

DAD 检测干鱿鱼制品中苯甲酸、山梨酸的含量

倪梅林^① 房科腾 曹苏仙

(宁波出入境检验检疫局技术中心食品安全分中心 浙江省宁波市 315012)

摘 要 通过乙醚提取样品, 在 C18 色谱柱上(4.6×250mm, 5 μ m) 以磷酸缓冲溶液和甲醇以 95:5 的比例作为流动相进行色谱分离, 用 HPLC 法 DAD 225nm 处检测干鱿鱼制品中的苯甲酸、山梨酸含量。本法在标准浓度为 0.01—0.1mg/mL 范围内, 线性良好, 相关系数大于 0.995, 该方法适合日常检测。

关键词 HPLC 法, 苯甲酸, 山梨酸, 鱿鱼制品。

中图分类号: O657.7+2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2006)05-1039-03

1 前言

山梨酸为白色或浅黄色粉末, 易溶于水、丙二醇, 难溶于乙醇等有机物。它对霉菌、酵母菌和好气性细菌均有抑制作用。它的防腐机理是基于抑制微生物细胞中的酶, 利用自己的双键与酶的巯基形成共价键, 使其失去活力, 达到破坏酶系, 抑制微生物增殖作用。山梨酸钾为酸性防腐剂, 防腐作用系未解离分子的作用, pH 值越低, 未解离分子越多, 故适用于 pH=5.5 以下的食品, 最高不超过 6.5。对食品味道的失真比苯甲酸小, 安全性比苯甲酸钠高, 所以从国外发展方向看, 有逐步取代苯甲酸钠的趋势。它是一种不饱和脂肪酸, 可参与体内正常代谢, 而产生二氧化碳和水, 可视食品的成分之一, 故对人体无害, 是目前国际上公认的最好防腐剂, 已为各国允许使用。苯甲酸别名: 安息香酸, 化学式: C₆H₅COOH 在常温下难溶于水, 在空气中微挥发, 有吸湿性; 但溶于热水, 也溶于乙醇、氯仿和非挥发性油。苯甲酸和苯甲酸钠大多为白色颗粒, 无臭或微带安息香气味, 易溶于水; 在碱性介质中无杀菌、抑菌作用; 其防腐最佳 pH 是 2.5—4.0。苯甲酸亲油性较大, 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。

干鱿鱼制品在其腌制过程中会添加一定的防腐剂, 以达到保持鲜味和色泽的作用。本方法简便, 快速, 灵敏, 适合日常的检测。

2 实验部分

2.1 仪器与设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪, 配 DAD 检测器(美国 Agilent 公司);

色谱柱为 C18, 250×4.6mm, 5 μ m;

Sigma 3K30 冷冻离心机(美国西格马公司);

^① 联系人, 电话: (0574) 81199697; E-mail: melon122@yahoo.com

作者简介: 倪梅林(1980—), 女, 浙江省温州市人, 助理工程师, 主要从事食品安全领域的药物残留检测工作。

收稿日期: 2006-06-20; 接受日期: 2006-07-02

氮吹仪(Organomation Associates, 美国 Jnc. 公司);
真空旋转浓缩仪(瑞士 BüCHI 公司);
MILLI-Q 超纯水器(美国 MILLI PORECO 公司);
Votexgenie- 2 型旋涡混合仪(德国) 等。

2.2 试剂和溶液

苯甲酸(纯度> 99%) 标准储备液: 准确称取 0. 0500g 苯甲酸, 加入 25mL 甲醇, 使其溶解, 加水至 50mL。此溶液每毫升相当于 1mg 苯甲酸。

山梨酸(纯度> 99%) 标准储备液: 准确称取 0. 0500g 山梨酸, 加入 25mL 甲醇, 使其溶解, 加水至 50mL 此溶液每毫升相当于 1mg 山梨酸。

乙醚(分析纯); 甲醇(色谱纯); 磷酸盐缓冲液: 称取磷酸二氢钾和磷酸氢二钾各 5g, 用蒸馏水溶解, 并定容 1000mL, 脱气后备用。

2.3 样品处理

准确称取 2. 0g 样品于 50. 0mL 离心管中, 先加入少量水, 剧烈震荡。然后加入 20. 0mL 乙醚, 剧烈震荡 2min, 4000rpm 离心 3min, 取上层清液置于鸡心瓶中。用 20. 0mL 乙醚再次提取下层残渣, 合并清液。旋转蒸发至干, 用甲醇 5. 0mL 冲洗瓶, 转入离心管, 氮气吹至 1. 0mL, 用 0. 45 μ m 滤膜过滤后进样。

2.4 色谱条件

色谱柱: 大连依利特 C18(250 $\times$ 4. 6mm, 5 μ m); 流动相: 磷酸盐缓冲液; 检测器波长: 225nm; 流速: 0. 8mL/min; 进样量: 20 μ L; 温度: 25 $^{\circ}$ C。

3 结果与讨论

3.1 线性范围及检出限

通过响应峰面积值定量, 以信噪比(S/N) = 3 时的可检出最低药物浓度为检出限。苯甲酸和山梨酸的检出限为 1. 0 μ g/mL。标准溶液 0. 01、0. 02、0. 04、0. 06、0. 08、0. 1mg/mL, 测定各浓度样品的峰面积, 绘制校准曲线, 求回归方程和相关系数。在建立的色谱条件下, 苯甲酸和山梨酸在 0. 01—0. 10mg/mL 浓度下的相关系数为 0. 9999。实验结果表明在工作液校准曲线范围内, 标准品浓度与峰面积呈现良好的线性相关。

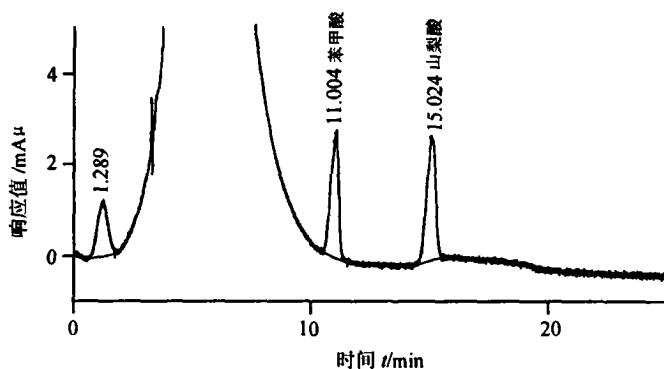


图 1 苯甲酸、山梨酸标准品(1. 0 μ g/mL) 色谱行为

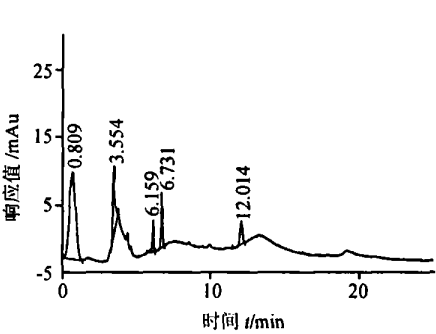


图 2 空白样品色谱行为

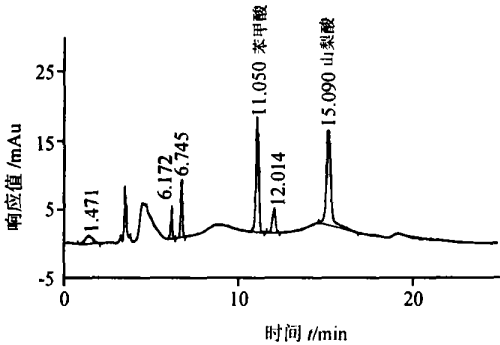


图 3 添加水平 10.0mg/kg 色谱行为

3. 2 回收率测定

回收率测定: 空白样品中添加量为 10. 0、25. 0、50. 0mg/kg 时, 按上述方法制样后作 HPLC 测定, 与相应浓度工作液响应峰面积比较, 计算回收率, 见表 1。

4 结论

本实验用 DAD 检测器进行波长扫描, 选用 225nm 作为苯甲酸和山梨酸的检测波长。分析图谱结果显示样品杂质峰在标准峰的出峰时间处无干扰, 流动相条件能够保证组分良好分离。苯甲酸和山梨酸出峰时间分别为 11. 06min、15. 02min 左右。样品的预处理过程不需要复杂提取过程, 只需在酸性条件下用乙醚提取, 操作方便, 灵敏度高, 回收率在 68%—95% 之间。所建立的检测方法最低定量限为 1. 0mg/kg, 在 0. 01—0. 10mg/mL 范围内各标准峰浓度值与相应峰面积值相关性良好, 相关系数高于 0. 998。日内和日间 RSD 分别< 5%, 样品回收率较好符合定量分析的要求。作为日常检测方法, 本方法可以达到灵敏度高、准确性好、短时间大量处理样品的效果, 在食品添加剂检测领域和进出口食品检测方面值得推广和应用, 具有很好的现实意义。

参考文献

[1] 郭亚东等. 高效液相色谱法测定酸奶中苯甲酸、山梨酸、糖精钠[J]. 中国卫生检验杂志, 2001, 11(5): 577—578.
[2] 丁晖, 刘亚琴. HPLC 测定含乳饮料中山梨酸和苯甲酸含量[J]. 现代科学仪器, 2000, 2: 32—33.
[3] 李薇等. HPLC 测定各类食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠[J]. 彭城职业大学学报, 2000, 15(4): 104—105.

Determination of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Dried Sleeve-Fish Products by HPLC with DAD Detector

NI Mei-Lin FANG Ke-Teng CAO Su-Xian
(Ningbo Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo, Zhejiang 315012, P. R. China)

Abstract The samples were extracted by aether. Benzoic acid and sorbic acid in dried sleeve-fish products were determined by HPLC with DAD detector (225nm) on the C18 column(4. 6×250mm, 5μm) using elution of KH₂PO₄ solution and methanol(95 : 5) for separation. The linear range is 0. 01—0. 1mg/mL with RSD> 0. 995. It is suitable for daily testing.

Key words HPLC, Benzoic Acid, Sorbic Acid, Sleeve-Fish Products.
© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.c>