

高效液相色谱法快速分析口香糖中戊二醛的残留量

王妙飞¹, 郭新东², 杜志峰², 吴玉奎², 王永华¹, 张水华¹

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东 广州 510640)

(2. 国家加工食品监督检验中心(广州), 广东 广州 510110)

摘要: 建立了用高效液相色谱法检测口香糖中灭菌剂戊二醛残留量的方法。样品萃取液与 2,4-二硝基苯肼反应后用高效液相色谱测定, 外标法定量。该方法快速、准确, 在 0.2~5.0 mg/L 范围内线性相关系数为 $r^2=0.9995$, 平均回收率达到 77.2%~83.9%, 相对标准偏差为 4.95%~6.22%, 最低检测浓度为 0.2 mg/L。

关键词: 口香糖; 戊二醛; 高效液相色谱法

中图分类号: O657.7; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)12-0080-03

Glutaraldehyde Residue Determination in Chutty by HPLC

WANG Miao-fei¹, GUO Xin-dong², DU Zhi-feng², WU Yu-luan², WANG Yong-hua¹, ZHANG Shui-hua¹

(1. College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Guangzhou), Guangzhou 510110, China)

Abstract: A method for the determination of glutaraldehyde residue in chutty by HPLC was developed. In the range of glutaraldehyde content of 0.2~5 mg/L, the method was fast and accurate with a linear correlation of 0.9995, average recoveries of 77.2%~83.9%, a relative standard deviation of 4.95%~6.22% and a minimum determination concentration of 0.2 mg/L.

Key words: chutty; glutaraldehyde; HPLC

口香糖具有口腔清洁功能。消毒口香糖是一类具杀菌功能的口香糖, 能在 3~5 min 内杀死乙肝病毒、艾滋病毒、结核杆菌及性病传染源等。其主要靠在制作时所加入的戊二醛达到杀菌目的。戊二醛是一种五碳双缩醛化合物, 主要通过 2 个活泼的醛基与蛋白质发生反应起到杀灭微生物的作用^[1]。戊二醛在规定的条件下毒性低、刺激性小, 质量分数在 2% 以下的戊二醛溶液对黏膜仅有轻度刺激^[2,3], 但如果使用量过大, 会对人体带来很大伤害。为控制食品中戊二醛的含量, 我国《食品添加剂食用卫生标准》规定^[4], 食品中最大使用量是 50 mg/kg。

传统分析戊二醛的方法是根据卫生部《消毒技术规范》和中华人民共和国药典中规定的化学滴定法。化学法的缺点是操作复杂, 时间长, 抗干扰性差, 终点观察不稳定, 影响最终结果。目前, 还未有报道消毒口香糖中戊二醛的测定方法。因而建立一种快速、方便、经济的检测方法, 有利于保障人们的消费安全。

1 实验部分

1.1 仪器与材料

高效液相色谱仪: LC-10Avp (SPD-10Avp 型监测

收稿日期: 2007-08-30

器, 日本岛津公司); MS2 Minshaker 漩涡振荡器(广州仪科实验室技术有限公司)。

戊二醛(50%, Sigma, 使用前需重新标定戊二醛浓度); 2,4-二硝基苯肼(分析纯, 广州化学试剂厂); 乙腈(色谱纯, 美国 Sigma 公司); 其它试剂为国产分析纯试剂, 实验用水为去离子水。

1.2 标准溶液的配制

标准储备液: 准确称取 0.1 g 戊二醛标准品(精确至 0.0001 g), 用水定容至 100 mL, 此标准品储备液的质量浓度为 1 mg/mL。

2,4-二硝基苯肼(DNPH)溶液: 准确称取 0.02 g DNPH, 用乙腈定容至 100 mL, 此溶液的质量浓度为 0.2 mg/mL。

1.3 试样制备

准确称取 0.5 g 口香糖样品(精确至 0.01 g)置于离心管中, 加入 5 mL 水在漩涡振荡器上充分涡动萃取 3 min 后, 置于离心机中于 3000 r/min 离心 10 min, 收集上层清液。

样品加标实验: 称取口香糖样品后, 加入适量的标准溶液, 其它步骤同上。

1.4 柱前反应方法

准确移取稀释的戊二醛标准溶液或样品提取液 5

mL 于 10 mL 比色管中, 加入 70 μ L 的磷酸和 200 μ L 的 2,4-二硝基苯肼溶液, 最后以乙腈定容。立即于漩涡混合器上剧烈混合, 进高效液相色谱分析。

1.5 HPLC分析

色谱柱: DiamonsilTMC¹⁸ 5 m, 200 mm \times 4.6 mm; 流动相: 乙腈/水=60/40 (V/V); 柱温: 25 $^{\circ}$ C; 流速为 1.0 mL/min; 检测波长: 360 nm (UV/DAD); 进样体积: 20 μ L。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的确定

2.1.1 检测波长的确定

取配置好的戊二醛与 2,4-二硝基苯肼 (DNPH) 反应生成的产物戊二醛腙标准溶液, 在 200~400 nm 的波长范围进行紫外光全波扫描, 由图 1 可知, 戊二醛腙的最大吸收波长为 361 nm, 故选择 360 nm 作为检测波长。

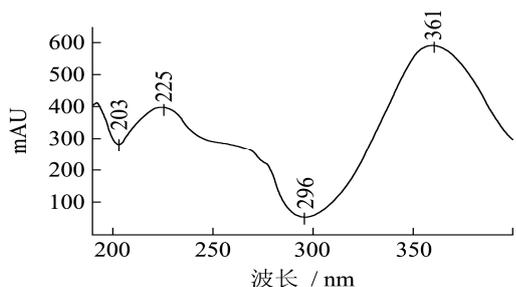


图1 紫外吸收光谱图

Fig.1 UV-spectrogram of glutaraldehyde derivative

2.1.2 衍生剂用量

由戊二醛和 DNPH 的反应式可知, 1 mol 戊二醛需与 2 mol DNPH 反应, 衍生剂用量过小使戊二醛反应不完全, 衍生剂用量过大会污染色谱柱, 分别以 5 mg/L 戊二醛的 2、4、10、20、100、200 摩尔倍数加入 2,4-二硝基苯肼, 结果表明, 20~100 倍的加入量得到相应的峰面积最大且基本恒定, 为保证戊二醛都能完全反应, 本实验选择 20 倍的衍生剂用量, DNPH 衍生体系浓度为 0.2 mg/mL (图 2)。

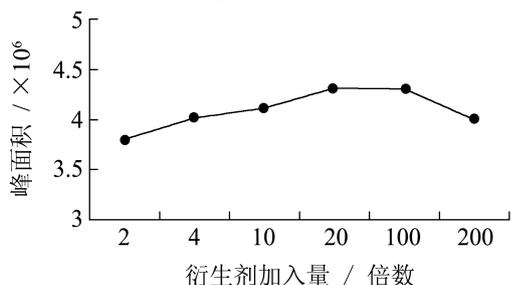


图2 衍生剂用量对衍生化反应的影响

Fig.2 Effect of different concentration of ramification on

reaction

2.1.3 溶液中磷酸浓度对衍生化反应的影响

由于衍生反应需要酸催化, 为探讨戊二醛反应的最佳酸度, 在反应溶液中加入 85%的磷酸, 使衍生体系中的磷酸的浓度分别为 0 mol/L、0.05 mol/L、0.10 mol/L、0.15 mol/L、0.2 mol/L、0.5 mol/L、1 mol/L。从图 3 可知, 得到最优的磷酸浓度为 0.10 mol/L。

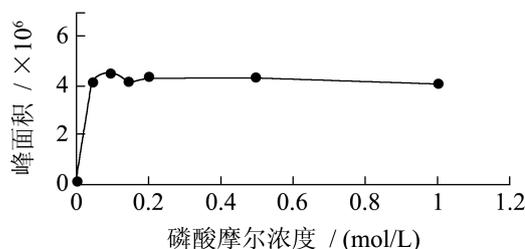


图3 溶液中磷酸浓度对衍生化反应的影响

Fig.3 Effect of different concentration of H₃PO₄ on reaction

2.1.4 衍生化时间和稳定性

实验中分别对同一浓度, 不同衍生化反应时间 0.05 h、0.1 h、0.5 h、1 h、5 h 和 24 h 的反应体系进行了监测, 结果表明, 在常温下戊二醛与 2,4-二硝基苯肼混合后迅速反应, 衍生产物的浓度在混合后就达到最大值, 在 24 h 内衍生物的峰面积无显著变化。

2.1.5 流动相的选择

由于衍生产物戊二醛腙的极性不大, 在水中的溶解度小, 流动相中有机溶剂的比例要较大, 同时由于产物是含氮类化合物, 选择乙腈作为流动相中的有机相, 可以得到比甲醇作有机相更好的峰形, 最终流动相的比例确定为乙腈:水=60:40, 分离色谱图见图 4。

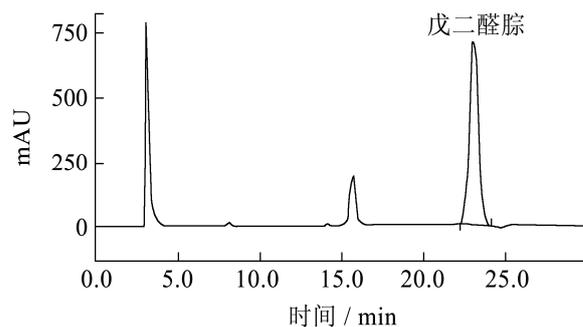


图4 戊二醛腙的标准色谱图

Fig.4 HPLC-chromatogram of glutaraldehyde derivative

2.2 方法的线性关系

配制 5 个不同浓度的标准溶液, 分别为 0.2 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L, 在上述条件下进行衍生反应和色谱测定, 以质量浓度 (x, mg/L) 为横坐标、峰面积 (y) 为纵坐标作图可得一标准曲线 (图 5)。经最小二乘法计算, 得戊二醛的回归方程为: $y=3.60 \times 10^5 x + 3.64 \times 10^4$, 相关系数为 $r^2=0.9995$; 戊二

醛浓度在 0.2~5.0 mg/L 范围内与峰面积具有良好的线性相关性。

2.3 方法的准确度及精确度

采用质量分数添加回收率来表示本方法的准确度

表1 戊二醛添加回收率和相对标准偏差

Table 1 Recovery and RSD of glutaraldehyde

样品	添加量(mg/kg)	回收率/%						平均回收率/%	相对标准偏差/%
		1	2	3	4	5	6		
口香糖	10	70.8	83.2	80.3	72.7	71.4	84.5	77.2	6.22
	20	81.4	76.3	85.7	72.1	77.6	87.1	80.0	5.34
	50	87.9	82.6	77.5	90.2	79.3	85.7	83.9	4.95

由表 1 可知, 本方法测定的口香糖中的戊二醛的回收率为 77.2%~83.9%, 变异系数为 4.95%~6.22%。因此, 利用本方法进行戊二醛残留样品的分离和含量测定, 灵敏度高, 重现性好, 能为试验检测提供可靠的数据。

采用本方法对戊二醛的最低检出浓度为 0.2 mg/L。

3 结论

目前国家尚未制订口香糖中戊二醛残留检测的标准方法, 因而开发简单、快速、可靠的检测方法, 对于我国食品安全检测具有重要意义。本方法采用 2,4-二硝基苯肼柱前衍生、高效液相色谱法测定样品中的戊二醛含量, 回收率大于 77%, 最低检出浓度为 4

和精密度, 在空白的样品中, 添加已知含量的戊二醛标准溶液, 按照上述规定的色谱操作条件测定其含量, 计算其回收率及变异系数, 结果见表 1。

mg/kg。

利用本方法进行戊二醛残留样品的提取和含量测定, 不仅灵敏度高, 精确度好, 且快速经济, 对于检测分析口香糖中戊二醛残留具有重要意义。

参考文献

[1] 银涛,熊鸿燕.戊二醛消毒剂的研究进展[J].预防医学情报杂志,2005,21(3):297-300
 [2] 李临生.戊二醛在医学方面的应用[J].轻工技术资料, 1981, 1(S):1-25
 [3] 李临生,张昌辉,张京东.戊二醛消毒剂的特点与应用[J].日用化学工业,2004,34(6):385-389
 [4] 中华人民共和国国家标准.GB 2760-1997 食品添加剂使用卫生标准[S].中国标准出版社,1997

(上接第 62 页)

3 结论

以 MRS 培养基可从酸奶中筛选出保加利亚乳杆菌(L.b)和嗜热链球菌(S.t)两种发酵菌株, 经过逐步驯化, 两种发酵菌株可以充分利用冬瓜汁为原料进行分解、代谢, 制得冬瓜汁乳酸饮料。冬瓜汁乳酸发酵饮料的生产工艺可通过正交试验方案进行优化。最适宜的发 酵条件: 乳糖添加量为 1.0%、接种量为 5%、发酵温度为 39℃、发酵时间为 24 h。最佳的甜味剂添加量: 白砂糖添加量为 7%。发酵后, 冬瓜汁乳酸发酵饮料的杀菌条件为: 90℃, 15 min。

参考文献

[1] 张继英,张娅婷.不同选择性培养基对乳酸菌生长的影响[J].信阳农业高等专科学校学报.2006,16(3):119-120

[2] 凌代文,东秀珠.乳酸细菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999:86-87
 [3] 姜觅,谢锋.冬瓜汁乳酸发酵饮料的研究[J].食品科学技术应用.2006,27(3):267-269
 [4] 胡国华.食品添加剂在发酵饮料中的应用[M].北京:化学工业出版社
 [5] 黄来发.蛋白饮料加工工艺与配方[M].北京:中国轻工业出版社,1996
 [6] 丘华,宋延珍.均质与杀菌工艺对酸性黑芝麻饮料稳定性的影响[M].中国乳品工业,2000:15-18
 [7] 黄伟坤.食品检验与分析[M].北京:轻工业出版社,1989:65
 [8] Galvez F.C.F, Resurrecion A.V.A, and Koehler P.E.. Optimization of processing of peanut beverage[J].Sensory Studies, 1990(5):1103