

高效液相色谱测定食品中的苯甲酸、山梨酸和糖精钠

LC-137

摘要：本文建立了一种岛津液相色谱仪 LC-15C 测定食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的方法。饮料或酒类样品经稀释过滤后进样，以 ODS 柱分离，紫外检测器检测。3 种物质在 0.2 mg/L~50 mg/L 浓度范围内线性良好。对 0.5 mg/L、2 mg/L 和 10 mg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.11%~1.69% 和 0.17%~0.47%，仪器精密度良好。仪器的检出限范围在 0.021~0.056 mg/L 间，样品加标回收率在 86.6~105.7% 间。

关键词：食品苯甲酸山梨酸糖精钠高效液相色谱仪

防腐剂 (Preservative) 是指天然或合成的化学成分，用于加入食品、药品、颜料、生物标本等，以延迟微生物生长或化学变化引起的腐败。规定使用的防腐剂有苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、丙酸钙等 32 种。只要食品生产厂商所使用的食品防腐剂品种、数量和范围，严格控制在国家标准《食品添加剂使用卫生标准》(GB2760-96) 规定的范围之内，是绝对不会对人体健康造成损害的。但十分遗憾的是部分不法食品生产企业却出现滥用食品防腐剂的现象；有效的检测方法是对其进行监测控制的必要手段，其中山梨酸，苯甲酸等物质作为

常用的防腐剂，是重要监控对象。

目前，测定苯甲酸、山梨酸和糖精钠的常用方法有 GC 法、LC 法等，相应的国标有《GB/T 5009.028-2003 食品中糖精钠的测定》、《GB/T 5009.029-2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定》、《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》。本文主要参考《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》来建立高效液相色谱法测定苯甲酸、山梨酸和糖精钠方法，供相关人员参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-15C。具体配置为：LC-15C 输液泵 ×2，SIL-10AF 自动进样器，CTO-15C 柱温箱，SPD-15C 紫外检测器，CBM-20Alite 控制器，LCsolution 15C 色谱工作站。

1.2 分析条件液相条件

色谱柱：Inertsil ODS-SP4.6 mm I.D.×250 mm L., 5 μm

流动相：乙腈：0.02mol/L 乙酸铵水 =15:85；

流速：1.0 mL/min

柱温：40℃

进样量：20 μL

检测波长：230 nm

洗脱方式：等度洗脱

1.3 样品制备

标准溶液配制：

将 100 mg/L 混合标准溶液用水逐级稀释至浓度为 0.2,0.5,1,2,5,10,20 mg/L 的标准工作液。

样品前处理方法：

称取 10 g 样品（包括碳酸饮料、果酒、葡萄酒等液体样品）于 25 mL 容量瓶中（如含有乙醇需水浴加热除去乙醇后再用水定容至原体积），用氨水（1+1）调节 pH 至近中性，用水定容至刻度，混匀，经 0.45 μm 水系滤膜过滤至样品瓶中，备用。

■ 结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

浓度为 2 mg/L 的混合标准样品的色谱如图 1 所示。

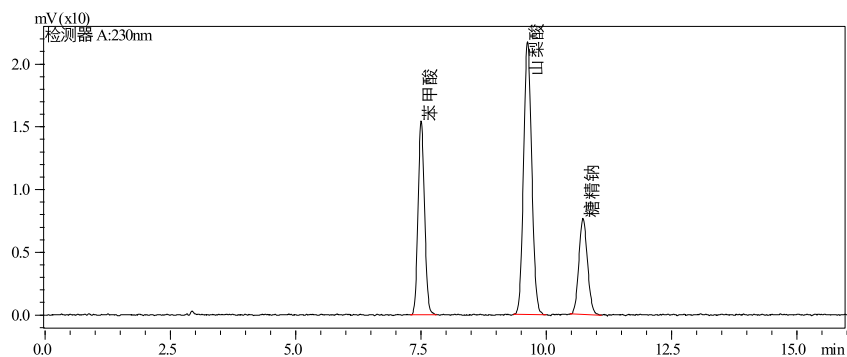


图1 2 mg/L 混合标准溶液色谱图

2.2 线性关系、检出限与定量限

将浓度为 0.2, 0.5, 1, 2, 5, 10, 20 mg/L 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2~4 所示。3 种物质在一定浓度范围内校准曲线线性良好。线性方程、线性范围相关系数见表 2 所示。

以 S/N=3 为检出限，S/N=10 为定量限，测得 3 种物质的检出限与定量限如表 2 所示。

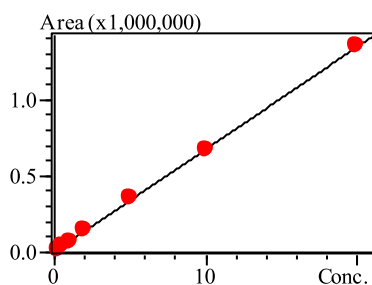


图2 苯甲酸标准曲线

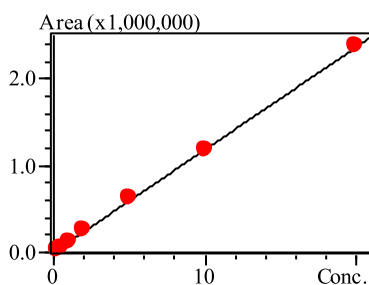


图3 山梨酸标准曲线

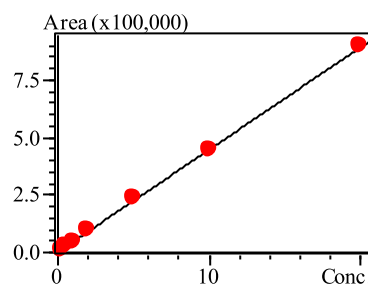


图4 糖精钠标准曲线

表2 3 种物质的校准曲线参数与检出限、定量限

No.	名称	CAS 号	校准曲线	相关系数 r	检出限 (mg/L)	定量限 (mg/L)
1	苯甲酸	65-85-0	$Y = (67011.1)X + (5156.35)$	0.9998	0.026	0.088
2	山梨酸	110-44-1	$Y = (118136)X + (4778.55)$	0.9999	0.021	0.069
3	糖精钠	527-07-1	$Y = (44453.4)X + (2241.94)$	0.9999	0.056	0.186

2.3 精密度实验

对浓度为 0.2 mg/L、2 mg/L 和 20 mg/L 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.11%~1.69% 和 0.17%~0.47% 之间，仪器精密度良好。

表3 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (0.5 mg/L)		RSD% (2 mg/L)		RSD% (10 mg/L)	
	Area	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.
苯甲酸	0.36	0.21	0.35	0.22	0.14	0.21
山梨酸	1.69	0.20	0.15	0.17	0.11	0.17
糖精钠	1.61	0.47	0.96	0.30	0.37	0.43

2.4 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测饮料样品。在此样品中添加浓度为 0.5 mg/L 和 5 mg/L 的混合标准溶液，按 1.3 前处理方法对加标样品进行测试，图 5 为饮料样品的色谱图，加标色谱图如图 6 所示，加标回收率结果见表 4。

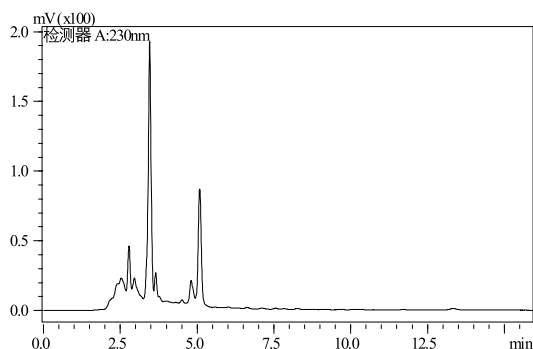


图 5 饮料样品色谱图

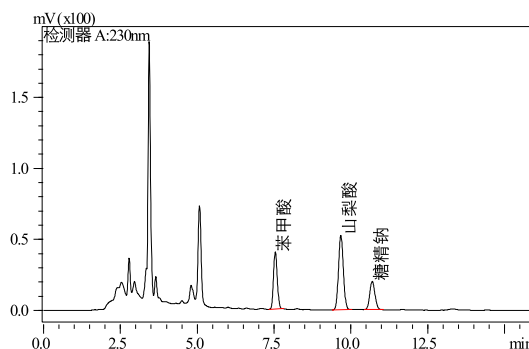


图 6 12.5 mg/kg 饮料样品加标色谱图

表 4 饮料样品检测与加标回收结果

编号	名称	样品浓度 (mg/kg)	加标样品			
			加标浓度 (mg/kg)	回收率 %	加标浓度 (mg/kg)	回收率 %
1	苯甲酸	N.D.	1.25	101.6	12.5	101.9
2	山梨酸	N.D.	1.25	92.4	12.5	96.4
3	糖精钠	N.D.	1.25	86.6	12.5	105.7

注：N.D.未检出

结论

建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-15C 测定食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的方法。该方法分析操作简单，线性，重复性和精密度良好；标准曲线的相关系数 0.9996；对低中高不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.11 % ~ 1.69 % 和 0.17 % ~ 0.47 % 之间。苯甲酸、山梨酸和糖精钠的检出限分别为 0.026 mg/L (0.07 mg/kg)、0.021 mg/L (0.05 mg/kg) 和 0.056 mg/L (0.14 mg/kg)。考察了浓度为 1.25 mg/kg 和 12.5 mg/kg 样品加标，其回收率范围在 86.6~105.7 % 间，完全可以应对《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》中规定：苯甲酸、山梨酸和糖精钠的检出限分别为 1.8、1.2 和 3.0 mg/kg 的要求。