



液相色谱法同时测定酱腌菜食品中九种食品添加剂含量

陈玉波¹, 赵接红¹, 于伟², 苏建国¹, 陆富生¹, 赵燕¹, 程春梅¹

(1.淮南市产品质量监督检验所, 淮安 223001;

2.淮南市科学技术局, 淮安 223005)

摘要: 建立了高效液相色谱法同时测定酱腌菜食品中安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯的9种食品添加剂检测技术。实验采用C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm, Diamonsil), 以0.02 mol/L的乙酸铵和甲醇为流动相, 采用梯度淋洗, 柱温25℃, VWD检测器在波长236 nm进行检测。整个分离过程在20 min内完成。安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯的回收率分别为98.4%~100.6%, 相对标准偏差小于0.94%。方法快速准确。

关键词: 高效液相色谱法; 酱腌菜食品; 食品添加剂

中图分类号: TS 207.3

文献标志码: A

文章编号: 1005-9989(2010)12-0304-03

Simultaneous determination of nine food additives in pickles food by HPLC

CHEN Yu-bo¹, ZHAO Jie-hong¹, YU Wei², SU Jian-guo¹, LU Fu-sheng¹, ZHAO Yan¹, CHENG Chun-mei¹

(1.Huai'an Institute of Supervision and Inspection on Product Quality, Huai'an 223001;

2.Huai'an Science and Technology Bureau, Huai'an 223005)

Abstract: A HPLC method is proposed for the simultaneous separation and determination of nine food additives, acesulfame-K, saccharin sodium, benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid, Methylparaben, Ethylparaben, Propyl p-hydroxybenzoate, Butyl p-hydroxybenzoate. The separation was achieved within 20 minutes by using a C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, Diamonsil) with 0.02 mol/L NH₄Ac-methanol as mobile phase, and column temperature was 25℃, lastly detected at 236 nm through a Variable Wavelength detector. The average recoveries for real samples ranged from 98.4%~100.6%. The relative deviation is less than 0.94%. The method is rapid and accurate.

Key words: HPLC; pickles food; food additives

酱腌菜是我国人民喜食的一种佐餐小菜, 具有悠久的历史, 最早可以追溯到二千多年前。它

既清香味美, 富有营养, 又经济实惠, 不仅可登大雅之堂, 又是居家、旅游必备的美味食品, 因

收稿日期: 2010-03-05

作者简介: 陈玉波(1967—), 男, 江苏淮安人, 硕士, 高级工程师。





而备受人们的喜爱。但是酱腌菜产品质量参差不齐,一些产品存在滥用或过量使用食品添加剂的现象。目前,酱腌菜食品中常用的食品添加剂主要有安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类这几种食品添加剂是监督检查比检项目。其中苯甲酸、山梨酸、糖精钠的检测方法有 GB/T 5009.29-2003《食品中山梨酸、苯甲酸的测定》和 GB/T 23495-2009《食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定 高效液相色谱法》GB/T 5009.28-2003《食品中糖精钠的测定》等,安赛蜜的测定方法有 GB/T 5009.140-2003《饮料中乙酰磺胺酸钾的测定》,脱氢乙酸检测方法有 GB/T 5009.121-2003《食品中脱氢乙酸的测定》(气相色谱法) GB/T 23377-2009《食品中脱氢乙酸的测定 高效液相色谱法》等,羟基苯甲酸酯类检测方法有 GB/T 5009.31-2003《食品中对羟基苯甲酸酯类的测定》(气相色谱法),SN/T 1303-2003《蜂王浆中苯甲酸、山梨酸、对羟基苯甲酸酯类检测方法 液相色谱法》。还没有一种同时测定这几种食品添加剂的方法,本文就是研究用液相色谱法同时测定这 9 种食品添加剂含量。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1100 高效液相色谱仪系统 配有 VWD 检测器,手动进样器,色谱工作站, C₁₈ 色谱柱 250 mm×4.6 mm, Diamonsil。

超声波清洗器,真空抽滤器,匀浆机。

甲醇:色谱纯;其余试剂:分析纯;实验用水电导率≤5 μs/cm。

1.2 色谱条件

流动相为 0.02 mol/L 的乙酸铵-甲醇,梯度淋洗:甲醇:10%保持 4 min 甲醇 10%~80%保持 8 min 甲醇 80%保持至 20 min 流速 1.0 mL/min 柱温 25℃;进样量为 20 μL 紫外波长扫描范围 190~400 nm。以保留时间和紫外吸收谱图定性,峰面积定量。

1.3 标准曲线的绘制

准确吸取浓度为 1 mg/mL 的安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯各 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,用甲醇+水 9+1 溶液定容至 10 mL,此混合中间液的浓度为 0.10 mg/mL。分别吸取混合中间液 0.05、0.1、0.5、

2.5、5.0 mL 用甲醇+水 9+1 溶液定容至 10 mL,构成浓度分别为 0.5、1.0、5.0、25.0、50.0 mg/L 的标准使用液系列。在选定色谱条件下测定。

1.4 试样制备

所有样品均为市场采集的样品,样品稀释液最后经 0.45 μm 滤膜过滤,其滤液为待测液。

1.4.1 叶菜类 取 3~5 g 于 50 mL 烧杯中,加 30 mL 水,经匀浆后的叶菜类样品,用超声波提取 10 min,转移至 100 mL 容量瓶中,用 60 mL 水洗涤残渣 3 次,将洗涤液一并转移至 100 mL 容量瓶中定容,摇匀,为样品稀释液。

1.4.2 块茎类 取块茎类样品剪碎后,取 3~5 g 于 50 mL 烧杯中,匀浆,用超声波提取 10 min 转移至 100 mL 容量瓶中,用 60 mL 水洗涤残渣 3 次,将洗涤液一并转移至 100 mL 容量瓶中定容,摇匀,为样品稀释液。

2 结果与讨论

2.1 流动相的选择

本文选择甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵溶液作为流动相。梯度淋洗:甲醇 10% 保持 4 min 甲醇 10%~80% 保持 8 min 甲醇 80% 保持至 20 min。甲醇和乙酸铵在流动相中的比例的少量变化会使 9 种组分的保留时间发生显著改变,减少甲醇含量各组分保留时间变长,分离效果较好,峰形展宽,影响积分,对结果有一定影响。反之,会使出峰时间提前,安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠、脱氢乙酸 5 种物质的峰可能分不开,发生重叠,特别是糖精钠和脱氢乙酸的分离影响更大,稍微改变梯度淋洗时间,糖精钠和脱氢乙酸就无法有效分离。采用本文提供的梯度淋洗条件,分离效果较好,在 20 min 内可使 9 种组分完全分离,见图 1。

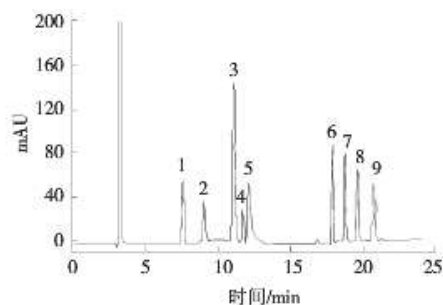


图 1 9 种添加剂的标准谱图

2.2 检测条件的选择

本实验对 9 种添加剂在 190~400 nm 之间进





行全波长扫描,安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类的最大吸收波长分别在 228、205、226、254、293、254 nm 处,为兼顾各组分的灵敏度,本文选择的实验波长为 236 nm,在此波长下各组分均有较好的灵敏度。

2.3 线性范围及检出限

按所选择的色谱条件进样不同质量浓度的标

准溶液 20 μ L, 获得不同质量浓度下各组分的峰面积,以质量浓度和峰面积绘制标准曲线。取标品逐级稀释进样 20 μ L, 检测结果中色谱峰高为噪声高 3 倍 $SN=3$ 相对应的浓度为检出限。各组分的线性方程、相关系数、线性范围及检出限见表 1。从表 1 可以看出各组分在线性范围内,线性关系良好。

表 1 各组分的线性范围及检测限

组分	线性范围/(mg/L)	线性方程	相关系数 r	检出限/(mg/kg)
安赛蜜	1~50	$y=57.457x+3.1124$	0.9998	2.0
苯甲酸	1~50	$y=53.844x+5.9833$	0.9992	0.5
山梨酸	1~50	$y=191.592x-23.4578$	0.9995	0.5
糖精钠	1~50	$y=28.445x+3.1204$	0.9993	0.5
脱氢乙酸	1~50	$y=107.673x-10.1035$	0.9982	4.0
对羟基苯甲酸甲酯	1~50	$y=56.003x-4.7564$	0.9991	1.0
对羟基苯甲酸乙酯	1~50	$y=56.949x-4.5511$	0.9994	1.0
对羟基苯甲酸丙酯	1~50	$y=51.438x-4.1582$	0.9994	1.0
对羟基苯甲酸丁酯	1~50	$y=52.440x-4.3549$	0.9996	1.0

表 2 实际样品的检测结果(n=5)

检验项目	乳黄瓜/(mg/kg)		腌制泡菜/(mg/kg)		萝卜头/(mg/kg)	
	实验方法	国标方法	实验方法	国标方法	实验方法	国标方法
安赛蜜 $\pm s$	230 \pm 0.8	228 \pm 1.0	ND	ND	189 \pm 1.0	185 \pm 0.9
苯甲酸 $\pm s$	ND	ND	ND	ND	ND	ND
山梨酸 $\pm s$	ND	ND	423 \pm 1.3	420 \pm 1.0	ND	ND
糖精钠 $\pm s$	ND	ND	98 \pm 0.7	100 \pm 0.6	ND	ND
脱氢乙酸 $\pm s$	ND	ND	165 \pm 1.1	167 \pm 1.2	147 \pm 1.2	145 \pm 1.4
对羟基苯甲酸甲酯 $\pm s$	153 \pm 0.6	154 \pm 1.1	ND	ND	ND	ND
对羟基苯甲酸乙酯 $\pm s$	ND	ND	73 \pm 0.5	73 \pm 0.5	ND	ND
对羟基苯甲酸丙酯 $\pm s$	108 \pm 0.9	109 \pm 0.8	71 \pm 0.5	71 \pm 0.5	123 \pm 1.2	123 \pm 1.1
对羟基苯甲酸丁酯 $\pm s$	52 \pm 0.9	50 \pm 0.7	ND	ND	ND	ND

表 3 各组分的 RSD 和回收率

组分	RSD (n=10)		回收率			
	$x\pm s$ /(mg/L)	RSD/%	本底值 $x\pm s$ /(mg/L)	标准添加值/(mg/L)	测定值 $x\pm s$ /(mg/L)	平均回收率/%
安赛蜜	5.00 \pm 0.041	0.82	5.23 \pm 0.04	5	10.14 \pm 0.06	99.1
苯甲酸	4.98 \pm 0.044	0.88	ND	5	5.03 \pm 0.05	100.6
山梨酸	4.97 \pm 0.041	0.82	10.14 \pm 0.07	5	15.18 \pm 0.10	100.2
糖精钠	4.99 \pm 0.039	0.78	7.83 \pm 0.05	5	12.79 \pm 0.09	99.7
脱氢乙酸	4.96 \pm 0.044	0.89	ND	5	4.93 \pm 0.05	98.6
对羟基苯甲酸甲酯	4.99 \pm 0.046	0.92	ND	5	4.92 \pm 0.06	98.4
对羟基苯甲酸乙酯	4.98 \pm 0.047	0.94	ND	5	4.98 \pm 0.06	99.6
对羟基苯甲酸丙酯	4.93 \pm 0.044	0.89	12.01 \pm 0.08	5	17.06 \pm 0.05	100.3
对羟基苯甲酸丁酯	4.98 \pm 0.038	0.76	ND	5	4.98 \pm 0.04	99.6

2.4 样品分析

图 2 为实际样品的色谱图。采用本方法,对叶菜类、块茎类酱腌菜等进行检测,结果见表 2。

由表 2 可以看出,方法重现性好,准确度高,结果可靠。

(下转第 310 页)





标准溶液, 按 1.4 项下处理后测定, 每个加标水平平行测定 3 次, 取 3 次平行测定量的平均值计算得出回收率结果 见表 2。

2.6 稳定性实验

考虑到许多药物在制成溶液后, 易失效及变化的特点, 特做以下实验。取同一份混合标准溶液, 按实验条件每隔 2、4、8 h、1、7 d 进行实验, 观察其峰面积变化情况。结果发现, 放在冰箱内冷藏的测试液的喹乙醇和氯羟吡啶基本很稳定, 一个星期内未见明显变化。未冷藏的喹乙醇易分解。

3 结论

本方法研究了同时测定禽肉中喹乙醇和氯羟吡啶残留的高效液相色谱法。该方法测定的回收率均在 80% 以上, 在样品处理过程中, 通过 2 次萃取的样品纯化方法, 大大降低了杂质的干扰, 也免去了使用 SPE 柱净化的步骤, 不仅提高了效率, 而且还减少使用有机试剂, 同时起到了减少危害和提高回收率的效果了。结果表明, 本方法改进了样品前处理方法同时测定喹乙醇和氯羟吡啶的残留, 获得了较好的回收率, 同时也简化了操作方法, 缩短了检测时间, 快速方便。该方法

准确、可靠、检出限低, 不仅能够完全满足日常的禽肉检测, 而且还适用于药物的残留监控, 并为进一步研究提供了帮助。

参考文献:

- [1] 刘同民, 权仁子. 一阶导数分光光度法测定促生长剂中喹乙醇的含量[J]. 中国兽药杂志, 2000, 34(3): 30-31
- [2] 柴春彦, 刘国艳, 申兆菊. 一种测定饲料中氯羟吡啶残留的快速电化学检测方法[J]. 畜牧与兽医, 2006, 38(1): 45-47
- [3] Suzuki E, Matsuda M, Momose A, et al. Improved method for gas liquid chromatographic determination of clopidol in chicken tissues [J]. J Assoc Off Anal Chem, 1980, 63: 1211-1214
- [4] 张睿, 段宏安. 禽肉中氯羟吡啶残留量的 GC/MS 测定法[J]. 中国兽药杂志, 2002, 38(5): 39-41
- [5] 刘祥过, 苏娟娟, 方炳虎, 等. 气相色谱-质谱法测定鸡肉组织中残留的氯羟吡啶[J]. 色谱, 2009, 27(1): 86-90
- [6] 于慧娟, 毕士川, 黄冬梅, 等. 高效液相色谱法测定水产品中喹乙醇的残留量[J]. 分析科学学报, 2004, 20(3): 281-283
- [7] 皮雄娥, 应永飞, 费笛波, 等. 鸡肉中氯羟吡啶的高效液相色谱法测定[J]. 浙江农业学报, 2005, 17(4): 200-202
- [8] 曾静, 朱宽正, 王鹏, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中的喹乙醇[J]. 中国食品卫生杂志, 2006, 18(5): 423-425
- [9] GB/T 20362—2006. 贡玉清, 邵德佳, 耿士伟, 等. 鸡蛋中氯羟吡啶残留量的检测方法高效液相色谱法[S]. 中国国家标准化管理委员会, 2006

(上接第 306 页)

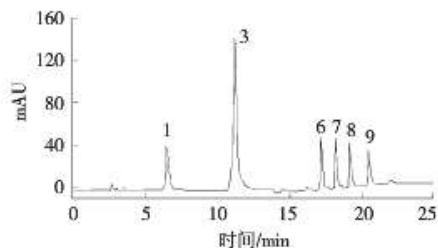


图 2 实际样品的色谱图(n=5)

2.5 方法的回收率

配制一混合标准溶液, 连续进样 10 次, 做精密度实验。准确称取食品样品 4.000g 按线性范围加入一定量的混合标准品, 按选定的条件进行分析, 平行测定 10 次, 结果如表 3 所示, 被测样品加标回收率在 98.4% ~ 100.6%, RSD 小于 0.94%, 测定结果准确可靠。

3 结论

本法可准确、快速地同时测定酱腌菜等食品

中 9 种常见的添加剂, 精密度和准确度高, 方法性能能够满足实际工作的需要。

参考文献:

- [1] GB/T 5009.140—2003 饮料中乙酰磺胺酸钾的测定[S]
- [2] GB/T 5009.28—2003 食品中糖精钠的测定[S]
- [3] GB/T 5009.29—2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S]
- [4] GB/T 5009.31—2003 食品中对羟基苯甲酸酯类的测定方法[S]
- [5] GB/T 23377—2009 食品中脱氢乙酸的测定 高效液相色谱法[S]
- [6] GB/T 5009.121—2003 食品中脱氢乙酸的测定[S]
- [7] 许龙福. 高效液相色谱法同时测定食品中安赛蜜、糖精、苯甲酸山梨酸和咖啡因[J]. 分析实验室, 2002, 21(2): 36-38
- [8] 孙边成, 张艳, 吴昊. HPLC 法测定对羟基苯甲酸(丙)酯、阿斯巴甜[J]. 实用预防医学, 2006, 13(2): 432
- [9] 黄百芬, 张文娟, 沈向红. 高效液相色谱法同时测定酱油或饮料中的 8 种防腐剂和 3 种甜味剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(10): 1208-1211