

工作简报

凝胶渗透色谱-气相色谱法测定豆瓣酱中6种防腐剂

杨晓凤^{1,2}, 侯雪¹, 易盛国¹, 韩梅¹

(1. 四川省农业科学院 分析测试中心, 成都 610066; 2. 四川大学 化学学院, 成都 610036)

摘要: 提出了气相色谱法测定豆瓣酱中山梨酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸酯共6种防腐剂含量的方法。豆瓣酱样品用乙醚提取, 所得提取液须经凝胶色谱净化大分子干扰物质。方法中采用 Biobeads S-X3 凝胶渗透色谱净化柱和乙酸乙酯-环己烷(1+1)混合溶液作流动相, 采用 Rxi-17(0.25 mm×30 m, 0.25 μm)毛细管柱分离后, 用氢火焰离子化检测器检测。6种防腐剂的质量浓度均在 10.0~400 mg·L⁻¹ 范围内与峰面积呈线性关系, 方法的检出限(3S/N)在 0.56~0.74 mg·kg⁻¹ 之间。在3个浓度水平下对方法的回收率和精密度进行了试验, 测定回收率在 91.4%~98.8% 之间, 相对标准偏差($n=5$)在 2.9%~5.3% 之间。

关键词: 气相色谱法; 凝胶渗透色谱; 防腐剂; 豆瓣酱

中图分类号: O657.7

文献标志码: A

文章编号: 1001-4020(2011-09-1021-03)

GPC-GC Determination of 6 Preservatives in Bean Paste

YANG Xiao-feng^{1,2}, HOU Xue¹, YI Sheng-guo¹, HAN Mei¹

(1. Center of Analysis and Testing, Sichuan Provincial Research Institute of Agriculture, Chengdu 610066, China;

2. College of Chemistry, Sichuan University, Chengdu 610036, China)

Abstract: A method of GC for determination of 6 preservatives, including sorbic acid, benzoic acid, methyl *p*-hydroxybenzoate, ethyl *p*-hydroxybenzoate, propyl *p*-hydroxybenzoate and butyl *p*-hydroxybenzoate, in bean paste was proposed. The sample was extracted with acetonitrile, and the extracts obtained were purified to remove the macromolecular impurities by gel permeation chromatography (GPC), using the Biobeads S-X3 GPC column and a mixed solvent of ethyl acetate and cyclohexane (1+1) as mobile phase. The 6 preservatives were separated on Rxi-17(0.25 mm×30 m, 0.25 μm) capillary column and determined by FID detector. Linear relationships between values of peak area and mass concentration of the 6 preservatives were kept in the same range of 10.0–400 mg·L⁻¹, with detection limits (3S/N) in the range of 0.56–0.74 mg·kg⁻¹. Recovery and precision of the method were tested at 3 concentration levels, giving results of recovery in the range of 91.4%–98.8%, and RSD's ($n=5$) in the range of 2.9%–5.3%.

Keywords: GC; Gel permeation chromatography; Preservatives; Bean paste

豆瓣酱是一种调味品, 近年来有关豆瓣酱质量安全的问题经常被曝光, 主要为微生物指标和防腐剂超标。山梨酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基

苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯是常用的防腐剂, 添加到豆瓣酱中可抑制微生物的生长, 防止其腐败变质从而延长保质期, 但防腐剂超标将危害身体健康。目前, 检测这6种防腐剂主要采用乙醚作为提取剂提取样品, 用气相色谱法测定^[1-4], 但高油脂类的豆瓣酱会出现油脂的测定干

收稿日期: 2010-06-23

作者简介: 杨晓凤(1979–), 女, 辽宁鞍山人, 助理研究员, 博士, 主要从事食品检验的研究工作。

扰,且容易污染仪器。凝胶渗透色谱净化技术能够有效去除脂肪、色素等大分子^[5-6],本工作采用凝胶渗透色谱对豆瓣酱样品进行净化,气相色谱法测定豆瓣酱中山梨酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯的含量。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 7890 气相色谱仪,配有自动进样器、氢火焰离子化检测器(FID 检测器);J2 Scientific 凝胶渗透色谱仪,配有 Biobeads S-X3 玻璃柱(22 g, 19 cm × 2 cm;瑞士 B chi 旋转蒸发仪。

混合标准溶液:称取各标准品 50.0 mg,分别置于 50 mL 容量瓶中,用丙酮溶解并定容至刻度,此防腐剂混合储备溶液的质量浓度为 $1.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。临用时,用丙酮稀释成所需的标准工作溶液。

氯化钠酸性溶液:称取氯化钠 40 g,用水溶解后,加入 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 盐酸 2 mL,以水定容至 1 L。

丙酮为色谱纯,其余试剂均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱为 Rxi-17 石英毛细管柱(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm ,载气为高纯氮气(纯度不小于 99.999%;进样方式为分流进样,分流比 10 比 1;恒流模式,氮气流量 $2.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,氢气流量 $30 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,空气流量 $400 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;进样口温度 250°C ,检测器温度 300°C ;柱升温程序:初始温度 100°C ,以 $40^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速率升至 170°C ,再以 $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 速率升至 220°C 。

1.3 试验方法

1.3.1 试样提取

称取经匀浆处理的试样 2.50 g,置于 50 mL 具塞量筒中,加盐酸(1+1 溶液 0.5 mL 酸化,分别用乙醚 25 mL 提取 2 次,每次振摇 1 min,将上层乙醚提取液移入另一个 50 mL 具塞量筒中,合并乙醚提取液。用 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 氯化钠酸性溶液 5 mL 洗涤 1 次,静止分层后,将乙醚层通过无水硫酸钠滤入 50 mL 旋蒸瓶中, 45°C 旋转蒸发至近干,用乙酸乙酯-环己烷(1+1 溶液 10.0 mL 溶解残渣,过 0.45 μm 滤膜,供凝胶渗透色谱净化。

1.3.2 凝胶渗透色谱净化

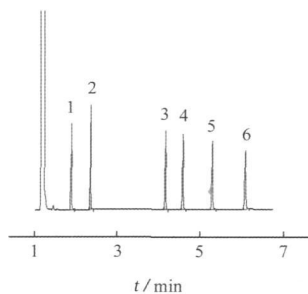
取上述提取液过 Biobeads S-X3 凝胶渗透色谱柱,以乙酸乙酯-环己烷(1+1 混合溶液为流动相,

流量为 $4.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,进样量为 5 mL。收集 9~21 min 流出的组分于旋蒸瓶中, 45°C 旋转蒸发至近干,用丙酮定容至 5.0 mL。溶液过 0.45 μm 滤膜,在色谱工作条件下进行测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

试验中比较了 Rxi-5(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm 、Rxi-17(0.25 mm × 30 m, 0.25 μm 和 HP-FFAP(0.32 mm × 30 m, 0.25 μm 3 种色谱柱对 6 种防腐剂分离效果的影响。3 种色谱柱都能实现对 6 种防腐剂的基线分离,但山梨酸、苯甲酸在 Rxi-5 色谱柱上峰形不对称,而 4 种对羟基苯甲酸酯在 HP-FFAP 色谱柱上峰形不对称,试验选择 Rxi-17 色谱柱作为 6 种防腐剂的的分析柱。综合考虑 6 种防腐剂的色谱峰对称、峰高及分析时间等因素,选择的程序升温条件见 1.2 节。6 种防腐剂标准品的色谱图见图 1。



1——山梨酸; 2——苯甲酸; 3——对羟基苯甲酸甲酯;
4——对羟基苯甲酸乙酯; 5——对羟基苯甲酸丙酯;
6——对羟基苯甲酸丁酯

图 1 6 种防腐剂标准品的色谱图

Fig. 1 Chromatogram of standards of the 6 preservative

2.2 GPC 净化收集时间的选择

取 $1.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 6 种防腐剂混合标准溶液 5 mL 过 Biobeads S-X3 凝胶渗透色谱柱,采用乙酸乙酯-环己烷混合溶液作为流动相,流量为 $4.7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,从 8 min 起每 1 min 收集一份样品溶液,共收集 15 份样品溶液,分别在色谱条件下测定各段流出液中 6 种防腐剂的含量。结果表明:第 9 min 的流出液中开始检出对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯,第 21 min 以后的流出液中未检出防腐剂。因此,选择留出时间 9~21 min 作为 6 种防腐剂的收集时间。

同时,由豆瓣酱试样 9~21 min 的提取液色谱图

可见,6 种防腐剂色谱峰均无杂质峰干扰,因此豆瓣酱试样中绝大部分大分子干扰杂质在 9 min 前被去除掉,表明凝胶渗透色谱净化方法除杂质效果较好。

2.3 标准曲线和检出限

按试验方法对 6 种防腐剂混合标准溶液系列进行测定,6 种防腐剂的质量浓度均在 10.0~400 mg·L⁻¹ 范围内与其峰面积呈线性关系,线性回归方程、相关系数见表 1。按 3 倍信噪比计算方法的检出限,结果见表 1。

表 1 线性回归方程、相关系数和检出限

Tab. 1 Linear regression equations, correlation coefficients and detection limits

名称	线性回归方程	相关系数	检出限 <i>w</i> /(mg·kg ⁻¹)
山梨酸	<i>A</i> = 1.04 ρ- 5.44	0.999 9	0.64
苯甲酸	<i>A</i> = 1.14 ρ- 9.81	0.999 8	0.72
对羟基苯甲酸甲酯	<i>A</i> = 0.995 ρ- 2.74	0.999 9	0.56
对羟基苯甲酸乙酯	<i>A</i> = 1.03 ρ- 2.36	0.999 9	0.59
对羟基苯甲酸丙酯	<i>A</i> = 1.06 ρ- 1.61	0.999 9	0.64
对羟基苯甲酸丁酯	<i>A</i> = 1.01 ρ- 0.048 4	0.999 9	0.74

2.4 方法的回收率

在豆瓣酱试样中分别添加一定量的混合防腐剂标准溶液,添加量分别为 50.0,100,200 mg·kg⁻¹,进行加标回收试验,结果见表 2。

本工作建立了凝胶渗透色谱(GPC 净化,毛细管柱气相色谱法测定豆瓣酱中 6 种防腐剂的方法。GPC 能够去除样品中脂肪和色素等大分子杂质,操作简单、重现性好、自动化程度高,能够满足大量样品的快速检测要求,可很好地用于高脂类样品豆瓣酱中防腐剂的测定。

表 2 回收试验结果(*n*= 5)

Tab. 2 Results of test for recovery

名称	加标量 50.0 mg·kg ⁻¹		加标量 100 mg·kg ⁻¹		加标量 200 mg·kg ⁻¹	
	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%
山梨酸	91.4	3.8	95.7	5.3	96.4	3.9
苯甲酸	95.8	3.4	94.8	4.6	96.3	4.4
对羟基苯甲酸甲酯	98.7	4.3	97.6	3.4	97.2	3.1
对羟基苯甲酸乙酯	96.9	4.6	95.3	3.9	97.3	3.8
对羟基苯甲酸丙酯	95.3	2.9	96.9	4.7	91.7	4.5
对羟基苯甲酸丁酯	92.1	4.7	98.8	3.2	92.4	5.2

参考文献:

[1] GB/T 5009.29- 2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S].

[2] 王文芳,董春洲.毛细管柱气相色谱法测定酱油中山梨酸和苯甲酸[J].公共卫生与预防医学,2005,16(1:47-48.

[3] GB/T 5009.31- 2003 食品中对羟基苯甲酸酯类的测定[S].

[4] 晋玉霞,张莉莉,刘文杰.毛细管气相色谱法测定食品中对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J].现代食品科技,2007,23(3:77-79.

[5] 刘咏梅,王志华,储晓刚.凝胶渗透色谱净化-气相色谱分离同时测定糙米中 50 种有机磷农药残留[J].分析化学,2005,33(6:808-810.

[6] 李继革,宁静恒,周凯.凝胶色谱净化-毛细管气相色谱法同时测定蔬菜中 23 种农药残留[J].理化检验-化学分册,2008,44(7:637-639.

(上接第 1020 页

参考文献:

[1] 张炜,刘雯,覃洁萍.中药莪术的研究概况[J].广西科学院学报,2006,22(增 1:481-486.

[2] 孙静.莪术抗癌活性成分的研究进展[J].中国现代药物应用,2008,19(2:118-119.

[3] YAO Y+qun, DING Xia, JIA Y+chang, et al. Anti-tumor effect of β-elemene in glioblastoma cells depends on p38 MAPK activation[J]. Cancer letters, 2008, 264: 127-134.

[4] YANG Feng-qing, LI Shao-ping, ZHAO Jing, et al. Optim izati on of GC-MS conditions based on resolution

and stability of analytes for simultaneous determination of nine sesquiterpenoids in three species of *Curcuma rhizomes* [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2007, 43: 73-82.

[5] 王道武,张龙,李亚丰,等.微波辅助提取 GC-MS 分析莪术挥发油成分[J].分析化学,2008,36:1545-1547.

[6] 吴琳华,杜霞,刘红梅.超临界流体萃取广西莪术挥发油中 β-榄香烯[J].中草药,2006,37(3:368-370.

[7] 汤敏燕,孙凌峰,汪洪武.中药莪术挥发油化学成分的研究[J].林产化学与工业,2000,20(3:65-69.

[8] 李爱群,姚崇舜,胡学军,等.不同产地莪术挥发油的有效成分[J].分析测试学报,2002,21(6:67-69.