

气相色谱法测定浸出可可脂四号溶剂残留

陈 骐,徐美琴

(常熟市粮油饲料质量检验所,江苏 常熟 215500)

摘 要:对用四号溶剂浸出提取的可可脂中残留溶剂的测定提供了气相色谱分析方法。介绍了标准气体制作、色谱测定条件选择、标准曲线制作与定量等测定关键点及注意方面。

关键词:可可脂;四号溶剂;顶空气相色谱分析;方法

中图分类号:TS 227 **文献标识码:**B **文章编号:**1007-7561(2009)02-0041-01

利用四号溶剂浸出油脂是一项比较新颖的油脂浸出技术,90 年代初获得国家发明专利并开始应用于浸出植物油厂。四号溶剂的主要成分为丁烷,商品用四号溶剂丁烷含量一般占 98% 以上。利用四号溶剂浸出油脂工艺最大的特点是常温浸出、低温脱溶,能有效的保存油脂中的活性物质,消除因高温氧化引起的油脂色泽变深等,这对可可脂等商品外观比较突出的贵重油脂尤为重要^[1]。经过多年来的发展,该项技术日趋成熟,正越来越多的应用于植物油生产中。而经浸出后油脂的溶剂残留量检测,由于暂无国家检测标准,国内也鲜见测定方法介绍,基本还是空白。常熟市金成油脂有限公司 2005 年开始从压榨可可粕中提取可可脂,我所承担了生产过程及成品可可脂的四号溶剂残留检测工作。结合多年来六号溶剂残留测定经验,参照《GB/T 5009.37-2003 食用植物油卫生标准的分析方法》^[2],经反复试验,摸索出一套顶空气相色谱分析方法,较好地解决了四号溶剂的残留检测,现就测定的有关问题作一介绍,供有关单位参考。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

气相色谱仪,带 FID 检测器;恒温水浴;气化瓶:标度为 100 mL 的输液瓶,经标定容积为 130 mL,配套橡胶反口塞和封口铝盖。

溶剂标准气体:丁烷在常温常压下为气态,在标准状况(20℃ 1atm)下的重量为 2.673 mg/mL。利用气体体积制备标准气体需严格控制温度及气压,误差较大且不易控制,我们选用重量法配置。取一经标定过体积的气化瓶,洗净烘干,盖好橡胶反口塞,于万分之一天平上精确称重。另取一 250 mL 三角瓶,用一橡皮塞盖紧。塞上通一直径约为 3 mm 的聚四氟乙烯管。取色谱试剂丁烷(5 mL 装标液),将

标液安培瓶打碎瓶口后迅即放入三角瓶中并盖上橡皮盖,30 s 后将聚四氟乙烯管另一头放入气化瓶中并插入瓶底,让丁烷气体流入气化瓶并将瓶内空气排出,1 min 后拔出聚四氟乙烯管,塞上橡胶反口塞,将气化瓶再精密称重,增加的重量即为溶剂气体重量,除以气化瓶体积 130 mL,即可算出溶剂气体浓度 mg/mL,该瓶封上铝盖,保存待用。

1.2 色谱条件

色谱柱:长 2 m、 $\phi 3$ mm 不锈钢柱;填充 60~80 目硅烷化玻璃微珠。检测器:氢火焰离子化检测器。温度:柱箱 40℃;气化室 150℃;检测器 150℃。气体:载气:N₂ 30 mL/min;燃气:H₂ 40 mL/min;助燃气:Air 500 mL/min。

1.3 标准曲线制作

取 6 只经体积标定为 130 mL 的 100 mL 输液瓶,分别加入 20.0 g 新鲜压榨的可可脂作为体底油,盖好橡胶反口塞。从标准气体瓶中抽取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、2.0 mL 丁烷标准气体,分别注入 6 只加有体底油的输液瓶中,然后封好铝盖。根据标准气体浓度可算出实际注入的气体重量,与 20.0 g 体底油重量即可换算出各瓶相当于 mg/kg 浓度的标准系列,也可根据实际需要加减标准气体的注入量来配置不同浓度的标准系列。将标准系列放入 40℃ 恒温水浴中暴气 1 h^[3],用微量注射器从各瓶中抽取 100 μ L 顶空气体注入色谱仪,由于柱内为玻璃微珠,对溶剂气体无分离,出单一峰。记下滞留时间及峰面积,绘制标准曲线。

1.4 方法

称取待测样品 20.0 g,放入经标定体积的 100 mL 输液瓶中,盖好橡胶反口塞,封好铝盖,在 40℃ 恒温水浴中暴气 1 h,用微量进样器吸取顶空气体 100 μ L 注入色谱仪,记录保留时间和峰面积。

(下转第 50 页)

收稿日期:2008-07-28

作者简介:陈骐(1957-),男,江苏常熟人,工程师。

如图 4 所示,随着温度的升高,酶的热稳定性有明显的变化,在 30℃~50℃,酶较为稳定,酶活保持在一个较为恒定的水平,而 60℃~90℃区域,酶活随温度升高而降低,在 90℃时酶活仅保留 20%左右;由图 5 可看出,在 50℃纤维素酶较为稳定,保持 120 min,酶活下降不到 10%,而在 60℃时,酶活随着时间的增加而急剧下降,在 120 min 时,酶活下降了 80%。

2.3.5 酶的酸碱稳定性 考察了不同酸碱度对酶活的影响,试验温度为 50℃,时间为 1 h,酶活测定同方法 1.5,结果如图 6。

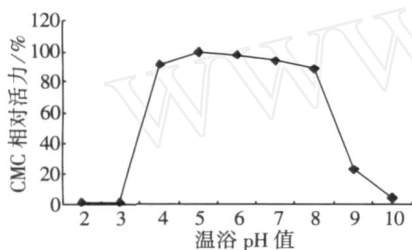


图 6 酸碱度对酶的稳定性影响

由图 6 所示,本酶在 pH 4.0~8.0 时较为稳定,酶活可保持在 90%以上,超出这一范围,酶活力急剧下降,可能是由于此时 pH 值的变化导致酶的结构发生改变,进而导致部分酶失活。而在 pH 5.0 酶活最高,因此,本酶保存在 pH 5.0 为宜。

3 结论

(1) 本文通过对河北省棉田土壤中菌株的分离,筛出一株活性较高纤维素酶生产菌株,经中科院微生物所鉴定,为一担子菌菌株(a basidiomycetous specie),本菌株与目前国内外纤维素酶生产所采用木霉、青霉、曲霉菌种^[5-7]不同,为一种新型纤维素酶生产菌株,本项研究将为纤维素酶的研究和开发

提供一条新的思路。

(2) 研究表明,本酶反应最适 pH 值为 5.0 左右;最适反应温度约 60℃;Co²⁺、Mn²⁺对本酶酶活有明显的抑制作用,Cu²⁺、Fe²⁺、Ca²⁺、Na⁺、K⁺、Sr²⁺、Mg²⁺对本酶有一定的促进作用;在 50℃下本酶有较好的稳定性,其酸碱稳定范围在 pH 4.0~8.0。

参考文献:

[1]Zhang Y- HP, Lynd LR. Toward an aggregated understanding of enzymatic hydrolysis of cellulose: Noncomplexed cellulase systems [J]. Biotechnol Bioeng,2004b,88:797 - 824.

[2]Angenent LT, Karim K, Al - Dahhan MH,et al. Production of bioenergy and biochemicals from industrial and agricultural wastewater[J]. Trends Biotechnol ,2004 ,22:477 - 85.

[3]Wyman CE. Potential synergies and challenges in refining cellulosic biomass to fuels, chemicals , and power[J]. Biotechnol Prog. ,2003 ,19: 254 - 262.

[4]F. Xu, in: K. Ohmiya , K. Sakka ,et al. Biotechnology of Lignocellulose Degradation and Biomass Utilization[M]. Uni Publishers , Tokyo , 2004. 793 - 804.

[5]何平,吴文能,张敬璇,等.一株绿色木霉产外切葡聚糖苷酶条件及其纯化与性质研究[J]. 华南农业大学学报,2005 ,26(3) :69 - 73

[6]Ingrid P, Folke T, Barbel H. Fungal cellulytic enzyme production: A Review[J]. Proc. Biochem, 1991 , 26 :65 - 74.

[7]余晓斌,具润漠. 里氏木霉液体发酵法生产纤维素酶[J]. 食品与发酵工业. 1997 ,24(1) :20 - 25.

[8]Dewey D. Y. ,Mandels M. Cellulase : biosynthesis and applications[J]. Enzyme Micro. Technol ,1980 ,2 :91 - 102.

[9]Zhang Y- HP, Michael e. h. , Jonathan r. m. Outlook for cellulase improvement : Screening and selection atrategies[J]. Biotech. Advances , 2006 ,24:452 - 481.

[10]Ghose T K. Measurement of cellulase activities[J]. Pure and Application Chemistry ,1987 ,59 :257 - 268.

[11]Miller CL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugars[J]. Anal Chem ,1959 ,31 :426 - 428. 宗

(上接第 41 页)

2 结果计算

以样品峰面积,在标准曲线上查出对应的溶剂含量 mg/ kg,即为样品中溶剂残留量。

3 注意事项

(1) 标准气体瓶可密封保存于冰箱内,一段时间内可重复使用,但需称重定量。

(2) 配置标准曲线与样品测定需同时进行,每次测定时可同时测定标准曲线的一个点,以校准曲线。

(3) 配置标样与测定用气化瓶体积应严格标定一致,可在大量 100 mL 输液瓶中选取。

(4) 将方法中脂换为粕,即可用于浸出粕或其制品中的溶剂残留量的测定,但需注意标样配置所用

粕与样品粕中含油量应基本相同。

运用上述方法测定浸出可可脂、可可粕中四号溶剂残留样品 200 余份,测定结果在与南京财经大学粮油食品质量检测中心采用同一方法测定的实验室比中获得极高的相符率,为指导油脂加工企业生产提供了第一手资料。

参考文献:

[1]祁颀,汪学德. 液化石油气浸出油脂研究[J]. 中国油脂,1995 ,20 (2) ;16 - 22.

[2]GB/ T5009. 37 - 2003 食用植物油卫生标准的分析方法[S]. 中国标准出版社,2004.

[3]汪海峰,鞠兴荣,申海进,等. 食用植物油中残留溶剂测定的相平衡条件探讨[J]. 中国油脂 ,2005 ,30(6) ;34 - 36. 宗