

文章编号 :1002-1124(2010)10-0017-03

高效液相色谱内标法测定 香精香料中的水杨酸

鲍峰伟 郝红玲 何爱民 苏国岁

(河北中烟工业公司 技术中心 河北 石家庄 050051)

摘要 建立了香精香料中水杨酸的液相色谱检测方法。该方法以甲醇提取样品中的水杨酸,3,4-二羟基苯甲酸为内标,梯度洗脱,流动相分别为乙腈和50mmol·L⁻¹磷酸溶液,DAD检测器检测,内标法定量。结果表明,水杨酸在0.05~1.00μg·mL⁻¹范围内线性关系良好,拟合度为0.9999,回收率为97.53%~98.13%,相对标准偏差为1.08%~1.37%。

关键词 香精香料 水杨酸 3,4-二羟基苯甲酸 液相色谱

中图分类号 O657.7

文献标识码 A

Determination of salicylic acid in flavor and essence by HPLC internal standard method

BAO Feng-wei, HAO Hong-ling, HE Ai-min, SU Guo-sui

(China Tobacco Hebei Industrial Corporation Technology Center Shijiazhuang 050035, China)

Abstract The determination method of salicylic acid in flavor and essence was established by high performance liquid chromatography. Samples were extracted with methanol. The mobile phase was acetonitrile and 50mmol·L⁻¹ phosphoric acid, gradient elution, DAD detection, quantified by internal standard method. The results show that the calibration curve of salicylic acid at the concentration range of 0.05~1.00μg·mL⁻¹ was linear ($R^2=0.9999$). The recoveries of the salicylic acid ranged from 97.53% to 98.13% with relative standard deviations between 1.08%~1.37%.

Key words: flavor and essence; salicylic acid; 3,4-DHBA; HPLC

水杨酸是一种用途广泛的消毒防腐剂,但由于对人体有一定毒性,摄入一定剂量后会引起呕吐、腹泻、腹痛等症状^[1,2],在我国禁止用于食品加工生产^[3]。因此,建立水杨酸的准确检测方法具有重要意义。目前,水杨酸的检测多采用外标法定量^[4-8],但是由于香精香料种类繁多,基质复杂,在样品处理过程中难以保证基本一致的提取效率。因此,本文建立了香精香料中水杨酸含量的高效液相色谱内标检测方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

Agilent 1200 高效液相色谱仪(配有四元梯度泵、DAD检测器,Agilent公司);Branson 5510 超声振荡器;LG10-2.4A 高速离心机;AG285 分析天平

(感量0.1mg, METTLER TOLEDO公司)。

0.45μm 有机相滤膜;甲醇(色谱纯,迪马公司);乙腈(色谱纯,百灵威公司);磷酸(优级纯,国药集团);水杨酸(TCI);3,4-二羟基苯甲酸(97%,阿法埃莎);蒸馏水(电阻率为18.2MΩ·cm⁻¹);烟用香精香料样品取自本实验室,食品用香精香料购于本地市场。

内标储备液:准确称取3,4-二羟基苯甲酸0.02g,以甲醇定容于1000mL容量瓶中。**内标溶液**:用移液管准确移取10mL内标储备液,以甲醇定容至1000mL容量瓶中。**标准储备液**:准确称取0.01g水杨酸,以甲醇定容于1000mL容量瓶中。

1.2 样品的制备与分析

准确称取0.20g样品于10mL离心管中,加入5.0mL内标溶液,置于超声振荡器中提取10min,再于10000r·s⁻¹的条件下离心分离10min,上层清液经0.45μm滤膜过滤后进行液相色谱分析。

液相色谱条件:分析柱为Phenomenex Luna 5μC₁₈(2) 150×4.6mm;流动相A为乙腈,流动相B为50M磷酸溶液;进样量10μL;流速1mL·min⁻¹;测定

收稿日期 2010-08-23

作者简介:鲍峰伟(1981-),男,硕士,助理工程师,主要从事烟草化学和仪器分析工作。

波长 205nm; 梯度条件为 0~7min 5%A, 7~9min 5%A~40%A, 9~14min 40%A~20%A, 14~17min 20%A。

2 结果与讨论

2.1 检测波长的选择

分别扫描了 3,4-二羟基苯甲酸和水杨酸的紫外光谱图, 波长 190~350nm。结果见图 1、2。

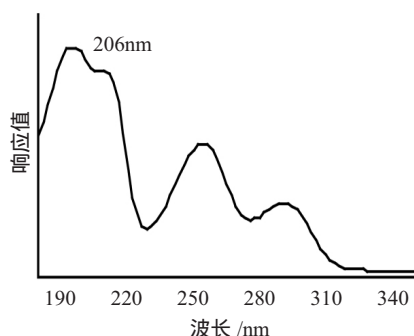


图 1 内标物紫外光谱图

Fig.1 UV spectrum of internal standard

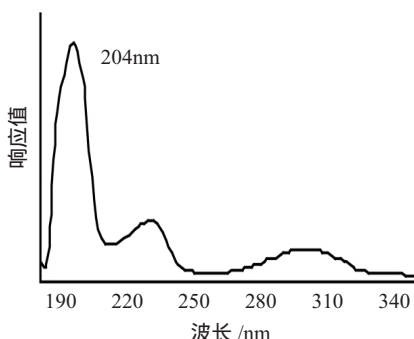


图 2 水杨酸的紫外光谱图

Fig.2 UV spectrum of salicylic acid

由图 1、2 可见 3,4-二羟基苯甲酸和水杨酸的最大吸收波长分别为 206、204nm, 由于两种物质的最大吸收波长很接近, 因此, 选择 205nm 作为检测波长。

2.2 流动相和色谱柱的选择

分别比较了不同的流动相 A(甲醇、乙腈)对实验的影响。结果表明, 采用甲醇时 3,4-二羟基苯甲酸和水杨酸的出峰时间均比乙腈长, 并且样品中的杂质对 3,4-二羟基苯甲酸有较强干扰, 而采用乙腈时则不会对测定产生干扰。因此, 选择乙腈作为流动相 A。

分别考查了 Zorbax SB- C_{18} 、Phenomenex Luna 5 μ C_{18} (2) 两种色谱柱的分离效果, 结果表明 Zorbax SB- C_{18} 柱对 3,4-二羟基苯甲酸的分离不理想, 而 Phenomenex 5 μ C_{18} (2) 柱对内标和待测物的分离均达

到了理想的效果, 故选用 Phenomenex 5 μ C_{18} (2) 柱作为分析柱。在本文选择的色谱条件下, 标准样品色谱图和实际样品色谱分别见图 3、4。

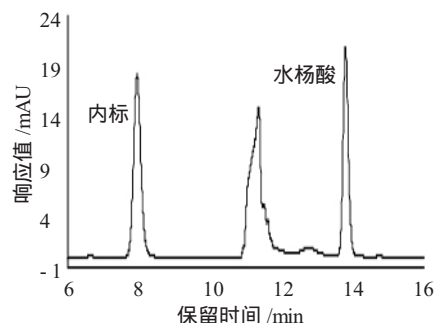


图 3 标准样品的色谱图

Fig.3 Chromatogram of standard sample

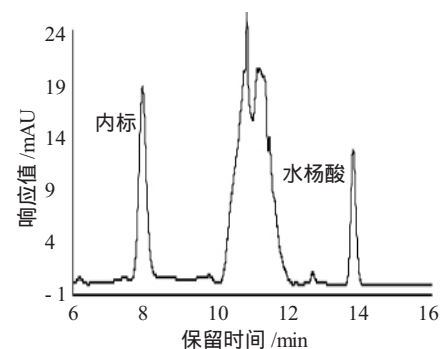


图 4 实际样品的色谱图

Fig.4 Chromatogram of real sample

2.3 工作曲线

准确移取标准储备液 0.5、1.0、2.0、5.0、10.0mL, 分别置于 100mL 容量瓶中, 再各加入 1.0mL 内标储备液, 用甲醇定容至刻度并充分摇匀。按 1.2 所述色谱条件系列标准溶液进行色谱分析, 以样品与内标面积比(X)对相应的样品与内标浓度比(Y)进行线性拟合, 拟合方程为: $Y = 0.9628X - 0.0013$, 拟合度 (R^2)为 0.9999, 线的线性范围是 0.05~1.00 μ $g \cdot mL^{-1}$ 。将最低浓度的标准溶液进样 10 次, 方法的检出限 (3σ)为 0.08 μ $g \cdot g^{-1}$, 定量限 (10σ)为 0.28 μ $g \cdot g^{-1}$ 。

2.4 精密度与回收率

以已知水杨酸含量的样品为基质, 以 1.24、4.99、24.99 μ $g \cdot g^{-1}$ 为添加水平, 每个添加水平平行测定 6 次, 得出方法的回收率与精密度, 测定结果见表 1。

表1 回收率测定结果

Tab.1 Determination results of recovery

原含量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	添加量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	平均测定量 / $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	平均回收率 /%	相对标准偏差 /%
	1.24	1.21	97.53	1.37
3.27	4.99	4.89	97.95	1.09
	24.99	24.52	98.13	1.08

2.5 样品检测

对烟用和食品用香精香料各6种进行了检测,烟用香精香料中未检出水杨酸,食品用香精香料中有2种检出,含量分别为1.79、3.27 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3 结论

建立了高效液相色谱测定香精香料中水杨酸含量的方法。本方法样品处理简单,精密度好,回收率高,可用于香精香料水杨酸含量的定量检测。

参 考 文 献

- [1] 阳文琼,申鸿丽,邓华.食品中水杨酸的测定[J].中国食品添加剂,2009,(4):177-179.
- [2] SCCNFP. Opinion on Salicylic Acid adopted by the SCCNFP during the 20th plenary meeting of 04 June 2002[R]. Brussels:SCCNFP, 2002.
- [3] 王茂起,王竹天,陈君石,等.食品添加剂使用卫生标准[M].北京:中国标准出版社,2007.90-179.
- [4] 谭新良,赵瑜,杨华武.高效液相色谱法同时测定食品添加剂中水杨酸、 β -萘酚和马兜铃酸含量[J].湖南科技大学学报(自然科学版),2010,25(1):111-113.
- [5] 董风强,周国俊,蒋健,等.高效液相色谱法测定香精香料中的水杨酸[J].广州化工,2009,37(4):139-140.
- [6] 邢俊家,周晖.高效液相色谱法测定复方苯甲酸凝胶中苯甲酸和水杨酸的含量[J].中国医科大学学报,2007,36(2):223-224.
- [7] 邓文红,张凤娟,金幼菊.反相高效液相色谱法测定植物组织中的水杨酸[J].北京林业大学学报,2007,29(1):151-154.
- [8] 孙剑奇,吴海龙.交替三线线性分解算法结合高效液相色谱法同时测定水杨酸与龙胆酸[J].分析测试学报,2007,26(5):686-689.

(上接第6页)

了极好的催化活性。

2.7 产品的分析鉴定

按本法制得辛酸乙酯产品的折光率为1.4205,与文献值^[6](1.415~1.420)基本相符,产品为无色透明,具有白兰地香型香气的液体,红外光谱见图1。

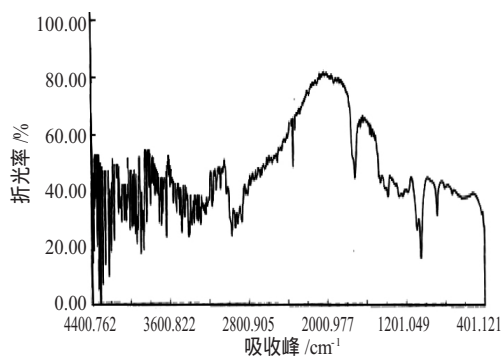


图1 产品辛酸乙酯的红外光谱图

Fig. 1 IR spectra of ethyl octanoate

从图1可知,产品的红外光谱具有下列明显吸收峰 $\nu(\text{cm}^{-1})$ 为880.83,1050.05,1088.62,1380.30,1715.85。其中1715.85 cm^{-1} 为酯羰基C=O的伸缩振动,1380.30和1088.62 cm^{-1} 为C-O-C键的伸缩振动,与辛酸乙酯的标准IR图具有一致的C=O和C-O-C的特征吸收峰。

3 结论

正辛酸与无水乙醇以 $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 为催化剂合成辛酸乙酯的最佳条件为:醇酸物质的量比为1.3:1,催化剂用量为反应物料总质量的2.0%,反应时间为1.5h,反应温度在206~210 $^{\circ}\text{C}$ 。在此条件下,辛酸乙酯的产率达到68%左右。因此, $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 是合成辛酸乙酯的优良催化剂,杂多酸(盐)配合物是一类较有前途的酯催化剂,具有良好的应用前景。

参 考 文 献

- [1] 兰州大学,复旦大学有机化学教研室.有机化学实验(第二版)[M].北京:高等教育出版社,1994.158-166.
- [2] 杨水金,梁水光. $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 催化合成葡萄糖酯的研究[J].精细化工,2001,18(7):408-410.
- [3] 梁永光,刘任中,杨水金,等. $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 催化合成氯乙酸异辛酯[J].精细石油化工,2002,3(6):22-24,28.
- [4] 杨水金,梁永光. $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 在酯合成中的应用[J].化学推进剂与高分子材料,2001,(6):6-11.
- [5] 杨水金,陈露春,梁永光,等. $\text{TiSiW}_{12}\text{O}_{40}/\text{TiO}_2$ 催化合成环己酮1,2-丙二醇缩酮[J].精细化工,2002,19(10):600-602.
- [6] 马沛生.有机化合物实验物性数据手册(含碳、氢、氧、卤部分)[M].北京:化学工业出版社,2006.258.