

毛细管气相色谱法同时快速测定饮料中 10 种防腐剂^{*}

杨金玲¹ 江 阳² 薛 勇² 孙成均^{2△}

(¹ 济宁医学院法医学与医学检验学院, 山东 济宁 272067; ² 四川大学华西公共卫生学院研究生, 四川 成都 610041)

摘 要 **目的** 建立饮料中 10 种防腐剂同时快速测定的毛细管气相色谱法。**方法** 样品经乙酸乙酯萃取, FFAP 毛细管色谱柱分离, FID 检测器检测。**结果** 方法线性范围宽, 相关系数为 0.9986~1.000, 回收率为 84.5%~113%, 相对标准偏差为 1.59%~10.32%, 方法检出限为 0.26~3.2mg/L。**结论** 该法简便、高效、经济、环境友好, 适于饮料中 10 种防腐剂同时快速测定。

关键词 毛细管气相色谱法; 饮料; 防腐剂

中图分类号: O657.71 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2013)04-127-03

Simultaneous and rapid determination of ten preservatives in beverage by capillary gas chromatography

YANG Jin-ling, JIANG Yang, XUE Yong, et al

(Department of Forensic and Laboratory Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of ten preservatives in beverage by gas chromatography. **Methods** The analytes in beverage were extracted by ethyl acetate, and then were separated with FFAP capillary column and detected with FID detector. **Results** Linear ranges of the method were wide with correlation coefficients varying from 0.9986~1.000. Recoveries and relative standard deviations (RSDs) were in the range of 84.5%~113% and 1.59%~10.32% respectively. The limits of detection were in the range of 0.26~3.2mg/L. **Conclusion** The method is simple, efficient, cheap, eco-friendly and is suitable for simultaneous determination of 10 preservatives in beverage.

Key words: Capillary gas chromatography; Beverage; Preservatives

食品防腐剂能防止由微生物引起的腐败变质, 延长食品保质期, 已广泛应用于食品中, 其中包括饮料。由于食品防腐剂均具有一定毒性, 须严格按《食品添加剂使用标准》^[1] 规定添加, 不能超标和超范围使用。为方便饮料中多种防腐剂的快速监测, 需建立能同时测定多种防腐剂的检测方法。目前, 食品中防腐剂的测定方法国内外已有许多报道^[2-7]。但现有方法或操作繁琐、试剂消耗量大、成本高或不能同时检测多种防腐剂。本研究建立了能够同时快速检测不同种类饮料中 10 种防腐剂的毛细管气相色谱快速分析方法, 采用茴香内标物质, 优化了样品前处理方法, 故本法具有简便、快速、准确、实用性强等特点, 适用于饮料中多种防腐剂的快速检测。

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱仪, 配备 FID 检测器; 标准品丙酸、苯甲酸甲酯、苯甲醇、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、茴香(内标), 含量均大于 99%。乙酸乙酯、氯化钠、盐酸均为分析纯。

1.2 色谱条件

色谱柱为 FFAP 柱 (SGE, 25m × 0.32mm × 0.25μm); 进样口温度为 250℃, 分流比 10:1。程序升温为初始温度 180℃, 保持 4min; 以 40℃/min 升至 230℃, 保持 8min。程序升流为初始流速 1ml/min, 保持 3min; 以 40ml/min 升至 3ml/min, 保持 9min; 检测器温度为 250℃, 尾吹流量 30ml/min。载气为氮气 (纯度 99.999%), 氢气流量

* [基金项目] 山东省教育厅 2011 年度高校优秀青年教师国内访问学者资助项目

△ [通信作者] 孙成均, E-mail: sunchj2005@yahoo.com.cn

35ml/min, 空气流量 350ml/min。进样量 1 μ l。

1.3 标准溶液的配制

准确称取各标准物质 20.0mg 分别置于 10ml 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容, 配成浓度均为 2.00mg/ml 的标准储备液; 准确称取 10.0mg 置于 10ml 容量瓶中, 用乙酸乙酯定容, 配成浓度为 1.00mg/ml 的内标溶液; 分别吸取一定量各储备液, 用乙酸乙酯逐级稀释成质量浓度分别为 50~400 μ g/ml(丙酸), 20~200 μ g/ml(苯甲酸甲酯与苯甲醇), 20~240 μ g/ml(山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类)的混合标准应用液。

1.4 样品前处理

称取(或吸取)均匀饮料样品 0.50g(0.50ml)于 5ml 离心管中(pH 值 $\geq$ 4 的样品用盐酸酸化至 pH<4.0), 加入少量氯化钠固体, 准确加入 40 μ l 内标溶液和 960 μ l 乙酸乙酯, 漩涡混合 3min, 6000r/min 离心 1min, 吸取上清液置于比色管中, 加入 1ml 乙酸乙酯再提取一次, 合并提取液待测。对于基体复杂的样品, 向提取液中再加 2ml 饱和氯化钠溶液洗涤, 离心后取上清液待测。

1.5 测定

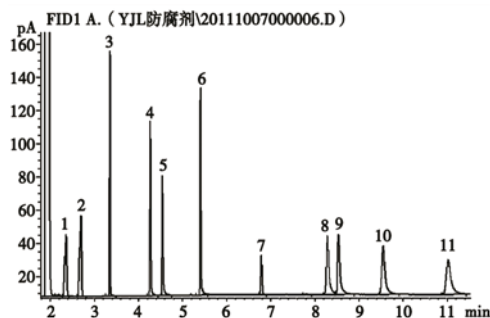
分别进样 1 μ l 混合标准应用液, 以各防腐剂浓度对相应峰面积与内标(萘)峰面积之比绘制标准曲线。同时进样 1 μ l 试样溶液, 根据试样中被测物峰面积与内标峰面积之比, 与标准曲线比较确定进样液中待测物质的含量, 再根据称样量和提取液体积计算样品中防腐剂含量^[8]。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件优化

本实验中各组分沸点和极性差异大, 为实现较好分离, 对色谱条件进行了优化选择。结果表明, 采用恒温 and 恒流模式时, 难以实现完全分离, 故采用程序升温结合程序升流模式。进样口温度低于 200 $^{\circ}$ C 时, 沸点高的对羟基苯甲酸酯类物质难以完全气化, 但温度过高, 与初始柱温差距较大, 部分组分容易在色谱柱中冷凝, 故选择 250 $^{\circ}$ C。较低的检测器温度影响结果的灵敏度, 高于 250 $^{\circ}$ C 时, 无明显变化, 故选择 250 $^{\circ}$ C。由于防腐剂在食品中含量较高, 不分流进样容易造成色谱柱过载, 溶剂峰拖尾, 但当分流比过大时, 分流歧视效应增大, 沸点高的对羟基苯甲酸酯类物质检测灵敏度明显下降, 所以选择 10:1 的分流比。以萘为内标物, 其结构性与待测组分接近, 保留时间位于酸与酯类之间, 各组分含量对其与内标物峰面积之比绘制的标准

曲线线性相关系数在 0.9986~1.000 之间。在优化色谱条件下的标准色谱图见图 1。



1. 丙酸(2.3min); 2. 苯甲酸甲酯(2.6min); 3. 苯甲醇(3.4min);
4. 山梨酸(4.3min); 5. 脱氢乙酸(4.7min); 6. 苯甲酸(5.4min);
7. 萘(6.8min); 8. 对羟基苯甲酸甲酯(8.3min);
9. 对羟基苯甲酸乙酯(8.6min); 10. 对羟基苯甲酸丙酯(9.6min);
11. 对羟基苯甲酸丁酯(11.1min)

图 1 10 种防腐剂的标准色谱图

2.2 样品处理方法优化

采用液-液萃取方式, 经反复实验对比, 发现乙酸乙酯提取效率高, 简化了操作, 且响应值最高。对比了超声提取和漩涡混合提取的效果, 发现漩涡混合提取的效果优于超声提取。由于食品中防腐剂形态多是待测组分的盐类, 如山梨酸钾和苯甲酸钠, 故需用盐酸酸化使其转变成分子态可提高萃取效率。但当试样 pH 低于 4 时, 无需酸化。

试验了氯化钠对萃取效果的影响。结果表明, 当加入氯化钠时, 可有效减少乳化现象, 提高萃取效率。对于基体复杂的样品, 如乳饮料, 其基质效应明显, 提取液直接测定时发现干扰严重, 且峰形变差。故采用饱和氯化钠溶液洗涤提取液后测定, 大大减小了杂质干扰。

2.3 线性范围、线性方程与检出限

在本色谱条件下, 内标工作曲线和标准曲线之间无显著性差异, 故用标准曲线代替工作曲线。方法实际线性范围很宽, 未试验线性范围上限。各组分的线性回归方程、相关系数、以 3 倍噪声分别计算的方法检出限, 见表 1。

表 1 方法线性回归方程、相关系数、检出限(n=6)

防腐剂	回归方程	相关系数	检出限(mg/L)
丙酸	$y=0.0227x-0.278$	0.9986	1.8
苯甲酸甲酯	$y=0.0427x+0.1205$	0.9998	1.3
苯甲醇	$y=0.0485x-0.1852$	0.9998	0.26
山梨酸	$y=0.0342x-0.3064$	0.9999	0.90
脱氢乙酸	$y=0.0215x-0.1883$	1.000	0.78
苯甲酸	$y=0.0382x-0.0929$	1.000	0.41
对羟基苯甲酸甲酯	$y=0.031x-0.1831$	0.9998	1.9
对羟基苯甲酸乙酯	$y=0.033x+0.0156$	0.9992	1.6
对羟基苯甲酸丙酯	$y=0.0343x-0.0996$	0.9999	2.3
对羟基苯甲酸丁酯	$y=0.0388x-0.3285$	0.9991	3.2

2.4 方法的精密度和回收率

以酸乳为样品,加入不同量标准溶液后进行测定,并计算回收率和相对标准偏差(RSD),结果见表 2。除对羟基苯甲酸乙酯低浓度加标回收率在 85.0%以下,其他各组分都在 85.0%~115%之间。

表 2 方法加标回收率与相对标准偏差(n=6)

防腐剂	本底值 (mg/L)	加标量 (mg/L)	测定值 (mg/L)	回收率 (%)	RSD (%)
丙酸	4.31	100	98.6	94.2	3.89
		75.0	67.6	84.5	4.26
		37.5	44.1	106	2.83
苯甲酸甲酯	ND	50.0	52.2	1.04	1.59
		30.0	26.4	87.9	3.68
		20.0	19.0	95.1	2.69
苯甲醇	1.48	50.0	55.6	108	3.90
		30.0	31.0	98.3	4.39
		20.0	22.0	103	2.67
山梨酸	ND	60.0	66.2	110	3.02
		40.0	44.2	110	1.89
		20.0	22.2	111	5.27
脱氢乙酸	ND	60.0	65.8	110	2.90
		40.0	42.0	105	4.67
		20.0	21.4	107	6.70
苯甲酸	10.29	60.0	66.6	93.8	2.08
		40.0	49.2	97.2	4.39
		20.0	27.8	87.7	2.88
对羟基苯甲酸甲酯	ND	60.0	61.7	103	5.01
		40.0	40.6	102	6.44
		20.0	22.7	113	9.68
对羟基苯甲酸乙酯	ND	60.0	56.6	94.3	5.49
		40.0	36.7	91.7	7.38
		20.0	16.3	81.7	10.32
对羟基苯甲酸丙酯	ND	60.0	58.8	97.9	3.03
		40.0	38.4	96.0	5.18
		20.0	20.3	102	7.71
对羟基苯甲酸丁酯	ND	60.0	62.8	105	4.88
		40.0	39.8	99.7	9.46
		20.0	22.2	111	8.19

ND:未检出

2.5 实际样品测定

在市场随机采集不同种类饮料样品 11 份,按本法测定,结果表明,所检饮料中的防腐剂以苯甲酸为主。所检某冰茶饮料中苯甲酸的含量为 0.284g/kg,超出 GB 2760—2011《食品添加剂使用

标准》中规定(苯甲酸在碳酸型饮料中最大允许添加量 0.2g/kg),而其他样品中苯甲酸含量均未超出国家标准。在果酒样品还同时检测出山梨酸,但未超过国家标准。在所检饮料样品中均未检出对羟基苯甲酸酯类防腐剂。丙酸在饮料中禁止添加,但在某酸乳饮料中仍检出丙酸。值得注意的是,在检出含有防腐剂的 6 种样品中,只有 2 种饮料注明含有防腐剂,其他均未注明。而我国新颁布的《食品添加剂使用标准》只提出苯甲醇可以添加在食品中,但未明确规定在食品中的添加限量。这说明,饮料行业不规范使用食品防腐剂的现象还较常见,某些产品的质量仍然不容乐观,而我国国家卫生标准仍然有待进一步完善。

参考文献:

- [1] GB 2760-2011[M]. 食品添加剂使用标准,2011:5-72.
- [2] 陈琦,凌云,张峰,等. 搅拌棒吸附萃取结合气相色谱/质谱/质谱法同时测定饮料和果酱中的 7 种防腐剂[J]. 分析化学, 2010,38(8):1156-1160.
- [3] 向俊,徐建双,毛丽秋. 液相微萃取/气相色谱-质谱法分析食品中的防腐剂和抗氧化剂[J]. 分析科学学报,2011,26(2): 187-190.
- [4] Wang LL, Zhang X, Wang Y, et al. Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography[J]. Anal Chim Acta, 2006, 577(1): 62-67.
- [5] Garcia-Jimenez JF, Valencia MC, Capitán-Vallvey LF. Simultaneous determination of antioxidants, preservatives and sweetener additives in food and cosmetics by flow injection analysis coupled to a monolithic column[J]. Anal Chim Acta, 2007, 594(2): 226-233.
- [6] 向俊,漆爱明,毛丽秋. 中空纤维膜液相微萃取技术/气相色谱-质谱法对食品中防腐剂与抗氧化剂的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(5): 560-563.
- [7] Scotter MJ, Castle L, Roberts DP, et al. Development and single-laboratory validation of an HPLC method for the determination of cyclamate sweetener in foodstuffs[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2009, 26(5): 614-622.
- [8] Yang JL, Li D, Sun CJ. Simultaneous determination of eleven preservatives in foods using ultrasound-assisted emulsification micro-extraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Anal Methods, 2012, 4(10): 3436-3442.

(收稿日期 2013-02-10)