

高效液相色谱法测定食品中双乙酸钠和丙酸盐含量

朱洪亮^{1,2*}

(1. 嘉兴市产品质量监督检验所, 嘉兴 314050; 2. 嘉兴市农产品监测中心, 嘉兴 314050)

摘要: **目的** 建立食品中同时测定双乙酸钠和丙酸钠(钙)的高效液相色谱检测方法。**方法** 样品中的双乙酸钠、丙酸钠(钙)经(1+1)盐酸溶液酸化后转化为乙酸与丙酸, 使用有机溶剂进行萃取后在 40 °C 下水浴挥干, 浓缩后使用流动相定容, 经 C₁₈ 色谱柱分离, 在 215 nm 波长处测定, 外标法定量。**结果** 在优化的实验条件下, 双乙酸钠和丙酸钠(钙)在 0.5~5.0 mg/mL 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.9998, 方法的检出限为 2 mg/kg, 加标回收率在 87.3%~100.6% 范围之内, 相对标准偏差在 0.89%~4.53% 之间。**结论** 该方法前处理简便快速, 定量准确可靠, 灵敏度高, 适用于各类食品中双乙酸钠、丙酸钠(钙)含量的同时测定。

关键词: 食品; 双乙酸钠; 丙酸; 高效液相色谱法

Simultaneous determination of sodium diacetate and propionate in food by high performance liquid chromatography

ZHU Hong-Liang^{1,2*}

(1. Jiaxing Product Quality Supervision Testing Institute, Jiaxing 314050, China; 2. Jiaxing Agriculture Products Supervision Testing Agency, Jiaxing 314050, China)

ABSTRACT: Objective To set up a method for quantitative detection of sodium diacetate and propionate in food by HPLC. **Methods** Sodium diacetate and propionate in samples were converted into acetic acid, propionic acid after acidated with (1+1) HCl and extracted by organic solvent. The extracts were blown to dryness at 40 °C and made up volume after concentration with mobile phase. The chromatographic separation was performed on a C₁₈ column and detected by the UV detector at a wavelength of 215 nm. **Results** Under the optimal conditions, the method showed a good linearity in the range of 0.5~5.0 mg/mL with correlation coefficient more than 0.9998. The detection limit was 2 mg/kg, however the spiked recoveries were between 87.3%~100.6%, and the RSD was in the range of 0.89%~4.53%. **Conclusion** The method is simple, accurate and sensitive, it is suitable for the determination of batch food samples.

KEY WORDS: food; sodium diacetate; propionate; high performance liquid chromatography

1 引言

防腐剂由于具有抑制和杀灭微生物增殖的作用

而被广泛应用于食品工业中。目前我国批准在食品中使用的防腐剂有十几种, 其中双乙酸钠和丙酸盐是近几年推出的两种较新的防腐剂, 其抑制霉菌的能

*通讯作者: 朱洪亮, 工程师, 主要研究方向为食品、农产品质量安全的检测。E-mail: hund0056@sina.com

*Corresponding author: ZHU Hong-Liang, Engineer, Jiaxing Product Quality Supervision Testing Institute, Jiaxing 314050, China. E-mail: hund0056@sina.com

力明显强于苯甲酸、山梨酸等传统防腐剂,因此在食品工业中的使用越来越广泛。但由于双乙酸钠和丙酸钙(钠)属于化学防腐剂,长期过量食用会对人体造成不同程度的危害,因此我国食品添加剂使用标准 GB 2760-2011 中对这两种防腐剂的使用范围和用量做出了明确规定。

目前,国内测定双乙酸钠和丙酸盐的方法主要有气相色谱法和液相色谱法^[1-13],我国国家标准 GB/T 5009.120-2003 中测定丙酸的方法是将试样酸化后用水蒸气蒸馏,收集后经气相色谱测定^[14],GB/T 23383-2009 中测定双乙酸钠的方法是将样品经水蒸气蒸馏或直接浸提后经液相色谱测定^[15],但水蒸气蒸馏法操作繁琐费时,直接浸提法测定样品时有较大的干扰,本文在参考了相关文献的基础上改进了双乙酸钠和丙酸的测定方法,优化了前处理方法,实现了在高效液相色谱上同时测定这两种防腐剂,方法准确可靠,简单快捷。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

Agilent 1100 型高效液相色谱仪,配紫外检测器;漩涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司);电子分析天平(德国赛多利斯公司)。

水为 18.25 MΩ·cm 超纯水;盐酸、乙醚、磷酸、磷酸氢二铵均为分析纯。

双乙酸钠标准品(美国 Sigma, ≥99.0%)、丙酸标准品(美国 Sigma, ≥99.5%)。

2.2 色谱条件

色谱柱: Thermol Hypersil ODS-2 C₁₈ 柱(4.6 mm×200 mm, 5 μm);流动相: 0.01 mol/L 磷酸二氢铵水溶液,用 1 mol/L 磷酸溶液调 pH 为 3.0;流速 1.0 mL/min;柱温: 30 °C;检测波长: 215 nm;进样量 10 μL。

2.3 样品处理和制备

称取 5.0 g 样品于 50 mL 比色管中,加入 24 mL 水,0.5 mL(1+1)盐酸,再加入 10 mL 乙醚,5 g 氯化钠,漩涡提取 5 min,取 5 mL 乙醚提取液,40 °C 水浴挥干,用流动相定容至 2 mL,过 0.45 μm 水相滤膜,备用。

2.4 标准工作液配制及标准曲线绘制

精密称取双乙酸钠、丙酸标准品各 1.000 g,加

水定容至 100 mL,此标准储备溶液浓度为 10.0 mg/mL。再吸取混合标准储备液 0.2、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mL 于 10 mL 容量瓶中,加水定容至刻度,混匀。各取 5 mL 标准系列于 50 mL 比色管中,按照样品处理方法进行处理,含双乙酸钠、丙酸为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL。在 2.2 色谱条件下进样,以标准溶液浓度值对应的峰面积绘制标准曲线的回归方程。

3 结果与讨论

3.1 萃取溶剂的选择

根据双乙酸钠和丙酸盐的化学性质,将其酸化后分别转化为乙酸及丙酸,利用有机溶剂进行萃取,使样品中的极性物质与非极性物质分离,可以减少样品的干扰。本实验选择乙醚、甲苯、氯仿三种有机溶剂作为萃取溶剂,对含丙酸、双乙酸钠均为 2.0 mg/mL 的标准溶液按 1.3 方法处理,所得处理液进液相色谱测定,比较各溶剂萃取后的处理液色谱峰面积,发现乙醚萃取后的处理液中乙酸、丙酸的峰面积响应值最大,主要由于乙醚的沸点较低,溶剂挥发所需的温度较低、时间较短,目标物的损失较小,具体结果见图 1。

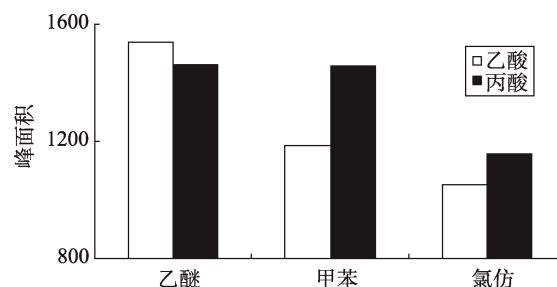


图 1 不同萃取溶剂的影响

Fig. 1 The effects of different extractants

3.2 检测波长的选择

取 1.0 mg/mL 双乙酸钠、丙酸标准溶液,在 2.2 色谱条件下进样,在 190~400 nm 波长下进行扫描,发现在 215 nm 处均有较大吸收峰,见图 2,实验选择 215 nm 作为检测波长。

3.3 流动相的选择

由于有机酸在水溶液中易解离而不被非极性键合相保留,因此采用酸性磷酸氢盐,并且经调节 pH

来抑制有机酸的解离,以改善待测物的保留和分离。实验选择 0.01、0.015、0.02 mol/L 的磷酸氢二铵水溶液(pH2.9)作为流动相,待测物均峰型良好,考虑高浓度的盐对泵和色谱柱寿命的影响,故本实验选择 0.01 mol/L 的磷酸氢二铵作为流动相。丙酸、双乙酸钠标准曲线见图 3。

3.4 线性关系及检出限

分别配制不同浓度的双乙酸钠、丙酸标准混合工作溶液,以保留时间定性,以峰面积对浓度做标准曲

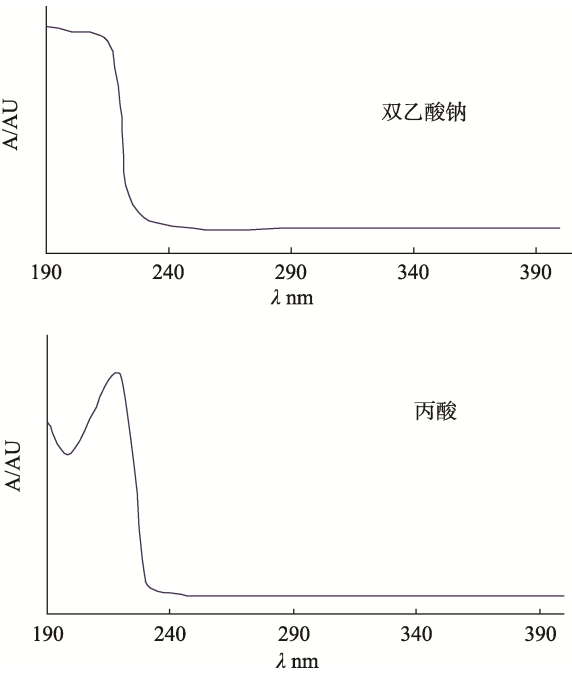


图 2 双乙酸钠、丙酸盐标准溶液的紫外光谱图
Fig. 2 UV spectra of sodium diacetate and propionate standards

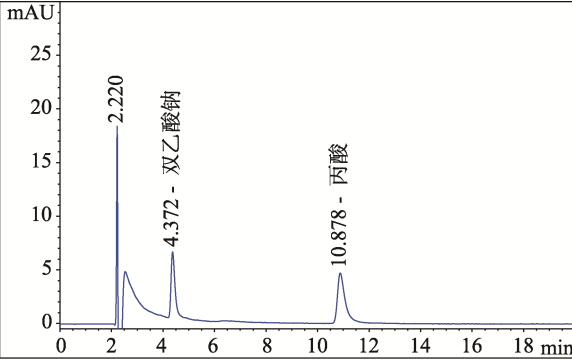


图 3 丙酸、双乙酸钠标准品色谱图
Fig. 3 Chromatogram of sodium diacetate and propionate standard

线,以信噪比 $S/N=3$ 计算方法的检出限,结果表明在 0.5~5.0 mg/mL 范围内丙酸、双乙酸钠呈良好线性关系,相关系数均大于 0.999,线性回归方程、相关系数及检出限结果见表 1。

表 1 丙酸、双乙酸钠的线性范围、回归方程、相关系数及检出限

Table 1 Regression equation, correlation coefficient, linear range and detection limits of diacetate and propionate				
名称	线性回归方程	线性范围 (mg/mL)	相关系数 R^2	检出限 (mg/kg)
双乙酸钠	$y=715.28x+1.6695$	0.5~5.0	0.9999	2.0
丙酸	$y=687.79x-9.0656$	0.5~5.0	0.9998	2.0

3.5 回收率、精密度实验

选用月饼、面包、豆腐干、酱油样品,分别加入不同浓度的双乙酸钠、丙酸标准溶液,按建立的方法处理测定,重复 6 次实验,计算其平均回收率及精密度,结果见表 2。结果表明,丙酸、双乙酸钠在四种食品中的平均回收率为 87.3%~100.6%之间,精密度在 0.89%~4.53%之间,说明方法的精密度和准确度良好,能够满足实际样品检测的需要。

表 2 样品回收率及精密度数据
Table 2 The recovery and precision of sodium diacetate and propionate

样品	双乙酸钠添加量 (g/kg)	平均回收率 (%)	RSD (%)	丙酸添加量 (g/kg)	平均回收率 (%)	RSD (%)
月饼	0.5	87.8	3.16	0.5	93.6	2.26
	3.0	91.3	3.82	2.0	95.2	2.17
面包	0.5	88.5	4.53	0.5	89.3	3.13
	3.0	90.2	2.19	2.0	90.1	1.59
豆腐干	0.2	87.3	3.66	0.5	91.3	2.58
	1.0	91.8	2.97	2.0	92.8	1.79
酱油	0.2	95.5	1.54	0.5	96.5	1.01
	1.0	100.6	1.03	2.0	98.6	0.89

4 结 论

本文建立了采用高效液相色谱法同时测定食品中双乙酸钠、丙酸盐含量的方法,样品经酸化后采用乙醚萃取,可以有效减少基体干扰,缩短样品前

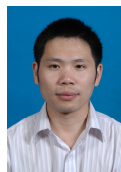
处理时间。方法的前处理简单,回收率较高,重现性好,是测定食品中双乙酸钠、丙酸盐含量的一种理想方法。

参考文献

- [1] 姜涛, 潘红红, 李辉章, 等. 高效液相色谱法测定防腐剂中丙酸含量的研究[J]. 粮食储藏, 2011, 40(5): 32–34.
Jiang T, Pan HH, Li HZ, *et al.* Determination of propionic acid content in mould inhibitor by high performance liquid chromatography[J]. Grain Storage, 2011, 40(5): 32–34.
- [2] 章沙沙, 杨继武, 刘春伟, 等. 高效液相色谱法测定面包中的丙酸钙[J]. 光谱实验室, 2013, 30(1): 167–120.
Zhang SS, Yang JW, Liu CW, *et al.* Determination of calcium propionate in bread by HPLC[J]. Chin J Spectrosc Lab, 2013, 30(1): 167–120.
- [3] 钱兵, 张燕, 李莎, 等. 反相高效液相色谱法测定丙酸发酵液中的有机酸[J]. 分析化学, 2007, 35(11): 1651–1653.
Qian B, Zhang Y, Li S, *et al.* Determination of organic acids in propionic acid fermentation broth by reversed phase high performance liquid chromatography[J]. Chin J Anal Chem, 2007, 35(11): 1651–1653.
- [4] 黄志英, 赵志辉, 顾赛红. 高效液相色谱法测定饲料酸化剂中甲酸和丙酸含量[J]. 上海农业学报, 2010, 26(3): 64–66.
Huang ZY, Zhao ZH, Gu SH. Determination of formic acid and propionic acid contents in feed acidifier by high performance liquid chromatography[J]. Acta Agric Shanghai, 2010, 26(3): 64–66.
- [5] 张银平, 王海燕, 薛耀华, 等. 离子色谱法测定河流中乙酸、丙酸和丁酸含量的研究[J]. 中国环境监测, 2011, 27(1): 21–24.
Zhang YP, Wang HY, Xue YH, *et al.* Determination of acetic acid, propionic acid and butyric acid concentration in the river water sample by ion- chromatography[J]. Environ Monit China, 2011, 27(1): 21–24.
- [6] 龚睿蓉. 毛细管气相色谱法测定食品中丙酸钙[J]. 粮油食品科技, 2009, 17(5): 26–28.
Gong RR. Determining calcium propionate in food by capillary gas chromatography[J]. Sci Technol Cereals, Oils Food, 2009, 17(5): 26–28.
- [7] 赵娅鸿. 气相色谱法测定食品中的防腐剂丙酸盐含量方法的研究[J]. 食品工程, 2009, (2): 49–50, 56.
Zhao YH. Determination of propionate in food by gas chromatography[J]. Food Eng, 2009, (2): 49–50, 56.
- [8] 张月萍, 赵磊, 赵平. 填充柱气相色谱法快速测定发酵废水提取物中丙/乙酸盐含量 [J]. 分析实验室, 2009, 28(10): 117–119.
Zhang YP, Zhao L, Zhao P. Fast detection of propionic acid and acetic acid in vitamin B12 fermentation wastewater extracts with gas chromatography[J]. Chin J Anal Lab, 2009, 28(10): 117–119.
- [9] 梁宝爱. 食品中防腐剂双乙酸钠检测方法的研究-高效液相色谱法[J]. 食品工程, 2008, (4): 52–55.
Liang BA. Research on the determination of sodium diacetate as an antiseptic in food by high performance liquid chromatography[J]. Food Eng, 2008, (4): 52–55.
- [10] 张佃生, 周晓波, 刘玉. 食品中双乙酸钠含量测定方法的研究[J]. 粮油食品科技, 2008, 16(4): 60–61.
Zhang DS, Zhou XB, Liu Y. Study on the method of determining the content of SDA in food[J]. Sci Technol Cereals, Oils Food, 2008, 16(4): 60–61.
- [11] 梁宝爱. 食品中防腐剂丙酸钠、丙酸钙检测方法的研究[J]. 分析实验室, 2009, 28(10): 117–119.
Liang BA. Fast detection of propionic acid and acetic acid in vitamin B12 fermentation wastewater extracts with gas chromatography[J]. Chin J Anal Lab, 2009, 28(10): 117–119.
- [12] 吴新, 包梦醒, 余雯静, 等. 高效液相色谱法测定牛奶中双乙酸钠[J]. 农产品加工(学刊), 2012, (10): 143–145, 153.
Wu X, Bao MX, Yu WJ, *et al.* Determination of sodium diacetate in milk by high performance liquid chromatography [J]. Acad Periodical Farm Prod Proces, 2012, (10): 143–145, 153.
- [13] 徐伟, 于刚, 薛长湖, 等. 抑制型离子色谱同时测定分离检测鱼酱油中的九种有机酸[J]. 食品科学, 2009, 29(4): 306–309.
Xu W, Yu G, Xue CH, *et al.* Simultaneous determination of nine kinds of fish sauce organic acids by ion chromatography with suppressed conductivity detection [J]. Food Sci, 2009, 29(4): 306–309.
- [14] GB/T 5009.120-2003 食品中丙酸钠、丙酸钙的测定[S].
GB/T 5009.120-2003 Determination of sodium propionate and calcium propionate in foods[S].
- [15] GB/T 23383-2009 食品中双乙酸钠的测定 高效液相色谱法[S].
GB/T 23383-2009 Determination of sodium hydrogen diacetate in foods-high performance liquid chromatography methods [S].

(责任编辑: 邓伟)

作者简介



朱洪亮, 工程师, 主要研究方向为食品、农产品质量安全的检测。

E-mail: hund0056@sina.com