

超高效液相色谱快速测定饮料中的 16种食品添加剂

王骏, 胡梅, 张卉, 张喜琦, 祝建华

(山东省产品质量监督检验研究院, 国家加工食品质量监督检验中心(山东), 山东 济南 250100)

摘要: 建立快速测定饮料中16种食品添加剂的分析方法。样品中的食品添加剂用甲醇-水提取, 在ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ 色谱柱上分离, 用二极管阵列检测器检测。结果表明, 16种食品添加剂在5.5min内可获得良好的分离, 各组分检出限均优于1.0mg/kg, 加标回收率为91.6%~100.3%, RSD为0.66%~2.20%, 表明该方法精密度良好。

关键词: 超高效液相色谱; 饮料; 食品添加剂; 测定

Rapid Determination of Sixteen Kinds of Food Additives in Beverages by Ultra Performance Liquid Chromatography

WANG Jun, HU Mei, ZHANG Hui, ZHANG Xi-qi, ZHU Jian-hua

(Shandong Supervision and Inspection Institute for Product Quality, National Centre for Quality Supervision and Testing of Processed Food (Shandong), Jinan 250100, China)

Abstract: An ultra performance liquid chromatographic (UPLC) method was presented for the rapid determination of 16 kinds of food additives in beverages. The method was based on extraction with methanol mixed with water, separation on an ACQUITY UPLC[®] BEH C₁₈ column and detection with diode-array detector. All the sixteen kinds of food additives were well separated within 5.5 minutes. The limits of detection for them were more than 1.0 mg/kg, and the recoveries at three spike levels were 91.6% - 100.3%, RSD was 0.66% — 2.20%.

Key words: ultra performance liquid chromatography (UPLC); beverage; food additives; determination

中图分类号: TS202.3; O657.72

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)02-0195-04

随着食品工业的快速发展, 食品添加剂品种不断增加。目前全世界应用的食物添加剂品种已多达25000余种, 我国2007年发布的GB 2760《食品添加剂使用卫生标准》中, 允许使用的22类食品添加剂近2000种。现代食品加工中, 一种食品往往同时使用多种食品添加剂, 典型的如饮料中可能使用防腐剂、甜味剂、合成色素、咖啡因等添加剂, 给食品安全监管工作带来了很大的困难。如按照现行标准^[1-5]的方法进行检测, 必须要用不同的方法对样品进行多次处理, 分别检测不同的添加剂残留量, 不仅费时费力, 而且对于未明确标识的添加剂可能无法进行检测。近几年来, 国内从事食品检测的研究人员对多种食品添加剂的快速同时测定技术进行了一定的研究^[6-9], 目前报道的文献中, 最多可以对12种食品添加剂进行同时测定。本实验应用超高效液相色谱技术, 研究饮料中16种食品添加剂的快速测

定方法, 可用于各类饮料中食品添加剂的快速筛查, 为食品添加剂的安全使用和监管提供技术支撑。

1 材料与试剂

1.1 材料与试剂

碳酸饮料、含乳饮料(各5批次) 市售。

苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、糖精钠、乙酰磺胺酸钾、柠檬黄、日落黄、胭脂红、苋菜红、诱惑红、亮蓝和咖啡因标准储备溶液(质量浓度均为1mg/mL) 国家标准物质中心; 乙腈、甲醇(均为色谱纯) 美国Fisher公司; 乙酸铵(分析纯) 国药集团(上海)化学试剂公司; 超纯水 美国Mili-Q纯水系统制; 微孔滤膜(有机相, 0.2 μm)。

1.2 仪器与设备

收稿日期: 2009-03-13

作者简介: 王骏(1972—), 男, 高级工程师, 学士, 主要从事食品及食品添加剂检测研究。E-mail: sdzjywj@163.com

ACQUITY UPLC[®]型超高效液相色谱仪(配有二极管阵列检测器及 Empower 2 色谱数据处理系统) 美国 Waters 公司; XH-C 型涡旋混合器 江苏金坛市医疗仪器厂; 3-18K 型高速离心机(最高转速 10000r/min) 德国 Sigma 公司。

1.3 标准溶液的制备

将各食品添加剂标准储备液配制成质量浓度均为 50 μg/mL 的混合标准储备溶液, 此溶液于 4 °C 冰箱中可储存 1 个月。将混合标准储备溶液用甲醇-水(1:9, V/V) 依次稀释成 0.1、1.0、5.0、10.0、25.0、50.0 μg/mL 的系列标准溶液, 使用前配制。

1.4 试样的处理

称取 1.0g 碳酸饮料或含乳饮料试样于 10mL 容量瓶中, 加入 1mL 甲醇, 混匀, 用超纯水定容至刻度, 摇匀、涡旋混合 2min。移取 5mL 于 10mL 离心管中, 10000r/min 离心 5min, 取上清液经微孔滤膜过滤后备用。

1.5 超高效液相色谱操作条件

色谱柱: ACQUITY UPLC[®]BEH C₁₈ 柱(50mm × 2.1mm, 1.7 μm); 流动相: 甲醇(A)、20mmol/L 乙酸铵溶液(B), 流动相梯度见表 1; 流速: 0.6mL/min; 柱温: 50 °C; 进样体积: 5 μL。检测波长扫描范围: 200 ~ 500nm。

表 1 流动相梯度洗脱程序

Table 1 Mobile phase composition for linear gradient elution

时间/min	体积分数配比/%		梯度曲线
	A	B	
0.00	1	99	
1.50	2	98	线性
3.00	30	70	线性
5.00	60	40	线性
6.50	80	20	线性
6.60	1	99	线性
8.00	1	99	线性

1.6 测定步骤

表 2 16 种食品添加剂保留时间和定量检测波长

Table 2 Retention time and quantitative wavelengths of 16 kinds of food additives

序号	添加剂名称	保留时间/min	检测波长/nm
1	安赛蜜	0.550	230
2	苯甲酸	0.685	230
3	柠檬黄	0.872	410
4	山梨酸	1.045	230
5	糖精钠	1.148	230
6	脱氢乙酸	1.413	230
7	胭脂红	1.757	410
8	苋菜红	2.779	410
9	咖啡因	2.836	230
10	日落黄	2.914	410
11	诱惑红	3.299	410
12	对羟基苯甲酸甲酯	3.518	256
13	对羟基苯甲酸乙酯	4.157	256
14	亮蓝	4.254	410
15	对羟基苯甲酸丙酯	4.721	256
16	对羟基苯甲酸丁酯	5.199	256

将标准工作溶液按照浓度由低到高的顺序进样测定, 按照表 2 中各组分定量检测波长提取对应的色谱图(图 1), 以各色谱图中对应组分的峰面积对其质量浓度绘制标准曲线。试样溶液进样后, 以各组分在对应检测波长色谱图中的保留时间和相应的光谱图定性, 峰面积定量。

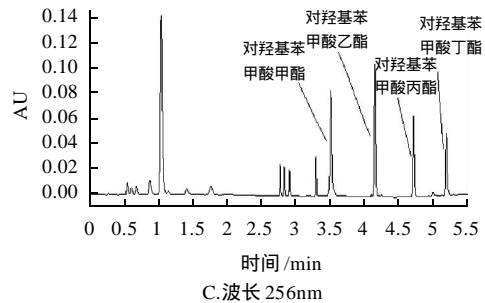
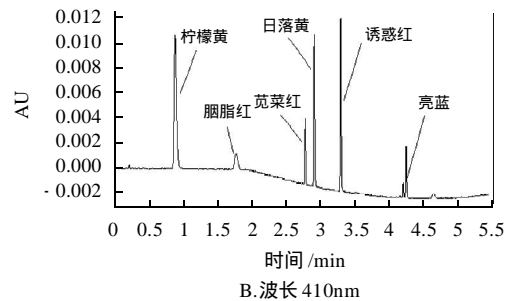
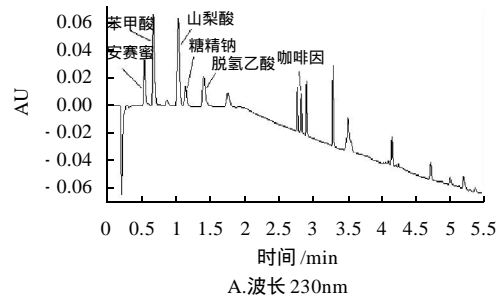


图 1 16 种食品添加剂色谱图

Fig.1 Chromatograms of 16 kinds of food additives detected at 230, 410 nm and 256 nm wavelength, respectively

2 结果与分析

2.1 色谱分离条件的选择

为实现多种食品添加剂的快速分析, 选择粒径 1.7 μm 的 BEH C₁₈ 填料的色谱柱为分离柱, 考虑到多种添加剂均为酸性结构, 故采用 20mmol/L 乙酸铵溶液-甲醇体系为流动相, 采用梯度洗脱的方式进行分离。经优化分离条件后所有 16 种食品添加剂在 5.5min 内均可良好分离, 一次进样仅需 8min 即可完成。

2.2 检测波长的选择

各组分经液相色谱分离, 二极管阵列检测器扫描检测, 取得各组分紫外光谱图, 根据各组分紫外吸收情

况, 确定在 230nm 波长处检测苯甲酸、山梨酸、糖精钠、安赛蜜、脱氢乙酸和咖啡因, 在 410nm 波长处检测柠檬黄、日落黄、胭脂红、诱惑红、苋菜红、亮蓝, 在 256nm 波长处检测对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯。

2.3 样品提取方法的确定

饮料中添加的食品添加剂多为水溶性, 4 种对羟基苯甲酸酯类防腐剂具有一定的脂溶性, 但多以钠盐的形式使用和存在。在提取时加入体积分数 10% 的甲醇, 可促进对羟基苯甲酸酯类的提取, 且有一定的沉淀蛋白质的作用, 经高速离心后, 即使是含乳饮料也可获得澄清的上清液, 过 0.22 μm 样品过滤器后进样测定, 不会造成色谱柱堵塞。

2.4 回收率实验

在一个不含任何食品添加剂的样品中, 分别添加各组分为 5、10、20mg/kg 的食品添加剂标样。按照标准规定的方法测定, 结果见表 3, 加标回收率在 91.6% ~ 100.3% 之间。

表 3 回收率测定实验结果($n = 3$)

Table 3 Recoveries for 16 kinds of food additives in a blank beverage sample spiked at three levels ($n = 3$)

添加剂名称	加标量/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	回收率/%
安赛蜜	5	4.91	98.0
	10	9.86	98.6
	20	19.59	98.0
苯甲酸	5	4.95	99.0
	10	9.93	100.3
	20	19.77	98.8
柠檬黄	5	4.92	98.4
	10	9.79	97.9
	20	19.48	97.4
山梨酸	5	4.94	98.8
	10	9.81	98.1
	20	19.74	98.7
糖精钠	5	4.85	97.0
	10	9.71	97.1
	20	19.57	97.8
脱氢乙酸	5	4.79	95.8
	10	9.67	96.7
	20	19.35	96.8
胭脂红	5	4.94	98.8
	10	9.90	99.0
	20	19.82	99.1
苋菜红	5	4.90	98.0
	10	9.85	98.5
	20	19.66	98.3
咖啡因	5	4.82	96.4
	10	9.68	96.8
	20	19.48	97.4
日落黄	5	4.84	96.8
	10	9.79	97.9
	20	19.36	96.8

续表 3

添加剂名称	加标量/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	回收率/%
诱惑红	5	4.78	95.6
	10	9.58	95.8
	20	19.22	96.1
对羟基苯甲酸甲酯	5	4.72	94.4
	10	9.44	94.4
	20	19.02	95.1
对羟基苯甲酸乙酯	5	4.58	91.6
	10	9.34	93.4
	20	18.90	94.5
亮蓝	5	4.66	93.2
	10	9.56	95.6
	20	19.12	95.6
对羟基苯甲酸丙酯	5	4.71	94.2
	10	9.42	94.2
	20	19.14	95.7
对羟基苯甲酸丁酯	5	4.70	94.0
	10	9.45	94.5
	20	19.11	95.6

2.5 精密度实验

对加标 10mg/kg 的样品平行测定 5 次, 结果见表 4。RSD 为 0.66% ~ 2.20%, 表明该方法精密度良好。

表 4 精密度实验结果

Table 4 Results of precision test for the method

添加剂名称	测定值/(mg/kg)					测定平均值/(mg/mL)	RSD/%
	1	2	3	4	5		
安赛蜜	10.32	10.19	10.22	10.29	10.35	10.274	0.66
苯甲酸	9.71	10.02	9.89	9.94	10.07	9.926	1.40
柠檬黄	9.55	10.01	9.69	9.78	9.94	9.794	1.90
山梨酸	10.09	9.98	9.64	9.59	9.77	9.814	2.20
糖精钠	9.92	9.88	9.69	9.57	9.49	9.71	1.94
脱氢乙酸	9.88	10.12	9.93	10.07	9.85	9.97	1.19
胭脂红	10.21	9.94	9.88	9.83	9.72	9.916	1.85
苋菜红	10.15	10.25	10.19	10.33	10.27	10.238	0.69
咖啡因	9.92	9.49	9.81	9.54	9.67	9.686	1.86
日落黄	10.25	10.06	9.98	10.18	10.01	10.096	1.14
诱惑红	9.71	9.58	9.66	9.45	9.39	9.558	1.42
对羟基苯甲酸甲酯	9.33	9.29	9.51	9.17	9.42	9.344	1.38
对羟基苯甲酸乙酯	9.82	9.67	9.55	9.43	9.73	9.64	1.59
亮蓝	9.09	9.15	9.34	9.22	9.08	9.176	1.17
对羟基苯甲酸丙酯	9.68	9.55	9.74	9.91	9.38	9.652	2.07
对羟基苯甲酸丁酯	9.52	9.71	9.41	9.36	9.27	9.454	1.79

2.6 线性范围和检出限

将质量浓度分别为 0.1、1.0、5.0、10.0、25.0、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 混合标准溶液进样分析, 按照各组份检测条件测定峰面积, 以峰面积对相应质量浓度($\mu\text{g/mL}$)进行线性回归, 各组份回归方程相关系数均优于 0.999, 表明 0.1 ~ 50.0 $\mu\text{g/mL}$ 范围内, 各组份线性关系良好。当空白样品中添加各食品添加剂均为 1.0mg/kg 时, 各组份色谱峰的信噪比均大于 20。由于通常饮料中使用的食品添加剂含量不可能很低, 低含量起不到预期的防腐、增

色、增味的效果，所以本方法没有去探讨如何获得更低的检出限，确定各组分 1.0mg/kg 的检出限已经可以充分满足各类检验需求。

3 结 论

本实验所建立的超高效液相色谱测定饮料中 16 种食品添加剂的方法，具有分离效果好、定量准确，测定通量高的优点，可以用于同时测定饮料中的多种食品添加剂，也可用于未知样品中所含食品添加剂的快速筛查。

参考文献：

- [1] GB/T 5009.28—2003 食品中糖精钠的测定[S].
- [2] GB/T 5009.29—2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S].
- [3] GB/T 5009.35—2003 食品中合成着色剂的测定[S].
- [4] GB/T 5009.139—2003 饮料中咖啡因的测定[S].
- [5] GB/T 5009.140—2003 饮料中乙酰磺胺酸钾的测定[S].
- [6] 贾玉珠, 骆和东, 林健. HPLC 法同时测定饮料中 5 种添加剂的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(4): 448-449.
- [7] 陈翊, 张丽, 张心会. HPLC 法同时快速测定饮料中 12 种添加剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(9): 1759-1760.
- [8] 黄百芬, 张文娟, 沈向红. 高效液相色谱法同时测定酱油或饮料中的 8 种防腐剂和 3 种甜味剂[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(10): 1208-1212.
- [9] 张秀尧. 反相高效液相色谱法同时快速测定食品中常见的 8 种食品添加剂[J]. 色谱, 2000, 18(6): 539-542.