

# 二极管阵列检测器辅助检测 食品中苯甲酸和山梨酸

No.LC-041

**摘要：** 本文采用配有二极管阵列检测器的液相色谱进行食品中的苯甲酸和山梨酸检测，通过二极管阵列检测器采集到的光谱图进行定性确证，增加检测结果的可靠性，消除假阳性结果。

**关键词：** 苯甲酸 山梨酸 二极管阵列检测器

防腐剂的检测是食品中最为常见的检测之一，其中苯甲酸与山梨酸是广泛使用的防腐剂。苯甲酸钠亲油性较大，易穿透细胞膜进入细胞体内，干扰细胞膜的通透性，抑制细胞膜对氨基酸的吸收；进入细胞体内电离，酸化细胞内的碱储，并抑制细胞的呼吸酶系的活性，阻止乙酰辅酶A缩合反应，从而起到食品防腐的目的。山梨酸具有较高的抗菌性能，其主要是通过抑制微生物体内的脱氢酶系统，从而达到抑制微生物的生长和起防腐作用，对细菌、霉菌、酵母菌均有抑制作用。苯甲酸和山梨酸本身都具有一定的毒性，因此它们的使用和用量在世界各国都有限制。

食品中苯甲酸和山梨酸的检测通常使用配有紫外检测器的高效液相色谱仪，在230 nm处进行检测。但在实际检测中，由于食品样品种类繁多，基质复杂，干扰物质多，使用紫外检测器仅靠保留时间判断往往出现假阳性结果，无法准确定性。本文采用了二极管阵列检测器，通过光谱图的比较，排除假阳性结果，得到真实可靠的检测结果。

## ■ 实验部分

### 1、仪器与试剂

Shimadzu LC-20A液相色谱系统，包括LC-20AD（输液泵），SIL-20AC（自动进样器），CTO-20AC（柱温箱），CBM-20A（系统控制器），DGU-20A3（在线脱气机），SPD-M20A（二极管阵列检测器），LCsolution（色谱工作站）。

试剂：甲醇，HPLC级；纯水，Milli-Q超纯水仪制备得到；醋酸铵，优级纯；所有试剂和样品需用0.22 μm滤膜过滤。

### 2、分析条件

色谱柱：GL Inertsil ODS-SP，4.6 × 250 mm，5 μm

流动相：0.02 mol/L乙酸铵溶液/甲醇=93/7 (v/v)

流速：1.0 mL/min

柱温：35℃

检测：190-400 nm

进样体积：10 μL

### 3、样品前处理

分别取腐竹、酱菜样品约5.0g，放入小烧杯中，加水，煮沸10min，冷却，转入100mL容量瓶中，加水至刻度，混匀，调pH至约7.0，取上清液，经0.22 μm滤膜过滤。

## 结果与讨论

### 1、苯甲酸、山梨酸标准品

用流动相配制含苯甲酸和山梨酸40mg/L的标准样品，进样10 $\mu$ L，所得色谱图如图1，苯甲酸和山梨酸的光谱图如图2和图3。

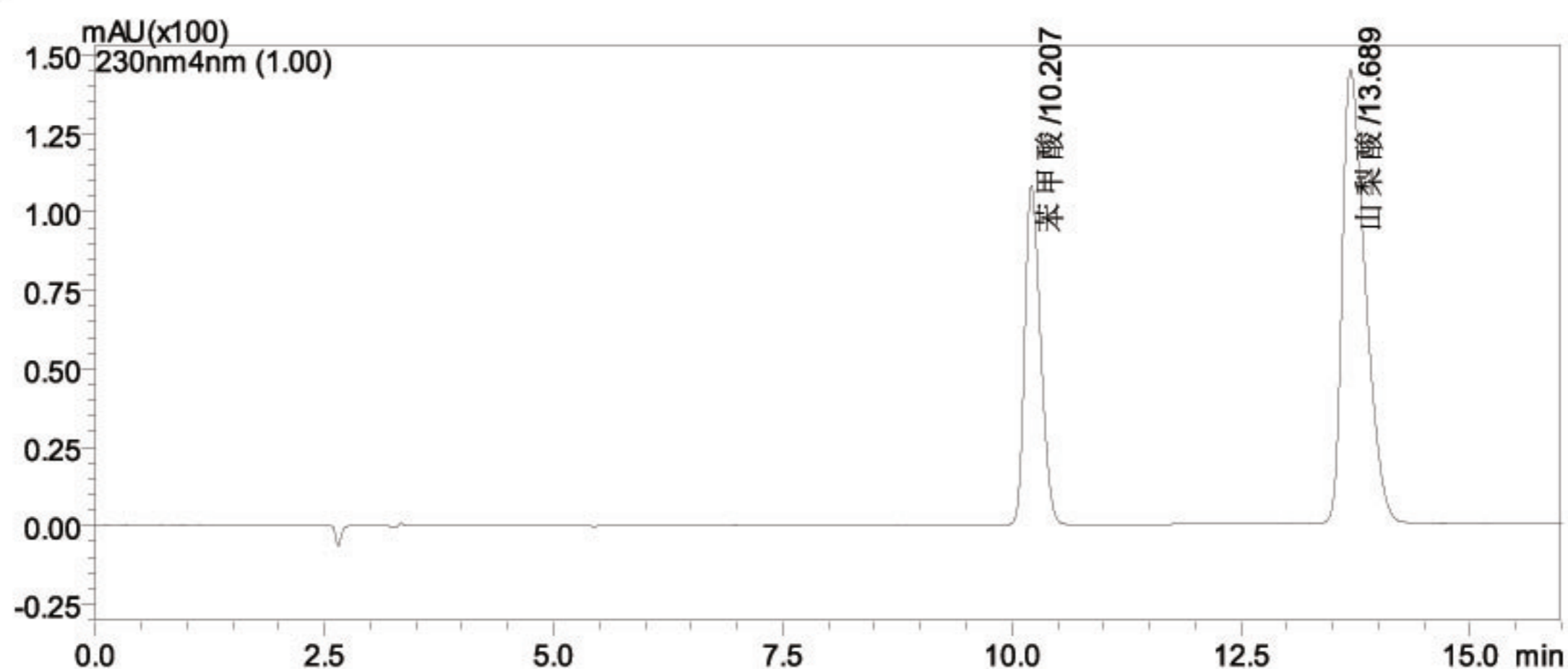


图1 苯甲酸、山梨酸标准品色谱图 (230nm)

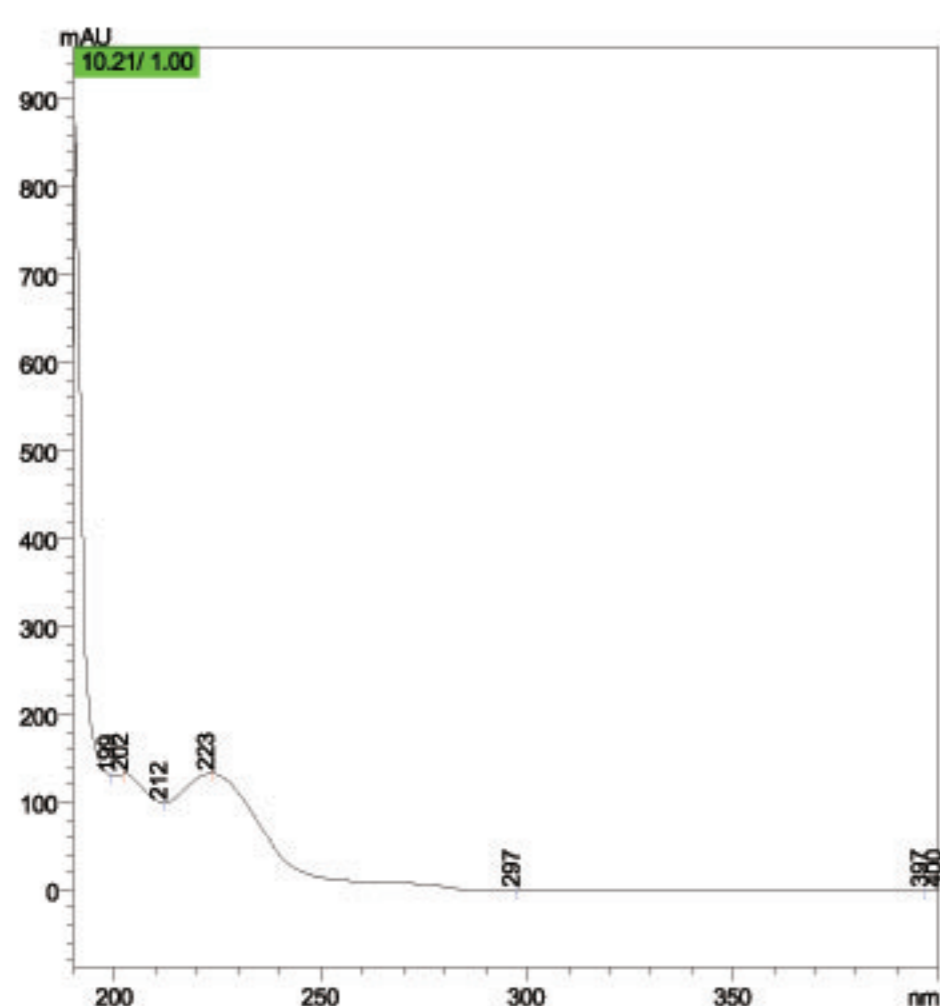


图2 苯甲酸标准品光谱图

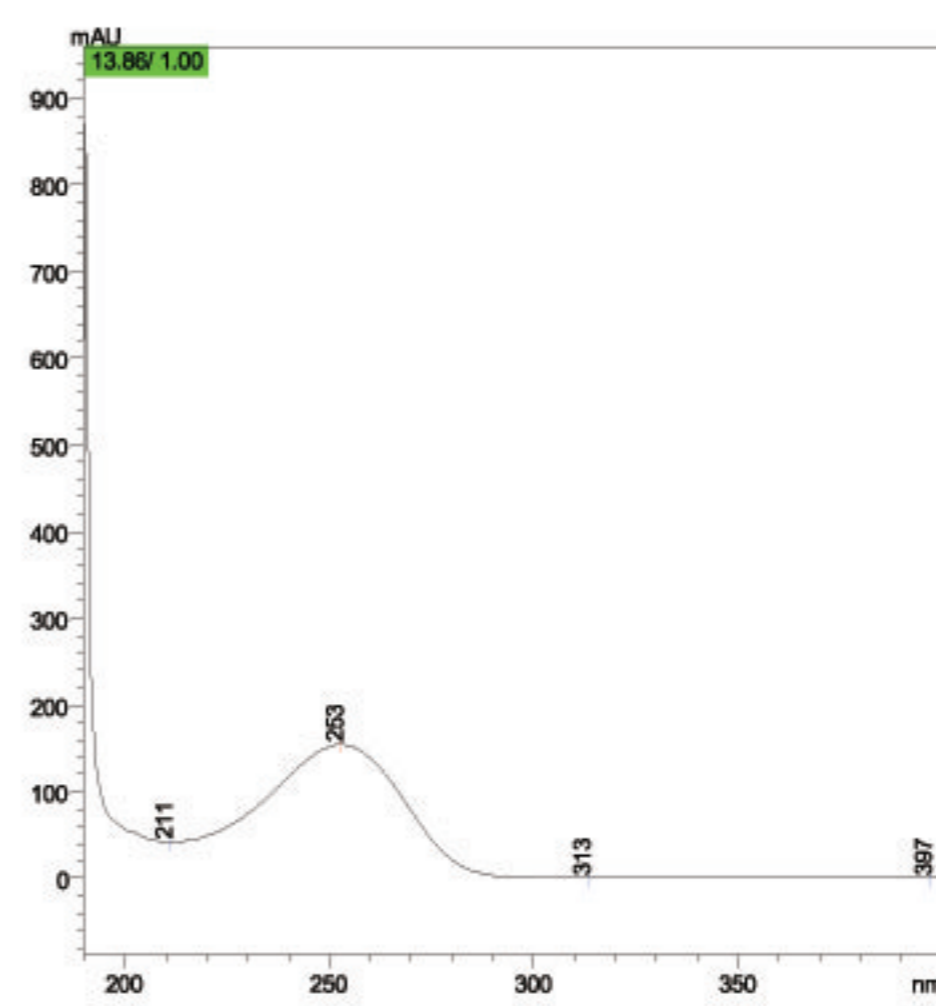


图3 山梨酸标准品光谱图

取浓度为40mg/L的标准样品重复进样7次，得到重现性结果如表1，由结果可知，保留时间与峰面积的都具有很好的重现性。分别配制浓度为1.0，5.0，10，40，100mg/L的混合标样，外标法制作标准曲线，结果苯甲酸的校准曲线为 $C=3.09 \times 10^{-5}A-0.10$ ，线性回归系数R为0.9997，山梨酸的校准曲线为 $C=1.59 \times 10^{-5}A-0.033$ ，线性回归系数R为0.9996，线性关系良好。

表1 标准样品重现性结果 (n=7)

	苯甲酸		山梨酸	
	保留时间 (min)	峰面积	保留时间 (min)	峰面积
1	10.207	1293721	13.689	2516374
2	10.210	1298034	13.701	2522632
3	10.198	1294002	13.680	2519459
4	10.215	1297369	13.703	2518923
5	10.227	1291681	13.711	2514287
6	10.194	1292678	13.676	2512575
7	10.189	1289750	13.694	2503471
平均	10.206	1293891	13.693	2515389
RSD (%)	0.12	0.23	0.09	0.25

取空白酱菜样品，添加20mg/L标准样品，考察回收率。实验结果如图4，苯甲酸回收率为93%，山梨酸回收率为87%，回收率良好。

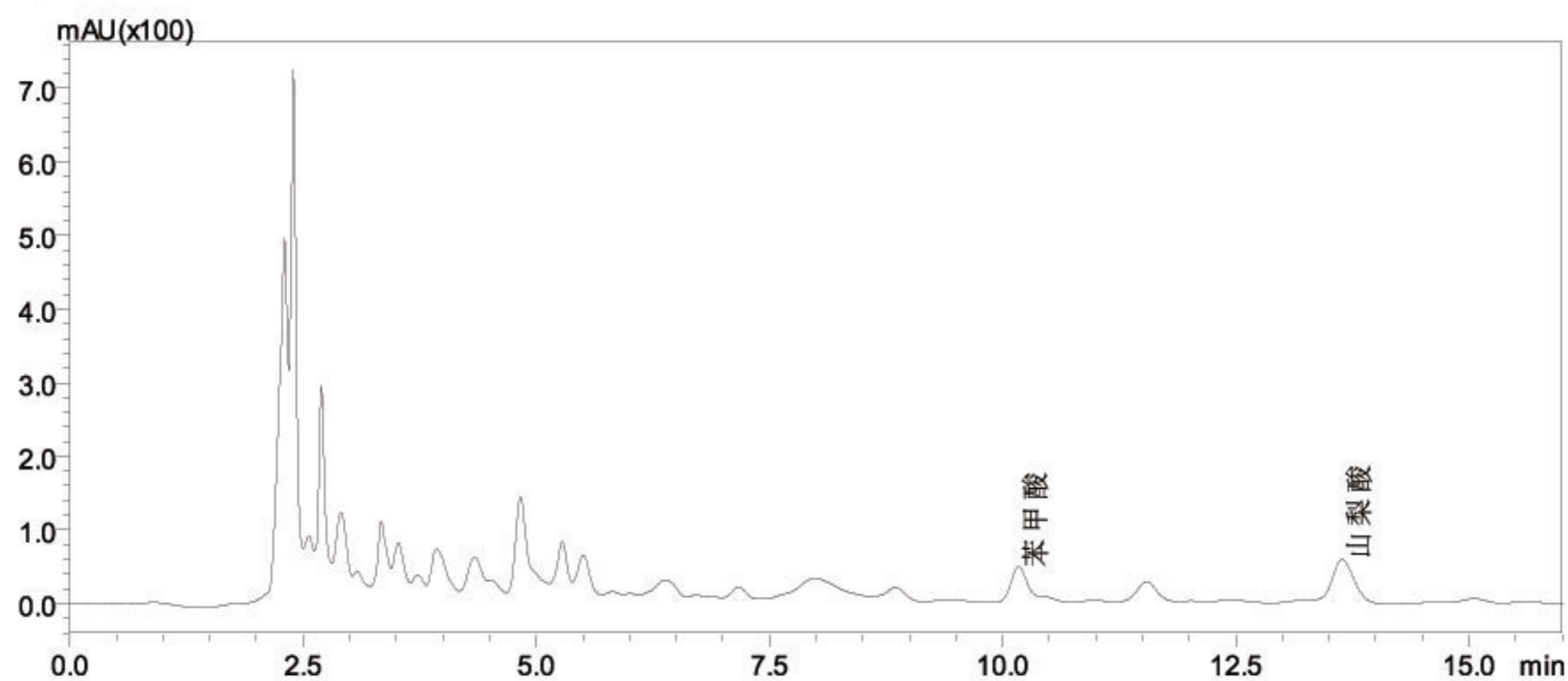


图4 空白酱菜样品加标色谱图 (230nm)

## 2、腐竹样品

取腐竹提取样品，进样10 $\mu$ L，所得结果如图5。

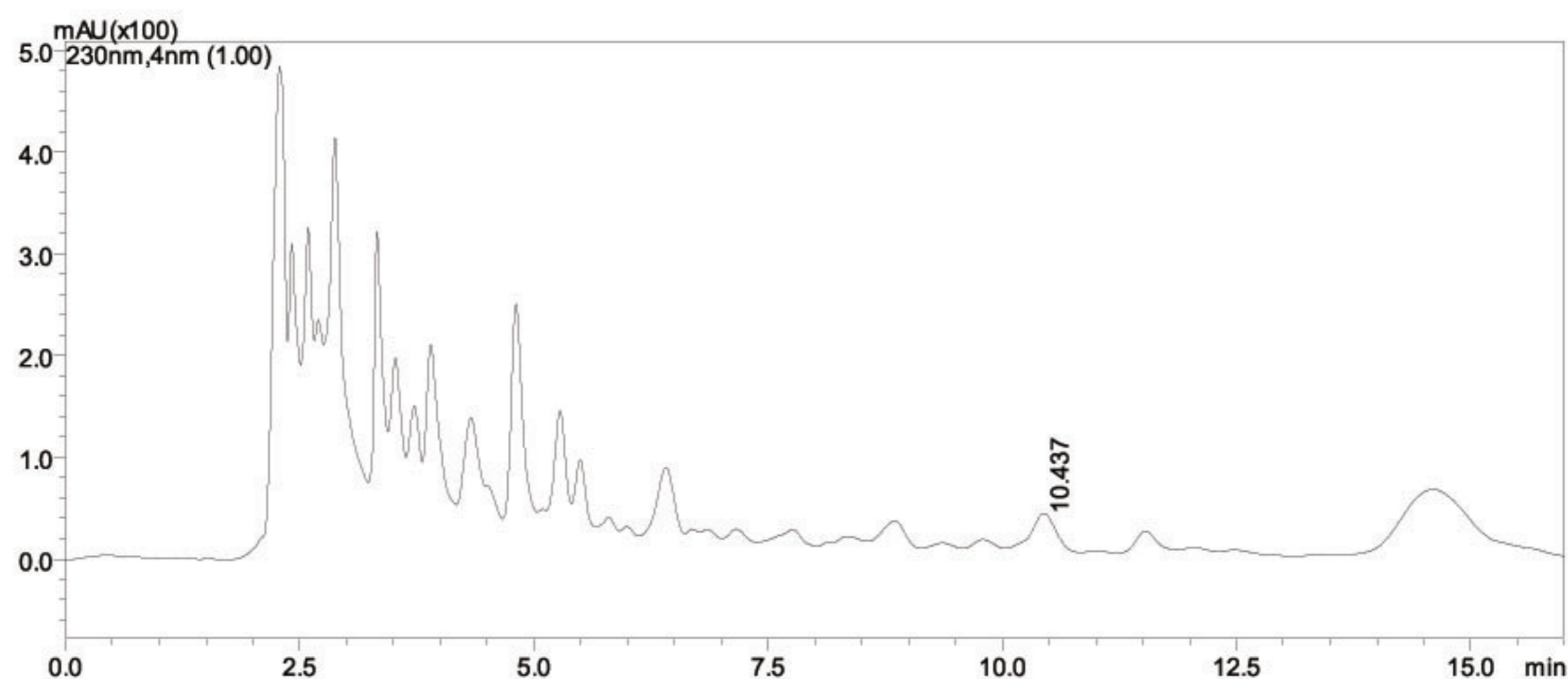


图5 腐竹提取液色谱图 (230nm)

从色谱图上可知，在苯甲酸保留时间附近有一峰，该峰的光谱图如图6，与苯甲酸标准光谱图计算谱图相似度，相似系数为0.639。从光谱图的形状、最大吸收波长和谱图相似系数都可判断，该峰不是苯甲酸，应为杂峰。

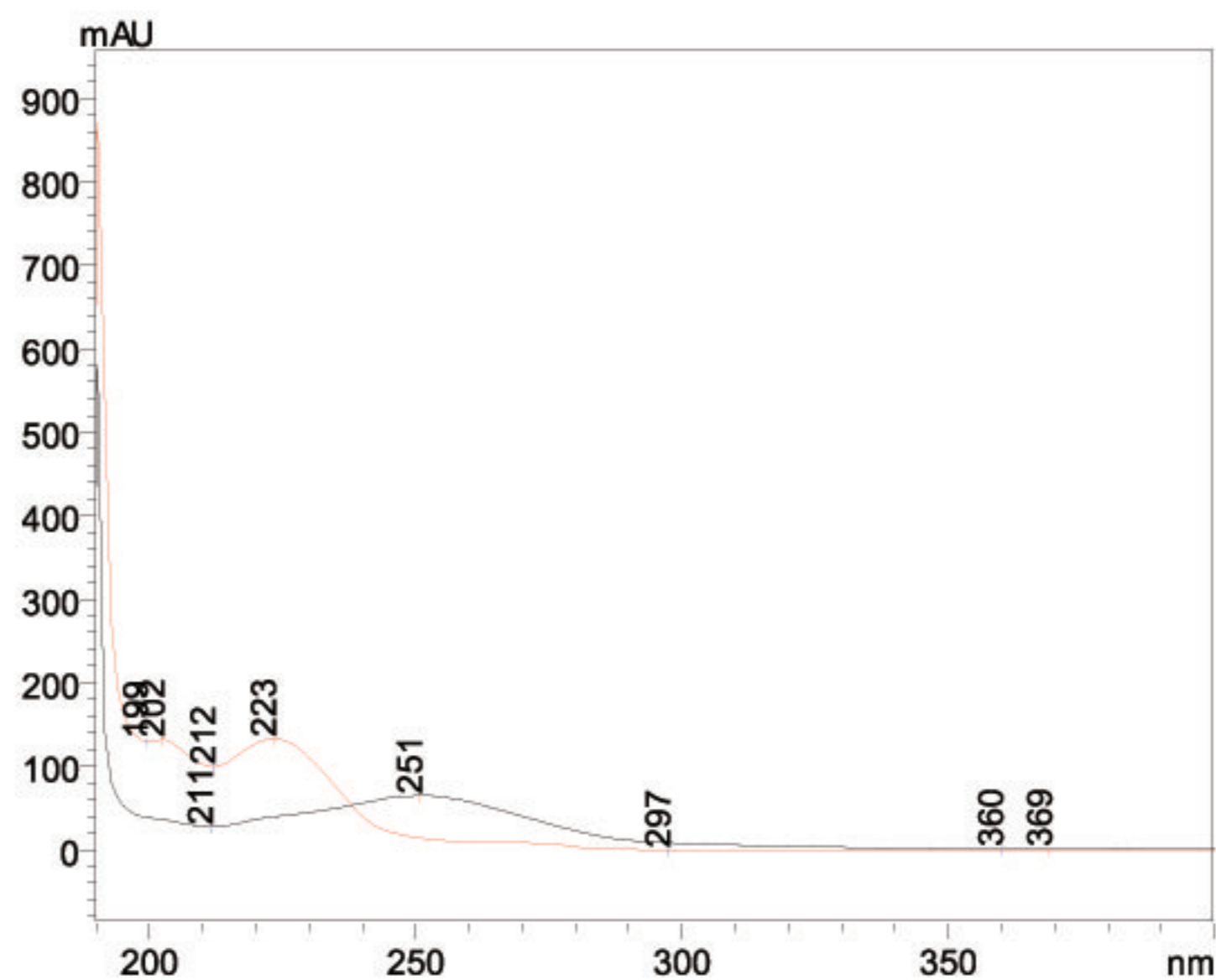


图6 光谱图 (黑色：腐竹10.437 min; 红色：苯甲酸标准品)

### 3、酱菜样品

取酱菜提取样品，进样10  $\mu$ L，所得结果如图7。

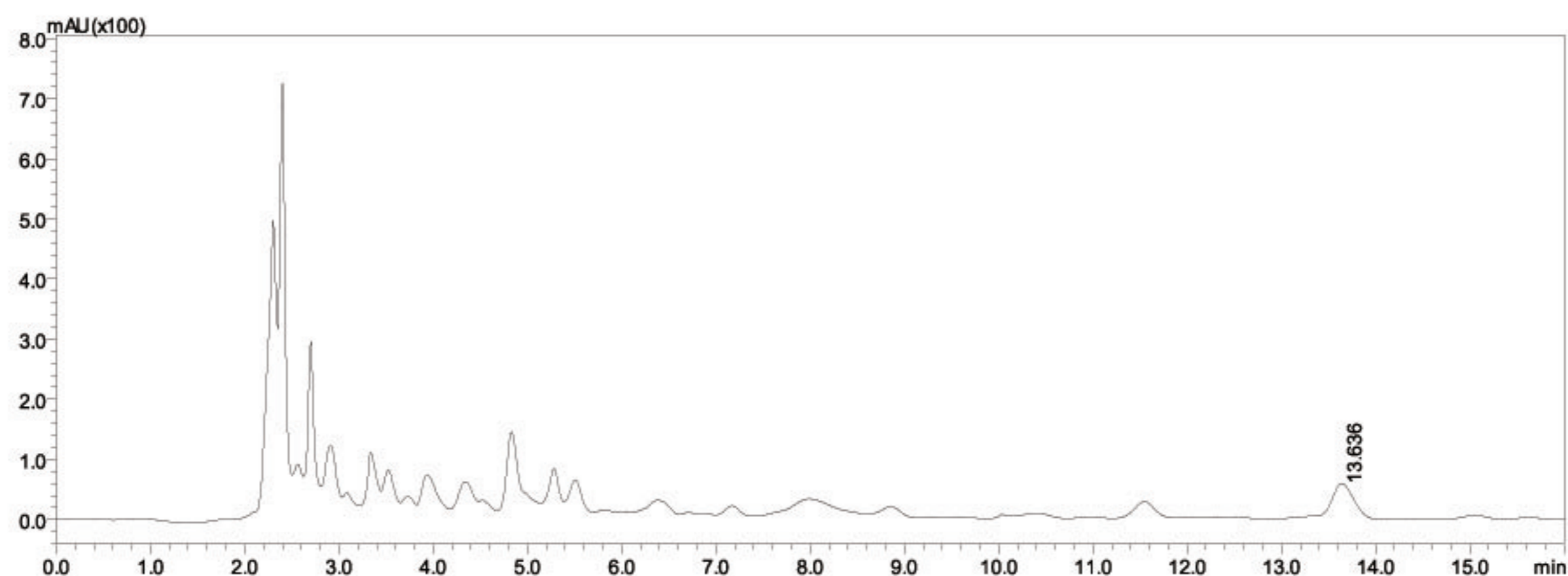


图7 酱菜提取液色谱图 (230 nm)

从色谱图上可知，在山梨酸保留时间一致处检测到一色谱峰，该峰的光谱图如图8，与山梨酸标准光谱图计算谱图相似度，相似系数为0.998。由保留时间和光谱相似性双重标准，可以确定该峰为山梨酸。由外表校准曲线定量计算，可知该酱菜样品中山梨酸含量为267mg/kg。

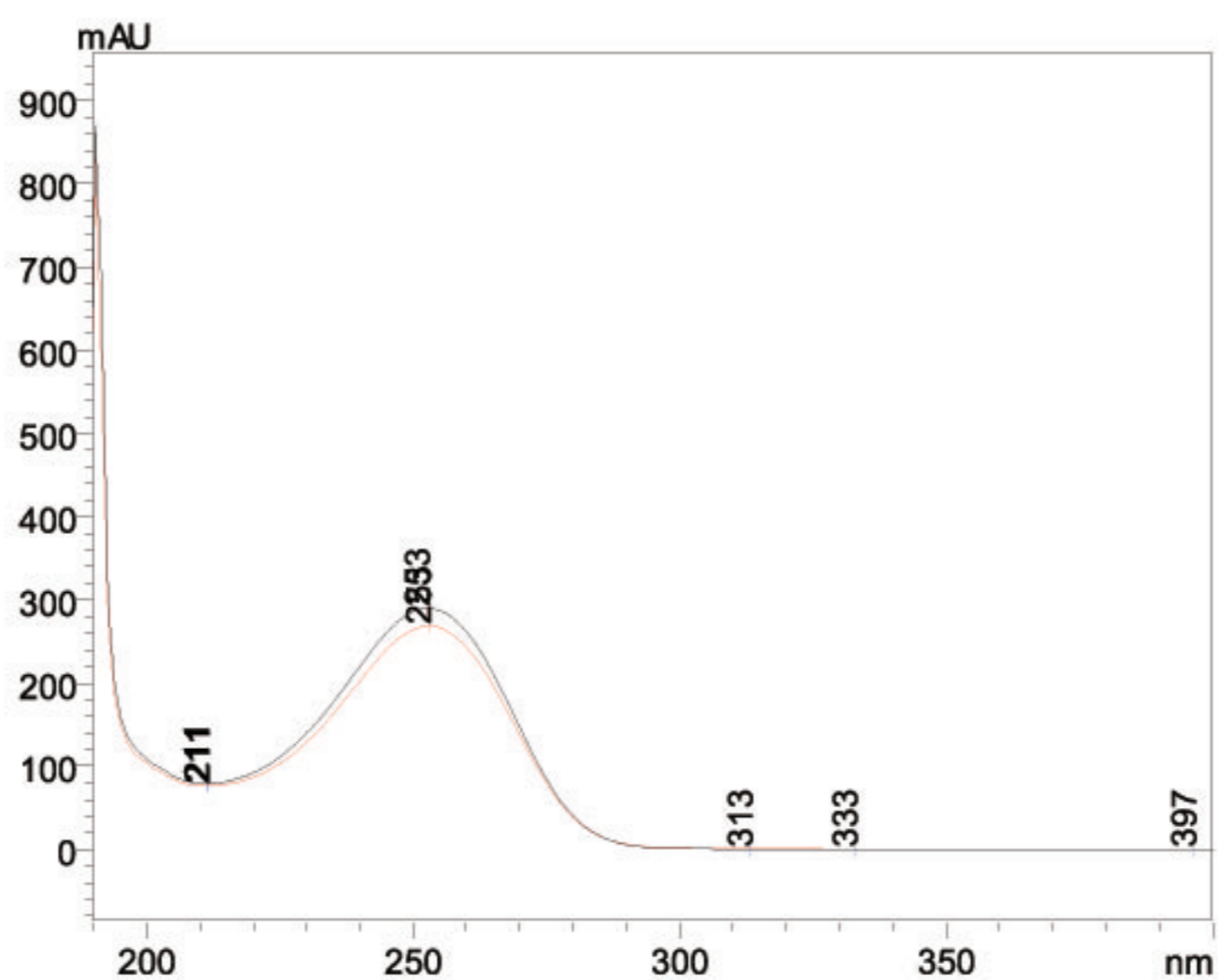


图8 光谱图 (黑色: 酱菜10.437 min; 红色: 山梨酸标准品)

### ■ 结论

以上实验结果可知，通过二极管阵列检测器采集到光谱图，与标准品光谱图进行比较，可以有效的排除假阳性结果，增加液相色谱的定性能力，保证检测结果的可靠性。