Min JZ, Inoue K, Suzuki K, Toyo Oka T. *Anal Chim Acta*, 2015, 880: 145–151
- 11 Caban M, Mioduszevska K, Stepnowski P, Kwiatkowski M, Kumirska J. *Anal Chim Acta*, 2013, 782: 75–88
- 12 于慧娟, 李冰, 蔡友琼, 叶芳挺, 台建明, 惠芸华, 徐捷, 冯兵. *分析化学*, 2012: 1530–1535
- 13 Shimbo K, Oonuki T, Yahashi A, Hirayama K, Miyano H. *Rapid Commun Mass*, 2009, 23: 1483–1492
- 14 赵怀鑫, 孙志伟, 夏莲, 孙学军, 索有瑞, 李玉林, 尤进茂. *色谱*, 2009, 27: 164–168
- 15 Sadowska-Rociek A, Cieřlik E. *J Verbr Lebensm*, 2015, 10: 117–122
- 16 Lv T, Zhao XE, Zhu SY, Qu F, Song CH, You JM, Suo YR. *J Sep Sci*, 2014, 37: 2757–2763
- 17 Yang SH, Morgan AA, Nguyen HP, Moore H, Figard BJ, Schug KA. *Environ Toxicol Chem*, 2011, 30: 1243–1251
- 18 Basheer C, Lee HK. *J Chromatogr A*, 2004, 1057: 163–169
- 19 Zwiener C, Glauner T, Frimmel F. *Anal Bioanal Chem*, 2002, 372: 615–621
- 20 Struys EA, Jansen EEW, Gibson KM, Jakobs C. *J Inherit Metab Dis*, 2005, 28: 913–920
- 21 Kushnir MM. *Clin Chem*, 2006, 52: 120–128
- 22 Ye YR, Liu HX, Horvatovich P, Chan W. *J Agric Food Chem*, 2013, 61: 5758–5763
- 23 Da Silveira TML, Tavares É, Glória MBA. *J Food Compos Anal*, 2007, 20: 451–457
- 24 Zotou A, Notou M. *Food Anal Method*, 2012, 403: 1039–1048
- 25 Liu SY, Taylor LT, Borgerding MF, Coleman III WM, Bombick BR. *Beitr Tabakforsch Int*, 2013, 25: 550–562
- 26 Shukla S, Park H, Kim J, Kim M. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48: 1191–1195
- 27 Aflaki F, Ghoulipour V, Saemian N, Sheibani S. *Food Anal Method*, 2014, 7: 713–720
- 28 Almeida C, Fernandes JO, Cunha SC. *Food Control*, 2012, 25: 380–388
- 29 Caballo-Lopez A, Castro DM. *J Chromatogr A*, 2003, 998: 51–59
- 30 Duval F, Wardani P, Zuillhof H, Van BTA. *J Chromatogr A*, 2015, 1417: 57–63
- 31 Orozco-Solano M, Ruiz-Jimenez J, Luque DCMD. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 1227–1235
- 32 Guo JX, Yang SH, Peng XL, Li FY, Zhou L, Pu QS. *RSC Adv*, 2014, 4: 49190–49197
- 33 Casals G, Marcos J, Pozo OJ, Alcaraz J, Martínez DOMJ, Jiménez W. *J Chromatogr B*, 2014, 960: 8–13
- 34 Pan JL, Hu YL, Liang TA, Li GK. *J Chromatogr A*, 2012, 1262: 49–55
- 35 Pan JL, Huang YC, Liu L, Hu YL, Li GK. *J Chromatogr A*, 2013, 1316: 29–36
- 36 Xie JP, Yin J, Sun SH, Xie FW, Zhang X, Guo YL. *Anal Chim Acta*, 2009, 638: 198–201
- 37 Yazdi AS, Yazdinezhad SR, Akhoundzadeh J. *J Iran Chem Soc*, 2013, 10: 643–651
- 38 Mudiam MKR, Ratnasekhar C. *J Chromatogr A*, 2013, 1291: 10–18
- 39 Manetta AC, Di GL, Giammarco M, Fusaro I, Simonella A, Gramenzi A, Formigoni A. *J Chromatogr A*, 2005, 1083: 219–222
- 40 Lee D, Lee K. *Food Control*, 2015, 50: 467–471
- 41 Li RJ, Tao B, Pang MH, Liu YC, Dong JG. *Food Control*, 2015, 50: 838–842
- 42 Magro SL, Campaniello M, Nardiello D, Muscarella M. *J Food Sci*, 2011, 76: T1–T4
- 43 Zhang YP, Ma XG, Fan YM. *Food Anal Method*, 2014, 7: 1763–1769
- 44 Zhang SJ, Yu ZQ, Hu N, Sun YP, Suo YR, You JM. *Food Control*, 2014, 39: 25–29
- 45 Wang T, Gao XL, Tong J, Chen LG. *Food Chem*, 2012, 131: 1577–1582
- 46 Chen LG, Jin HY, Xu HY, Sun L, Yu AM, Zhang HQ, Ding L. *J Agric Food Chem*, 2009, 57: 3989–3994
- 47 Macedo F, Marsico ET, Conte-Júnior CA, De Resende MF, Brasil TF, Pereira Netto AD. *Food Chem*, 2015, 179: 239–245
- 48 Furlani RPZ, Dias FFG, Nogueira PM, Gomes FML, Tfouni SAV, Camargo MCR. *Food Control*, 2015, 48: 43–47
- 49 Morales-Munoz S, De Castro M. *J Chromatogr A*, 2005, 1066: 1–7
- 50 Kaufmann A, Butcher P, Maden K, Walker S, Widmer M. *Anal Chim Acta*, 2015, 862: 41–52
- 51 Valera-Tarifa NM, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, Martínez-Vidal JL, Garrido-Frenich A. *J Food Compos Anal*, 2013, 30: 86–93
- 52 Gao SQ, Jin HY, You JY, Ding Y, Zhang N, Wang Y, Ren RB, Zhang R, Zhang HQ. *J Chromatogr A*, 2011, 1218: 7254–7263
- 53 Huang JG, Liu JJ, Zhang C, Wei JJ, Mei L, Yu S, Li G, Xu L. *J Chromatogr A*, 2012, 1219: 66–74
- 54 Xia QH, Yang J, Wei X, Yang YL, Liu MS. *Food Anal Method*, 2014, 7: 1130–1138
- 55 Yáñez-Jácome GS, Aguilar-Caballos MP, Gómez-Hens A. *J Chromatogr A*, 2015, 1405: 126–132

- 56 Zhao DM. *J Chromatogr Sci*, 2014, 52: 429–435
- 57 Jędrkiewicz R, Głowacz A, Kupka M, Gromadzka J, Namieśnik J. *Trac-Trend Anal Chem*, 2014, 62: 173–183
- 58 Hamlet CG, Asuncion L. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2011, 113: 345–355
- 59 Mo WM, He HL, Xu XM, Huang BF, Ren YP. *Food Control*, 2014, 43: 251–257
- 60 Carro AM, Gonzalez P, Lorenzo RA. *J Chromatogr A*, 2013, 1319: 35–45
- 61 Zhang Y, Dong Y, Ren YP, Zhang Y. *J Chromatogr A*, 2006, 1116: 209–216
- 62 Molina-Garcia L, Santos CSP, Melo A, Fernandes JO, Cunha SC, Casal S. *Food Anal Method*, 2015, 8: 1436–1445
- 63 Spizzirri UG, Restuccia D, Curcio M, Parisi OI, Iemma F, Picci N. *J Food Compos Anal*, 2013, 29: 43–51
- 64 Lázaro CA, Conte-Júnior CA, Cunha FL, Mársico ET, Mano SB, Franco RM. *Food Anal Method*, 2013, 6: 1024–1032
- 65 Marcobal A, Polo MC, Martín-álvarez PJ, Moreno-Arribas MV. *Food Res Int*, 2005, 38: 387–394
- 66 Huang KJ, Jin CX, Song SL, Wei CY, Liu YM, Li J. *J Chromatogr B*, 2011, 879: 579–584
- 67 Özdestan Ö. *Food Res Int*, 2014, 61: 167–175
- 68 Huang KJ, Wei CY, Liu WL, Xie WZ, Zhang JF, Wang W. *J Chromatogr A*, 2009, 1216: 6636–6641
- 69 张宗绵, 刘睿, 徐敦明, 刘景富. 化学学报, 2012, 70: 1686–1689
- 70 张佳玲, 张伟, 周志贵, 白玉, 刘虎威. 色谱, 2011, 29: 681–686

The application of derivatization techniques in chromatographic analysis of food security

Xialin Luo, Gongke Li^{*}, Yufei Hu^{*}

School of Chemistry and Chemical Engineering, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China

^{*}Corresponding authors (email: cesgkl@mail.sysu.edu.cn; huyufei@mail.sysu.edu.cn)

Abstract: In recent years, food safety issue has become one of the focuses of global concerns. Chromatography as the most common method has been applied to detecting harmful substances in food widely. However, chromatographic methods used in the detection of analytes with the characteristic of low molecular weight, high polarity, low volatility, thermal instability, less chromophore will encounter some problems such as low detection response and low retention time. While, derivatization is a common means to solve these problems. In this paper, we mainly introduced derivative reagents and derivatization methods in sample preparation. The applications of derivatization techniques in chromatographic analysis of mycotoxins, illegal additives, pesticide and veterinary drug residues, and so on in food samples were reviewed.

Keywords: derivatization technique, chromatographic analysis, food safety

doi: 10.1360/N032015-00204