

固绿褪色光度法测定食品中痕量没食子酸丙酯

谢宇奇,凌绍明,李子彬

(百色学院 化学与环境工程学院,广西 百色 533000)

摘要:基于没食子酸丙酯(PG)对Fenton试剂氧化固绿褪色反应具有明显抑制作用的原理,建立了一种用分光光度法测定食品中PG新方法。研究了固绿用量等因素对体系的影响,优化了实验条件。在选定的实验条件下,方法的线性回归方程为 $\Delta A_{625\text{nm}} = 59.328\rho + 0.0085$,相关系数(R^2)为0.9952,线性范围为 $8.3 \times 10^{-4} \sim 1.6 \times 10^{-2}$ mg/mL,检出限为 9.8×10^{-5} mg/mL。可用于测定食品中的PG,测定结果的RSD为3.4%,回收率在96.25%~103.3%。

关键词:分光光度法;没食子酸丙酯;固绿FCF;Fenton试剂

中图分类号:TS210.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)06-0092-04

Fading spectrophotometric method for the determination of trace propyl gallate in food with FCF - fenton system

XIE Yu - qi, LING Shao - ming, LI Zi - bin

(College of chemical and environmental engineering, Baise University, Baise 53300 China)

Abstract: Based on gallic acid ester (PG) of Fenton reagent oxidation solid green fade has obvious inhibitory effect principle, A new method of determination of PG in food was established using spectrophotometric method. The influence of the solid green consumption and other factors on the system were studied, the experimental conditions were optimized. In selected experimental conditions, the method of linear regression equation for $\Delta A_{625\text{nm}} = 59.328\rho + 0.0085$, the correlation coefficient (R^2) of 0.9952, the linear range of $8.3 \times 10^{-4} \sim 1.6 \times 10^{-2}$ mg/mL, detection limit of 9.8×10^{-5} mg/mL. Method used in the determination of food in PG, the determination results of RSD was 3.4%, the recovery in 96.25%~103.3%.

Key words: Spectrophotometry; Propyl gallate; Fast green FCF; Fenton reagent

没食子酸丙酯(Propyl gallate,简称PG),又名倍酸丙酯,是一种乳白色针状结晶或淡黄褐色至白色结晶性粉末,具有较强的抗氧化性。PG属油溶性抗氧化剂,广泛运用于肉类腌制、罐头加工、油炸食品、油脂以及奶酪保鲜中。PG还可用于荔枝、龙眼、芒果等新鲜果蔬的保鲜^[1-2]。PG虽经WTO和FAO组织批准使用的食品抗氧化剂,安全性较高,但过量摄入仍可引起肾脏受损等潜在危害^[3-5],我国《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760—2011)对大部分食品类别的PG添加量限定在0.1 g/kg之内,与其他抗氧化剂联合使用,允许添加的

最大值更小。由于我国食品行业许多从业人员缺乏对添加剂的科学认识,对添加剂的使用随意性较大,建立一种简便快速测定PG的方法,具有一定的现实意义。

目前,PG检测方法主要有分光光度法^[6-8]、高效液相色谱法^[9-11]、毛细管电泳法^[12-13]、气相色谱法^[14]、荧光法^[15-16]、气-质联用法^[17]等。本实验利用PG对Fenton试剂氧化亚甲基蓝褪色反应有抑制作用的原理,建立了一种灵敏、简便、快速测定没食子酸丙酯的分光光度法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

1.1.1 主要仪器

UV-2700型紫外可见分光光度计:日本岛津公司;721N型可见光分光光度计:上海仪电仪器有

收稿日期:2015-08-25

基金项目:桂林区域生态环境分析和污染控制重点实验室资助项目;
广西教育厅高校科学技术研究项目(LX2014441)

作者简介:谢宇奇,1979年出生,男,硕士。

通讯作者:凌绍明,1963年出生,男,教授。

限公司;HH-S2 数显恒温水浴锅:金坛市医疗仪器厂;BS124 电子分析天平:德国赛多利斯公司。

1.1.2 主要试剂

2.0×10^{-4} mol/L 固绿(FG)溶液;0.1 mg/mL 没食子酸丙酯标准溶液; 5.0×10^{-3} mol/L 硫酸亚铁溶液;2 mmol/L 过氧化氢溶液;0.01 mol/L 盐酸溶液;0.005 mol/L H_2SO_4 溶液;0.003 5 mol/L 磷酸溶液;0.01 mol/L 醋酸溶液。

实验使用试剂为分析纯,实验用水为石英亚沸水。

1.2 实验方法

1.2.1 ΔA 值的计算

在一系列 5.0 mL 具塞刻度试管中,依次加入 150 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、一定量的 PG、30 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液、200 μ L 0.005 mol/L H_2SO_4 溶液,用亚沸水定容至 3.0 mL,摇匀,在 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热 10 min,10 min 后迅速冷却至室温,以亚沸水为参比,用 1.0 cm 比色皿,于分光光度计上测定 625 nm 处的吸光度 A ,同时测定试剂空白吸光度 A_0 ,计算 $\Delta A = A - A_0$ 。

1.2.2 不同酸介质影响的考察

在相同条件下,依次量取 150 mL 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量 PG 标准溶液、30 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液和 200 μ L 的各种不同的酸,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究不同种类的酸对反应体系的影响。

1.2.3 硫酸溶液用量影响的考察

量取 150 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量的 PG、30 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液,以及不同硫酸溶液用量,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究硫酸用量对反应体系 ΔA 值的影响。

1.2.4 $FeSO_4$ 溶液用量影响的考察

量取 150 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、适量 PG 标准溶液、30 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液和 200 μ L 0.005 mol/L 硫酸溶液,以及不同 $FeSO_4$ 溶液用量,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究 $FeSO_4$ 溶液用量对反应体系的影响。

1.2.5 固绿溶液用量影响的考察

量取 50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量 PG 标准溶液、30 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液和 200 μ L 0.005 mol/L 硫酸溶液,以及不同固绿溶液用量,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究固绿用量对反应体系的影响。

1.2.6 过氧化氢用量影响的考察

取 125 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量 PG 标准溶液和 200 μ L 0.005 mol/L 硫酸溶液,以及不同过氧化氢用量,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究过氧化氢溶液用量对反应体系的影响。

1.2.7 反应时间影响的考察

量取 125 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量 PG 标准溶液、35 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液和 200 μ L 0.005 mol/L 硫酸溶液,定容摇匀后放入 40 $^{\circ}C$ 恒温水浴锅中加热反应一定时间,研究不同反应时间对反应体系的影响。

1.2.8 反应温度影响的考察

取 125 μ L 2.0×10^{-4} mol/L 固绿、50 μ L 5.0×10^{-3} mol/L $FeSO_4$ 溶液、适量 PG 标准溶液、35 μ L 2 mmol/L H_2O_2 溶液和 200 μ L 0.005 mol/L 硫酸溶液,定容摇匀后放入不同温度恒温水浴锅中加热反应 10 min,研究不同反应温度对反应体系的影响。

1.2.9 实际样品的测定

参照文献[18]对样品进行处理:称取样品 20 g 置于 250 mL 磨口锥形瓶中,加入 100 mL 石油醚,盖紧,超声 10 min 后转入 250 mL 分液漏斗中,加 16.7 g/L 醋酸铵溶液 20 mL,振摇 3 min,静置分层后,将水层放入另一 125 mL 分液漏斗中(如果有乳化现象,分离时连同乳化层一起放出),石油醚层分别用 16.7 g/L 醋酸铵溶液 20 mL 重复提取两次,再用蒸馏水洗涤两次,每次 15 mL,合并水层并静置。将水层用滤纸滤入 100 mL 容量瓶中,用少量水洗涤滤纸,用亚沸水定容至刻度,摇匀。取此溶液用滤纸过滤,弃去初滤液约 20 mL,收集滤液进行测定。

2 结果与分析

2.1 吸收光谱

$C(FG) = 1.0 \times 10^{-5}$ mol/L; $C(FeSO_4) = 8.3 \times 10^{-5}$ mol/L; $C(H_2O_2) = 0.02$ mmol/L; $C(H_2SO_4) = 3.3 \times 10^{-4}$ mol/L; $\rho(PG)/(mg/mL): a - 0; b - 1.67 \times 10^{-3}; c - 3.33 \times 10^{-3}; d - 5.0 \times 10^{-3}; e - 6.67 \times 10^{-3}$

由图 1 可见,PG 对 Fenton 试剂氧化固绿褪色具有明显的抑制作用,体系在 625 nm 处有吸收,因此实验选择使用 625 nm 为测定波长。

2.2 实验条件优化

2.2.1 不同酸介质对吸光度的影响

不同酸介质对吸光度影响的实验结果见表 1。实验结果表明,在上述各种酸介质中都有褪色作用。其中硫酸介质体系的 ΔA 值最大,而且空白值较小、体系稳定。故实验选择硫酸作为反应介质。

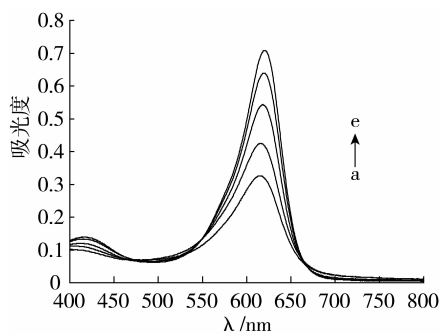


图1 吸收光谱图

表1 不同酸种类对吸光度的影响

不同的酸介质	盐酸	硫酸	醋酸	磷酸
ΔA	0.637	0.670	0.608	0.620

2.2.2 硫酸溶液用量对吸光度的影响

硫酸溶液用量对吸光度影响的实验结果见图2。实验发现,反应体系 ΔA 值随硫酸溶液用量的增加而增大,当硫酸用量为 200 μL 时达到最大值,随后 ΔA 值随着硫酸用量的增加而减小。故实验选取硫酸的用量为 200 μL 。

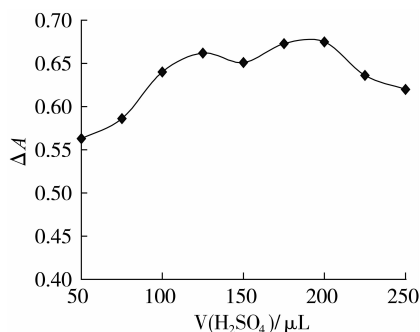


图2 硫酸用量对吸光度的影响

2.2.3 FeSO_4 溶液用量对吸光度的影响

FeSO_4 溶液用量对吸光度影响的实验结果见图3。结果表明, ΔA 随着 FeSO_4 溶液用量的增加而逐渐增大,当 FeSO_4 溶液用量为 0.050 mL 时, ΔA 值有最大值;硫酸亚铁用量大于 0.05 mL 时, ΔA 值随着 FeSO_4 溶液用量的增加而减小。因此,实验选用 FeSO_4 溶液用量为 0.050 mL。

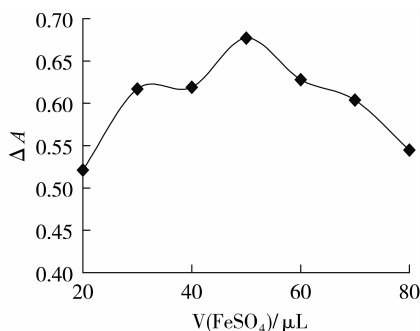


图3 硫酸亚铁用量对吸光度的影响

2.2.4 固绿溶液用量对吸光度的影响

固绿溶液用量对吸光度影响的实验结果见图4。结果表明,随着 FG 溶液用量的增加, ΔA 值逐渐增大,当 FG 溶液用量为 125 μL 时, ΔA 值达到最大值;FG 溶液用量大于 125 μL 时, ΔA 值随着固绿溶液用量的增加而减小。故实验选用固绿的用量为 125 μL 。

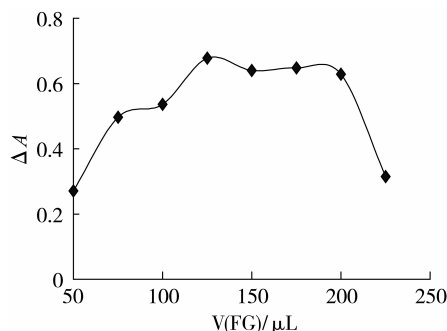


图4 固绿用量对吸光度的影响

2.2.5 过氧化氢用量对吸光度的影响

过氧化氢用量对吸光度影响的实验结果见图5。过氧化氢用量对体系产生较大的影响。随着过氧化氢用量得增加, ΔA 逐渐增大,当 H_2O_2 溶液用量为 35 μL 时, ΔA 达到最大值;过氧化氢用量大于 35 μL 时, ΔA 趋向于减小。因此实验选用过 H_2O_2 溶液的用量为 35 μL 。

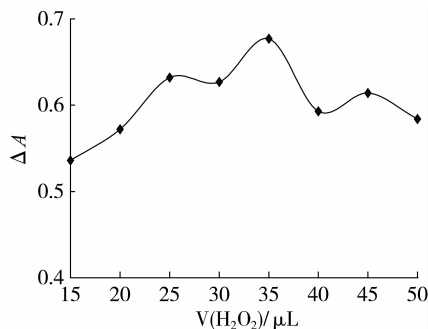


图5 过氧化氢用量对吸光度的影响

2.2.6 反应时间对吸光度的影响

反应时间对吸光度影响的实验结果见图6。实验发现,随着反应时间的逐渐加长, ΔA 值逐渐增大;当反应时间为 10 min 时, ΔA 值达到最大值,随后 ΔA 值随着反应时间的加长而减小。故实验选用反应时间为 10 min。

2.2.7 反应温度对吸光度的影响

反应温度对吸光度影响的实验结果见图7。结果表明,随着反应温度的增高, ΔA 值逐渐增大;当反应温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ 时, ΔA 达最大值,之后 ΔA 值都会有所下降。故实验选用反应温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 线性关系

按照实验方法 1.3.1,分别测定不同浓度 PG 在波长 625 nm 处的 ΔA_0 实验发现,PG 浓度与 ΔA 具

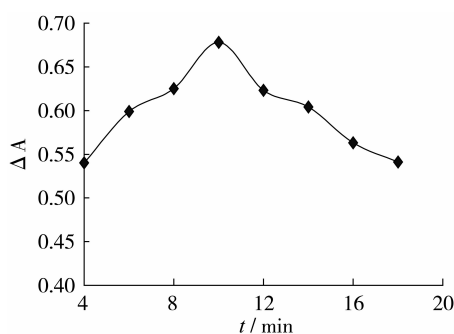


图6 反应时间对吸光度的影响

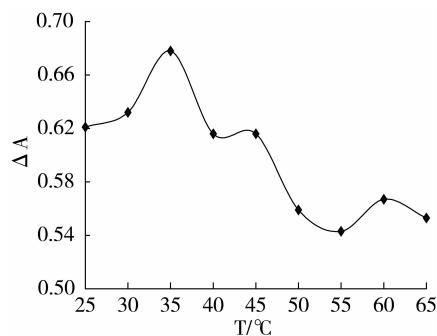


图7 反应温度对吸光度的影响

有良好的线性关系,线性回归方程为 $\Delta A_{625\text{nm}} = 59.328\rho + 0.0085$, 相关系数 (R^2) 0.9952, 线性范围 $8.3 \times 10^{-4} \sim 1.6 \times 10^{-2}$ mg/mL, 检出限为 9.8×10^{-5} mg/mL。

2.4 干扰试验

实验考察了共存物质的影响。PG 浓度为 2.4×10^{-8} mol/mL, 控制相对误差在 $\pm 5\%$ 之间时, 300 倍的 Na^+ ; 120 倍的 K^+ 、 Ba^{2+} 、 Ca^{2+} ; 90 倍的 Mn^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} ; 70 倍的 L-丙氨酸、苏氨酸、L-精氨酸、DL-丝氨酸、L-缬氨酸、DL-谷氨酸、组氨酸、苯丙氨酸不干扰测定。因此该法具有较好地选择性。

2.5 实际样品的测定

从超市购买某品牌巧克力糖和某品牌饼干, 实际样品中 PG 的测定结果见表 2。

表2 样品分析及标准加入回收实验结果 (n=6)

样品	测定值/(mg/kg)	平均值 /(mg/kg)	RSD /%	加标量 /(mg/kg)	测得平均总 量/(mg/kg)	平均回 收率/%
巧克	29.65, 30.06, 29.84	29.31	3.4	50	80.97	103.3
力糖	27.53, 30.02, 28.78					
饼干	0	0	-	100	96.25	96.2

3 结论

利用 PG 对 Fenton 试剂氧化固绿褪色反应具有抑制作用原理, 建立了一种光度法测定 PG 的新方法。在最佳实验条件下, PG 浓度与 ΔA 具有良好的线性关系, 线性回归方程为 $\Delta A_{625\text{nm}} = 59.328\rho +$

0.0085 , 相关系数 (R^2) 0.9952, 线性范围 $8.3 \times 10^{-4} \sim 1.6 \times 10^{-2}$ mg/mL, 检出限为 9.8×10^{-5} mg/mL。可应用于巧克力和饼干中 PG 的测定, 测定结果的 RSD 为 3.4%, 回收率在 96.2% ~ 103.3% 之间。该方法操作简便、快速、费用低。

参考文献:

- [1] Lin Y F, Hu Y H, Lin H T, et al. Inhibitory effects of propyl gallate on tyrosinase and its application in controlling pericarp browning of harvested longan fruits[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(11): 2889-2895.
- [2] 莫树平, 张菊梅, 柏建玲, 等. 抗氧化剂及其增效剂对荔枝、龙眼和芒果原果汁的抗氧化作用研究[J]. 饮料工业, 2010, 13(10): 14-17.
- [3] Dacre J C. Long-term toxicity study of n-propyl gallate in mice[J]. Food Cosmet Toxicol, 1974, 12(1): 125-129.
- [4] 许玮, 冯倩, 曹厚利, 等. 没食子酸丙酯对 K562 细胞的增殖抑制和诱导凋亡作用[J]. 应用与环境生物学报, 2011(4): 517-520.
- [5] 孟磊, 谢黎霞, 苏惠. 反相高效液相色谱法测定儿童饼干中 8 种抗氧化剂[J]. 理化检验(化学分册), 2013, 49(10): 1261-1263.
- [6] 王萍, 倪永年. 抗氧化剂没食子酸丙酯合成纳米银及其应用[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(4): 837-840.
- [7] 殷日昌, 寇相波, 刘国全. 食用油中 PG 的测定[J]. 中国油脂, 2000, 25(2): 58-59.
- [8] Capitan-Vallvey L F, Valencia M C, Nicolas E A. Monoparameter sensors for the determination of the antioxidants butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in foods and cosmetics by flow injection spectrophotometry[J]. Analyst, 2001, 126(6): 897-902.
- [9] 龚雪云, 张磊, 李华岑. 高效液相色谱法测定饲料中的没食子酸丙酯[J]. 光谱实验室, 2011, 28(4): 1969-1971.
- [10] 周晓婷, 曹小妹, 张敬敬, 等. 溶剂梯度结合流速梯度洗脱—高效液相色谱法快速测定食用植物油中四种抗氧化剂[J]. 粮食与油脂, 2012, 25(7): 32-34.
- [11] 李淑娟, 冯楠, 安娟, 等. 快速分离液相色谱法同时测定食品中 10 种脂溶性抗氧化剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2010(8): 1890-1892.
- [12] Xiang Q, Gao Y, Xu Y, et al. Capillary electrophoresis-amperometric determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxyanisole in foods[J]. Anal Sci, 2007, 23(6): 713-717.
- [13] 薛殿鹏, 王超海. 毛细管电泳安培检测法对食品中抗氧化剂的测定[J]. 微量元素与健康研究, 2013, 30(5): 54-56.
- [14] 李兴根, 韩芷玲. 毛细管气相色谱法测定食品中的酚类抗氧化剂[J]. 粮油食品科技, 2006, 14(2): 55-56.
- [15] Wang J Y, Wu H L, Chen Y, et al. Quantitative determination of butylated hydroxyanisole and n-propyl gallate in cosmetics using three-dimensional fluorescence coupled with second-order calibration[J]. Talanta, 2013, 116: 347-353.
- [16] Chen M, Tai Z, Hu X, et al. Utility of 4-chloro-7-nitrobenzofurazan for the spectrofluorimetric determination of butylated hydroxyanisole and propyl gallate in foodstuffs[J]. J Food Sci, 2012, 77(4): 401-407.
- [17] 郭岚, 谢明勇, 鄢爱平, 等. 气相色谱—质谱法同时测定食用植物油中三种抗氧化剂[J]. 分析科学学报, 2007, 23(2): 169-172.
- [18] 胡国华. 食品添加剂应用基础[M]. 北京: 化学工业出版社.

