

食品中对羟基苯甲酸乙酯, 丙酯含量分析方法

卫生部食品卫生监督检验所

王竹天 宋凤英 高鹤娟

对羟基苯甲酸酯类 (Ester of 4-hydroxybenzoic acid) 又名尼泊金酯 (parabens) 是一种新型食品防腐剂, 其安全性大, 抑菌能力优于苯甲酸, 山梨酸, 国外已于70年代末广泛地应用于食品中。我国已于1987年正式批准对羟基苯甲酸乙酯, 丙酯为食品添加剂。本文目的是建立一种测定方法。其测定方法国外虽已有报导, 主要以液相和气相色谱为主, 其中气相色谱方法较繁琐, 操作费时 [1-6]。我们在参考文献方法的基础上, 简化操作步骤, 样品不经衍化直接提取测定。本方法准确度及精密度良好, 最低检测限在0.05 μg , 同时还可以测定苯甲酸山梨酸。

1 实验方法

1.1 试剂

1.1.1 乙醚: 重蒸

1.1.2 丙酮: 重蒸

1.1.3 1%碳酸氢钠溶液

1.1.4 饱和氯化钠溶液

1.1.5 1+1 盐酸

1.1.6 无水硫酸钠

1.1.7 对羟基苯甲酸乙酯, 丙酯混合标准液的配制: 准确称取对羟基苯甲酸乙酯、丙酯标准品用丙酮配成1 mg/ml的标准储备液, 使用时用丙酮稀释成混合标准工作液 (每个品种浓度为50~1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$)。

1.2 仪器

1.2.1 气相色谱仪: Shimadzu GC-9A附有FID

1.2.2 KD浓缩器 (或旋转蒸发仪)

1.3 提取与净化:

1.3.1 酱油、醋、果汁: 称取5.0g样品于125ml分液漏斗中, 加入1ml 1+1盐酸, 10ml饱和氯化钠溶液, 摇匀。分别以75、50、50ml乙醚提取三次, 每次2min, 静置分层后弃去下层, 合并乙醚层于

Egan, ed, Environmental Carcinogens Selected Methods of Analysis. Lyon, International Agency for Research on cancer, pp.326-347.

[2] Pohland, A.E.D Thorpe, C. W. (1982). Mycotoxins. In: Bowman, M. C., ed, Handbook of Carcinogens

and Hazardous Substances. New York, N. Y., Marcel Dekker, Inc., pp.303-360

[3] Thorpe, C.W. (1974) Analysis for penicillic acid by gas-liquid chromatography. J. Assoc. off. Anal Chem., 57, 861-865.

250 ml分液漏斗中,加10 ml饱和氯化钠溶液洗涤一次,弃去水层,再分别以1 %碳酸氢钠溶液洗涤三次,每次30 ml,弃去水层。用滤纸吸去漏斗颈部水份,塞上脱脂棉,加入10g无水硫酸钠于室温放置30 min。将乙醚液转移至K D浓缩器上浓缩近干,然后吹入氮气余尽乙醚,用丙酮定容至1 mg/ml,供色谱分析。

1.3.2 果酱:称取5 g样品于125 ml具塞试管中,加入1 ml 1+1盐酸,10 ml饱和氯化钠,摇匀,分别以50、30、30 ml乙醚提取三次,每次2 min,用滴管把乙醚层转移至250 ml分液漏斗中,然后按1项加入10 ml饱和氯化钠……操作。

1.4 色谱分析条件:色谱柱:2 m×3 mm玻璃柱内装涂有3 % SE—30固定液的Chromosorb WAWDMC S60—80目担体。仪器条件:柱温170℃,进样口220℃氮气40 ml/min,氢气50 ml/min,空气500 ml/min。

1.5 测定计算:

分别取1 ml标准系列溶液进色谱仪分析,测得其峰面积与含量的关系,绘制标准曲线。样品进样1 μl测定其峰面积与标准曲线比较定量。

$$X = \frac{A \times 1000 \times 1000}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000}$$

X——样品中对羟基苯甲酸酯含量
(g/kg)

A——测定样品中对羟基苯甲酸酯含量
(μg)

V_1 ——样品制备各液体积(ml)

V_2 ——样品进样体积(μl)

m——样品质量(g)

2 结果与讨论

2.1 对羟基苯甲酸、乙酯、丙酯的色谱分离。

2.1.1 对羟基苯甲酸乙酯,丙酯结构相似,色谱分离较为困难,我们选择了(1) 5 % DEG S chromosorb WAWDMC S(60—80目), (2) 1 % OV—17 chromosorb WAWDMC S(60—80目) (3) 3 % SE—30 chromosorb WAWDMC S(60—80目)

三种色谱柱进行分离比较(1)和(2)两种柱不能把二种化合物完全分离,第(3)种柱分离效果较理想。

2.2.2 柱温影响:本方法选择柱温以150℃~180℃温度范围,实验结果选定Tc 170℃效果最好,低于该温度分离有拖尾现象,高于该温度出峰太快,乙酯,丙酯不能安全分离。

2.2 样品前处理实验:本方法是在酸性条件下用乙醚直接提取样品中的对羟基苯甲酸乙酯、丙酯。除酱油外,其它样品很少发生乳化现象,因此,在提取酱油时不能剧烈震荡,如出现轻微乳化层可以放一些固体氯化钠破坏乳化层,另外可以增加有机溶剂量

1 %碳酸氢钠溶液呈弱碱性,净化样品时不会使对羟基苯甲酸酯损失,同时可以有效地除去样品中的苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸,净化用的水溶液可再次利用测定苯甲酸,山梨酸,脱氢乙酸。

无水硫酸钠一定要放置30 min后才能减压浓缩提取液,否则会在浓缩管中出现水溶液,影响测定。

2.3 干扰:

2.3.1 本方法未出现干扰物质,在对羟基苯甲酸酯类出峰保留时间内未见山梨酸,苯甲酸出峰。

2.3.2 未经重蒸的乙醚在乙酯相应的保留时间会出杂质峰,影响测定结果。

2.3.3 个别样品浓缩后会出一些色素,不干扰本方法测定。

2.4 回收率与方法精密度