

3 种食品防腐剂的气相色谱法检测研究

摘要: [目的] 建立气相色谱法同时测定食品中的苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸的方法。[方法] 样品经乙醚提取后用气相色谱仪测定。[结果] 该方法对苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸的分离度好, 相对标准偏差分别为 2.37%、2.72%、2.03%, 回收率分别为 99.80%、98.77%、100.14%, 检出限分别为 1.2 µg, 1.1 µg, 1.0 µg。糖精钠不干扰其测定。[结论] 该方法精密度高、准确度高、选择性强, 适用于同时进行食品中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸 3 种防腐剂的定性定量分析。

关键词: 气相色谱法; 苯甲酸; 山梨酸; 脱氢乙酸

STUDY ON THE THREE KINDS OF FOOD PRESERVATIVES BY GAS CHROMATOGRAPHY

LI Lin, WANG Shu-hong. (College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: [Objective] To establish the method of detecting benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid in foods at the same time by the use of gas chromatography (GC). [Methods] Benzoic acid, sorbic acid, and dehydroacetic acid in foods were detected by GC after extracted by aether. [Results] This method detected benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid with fine resolution. The relative standard deviation was 2.37%、2.72%、2.03% respectively. The average recovery was 99.80%、98.77%、100.14% respectively. The detection limit was 1.2µg, 1.1µg, 1.0µg respectively. No disturbance by saccharin sodium was found in the process. [Conclusion] This method is validated in terms of sensitivity, accuracy, and selectivity, in the detection of benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid in foods.

Key words: Gas chromatography (GC); Benzoic acid; Sorbic acid; Dehydroacetic acid

食品防腐剂是能抑制微生物生长、防止食品腐败变质、延长食品保存期的一类添加剂。食品防腐剂一般分为酸型防腐剂、酯型防腐剂、无机防腐剂和生物防腐剂 4 类, 其作用是抑制食品中微生物的生长和繁殖, 从而达到防止食品在生产、运输、贮存和销售过程中引起产品腐败变质的目的^[1]。目前, 食品工业中使用的食品防腐剂主要是化学合成的物质, 它们破坏微生物的细胞膜, 从而抑制微生物的发育和繁殖达到防腐的效果, 同时对人体细胞也有不同程度的损害作用, 国家标准规定在食品中可以限量使用。

山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸是食品工业中常用的食品防腐剂, 我国国家卫生标准规定了各自的检测方法^[2]。由于食品加工生产时原料中可能含有防腐剂, 或厂家添加了防腐剂没有全部注明, 因此建立一种能够同时测定多种防腐剂的方法, 缩短检测时间, 提高检测效率的快速检测方法很有必要。本文主要采用气相色谱法, 研究同时检测食品中的山梨酸、苯甲酸和脱氢乙酸 3 种防腐剂含量的最佳方法。

1 材料与方

1.1 实验原理

试样酸化后经过乙醚提取山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸, 用附氢火焰离子化检测器的气相色谱进行分离测定, 与标准系列进行比较定量。

作者简介: 李林 (1957-), 男, 医学学士, 主任医师, 研究方向: 食品卫生学

作者单位: 西南大学食品科学学院, 重庆, 400716

1.2 仪器与试剂

1.2.1 仪器 气相色谱仪 GC-9890, FID, K-D 浓缩器; 万分之一电子天平 (梅特勒-托利多)。

1.2.2 试剂 乙醚 (不含过氧化物); 石油醚 (沸程 30°C-60°C); 无水硫酸钠: AR; 盐酸 (1+1); 取 100 ml 盐酸, 加水稀释至 200 ml; 氯化钠酸性溶液 (40 g/L): 在 40 g/L 的氯化钠溶液中加入少量的盐酸 (1+1) 酸化。

1.3 标准的配制

分别准确称取苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸标准品各 0.100 0 g 于 100 ml 容量瓶中, 以石油醚-乙醚 (3+1) 稀释并定容至刻度, 配制成苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸的浓度均为 1 mg/ml 的标准储备液。检测样品时用石油醚-乙醚 (3+1) 稀释成不同浓度的标准应用液。

1.4 实验方法

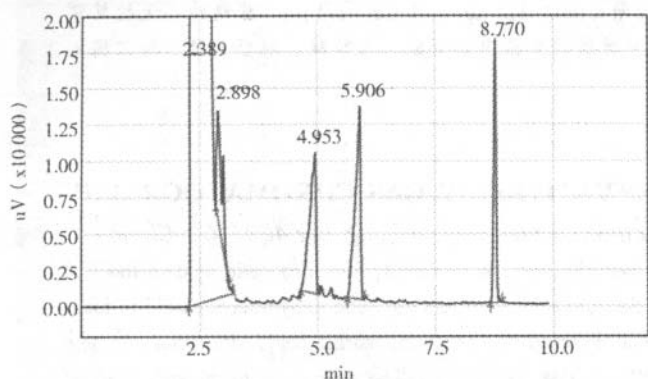
1.4.1 样品的处理 量取酱油样品 2 ml, 置于 25 ml 具塞量筒中, 加入 0.5 ml 盐酸 (1+1) 酸化, 用 15 ml, 10 ml 乙醚提取两次, 每次振摇 2 min, 将上层乙醚提取液吸入到另一个 25 ml 具塞量筒中, 合并两次乙醚提取液, 用 3 ml 氯化钠酸性溶液 (40 g/L) 洗涤两次, 静置 5 min 后将乙醚层用吸管吸出通过无水硫酸钠滤入浓缩瓶中, 于 40°C 水浴上挥干, 最后加入 2 ml 石油醚-乙醚 (3+1) 混合溶剂溶解残渣, 进样用气相色谱分析^[8,9]。

1.4.2 标准曲线的绘制 准确吸取浓度均为 1 mg/ml 山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸标准储备液 0.00、0.20、0.40、0.80、1.60、2.00 ml 分别加石油醚-乙醚 (3+1) 至 5 ml, 即山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸的标准系列溶液均为 0、40、80、160、320、

400 µg/ml。进 1 µl。以峰面积为纵坐标，含量为横坐标作标准曲线。

1.4.3 色谱条件 GC-9890 气相色谱仪、FID，色谱柱：Rtx-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 µm) 柱温：90°C 保持 2 min，然后以 50°C/min 的速度升至 150°C；进样口温度：230°C；检测器温度：230°C；氢气：30 ml/min；空气：300 ml/min；尾吹：30 ml/min；分流比为 1:1。

1.4.4 标准应用液的测定 标准的配制：分别取浓度均为 1 mg/ml 的苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸储备液配制制成 20 µg/ml、20 µg/ml、40 µg/ml 的标准应用液测定。见图 1



注：1 山梨酸 (4.953 min)，2 苯甲酸 (5.906 min)，3 脱氢乙酸 (8.770 min)

图 1 GC 法测定苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸的标准色谱图

1.4.5 样品的测定 取处理好的样品溶液 1 µl 进样。以苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸标准峰的保留时间定性，由标准曲线上分别计算出苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸的含量。

2 结果

2.1 色谱柱的选择

分别选用 HP-1、Rtx-5 柱均可分离出山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸，但比较各柱之间，以 Rtx-5 (30.0 m 0.32 mm, 0.25 µm) 柱分离效果最好，因此综合各方面因素选择 Rtx-5 柱。

2.2 色谱柱温的选择

经过多次反复的试验，确定色谱柱的最佳温度条件为：90°C 保持 2 min，然后以 50°C/min 的速度升至 150°C。在此条件下山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸能够很好的分离，而且溶剂峰对他们都不影响，并且色谱峰面积最大。

2.3 标准曲线回归方程

将 3 种物质的标准应用液分别稀释成 20、50、100、200、300 µg/ml 的标准工作液，进样 1 µl 得标准曲线以及曲线方程。见表 1。

表 1 3 种防腐剂的标准曲线

防腐剂名称	线性范围 (µg/ml)	回归方程	r 值
山梨酸	0 ~ 300	Y = 480.64x + 4433.8	0.9991
苯甲酸	0 ~ 300	Y = 628.55x + 5598.4	0.9990
脱氢乙酸	0 ~ 300	Y = 856.08x + 1943.2	0.9997

2.4 精密度的测定

以瓦罐酱油为试样，加入 300 µg/ml 的标准 2 ml 按照此方法在相同的条件下测定 8 次。计算相对标准偏差。结果见表 2。苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸的相对标准偏差分别为：2.72%，2.37%，2.03%。

表 2 精密度 (表格中数据为峰面积，单位 mAU*s)

测定次数	1	2	3	4	5	6	7	8
山梨酸	125002	119820	112503	120031	120220	125777	128942	125765
苯甲酸	157808	160081	165010	169020	162304	162934	168393	165807
脱氢乙酸	214809	209810	215070	213455	205823	215917	218106	219096

2.5 准确度的测定

以瓦罐酱油为试样，平行称取 1、2 两份样，分别加入 50 µg/ml、300 µg/ml 的标准 2 ml 按照此方法测定，结果见表 3。

表 3 回收率 (mg, ×10⁻²)

回收组分	样号	加入量	检出量	回收率	平均回收率
山梨酸	1	0.100	0.992	99.20	98.77
	2	0.600	0.590	98.33	
苯甲酸	1	0.100	0.995	99.50	99.80
	2	0.600	0.601	100.10	
脱氢乙酸	1	0.100	0.106	100.60	100.14
	2	0.600	0.598	99.67	

注：样品中苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸均未检出

2.6 检出限的计算

以 3 倍仪器噪声所对应的质量作为检出限，当取样量 2 g，定容体积 2 ml，进样量 1 µl 时，其最低检出浓度分别为 1.28 mg/kg，1.12 mg/kg，1.02 mg/kg。见表 4。

2.7 干扰实验

于样品中分别加入山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、糖精钠等物质进行分析，由于糖精钠易溶于水微溶于乙醚，用乙醚在提取时其基本上全部溶解在水中，所以分析结果显示没有糖精钠，表明在此条件下所加入的糖精钠不干扰苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸的测定。

2.8 样品的测定

随机抽取重庆市市区市售酱油、果汁、腐乳 3 类食品共 26 个样品，分别用本方法进行苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸含量测定，共测定 26 次。如果采用国标方法分别进行 3 种防腐剂的测定，需进行 52 次测定，由此可见检测效率大大提高。

表 4 3 种防腐剂的检出限

组分	浓度 (µg/ml)	进样量 (µl)	峰面积 (mAU*s)	平均噪声 (mAU*s)	检出限 (ng)	最低检出浓度 (mg/kg)
苯甲酸	50	1	23429	200	1.28	1.28
山梨酸	50	1	26701	200	1.12	1.12
脱氢乙酸	50	1	29372	200	1.02	1.02

检测结果, 在 1 个酱油、1 个果汁样品中检出苯甲酸, 3 个酱油、4 个果汁样品中检测出山梨酸, 3 个果汁, 2 个腐乳样品中检测出脱氢乙酸, 其含量均未超过国家卫生标准, 见表 5。

表 5 市售样品中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸检测结果

样品	样品数	苯甲酸 检出数	山梨酸 检出数	脱氢乙酸 检出数
酱油	8	1	3	未检出
果汁	10	1	4	3
腐乳	8	未检出	未检出	2
合计	26	2	7	5

3 讨论

国内外有许多学者对食品中防腐剂山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸的检测进行了研究, 他们大都采用气相色谱法和液相色谱法。殷德荣^[3]采用毛细管气相色谱法同时测定食品中防腐剂山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸和尼泊金丙酯(对羟基苯甲酸丙酯), 效果较好。王莉丽^[4]等用 HPLC 法检测软饮料中苯甲酸、糖精钠和山梨酸, 结果较为理想。康绍英^[5]等采用二极管阵列-高效液相色谱同时检测食品中的安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸, 利用二极管阵列检测器提供的被测组分的光谱扫描图和其相应保留时间综合定性鉴别, 结果较理想。除此之外王咏梅^[6]等采用毛细管区带电泳(CZE)法测定食品中山梨酸、苯甲酸和糖精钠的含量。国外也已经开始采用毛细管区带电泳(CZE)法检测食品中的添加剂^[7]。这些方法操作复杂, 时间长, 不能适应食品行业发展的需要。

笔者采用 Rtx-5 柱子同时测定食品中的苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸, 研究出最佳实验条件, 柱温: 90℃保持 2 min, 然后以 50℃/min 的速度升至 150℃; 进样口温度: 230℃; 检测

器温度: 230℃; 氢气: 30 ml/min; 空气: 300 ml/min; 尾吹: 30 ml/min; 分流比为 1:1。采用该方法来检测食品中的防腐剂, 9 min 内就能很好的将这 3 种防腐剂进行分离鉴定。

本文研究的气相色谱法同时测定食品中所含 3 种防腐剂山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸, 具有操作简便、分离效果好、精密度高、结果准确等特点, 适用于果汁、果酱、饮料、酱油、醋和腐乳等食品中 3 种防腐剂的同时测定, 从而大大提高工作效率。

参考文献:

- [1] 何计国. 食品卫生学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002. 205.
- [2] GB2760-1996. 食品添加剂使用卫生标准[S].
- [3] 殷德荣. 毛细管气相色谱法同时测定食品中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸、尼泊金丙酯 [J]. 中国卫生检验杂志, 2004, 14 (4): 469-470.
- [4] 王莉丽, 宋宇. HPLC 法快速测定软饮料中苯甲酸、糖精钠、山梨酸的含量 [J]. 渤海大学学报 (自然科学版), 2007, 28 (2): 129-131.
- [5] 康绍英, 张继红. 二极管阵列-高效液相色谱同时检测食品中的安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸[J]. 食品与机械, 2007, 23 (5): 118-120.
- [6] 王咏梅, 刘恺, 卢玉妹. 毛细管区带电泳法测定食品中山梨酸、苯甲酸和糖精的含量[J]. 食品科技, 2007, 10 (6): 227-229.
- [7] Frazier R A, Dossi N. Development of a capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of artificieal sweeteners, preservatives and colours in soft drinks [J]. J Chromatogr A, 2000, 875 (1-2): 213-220.
- [8] GB/T5009.29-2003.[S].
- [9] GB/T5009.121-2003.[S].