



EJ087199600327

Journal of Food and Drug Analysis
1996. 4(4) : 327-334

利用固相萃取及氣相層析法分析 番木瓜中苜基異硫氰酯含量之研究

許 輔 徐源泰*

國立臺灣大學園藝學系

摘 要

本研究建立了以固相萃取法進行樣本前處理，再以氣相層析儀分析番木瓜中苜基異硫氰酯含量的分析方法，同時探討苜基異硫氰酯在碳十八固相萃取管柱中的吸附與沖提。由貫穿曲線及沖提曲線計算此法對含1,000 ppm苜基異硫氰酯的模擬樣本之最大理論濃縮係數為1.5；而此法之最低檢出量為100 ppb。多種番木瓜樣本的分析結果為番木瓜種子含苜基異硫氰酯141.7-342.7 ppm，果皮23.3-45.1 ppm，果肉21.2-43.1 ppm，木瓜牛奶15.2-19.8 ppm；平均回收率為95.1%。與傳統溶劑萃取法相較，固相萃取法具有簡便、高回收率、節約溶劑等優點。

關鍵詞：苜基異硫氰酯，固相萃取，番木瓜。

前 言

異硫氰酯(isothiocyanate)是蔬果中自然形成且具刺激性的辛辣物質，也是芥子油(mustard oil)的主要成分⁽¹⁾，存在於多種十字花科蔬菜的葉片及種子中，會造成不良風味⁽²⁾。一般水果中則較少有異硫氰酯存在，僅發現番木瓜(又稱木瓜，*Carica papaya* L.)中含異硫氰酯類化合物，且已確定其結構為苜基異硫氰酯(benzyl isothiocyanate, $C_6H_5CH_2SCN$ ，簡稱BITC)^(3,4)。苜基異硫氰酯及其前驅物苜基異糖苷(benzyl glucosinolate)是造成番木瓜及其加工品具苦味的主要物質^(5,6)，苜基異硫氰酯是由苜基異糖苷經芥子酶(thioglucosidase，又稱myrosinase, EC 3.2.3.1)水解產生^(1,3)(圖一)，含量隨番木瓜果實成熟的過程而降低，果肉含量約4 ppm至300 ppm，但乾燥的種子含量可高達5,000 ppm^(5,6)，倘若以未完全清除種子的果肉榨汁，則製成的番木瓜果泥便可能因含過量的

苜基異硫氰酯而導致不良的風味。另一方面，由於異硫氰酯類化合物具有高活性的硫基團可與酵素結合，也被證實能抑制酵素活性及微生物生長⁽⁷⁾，因此在蔬果產品的處理及加工上十分具有應用潛力。

傳統上異硫氰酯類物質的分析方法是以溶劑萃取法(solvent extraction)^(5,6)或是上部空間法(headspace)進行樣本前處理⁽⁸⁾，再以氣相層析法(gas chromatography)分析及定量。溶劑萃取法是取均質後的液體樣本以多倍體積的氯仿萃取，收集萃液並經過濃縮後，再行氣相層析儀分析，通常以火焰離子偵測器(flame ionization detector)檢測^(5,6)。上部空間法為將已均質之樣本置於密閉瓶中，予以加熱至揮發性物質揮發後，抽取瓶內液面上部空間的氣體行氣相層析儀分析⁽⁸⁾。以溶劑萃取法分析樣本中的異硫氰酯類化合物時常因萃取樣本時的乳化現象影響萃液的分離而降低回收率，同時也會因溶劑中不純物引起的背景干擾(background noise)影響

分析結果；而利用上部空間法分析得到的僅是揮發後的異硫氰酯量，並不能代表樣本中異硫氰酸的全部含量，且上述二種傳統的前處理方法都存在手續繁複且不符經濟的缺點⁽⁹⁻¹¹⁾，因此有必要建立方便、快速且準確的分析方法。

固相萃取法(solid phase extraction)的原理是利用固體吸附劑作為萃取樣本中有機化合物的基質，當樣本與吸附劑分離後，再選擇適當溶劑將吸附劑上所附著的化合物沖提出來⁽⁹⁾。目前鍵結矽類(bonded silicas)已成為固相萃取吸附劑的主流，矽酸鎂(florisil)、C₁₈、NH₂都是常用的吸附劑^(11,12)，也已有這些材質的固相萃取管匣商品問世^(9,11-12)。以固相萃取法分析有機化合物時，必需要考慮吸附管匣對該待測物的吸附率以及溶劑的沖提率，才能提高前處理過程中待測物的回收率，因此固相萃取管匣及沖提溶劑的選擇十分重要⁽¹²⁾。由於苄基異硫氰酯屬中低極性的小分子化合物，故可適於應用固相萃取法進行樣本的前處理。

本研究擬發展利用固相萃取法進行樣本前處理，再以氣相層析儀檢測的番木瓜中苄基異硫氰酯分析方法，同時探討利用商業化管匣進行萃取時，苄基異硫氰酯在管匣中的吸附與沖提關係，並比較固相萃取法與溶劑萃取法的差異。另一方面，亦擬檢驗本省常見的番木瓜品種及番木瓜加工品中的苄基異硫氰酯含量，找出較不具苦味的加工品種。

材料與方法

一、材料

台農2號，5號，蘇魯，日陞等品種之番木瓜果實由臺灣省廚師公會理事長許耀楠先生提供，成熟度約接近完熟，木瓜牛奶樣本購自坊間冰果室及超級市場。

液體標準品苄基異硫氰酯(benzyl isothiocyanate)購自美國Aldrich公司(Milwaukee, WI)；苄基異硫氰酯(phenyl isothiocyanate)、甲醇、正己烷、二氯甲烷購自德國Merck公司(Frankfurter)。

固相萃取管匣(Extra-Sep column C₁₈, 200 mg, 3.0 mL cartridge)購自美國Lida公司(Kenosha, WI)，真空萃取裝置(12 position vacuum extraction manifolds)購自美國Cole-Parmer公司(Niles, IL)。

二、實驗方法

(一)標準原液之配製及標準曲線(standard curve)之製作

分別精秤 500 mg 苄基異硫氰酯溶於 50 ml 甲醇，配成 10,000 ppm 之標準原液(stock solution)。以甲醇稀釋標準原液至不同濃度(0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500 ppm)，各取 1 μl 注射氣相層析儀分析，以苄基異硫氰酯離子吸收峰的積分面積為反應量，每一濃度均做三重複。以反應量為縱軸苄基異硫氰酯濃度為橫軸做圖，得標準曲線。

(二)樣品中苄基異硫氰酯的固相萃取方法

將 C₁₈ Extra-Sep 固相萃取管匣置於真空萃取裝置上，取 2 ml 正己烷活化管匣並除去管匣中的干擾物質，再於匣中加入待測的樣本溶液 3 ml，管匣經樣本適當地潤溼之後，利用真空幫浦以約略 5 ml/min 的流速使樣本通過管匣，並繼續抽真空 30 秒以去除滯留的水分。最後以 1 ml 正己烷沖提管匣中的滯留物質，取沖提液 1 μl 行氣相層析儀分析，比對標準曲線定量。

(三)固相萃取之貫穿曲線(breakthrough curve)及沖提曲線(elution curve)之製作

以去離子水稀釋苄基異硫氰酯標準原液製作濃度為 1,000 ppm 之模擬樣本溶液。分別取 200 至 2,000 μl 不等體積之模擬樣本進行固相萃取，以 1 ml 正己烷沖提管柱，取沖提液 1 μl 行氣相層析儀分析，比對標準曲線定量，每一材料均做三重複。以沖提液中苄基異硫氰酯含量(C_e)除以流入液中含量(C_i)所得到之相對分率(C_r, C_r = C_e/C_i)為縱軸，使用的模擬樣本體積為橫軸做圖，可得到貫穿曲線。

分別取 1,000 ppm 之苄基異硫氰酯模擬樣本溶液 0.5 ml, 1 ml 及 1.5 ml 載入管匣進行固相萃取，但管匣的沖提分二次進行，第一次沖提取 100 至 2,000 μl 不等體積之正己烷進行沖提，第二次均取 1 ml 正己烷沖提，取第二次沖提之萃液 1 μl 行氣相層析儀分析，比對標準曲線定量，每一試驗均做三重複。原模擬樣本濃度中苄基異硫氰酯濃度減去第二次萃液之濃度即得到第一次沖提液之濃度，以第一次沖提液中苄基異硫氰酯含量(C_e)除以流入液中含量(C_i)所得到之相對分率(C_r, C_r = C_e/C_i)為縱軸沖提率為橫軸，第一次沖提使用的正己烷體積為橫軸做圖，可得到沖提曲線。

(四)檢量線(calibration curve)之建立

以去離子水稀釋苄基異硫氰酯至不同濃度(0.5, 1, 10, 50, 100, 500 ppm)，均加入內部標準品(internal standard)苯基異硫氰酯(phenyl isothiocyanate)至濃度為10 ppm，作成不同濃度之模擬樣本。分別將模擬樣本依前述方法進行固相萃取，取1 μ l萃液注射氣相層析儀分析，以目標離子吸收峰的積分面積為反應量，每一濃度均做三重複。以苄基異硫氰酯對苯基異硫氰酯的反應量比當縱軸，濃度比當橫軸，繪得檢量線。

依苄基異硫氰酯及苯基異硫氰酯在氣相層析儀之反應量，可計算二者之相對表現因子(relative response factor, RRF)。亦即：

$$RRF = (A1/W1) / (A2/W2) \quad (1)$$

於分析時，在樣本中加入一定量已知濃度之內部標準品，則苄基異硫氰酯之含量可依公式(2)計算求得：

$$\text{Benzyl isothiocyanate } (\mu\text{g/ml}) = (A1/A2) \times (W2/RRF) \times (1/V) \quad (2)$$

A1=苄基異硫氰酯之波峰面積。

A2=內部標準品之波峰面積。

W1=苄基異硫氰酯之重量(ng)。

W2=內部標準品之重量(ng)。

V=樣本之體積(ml)

(五)最低檢出量試驗

以去離子水稀釋苄基異硫氰酯標準原液至不同濃度(10, 20, 50, 100, 500 ppb)，並加入內標準品苯基異硫氰酯至濃度為10 ppm，作成不同濃度之模擬樣本。分別將模擬樣本進行固相萃取，取萃液1 μ l注射氣相層析儀分析，按苄基異硫氰酯及苯基異硫氰酯在氣相層析圖譜之面積比，比對檢量線定量。估計苄基異硫氰酯之最低檢出量，每一濃度均做三重複。

(六)番木瓜樣本之添加回收試驗

番木瓜果實經洗淨削皮及去子後，謹慎分成果皮、果肉及種皮三部份為樣本。取50 g樣本置於果汁機內並加入去離子水50 ml稀釋後，劇烈攪碎3分鐘，再以均質機15,000 rpm攪拌30秒後，以玻璃砂漏斗(G4級)過濾除去殘渣，收集濾液。木瓜牛奶樣本則直接加入等重之去離子水，均勻攪拌後再過濾，收集濾液。取一定量樣本濾液加入苄基異硫氰酯至濃度為10 ppm，空白組樣本不添加苄基異硫氰酯，添加組樣本則再加入10 ppm苄基異硫氰酯，完成樣本的初製備。

取初製備後之各組樣本3 ml經固相萃取及

氣相層析分析後，比對檢量線並校正稀釋倍數以計算苄基異硫氰酯含量，每一試驗均做三重複。依空白組及添加組苄基異硫氰酯相差量除以苄基異硫氰酯添加量，可計算二者之回收率(recovery)。亦即：

$$\text{Relative recovery } (\%) = (C1-C0) / 10 \times 100\% \quad (3)$$

C0=空白組苄基異硫氰酯之濃度偵測量(ppm)

C1=添加組苄基異硫氰酯之濃度偵測量(ppm)

(七)固相萃取法與溶劑萃取法之比較

番木瓜果皮、果肉及種皮樣本溶劑分別以固相萃取法以及溶劑萃取法定量。

溶劑萃取法修改自Tang^(5,6)：分別取初製備後之番木瓜果皮、果肉、種子及木瓜牛奶樣本30 g，以二氯甲烷50 ml萃取三次，若萃取時分層困難則輔以超音波震盪或離心，最後收集二氯甲烷萃液。萃液以無水硫酸鈉除水後，先減壓蒸餾至體積小於5 ml，再將濃縮液以二氯甲烷洗入濃縮管中，以氮氣吹拂及水浴濃縮，定容至1 ml。取其中1 μ l注射氣相層析儀分析後，比對檢量線並校正稀釋倍數以計算苄基異硫氰酯含量，每一試驗均做三重複。

(八)氣相層析/質譜分析條件

氣相層析儀/質譜偵測器(HP-5890 series2 GC, HP 5971 Mass Spectrum Detector, HP 7673 Autosampler, HP Vectra 486/33 Workstation, HP-ChemStation V.2.00 Software)

毛細層析管柱:0.2 mm X 20 M Carbowax 20 M(HP-20M). 升溫條件:oven temp:50°C, hold 2 mins, 10°C/min to 100°C, hold 1 min, 10°C/min to 200°C; 注射器 200°C; 檢測器 250°C; 氮氣流速 = 0.6 mL/min (m=30.9 cm/sec, measured at 60°C); 注射容積 = 1 μ l.

質譜分析條件:SIM mode, scan target ions 65, 91, 149(BITC), 51, 77, 135(PITC), Dwell time per ion = 10 msec, 0 volts relative to auto-tune.

結果與討論

一、固相萃取系統中苄基異硫氰酯的吸附與沖提

苄基異硫氰酯屬中低極性之化合物，在水中的溶解度很低，故在考慮固相萃取管匣的種

Journal of Food and Drug Analysis, 1996, 4(4)

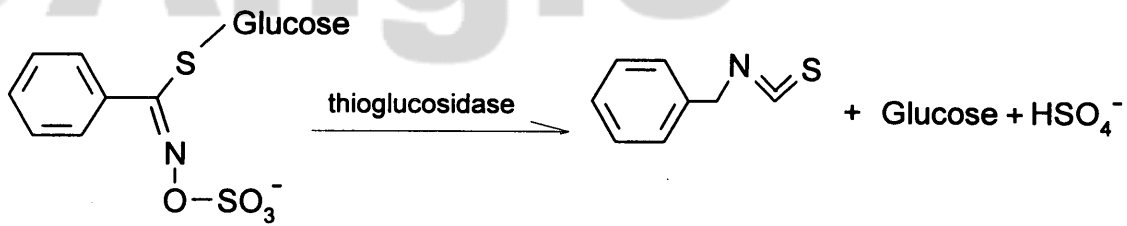


Figure 1. Benzylglucosinolate, upon enzymatic hydrolysis with thioglucosidase (EC 3.2.3.1) produces benzyl isothiocyanate⁽¹⁾.

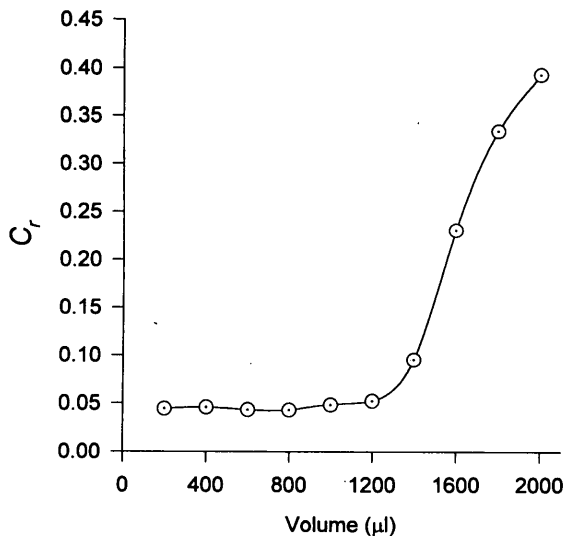


Figure 2. Breakthrough curve of benzyl isothiocyanate on Sep-Pak C₁₈ cartridge. $C_r=C_e/C_i$, where C_e and C_i are the amounts of the analyte in the effluent and influent.

類時，依據物質之極性類似則分子間作用力較大的觀念，以選擇逆相(reverse phase)管匣較有利於苄基異硫氰酯在管匣內滯留，而逆相管匣中又以C₁₈管匣最為常用。當使用逆相管匣時，由於希望減少溶劑使用量，在提高前處理中苄基異硫氰酯的濃縮倍數及回收率的前提下，選擇沖提溶劑的種類是很重要的，由於正己烷在逆相環境中極性最低且固相萃取時沖提效率(elution efficiency)最佳，因此選擇以正己烷作為本實驗的沖提溶劑。

在固相萃取系統中，待測物的回收率是滯留效率以及沖提效率的函數⁽¹⁾，因此必需先做出貫穿曲線及沖提曲線才能建立出高回收率的分析方法。圖二為1,000 ppm 苄基異硫氰酯模

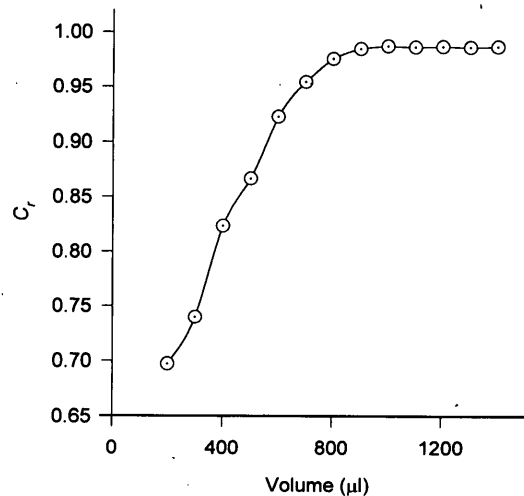


Figure 3. Elution curve of benzyl isothiocyanate on Sep-Pak C₁₈ cartridge, measured as its concentration in n-hexanic effluent fractions. $C_r=C_e/C_i$, where C_e and C_i are the amounts of the analyte in the effluent and influent.

擬樣本對C₁₈管匣之貫穿曲線。由圖二可計算其貫穿體積(breakthrough volume)約為1,200 μl，而貫穿體積之內的滯留率則達95.42%，相當於含1.2 mg 苄基異硫氰酯之樣本流經管匣時，樣本內的苄基異硫氰酯都能幾乎被管匣吸附而不流失。由於食品樣本中尚存有其他成分亦會被管匣吸附，因此實際操作時管匣對苄基異硫氰酯的吸附容量(adsorption capacity)可能會略低於此值。

圖三為正己烷對已完全吸附苄基異硫氰酯之管匣的沖提曲線。圖三顯示以800 μl 正己烷沖提時沖提率即可達到97.48%，此值可視為系統的最適沖提體積(elution volume)，由貫穿體積(V_B)1,200 μl及沖提體積(W)800 μl可進一步

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(4)

Table 1. Lowest quantitatively determinable concentration of benzyl isothiocyanate (BITC) in simulation sample by solid phase extraction and GC detection

| BITC content (ppb) | Detectability | Recovery ^a (%) | S.D. ^b (%) |
|--------------------|---------------|---------------------------|-----------------------|
| 1,000 | Yes | 98.7 | 1.4 |
| 500 | Yes | 95.9 | 3.7 |
| 100 | Yes | 92.3 | 9.3 |
| 50 | Yes | 77.6 | 19.1 |
| 10 | No | - | - |

a: Quantitated by calibration curve.

b: Coefficient of variation (cv%).

Average of three experiments.

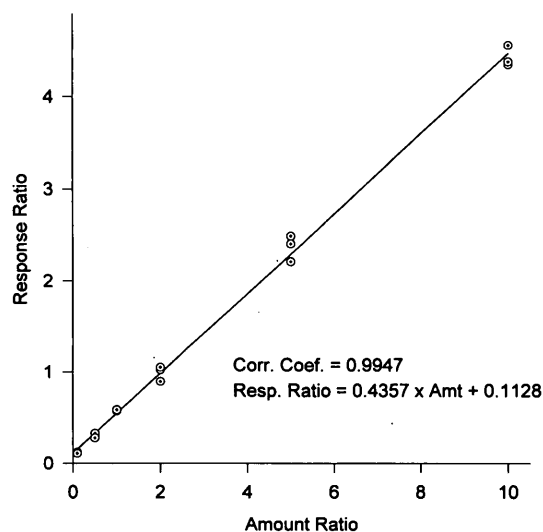


Figure 4. Calibration curve of benzyl isothiocyanate by Sep-Pak C₁₈ cartridge extraction and GC analysis. Phenyl isothiocyanate was added as internal standard.

計算得到系統的最大理論濃縮係數(maximum theoretical preconcentration factor, $F=V_B/W$)約為1.5(對苄基異硫氰酯濃度為1,000 ppm之模擬樣本而言)。由於考慮試驗時操作與計算的方便性，故將管匣中樣本的載入量固定為3 ml，同時提高正己烷的沖提體積至1 ml，以此條件處理含苄基異硫氰酯濃度為400 ppm以下的樣本時，其理論濃縮係數F值為3.0(對一般番木瓜樣本而言)。

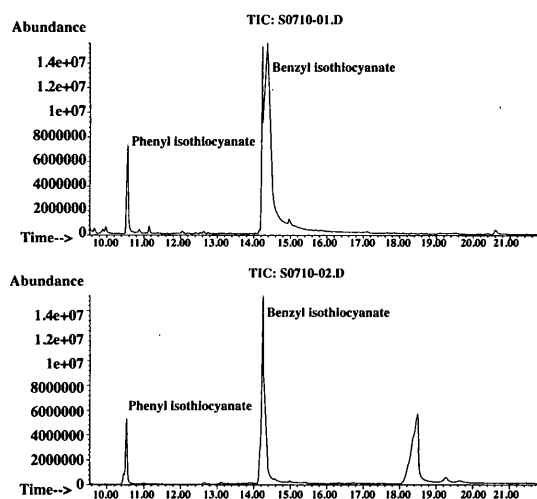


Figure 5. Comparison of gas chromatograms between dichloromethane extraction (A) and Sep-Pak C₁₈ cartridge extraction(B) on papaya (*Solo cultivar*) seeds.

二、固相萃取方法的建立

由貫穿曲線及沖提曲線可發現C₁₈固相萃取管匣對苄基異硫氰酯的吸附率可達95.42%，正己烷對管匣中苄基異硫氰酯(phenyl isothiocyanate)的沖提率達到97.48%，因此整個固相萃取過程的回收率應可達93%以上，十分適於樣本之分析。為進一步降低實驗誤差我們選擇添加苄基異硫氰酯作為內標準品，以內標準法比對檢量線定量。圖四為模擬樣本經固相萃取

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(4)

Table 2. Contents and recoveries of benzyl isothiocyanate (BITC) from the papaya samples by solid phase extraction and GC detection

| Sample Cultivar | Parts of fruit | Blank BITC (ppm) | Spiked BITC found ^a (ppm) | Recovery ^b (%) | S.D. ^c (%) |
|---------------------|--------------------|---------------------|---|------------------------------|--------------------------|
| Papaya Fruit | | | | | |
| Tainoung No.2 | pericarp | 18.1 | 28.1 | 100.2 | 11.4 |
| | pulp | 11.5 | 21.2 | 96.7 | 7.1 |
| | seed | 251.2 | 260.5 | 92.5 | 5.8 |
| Tainoung No.5 | pericarp | 13.9 | 23.3 | 94.3 | 4.2 |
| | pulp | 5.4 | 14.8 | 94.0 | 6.3 |
| | seed | 141.7 | 151.7 | 99.8 | 9.4 |
| Solo | pericarp | 35.0 | 44.5 | 94.8 | 2.9 |
| | pulp | 33.6 | 43.1 | 95.4 | 8.5 |
| | seed | 342.7 | 351.8 | 90.7 | 10.1 |
| Sunrise | pericarp | 34.9 | 45.1 | 101.5 | 9.8 |
| | pulp | 25.1 | 34.2 | 91.3 | 8.7 |
| | seed | 171.6 | 180.9 | 92.9 | 7.9 |
| Papaya milk | | | | | |
| | Fresh | 19.8 | 29.2 | 94.3 | 3.1 |
| | PurePak packaging | 16.9 | 21.0 | 91.2 | 8.8 |
| | TetraPak packaging | 15.2 | 24.9 | 97.2 | 3.7 |

a: 10 ppm of benzyl isothiocyanate was added to each spiked sample.

b: Blank and spiked samples were quantitated by calibration curve.

Recovery was calculated by detected amount dividing spiked amount.

c: Coefficient of variation (cv%).

Average of three experiments.

Table 3. Comparison of benzyl isothiocyanate(BITC) contents in papaya samples between solid phase extraction and dichloromethane extraction

| Sample | Solid phase extraction | | Dichloromethane extraction | |
|---------------------------|------------------------|-------------|----------------------------|-------------|
| | BITC(ppm) | Recovery(%) | BITC(ppm) | Recovery(%) |
| Seed of Solo cultivar | 342.7 | 90.7 | 369.8 | 88.3 |
| Pericarp of Solo cultivar | 35.0 | 94.8 | 21.1 ^a | 73.5 |
| Pulp of Solo cultivar | 33.6 | 95.4 | 18.7 ^a | 67.4 |
| Fresh papaya milk | 19.8 | 94.3 | 6.7 ^a | 57.2 |

^a: All 3 repeats were seriously emulsified.

Average of three experiments.

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(4)

後，以苜基異硫氰酯對苯基異硫氰酯之氣相層析波峰面積比(Y軸)對其濃度比(X軸)做圖所得之檢量線，其中線性回歸係數為0.9947，顯示此方法的線性關係及可重複性均良好，而苜基異硫氰酯對苯基異硫氰酯之相對表現因子為0.4357。

番木瓜液體樣本的固相萃取條件是參考自文獻上之相關程序^(9,11-12)以及貫穿曲線與沖提曲線之實驗結果而建立，預試驗的結果顯示以正己烷潤洗並活化管匣中吸附劑的步驟十分重要，其次是樣本流經管匣的流速不可過快，以利苜基異硫氰酯的吸附。圖五為蘇魯種(solo cultivar)番木瓜種子經萃取及氣相層析分析後所得的氣相層析圖譜，其中苯基異硫氰酯及苜基異硫氰酯的滯留時間分別為10.539及15.253分鐘。表一為本方法之最低檢出量試驗結果，顯示苜基異硫氰酯的最低檢測量約為100 ppb。

三、番木瓜樣本中苜基異硫氰酯含量的檢測結果

表二為添加10 ppm苜基異硫氰酯於不同番木瓜樣本中的添加回收試驗結果，其中平均回收率為95.12%，變異係數平均為7.2%。表二顯示番木瓜中苜基異硫氰酯的含量依果實部位而異，各品種均以種子含量最高(141.7-342.7 ppm)，果皮次之(23.3-45.1 ppm)，而果肉含量最低(21.2 - 43.1 ppm)。比較各番木瓜品種內之苜基異硫氰酯含量發現以臺農五號品種含量較低。上述結果除可作為番木瓜果實加工時選擇品種的參考外，也可印證謹慎地去除種子與果皮是防止番木瓜加工品含苦味的重要步驟。另一方面，木瓜牛奶的試驗結果則顯示樣本雖經牛乳及水的稀釋，仍可測得苜基異硫氰酯存在(15.2-19.8 ppm)，因此苜基異硫氰酯含量的檢測也可作為判斷木瓜牛奶樣本是否摻假的參考。

四、固相萃取法與溶劑萃取法的比較

分別以固相萃取法與二氯甲烷萃取法進行前處理，進行番木瓜樣本中苜基異硫氰酯含量分析的結果如表三所示，應用傳統的溶劑萃取法在番木瓜種皮、果泥以及新鮮木瓜牛奶的樣本分析時都會發生嚴重的乳化現象，經超音波震盪及高速離心都無法提高回收率(僅57.2-73.5%)，而番木瓜種子中的苜基異硫氰酯含量

則與固相萃取組的分析結果接近，唯回收率亦較低(88.3%)。表三之結果顯示固相萃取法在實驗的方便性、準確性及回收率上均優於傳統的溶劑萃取法，此外固相萃取法還具有簡易、經濟、節省溶劑的優點，因此十分適宜應用固相萃取法於番木瓜中苜基異硫氰酯的分析。

參考文獻

1. Kawakishi, S. 1985. Glucosinolates - Their Enzymatic Degradation, Reactivity and Toxicity of Degradation Products. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 32(11): 836-846.
2. Fenwick, G. R., Griffiths, N. M. and Mullin, R. K. 1983. Bitterness in Brussels Sprouts (*Brassica oleracea* L. var *gemmifera*). The Role of Glucosinolates and Their Breakdown Products. *J. Sci. Food Agric.* 34: 73-80.
3. Ettlinger, M. G. and Hodgkins, J. E. 1956. The Mustard Oil of Papaya Seed. *J. Org. Chem.* 21:204-206.
4. Gmelin, R. and Kjaer, A. 1970. Glucosinolates in the Caricaceae. *Phytochem.* 9:591-593.
5. Tang, C. S. 1971. Benzyl Isothiocyanate of Papaya Fruit. *Phytochem.* 10:117-121.
6. Tang, C. S. 1973. Location of Benzyl Isothiocyanate and Thioglucosidase in *Carica papaya* Fruit. *Phytochem.* 12:769-773.
7. Delaquis, P. J. and Mazza, G. 1995. Antimicrobial Properties of Isothiocyanates in Food Preservation. *Food Tech.* 49(11):73-84.
8. Yano, M., Itoh, H. and Saijo, R. 1987. Allyl Isothiocyanate and its Contribution to Pungency in Cabbage (*Brassica oleracea* L.). *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 34(9): 608-611.
9. Wang, W. K. and Huang, S. D. 1989. Rapid Determination of Seven Herbicides in Water or Isoctane Using C18 and Florisil Sep-Pak Cartridges and Gas Chromatography with Electron-Capture Detection. *J. Chromatogr.* 483:121-129.
10. Lopez-Avila, V., Milanes, J. and Dodhiwala, N. S. 1989. Cleanup of Environmental Sample Extracts Using Florisil Solid-Phase Extraction Cartridges. *J. Chromatogr. Sci.* 27:209-215.

Journal of Food and Drug Analysis. 1996. 4(4)

11. Chladek, E. and Marano, R. S. 1984. Use of Bonded Phase Silica Sorbents for the Sampling of Priority Pollutants in Wastewaters. *J. Chromatogr. Sci.* 22:313-320.

12. Liska, I. and Kuthan, A. 1990. Comparison of Sorbents for Solid-Phase Extraction of Polar Compounds from Water. *J. Chromatogr.* 509:123-134.

Determination of Benzyl Isothiocyanate in Papaya Fruit by Solid Phase Extraction and Gas Chromatography

FUU SHEU AND YUAN-TAY SHYU*

Department of Horticulture, National Taiwan University, Taipei, Taiwan, R.O.C.

ABSTRACT

In this study, a method for benzyl isothiocyanate (BITC) determination in papaya samples was established by solid phase extraction and GC analysis. The adsorption as well as the elution of BITC in a commercial C₁₈ cartridge are discussed. The maximum theoretical preconcentration factor calculated from the breakthrough curve and elution curve was 1.5 (based on simultaneous samples containing 1,000 ppm BITC). The lowest detectable level was 100ppb, and the

linearity was acceptable. Four cultivars of papaya fruits were analyzed and the BITC contents ranged from 141.7-342.7 ppm in seed, 23.3-45.1 ppm in pericarp, 21.2-43.1 ppm in pulp, and 15.2 to 19.8 ppm in papaya milk. The average recovery was 95.1%. Results showed the advantages of solid phase extraction of BITC: easy and rapid operation, higher recovery, and the use of less solvent, comparing to conventional solvent extraction method.

Key words: Benzyl isothiocyanate, solid phase extraction, papaya.