



# HPLC法检测乳制品中2种甜味剂和3种防腐剂

赵贞, 万鹏, 李翠枝, 邵建波, 岳虹, 李素琴

(内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 呼和浩特 010010)

**摘要:**建立了乳制品中的安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸同时检测的高效液相色谱分析方法。样品经沉淀剂沉淀蛋白, 过滤后, 使用C18反相色谱柱分离, 以甲醇-乙酸铵水溶液为流动相, 梯度洗脱, 紫外检测器检测, 检测波长230 nm下5种物质在30 min之内完全分离。在选定的条件下相关系数均大于0.9980, 线性范围1~100 mg/kg, 回收率为80.0%~107.7%。本方法用于乳制品中以上五种物质的测定, 具有快速、简单、准确的优点。

**关键词:**液相色谱法; 甜味剂; 防腐剂; 乳制品

**中图分类号:** TS252.7

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-2230(2014)02-0058-02

## Detected of 2 kinds of sweetener and 3 kinds of antiseptics in dairy products by HPLC

ZHAO Zhen, WAN Peng, LI Cui-zhi, SHAO Jian-bo, YUE Hong, LI Su-qin

(Inner Mongolia Yili Industrial Group Co.Ltd., Hohhot 010010, China)

**Abstract:** A method for detecting of acesulfame-K, saccharin sodium, benzoic acid, sorbic acid and dehydroacetic acid in dairy products by HPLC is described. The sample was deproteinated and filtered, then separated on a Thermo C18 column with the flow phase (Methanol - ammonium acetate solution), and detected by the absorbance at 230 nm. Five kinds of substances completely separated within 30 min. The correlation coefficients ( $r^2$ ) all above 0.9980 in the selected condition, the linear range is 1 ~ 100 mg/kg, and the recovery rate is 80.0% ~ 107.7%. The method is rapidly, simply, and reliably.

**Key words:** HPLC; sweetener; antiseptics; dairy products

## 0 引言

苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸是常用的食品防腐剂, 由于其既能抑制多种微生物繁殖, 又具有良好的杀菌作用, 被广泛应用于罐头、果酱、汽水、乳制品和肉制品中<sup>[1-6]</sup>。糖精钠和安赛蜜为人工合成甜味剂, 由于低热量和高甜度等优点, 被广泛用于干果、糕点、饮料和雪糕等食品中。据研究报告每日摄取少量的防腐剂和甜味剂对人体没有危害, 但是过量时却会对人体的脏器造成危害, 甚至有得癌症的隐患, 特别是对老人、孕妇、小孩危害更为严重<sup>[7-12]</sup>。因此国内外对防腐剂和甜味剂的最大使用量有严格的规定, 我国也出台了相应的检测标准<sup>[13-16]</sup>, 但不能同时检测以上5种物质, 如果全部检测耗时、费力。为了方便乳制品中防腐剂和甜味剂日常监测, 本文建立了同时测定以上5种物质的检测方法, 该方法快速、操作简单、成本低、重复性

好, 满足对乳制品中多种甜味剂和防腐剂同时监测的要求。

## 1 实验

### 1.1 材料

甲醇(色谱纯); 乙酸胺(色谱纯); 乙酸铅(优级纯); 草酸钾(优级纯); 磷酸氢二钠(优级纯); 氢氧化钠(优级纯); 碳酸氢钠(优级纯)。安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸标准品。

### 1.2 仪器与设备

液相色谱仪(Agilent 1260)带紫外检测器, 分析天平, 振荡器。

### 1.3 溶液的配制

安赛蜜标准储备溶液: 准确称取0.1000 g安赛蜜, 用水溶解并定容100 mL容量瓶中, 配制成安赛蜜质量浓度为1 g/L的储备溶液。

糖精钠标准储备溶液: 准确称取0.0851 g经120 °C烘干4 h后的糖精钠, 加水溶解并定容100 mL容量瓶中, 配制成糖精钠含量1 g/L的储备溶液。

**收稿日期:** 2013-06-08

**作者简介:** 赵贞(1983-), 女, 工程师, 从事乳品检测工作。

**通讯作者:** 李翠枝

苯甲酸和山梨酸标准储备溶液:准确称取标准物质各0.1000 g,加5 mL碳酸氢钠溶液(20 g/L),加热溶解,加水定容100 mL容量瓶中,配制成苯甲酸和山梨酸质量浓度分别为1 g/L的储备溶液。

脱氢乙酸标准储备液:准确称取0.1000 g脱氢乙酸标准品,用10 mL质量浓度为20g/L的氢氧化钠溶液溶解,用水定容100 mL容量瓶中,配制成脱氢乙酸质量浓度为1 g/L的储备溶液。

乙酸铅溶液:称取乙酸铅200 g,溶解于1 000 mL水中。

草酸钾—磷酸氢二钠溶液:称取草酸钾30 g,磷酸氢二钠70 g,溶解于1 000 mL水中。

#### 1.4 色谱条件

测定波长:230 nm; 色谱柱为Welch AQ-C18 (250 mm×4.6 mm,5 μm);流速为1.0 mL/min;进样量:20 uL;柱温为25 °C;流动相:A为甲醇,B为乙酸胺水溶液(浓度为0.02 mol/L),A在0~20 in质量分数由15%变为45%,20.01 min变为15%,20.01~30 min保持15%。

#### 1.5 样品处理

液态奶、酸奶和冷饮样品:称取15 g样品于50 mL容量瓶中,加乙酸铅和草酸钾磷酸氢二钠溶液各4 mL,加水定容,振荡混匀,静止数分钟,用干燥滤纸过滤,再经滤膜(0.45 μm)过滤,上机。

乳饮料样品:称取15 g样品于50 mL容量瓶中,加乙酸铅和草酸钾磷酸氢二钠溶液各10 mL,加水定容,振荡混匀,静止数分钟,用干燥滤纸过滤,再经滤膜(0.45 μm)过滤,上机。

#### 1.6 结果计算

$$X = \frac{C \times V}{m}$$

式中:X为试样中被测物质的质量分数(μg/g);C为由标准曲线得到样品溶液中被测物质质量浓度(mg/L);V为样品溶液定容体积(mL);m为称取样品的质量(g)。

## 2 结果分析

### 2.1 标准曲线及谱图

安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸标准工作液:将标准储备液用水依次稀释成质量浓度为1.0, 2.0,5.0,8.0,10.0 mg/L的系列标准工作溶液,溶液经0.45 μm滤膜过滤,上机测定。

图1为甜味剂和防腐剂混合标准品的色谱。由图1可以看出,5种物质完全分离,保留时间分别为:5.701,8.128,15.847,19.930,20.951 min。

图2为牛奶样品加入5种混标的色谱。由图2可以看出,5种物质与杂质峰完全分离,无干扰,可准确定性、定量检测。

甜味剂和防腐剂标准曲线和线性关系如表1所示。由表1可以看出,5种物质浓度和峰面积呈线性关系,相关系数均大于0.9980。

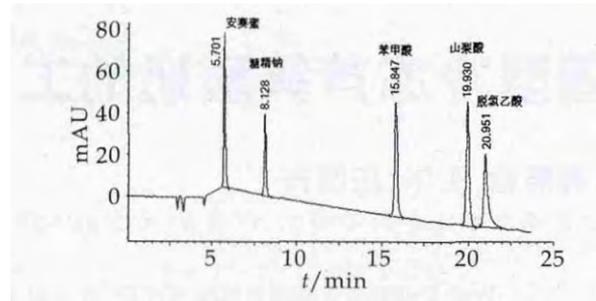


图1 甜味剂和防腐剂混合标准溶液HPLC色谱

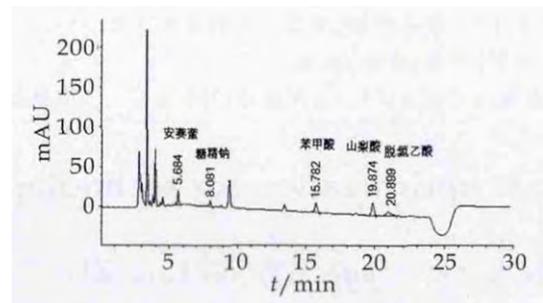


图2 牛奶中加入5种标品的HPLC色谱

表1 甜味剂和防腐剂线性关系

名称	线性回归方程	相关系数( <i>r</i> )
安赛蜜	$y=57.05x+5.444$	0.9980
糖精钠	$y=42.96x-0.117$	1
苯甲酸	$y=78.12x-0.002$	1
山梨酸	$y=89.76x-2.442$	0.9990
脱氢乙酸	$y=78.61x-1.987$	0.9980

### 2.2 回收率和精密度实验

在液态奶、酸奶和冷饮的空白样品中加入不同浓度的甜味剂和防腐剂,平行测定3次,得出回收率结果如表2所示。

表2 液态奶、酸奶和冷饮中添加回收率结果

名称	添加量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	纯牛奶		味浓酸奶		火炬冰淇淋	
		回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%	回收率 /%	RSD /%
安赛蜜	1	92.0	4.86	99.5	2.26	104.8	4.16
	5	104.3	3.56	101.2	3.16	93.2	4.39
	10	104.1	6.37	107.7	5.70	99.7	5.81
糖精钠	1	99.5	3.40	91.9	3.26	92.5	5.89
	5	94.4	3.19	96.2	5.04	94.6	4.29
	10	99.4	2.96	93.7	4.80	98.8	3.58
苯甲酸	1	105.7	3.33	90.9	5.16	89.6	3.80
	5	98.0	2.21	94.6	5.69	98.4	4.57
	10	89.8	5.05	93.7	4.63	95.9	4.74
山梨酸	1	93.6	4.64	94.2	5.57	94.3	3.84
	5	96.4	2.55	98.5	4.33	99.0	3.24
	10	100.7	2.81	95.8	4.14	97.4	5.10
脱氢乙酸	1	83.8	5.21	82.2	4.71	80.0	3.95
	5	85.4	4.84	85.0	3.17	91.2	5.52
	10	96.3	4.82	88.9	2.34	91.3	6.85

由表2可以看出,本方法测定不同乳制品中安赛蜜回收率为92.0%~117.7%,变异系数(下转第64页)

- [17] 闫寅卓,戴卿,王宏勋.芦笋功能性饮品的研制[J].食品科学,2008,29(11):745-747.
- [18] 孙春艳,赵伯涛,郁志芳,等.芦笋的化学成分及药理作用研究进展[J].中国野生植物资源,2004,23(5):1-5.
- [19] 张素华,夏艳秋.芦笋营养成分分析与加工品质改善的研究[J].食品工业科技,2002(6):16-18.
- [20] 卜春文.芦笋保健搅拌酸奶的研制[J].食品科技,2002(8):51-53.
- [21] 赵贵红.鲜芦笋汁凝固型酸奶的研制[J].中国酿造,2009(8):178-180.
- [22] 史经略,谭佩毅.芦笋保健酸奶的研制[J].广州食品工业科技,2004(4):84-86.
- [23] 文连奎,冯永巍,韩安军.速冻果蔬加工制品质量及其控制[J].农产品加工,2006(4):19-21.
- [24] 彭增起.畜产品加工实验指导[M].北京:中国农业出版社,2005:20-21.
- [25] 李晓东,开新强,谢俊杰.搅拌型枸杞酸奶的研制[J].食品工业,2005(1):34-35.
- [26] 郭宏伟,贾朝阳.酸奶的加工工艺[J].农产品加工,2003(5):29.
- [27] 戴光顺,贾建波,卜春文.富锌酸奶的研制[J].食品工业科技,2001(4):47-48.

(上接第54页)

- [7] CHENG L W, HUANG Y. Model-based Analysis of Oligonucleotide Arrays: Model Validation, Design Issues and Standard Error Application[J]. Genome Biology, 2001, 2(8): 3210-3211.
- [8] LINTON D, LAWSON A J. PCR Detection, Identification to Species Level, and Finger Printing of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples [J]. J. Clin Microbiol., 1997, 35(10): 2568-2572.
- [9] ANTHONY R M, BROWN T J, FRENCH G L. Rapid Diagnosis of Bacterium By universal amplification of 23S Ribosomal DNA Followed by Hybridization to a N oligonucleotide Array [J]. J. Clin Microbiol, 2000, 38(2): 781-788.
- [10] GB-T22286-2008 动物源性食品中多种 $\beta$ -受体激动剂残留量的测定 液相色谱串联质谱法[S].
- [11] GBT 22965-2008 牛奶和奶粉中12种 $\beta$ -兴奋剂残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- [12] GBT 22976-2008 牛奶和奶粉中 $\alpha$ -群勃龙、 $\beta$ -群勃龙、19-乙炔去甲睾酮和 $\text{epi-19-乙炔去甲睾酮}$ 残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- [13] GBT 21981-2008 动物源食品中激素多残留检测方法 液相色谱-质谱质谱法[S].

(上接第59页)

2.26%~6.37%;糖精钠回收率为91.9%~99.5%,变异系数2.96%~5.89%;苯甲酸回收率为89.8%~105.7%,变异系数2.21%~5.69%;山梨酸回收率为93.6%~100.7%,变异系数2.55%~5.57%;脱氢乙酸回收率为80.0%~96.3%,变异系数2.34%~6.85%;5种物质均可达到分析要求。

### 2.3 线性范围和检出限

本方法中安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸的定量检出限为1 mg/kg,线性范围1~100 mg/kg。

## 3 结论

在本方法的条件下,5种防腐剂和甜味剂与乳制品其他干扰杂质峰完全分离,可以准确定量检测,该方法操作简便、快速,回收率和重复性均符合要求,可以节约检测成本并提高检测效率,适合乳制品中防腐剂和甜味剂的日常监控。

### 参考文献:

- [1] 王燕,车振明.食品防腐剂研究进展[J].食品研究与开发,2005,26(5):167-169.
- [2] 林科.食品防腐剂的种类及其研究进展[J].广西轻工业,2009(10):9-11.
- [3] 黄艳娥,刘海波.食品防腐剂对人体健康的影响及发展趋势[J].化工中间体,2005(7):1-6.
- [4] 石立三,吴清平,吴慧清.我国食品防腐剂应用状况及未来发展趋势[J].食品研究与开发,2008,29(3):157-160.
- [5] 魏杰,郭志谋,章飞芳,等.高压液相色谱法快速测定饮料中的五种食品添加剂[J].中国安全质量检测学报,2013,4(2):395-400.
- [6] 郎娜. HPLC法测定腌菜中的2种防腐剂和2种甜味剂[J].食品研究与开发,2013,34(3):81-83.
- [7] 赵立达,郭晨阳,马建明.高效液相色谱法测定乳制品饮料中的2种防腐剂和3种甜味剂[J].中国卫生检验杂志,2008,18(6):1054-1055.
- [8] 闫福安.国内外合成甜味剂的发展现状及趋势[J].广州食品工业科技,2010,19(1):46-47.
- [9] 赵秀玲.食品甜味剂的概况及其检测方法[J].中国调味品,2009,34(6):24-29.
- [10] 鲁琳,杭义萍,高燕红.食品甜味剂分类及其检测技术现状[J].现代预防医学,2009,36(11):2033-2035.
- [11] 刘婷,吴道澄.食品中甜味剂的检测方法[J].中国调味品,2011,36(3):1-12.
- [12] 张卫民,齐化多.中国甜味剂现状[J].食品添加剂,2002,24(9):64-67.
- [13] GB/T 21703-2010 乳和乳制品中苯甲酸和山梨酸的测定[S].
- [14] GB/T 23495-2009 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定 高效液相色谱法[S].
- [15] GB/T 5009.140-2003 饮料中乙酰磺胺酸钾的测定[S].
- [16] GB/T 23377-2009 食品中脱氢乙酸的测定 高效液相色谱法[S].