

tagenic Activity of Vomitoxin (4-Deoxynivalenol) in a Hepatocyte-Mediated Mutation Assay With V79 Chinese Hamster Lung Cells. *Cancer Lett* 1983;20:29.

[3]. Bradlaw JA, et al. Evaluation of Purified 4-Deoxynivalenol (Vomitoxin) for Unscheduled DNA Repair Assay. *Fd Chem Toxic* 1985;23:1063.

[4]. Sheu CW, et al. Morphological Transformation of BALB/3T3 Mouse Embryo Cells in Vitro by Vomitoxin. *Fd Chem Toxic* 1988;6:243.

[5]. Ueno Y. Mode of Action of Trichocenes. *Pure Appl Chem* 1977;49:1737.

## 实验技术

# 食品中脱氢乙酸及山梨酸、 苯甲酸的气相色谱测定

黑龙江省食品卫生监督检验所 杨征武 肖白曼 张家麟 张海东

脱氢乙酸(DHA)及其盐类是一种食品防腐剂,对食品中霉菌、酵母菌、腐败菌有广泛的抑制作用。pH值呈酸性时作用很强,pH值中性时也有效。脱氢乙酸在美、日等国应用较早。在黑龙江省其商品名称为“酸菜鲜”,现腌制酸菜时已多被采用。1986年,我国国家标准(GB2760—86)规定腐乳、什锦酱菜、原浆桔汁中脱氢乙酸的最大使用量为0.3g/kg。

国外报道了分光光度法<sup>[1,2]</sup>,薄层层析<sup>[3]</sup>和气相色谱法<sup>[5-7]</sup>测定奶酪<sup>[1,4]</sup>、南瓜<sup>[3,5]</sup>葡萄酒<sup>[4,5,9]</sup>、油<sup>[7]</sup>和啤酒<sup>[8]</sup>等样品中的脱氢乙酸。国内尚未见有关报道。文献介绍的方法因乳化严重而不适合组成复杂的腐乳样品的分析。本文报告了腐乳、什锦酱菜、原浆桔汁和酸菜等样品中脱氢乙酸的测定方法,采用酸—碱液分配,甲醇、水—三氯甲烷提取体系,大大减少了乳化,提取液不需浓缩可直接进样测定。在5%DEGS+1%H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>色谱柱上分离,用FID检测,取得了满意的结果。并可同时分析山梨酸、苯甲酸。本方法操作简单、快速、准确适合多种类食品的分析。脱氢乙酸、山梨酸、苯甲酸在0~1.0mg/ml测量范围内,线性关系良好,相关系数 $\geq 0.9990$ ;在0.1

~0.5g/kg含量水平,添加回收率分别为96.6~101.2%;83.7~104.4%;90.9~109.3%,其变异系数分别为1.8~7.3%;4.0~7.9%;5.3~7.3%,最小检测浓度分别为0.018g/kg;0.007g/kg;0.013g/kg。

## 1. 材料与试剂

### 1.1 仪器与试剂

日本岛津GC-7A型气相色谱仪,具有FID检测器和C-EIB型数据处理机。

康氏振荡器;

125ml分液漏斗;

250ml具塞磨口三角瓶;

25ml容量瓶。

脱氢乙酸纯度为99%,

山梨酸、苯甲酸、三氯甲烷、甲醇、石油醚均为分析纯;

6NHCl溶液、3N NaOH溶液;

标准贮备液脱氢乙酸、山梨酸、苯甲酸浓度均为2mg/ml;

标准使用液以上述贮备液稀释得0, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40, 0.50, 1.0mg/ml标准系列和0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.10mg/ml标准系列。

### 1.2 提取净化

#### 1.2.1 原浆桔汁、浓缩果汁等液体样品

称取10g 样品置于125ml 分液漏斗中, 加入2ml 6NHCl 溶液, 分两次加10ml 三氯甲烷。振摇1min, 静止分层后, 将三氯甲烷层合并于25ml 容量瓶中, 并用三氯甲烷稀释至刻度, 待测定用。

#### 1.2.2 腐乳样品

先将样品温合捣碎, 称均质样品10g, 置于250ml 具塞三角瓶中, 加入石油醚(沸点60-90℃) 10ml, 再加入2ml 3N NaOH 溶液及35ml 甲醇水溶液(55:45), 振荡30min, 静止片刻, 经快速滤纸过滤, 准确吸取滤液10ml 置于125ml 分液漏斗中, 酸化、萃取操作同1.2.1, 如萃取时出现乳倾, 可将乳化层转移至另一分液漏斗中, 以少量三氯甲烷洗提, 合并同一容量瓶中, 定容后, 待测定用。

#### 1.2.3 什锦酱菜

称取经捣碎的样品10g, 置于250ml 具塞三角瓶中, 加入2ml 3N NaOH 溶液, 35ml 蒸馏水, 振荡30min, 过滤, 取滤液10ml 置于125ml 分液漏斗中, 加4ml 6NHCl, 酸化、萃取同1.2.1。

### 1.3 色谱条件

#### 1.3.1 色谱柱装填涂以5% DEGS +

1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 的 Chromosorb W · DMCS (80~100目) 的2m × 3mm id 玻璃柱;

柱温: 160℃,

进样口及检测室温: 200℃,

载气(N<sub>2</sub>) 流速: 500ml/min,

氢气(H<sub>2</sub>) 流速: 500ml/min。

#### 1.3.2 测定

原浆桔汁等液体样品: 衰减为4, 量程为10<sup>2</sup>, 使用0.10~1.0mg/ml 标准系列溶液。

酱菜、腐乳等样品: 衰减4, 量程改为10, 使用0.01~0.10标准系列溶液。

标准系列溶液和样品提取液进样量均为1ul。以保留时间定性, 峰面积定量。按标准曲

线计算提取液中被测组份浓度, 样品中脱氢乙酸、山梨酸、苯甲酸的含量(X<sub>i</sub>)按下式计算:

$$X_i = \frac{A_i \times V \times 25 \times 1000}{m \times 10 \times 1000}$$

X<sub>i</sub>——样品中三种酸的含量 g/kg;

A<sub>i</sub>——提取液中三种酸的含量 mg/ml;

V——碱化时水或甲醇水相总体积 ml;

(V = 水或甲醇水体积35ml + 3N NaOH 溶液体积2ml + 样品中水份体积);

25——提取液定容体积(ml);

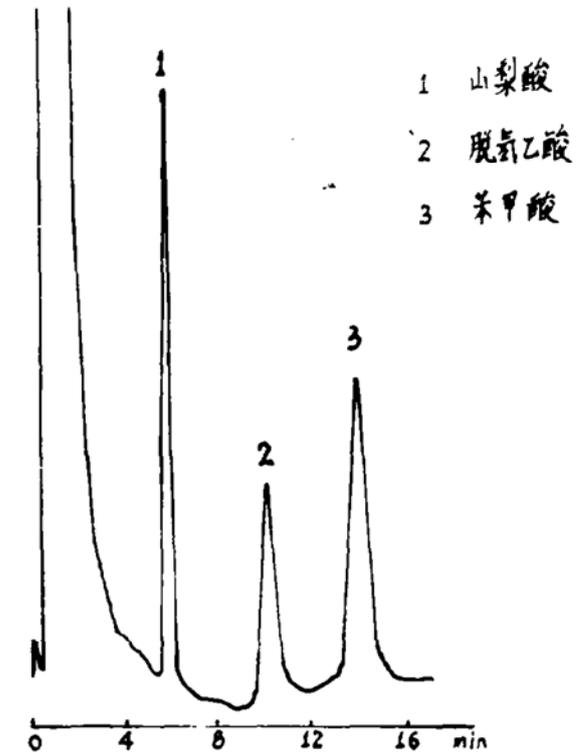
10——萃取用水或甲醇水相体积(ml);

m——样品质量(g)。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准谱图

本试验对最佳操作条件进行了选择, 其结果见方法与操作部分标准溶液浓度为0.04mg/ml 衰减4, 量程10, 标准谱图见图1。



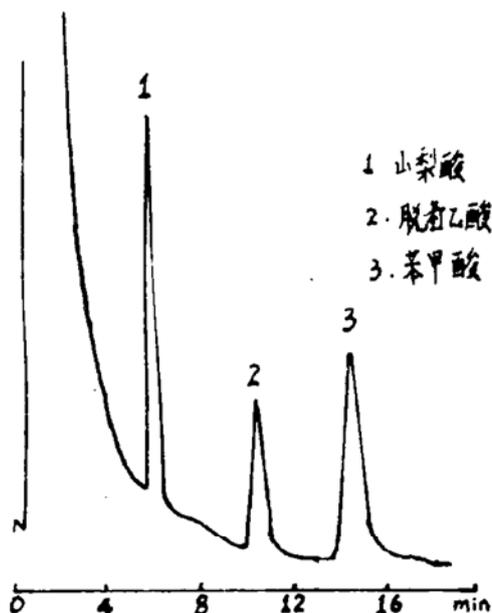
(图1 标准谱图)

### 2.2 提取与净化

2.2.1 腐乳成份复杂, 蛋白质、脂肪含量高, 加入石油醚可溶解脂肪类物质, 加入氢氧化钠可使脱氢乙酸、山梨酸、苯甲酸在碱性条件下溶解于甲醇水相, 蛋白质在碱性条件

下不溶于水相,从而使脱氢乙酸等三种酸与蛋白质、脂肪分离,测定其含量时不受腐乳复杂组成的干扰。加入甲醇水(55:45)溶液可减少三氯甲烷提取时的乳化<sup>[10]</sup>。3N NaOH 用量

2ml 或3ml 对测定结果无明显影响。取腐乳样品添加三种酸均为0.3g/kg 的回收色谱图见图2。

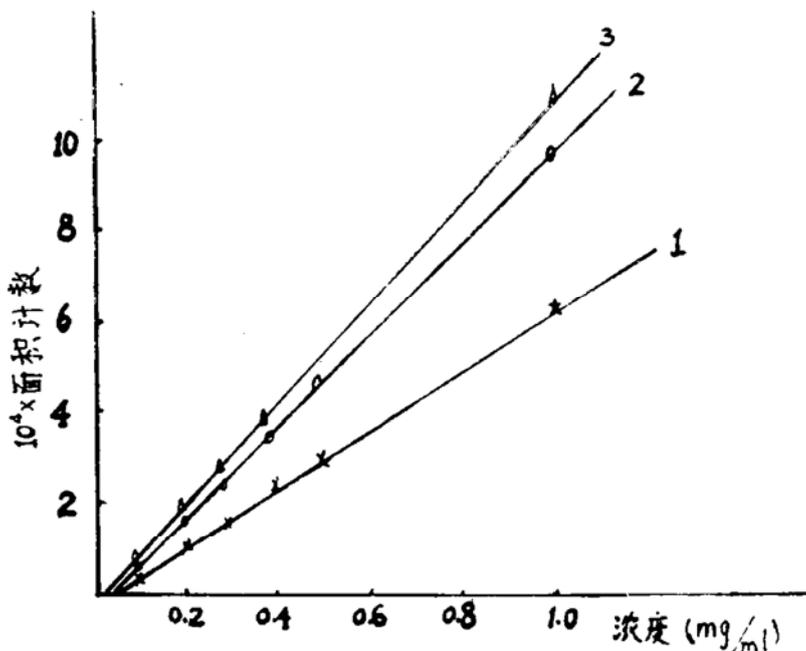


(图2 腐乳样品回收测定谱图)

2.2.2 什锦酱菜含盐量较高,如果用2ml 6NHCL 酸化样品,回收率偏低,仅为75%,增加其使用量至4ml,回收率可提高至97%以上,测定结果满意。

2.3 标准曲线

本方法标准曲线如图3所示,在0~1.0mg/ml 测量范围内呈良好线性关系。回归和相关系数如下:



(图3 标准曲线)

1—脱氢乙酸:  $y = 65361X - 1348$   $\gamma = 0.9992$

2—山梨酸:  $y = 104769X - 2338$   $\gamma = 0.9992$

3—苯甲酸:  $y = 111443X - 782$   $\gamma = 0.9990$

2.4 准确度和精密度

取原浆桔汁、什锦酱菜、腐乳等样品,分别加入不同量的脱氢乙酸、山梨酸、苯甲酸,测得添加回收率及其变异系数见表1。

表1 样品不同含量三种酸回收率及精密度

样品种类	分析样数	加入量 (g/kg)	脱氢乙酸		山梨酸		苯甲酸	
			平均回收率%	CV%	平均回收率%	CV%	平均回收率%	CV%
原浆	9	0.1	101.2	1.8	97.4	5.4	95.8	5.9
桔汁	10	0.3	96.9	3.5	94.2	4.6	98.1	5.3
什锦酱菜	6	0.3	97.0	5.7	88.8	7.9	90.9	7.3
	6	0.5	98.7	2.4	83.7	4.0	90.6	6.0
腐乳	8	0.1	99.8	7.3	101.6	5.3		
	8	0.3	99.6	4.5	104.4	4.7	109.3	5.6
	6	0.5	96.6	5.7	88.4	6.6	93.0	7.1