

# 高效液相色谱法测定辣白菜中的苯甲酸

李美花<sup>1\*</sup>, 朴京淑<sup>2</sup>, 卢清花<sup>1</sup>

(1. 延边州疾病预防控制中心, 延吉 133001; 2. 延边大学药学院, 延吉 133001)

**摘要:** **目的** 建立高效液相色谱法测定辣白菜中苯甲酸的分析方法。**方法** 辣白菜经前处理后用微孔滤膜过滤进样, 以 A-甲醇, B-乙酸铵溶液(0.02 mol/L)(A:B=5:95, V:V)为流动相, 流速 1 mL/min, 经 ZORBAX Eclipse Plus-C<sub>18</sub> 色谱柱(150 mm×4.6 mm, 5 μm)30 °C 分离, 在波长 230 nm 处检测。**结果** 分离过程在 6 min 之内完成, 苯甲酸保留时间为 5.9 min 左右, 其样品加标平均回收率为 100.42%。**结论** 该方法简便、快速、稳定, 实用性强, 能快速的检测辣白菜中的苯甲酸。

**关键词:** 苯甲酸; 辣白菜; 高效液相色谱法

## Determination of benzoic acid in kimchi by high performance liquid chromatography

LI Mei-Hua<sup>1\*</sup>, PIAO Jing-Shu<sup>2</sup>, LU Qing-Hua<sup>1</sup>

(1. Yanbian Center for Disease Control and Prevention, Yanji 133001, China;  
2. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133001, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for the determination of benzoic acid in kimchi by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** The kimchi sample was pretreated and filtered, and then injected into a ZORBAX Eclipse Plus-C<sub>18</sub> column (150 mm×4.6 mm, 5 μm). The elution was performed with the mobile phase of methanol-ammonium acetate (5:95, V:V), the flow rate was 1.0 mL/min, the temperature of column was 30 °C, and the detection wavelength was 230 nm. **Results** The separation and detection was completed within 6 min, the retention time of benzoic acid was about 5.9 min, and the average recovery was 100.42%. **Conclusion** The detection method is simple, fast, stable and available, which can quickly detect the benzoic acid in kimchi.

**KEY WORDS:** benzoic acid; kimchi; high performance liquid chromatography

## 1 引言

苯甲酸是国内食品中最常用的防腐剂, 其价格合理, 抑制食品中微生物生长和繁殖的效果好, 因此国内食品厂家大多选择苯甲酸作为食品防腐剂, 降低成本且能达到防腐目的。长期食用超限量苯甲酸的食物, 对人体存在毒副作用, 甚至致癌<sup>[1-5]</sup>, 因此我

国也限制了苯甲酸的使用范围。

朝鲜族辣白菜(kimchi)是朝鲜族特产之一, 是世代相传的一种佐餐食品, 其口感酸、甜、辣、爽口, 是朝鲜族饭肴里必不可少的佳肴。辣白菜自然发酵产生的乳酸菌, 不仅能促进肠胃蠕动, 助消化, 净化胃肠, 而且能够促进胃肠内的蛋白质分解和吸收, 辣白菜中含有钙、铜、磷、铁等丰富的无机物, 能促进维生

\*通讯作者: 李美花, 硕士, 技师, 主要研究方向为理化检验。E-mail: limeihoa613@163.com

\*Corresponding author: LI Mei-Hua, Technician, the Physical and Chemical Laboratory of Yanbian Center for Disease Control and Prevention, Tianchi Road No. 3699, Yanji 133001, China. E-mail: limeihoa613@163.com

素 C 和维生素 B 的吸收<sup>[6,7]</sup>。

目前为止, 关于朝鲜族特色食品辣白菜中苯甲酸含量的数据很少, 为了保证辣白菜的食用安全及为制定地方标准提供基础数据, 本研究建立了高效液相色谱法测定辣白菜中苯甲酸含量, 利用本方法进行辣白菜前处理, 与国家标准方法(GB/T 5009.29-2003)的前处理相比能得到更澄清的待测液。该方法对柱子影响较小, 因此可以优先考虑用本方法进行辣白菜前处理, 而且精密度、准确度高、稳定性好。

## 2 材料与方 法

### 2.1 样 品

样品: 延边州延吉市的大型超市、农贸市场、饭馆里销售的辣白菜。样品的品牌和包装类型包括: 金刚山、可利亚、散装、自做辣白菜, 共 12 份。

### 2.2 仪器与试剂

#### 2.2.1 主要仪器

岛津 LC-10 ATVP 液相色谱系统(岛津苏州有限公司), 配有 LC-10ATvp 高压二元梯度泵; AXW-5 柱温箱(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); SPD-10AVP 紫外可见双波长检测器(岛津苏州有限公司); 手动进样器(岛津苏州有限公司); N2000 色谱数据工作站; AS3120A 超声波清洗机(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

#### 2.2.2 主要试剂

实验室用水: 去离子水。

苯甲酸标准物质(1.00 mg/mL) (GBW(E)100006, 中国计量科学研究院); 甲醇(色谱纯, 北京化工厂); 乙酸铵(分析纯, 中国沈阳市新化试剂厂); 乙酸锌、乙酸(分析纯, 北京化工厂); 亚铁氰化钾(分析纯, 天津市福晨化学试剂厂)。

乙酸铵溶液(0.02 mol/L): 称取 1.54 g 乙酸铵, 以去离子水溶解稀释至 1000 mL。

乙酸锌溶液(1.2 mol/L): 称取 21.9 g 乙酸锌, 加 3 mL 乙酸, 加水稀释至 100 mL。

亚铁氰化钾溶液(0.25 mol/L): 称取 10.6 g 亚铁氰化钾, 加水溶解稀释至 100 mL。

### 2.3 实验方法

#### 2.3.1 标准溶液的配制<sup>[8-13]</sup>

苯甲酸储备液: 苯甲酸标准物质 GBW(E)100006

(1.00 mg/mL), 4 °C 条件下冷藏保存。

苯甲酸标准使用液(0.1 mg/mL): 吸取 10.0 mL 标准储备液, 用去离子水定容至 100 mL。4 °C 条件下冷藏保存, 可稳定 3 个月。

标准系列的配制: 分别吸取标准使用液 0.50、2.50、5.00、10.00、25.00 mL 于 50 mL 容量瓶中, 用去离子水定容至刻度, 其浓度为 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μg/mL。标准系列现配现用。

#### 2.3.2 样品处理

称取约 5.0 g 粉碎的辣白菜, 放入 50 mL 烧杯中, 加水 30 mL, 摇匀, 超声 30 min, 加 2 mL 乙酸锌溶液和 2 mL 亚铁氰化钾溶液, 摇匀后静置 5 min, 用滤纸过滤于 50 mL 容量瓶中, 加水定容至刻度, 此溶液通过微孔滤膜(0.45 μm)过滤, 上机测定<sup>[4,5]</sup>。

#### 2.3.3 色谱分析条件<sup>[14]</sup>

色谱柱: ZORBAX Eclipse Plus-C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×150 mm, 5 μm); 柱温: 30 °C; 流动相: 甲醇:乙酸铵=5:95(V:V); 总流速: 1.0 mL/min; 进样体积: 10 μL; 检测波长: 230 nm。

## 3 结果与讨论

### 3.1 色谱分离条件的选择<sup>[14,15]</sup>

本方法设置柱温为 30 °C, 流动相改为甲醇:乙酸铵=5:95(V:V), 总流速为 1.0 mL/min。上述条件下分析样品不仅分析时间短, 而且分离效果佳(图 1)。

### 3.2 样品处理方法的选择

化学分析方法中, 在分析结果不受到影响的前提下, 前处理过程越简单, 实用性越高, 适用性越好。辣白菜样品本身有很多调料组成, 通过搅拌机搅拌之后样品变成浆样。选择前处理时澄清待测液非常重要, 澄清的待测液对柱子影响较小。因此选择加入亚铁氰化钾和乙酸锌之后起蛋白质共沉淀作用, 使待测液澄清。

### 3.3 方法的线性范围、回收率和精密度

#### 3.3.1 方法的线性范围

在确定的色谱分离条件下, 用去离子水将 1.0 mg/mL 的储备液逐步稀释成 1.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μg/mL 等不同浓度的标准溶液, 进样 10 μL, 记录峰面积。以组分的响应值(Y)对浓度(X, μg/mL) 进行线性回归。在 1.0~50.0 μg/mL 浓度范围, 苯甲酸的

线性方程为  $Y=5.47 \times 10^{-5}X-8.47 \times 10^{-2}$ , 相关系数为 1.0000, 见图 2。

### 3.3.2 回收率的测定

分别取不含苯甲酸的样品加入适量标准溶液, 使苯甲酸含量分别成为 100  $\mu\text{g}$  和 110  $\mu\text{g}$ (以苯甲酸质量计)2 个水平的加标样品, 前处理与样品前处理相同。表 1 为回收试验的测定结果, 从表 1 中可以看出其平均回收率为 100.42%。

### 3.3.3 精密度的测定

表 2 为加标样品对色谱峰保留时间和峰面积的

日内精密度实验的统计结果。从试验结果可以看出, 0.40  $\mu\text{g}/\text{mL}$  及 0.44  $\mu\text{g}/\text{mL}$  加标样品的保留时间日内变异苯甲酸不超过 0.2%, 峰面积变异苯甲酸均低于 3%。

### 3.4 辣白菜样品中苯甲酸的检测及结果<sup>[16]</sup>

利用建立的新方法测定了共 12 份样品(见图 3), 均未超标。检测的 12 份样品中有 1 份样品检测出苯甲酸, 检出率为 8.3%, 其余的 11 份样品均未检出, 超标率为 0%。

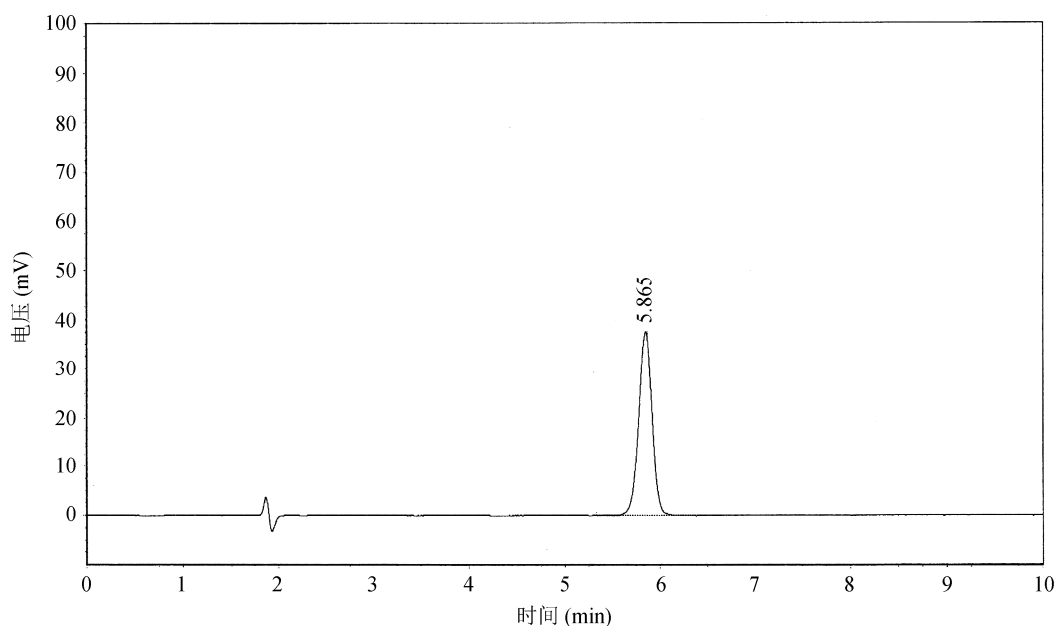


图 1 苯甲酸标准溶液的色谱图(20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

Fig. 1 Chromatogram of benzoic acid standard solution (20  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

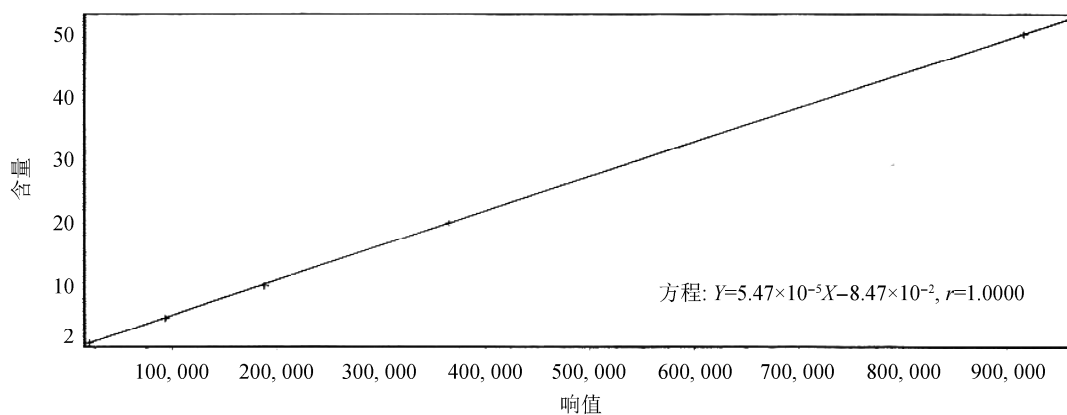


图 2 苯甲酸标准曲线

Fig. 2 The standard curve of benzoic acid

表 1 加标回收试验( $n=4$ )  
Table 1 The recovery of standard addition( $n=4$ )

测定防腐剂	样品值( $\mu\text{g}$ )(以苯甲酸计)	加标量 ( $\mu\text{g}$ )(以苯甲酸计)	加标测定值( $\mu\text{g}$ )(以苯甲酸计)	回收率(%)
苯甲酸	未检出	100.00	101.35	101.35
	未检出	100.00	101.15	101.15
	未检出	110.00	107.15	97.41
	未检出	110.00	111.95	101.77
平均回收率		100.42%		

表 2 日内对保留时间和峰面积精密度试验结果  
Table 2 The precision of retention time and peak area of the day

加标浓度/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$	保留时间/min	精密度	峰面积	精密度
0.40	5.898	0.136%	8954.110	0.125%
	5.882		8938.300	
0.44	5.882		9377.900	2.589%
	5.882		9727.700	

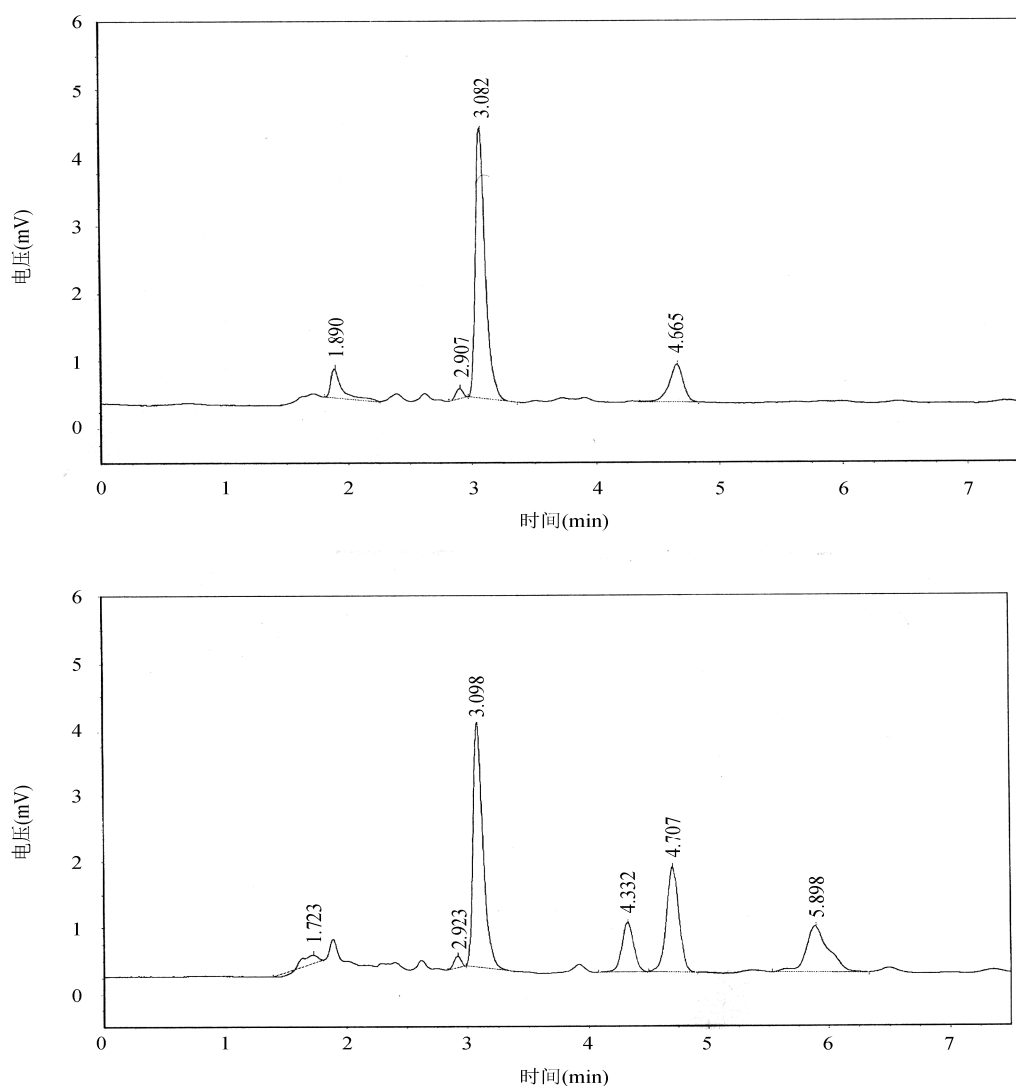


图 3 样品 10 号(上)和加标样品(下)色谱图

Fig. 3 Chromatograms of sample (upper) and spiked sample (lower)

## 4 结 论

本方法样品前处理快速简便, 与国家标准方法(GB/T5009.29-2003)的前处理相比, 做了前处理对比试验, 肉眼明显看出利用本方法对辣白菜样品进行前处理之后能得到更澄清的待测液, 对柱子影响较小。使用  $C_{18}$  分离柱, 以甲醇:乙酸铵=5:95(V:V)为流动相, 柱温为  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  的条件下进行分析, 6 min 内完成了苯甲酸的测定, 分析时间短、精密度高、稳定性好, 在苯甲酸防腐剂的鉴定和检测方法中有一定的推广意义。

### 参考文献

- [1] 申蓉. 高效液相色谱法测定酱菜中苯甲酸的仪器比对分析[J]. 食品安全导刊, 2015, 6: 85-87.  
Shen R. Determination of benzoic acid in pickles comparative analysis instrument by high performance liquid chromatography [J]. J China Food Saf, 2015, 6: 85-87.
- [2] 谢晓辉, 马芳, 黄慧敏. 浅谈防腐剂苯甲酸的测定[J]. 商品与质量, 2013, 3: 249.  
Xie XH, Ma F, Huang HM. Introduction to preservative the determination of benzoic acid [J]. J Goods Qual, 2013, 3: 249.
- [3] 李菊, 刘淑君, 黄雪琳. 苯甲酸和苯甲酸钠安全性与检测方法研究进展[J]. 粮食与油脂, 2012, 09: 49-51.  
Li J, Liu SJ, Huang XL. Safety and determination benzoic acid and sodium benzoate [J]. Cereals Oils, 2012, 09: 49-51.
- [4] 杨海涛, 兰蒋, 蒋文强. 高效液相色谱法测定饮料中的苯甲酸钠[J]. 中国酿造, 2007, 12: 64-65.  
Yang HT, Lan J, Jiang WQ. Detection of sodium benzoate in beverage by HPLC [J]. China Brewing, 2007, 12: 64-65.
- [5] 张卉, 吕潇, 王文博. 食品中苯甲酸(苯甲酸钠)分析方法的改进[J]. 食品科学, 1996, 17(6): 65-67.  
Zhang H, Lv X, Wang WB. Improvement on analysis method of benzoic acid (sodium benzoate) in food [J]. Food Sci, 1996, 17(6): 65-67.
- [6] 金清. 朝鲜族传统发酵食品的营养功能[J]. 延边大学农学学报, 2004, 26(3): 208-212.  
Jin Q. Korean traditional fermented food nutritional function [J]. J Yanbian Univ Agric Sci, 2004, 26(3): 208-212.
- [7] 张榕欣. 泡菜中亚硝酸盐含量影响因素及安全食用期[J]. 广东化工, 2009, 36(5): 134-136.  
Zhang RX. The influence factors and safe consumption of nitrite in pickles [J]. J Guangdong Chem Ind, 2009, 36(5): 134-136.
- [8] 2010 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2010 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [9] 2011 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2011 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [10] 2012 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2012 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [11] 2013 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2013 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [12] 2014 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2014 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [13] 2015 吉林省食品中化学污染物和有害因素监测工作手册[Z]. 2015 Monitoring of chemical contaminants and harmful factors in food in Jilin province [Z].
- [14] GB/T 5009.29-2003 食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S].
- [15] GB/T 5009.29-2003 Determination of sorbic acid and benzoic acid in foods [S].
- [16] 陈俊, 黄琼, 邹萍, 等. HPLC 法同时测定四川泡菜中苯甲酸、山梨酸、柠檬黄和姜黄[J]. 中国调味品, 2010, 12: 104-106.  
Chen J, Huang Q, Zou P, *et al.* Simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid, tartrazine and turmeric in Sichuan pickles by HPLC [J]. China Cond, 2010, 12: 104-106.
- [17] GB 2760-2014 食品添加剂使用标准[S].  
GB 2760-2014 Standard for food additives [S].

(责任编辑: 杨翠娜)

### 作者简介



李美花, 硕士, 技师, 主要研究方向为理化检验。

E-mail: limeihua613@163.com