

食品中 12 种防腐剂多通量测定方法的研究

Study on more flux detection method to 12 kinds of preservatives in food

陈幸莺

CHEN Xing-ying

(湘潭市食品药品检验所, 湖南 湘潭 411100)

(Xiangtan Institute for Food and Drug Control, Xiangtan, Hunan 411100, China)

摘要:建立以毒性较低、稳定性较好、费用较低的乙酸乙酯作为提取溶剂,通过涡旋 2 min、超声波 20 min 组合一次性提取有效待测组分,进行气相色谱同时分离测定食品中 12 种防腐剂(丙酸、富马酸二甲酯、山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、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、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯、对羟基苯甲酸庚酯)的检测方法。该方法的回收率为 92.1%~108.3%,平均回收率 98.5%,回收率标准偏差 3.0%,测定结果准确可靠。通过与标准方法规定的气相色谱方法、液相色谱方法进行比对,结果偏差符合方法学要求。
关键词:食品;气相色谱;防腐剂;检测方法;多通量

Abstract: Taking ethyl acetate as extraction solvent with low toxicity, good stability, and low cost, and through the combined extraction of vortex 2 min and microwave extraction 20 min to extract the effective substances, 12 kinds of preservatives were separated and determined(propionic acid, dimethyl fumarate, sorbic acid, benzoic acid, sehydroacetic acid, methylparaben, ethylparaben, propylparaben, butyl paraben, isopropyl paraben, isobutylpareben, heptylparaben) in food by gas chromatography. The recovery is 92.1% ~ 108.3%, the average recovery rate is 98.5%, and the standard deviation recovery is 3.0%. The test results are accurate and reliable. Compares to the standard gas chromatographic method and liquid chromatography method, the result of the deviation in line with the requirements of methodology is reliable.

Keywords: food; gas chromatography; preservative; detection method; more flux

食品防腐剂能抑制食品中微生物的繁殖,防止腐败变质,延长保存期。但是食品中防腐剂的使用存在超范围、超量使用问题,更有少数不法之徒为牟取暴利,使用工业用防腐物质作为食品防腐剂,严重侵犯了消费者的健康权益。

食品中食品添加剂丙酸、富马酸二甲酯、山梨酸、苯甲

酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类的检测方法,已有相应的单独测定食品中某一种或多种防腐剂的标准方法。中国国家标准测定食品中丙酸钙(钠)^[1]、山梨酸、苯甲酸^[2]、脱氢乙酸^[3]及对羟基苯甲酸酯类^[4]的检测方法中,丙酸是用水蒸气蒸馏,山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸用乙醚提取,浓缩后以丙酮定容,对羟基苯甲酸酯类是以乙醚提取,浓缩后以乙醇定容。湖南省地方标准^[5]是采用气相色谱方法测定食品中富马酸二甲酯的,高杨^[6]、曹淑瑞等^[7-9]在采用气质法、液相法测定多种对羟基苯甲酸酯的研究中,对于此 12 种防腐剂的提取,分别使用了乙醚、丙酮、乙醇、乙腈、乙酸乙酯等有机溶剂及不同的提取方式。可见,尚无一次性同时检测以上 12 种防腐剂的方法。本研究旨在通过简化、优化多种防腐剂的提取方法,探索气相色谱法一次性同时测定食品中丙酸、富马酸二甲酯、山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、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、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯、对羟基苯甲酸庚酯 12 种防腐剂含量的准确、可靠、快速、简便的分析方法。

1 材料与方法

1.1 试剂和材料

乙酸乙酯:色谱纯,国药集团化学试剂有限公司;
无水硫酸镁:分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司,于马弗炉 700 ℃灼烧 5 h,置于干燥器中备用;
盐酸溶液:1+1(V/V);
乙酸锌溶液:200 g/L;
亚铁氰化钾溶液:106 g/L;
12 种防腐剂标准品:纯度大于或等于 98.5%,国家标准物质中心。

1.2 仪器与设备

气相色谱仪:GC2010 型,配氢火焰离子化检测器(FID),日本岛津公司;

作者简介:陈幸莺(1978—),女,湘潭市食品药品检验所工程师,硕士。E-mail:66943313@qq.com

收稿日期:2014-12-28

超声波清洗器:KQ-500B型,西安精大检测设备有限公司;
涡旋混合器:SK-1型,金坛市天竟实验仪器厂;
离心机:H1850R型,湘仪离心机仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 气相色谱测定条件的优化

(1) 色谱柱的选择:DB-1 石英毛细管柱,30 m×0.25 mm×0.25 μm;DB-5 石英毛细管柱,30 m×0.25 mm×0.25 μm;DB-FFAP 石英毛细管柱,30 m×0.25 mm×0.25 μm。

(2) 柱温的选择:恒温:165℃^[3];程序升温:100℃(0.5 min)→15℃/min→240℃(28 min);80℃(0.5 min)→15℃/min→240℃(28 min)。

(3) 其他色谱条件:进样口温度:250℃;检测器温度:250℃;载气:氮气,纯度≥99.999%,柱流量:1.0 mL/min;空气流量:400 mL/min;氢气流量:47 mL/min;尾吹气流量:30 mL/min;进样量:1 μL;进样方式:分流进样,分流比:5:1。

1.3.2 标准溶液的配制 分别准确称取各防腐剂标准品适量,用乙酸乙酯溶解,配成浓度为10 mg/mL的标准储备液置于棕色容量瓶中,用刻度吸管准确量取各标准储备溶液,用乙酸乙酯配成混合标准储备溶液,浓度为1.0 mg/mL。将混合标准储备溶液用乙酸乙酯稀释成1.28,6.40,16.00,40.00,80.00,100.00,200.00,500 μg/mL的浓度作为混合标准工作溶液。

1.3.3 不同提取溶剂的试验 取匀质后的待测样品(10.00±0.01) g于100 mL比色管中,加20 mL水(含蛋白质的物质,加5 mL乙酸锌溶液,5 mL亚铁氰化钾溶液),加1 mL盐酸溶液(1+1),分别加入10 mL乙醚、丙酮、乙腈、乙酸乙酯作为提取溶剂对不同食品样品中的12种防腐剂进行提取。提取液涡旋2 min,超声20 min。转入50 mL离心管,以5 000 r/min离心10 min,取上清液至10 mL比色管中,加0.5 g无水硫酸镁,涡旋2 min,过0.45 μm有机相滤膜。

1.3.4 不同提取方式的试验 分别采用超声波2,5,10,15,20 min,涡旋萃取2,5,10,15,20 min,涡旋2 min+超声波20 min提取3种提取方式,分别测定添加在酱油样品中的12种防腐剂含量,以考察不同提取方式的提取效率。

1.4 精确度、线性、检出限及回收率

(1) 分别对面包、饮料、酱、酱油、食用槟榔、果汁等食品样品中的12种防腐剂待测组分进行6平行测定,计算检测结果的实验室内变异系数。

(2) 在1.0~1 000.0 μg/mL的范围内,对12种防腐剂标准物质,选取多个浓度进行测定,计算每一种防腐剂标准曲线的线性相关系数。

(3) 以仪器测量时的3倍信噪比,测得方法最低检出限。

(4) 对于食品防腐剂含量为0.1~0.4 g/kg的酱油、饮料、糕点、酱、食用槟榔等样品,违禁物质——富马酸二甲酯

(本试验添加)含量为1~3 mg/kg的食用槟榔、酱油等样品,分别添加为0.5~4.0 mg的标准物质,来测定有效待测组分的回收率。

1.5 方法的验证

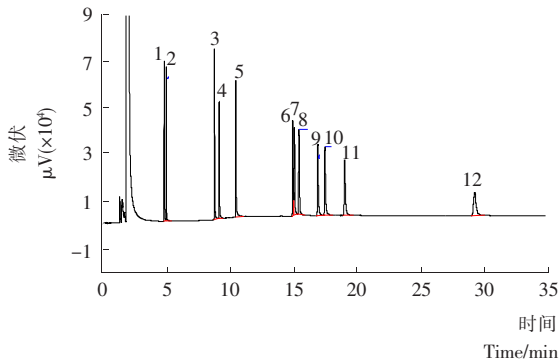
以文献[1]中方法分别对不同食品样品中的丙酸组分进行测定;以文献[5]中方法分别对不同食品样品中的富马酸二甲酯组分进行测定;以文献[10]、[11]中方法相组合,分别对面包、辣椒酱、酱油、果汁等食品样品中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸等3种组分进行测定;以文献[4]中方法分别对不同食品样品中对羟基苯甲酸酯类等组分进行测定,验证本试验方法的准确性。

2 结果与分析

2.1 色谱条件的选择

以非极性柱DB-1、中等极性柱DB-5、极性柱DB-FFAP来检测分离此12种防腐剂。试验显示,DB-1和DB-5柱检测时,丙酸标准品与溶剂峰出峰时间接近,样品检测时不能有效分离,而DB-FFAP柱同时检测12种防腐剂组分时,能取得满意的分离效果。DB-1和DB-5柱可用于除丙酸外的其他11种防腐剂的分离检验,但被测组分的出峰顺序与DB-FFAP柱有所不同。

当色谱柱温度为恒温分析时不能有效分离丙酸和富马酸二甲酯、对羟基苯甲酸异丙酯和对羟基苯甲酸甲酯组分,且出峰拖尾严重,影响检测结果的准确性。当程序升温的初始温度高于100℃时,丙酸和富马酸二甲酯组分不能有效分离的问题同样存在。当选择柱温条件为:80℃(0.5 min)→15℃/min→240℃(28 min)时,对标准物质和样品进行测定,12种防腐剂的分离度好、峰面积大(标准品的色谱图及部分检测样品的色谱图见图1~3)。



1. 丙酸 2. 富马酸二甲酯 3. 山梨酸 4. 脱氢乙酸 5. 苯甲酸
6. 对羟基苯甲酸异丙酯 7. 对羟基苯甲酸甲酯 8. 对羟基苯甲酸乙酯 9. 对羟基苯甲酸丙酯 10. 对羟基苯甲酸异丁酯 11. 对羟基苯甲酸丁酯 12. 对羟基苯甲酸庚酯

图1 12种防腐剂标准品(各单品种0.08 μg)
气相色谱图

Figure 1 Twelve kinds of preservatives standard material
(0.08 μg each single variety) by gas
chromatogram

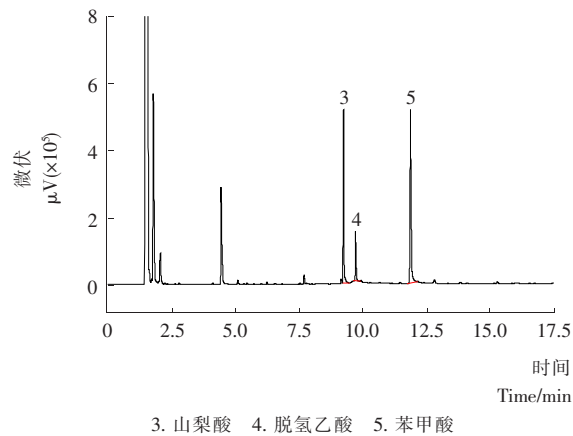


图 2 辣椒酱样品防腐剂检测气相色谱图
Figure 2 Chili sauce sample preservatives test by gas chromatogram

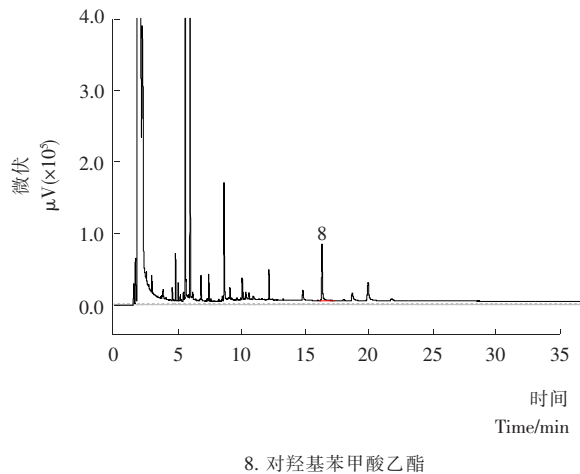


图 3 食用槟榔样品防腐剂检测气相色谱图
Figure 3 Edible betel nut samples preservatives test by gas chromatogram

2.2 提取溶剂对食品中 12 种防腐剂提取效率的影响

因乙醇的亲水性,本试验将其排除在外。本试验采用乙醚、丙酮、乙腈、乙酸乙酯等试剂进行提取。结果(表 1)表明,采用乙醚、乙腈、乙酸乙酯浸提 12 种防腐剂的效果都不错。3 种溶剂相比较而言,乙醚沸点低、稳定性较差,乙腈毒性较大,费用较高,乙酸乙酯毒性较低、稳定性较好,费用较低,综合考虑,本试验选择了乙酸乙酯作为浸提溶剂。

2.3 提取方式对食品中 12 种防腐剂提取效率的影响

在检测山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类的标准方法^[1-4]中,均是以多次浸提、合并提取液后浓缩的方式进行有效待测组分的提取。在检测富马酸二甲酯的标准方法^[5]中,是以固相萃取的方式进行有效待测组分的提取。本试验进行的超声波提取、涡旋萃取单因素试验结果表明,在提取初期(0~2 min)时,涡旋提取比超声波提取效果要好。随着提取时间的增加,两种提取方式的有效待测组分提取率都随之升高,但超声波提取的效果更明显。当提取时间达到 20 min 之后,两种提取方式对防腐剂提取效率到达最大值,检测结果无显著性差异。采用涡旋 2 min+超声 20 min 的组合提取方式进行相同样品的提取测定(见表 2),结果显示,以超声波涡旋混合提取方式来进行提取的效果最优。

2.4 方法的精确度、线性、检出限及回收率

2.4.1 精密度 本试验按每种防腐剂各取一种食品样品进行 6 次平行测定(见表 3),结果表明:12 种防腐剂平行测定的实验室内变异系数符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F 要求的含量为 1~10 mg/kg 样品的变异系数≤7.5%;含量为 100~1 000 mg/kg 样品的变异系数≤3.8%的要求,表明本试验方法重现性良好。

2.4.2 方法的线性范围 选取 1.28,6.40,16.00,40.00,80.00,100.00,200.00,500.00,1 000.00 μg/mL 浓度的 12

表 1 不同溶剂提取的效果

Table 1 Effect of different solvents extraction		(g · kg ⁻¹)			
防腐剂种类	样品	乙醚	丙酮	乙腈	乙酸乙酯
丙酸	面包	0.121	0.103	0.120	0.119
富马酸二甲酯	食用槟榔	0.001 46	0.000 134	0.001 54	0.00 153
山梨酸	饮料	0.218	0.214	0.220	0.219
苯甲酸	辣椒酱	0.341	0.331	0.343	0.341
脱氢乙酸	辣椒酱	0.268	0.258	0.270	0.270
对羟基苯甲酸甲酯	糕点	0.121	0.112	0.127	0.123
对羟基苯甲酸乙酯	果酱	0.323	0.314	0.329	0.325
对羟基苯甲酸异丙酯	酱油	0.120	0.120	0.120	0.120
对羟基苯甲酸丙酯	酱油	0.147	0.132	0.152	0.149
对羟基苯甲酸异丁酯	酱油	0.142	0.126	0.154	0.148
对羟基苯甲酸丁酯	酱油	0.103	0.086	0.113	0.107
对羟基苯甲酸庚酯	酱油	0.144	0.126	0.154	0.149

表 2 提取方式对酱油中防腐剂提取效果的影响

Table 2 Effect of extraction way on the extraction efficiency of the preservatives in the soy sauce (g · kg ⁻¹)				
防腐剂种类	标准品添加量	超声波提取 20 min	涡旋提取 20 min	涡旋 2 min 超声波 20 min 混合提取
丙酸	0.215	0.211	0.206	0.213
富马酸二甲酯	0.002 6	0.002 3	0.002 1	0.002 5
山梨酸	0.210	0.207	0.205	0.208
苯甲酸	0.201	0.198	0.197	0.199
脱氢乙酸	0.203	0.201	0.200	0.202
对羟基苯甲酸甲酯	0.119	0.117	0.114	0.118
对羟基苯甲酸乙酯	0.149	0.147	0.143	0.148
对羟基苯甲酸异丙酯	0.122	0.119	0.114	0.120
对羟基苯甲酸丙酯	0.150	0.146	0.142	0.149
对羟基苯甲酸异丁酯	0.150	0.143	0.140	0.148
对羟基苯甲酸丁酯	0.108	0.103	0.095	0.107
对羟基苯甲酸庚酯	0.151	0.145	0.138	0.149

表 3 平行测定的实验室内变异系数

Table 3 Parallel determination of the coefficient of variation in the laboratory					
防腐剂种类	样品	平行 6 次测定结果		平均值	变异系数(CV)/%
丙酸	面包	0.120,0.117,0.116,0.120,0.121,0.121 g/kg		0.119 g/kg	1.8
富马酸二甲酯	饮料	1.51,1.54,1.52,1.51,1.57,1.54 mg/kg		1.530 mg/kg	1.5
山梨酸	辣椒酱	0.263,0.268,0.257,0.261,0.262,0.269 g/kg		0.263 g/kg	1.7
苯甲酸	辣椒酱	0.346,0.344,0.341,0.335,0.337,0.341 g/kg		0.341 g/kg	1.2
脱氢乙酸	辣椒酱	0.269,0.271,0.272,0.270,0.268,0.271 g/kg		0.270 g/kg	0.5
对羟基苯甲酸甲酯	酱油	0.121,0.116,0.121,0.122,0.115,0.114 g/kg		0.118 g/kg	3.0
对羟基苯甲酸乙酯	酱油	0.144,0.153,0.150,0.146,0.141,0.156 g/kg		0.148 g/kg	3.8
对羟基苯甲酸异丙酯	酱油	0.121,0.118,0.124,0.122,0.116,0.119 g/kg		0.120 g/kg	2.4
对羟基苯甲酸丙酯	果汁	0.362,0.387,0.358,0.375,0.359,0.372 g/kg		0.369 g/kg	3.1
对羟基苯甲酸异丁酯	果汁	0.251,0.267,0.273,0.264,0.257,0.262 g/kg		0.262 g/kg	2.9
对羟基苯甲酸丁酯	果汁	0.236,0.243,0.229,0.231,0.224,0.246 g/kg		0.234 g/kg	3.6
对羟基苯甲酸庚酯	果汁	0.211,0.214,0.220,0.212,0.206,0.223 g/kg		0.214 g/kg	2.9

种防腐剂混合标准溶液进行气相色谱测定,12 种防腐剂的线性相关系数 R 均在 0.999 9 以上(见表 4),符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F 要求的相关系数不应低于 0.99 的要求,线性关系良好。

2.4.3 方法检出限 根据 3 倍信噪比,测得 12 种防腐剂的最低检出限(见表 5),与国家标准、地方标准的相当。

2.4.4 方法的回收率 本试验选取面包、酱油、食用槟榔、饮料、辣椒酱、腐乳等食品样品进行了加标回收试验,测得 12 种防腐剂回收率在 92.1%~108.3%(见表 6),符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F

要求的被测组分含量为 1~100 mg/kg 样品的回收率范围为 90%~110%;被测组分含量为大于 100 mg/kg 样品的回收率范围为 95%~105%的要求,说明本试验方法的测定结果准确可靠。

2.5 方法的验证

采用本法与《食品中丙酸钠、丙酸钙的测定》(GB/T 5009.120—2003)两种方法分别对不同样品如面包、蛋黄派、酱油、醋等样品中丙酸含量进行测定,比对结果见表 7,相对偏差符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录F要求的含量为10~1 000mg/kg样品

表 4 各组分线性范围[†]

Table 4 The linear range of matter

防腐剂种类	线性方程	相关系数
丙酸	$y=1\,714.0x-2\,429.4$	0.999 9
富马酸二甲酯	$y=1\,613.5x-1\,305.9$	0.999 9
山梨酸	$y=2\,398.6x-8\,365.1$	0.999 9
苯甲酸	$y=2\,383.1x-8\,059.1$	0.999 9
脱氢乙酸	$y=1\,619.8x-5\,384.8$	0.999 9
对羟基苯甲酸甲酯	$y=2\,517.2x-4\,893.9$	0.999 9
对羟基苯甲酸乙酯	$y=2\,251.8x-5\,286.0$	0.999 9
对羟基苯甲酸异丙酯	$y=2\,627.6x-6\,359.8$	0.999 9
对羟基苯甲酸丙酯	$y=2\,677.4x-6\,464.4$	0.999 9
对羟基苯甲酸异丁酯	$y=2\,814.1x-6\,989.3$	0.999 9
对羟基苯甲酸丁酯	$y=2\,677.4x-6\,822.8$	0.999 9
对羟基苯甲酸庚酯	$y=2\,490.1x-7\,009.6$	0.999 9

[†] 各组分线性范围均为 1~1 000 μg/mL。

表 5 方法的最低检出限

Table 5 The minimum detection limit of the method (mg·kg⁻¹)

防腐剂种类	本法	标准法
丙酸	2.0	20.0
富马酸二甲酯	2.0	2.0
山梨酸	1.0	1.0
苯甲酸	1.0	1.0
脱氢乙酸	2.0	2.0
对羟基苯甲酸甲酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸乙酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸异丙酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸丙酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸异丁酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸丁酯	1.0	1.0
对羟基苯甲酸庚酯	1.0	1.0

表 6 方法的回收率

Table 6 Recoveries of the method

防腐剂种类	样品	含防腐剂量/ (g·kg ⁻¹)	标准品添加量/ mg	检测结果/ (g·kg ⁻¹)	回收率范围/ %
丙酸	面包	0.119	0.5,0.8,1.0	0.164,0.203,0.227	97.0,102.0,103.7
	酱油	0.213	0.5,0.8,1.0	0.256,0.290,0.319	97.3,99.0,101.9
富马酸二甲酯	食用槟榔	0.001 53	0.000 5,0.000 8,0.001 0	0.001 87,0.002 44,0.002 74	92.1,104.7,108.3
山梨酸	酱油	0.002 48	0.000 5,0.000 8,0.001 0	0.002 92,0.003 17,0.003 36	98.0,96.6,96.6
	饮料	0.219	0.5,1.0,2.0	0.262,0.316,0.431	97.4,99.1,102.9
苯甲酸	辣椒酱	0.263	0.5,1.0,2.0	0.321,0.368,0.447	102.6,101.4,96.5
	辣椒酱	0.341	2.0,3.0,4.0	0.521,0.634,0.749	96.3,98.9,101.1
脱氢乙酸	酱油	0.199	1.0,1.5,2.0	0.303,0.343,0.391	101.3,98.3,98.0
	辣椒酱	0.270	1.0,1.5,2.0	0.358,0.429,0.483	96.7,102.1,102.7
对羟基苯甲酸甲酯	腐乳	0.287	1.0,1.5,2.0	0.368,0.447,0.467	95.1,102.3,95.9
	糕点	0.123	0.5,0.8,1.0	0.178,0.211,0.215	102.9,103.9,96.4
甲酸乙酯	酱油	0.118	0.5,0.8,1.0	0.161,0.189,0.224	95.8,95.4,102.7
甲酸丙酯	酱油	0.148	1.0,1.5,2.0	0.239,0.303,0.356	96.4,101.7,102.3
甲酸丁酯	果酱	0.325	1.0,1.5,2.0	0.412,0.461,0.531	96.9,97.1,101.1
甲酸戊酯	酱油	0.120	0.5,0.8,1.0	0.166,0.192,0.214	97.6,96.0,97.3
甲酸己酯	果酱	0.244	1.0,1.5,2.0	0.332,0.378,0.429	96.5,95.9,96.6
甲酸庚酯	酱油	0.149	0.5,0.8,1.0	0.194,0.225,0.258	97.5,98.3,103.6
甲酸辛酯	果酱	0.333	1.0,1.5,2.0	0.417,0.468,0.510	96.3,96.8,95.7
甲酸壬酯	酱油	0.148	0.5,0.8,1.0	0.191,0.222,0.254	96.5,97.4,102.4
甲酸癸酯	果酱	0.223	0.5,0.8,1.0	0.260,0.288,0.316	95.2,95.0,97.8
甲酸十一酯	酱油	0.107	0.5,0.8,1.0	0.154,0.183,0.204	98.1,97.9,98.6
甲酸十二酯	果酱	0.264	1.0,1.5,2.0	0.353,0.397,0.447	97.0,95.9,96.3
甲酸十三酯	酱油	0.149	0.5,0.8,1.0	0.194,0.221,0.242	97.5,96.5,97.2
甲酸十四酯	果酱	0.318	1.0,1.5,2.0	0.403,0.452,0.495	96.4,96.6,95.6

表 7 食品中丙酸本法与国标方法测定的比对结果

Table 7 Results compared of the method with national standard method of propionic acid in food

方法比对	面包/ (g · kg ⁻¹)	蛋黄派/ (g · kg ⁻¹)	酱油/ (g · kg ⁻¹)	醋/ (g · kg ⁻¹)
本法	0.119	0.146	0.213	0.105
国标方法	0.125	0.152	0.220	0.108
相对偏差	-4.8%	-3.9%	-3.2%	-2.7%

的检测结果偏差范围为<15%的要求。

采用本法与《食品中富马酸二甲酯测定气相色谱法》(DB43/T 353—2007)两种方法分别对不同样品如食用槟榔、酱油、果汁、熟食等样品中富马酸二甲酯含量进行测定,比对结果见表 8,相对偏差符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F 要求的含量为 0.01~10.00 mg/kg样品的检测结果偏差范围为-20%~+10%

表 9 食品中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸本法与国家标准液相色谱法测定的比对结果

Table 9 Results compared of the method with national standard method (HPLC) of sorbic acid, benzoic acid and dehydroacetic acid in food

食品	山梨酸			苯甲酸			脱氢乙酸		
	本法/ (g · kg ⁻¹)	国家标准液相 法/(g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国家标准液相 法/(g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国家标准液相 法/(g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%
面包	0.044	0.051	-13.7	0.053	0.060	-11.7	0.068	0.076	-10.5
辣椒酱	0.263	0.274	-4.0	0.341	0.353	-3.4	0.270	0.284	-4.9
酱油	0.208	0.216	-3.7	0.199	0.204	-2.5	0.202	0.211	-4.2
果汁	0.219	0.224	-2.2	0.129	0.124	+4.0	0.183	0.189	-3.2

表 10 本法与国标法测定食品中对羟基苯甲酸酯类的比对结果

Table 10 Results compared of the method with national standard method of p-hydroxy benzoic acid esters in food

食品	对羟基苯甲酸甲酯			对羟基苯甲酸乙酯			对羟基苯甲酸异丙酯			对羟基苯甲酸丙酯		
	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%
食用槟榔	0.186	0.198	-6.1	0.186	0.195	-4.6	0.177	0.195	-9.2	0.153	0.170	-10.0
酱油	0.118	0.123	-4.1	0.148	0.153	-3.3	0.120	0.128	-6.2	0.149	0.157	-5.1
果汁	0.423	0.439	-1.4	0.423	0.438	-1.1	0.206	0.213	-3.3	0.369	0.357	+3.4
果酱	0.324	0.312	+3.8	0.325	0.312	+4.1	0.244	0.252	-3.2	0.333	0.324	+2.8

食品	对羟基苯甲酸异丁酯			对羟基苯甲酸丁酯			对羟基苯甲酸庚酯		
	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%	本法/ (g · kg ⁻¹)	国标法/ (g · kg ⁻¹)	相对偏 差/%
食用槟榔	0.172	0.191	-9.9	0.179	0.198	-9.6	0.182	0.201	-9.4
酱油	0.148	0.156	-5.1	0.107	0.114	-6.1	0.149	0.154	-3.2
果汁	0.262	0.255	+2.7	0.234	0.247	-5.3	0.214	0.219	-2.3
果酱	0.223	0.232	-3.9	0.264	0.278	-5.0	0.318	0.305	+4.3

表 8 食品中富马酸二甲酯本法与地标方法测定的比对结果

Table 8 Results compared of the method with local standard method of dimethyl fumarate in food

方法比对	食用槟榔/ (mg · kg ⁻¹)	酱油/ (mg · kg ⁻¹)	果汁/ (mg · kg ⁻¹)	熟食/ (mg · kg ⁻¹)
本法	1.532	2.48	1.53	1.84
地方标准方法	1.542	2.54	1.47	1.97
相对偏差	-0.65%	-0.24%	+0.04%	-0.66%

的要求。

采用《食品中脱氢乙酸的测定》(GB/T 23377—2009)、《食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定 高效液相色谱法》(GB/T 23495—2009)相结合与本法分别对面包、辣椒酱、酱油、果汁中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸含量进行测定,比对结果见表 9。相对偏差符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F 要求的含量为 10~

蛋白的提取率增长了 20%，可有效提高其经济效益。利用反复冻融辅助手段使细胞壁破损，硒蛋白更易被提取出来，且提取过程中不加入其他试剂，相较酶提取法试剂更加单一。然而反复冻融辅助提取时间长、步骤繁杂，有待进一步研究。

参考文献

1 Johansson L, Gafvelin G, Arner E. Selenocysteine in proteins-properties and biotechnological use[J]. Biochimica et biophysica acta-general subjects, 2005, 1 726(1): 1~13.

2 Kiremidjian-Schumacher L, Roy M, Wishe H, et al. Supplementation with selenium and human immune cell functions: effect on cytotoxic lymphocytes and natural killer cells [J]. Biological Trace Element Research, 1994, 41(4): 115~127.

3 Hegazy S M, Adachi Y. Comparion of the effects of dietary selenium, zinc, and selenium and zinc supplemented on growth and immune response between chick groups that were inoculated with salmonella and aflatoxin or salmonella [J]. Ponltry Science, 2000, 79(3): 331~335.

4 Beck M A. Selemium and host defense towards viruses[J]. Proceedings of the Nutrition Society, 1999, 58(3): 707~711.

5 Gairola C, Chow C K. Dietary selenium, hepatic arylhydrocarbon hydroxylase and mutagenic activation of benzo(a)pyrene, 2-aminoanthracene and 2-aminofluorene [J]. Toxicology Letters, 1982, 11(3~4): 281~287.

6 Clenment I, Lisk D. Modulation of phase I and phase II xenobiotic-metabolizing enzymes by selenium-enriched garlic in rats[J]. Nutrition and Cancer, 1997, 28(2): 184~188.

7 Stewart M S, Spallholz J E, Neldner K H, et al. Selenium com-

pounds have disparate abilities to impose oxidative stress and induce apoptosis[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26 (1~2): 42~48.

8 胡秋辉, 潘根兴, 丁瑞兴. 富硒茶硒的浸出率及其化学性质的研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(5): 69~72.

9 张杰,李洋,韩小贤,等. 燕麦蛋白的碱提取工艺及其提纯研究[J]. 食品与机械,2012,28(4):121~124.

10 梅鑫东,曾江南,蒋柏泉. 酶法提取鱼鳞胶原蛋白的工艺优化[J].食品与机械,2014,30(6):156~159.

11 刘凯,梁俊玉,肖引,等. 磷酸盐法提取杏仁蛋白的工艺研究[J]. 武警医学,2013,24(9):783~785.

12 马秀婷,肖志刚,孙旭,等. 超声波辅助提取豆渣蛋白工艺优化[J].食品与机械,2013,29(1):108~112.

13 王洪新,胡昌云. 茶叶蛋白质提取及初步纯化研究[J]. 食品工业科技, 2004, 25(12): 69~73.

14 郭荣荣,潘思铁,王可兴. 碱法与酶法提取大米蛋白工艺及功能特性比较研究[J]. 食品科学, 2005, 26(3): 173~177.

15 Wang M, Hettiarachchy N S, Qi M, et al. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate[J]. Journal of Science Food and Agriculture, 1999, 47(2): 411~416.

16 沈莲清,黄光荣,王向阳,等. 茶渣中蛋白质的碱法提取工艺研究[J]. 中国食品学报, 2007, 7(6): 108~112.

17 汪兴平,谢笔钧,程超. 反复冻融法在葛仙米破壁技术上的应用[J]. 食品科学, 2005, 26(3): 139~142.

18 郭卫芸,杜冰,袁根良,等. 反复冻融法破壁啤酒废酵母的研究[J]. 酿酒科技, 2009(3): 103~105.

19 高二东. 紫阳富硒茶中硒形态初步分析与富硒组分的提取[D]. 西安: 陕西科技大学, 2012.

(上接第 139 页)

1 000 mg/kg 样品的检测结果偏差范围为<15%的要求。

采用《食品中对羟基苯甲酸酯类的测定》(GB/T 5009. 31—2003)与本法分别对食用槟榔、酱油、果汁、果酱中对羟基苯甲酸酯的含量进行测定,比对结果见表 10。相对偏差符合《实验室质量控制规范 食品理化检测》(GB/T 27404—2008)附录 F 的要求。

3 结论

本试验建立了采用气相色谱仪一次性同时检测 12 种食品中防腐剂的检验方法。该方法选择了毒性较低、稳定性较好,费用较低的乙酸乙酯作为溶剂。通过涡旋提取 2 min、超声波提取 20 min,待测组分提取完全,分离度好,灵敏度高、干扰少,具有操作简便、效率高、能耗低、时间短等优点,解决了多种防腐剂提取过程过于繁杂的问题,并采用毛细管柱和程序升温进行气相色谱分离测定。本方法的回收率为 92.1%~108.3%,平均回收率 98.5%,回收率标准偏差 3.0%,测定结果准确可靠。通过与标准方法规定的气相色谱方法、液相色谱方法进行比对,结果偏差符合方法学要求。

参考文献

1 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 120—2003 食品中丙酸钠、

丙酸钙的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2011.

2 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 29—2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

3 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 121—2003 食品中脱氢乙酸的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

4 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009. 31—2003 食品中对羟基苯甲酸酯类的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2003.

5 湖南省质量技术监督局. DB43/T 353—2007 食品中富马酸二甲酯测定气相色谱法[S]. 长沙:湖南省质量技术监督局,2007.

6 高杨,郑玉山. 气相色谱法及气相色谱—质谱法测定调味品中的对羟基苯甲酸酯[J]. 中国调味品, 2014, 39(8): 106~108.

7 曹淑瑞,刘治勇,张雷,等. 高效液相色谱法同时测定食品中 6 种对羟基苯甲酸酯[J]. 分析化学, 2012, 40(4): 529~533.

8 王祖翔,周洪斌,蒋俊,等. 气相色谱—串联质谱法测定复合调味料中的微量苯甲酸[J]. 食品与机械, 2011, 27(3): 84~87.

9 陈利国,曹小彦,黄辉,等. 毛细管气相色谱法直接测定食品中 4 种对羟基苯甲酸酯[J]. 食品与机械, 2010, 26(1): 67~69.

10 青岛市质量技术监督局. GB/T 23377—2009 食品中脱氢乙酸的测定 高效液相色谱法[S]. 北京:中国标准出版社,2009.

11 中国标准化研究院. GB/T 23495—2009 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定[S]. 北京:中国标准出版社,2009.