

高效液相色谱法测定饮料中 甜味剂和防腐剂的含量^①

杨理^② 闫清华^a 王新生^b

(河南科技学院实验中心 河南省新乡市华兰大道 453003)

a(新乡医学院生命科学技术系 河南省新乡市华兰大道 453003)

b(河南科技学院新科学院 河南省新乡市华兰大道 453003)

摘 要 采用高效液相色谱-紫外检测器测定饮料中甜味剂和防腐剂的含量。色谱柱为 Eclipse XDB-C₁₈(4.6mm×250mm, 5μm), 以甲醇:0.02mol/L 乙酸铵溶液(pH 6.0, 30:70, V/V) 为流动相, 柱温为 25℃, 流速为 0.7mL/min, 在 230nm 处检测。结果表明, 各物质的线性回归方程相关系数 r 在 0.9990—0.9998 之间, 回收率在 98.40%—109.22%。该方法简便, 灵敏, 快速, 可靠, 重现性好, 适用于质量检测。

关键词 高效液相色谱法; 饮料; 甜味剂; 防腐剂

中图分类号: O657.7⁺ 2

文献标识码: B

文章编号: 1004-8138(2011)02-0870-05

1 引言

安赛蜜(乙酰磺胺酸钾)、糖精钠、苯甲酸钠和山梨酸钾都属于食品添加剂。安赛蜜和糖精钠是各类饮料中常用的甜味剂; 苯甲酸钠和山梨酸钾作为防腐剂, 应用比较广泛^[1]。近年来, 由于消费者对于饮料的安全性日益关注, 饮料中各种食品添加剂, 特别是甜味剂和防腐剂的使用情况越来越受到人们的重视, 过量使用会对人体健康造成一定的损害^[2-4], 为此卫生部制定了《食品添加剂使用卫生标准》, 对其应用范围和使用限量都有明确的规定。目前, 我国对以上 4 种食品添加剂测定的标准方法有^[5-7]: 薄层色谱法、气相色谱法及高效液相色谱法, 前 2 种方法一般都是对各种添加剂进行分别提取和测定, 且实验操作烦琐、样品预处理过程较为复杂、分析时间长及结果重现性差等。而高效液相色谱法(HPLC)是发展较快、较成熟的分析方法, 具有高效、高速、高灵敏度及高度自动化等特点^[8]。本文采用 HPLC 配合紫外检测可以同时测定上述 4 种食品添加剂, 样品预处理较简单, 分析速度快, 4 种添加剂在 10min 内全部出峰, 分离效率高, 操作简易, 灵敏度较高, 重现性好。定量测定安赛蜜、苯甲酸钠、山梨酸钾和糖精钠的含量, 得到满意效果。本法简单、快速, 可满足日常检测的要求, 对其他食品中甜味剂和防腐剂的检测, 也具有一定的借鉴意义。

2 实验部分

2.1 仪器、试剂和材料

SURVEYOR 液相色谱质谱联用仪(美国热电菲尼根公司); Ultra class UV plus 超纯水仪(德

① 河南科技学院高层次人才资助项目(6037)

② 联系人, 手机: (0) 13782534429; E-mail: yanglihome1998@yahoo.com.cn

作者简介: 杨理(1980—), 男, 河南省泌阳县人, 实验师, 硕士, 主要从事仪器分析方面研究工作。

收稿日期: 2010-04-11; 接受日期: 2010-05-31

国 SG 公司); Sartorius 电子分析天平(德国赛多利斯科学仪器有限公司); Delta320 精密 pH 酸度计(瑞士梅特勒-托利多上海有限公司); KQ5200 超声波振荡器(昆山市超声仪器有限公司)。

甲醇和乙酸为色谱纯; 乙酸铵、氨水、苯甲酸钠、山梨酸钾、糖精钠和安赛蜜均为分析纯。实验用水为超纯水。

市售饮料: 统一鲜橙多(郑州统一企业有限公司); 康师傅橙汁饮品(郑州顶津食品有限公司); 雪碧(郑州太古可口可乐饮料有限公司); 可乐、统一冰红茶(郑州顶津食品有限公司); 龙井绿茶(新乡娃哈哈方便食品有限公司)。

2.2 色谱条件

色谱柱: EclipseXDB-C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5μm, 美国热电菲尼根公司); 流动相: 甲醇: 0.02mol/L 乙酸铵溶液(pH 6.0, 30:70, V/V); 流速: 0.7mL/min; 柱温: 25℃; 紫外检测波长: 230nm; 进样量: 20μL。

2.3 混合标准溶液的制备

用电子分析天平分别准确称取苯甲酸钠、山梨酸钾、糖精钠、安赛蜜各 0.1000g 于 50mL 小烧杯中, 加水搅拌使溶解完全, 并用水定容至 100mL 容量瓶, 分别准确移取 4 种标准物质混合溶液各 125、250、500、1000、1500μL, 转入 5 个不同的 25mL 容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 即配成浓度分别为 5、10、20、40、60μg/mL 4 种标准物质混合溶液。

2.4 样品溶液的制备

汽水(雪碧、可乐)样品溶液: 分别准确称取 10.00g 雪碧和可乐样品, 放入两个不同的 50mL 烧杯中, 微温搅拌除去二氧化碳, 用氨水(1+1)调节 pH 约 7.0, 超声波震荡脱气 15min, 再转移至两个不同的 50mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 经 0.45μm 滤膜过滤, 待用。

统一鲜橙多、康师傅橙汁饮品、统一冰红茶、龙井绿茶样品溶液: 分别准确称取 10.00g 不同品牌的饮料样品, 用氨水(1+1)调节 pH 约 7.0, 超声波震荡脱气 15min, 分别用水定容至 50mL 容量瓶中, 上清液经 0.45μm 滤膜过滤, 待用。

3 结果与讨论

3.1 色谱条件的选择

3.1.1 检测器及检测波长的确定

由于安赛蜜、苯甲酸钠、糖精钠、山梨酸钾均有紫外吸收, 因此选用紫外-可见检测器检测, 4 种物质的紫外吸收波长分别为: 安赛蜜 230nm, 糖精钠 223nm 和 268nm, 苯甲酸钠 226nm 和 263nm, 山梨酸钾 254nm; 选择 230nm 时安赛蜜、苯甲酸钠、山梨酸钾、糖精钠 4 种物质测定灵敏度接近。故选定紫外检测波长为 230nm。

3.1.2 缓冲液浓度及 pH 的选择

实验发现流动相中加入少量的乙酸铵可以改善峰形, 减轻或消除峰拖尾现象。分别用 pH 值为 4.0、5.0、6.0、7.0 的 0.02mol/L 乙酸铵溶液与甲醇在流速为 0.7mL/min, 柱温 25℃ 条件下进行实验, 结果显示, 流动相的 pH 值对苯甲酸钠、山梨酸钾的出峰时间影响较大, 对糖精钠、安赛蜜的出峰时间影响较小。其中 pH=6.0 时, 各峰分离较好, 基线漂移较小。故实验选择 pH=6.0。

3.1.3 流动相配比的选择

实验中选用流动相体系为纯甲醇与乙酸铵溶液(0.02mol/L, pH=6.0), 流速为 0.7mL/min,

柱温 25℃, 进样量 20μL。分别对其体积比为 5 : 95、10 : 90、15 : 85、30 : 70、40 : 60、50 : 50 进行实验, 结果表明, 在体积比 30 : 70 的比例下, 分离时间最短, 而且分离效果最好, 故本实验采用此流动相的最佳配比为 30 : 70。在此最佳条件下, 混合标准溶液的色谱图如图 1 所示。

3. 1. 4 流速的选择

流速的大小直接影响柱效及系统的压力、各组分分离效果、洗脱时间, 在流动相固定之后, 应选择最佳分离度和最短分析时间的流速。在其他最佳条件下, 流速分别以 0. 5、0. 6、0. 7、0. 8mL/min 进行实验, 结果表明, 随着流速的增大, 各组分的保留时间提前, 分析效率提高。然而, 流速过大, 系统的压力太高, 容易冲塌色谱柱。当流速为 0. 7mL/min 时, 各组分保留时间相当而且都达到了基线分离, 分离效果最好, 分析时间最短。为此, 本实验选择最佳流速为 0. 7mL/min。不同流速与保留时间及分离度的关系如表 1 所示。

表 1 不同流速与保留时间及分离度关系

流速 (mL/min)	保留时间(min)				分离度(mL/min)		
	t_1	t_2	t_3	t_4	R_1	R_2	R_3
0. 5	7. 72	9. 14	10. 02	11. 43	4. 1	4. 7	4. 2
0. 6	5. 25	6. 85	9. 25	10. 74	3. 8	4. 5	4. 3
0. 7	4. 67	5. 67	6. 53	6. 92	3. 5	3. 7	4. 2
0. 8	3. 3	4. 21	5. 43	6. 11	3. 2	3. 5	3. 1

注: t_1 、 t_2 、 t_3 、 t_4 分别表示安赛蜜、糖精钠、苯甲酸钠、山梨酸钾的保留时间。 R_1 ——糖精钠对安赛蜜的分离程度; R_2 ——苯甲酸钠对糖精钠的分离程度; R_3 ——山梨酸钾对苯甲酸钠的分离程度。

3. 1. 5 柱温的选择

柱温从 20℃开始上升, 每隔 2. 5℃测定一次安赛蜜、苯甲酸钠、山梨酸钾、糖精钠标准溶液的保留时间和峰面积, 结果发现 4 种物质的保留时间随着温度的升高而减少, 从 25—30℃安赛蜜、苯甲酸钠、山梨酸钾和糖精钠的峰形及对称性随着温度的升高而变差, 但温度变化对峰面积影响不大, 25℃时对于保留时间和峰形是最佳温度, 4 种混标在 10min 内全部分离, 故选择 25℃作为最佳分离温度。

3. 2 校准曲线的绘制

将配制的混合标准系列溶液 5、10、20、40、60μg/mL, 在最佳色谱条件下进样测定, 以浓度(μg/mL) 为横坐标, 峰面积 A 为纵坐标绘制校准曲线, 结果表明线性良好, 校准曲线回归方程、线性相关系数如表 2 所示。

表 2 4 种混合标准溶液校准曲线回归方程、线性相关系数

化合物	回归方程	相关系数
安赛蜜	$y= 48. 0399+ 22. 0029x$	$r= 0. 9992$
糖精钠	$y= 22. 5966+ 16. 7572x$	$r= 0. 9998$
苯甲酸钠	$y= 16. 7224+ 17. 3968x$	$r= 0. 9990$
山梨酸钾	$y= 20. 3987+ 76. 0119x$	$r= 0. 9994$

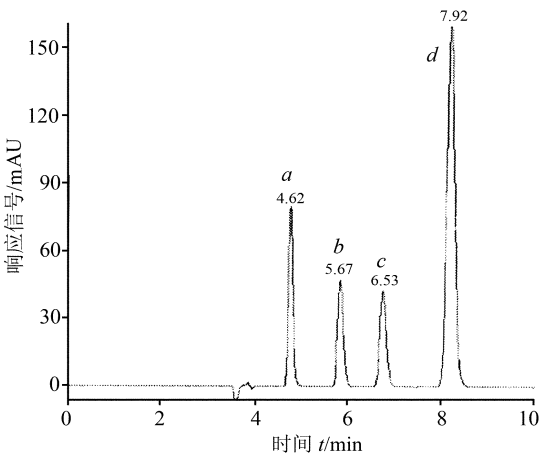


图 1 混合标准溶液色谱图

a——安赛蜜;b——糖精钠
c——苯甲酸钠;d——山梨酸钾。

3.3 样品的测定及雪碧样品色谱图

采用本方法对橙汁、可乐、碳酸饮料等多种液体样品进行测定, 结果发现, 多数样品中含有糖精钠, 仅部分样品中含有安赛蜜、苯甲酸钠、山梨酸钾, 结果见表 3。图 2 为一瓶装雪碧样品经用水稀释 5 倍后测定的色谱图, 从中检出含有糖精钠和苯甲酸钠, 结果令人满意。

表 3 样品的测定结果					(<i>n</i> = 6, g/ kg)
样品	安赛蜜	糖精钠	苯甲酸钠	山梨酸钾	
统一鲜橙多	未检出	0. 0225	未检出	未检出	
康师傅橙汁	未检出	0. 022	未检出	未检出	
统一冰红茶	未检出	0. 036	未检出	未检出	
龙井绿茶	0. 026	未检出	未检出	0. 017	
瓶装雪碧	未检出	0. 036	0. 13805	未检出	
瓶装可乐	未检出	未检出	未检出	未检出	

3.4 回收率和精密度测定

向已知浓度的雪碧样品中按质量百分比加入一定量的标准样品溶液, 进行测定, 计算测定结果的回收率, 如表 4 所示。

4 结论

本文建立了饮料中苯甲酸钠、山梨酸钾、糖精钠、安赛蜜 HPLC 同时检测的方法, 方法简单、灵敏度高, 定性、定量准确, 应用反相高效液相色谱技术测定实际饮料样品中这 4 种添加剂的含量, 得到了满意的实验结果, 线性关系及精密度良好。在 6 种市售饮料中尚未发现有明显的超标物质。本法完全可以满足同时测定不同饮料中安赛蜜、糖精钠甜味剂和苯甲酸钠、山梨酸钾防腐剂的需要。

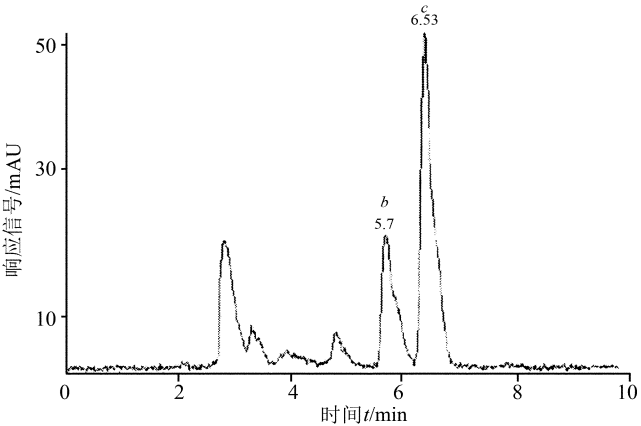


图 2 雪碧样品色谱图
b——糖精钠; *c*——苯甲酸钠。

表 4 雪碧样品回收率和精密度的实验结果						(<i>n</i> = 6)
测定物质	本底值 (g/ kg)	加标量 (g/ kg)	测定值 (g/ kg)	回收率 (%)	RSD (%)	
安赛蜜	0. 00000	0. 05000	0. 05300	106. 00	1. 58	
糖精钠	0. 03600	0. 05000	0. 09061	109. 22	1. 25	
苯甲酸钠	0. 13805	0. 05000	0. 18929	102. 48	1. 15	
山梨酸钾	0. 00000	0. 05000	0. 04920	98. 40	1. 18	

参考文献

[1] 林娜, 赵涛, 张兆辉. 超声萃取-高效液相色谱法同时测定进出口食品中常见 6 种防腐剂[J]. 食品科学, 2009, 30(12): 198—201.

[2] 鲁琳, 杭义萍, 高燕红. 高效液相色谱法快速检测乳饮料中常用甜味剂[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 166—168.

[3] 汪辉, 曹小彦, 陈利国等. 高效液相色谱法同时测定蜜饯中 5 种常见食品添加剂[J]. 分析试验室, 2007, 26(11): 119—122.

[4] 盛旋, 陈昌骏, 丁振华等. 固相萃取-液相色谱/质谱法同时测定食品中磺胺类人工合成甜味剂[J]. 分析试验室, 2006, 25(7): 75—78.

[5] 吴运军, 宗清文, 吴勇勇. 薄层色谱法快速测定饮料中的几种添加剂[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(4): 326.

© 1994-2011 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.c

- [6] 庞楠楠, 迪丽努尔·马力克, 牛蓓等. 快速气相色谱法测定食品中的常见防腐剂[J]. 分析试验室, 2005, **24**(3): 48—52.
- [7] 赵荣华, 李记明, 梁冬梅. 葡萄酒中防腐剂检测前处理方法的改进[J]. 食品科学, 2009, **30**(10): 185—187.
- [8] 稽超, 孙艳艳, 李秀琴等. 饮料中 4 种人工合成甜味剂同时测定的超高效液相色谱快速检测方法[J]. 色谱, 2009, **27**(1): 111—113.

Simultaneous Determination of Preservatives and Sweeteners in Drinks by HPLC

YANG Li YAN Qing-Hua^a WANG Xin-Sheng^b

(Experimental Center of Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

^a(Department of Life Science and Technology, Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

^b(Xinke College, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003, P. R. China)

Abstract A method for the simultaneous determination of preservatives and sweeteners in drinks by high performance liquid chromatography was described. The experiments were carried out by EclipseXDB-C₁₈ (4.6mm × 250mm, 5μm) with methanol-0.02mol/L NH₄Ac (30 : 70, V/V, pH= 6.0) as mobile phase at a flow rate 0.7mL/min and column temperature of 25°C. The UV detection wavelength was fixed at 230nm. The result indicated that the correlation coefficient of all subjects was between 0.9990 and 0.9998, the recovery was 98.40%—109.22%. The method is easy, sensitive, quick, reliable, repeatable and suitable for quality test.

Key words HPLC; Drinks; Sweeteners; Preservatives

1980多种核心
期刊从12400
多种中文期刊
中脱颖而出

北京高校图书馆期刊工作研究会最新评选结果汇编
北京大学图书馆馆长朱强等主编
北京大学出版社出版

各学科5500多
位专家参加了
审查工作, 评议
指标高达80种

中文核心期刊要目总览》(2008)

化学/晶体学类核心期刊一览表

序号	刊名	序号	刊名	序号	刊名
1	高等学校化学学报	10	分析测试学报	19	化学试剂
2	分析化学	11	化学通报	20	功能高分子学报
3	化学学报	12	分子科学学报	21	光谱实验室
4	催化学报	13	分析科学学报	22	合成化学
5	无机化学学报	14	中国科学(B辑), 化学	23	人工晶体学报
6	物理化学学报	15	化学进展	24	影像科学与光化学
7	有机化学	16	理化检验(化学分册)	25	计算机与应用化学
8	分析试验室	17	分子催化	26	核化学与放射化学
9	色谱	18	化学研究与应用		