

气相色谱内标法检测食品添加剂不溶性 聚乙烯聚吡咯烷酮中的 N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮的残留量

刘宝圣, 张敬轩, 郭峰, 周杰

(河北冠卓检测科技有限公司, 石家庄 051130)

摘要: 建立了气相色谱法测定食品添加剂不溶性聚乙烯聚吡咯烷酮 (PVPP) 中的 N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮的检测方法, 样品采用丙酮提取, 气相色谱仪 - 氮磷检测器检测, 内标法定量, 浓度在 0.1 ~ 3.2 μg/mL 范围内具有良好的线性, 线性相关系数为 0.9999, 方法的定量限为 1 mg/kg, 加标回收率为 102.0% ~ 106.1%, 变异系数 2.44% ~ 5.26%, 同时本方法也为气相色谱法的建立与开发, 提供了帮助。

关键词: 聚乙烯聚吡咯烷酮; N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮; 气相色谱法; NPD 检测器

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-2513 (2018) 03-0068-05

Internal standard method for the determination of Free N, N'-divinylimidazolidone in Insoluble Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) by gas chromatography

LIU Bao-sheng, ZHANG Jing-xuan, GUO Feng, ZHOU Jie

(Hebei Guan Zhuo Testing Technology Co., Ltd., Shijiazhuang 051130)

Abstract: Reverse gas chromatography method was developed for the determination of Free N, N' - divinylimidazolidone in Insoluble Polyvinylpolypyrrolidone (PVPP) in food additives. The samples were extracted by acetone, Quantitative determined by internal standard method and detected by GC-NPD. The results showed that the linear range of Free N, N' -divinylimidazolidone was 0.1 ~ 3.2 μg/mL, Correlative coefficient was 0.9999. The limit of quantitation was 1 mg/kg, the average recoveries were 98.0% ~ 103.1%, the coefficients of variation were 2.63% ~ 5.26%. In addition, the method provided information in establishing a new detecting method by gas chromatography.

Key words: PVPP; N, N' -divinylimidazolidone; GC-NPD

不溶性聚乙烯聚吡咯烷酮 (PVPP) 是一种高分子聚合物, 可以作为澄清剂应用于酿酒和饮料等食品行业^[1-2]。PVPP 属于聚酰胺树脂, 具备独特的网状性能结构, 不溶于水、酸、碱和

一般有机溶剂。PVPP 结构中有酰胺键 (-CO-NH-), O 原子和 N 原子可以结合酚类物质中的氢氧基形成氢键络合物, 从而去除酒类和饮料中浑浊, 达到稳定和澄清的作用, 并且能保持口感和

收稿日期: 2017-12-29

基金项目: 国家卫生和计划生育委员会食品安全标准制定基金项目 (spaq-2012-32)。

作者简介: 刘宝圣 (1978-), 男, 在职研究生, 高级工程师, 研究方向: 食品安全检测。

原风味, 延长保质期^[7-11]。国际食品法典委员会 (CAC) 下属的食品添加剂专家委员会 (JECFA)、美国食品化学法典 (FCC) 和日本公定书都有 PVPP 作为食品领域使用的规定^[3-5]。GB 2760—2011《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》把 PVPP 也已列为食品添加剂产品目录, 规定可在啤酒、葡萄酒、果酒、黄酒、配制酒的加工工艺和发酵工艺环节中作为吸附剂使用^[6]。PVPP 产品的生产工艺一般采用两种方法。第一种是在碱金属氢氧化物存在下, 将 N-乙烯吡咯烷酮加热聚合, 来制得 PVPP^[12-13]。第二种是在少量外加双官能团交联剂存在下, 加热聚合制得。据报道国外企业有使用 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮作为交联剂或催化剂来生产 PVPP。N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮, 属于有害化学品, 如果残留在产品中, 不仅影响产品的品质, 还危害人的身体健康, 国际食品法典委员会 (CAC) 下属的食品添加剂专家委员会 (JECFA) 对于 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的限量规定其最大残留限量不超过 2mg/kg^[3]。本方法参考有关文献, 研究了 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的前处理方法、灵敏度、线性、添加回收率和精密度。实验结果表明, 本方法可以满足国内外对 PVPP 产品中 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮检测要求。

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

气相色谱仪: THERMO TRACE GC, 配有氮磷检测器 (NPD), 美国热电公司; 调速振荡器: S-02 型, 英国 Stuart Scientific 公司; 丙酮: 色谱级, FULL TIME, 安徽时联特种溶剂股份有限公司; 正庚腈: 含量 $\geq 98\%$, SIGMA-ALDRICH 公司; N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮标准品, 含量 $\geq 99\%$, 博爱新开源制药股份有限公司。

1.2 标准溶液的配制

内标溶液: 称取 0.1g (准确至 0.0001g) 正庚腈于 1000mL 容量瓶中, 用丙酮溶解并稀释至刻度, 摇匀备用。

标准储备溶液: 称取 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮 0.025g, 精确至 0.1mg, 于 100mL 容量瓶中, 用丙酮溶解稀释至刻度, 摇匀备用。

标准中间溶液: 取 1.0mL 标准储备溶液于 50mL 容量瓶中, 用丙酮定容至刻度, 浓度为 5 μ g/mL。

标准使用溶液: 取 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mL 的标准中间溶液于 25mL 容量瓶中, 再加入 1.0mL 内标溶液, 用丙酮定容到刻度, 配制成 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 μ g/mL 的系列标准溶液, 摇匀备用。

1.3 样品处理

称取 2.5g (精确至 0.1mg) 样品到 100mL 具塞锥形烧瓶中, 准确加入 1.0mL 内标溶液和 24mL 丙酮, 盖紧塞子, 在振荡器上振摇 4h, 取适量提取液至 10mL 离心管中, 在 3000 转/min 离心, 取上清液, 供气相色谱仪分析。

1.4 仪器分析条件

毛细管柱: CP-WAX, 30m \times 0.32 mm (i.d.) \times 0.2 μ m; 进样口温度: 220 $^{\circ}$ C; 检测器温度 (NPD): 240 $^{\circ}$ C; 柱箱温度: 60 $^{\circ}$ C 保持 1min, 以 10 $^{\circ}$ C/min 的升温速率升至 230 $^{\circ}$ C; 载气: 高纯氮气, 流速为 2.0mL/min; 氢气流速: 3.0mL/min; 空气流速: 60mL/min; 进样量: 2 μ L; 分流比: 5 : 1。

2 结果与讨论

2.1 定量方法的选择

内标法是在样品前处理和分析过程中, 样品溶液体积变化可能造成浓度变化导致结果偏差时使用, 可以弥补进样体积波动、定容液体积变化带来的影响。外标法定量时, 如果进样针中有气泡, 这会导致实际进样体积减小, 目标物的实际响应值就会减小; 如果进样针清洗不净, 那么对下一个样品浓度起到累加的作用。而如果有内标时, 内标也同样随着稀释或叠加, 有一定弥补作用。本方法使用的提取溶剂为丙酮, 沸点为 56.53 $^{\circ}$ C, 是一种极易挥发的试剂, 如果振摇提取 4h, 难免体积减少, 导致浓度增大; 另外丙酮虽然在常压下还是液体, 但是在进样针吸液时会导致针腔内的低气压, 从而易挥发丙酮会气化, 而气体渗透能力强, 所以吸取到针里很容易会存在气泡, 这会导致进样体积不准, 所以选择内标法定量, 目标物和内标的变化趋势相同, 弥补了体

积变化带来定量的不准确,同时也可以根据目标物和内标物的相对保留时间来进行定性检测。

2.2 样品前处理的确定

样品振摇提取时间分别选择 0.5h, 1h, 2h, 3h, 4h, 样品的加标回收率无明显差异,考虑到样品加标和实际样品中 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的存在状态以及提取的难易程度的差异和此化合物对健康具有的危害性,最终选择提取时间为 4h,可以充分的把 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮残留从 PVPP 中提取到丙酮中。样品提取液的净化分别选择采用 0.22 μ m 的有机相的针头滤膜和离心的方式,结果显示滤膜净化比较方便,检测数据无明显差异,考虑到滤膜的生产厂家之多,可能会有质量参差不齐,稍有细微的吸附,就会对结果产生影响,而离心方式虽然费时,但可降低使用滤膜的成本,减少滤膜可能吸附带来响应值偏小的风险,综合考虑采用离心的方式来净化提取液。

2.3 仪器条件的优化

气相色谱法提高灵敏度的方法通常会有以下几种方法。1、依据化合物和目标化合物的相似相溶原理来选择柱效高的色谱柱。柱效高的色谱柱得到的色谱峰响应值高,峰形尖锐,易积分,灵敏度高;2、根据色谱柱规格以及相应的承载量,选择尽可能大的进样体积;3、选择分流或不分流\分流进样模式;4、增大称样量,减少定容体积,样品富集提高浓缩倍数;5、依据化合物的性质来优化进样口、柱箱、检测器的温度以及氢气和空气比例。其中前四种方法是较常用的优化条件。本方法分别选用 DB-1, HP-5, DB-WAX 色谱柱,进样分析,DB-1, HP-5 对于内标和目标物基本不保留,且正庚腈和 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮峰形展宽。而采用 DB-WAX 分析时,峰形和响应值良好,所以选择极性强的键合交联聚乙二醇为固定相的色谱柱来进行分析。依据色谱柱内径的规格,分别选择 0.5 μ L, 1 μ L, 2 μ L 进样体积,当采用进样量 0.5 μ L,不分流进样时,N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮灵敏度较低,难以满足限量要求。当采用进样量 1 μ L,不分流进样时,化合物响应值可以满足要求。考虑到丙酮是一种具有腐蚀性和强极性的溶剂,长

期使用会对降低色谱柱的使用寿命,最终选择进样量为 2 μ L,分流比为 5 : 1,既保证灵敏度又可分流流出大多数的丙酮,化合物的响应值的重现性也非常好。考虑到在满足限量要求的情况下,既简便又快速,不采取牺牲时间来进行浓缩的措施。

2.4 检测低限的确定

通过对程序升温条件的优化,正庚腈和 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的色谱峰分离良好,无杂质峰干扰,以大于 10 倍噪音的信号值对应的质量浓度 1.0mg/kg 作为定量限,此定量限在满足低于限量条件下,当质量浓度大于等于 1.0mg/kg 时,仪器响应值比 3 倍噪音的检出限水平的检测重现性好,可以较为准确、快速的对化合物定性和定量。

2.5 线性方程和相关系数

取 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0mL 的浓度为 5 μ g/mL 的标准溶液于 25mL 容量瓶中,再加入 1.0mL 内标溶液,用丙酮定容到刻度,混匀,配制成 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2 μ g/mL 的系列的 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的标准溶液,进行色谱分析。以目标物的浓度和内标的浓度之比为横坐标,以目标物的峰面积和内标的峰面积之比为纵坐标绘制线性,标准曲线方程为 $Y=0.6055X-0.0014$;相关系数 R 为 0.9999。

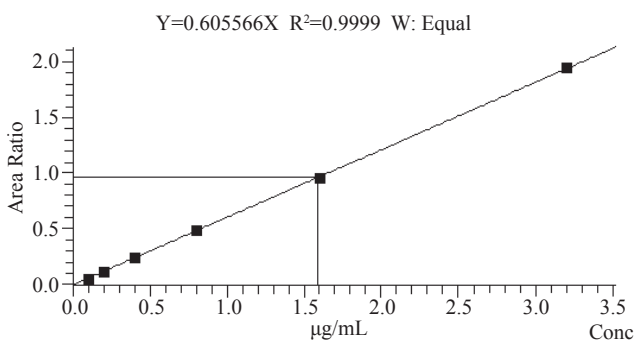


图 1 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮的标准曲线图

Fig. 1 The standard curve of N, N'-divinylimidazolidone

注: X 轴为 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮浓度; Y 轴为 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮与内标峰面积比值。

2.6 样品添加回收率和精密度

在样品中分别添加 0.5、1.0、2.0mL 浓

度为 $5\mu\text{g/mL}$ 的 N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮标准溶液和 1mL 的内标溶液, 得到 1、2、 4mg/kg 三个样品添加水平, 经分析, 回收率范

围为 $98.0 \sim 103.1\%$, RSD 值为 $2.63\% \sim 5.26\%$ ($n=6$)。标准溶液色谱图见图 2, 样品添加色谱图见图 3, 回收率和精密度数据见表 1。

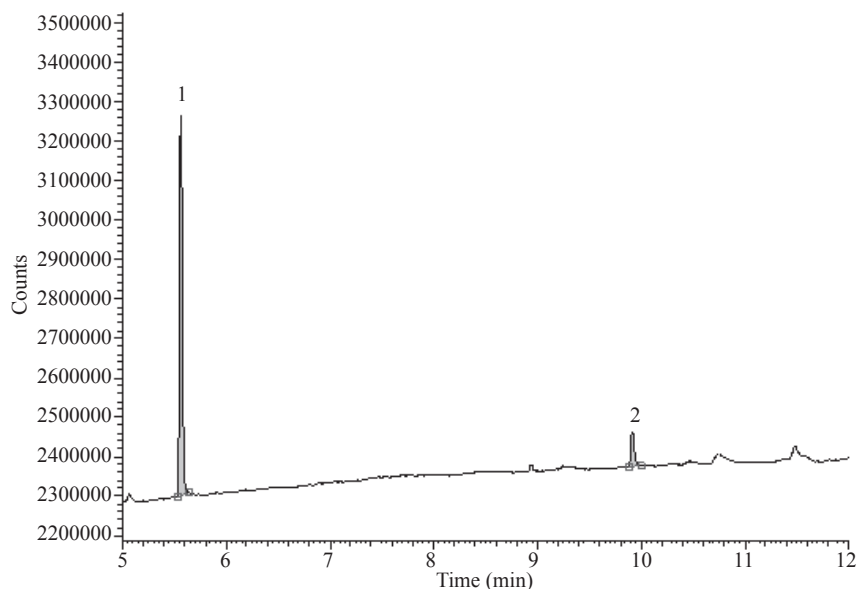


图 2 浓度为 $0.1\mu\text{g/mL}$ 的标准色谱图

Fig. 2 the chromatogram of the standard solution of 0.1mg/mL

注: 1. 正庚腈, 2. N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮。

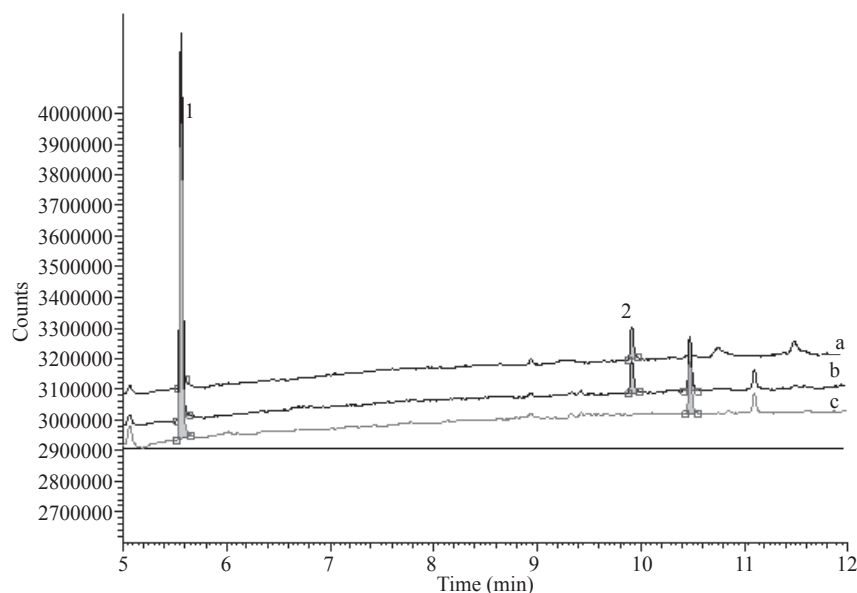


图 3 标准溶液、样品添加及样品色谱图的比较

Fig. 3 The comparison of standard solution, the added sample and sample chromatograms

注: a、b、c 分别为浓度为 $0.1\mu\text{g/mL}$ 标准溶液、添加浓度为 1.0mg/kg 和样品空白的色谱图;

1. 正庚腈 (内标), 2. N, N'-二乙烯基-咪唑啉酮。

表1 PVPP 样品中 N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮添加回收率及精密度的实验数据

Table 1 The experimental data of the concentrations of N, N' -divinylimidazolidone in the fortified sample and its corresponding recoveries

项目	空白值	添加水平 /mg/kg	测定值 /mg/kg						平均回收率, %	RSD, %
			1	2	3	4	5	6		
N, N' - 二 乙烯基 - 咪 唑啉酮	未检出	1	0.94	0.92	1.04	1.02	0.98	0.97	98.0	4.68
		2	1.99	2.06	2.12	2.04	1.85	2.15	102.0	5.26
		4	3.95	4.07	4.11	4.24	4.15	4.23	103.1	2.63

2.7 市售样品检测

分别对不同企业 10 批次的不溶性聚乙烯吡咯烷酮 (PVPP) 产品进行检测, N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮均未检出。据了解, 目前国内厂家的生产工艺没有用到此催化剂。但是随着技术的发展, 进出口贸易的变化, 市场需求的增加, 可能会有 PVPP 中含有此化合物。所以加强市场的监督抽查很有必要。

3 结论

PVPP 在食品和医药等领域被广泛使用, 其安全性将会受到越来越多的关注。此方法对于检测 PVPP 中的 N, N' - 二乙烯基 - 咪唑啉酮, 具有操作简单、分离效率好、线性范围宽等优点, 为 PVPP 产品标准的制定提供了技术参考, 也为气相色谱法的开发提供了一些建议。本方法中检测仪器使用的是气相色谱仪, 成本相对较低, 利于推广, 有利于生产厂家和监管部门对产品质量进行有效监督检查。

参考文献:

- [1] 周建华, 何志明. 浅谈 PVPP 的特性和应用 [J]. 啤酒科技, 2008 (1): 48-49, 53.

- [2] Codex Alimentarius Commission. CODEX GENERAL STANDARD FOR FOOD ADDITIVES [S]. Geneva Switzerland; WHO, 2012.
- [3] Committee on Food Chemicals Codex. Food Chemicals Codex 8th ed. Washington, D.C. The national Academy Press, 2012.
- [4] Food Hygienic Society of Japan. Specifications and standards of foods, food additives, etc[S]. 2001-03.
- [5] 李崎, 李永仙, 郑飞云, 等. 啤酒多酚物质对啤酒风味稳定性的影响 [J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26 (2): 102-106.
- [6] 中华人民共和国国家标准. GB 2760-2011, 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准 [S].
- [7] 易国斌, 崔英德, 廖列文, 等. PVPP 吸附绿茶饮料中茶多酚的研究 [J]. 食品科学, 2001, (22) 5: 14-16.
- [8] 黎新明, 崔英德, 廖列文. PVPP 对啤酒中多酚类物质和蛋白质的吸附作用比较 [J]. 食品科学, 2002, 23 (8): 74-76.
- [9] 陆健, 林小荣, 李未, 等. 聚乙烯吡咯烷酮吸附多酚物质性质研究及其在无甲醛酿造啤酒工艺中的应用 [J]. 食品科学, 2007, 28 (3): 125-130.
- [10] 冉强, 蔡少彬, 彭伟生. PVPP 在啤酒生产中的应用 [J]. 啤酒科技, 2008 (11): 48-49.
- [11] 李超, 刘东品, 常智刚. PVPP 吸附啤酒中多酚类物质的分析 [J]. 酿酒科技, 2009 (2): 110-111, 114.
- [12] 崔英德, 易国斌, 廖列文. 聚乙烯吡咯烷酮的合成与应用 [M]. 科学出版社, 2001, 2: 174.
- [13] 孙彬彬. 交联性聚乙烯基吡咯烷酮 PVPP 的制法及其应用 [J]. 浙江化工, 2012, 12 (43): 20.

《中国食品添加剂》杂志—中文核心期刊 中国科技核心期刊
欢迎您通过唯一渠道—本刊在中国知网的期刊编审系统投稿

网 址: <http://zstj.cbpt.cnki.net/>