

气相色谱法测定面包·糕点和肉制品中脱氢乙酸

朱自德, 方林明, 陈辉德, 王婷* (安徽中创食品检测有限公司, 安徽芜湖 241000)

摘要 [目的] 建立一种快速、有效、准确的方法测定面包、糕点及肉制品中脱氢乙酸含量。[方法] 在试样中加入固定体积的提取溶液, 除脂、酸化后用乙酸乙酯萃取并用气相色谱火焰离子化检测器(FID)检测。[结果] 标准曲线浓度在 2~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 线性关系良好 ($R^2=0.999\ 85$), 方法检出限为 0.000 9 g/kg, 并且在低(50 μg)、中(500 μg)、高(1 000 μg) 不同加标量下回收率均在 90%~100%, 相对标准偏差(RSD)为 1.49%~2.84%。[结论] 该方法测定不同基质中脱氢乙酸的结果稳定可靠, 可适用于批量检测。

关键词 气相色谱; 脱氢乙酸; 面包; 糕点; 肉制品

中图分类号 TS 207.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)01-0213-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.01.064

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Determination of Dehydroacetic Acid in Bread, Pastry and Meat Products by Gas Chromatography

ZHU Zi-de, FANG Lin-ming, CHEN Hui-de et al (Anhui Zhongchuang Food Testing Co., Ltd., Wuhu, Anhui 241000)

Abstract [Objective] The research aimed to establish a rapid, effective and accurate method for the determination of dehydroacetic acid in bread, pastry and meat products. [Method] Fixed volume extract solution was added to the sample. After lipid removal and acidification, the sample was extracted with ethyl acetate and detected by gas chromatography with flame ionization detector (FID). [Result] The standard curve concentration had a good linear relationship in the range of 2-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ($R^2=0.999\ 85$). The detection limit of the method was 0.000 9 g/kg. The recovery rates were 90%-100% at low (50 μg), medium (500 μg) and high (1 000 μg) scales, and the relative standard deviation (RSD) was 1.49%-2.84%. [Conclusion] The results of determination of dehydroacetic acid in different substrates by this method are stable and reliable, and can be applied to batch detection.

Key words Gas chromatography; Dehydroacetic acid; Bread; Pastry; Meat products

脱氢乙酸(dehydroacetic acid, DHA)属于一种新型的化学防腐剂^[1-2], 特别对霉菌和酵母具有较强的抑制作用, 可有效防止食品腐败变质, 延长产品的保质期, 并改善产品的口味和品质^[3-4]。目前关于 DHA 在人体的代谢机理尚不清楚, 但有报道指出其对机体仍有一定毒副作用^[5], 主要是其乙酰基侧链上的酮基可与氨基酸结合, 可抑制多种酶的氧化作用, 不仅易被机体吸收, 且难以随代谢排出体外, 长期大量食用脱氢乙酸及其钠盐超标产品, 可能对人体健康产生一定影响, 已列入食品 SC 认证相关品类的必检项目。GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定各品类食品中 DHA 的最大使用限量^[6], 其中面包、糕点、肉制品中脱氢乙酸及其钠盐不超过 0.5 g/kg。

食品中 DHA 测定方法主要有紫外分光光度法^[7-8]、气相色谱法^[9-11]、高效液相色谱法^[12-14]、超高效液相色谱法^[15-16], 其中色谱法应用较广。目前 DHA 检测主要依据 GB 5009.121—2016《食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定》中所述第一法气相色谱法^[17], 其中面包、糕点和肉制品的前处理方法较为复杂繁琐、效率低, 并且在提取过程中易吸水膨胀, 对定容体积影响较大, 导致最终检测结果差异大; 而且色谱条件适用性较窄, 因此有必要对前处理方法与色谱条件进行优化^[18-20], 建立一种快速、有效、准确检测此类基质的试验方法, 解决复杂基质中防腐剂添加限值判定问题。

1 材料与方法

1.1 主要材料 试验所用的面包、糕点和肉制品均为自购预包装食品。

1.2 主要试剂 乙酸乙酯、正己烷, 均为色谱纯; 盐酸(HCl)、硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、氢氧化钠(NaOH)、氯化钠(NaCl), 均为分析纯; 试验用水为实验室超纯水机制备; 脱氢乙酸标准品(CAS: 520-45-6, 纯度 $\geq 99.8\%$)。

1.3 主要仪器 气相色谱仪(岛津 GC-2014, FID 检测器); 低速离心机(湘仪, TDZ5-WS); 分析天平(岛津, AUW220D); 超声波清洗机(洁盟, JP-100S)。

1.4 标准工作液配制 准确称取脱氢乙酸标准品 0.05 g(精确至 0.000 1 g)置于 50 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯溶解并定容, 配制成 1.0 mg/mL 母液; 分别精确吸取母液 0.02、0.10、0.25、0.50、1.00、2.00 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用乙酸乙酯稀释并定容, 配制成浓度为 2、10、25、50、100、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准工作液。

1.5 方法

1.5.1 试样提取方法。 样品用粉碎机充分粉碎均匀(肉制品需去骨), 称取粉碎后试样 2~5 g(精确至 0.001 g), 置于 50 mL 离心管中, 加入 19.2 mL 水、5.0 mL 硫酸锌溶液(0.4 mol/L)、0.8 mL NaOH 溶液(5 mol/L), 再加入 5 mL 正己烷, 充分混匀, 超声提取 20 min, 4 000 r/min 离心 10 min。取下层水相 10 mL 于 50 mL 离心管中, 加 1 mL HCl 溶液(V:V, 1:1)酸化后, 准确加入 5.0 mL 乙酸乙酯, 涡旋 2 min, 离心 5 min 分层(若出现乳化现象, 则在离心管中加入 2 g 氯化钠, 振摇匀, 4 000 r/min 离心 5 min), 取上层有机相过有机滤膜(0.22 μm)后进气相色谱仪测定。

1.5.2 色谱条件优化。

1.5.2.1 程序升温的优化。 仪器主要参数: 毛细管柱 DB-5, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm ; 样口温度 240 $^{\circ}\text{C}$; 检测器温度 300 $^{\circ}\text{C}$; 载气(N_2)流量为 1.5 mL/min; 进样体积 1.0 μL 。设置不同程序升温方案, 选取 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DHA 工作液进样, 比

较各方案检测用时与目标峰分离度。

1.5.2.2 分流比的选择。按照“1.5.2.1”中仪器主要参数设置,选取 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ DHA 工作液进样,选择不同分流比 5:1、10:1、15:1、20:1、25:1,比较各分流比 DHA 峰面积。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

2.1.1 程序升温的优化。色谱柱 DB-5 属于弱极性毛细管柱,DHA 沸点较高,不易于样品中杂质分离,采用程序升温可在保证分离度的情况下缩短分析时间,因此对程序升温方案进行优化,见表 1。由表 1 可知,采用不同的升温程序,检测用时与分离度均有较大差异,综合比较 5 种方案,得出方案 4 最佳,分离度 $R=1.8$,检测用时为 16.0 min。

表 1 程序升温方案的比较

Table 1 Comparison of programmed warming schemes

序号 No.	方案 Schemes	分离度 Resolution	检测用时 Detection time//min
1	初始温度 150 $^{\circ}\text{C}$,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$,再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min	1.2	11.5
2	初始温度 120 $^{\circ}\text{C}$,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$,再以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min	1.4	14.5
3	初始温度 100 $^{\circ}\text{C}$,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$,再以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min	1.5	16.2
4	初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,以 12 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$,再以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min	1.8	16.0
5	初始温度 80 $^{\circ}\text{C}$,以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 210 $^{\circ}\text{C}$,再以 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速率升至 240 $^{\circ}\text{C}$,保持 4 min	1.6	13.9

2.1.2 分流比的选择。待测样品中成分较为复杂,合适的分流比可提高 DHA 在 DB-5 中分离效能,选择不同的分流比进样后,比较峰面积,结果如图 1。由图 1 可知,分离比 5:1 时峰面积最大,10:1 次之,15:1、20:1、25:1 差异较小,考虑样品杂质影响,延长色谱柱使用寿命,适宜采用分流比 10:1。

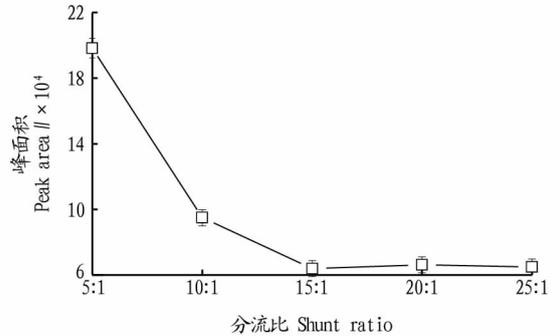


图 1 不同分流比 DHA 的峰面积

Fig. 1 Peak area of DHA with different shunt ratios

2.2 标准品与样品谱图 取等体积的 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 脱氢乙酸标准品与已处理的面包、糕点及肉制品样品,依照“2.1”优化后仪器条件上机检测,谱图见图 2,各基质中脱氢乙酸保留时间基本一致,在 7.09 min 左右出峰;面包、糕点的 DHA 响应值与肉制品相比较,均略小于标准品;峰型对称,且与杂质峰分离较好,表明样品前处理方法可行,仪器程序升温条件适宜,气体流量与分流比适合样品中 DHA 的分离,整体满足检测要求。

2.3 标准曲线与方法检出限 将“1.4”不同浓度的标准工作液按照优化后的仪器条件进行检测,以标准工作液浓度为横坐标、峰面积为纵坐标,采用外标法校正绘制标准工作曲线,线性关系结果见图 3。线性方程为 $y=483.17x-862.341$

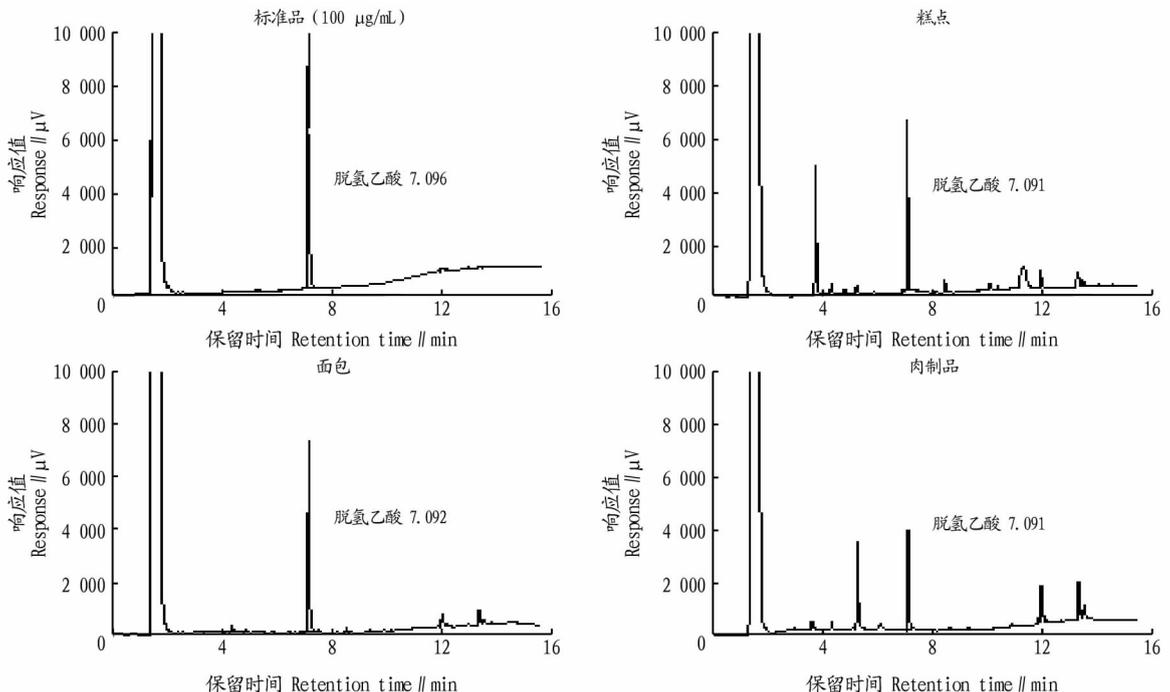


图 2 标准品和样品中脱氢乙酸色谱图

Fig. 2 Chromatography of dehydroacetic acid in standard and sample

($R^2=0.999\ 85$),符合色谱检测对标准曲线的要求;按照校正曲线估算法,以称样量 5 g,加入 25 mL 试剂,取 10 mL 提取液酸化计算得方法检出限^[21-22]为 0.000 9 g/kg,优于 GB 5009.121—2016 中气相色谱法的方法检出限(0.001 g/kg)。

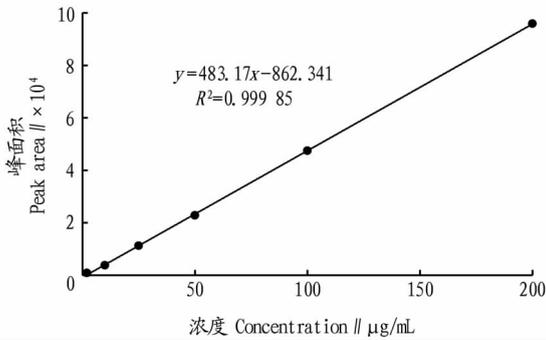


图 3 脱氢乙酸标准曲线

Fig. 3 Standard curve of dehydroacetic acid

表 2 样品及空白试样中脱氢乙酸含量

Table 2 Dehydroacetic acid content in samples and blank samples

品类 Category	脱氢乙酸含量 Dehydroacetic acid content//g/kg						平均含量 Average content//g/kg	RSD %
	1	2	3	4	5	6		
空白 Blank	—	—	—	—	—	—	—	—
面包 Bread	0.268 9	0.266 4	0.263 0	0.268 1	0.261 7	0.265 3	0.266	1.1
糕点 Pastry	0.229 4	0.224 2	0.229 0	0.229 3	0.224 5	0.225 3	0.227	1.1
肉制品 Meat products	0.153 3	0.157 9	0.153 2	0.156 7	0.157 8	0.152 8	0.155	1.6

注:“—”表示未检出

Note:“—” indicates not detected

表 3 方法加标回收率

Table 3 Recovery rate of standard addition

样品名称 Sample name	加标量 Scaling amount μg	平均回收量 Average recovery μg	回收率 Recovery rate//%	RSD %
面包 Bread	50	47.94	95.87	2.64
	500	477.40	95.48	2.15
	1 000	928.10	92.81	1.76
糕点 Pastry	50	47.54	95.07	2.72
	500	471.10	94.22	1.96
	1 000	923.40	92.34	1.49
肉制品 Meat products	50	48.43	96.85	2.84
	500	456.00	91.20	2.56
	1 000	938.20	93.82	2.47

3 结论

该研究针对国标中气相色谱法检测的不足之处进行方法研究和改进,通过优化色谱条件和前处理方法,减小因基质和称样量对最终定容体积的影响,探索出简便、快速、高效且适合面包、糕点和肉制品中 DHA 的检测方法。试验结果表明,DHA 保留时间在 7.09 min 左右,检测时间 16 min 且分离度较高,出峰位置稳定,满足 3 种基质中防腐剂检测;标准曲线的决定系数为 0.999 85,符合气相色谱检测要求;面包、糕点及肉制品中 DHA 检测含量稳定且在不同加标量下回收

2.4 样品检测结果 分别称取面包、糕点及肉制品样品,按照“1.5”方法进行检测分析,平行测定 6 次,同时做空白试验。检测结果见表 2,面包中 DHA 平均含量为 0.266 g/kg, RSD 为 1.1%;糕点中 DHA 平均含量为 0.227 g/kg, RSD 为 1.1%;肉制品中 DHA 平均含量为 0.155 g/kg, RSD 为 1.6%,说明方法对样品中 DHA 提取较为稳定。面包和糕点的 DHA 含量较肉制品更高,整体检测结果波动较小,符合脱氢乙酸在食品生产中添加工艺的差异性。

2.5 方法回收率 依据 GB 2760—2014 中面包、糕点及肉制品脱氢乙酸的最大允许使用限值分别加入低(50 μg)、中(500 μg)、高(1 000 μg)3 个梯度标准物质,按“1.5”方法处理分析,平行测定 6 次,分别计算各试样回收率和相对标准偏差,结果见表 3。由表 3 可知,3 种试样回收率均在 90%~100%,加标量为 50 μg 时,测得回收率的 RSD 相较于其他两组较高,但 RSD 均小于 3.0%,表明该方法测得结果准确可靠,可重现性较好。

率均在 90%~100%,符合产品对 DHA 检测准确度的要求。因此该方法适用于面包、糕点及肉制品中 DHA 含量测定且可批量检测。

参考文献

- [1] 牛娜. 食品防腐剂检验检测技术的研究现状及进展[J]. 食品安全导刊, 2018(34):68-70.
- [2] DING M Z, LIU W X, PENG J, et al. Simultaneous determination of seven preservatives in food by dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food chemistry, 2018, 269: 187-192.
- [3] 辛若竹, 丁梅, 郑贤光, 等. 气相色谱法测定面包、糕点、酱等食品中复合防腐剂及甜蜜素[J]. 卫生研究, 2008(4):498-501.
- [4] TAKEDA S, AKAMATSU R, HORIGUCHI I, et al. Relationship among food-safety knowledge, beliefs, and risk-reduction behavior in university students in Japan[J]. Journal of nutrition education and behavior, 2011, 43(6):449-454.
- [5] 杜玉锋. 脱氢乙酸的毒性及在鸡组织中消除规律的研究[D]. 扬州:扬州大学, 2009.
- [6] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准:GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [7] 陈丹萍, 褚庆华, 杨富春, 等. 紫外分光光度法快速测定调味品中脱氢乙酸含量[J]. 中国食品添加剂, 2015(4):195-198.
- [8] 肖树秀. 食品中脱氢乙酸的检测方法[J]. 煤炭与化工, 2017, 40(1):149-151.
- [9] 高海军, 范自蓉, 张红云, 等. 气相色谱法同时快速测定食品中丙酸、山梨酸、苯甲酸及脱氢乙酸[J]. 粮油食品科技, 2017, 25(5):47-51.
- [10] 徐爱军, 张玉, 汤金阳. 高油脂含量食品中脱氢乙酸的气相色谱法测定研究[J]. 食品科技, 2015, 40(11):304-307.
- [11] 宗万里. 毛细管气相色谱法测定肉制品中脱氢乙酸含量[J]. 肉类研究, 2012, 26(3):39-41.

(下转第 233 页)

3 结论与讨论

3.1 结论

(1)宣城市 2016 年灌溉耕地占总耕地面积 57.71%。一定程度上有利于粮食生产,需提高区域灌溉耕地种粮比例,加强流入耕地“非粮化”现象的监管。同时注意沟渠配套和清淤以提高灌溉效率。

(2)宣州区、郎溪县、广德县、泾县粮食面积合计占 88.58%,可作为宣城市发展粮食生产的重点区域。稻谷、小麦面积合计占 93.06%,可作为主要粮食作物。

(3)宣城市 2016 年粮食平均单产能力为 8 457.10 kg/hm²,比 2013—2015 年的粮食实际平均单产高 3 089.66 kg/hm²,粮食生产能力开发率为 0.63;粮食总生产能力为 186.66 万 t,比 2013—2015 年粮食平均总产高 68.19 万 t。粮食面积潜力 36.1 万 hm²,2016 年粮食实际播种面积占其 61.14%。全市粮食增产潜力较大。

(4)粮食面积结构调整需综合考虑市场需求、种植效益、合理轮作、区域布局以及生产条件等因素^[12-15]。综合考虑认为,宣城市可提高稻谷面积(占 74%)、稳定小麦面积(占 18%),适量增加玉米(占 4%)和大豆面积(占 2%)。

3.2 讨论 该研究粮食生产能力的计算主要涉及耕地分类面积和粮食面积、种植制度选择和目标作物的产量潜力。为减少变量,选择第三次全国农业普查资料中的粮食面积、耕地与灌溉耕地面积为基础数据,比较符合实际。选择按行政区域计算,有利于为区域粮食产业决策提供建议。同时为便于比较,将宣城市经济技术开发区的数据并入宣州区计算,对结果影响不大。为减少目标产量(8 457.10 kg/hm²)的实现难度,选择能充分发挥区域自然资源生产潜力的种植制度,稻谷、玉米单产数据来自当地中上肥力地块,因此计算的耕地粮食单产能力是目前高产稳产类耕地可以达到的。考虑到稻麦轮作、双季稻可增加年度播种面积,计算时按两季单产累加后再打折处理;而“一季稻+”或“玉米+”可调节耕地使用率,直接用于单产计算。导致宁国市、旌德县的耕地单产能力在全市处于前列水平,与其实际单产间差距较大,是否符合实际还需进一步验证。而对于粮食结构调整仅局限于主要粮食作物面积构成的调节,缺少品种结构、熟期构成等方面的分析,仍有待于进一步研究。

4 对策与建议

4.1 提升主体种粮积极性 稳定粮食生产关键在于从业主

体,尤其是种粮意愿。可采用加强宣传和贯彻粮食生产惠农政策,技术服务提高种粮比较效益等举措来落实。

4.2 强化粮食生产功能区建设 依托新划定的 12.8 万 hm² 粮食(水稻)生产功能区,重点开展优质粮食基地和高标准农田建设,改善排灌条件,增加田间道路,提升耕地质量。

4.3 多措并举引领粮食产业发展 一是推进订单生产,引导应用粮食作物优质抗病主导品种,提高原粮品质和稳定性。二是提升农机补贴引导作用,提高“机插、植保、施肥”等环节农机应用率。三是合理利用区位优势,发展鲜食玉米、鲜食毛豆和功能性粮食产品。四是重点发展“水稻+”绿色生产。固化区域“水稻+”技术模式,实现规模化、标准化生产。切实提高“虾田稻”、再生稻产量,同步实现稳粮增收增效。五是促进品牌化经营。形成粮食区域公用品牌,提升粮食“烘干、储藏、加工”能力。六是强化主体培训。培养生产经营市场理念、风险防控意识,促进新品种、新技术、新产品和绿色生产模式应用,提高复种指数。

参考文献

- [1] 王国敏,周庆元.我国粮食综合生产能力影响因素的实证分析[J].四川大学学报(哲学社会科学版),2016(3):82-88.
- [2] 韩长赋.全面实施新形势下国家粮食安全战略[J].求是,2014(19):27-30.
- [3] 胡锋,张春平,兰陆寿,等.宣城市水稻种植结构与高产栽培策略[J].安徽农业科学,2014,42(31):11129-11131,11137.
- [4] 张晋科,张凤荣,张琳,等.中国耕地的粮食生产能力与粮食产量对比研究[J].中国农业科学,2006,39(11):2278-2285.
- [5] 姜涛,孔长聪,王光宇,等.安徽省粮食生产能力研究与分析[J].中国农学通报,2009,25(6):285-289.
- [6] 江松颖,刘颖,金雅.我国粮食综合生产能力影响因素及其变迁分析[J].统计与决策,2016(14):118-121.
- [7] 胡伦.我国粮食生产能力的的影响因素研究[D].武汉:武汉轻工大学,2015:1-55.
- [8] 辛岭,高睿璞,蒋和平.我国粮食主产区粮食综合生产能力评价[J].中国农业资源与区划,2018,39(9):37-45.
- [9] 蒋和平,杨东群,王晓君.新时代我国粮食安全导向的变革与政策调整建议[J].价格理论与实践,2018(12):34-39.
- [10] 沈方,郝瑞彬,尹力军,等.我国粮食主产区粮食生产变动贡献因素分解[J].江苏农业科学,2018,46(22):328-333.
- [11] 王振.栽培措施对隆平 206 产量及农艺性状的影响[J].现代农业科技,2015(16):19-20.
- [12] 田旭,张淑雯.单位面积利润变化与我国粮食种植结构调整[J].华南农业大学学报(社会科学版),2017,16(6):59-71.
- [13] 林大燕,朱晶.从供应弹性的视角看我国主要农作物种植结构变化原因[J].农业技术经济,2015(1):33-41.
- [14] 杨进,钟甫宁,陈志钢,等.农村劳动力价格、人口结构变化对粮食种植结构的影响[J].管理世界,2016(1):78-87.
- [15] 钱龙,袁航,刘景景,等.农地流转影响粮食种植结构分析[J].农业技术经济,2018(8):63-74.
- [16] 赵欣,李强.高效液相色谱法测定面包、饼干等烘焙类食品中的脱氢乙酸[J].食品安全质量检测学报,2018,9(13):3464-3468.
- [17] 李碧波,鄢兵华,荣汝繁.富硒豆豉中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠、脱氢乙酸的测定[J].食品安全质量检测学报,2019,10(2):521-526.
- [18] 金悦敏,胡国华.HPLC 法测定糕点类食品中的 8 种常用防腐剂[J].食品工业,2018,39(6):270-273.
- [19] 周宏霞,邹鹏,王楠.超高效液相色谱法检测肉制品中 4 种食品添加剂[J].食品安全导刊,2019(11):76-77.
- [20] 张剑峰,孙艳芳,王缘,等.超高效液相色谱法同时测定饮料中的山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、糖精钠和安赛蜜[J].食品安全质量检测学报,2018,9(14):3801-3806.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定:GB 5009.121—2016[S].北京:中国标准出版社,2016.
- [22] 罗北照,赵天珍.气相色谱法测定食品中脱氢乙酸的优化研究[J].农业灾害研究,2015,5(6):66-67.
- [23] 邵立君,王锡宁,王国玲,等.食品中脱氢乙酸检测方法的研究[J].食品科技,2014,39(4):292-295.
- [24] 王艳玲.气相色谱仪参数设置对峰分离的影响[J].中氮肥,2015(3):76-80.
- [25] 鲁静,付凌燕,王旭.质量分析方法验证中检出限和定量限测定方法探讨[J].中国药品标准,2012,13(1):33-35.
- [26] 张鹏翔.色谱分析中的检出限和测定下限及其确定方法[J].内蒙古科技与经济,2009(6):62-63.

(上接第 215 页)