

高效液相色谱法测定人造肉中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的含量

LC-320

摘要：本文建立了一种高效液相色谱法测定人造肉中苯甲酸、山梨酸和糖精钠含量的方法。样品参照《GB 5009.28-2016 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》中的前处理和实验条件进行上机分析。3种防腐剂在0.5-200 mg/L 浓度范围内线性良好，相关系数 > 0.999 ，加标回收率在92.4-100.8%之间，连续6次进样保留时间RSD%为0.004~0.062%，峰面积RSD%为0.115~1.368%，系统精密度良好。方法准确可靠，灵敏度高，可用于实际人造肉样品的检测。

关键词：高效液相色谱 防腐剂 人造肉

人造肉分为两种：一种是以植物蛋白为原材料对肉类形色和味道进行模仿的植物肉制品；另一种是在培养基中利用动物干细胞进行一定条件培养，从而制造的人造肉。大豆蛋白是植物源人造肉常用的材料，豆制品可以给人体补充大量蛋白质满足人体营养需求。

为了延长植物源人造肉的保存时间，在生产加工中有时会加入一定量的苯甲酸、山梨酸或者糖精钠作为防腐剂来抑制微生物繁殖，若防腐剂添加过量被人体摄入后则会危害人体健康。因此，建立一种快速简单、

准确、灵敏的检测防腐剂的方法意义重大。

目前测定防腐剂的方法主要有气相色谱法、液相色谱法等，我国《GB 5009.28-2016 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》中规定了2种检测这3种防腐剂的测定方法，分别是液相色谱和气相色谱检测方法。

本文使用岛津高效液相色谱仪，参照《GB 5009.28-2016 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》中规定的第一法，建立了一种可以准确测定人造肉中苯甲酸、山梨酸和糖精钠3种防腐剂的方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪，具体配置为：

输液泵：LC-40B X3 系统控制器：CBM-40Lite

柱温箱：CTO-40S 检测器：SPD-40

自动进样器：SIL-40C X3 色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.97

1.2 分析条件

色谱柱：Shim-pack GIST C18 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 μ m)，
P/N:227-30017-08，岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-2 mmol/L 甲酸 +20 mmol/L 乙酸铵溶液； B- 甲醇

流速：1 mL/min

进样体积：10 μ L

检测波长：230 nm

洗脱方式：等度洗脱，A/B=92/8 (V/V)

1.3 试剂配制

亚铁氰化钾溶液 (92 g/L)：称取 106 g 亚铁氰化钾，加入适量水溶解，用水定容至 1000 mL。

乙酸锌溶液 (183 g/L)：称取 220 g 乙酸锌溶于少量水中，加入 30 mL 冰乙酸，用水定容至 1000 mL。

甲酸 - 乙酸铵溶液 (2 mmol/L 甲酸 +20 mmol/L 乙酸铵)：称取 1.54 g 乙酸铵，加入适量水溶解，再加入 75.2 μ L 甲酸，用水定容至 1000 mL，经 0.22 μ m 水相微孔滤膜过滤后备用。

■ 样品前处理

准确称取 2 g 样品于 50 mL 具塞离心管中，加水约 25 mL，涡旋混匀，于 50°C 水浴超声 20 min，冷却至室温后加入 2 mL 亚铁氰化钾溶液和 2 mL 乙酸锌溶液，混匀，于 8000 r/min 离心 5 min，将水相转移至 50 mL 容量瓶中，于残渣中加水 20 mL，涡旋混匀后超声 5 min，于 8000 r/min 离心 5 min，将水相转移到同一 50 mL 容量瓶中，并用水定容至刻度，混匀。取适量上清液过 0.22 μm 滤膜，待液相色谱测定。

■ 结果与讨论

3.1 标准品溶液色谱图

分别精密量取苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂标准品适量，用水稀释成浓度为 0.5 mg/L、1 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L 八个浓度的混合标准系列工作溶液，按 1.2 中的分析条件进行测定，苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂标准品的溶液色谱图如图 1 所示。

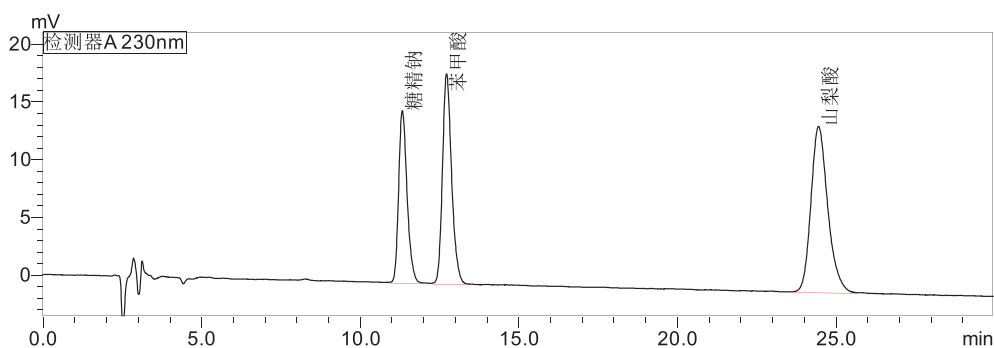


图 1 标准品溶液色谱图 (10 mg/L)

3.2 线性范围和灵敏度

将不同浓度的标准品溶液，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，采用外标法建立标准曲线，结果如图 2 所示。苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂在 0.5 - 200 mg/L 浓度范围内，具有较好的线性关系，线性相关系数 > 0.999，具体结果见表 1。

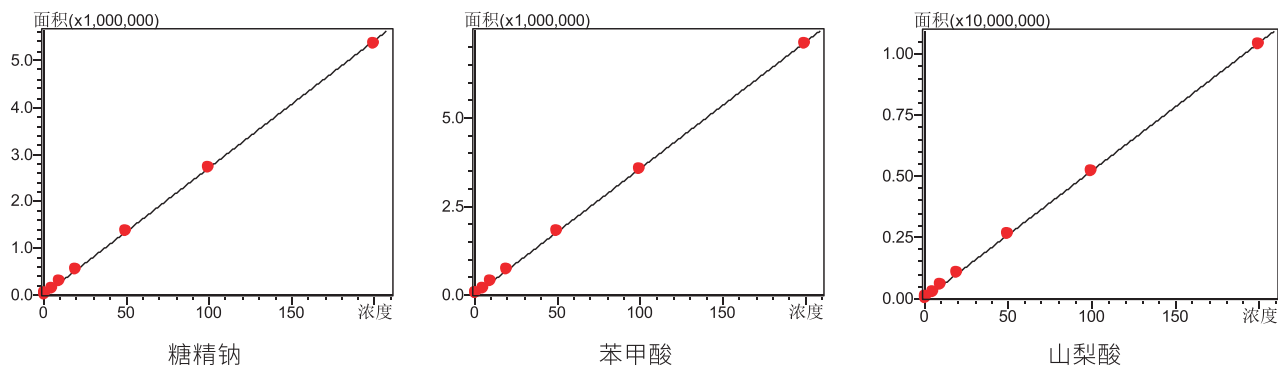


图 2 3 种防腐剂校准曲线

表 1 校准曲线参数 (权重 1/C²)

化合物名称	标准曲线	相关系数 r	线性范围 (mg/L)	准确度	检出限 (mg/L)	定量限 (mg/L)
糖精钠	$Y = 27181.2 X + 531.206$	0.9999	0.5-200	98.4-102.7%	0.06	0.17
苯甲酸	$Y = 35799.4 X + 4271.52$	0.9998	0.5-200	98.3-103.2%	0.04	0.12
山梨酸	$Y = 52377.1 X + 486.069$	0.9999	0.5-200	99.1-101.8%	0.06	0.18

3.3 精密度实验

不同浓度的标准品溶液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 2 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.004~0.062% 和 0.115~1.368% 之间，仪器精密度良好。

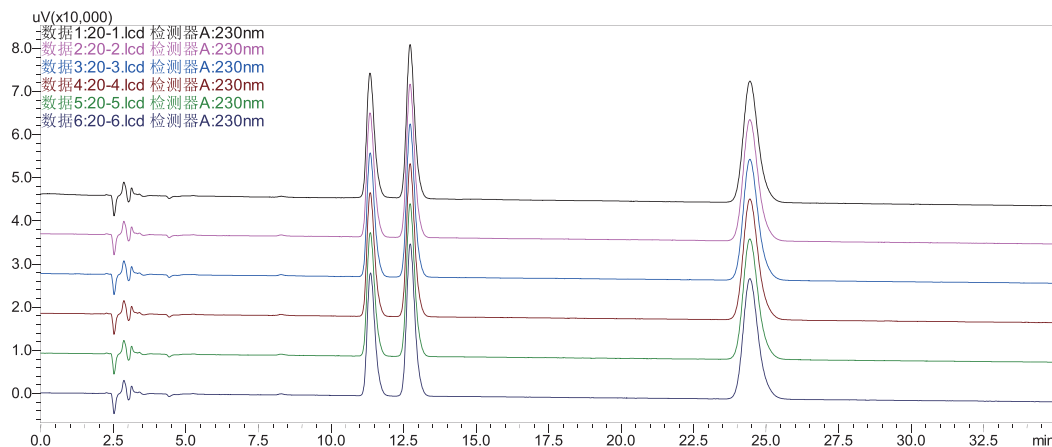


图 3 标准品溶液重复性色谱图 (浓度 20 mg/L, n=6)

表 2 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

化合物名称	RSD% (5 mg/L)		RSD% (20 mg/L)		RSD% (100 mg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
糖精钠	0.062	1.368	0.055	1.205	0.031	0.079
苯甲酸	0.035	0.324	0.016	0.283	0.010	0.181
山梨酸	0.014	0.231	0.006	0.190	0.004	0.115

3.4 加标回收率实验

以空白人造肉样品进行加标回收实验，准确称取 2 g 样品，分别添加三个浓度水平的标准品，按照 2. 中规定的前处理方法处理样品，计算平均回收率。见图 4，空白基质中未检测到苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂，空白样品色谱图和加标回收色谱图见图 4，各添加水平的平均回收率在 92.4-100.8% 之间，详见表 5。

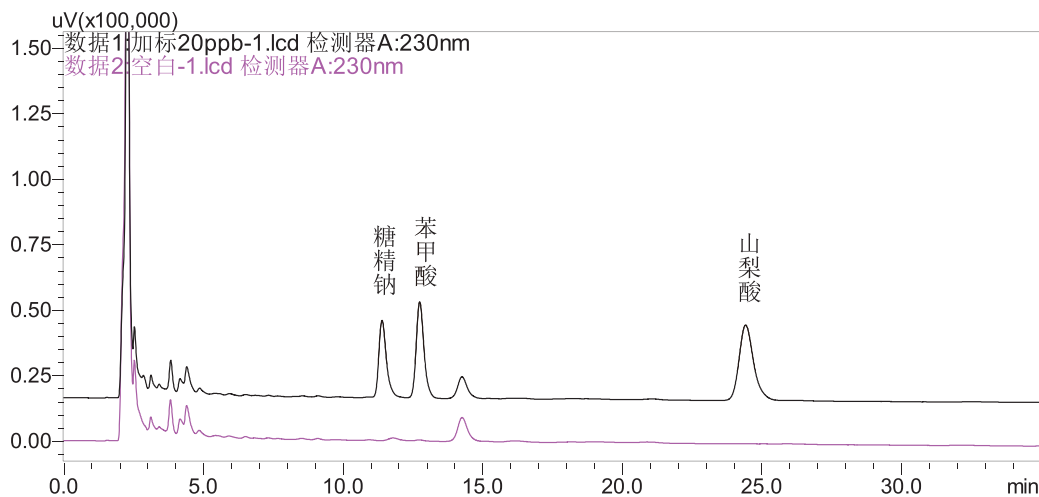


图 4 空白人造肉色谱图 (紫色) 和加标回收色谱图 (黑色, 20 mg/L)

表 3 苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂回收率 (n=3)

化合物名称	含量 mg/L	加标 1 mg/L		加标 20 mg/L		加标 100 mg/L	
		测得值 mg/L	回收率 %	测得值 mg/L	回收率 %	测得值 mg/L	回收率 %
糖精钠	N.D.	0.947	94.7%	19.782	98.9%	99.813	99.8%
苯甲酸	N.D.	0.953	95.3%	20.164	100.8%	100.234	100.2%
山梨酸	N.D.	0.924	92.4%	19.907	99.5%	100.541	100.5%

N.D. 表示未检出。

■ 结论

本文使用岛津高效液相色谱仪建立了一种人造肉中苯甲酸、山梨酸和糖精钠 3 种防腐剂含量测定的方法。样品参照《GB 5009.28-2016 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》中的前处理和实验条件进行上机分析。该方法准确可靠，灵敏度高，可供相关行业参考。

岛津应用云

