

# 高效液相色谱法同时测定复合调味料中 2 种甜味剂和 3 种防腐剂

李 涛, 杨 伟\*, 邵 林, 赵海云, 刘泽弘

(大理州食品检验检测院, 大理 671000)

**摘 要:** **目的** 建立高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)同时测定复合调味料中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠 5 种食品添加剂的分析方法。**方法** 样品经超纯水提取, 取离心后的水相清液, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 色谱柱为  $\text{C}_{18}$  柱, 流动相为甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵, 柱温为 30  $^{\circ}\text{C}$ , 流速为 1.0 mL/min, 紫外检测器在 230 nm 检测, 高效液相色谱仪分析。**结果** 本方法 5 种组分在 0.5~50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  范围内具有良好的线性关系, 相关系数大于 0.99995, 加标回收率为 91.6%~110.5%, 相对标准偏差为 0.1%~4.0%。检出限在 0.0005~0.0018 g/kg 范围, 定量限在 0.0015~0.0059 g/kg 范围。**结论** 该方法操作简单, 结果准确, 适合复合调味料中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠的同时检测。

**关键词:** 高效液相色谱法; 甜味剂; 防腐剂; 复合调味料

## Simultaneous determination of 2 kinds of sweeteners and 3 kinds of preservatives in compound seasoning by high performance liquid chromatography

LI Tao, YANG Wei\*, SHAO Lin, ZHAO Hai-Yun, LIU Ze-Hong

(Dali Institute for Food Control, Dali 671000, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an analytical method for the simultaneous determination of 5 kinds of food additives (acesulfame potassium, benzoic acid, sorbic acid, dehydroacetic acid and saccharin sodium) in compound seasoning by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** Samples were extracted by water, and the aqueous solution after centrifugation was filtered through 0.22  $\mu\text{m}$  membrane. The chromatographic column was  $\text{C}_{18}$ , mobile phase was methanol-0.02 mol/L ammonium acetate, column temperature was 30  $^{\circ}\text{C}$ , and flow rate was 1.0 mL/min. The sample was detected by UV-detector at 230 nm and analyzed by HPLC. **Results** The concentration and response of each component showed a good linear relationship in the range of 0.5–50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  with correlation higher than 0.99995. The average recoveries and relative standard deviations (RSDs) were in the range of 91.6%–110.5% and 0.1%–4.0%, respectively. The limits of detection and the limits of quantitative were in the range of 0.0005–0.0018 g/kg and 0.0015–0.0059 g/kg, respectively. **Conclusion** This method is simple, accurate, which is suitable for determination of 5 kinds of food additives in compound seasoning.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography; sweeteners; preservatives; compound seasoning

\*通讯作者: 杨伟, 工程师, 主要研究方向为食品安全分析与检测研究。E-mail: 1621776759@qq.com

\*Corresponding author: YANG Wei, Engineer, Dali Institute for Food Control, East Longshan Road, Dali Economic Development Zone, Dali 671000, China. E-mail: 1621776759@qq.com

## 1 引言

复合调味料是用 2 种或 2 种以上的调味品配制, 经特殊加工而成的调味料<sup>[1]</sup>, 如烧烤酱、蒸肉粉、鸡精调味料等。随着经济社会的发展, 人们越来越追求菜肴的不同口味和特色。通过使用复合调味料, 人们很容易做出不同口感和风味的菜肴, 复合调味料已成为生活中必不可少的调味品。出于改善色、香、味和延长保质期的目的, 大多数复合调味料中会添加一种或几种合成甜味剂(安赛蜜、糖精钠)和防腐剂(苯甲酸钠、山梨酸钾和脱氢乙酸)。过量摄入甜味剂和防腐剂会损害人体健康<sup>[2,3]</sup>, 特别是对老人、孕妇和小孩危害更为严重<sup>[4]</sup>。因此分析复合调味料中甜味剂和防腐剂对其质量控制和保障人体健康具有重要意义。

目前, 食品中甜味剂和防腐剂的检测方法有高效液相色谱法<sup>[4-7]</sup>、气相色谱法<sup>[8,9]</sup>、离子色谱法<sup>[10,11]</sup>、毛细管电泳法<sup>[12]</sup>、超高效液相色谱法<sup>[13]</sup>等。其中高效液相色谱法具有灵敏度高、重复性好、检测成本低、分析结果准确等诸多优点, 已成为食品、医药和环境领域广泛使用的分析方法<sup>[7,14,15]</sup>。经查阅文献, 复合调味料的研究主要集中于加工工艺的改进和新产品开发等方面<sup>[16-19]</sup>, 而采用高效液相色谱法同时测定复合调味料中以上多种甜味剂和防腐剂的研究报道较少。因此, 本研究拟建立高效液相色谱法同时测定复合调味料中的安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠的分析方法, 旨在为复合调味料的质量控制提供方法参考。

## 2 材料与方 法

### 2.1 样品来源

样品购自本地超市所售不同种类的复合调味料, 分别是鸡精调味料、蒸肉粉、蘸水辣、鸡粉调味料、烧烤酱、辣椒酱、蚝油、芝麻酱、火锅底料, 共 9 种, 每种 1 份。

### 2.2 仪器和试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪、Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(美国安捷伦科技有限公司); XSE205 十万分之一分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司); JY5002 电子天平(上海舜宇恒平仪器有限公司); TDL-40B 离心机(上海安亭科学仪器厂); AS1709325 超声波清洗仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

苯甲酸标准品、山梨酸标准品(100%, 中国食品药品检定研究院); 安赛蜜标准品(100.2%)、脱氢乙酸标准品(1000 μg/mL)(北京坛墨质检-标准物质中心); 糖精钠标准品(1.00 mg/mL, 北京海岸鸿蒙标准物质技术有限责任公司)。

甲醇(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙酸铵、硫酸锌、氢氧化钠(分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司)。

## 2.3 实验方法

### 2.3.1 标准溶液配制

准确称取 0.01 g(精确至 0.00001 g)安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠固体标准品, 分别置于 10 mL 容量瓶中, 脱氢乙酸加甲醇溶解后, 定容至刻度标线, 配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液, 其余 4 种加超纯水溶解后, 定容至刻度标线, 摇匀配制成浓度为 1.0 mg/mL 的标准储备溶液。分别吸取 1.0 mL 5 种组分的标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中, 用超纯水定容至刻度, 混匀配制成 100 μg/mL 的混合标准使用液, 置于 4 °C 冰箱中密封避光保存。

### 2.3.2 样品前处理方法

准确称取 2.5 g(精确到 0.01 g)样品于 25 mL 比色管中, 加超纯水约 10 mL, 摇匀, 于 50 °C 水浴超声提取 20 min, 冷却至室温, 分别加入 2.5 mL 氢氧化钠溶液(40 g/L)和 5 mL 硫酸锌溶液(120 g/L), 加水定容至刻度, 混匀后, 转入 50 mL 聚丙烯离心管中(高脂肪样品加入 20 mL 正己烷除脂), 4000 r/min 离心 10 min, 取水相清液, 过 0.22 μm 微孔滤膜, 待测。同法做样品空白溶液。

### 2.3.3 高效液相色谱条件

Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇: 乙酸铵溶液(0.02 mol/L, 调节 pH 至 8.0)=5:95(V:V); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 30 °C; 进样量: 10 μL; 紫外检测波长: 230 nm。

## 3 结果与分析

### 3.1 沉淀剂的选择

复合调味料中含有蛋白质、脂肪等大分子物质, 需加入沉淀剂将其除去。在检测甜味剂和防腐剂时, 常见的沉淀剂主要有氢氧化钠-硫酸锌和亚铁氰化钾-乙酸锌体系。实验考察氢氧化钠-硫酸锌体系和亚铁氰化钾-乙酸锌体系为沉淀剂, 对安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠 5 种组分回收率的影响。结果表明, 选取亚铁氰化钾-乙酸锌体系为沉淀剂时, 脱氢乙酸回收率较低为 70%, 选取氢氧化钠-硫酸锌体系为沉淀剂时, 各组分的回收率均在 90%~110%之间, 回收率良好。因此选择氢氧化钠-硫酸锌体系为沉淀剂。

### 3.2 流动相 pH 值的选择

流动相的 pH 值对安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠 5 种组分的分离效果、峰形有一定影响<sup>[6,20]</sup>。实验采用冰乙酸和氨水调节流动相乙酸铵溶液的 pH 值分别为 5.0、6.0、6.5、7.0、7.5 和 8.0, 考察流动相的 pH 值对安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠 5 种组分的分离效果和峰形的影响。结果表明, 当 pH 值在 5.0~6.5 范围时, 随着 pH 值的降低, 5 种组分出现裂峰现象而且响

应值变小;可能因为脱氢乙酸难溶于水,但在弱碱性环境中(pH 值 7~8)溶解度较大,pH 值为 6.5~7.5 时,脱氢乙酸拖尾较严重;pH 值为 8.0 时,脱氢乙酸拖尾的现象得到明显改善,此时 5 种组分混合标准溶液的色谱见图 1。由图 1 可以看出,5 种分离效果最佳,保留时间分别为 5.086、5.844、7.412、7.910、10.803 min。因此选择乙酸钠的 pH 值为 8.0。

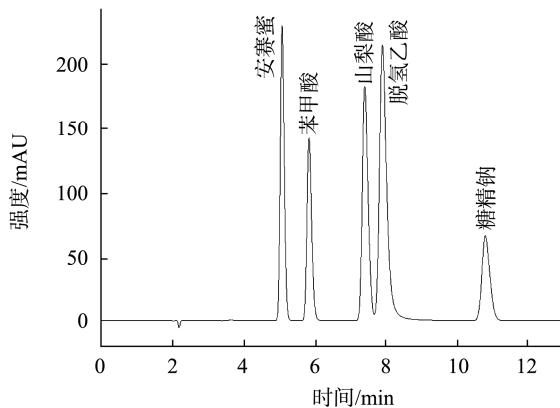


图 1 混合标准溶液(50 µg/mL)液相色谱图

Fig.1 Liquid chromatography of the mixed standard solution (50 µg/mL)

### 3.3 线性关系和检出限

实验分别吸取 0.05、0.10、0.20、0.50、1.00、2.50、5.00 mL 浓度为 100 µg/mL 混合标准使用液,置于 10 mL 容量瓶中,用超纯水定容至刻度,混匀,配制成浓度为 0.5、1.0、2.0、5.0、10、25、50 µg/mL 的标准工作溶液,以各组分的峰面积为纵坐标,浓度(µg/mL)为横坐标,绘制标准曲线。在样品中添加一定量的混合标准使用液,按 2.3 项下方法处理后上高效液相色谱仪检测,按称样量 2.5 g 计,以 3 倍信噪比(S/N)所对应的浓度计算检出限;以 10 倍信噪比(S/N)对应的浓度计算定量限,5 种组分的线性方程、线性范围、相关系数、检出限与定量限列于表 1。从表 1

可以看出,各组分在 0.5~50µg/mL 浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数大于 0.99995,检出限为 0.0005~0.0018 g/kg,定量限为 0.0015~0.0059 g/kg,满足待测组分的检测要求。

### 3.4 加标回收率

选取已知以上 5 种组分浓度的市售蒸肉粉,称取 2.5 g(精确到 0.01 g)样品,分别加入 0.01、0.02、0.03 g/kg 3 个浓度水平的混合标准溶液,每个浓度水平做 3 个平行测定,按照 2.3 项下方法处理样品后测量,测量结果列于表 2。从表 2 中可以看出,样品的加标回收率在 91.6%~110.5%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)为 0.1%~4.0%。表明方法的准确度良好。

### 3.5 样品含量测定

随机选取市售 9 种复合调味料样品,按照 2.3 项下方法处理样品后进行测量,测量结果列于表 3。从表 3 可以看出,大部分复合调味料中以上 5 种组分的含量均符合国家标准 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》<sup>[21]</sup>的要求,但是烧烤酱中苯甲酸含量为 0.72 g/kg,超过了国家标准限量要求(≤0.6 g/kg)。说明在复合调味料的生产过程中,还存在超量使用添加剂的情况。针对这一状况,生产企业应不断改进产品研发和加工工艺,相关部门应加强监管,以确保复合调味料的食用安全。

## 4 结论

本研究建立了用高效液相色谱法同时测定复合调味料中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠含量的分析方法。通过对沉淀剂和流动相进行优化,在最佳条件下,样品的加标回收率为 91.6%~110.5%,相对标准偏差为 0.1%~4.0%,检出限在 0.0005~0.0018 g/kg 范围,定量限在 0.0015~0.0059 g/kg 范围。该法检测效率高、成本低,适用于大批复合调味料中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸和糖精钠的同时检测,可为复合调味料的质量监控提供参考。

表 1 线性方程、线性范围、相关系数、检出限及定量限

Table 1 Linear equations, linear ranges, correlation coefficients, detection limits and quantitative limits

| 组分   | 线性方程                  | 线性范围/(µg/mL) | 相关系数( $r^2$ ) | 检出限/(g/kg) | 定量限/(g/kg) |
|------|-----------------------|--------------|---------------|------------|------------|
| 安赛蜜  | $Y=36.49194X+1.70186$ | 0.5~50       | 0.99999       | 0.0004     | 0.0013     |
| 苯甲酸  | $Y=26.57793X+1.44985$ | 0.5~50       | 0.99999       | 0.0007     | 0.0023     |
| 山梨酸  | $Y=41.85522X+2.10518$ | 0.5~50       | 0.99999       | 0.0005     | 0.0018     |
| 脱氢乙酸 | $Y=62.89206X+2.95124$ | 0.5~50       | 0.99998       | 0.0008     | 0.0028     |
| 糖精钠  | $Y=20.82038X+1.62324$ | 0.5~50       | 0.99996       | 0.0014     | 0.0046     |

表 2 样品的加标回收率( $n=3$ )  
Table 2 The sample average recoveries( $n=3$ )

| 组分   | 加标浓度/(g/kg) | 回收率范围/%     | 平均回收率/% | RSD/% |
|------|-------------|-------------|---------|-------|
| 安赛蜜  | 0.01        | 106.2~109.9 | 108.0   | 1.7   |
|      | 0.02        | 106.4~110.5 | 108.0   | 2.0   |
|      | 0.03        | 107.8~110.5 | 108.9   | 1.3   |
| 苯甲酸  | 0.01        | 105.5~108.7 | 107.2   | 1.5   |
|      | 0.02        | 107.7~109.2 | 108.4   | 0.7   |
|      | 0.03        | 110.4~110.7 | 110.5   | 0.1   |
| 山梨酸  | 0.01        | 102.8~108.1 | 104.9   | 2.7   |
|      | 0.02        | 100.0~103.3 | 101.8   | 1.7   |
|      | 0.03        | 101.3~102.0 | 101.7   | 0.4   |
| 脱氢乙酸 | 0.01        | 89.6~95.2   | 91.6    | 3.4   |
|      | 0.02        | 94.6~97.7   | 96.6    | 1.8   |
|      | 0.03        | 99.3~101.2  | 100.0   | 1.0   |
| 糖精钠  | 0.01        | 88.1~95.3   | 92.1    | 4.0   |
|      | 0.02        | 94.0~95.2   | 94.7    | 0.7   |
|      | 0.03        | 94.2~95.3   | 94.9    | 0.6   |

表 3 样品测定结果( $n=3$ )  
Table 3 Determination results for samples ( $n=3$ )

| 样品名称  | 测定值/(g/kg) |      |      |      |     |
|-------|------------|------|------|------|-----|
|       | 安赛蜜        | 苯甲酸  | 山梨酸  | 脱氢乙酸 | 糖精钠 |
| 鸡精调味料 | 0.33       | ND   | ND   | ND   | ND  |
| 蒸肉粉   | ND         | ND   | ND   | ND   | ND  |
| 蘸水辣   | ND         | ND   | ND   | ND   | ND  |
| 鸡粉调味料 | ND         | ND   | ND   | ND   | ND  |
| 烧烤酱   | ND         | 0.72 | ND   | ND   | ND  |
| 辣椒酱   | ND         | ND   | 0.44 | ND   | ND  |
| 蚝油    | ND         | ND   | 0.90 | ND   | ND  |
| 芝麻酱   | 0.02       | ND   | ND   | ND   | ND  |
| 火锅底料  | ND         | ND   | ND   | ND   | ND  |

注: ND 为未检出。

## 参考文献

- [1] NY/T 1886-2010 绿色食品 复合调味料[S].  
NY/T 1886-2010 Green food-Compound seasoning [S].
- [2] 张蕾, 张学俊. 浅谈食品添加剂的应用与发展[J]. 中国调味品, 2011, 36(1): 10-13.  
Zhang L, Zhang XJ. An approach to the use and development of food additive [J]. China Cond, 2011, 36(1): 10-13.
- [3] 孙宝国. 食品添加剂[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.  
Sun BG. Food additives [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2008.
- [4] 赵贞, 万鹏, 李翠枝, 等. HPLC 法检测乳制品中 2 种甜味剂和 3 种防腐剂[J]. 中国乳品工业, 2014, 42(2): 58-64.  
Zhao Z, Wan P, Li CZ, et al. Detected of 2 kinds of sweetener and 3 kinds of antiseptics in dairy products by HPLC [J]. China Dairy Ind, 2014, 42(2): 58-64.
- [5] 吴晓红, 李小华, 宋佳, 等. 高效液相色谱法同时测定酱腌菜中防腐剂和甜味剂[J]. 中国调味品, 2014, 39(2): 100-105.  
Wu XH, Li XH, Song J, et al. Determination of preservatives and

- sweeteners in pickles by HPLC [J]. *China Cond*, 2014, 39(2): 100–105.
- [6] 张小芳, 付大友. 高效液相色谱法同时测定食醋和酱油中的 6 种防腐剂 and 甜味剂[J]. *中国调味品*, 2018, 43(9): 147–150.  
Zhang XF, Fu DY. Simultaneous determination of six preservatives and sweeteners in vinegar and soy sauce by HPLC [J]. *China Cond*, 2018, 43(9): 147–150.
- [7] Saad B, Bari MF, Saleh MI, *et al.* Simultaneous determination of preservatives(benzoic acid, sorbic acid, methylparaben and propylparaben) in food stuffs using high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2005, 1073: 393–397.
- [8] Abedi AS, Mohammadi A, Azadnia E, *et al.* Simultaneous determination of sorbic and benzoic acids in milk products using an optimised microextraction technique followed by gas chromatography [J]. *Food Addit Contam A*, 2014, 31(1): 21–28.
- [9] GB 5009.28-2016 食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定[S].  
GB 5009.28-2016 National food safety standard-Determination of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium in food [S].
- [10] Chen CQ, Wang J. Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2001, 937(1): 57–64.
- [11] 许晶冰, 蔡灵利, 毛庆. 离子色谱法测定肉制品中 5 种食品添加剂[J]. *理化检验*, 2017, 53(12): 1419–1422.  
Xu JB, Cai LL, Mao Q. Determination of five kinds of food additives in meat products by ion chromatography [J]. *Phy Chem Test*, 2017, 53(12): 1419–1422.
- [12] Richard AF, Elizabeth LI, Nicolo D, *et al.* Development of a capillary electrophoresis method for the simultaneous analysis of artificial sweeteners, preservatives and colours in soft drinks [J]. *J Chromatogr A*, 2000, 876(1): 213–220.
- [13] Abderrahmane T, Youcef A, Pilar A, *et al.* Simultaneous extraction and analysis of preservatives and artificial sweeteners in juices by salting out liquid-liquid extraction method prior to ultra-high performance liquid chromatography [J]. *Food Chem*, 2019, 277: 586–594.
- [14] Ji FQ, Jin RR, Luo C, *et al.* Fast determination of aristolochic acid I (AAI) in traditional Chinese medicine soup with magnetic solid-phase extraction by high performance liquid chromatography [J]. *J Chromatogr A*, 2020, 1609: 455–460.
- [15] Ma JP, Li S, Wu G, *et al.* Preparation of mixed-matrix membranes from metal organic framework (MIL-53) and poly (vinylidene fluoride) for use in determination of sulfonylurea herbicides in aqueous environments by high performance liquid chromatography [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2019, 553: 834–844.
- [16] 于亚辉, 陈沁雯, 李晓婷, 等. 响应面法优化鸡肉复合调味料的制作工艺[J]. *中国调味品*, 2020, 45(2): 93–103.  
Yu YH, Chen QW, Li XT, *et al.* Optimization of the production process of chicken compound seasoning by response surface method [J]. *China Cond* 2020, 45(2): 93–103.
- [17] 胡章, 洪鹏志. 海鲜营养调味粉的研制[J]. *食品研究与开发*, 2004, (2): 39–40.  
Hu Z, Hong PZ. Development of seafood nutrition seasoning power [J]. *Food Res Dev*, 2004, (2): 39–40.
- [18] 王鑫, 任巧, 龚燕燕. 海带风味复合调味料的研制[J]. *中国调味品*, 2019, 44(10): 112–115, 125.  
Wang X, Ren Q, Gong YY. Development of kelp flavor compound seasoning [J]. *China Cond*, 2019, 44(10): 112–115, 125.
- [19] 郑英亮, 孙合群, 李沛, 等. 浓厚味酵母抽提物产品分析及其在鸡精复合调味料中的应用研究[J]. *中国调味品*, 2020, 45(1): 5–8.  
Zhen YL, Sun HQ, Li P, *et al.* Analysis on strong-flavor yeast extract product and its application in chicken essence compound seasoning [J]. *China Cond*, 2020, 45(1): 5–8.
- [20] 刘怡君. pH 对高效液相色谱法分析苯甲酸、山梨酸、糖精钠、安赛蜜的影响与应用[J]. *中国食品添加剂*, 2016, (5): 130–136.  
Liu YJ. The value of pH on the effect of detecting benzoic acid, sorbic acid, sodium saccharin and acesulfame by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Addit*, 2016, (5): 130–136.
- [21] GB 2760-2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].  
GB 2760-2014 National food safety standard-Standard for uses of food additives [S].

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



李 涛, 助理工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。  
E-mail: 362044512@qq.com



杨 伟, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品安全分析与检测研究。  
E-mail: 1621776759@qq.com