

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.01.013

超声分散液相微萃取—气相色谱法 同时测定食品中 11 种防腐剂^{*}

杨金玲^{1,2} 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, 四川 成都 610041)

摘 要 **目的** 建立食品中 11 种防腐剂的超声分散液相微萃取—气相色谱法。**方法** 样品经 9:1 二氯甲烷-乙酸乙酯超声分散液相微萃取, FFAP 毛细管色谱柱分离、FID 检测器检测。**结果** 方法线性范围为 0.068~400 μg/ml, 相关系数为 0.9990~0.9999, 回收率为 84%~122%, 相对标准偏差为 3.11%~5.83%, 方法检出限为 0.026~0.23 μg/ml。**结论** 该法简便、高效、经济、环境友好, 适于不同食品中 11 种防腐剂同时快速测定。

关键词 超声分散液相微萃取; 气相色谱法; 食品; 防腐剂

中图分类号: R155.5 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-9760(2015)02-047-05

Simultaneous determination of eleven preservatives in food by capillary column-gas chromatography after ultrasound-assisted dispersive liquid—liquid microextraction

YANG Jinling, JIANG Yang, XUE Yong, SUN Chengjun

(Institute of forensic Medicine and Laboratory Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Objective To establish a method for simultaneous determination of eleven preservatives in foods by gas chromatography after ultrasound-assisted dispersive liquid—liquid microextraction. **Methods** The target preservatives in food samples were ultrasound-assisted dispersive liquid—liquid microextracted, and then they were separated with FFAP capillary column and detected with FID detector. **Results** Linear ranges of the method were between 0.068 and 400 μg/mL with correlation coefficients varying from 0.9990 to 0.9999. Recoveries and relative standard deviations (RSDs) were in the range from 84% to 122% and from 3.11% to 5.83%, respectively. The limitation of detection was in the range from 0.026 μg/ml to 0.23 μg/ml with enrichment factors ranging from 57 to 225 for all target compounds. **Conclusion** The method is simple, efficient, cheap, eco-friendly and is suitable for simultaneous determination of 11 preservatives in different foods.

Keywords: Ultrasound-assisted dispersive liquid—liquid microextraction; Gas chromatography; Food; Preservatives

苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类等防腐剂在食品行业应用十分广泛, 但有的企业滥用防腐剂, 对消费者健康带来潜在危害, 所以, 我国对食品防腐剂的使用进行了严格规定^[1-3]。目前, 国内外报道的方法主要有气相色谱法^[4-7]、高效液相色谱法^[8-9]等, 但侧重多组分定性筛选或少量组分定量研究, 且样品处理方法以常规液液萃取和固相萃取为主。液液萃取消耗有机溶剂较多; 固相萃

取柱成本高, 操作繁琐。

超声辅助分散液相微萃取(DLLME)^[3,6]是一种微型化的液液萃取, 不加分散剂, 利用超声波的强化扩散和乳化效应, 加速待测组分在两相间分散。集采样、萃取和浓缩于一体, 操作简单快速、成本低、富集效率高, 对环境友好。为加大食品安全监管力度, 需建立简便快速同时测定多种防腐剂的方法。本文首次采用茴香脑为内标物, 以微量二氯甲烷—乙酸乙酯为混合提取溶剂, 采用超声分散液相微萃取—气相色谱法, 只需简单样品处理即可同时测定不同基质食品中 11 种防腐剂, 报道如下。

* [基金项目] 2013 济宁市科技局项目(编号: 13jnw61); 2013 济宁医学院科研项目(编号: JY2013KJ028)

△ [通信作者] 孙成均, E-mail: sunchj2002@163.com

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂

Agilent6890N 气相色谱仪;高速离心机;超声波清洗器。富马酸二甲酯(DMF)与 2-苯基苯酚(OPP)均购于德国 Augsburg 公司;脱氢乙酸(DHA)购于美国 Chemservice 公司;苯甲酸甲酯(MEB)、苯甲醇(BEA)、山梨酸(SA)、苯甲酸(BA)、对羟基苯甲酸甲酯(MEP)、对羟基苯甲酸乙酯(ETP)、对羟基苯甲酸丙酯(PRP)、对羟基苯甲酸丁酯(BUP)均购于中国天津光复精细化工研究所,莪购于日本和光制药。各物质含量均大于 99.5%。二氯甲烷、三氯甲烷、乙酸乙酯、氯化钠、盐酸均为分析纯。实验用水为超纯水(18.2 MΩ·cm)。

1.2 标准溶液配制

准确称取各标准物质 20.0mg 分别置于 10ml 容量瓶中,用二氯甲烷-乙酸乙酯(9:1,简称 DEA 溶剂)定容,配成浓度均为 2.00mg/ml 的标准储备液;准确称取莪 10.0mg 置于 10ml 容量瓶中,用 DEA 溶剂定容,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 DEA 溶剂逐级稀释成质量浓度分别为 12.5~200μg/ml (富马酸二甲酯与 2-苯基苯酚)和 25~400μg/ml (苯甲酸甲酯、苯甲醇、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。

1.3 色谱条件

色谱柱为 FFAP 柱(澳大利亚 SGE 公司,25 m×0.32 mm×0.25μm);进样口温度为 270℃,分流比 10:1。初始温度 130℃,保持 3.5min;以 30℃/min 速率升至 230℃,保持 9.5min。流速 3.0ml/min;FID 检测器温度为 270℃,尾吹流量 30ml/min。载气为氮气(纯度 99.999%),氢气与空气流速分别为 35ml/min 和 400ml/min。进样量 1μL。

1.4 样品制备

固体和半固体样品经搅碎混匀后,准确称取 0.5g 左右,加入内标物莪标准溶液 0.10ml (100μg),用水定容至 25ml,超声 2min,备用。液体样品定容后无需超声,其他操作同固体样品。

1.5 超声分散液相微萃取

取 1ml 样液于 2ml 具塞玻璃离心管中,加入少量浓盐酸调溶液 pH 3.0,再加 0.35g NaCl,振摇至完全溶解。加入 100μl DEA 溶剂,超声 3min,室温

下 8000rpm 离心 2min。取 1μl 进样分析。

1.6 标准曲线制备

分别进样 1μl 混合标准系列应用液,各组分离完全,见图 1。

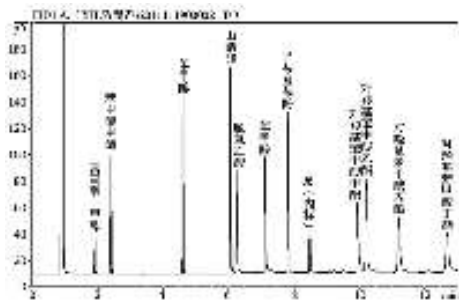


图 1 11 种防腐剂与内标的混合标准色谱图

1.7 结果计算

进样液中被测物含量由内标标准曲线求得,再由下式计算样品中待测组分含量:

$$\text{样品中防腐剂含量(g/kg)} = \frac{25CV}{1000W}$$

式中:C 为进样液中由内标标准曲线计算得出的待测组分含量(μg/ml);V 为萃取剂体积(ml);W 为样品质量(g)。

2 结果与讨论

2.1 萃取条件优化

2.1.1 萃取溶剂及用量选择 根据待测组分的极性与溶解性特征,比较了单独使用 100μL 三氯甲烷、二氯甲烷及 100μL 不同比例的二氯甲烷、三氯甲烷与乙酸乙酯和正丁醇分别混合对待测组分的萃取效果。结果见图 2。实验发现,单独使用三氯甲烷或二氯甲烷时,回收率均低于 50%。二氯甲烷、三氯甲烷与乙酸乙酯混合萃取效果均优于与正丁醇混合,各组分回收率为 80%~122%。这可能与正丁醇的沸点明显高于其他溶剂有关。由于二氯甲烷毒性低于三氯甲烷,故选择二氯甲烷-乙酸乙酯做萃取溶剂,并进行了 5:1,7:1,9:1,11:1 的溶剂配比实验,混合溶剂密度分别为 1.123, 1.276, 1.287, 1.294g/ml。结果表明,使用 9:1 的二氯甲烷-乙酸乙酯时,既可以得到稳定的分散体系,可在下层收集到约 80% 的有机相,且待测组分的响应值最高。故选择 9:1 的二氯甲烷-乙酸乙酯作为萃取溶剂。

实验考察了萃取剂为 50~200μl 对萃取效果的影响。结果表明,萃取剂为 150~200μL 时,得到的有机相较多,但相应有机相中组分浓度低。萃

取剂为 50 μ l 时,得到的有机相过少,收集困难。故选择萃取剂用量为 100 μ l。

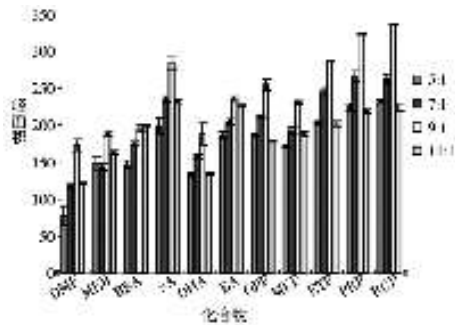


图 2 二氯甲烷-乙酸乙酯比例对萃取效果的影响

2.1.2 pH 值影响 实验表明,在 pH $\geq$ 10 的碱性条件下,酯类防腐剂的回收率均低于 30%,这可能与酯被水解有关。考察了溶液 pH 值为 1~9 时对萃取效果的影响(图 3)。

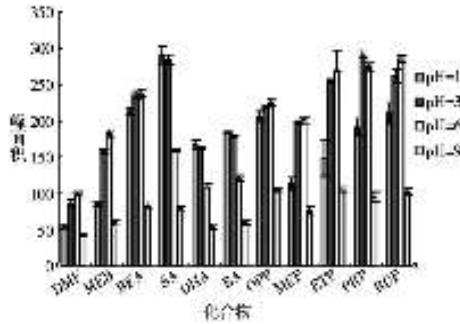


图 3 pH 值对萃取效果的影响

由图 3 可见,在 pH=1 或 9 时酯类的萃取量显著低于 pH=3 或 6。这可能与酯类在强酸或碱性条件下不稳定有关。酸类组分的峰面积随 pH 值增大而减小,当 pH 值=9 时,山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸与苯甲醇、2-苯基苯酚的峰面积迅速减小,这是由于酸类组分在水溶液中以离子态存在,酸化后才可以转化为分子态易被萃取。而苯甲醇、

2-苯基苯酚在碱性条件下性质不稳定。当 pH = 3.0 时,各组分的萃取量均较高,精密度好,故选择 pH= 3.0。

2.1.3 盐效应影响 已有文献^[4]报道,当溶液中无机盐浓度增大时,有机溶剂与水的互溶比改变,组分在水中的溶解度降低。实验考察了不同 NaCl 浓度对萃取效果的影响,结果表明,随氯化钠浓度增加,富马酸二甲酯、苯甲酸甲酯、苯甲醇、山梨酸、脱氢乙酸、苯甲酸、对羟基苯甲酸甲酯的萃取量逐渐增大,2-苯基苯酚、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萃取量却减小,这说明不同组分受氯化钠的影响不同。当在 1ml 溶液中加入 0.35g 氯化钠时,各组分相对标准偏差 $<$ 5%,回收率为 80%~120%。但加入 NaCl $<$ 0.17g 时,相对标准偏差 $>$ 11%,回收率为 60%~150%。故选择氯化钠用量为 0.35g。

2.1.4 超声时间影响 实验发现,超声时间不同时,形成的体系浑浊程度不同。于是考察了超声时间为 1~7min 对萃取效果的影响。结果发现,3min 时各组分的萃取量基本达到最大值。

2.2 内标物的选择

为消除样品处理和测定过程对定量带来的误差,采用内标法定量。由于葱的结构与性质与待测组分接近,保留时间位于酸、醇、酚与酯类防腐剂之间,且样品中不含葱,故选择葱为内标。

2.3 方法性能指标

- 2.3.1 方法线性范围、检出限、定量下限和精密度** 方法检出限以 3 倍信噪比计算;方法定量下限以 10 倍信噪比计算。见表 1。
- 2.3.2 选择可乐、月饼、火腿、榨菜和白醋等不同基质样品,加入高中低不同水平标准溶液进行加标回收试验。见表 2。**

表 1 方法的回归方程、检出限、定量下限和精密度

防腐剂	回归方程	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	相关系数/r	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$	定量下限/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	精密度/%
富马酸二甲酯	$y=0.0097x+0.0248$	0.0683~200	0.9993	0.2050	0.683	3.38
苯甲酸甲酯	$y=0.0106x-0.0678$	0.447~400	0.9994	0.1340	0.447	1.11
苯甲醇	$y=0.0087x-0.0145$	0.168~400	0.9992	0.0503	0.168	5.72
山梨酸	$y=0.0096x+0.0225$	0.151~400	0.9999	0.0454	0.151	5.61
脱氢乙酸	$y=0.007x+0.0086$	0.329~400	0.9994	0.0986	0.329	5.83
苯甲酸	$y=0.0072x+0.0172$	0.247~400	0.9998	0.0739	0.247	3.40
2-苯基苯酚	$y=0.0154x+0.0055$	0.207~200	0.9998	0.0262	0.207	3.63
对羟基苯甲酸甲酯	$y=0.008x-0.0147$	0.420~400	0.9999	0.1260	0.420	2.95
对羟基苯甲酸乙酯	$y=0.0107x-0.0674$	0.324~400	0.9998	0.0972	0.324	1.70
对羟基苯甲酸丙酯	$y=0.0088x+0.0911$	0.560~400	0.9990	0.1680	0.560	1.48
对羟基苯甲酸丁酯	$y=0.0089x-0.0624$	0.758~400	0.9990	0.2270	0.758	1.33

表 2 方法回收率(%, n=3)

防腐剂	加标量/ $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	可乐	火腿	月饼	白醋	榨菜
富马酸二甲酯	12.5	92±8	119±8.8	108±5	101±10	91±12
	50	110±1	109±4	109±5	113±4	108±10
	100	100±3	98.6±1.5	103±7	98±2	112±5
苯甲酸甲酯	25	101±13	96±10	100±6	105±9	113±6
	100	105±4	102±5	107±3	107±1	93±1
	200	101±2	98.8±2	100±2	103±1	87±0
苯甲醇	25	98±5	98.6±3	107±11	106±6	103±10
	100	101±2	102±3	102±5	108±1	96±2
	200	103±2	98.8±1	102±3	107±0	97±2
山梨酸	25	98±4	93.2±7	92.6±2	104±6	85±6
	100	110±1	92.3±10	105±6	106±1	88±2
	200	106±1	96.7±7	111±5	108±4	101±3
脱氢乙酸	25	108±12	104±8	100±9	108±14	86±6
	100	101±1	97.3±3	96.8±3	106±5	111±4
	200	102±2	101±1	94.6±8	107±1	96±2
苯甲酸	25	99±7	106±9	98.0±5	85±8	97±4
	100	103±1	102±1	111±1	92±2	85±3
	200	99±1	97.5±2	106±1	104±0	96±2
2-苯基苯酚	12.5	99.4±13	114±7	95.6±9	95.7±9	103±7
	50	113±3	106±1	111±1	111±2	94±3
	100	100±3	101±3	107±11	105±1	98±1
对羟基苯甲酸甲酯	25	98±10	98.7±11	106±8	93±3	112±8
	100	99±3	99.3±1	106±3	91±4	93±7
	200	102±2	98.5±5	108±1	103±2	99±1
对羟基苯甲酸乙酯	25	92±6	113±7	96.1±2	100±5	99±8
	100	107±0.3	107±1	112±3	93±3	92±3
	200	106±2.3	107±2	109±0.5	97±1	101±1
对羟基苯甲酸丙酯	25	86±7.2	84.3±8	95.4±4	86±3	92±3
	100	110±2.2	96.9±2	103±3	113±3	97±1
	200	106±0.6	104±2	102±0.3	112±3	97±2
对羟基苯甲酸丁酯	25	96±3	100±4	106±4	102±6	84±5
	100	113±3	93.3±1.5	114±3	110±3	98±2
	200	111±2	104±2	104±1	98±2	91±3

3 方法应用

应用本法对 78 个食品样品进行了检测,其中 47 个样品检出防腐剂,总检出率为 60.2%。有 3 个样品同时检出多种防腐剂。其中,苯甲酸检出率为 59.6%;山梨酸检出率为 25.5%;脱氢乙酸检出率 21.3%。所检糕点样品中防腐剂以脱氢乙酸为主,饮料样品中防腐剂以苯甲酸为主,在白醋中检出对羟基苯甲酸乙酯,在糕点、饮料、火腿、调料与

腌渍类食品中均有山梨酸检出,在白醋中检出对羟基苯甲酸乙酯。而在 10 种水果样品中均未检出防腐剂。

志谢:本课题得到济宁市科技局项目《市销预包装食品中重金属与防腐剂的调查分析》(项目编号 2013jnnwk61)和济宁医学院科研项目《济宁市预包装食品中防腐剂与重金属的检测及分析》(项目编号:JY2013KJ028)资助,特此志谢!

(下转第 56 页)

件在簇内创建资源复本,然后删除索引文件。簇内搜索复本创建策略流程图如图2所示。

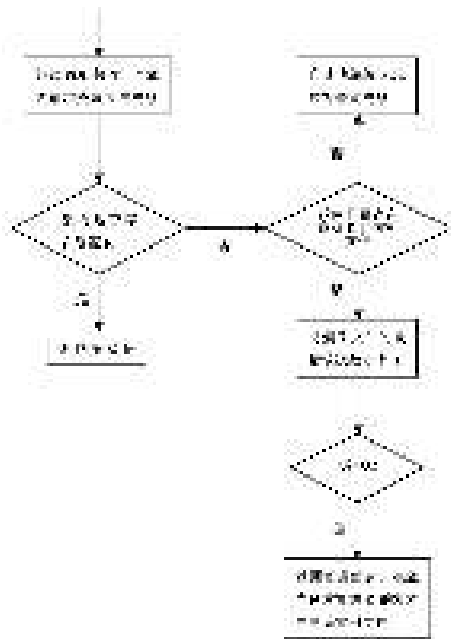


图2 簇内搜索副本创建策略流程图

3 结束语

传统的C/S模式无法适应个人数字图书馆发展的需求,具有分散性的P2P技术与数字图书馆结合已成为大势所趋。复本问题在个人数字图书馆网络中显现,文章探讨了混合式P2P网络结构中个人数字图书馆的复本策略,此策略可以为个人数字图书馆网络系统的可靠性和可用性提供保障。

(上接第50页)

参考文献:

- [1] GB 2760-2011, 食品添加剂使用标准[S].
- [2] GB/T5009.121-2003, 食品中脱氢乙酸的测定[S].
- [3] GB/T 5009.29-2003, 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S].
- [4] Farajzadeh M A, Djozan D J, Bakhtiyari R F. Use of a capillary tube for collecting an extraction solvent lighter than water after dispersive liquid-liquid microextraction and its application in the determination of parabens in different samples by gas chromatography-flame ionization detection[J]. Talanta, 2010, 81(2): 1360-1367.
- [5] Wang L L, Zhang X, Wang Y P, 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(6): 62-

参考文献:

- [1] 陈好敏. 个人数字图书馆研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2012.
- [2] 徐丽, 吕国. P2P环境下个人数字图书馆资源共享研究[J]. 农业图书馆情报学报, 2012, 24(3): 23-24, 42.
- [3] Khafa F. Data replication and synchronization in P2P collaborative systems[C]//Advanced Information Networking and Applications(AINA), 2012 IEEE 26th International Conference on. IEEE, 2012: 7-7.
- [4] Shen H, Liu G. A lightweight and cooperative multifactor considered file replication method in structured P2P systems[J]. Computers, IEEE Transactions on, 2013, 62(11): 2115-2130.
- [5] Potlog A D, Khafa F, Pop F, et al. Evaluation of optimistic replication techniques for dynamic files in P2P systems[C]//P2P, Parallel, Grid, Cloud and Internet Computing (3PGCIC), 2011 International Conference on. IEEE, 2011: 259-265.
- [6] 吴洋. 国内个人数字图书馆研究现状及国外实践扫描[J]. 长春金融高等专科学校学报, 2013, 28(1): 93-96.
- [7] 汪继南. 覆盖率与复本量[J]. 大学图书馆学报, 1990, 8(3): 45-47.
- [8] 王巍, 司加全, 玄世昌, 等. 基于查询请求分析的P2P访问热点负载均衡[J]. 计算机工程, 2012, 38(11): 111-113.
- [9] 廖季萍. 基于P2P的数据资源共享研究[D]. 长春: 长春理工大学, 2014.
- [10] 王小娟, 周竹荣. 基于leader-follower算法的超级节点研究[J]. 计算机应用, 2012, 32(1): 143-146, 162.

(收稿日期 2015-01-09)

67.

- [6] Dong C Z, Wang W F. Headspace solid-phase microextraction applied to the simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in beverages[J]. Anal Chim Acta, 2006, 562(2): 23-29.
- [7] 杨金玲, 江阳, 薛勇, 等. 毛细管气相色谱法快速测定饮料中10种防腐剂[J]. 济宁医学院学报, 2013, 36(2): 127-129.
- [8] Ganzera M, Aberham A, Stuppner H. Development and validation of an HPLC/UV/MS method for simultaneous determination of 18 preservatives in grapefruit seed extract[J]. Food Chem, 2006, 54(11): 3768-3772.
- [9] Li X P, Chao J, Sun Y Y. Analysis of synthetic antioxidants and preservatives in edible vegetable oil by HPLC/TOF-MS[J]. Food Chem, 2009, 113(7): 692-700.

(收稿日期 2015-01-15)