

食品添加剂糖精钠、山梨酸的假阳性判定研究

毛 敏*, 赵慧明, 孙小龙

(榆林市食品检验检测中心, 榆林 719000)

摘 要: 目的 对常用食品添加剂糖精钠、山梨酸的假阳性情况进行研究。通过比较紫外检测器和二极管阵列检测器在样品假阳性检测中的应用, 确定二极管阵列检测器在排除假阳性方面的重要性。**方法** 称取均匀样品加水, 经水浴超声提取 20 min 后冷却, 分别用 2 mL 亚铁氰化钾和乙酸锌溶液沉淀蛋白, 离心后转移水相, 残渣进行二次提取, 合并上清液后定容, 采用高效液相色谱法进行测定。**结果** 糖精钠检测中使用配有紫外检测器的高效液相色谱仪, 加标回收率为 92%, 因此判定该样品为阳性样。经复检, 判定为阴性样。山梨酸检测中使用配有二极管阵列检测器的高效液相色谱仪, 利用保留时间及光谱信息, 确定样品为阳性样, 排除假阳性。**结论** 紫外检测器利用保留时间进行定性, 食品基质如果有干扰, 在目标峰保留时间出峰, 就会造成假阳性。而二极管阵列检测器通过全波段扫描, 从保留时间、光谱信息、峰纯度等进行综合定性分析, 对于基质较复杂的食品样品更能保证结果的准确性。

关键词: 高效液相色谱法; 二极管阵列检测器; 食品添加剂; 假阳性

Study on false positive judgment of food additives of saccharin sodium and sorbic acid

MAO Min*, ZHAO Hui-Ming, SUN Xiao-Long

(Yulin Food Inspection and Testing Center, Yulin 719000, China)

ABSTRACT: Objective To study the false-positive of saccharin sodium and sorbic acid additives in food. By comparing the application of UV detector and diode array detector in the detection of false positive samples, the importance of diode array detector in eliminating false positive was determined. **Methods** Weighed uniform sample and added water, after ultrasonic extraction in water bath for 20 minutes and cool, 2 mL of potassium ferricyanide and zinc acetate were used to precipitate the protein. The aqueous phase was transferred after centrifugation and reextracted the residue. The supernatant was combined and diluted to 50 mL volume, and then measured by high performance liquid chromatography. **Results** The high performance liquid chromatograph with ultraviolet detector was used in the detection of saccharin sodium. The spiked recovery was 92% and the sample was determined to be positive sample. However, it was judged to be a negative sample after retesting. The high performance liquid chromatograph with diode array detector was used in sorbic acid detection. Combined with the retention time and spectral information, the sample was confirmed to be positive and false positive was excluded. **Conclusion** UV detector uses the retention time for qualitative analysis, if there is interference in the food matrix, the peak will appear at the retention time of the target peak, which will cause false positive. The diode array detector performs comprehensive qualitative analysis from retention time, spectral information, peak purity, etc. Through full wavelength scanning, which can ensure the accuracy of the results of samples with complex food matrix.

*通讯作者: 毛敏, 助理工程师, 主要研究方向为食品理化检验及相关研究。E-mail: 763202360@qq.com

*Corresponding author: MAO Min, Assistant Engineer, Yulin Food Inspection and Testing Center, Yulin 719000, China. E-mail: 763202360@qq.com

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; diode array detector; food additives; false positive

1 引言

食品添加剂, 指为改善食品品质和色、香和味以及为防腐、保鲜和加工工艺的需要而加入食品中的人工合成或者天然物质^[1-4]。食品添加剂大大促进了食品工业的发展, 并被誉为现代食品工业的灵魂, 这主要是它给食品工业带来了许多好处^[5]。食品添加剂使用量控制在国家食品安全标准规定范围内是对人体无害的, 而超剂量使用则对人体有危害^[6-8]。加之近年来, 食品添加剂导致食品安全事故频发^[9], 受到老百姓的广泛关注^[10]。所以使用时要严格控制使用量。

目前, 高效液相色谱法在食品添加剂检测中已广泛应用^[1,2,4,5]。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》^[11]第一法液相色谱法中明确规定, 检测仪器使用配紫外检测器的高效液相色谱仪。紫外检测器通过保留时间定性, 对于基质复杂的样品, 会出现干扰组分在保留时间处出峰, 造成假阳性。我单位在 2019 年本市监督抽检的酿造食醋样品就遇到了假阳性的情况。因此, 针对该方法, 本研究采用了高效液相色谱-DAD 联用的方法, 利用不同物质具有不同光谱信息的特征及保留时间进行综合定性的方法, 在很大程度上减少假阳性情况的存在。在食品样品检测中相比单用紫外检测器准确度更高, 相比液相色谱-质谱联用技术更加方便, 快捷。

2 材料与方法

2.1 主要试剂和仪器

山梨酸、糖精钠标准储备液(1.00 mg/mL, 中国计量

科学研究院); 流动相: 甲醇、乙酸铵(色谱纯, 科密欧化学试剂有限公司)=4:96(V:V); 0.22 μm 水系滤膜(天津津腾公司); 实验室用水为 Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司)。

LC-2030C 高效液相色谱仪(配紫外检测器, 日本岛津公司); UltiMate3000 高效液相色谱仪[配二极管阵列检测器(DAD), 德国赛默飞公司]。

2.2 实验方法

本实验主要针对液相色谱法检测酿造食醋中糖精钠假阳性情况进行分析、生鲜面制品中山梨酸进行对比研究。准确、科学的采集、制备样品, 保证样品具有代表性^[12,13], 试样的制备与提取严格按照 GB 5009.28-2016 中第一法液相色谱法进行^[11]。其中, 样品由于检测苯甲酸、山梨酸、糖精钠项目, 因此, 将三者的储备液混合后进行适当稀释作为标准溶液, 以下简称苯山糖混标。

3 结果与分析

3.1 酿造食醋中糖精钠

由色谱图 1、3、4, 样品保留时间与糖精钠标品保留时间基本一致, 图 2 糖精钠标准溶液在浓度(0.96~24) mg/L 范围内, 浓度与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y=20922.5X-813.927$, 相关系数 r^2 为 0.9995276。根据校准曲线得到样品中糖精钠浓度(表 1), 经计算, 此酿造食醋样品中糖精钠含量为 0.0242 g/kg, 根据 GB 2760 规定^[14], 食醋中不得使用糖精钠, 对该样品进行复测和加标实验。

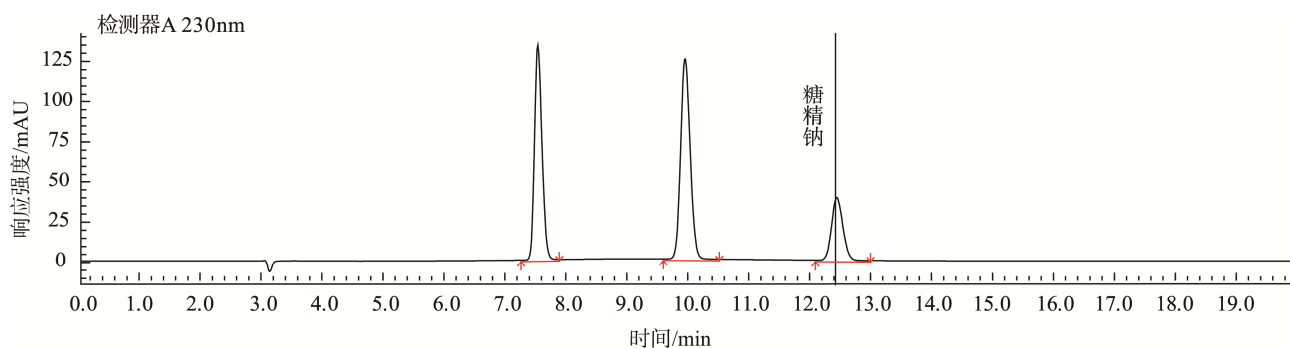


图 1 苯山糖混标液色谱图(初测)

Fig.1 The standard solution chromatogram of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium(preliminary test)

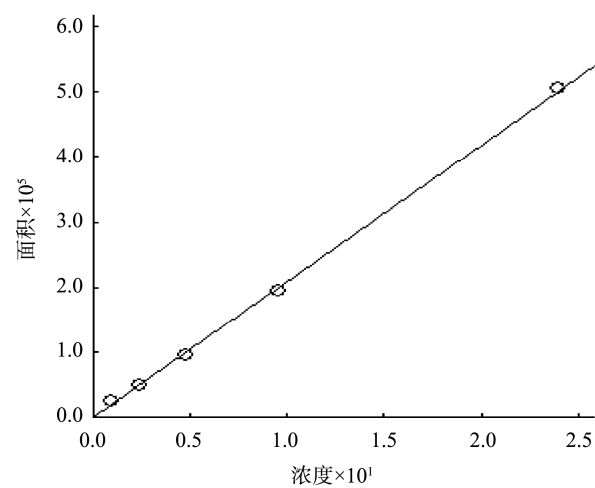


图 2 糖精钠标液校准曲线(初测)
Fig.2 Calibration curve of saccharin sodium (preliminary test)

由色谱图 5、6、7、8, 复测样品保留时间与糖精钠标品保留时间基本一致, 图 9 糖精钠标准溶液在浓度(0.46 ~

23) mg/L 范围内, 浓度与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y=21977.9X+0$, 相关系数 r^2 为 0.9999653。根据校准曲线得到样品中糖精钠浓度(表 2), 经计算, 复测酿造食醋样品中糖精钠含量为 0.0338 g/kg, 且加标回收率为 92%, 根据 GB 2760 规定, 食醋中不得使用糖精钠, 判定该样品不合格。实验过程由于未采用 DAD 检测器, 最终该样品经复检为假阳性, 说明样品中检测出的物质并不是糖精钠。为此, 对另一样品依据同样的检测方法进行, 使用配有 DAD 检测器的高效液相色谱仪, 确定 DAD 在样品假阳性检测中的重要性。

3.2 生鲜面制品中山梨酸

3.2.1 生鲜面制品中山梨酸色谱分析

通过色谱图 10, 生鲜面制品样品保留时间与山梨酸标品保留时间一致, 图 11 山梨酸标液在浓度(0.45~45) mg/L 范围内, 浓度与峰面积呈良好的线性关系, 回归方程为 $Y=0.9864X-0.0430$, 相关系数 r^2 为 1.0000。因此, 初步判定该样品含有山梨酸。

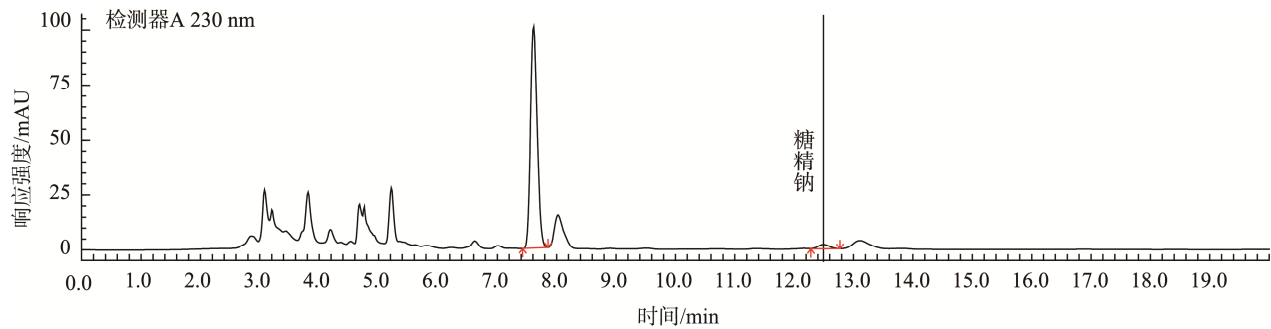


图 3 食醋样品-1 色谱图(初测)
Fig.3 The chromatogram of vinegar sample-1 (preliminary test)

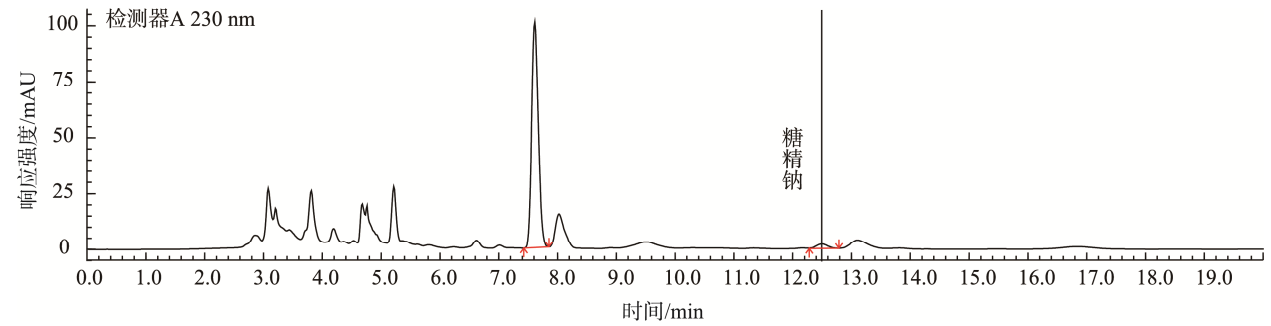


图 4 食醋样品-2 色谱图(初测)
Fig.4 The chromatogram of vinegar sample-2 (preliminary test)

表 1 糖精钠标品、食醋样品结果(初测)				
Table 1 The results of saccharin sodium standard and vinegar samples(preliminary test)				
化合物名	保留时间/min	面积/(mAU*min)	高度/mAU	浓度/(mg/L)
糖精钠标品	12.425	503782	39082	24.117
食醋样品-1	12.494	26194	1971	1.291
食醋样品-2	12.493	26951	2002	1.327

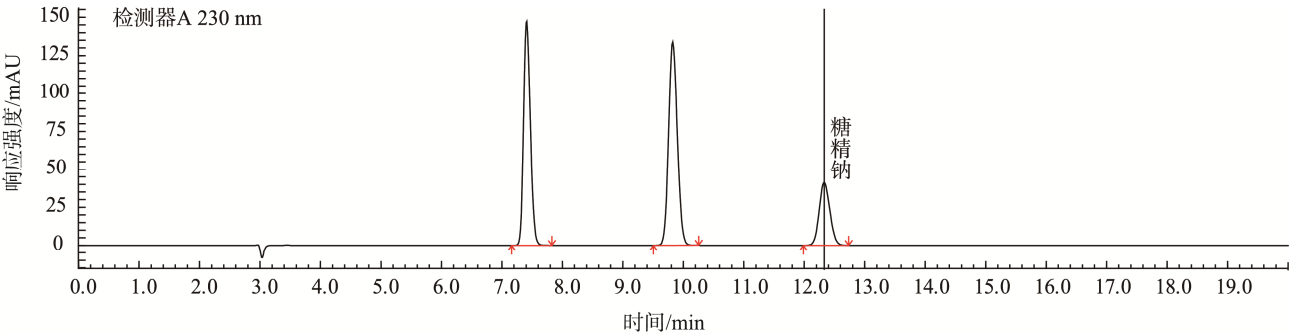


图 5 苯山糖混标液色谱图(复测)

Fig.5 The standard solution chromatogram of benzoic acid、sorbic acid and saccharin sodium(retest)

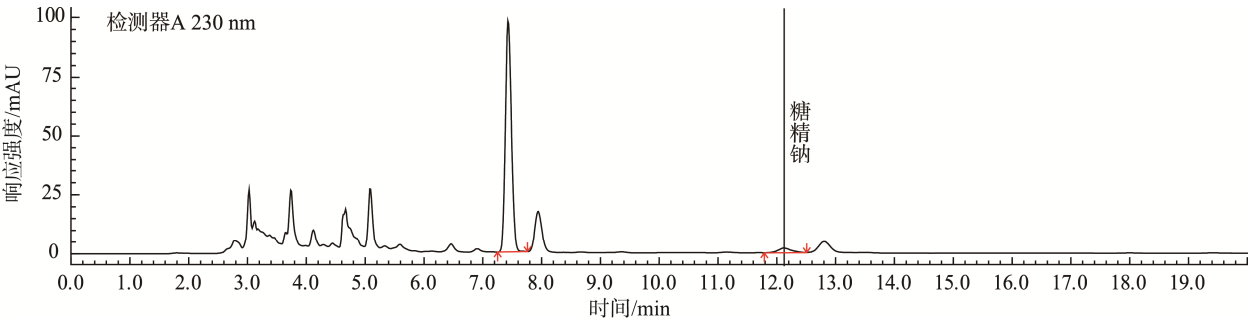


图 6 食醋样品-1 色谱图(复测)

Fig.6 The chromatogram of vinegar sample-1(retest)

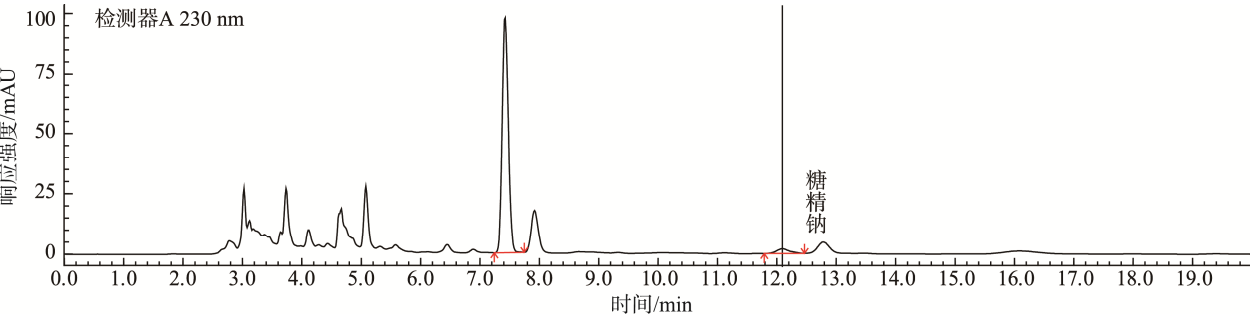


图 7 食醋样品-2 色谱图(复测)

Fig.7 The chromatogram of vinegar sample-2(retest)

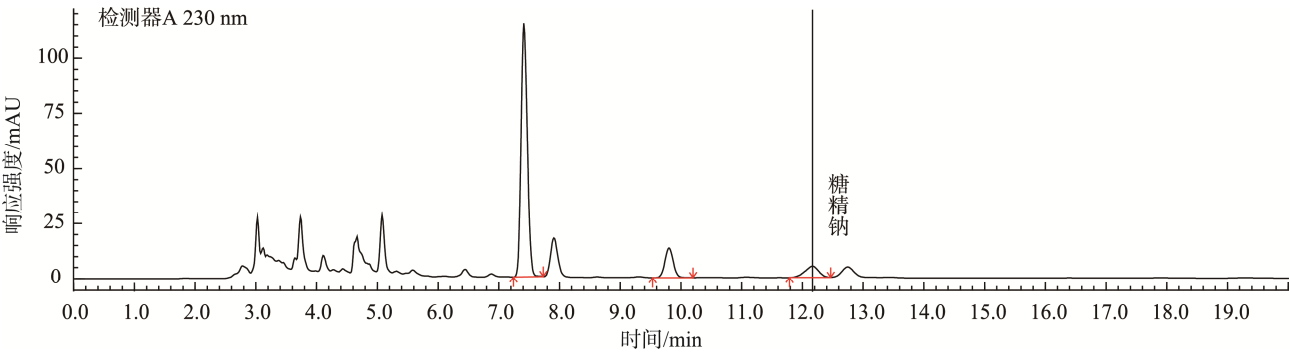


图 8 食醋样品加标色谱图(复测)

Fig.8 The spiked chromatogram of vinegar sample(retest)

表 2 糖精钠标品、食醋样品结果(复测)				
Table 2 Results of saccharin sodium standard and vinegar samples(retest)				
化合物名	保留时间/min	面积/(mAU·min)	高度/mAU	浓度/(mg/L)
糖精钠标品	12.329	506868	41154	23.063
食醋样品-1	12.124	32000	1984	1.456
食醋样品-2	12.094	31366	1994	1.427
食醋样品加标	12.166	82241	5142	3.742

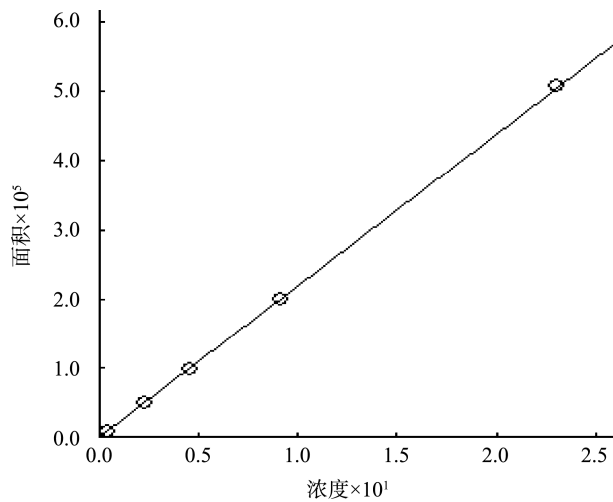


图 9 糖精钠标液校准曲线(复测)
Fig.9 Calibration curve of saccharin sodium(retest)

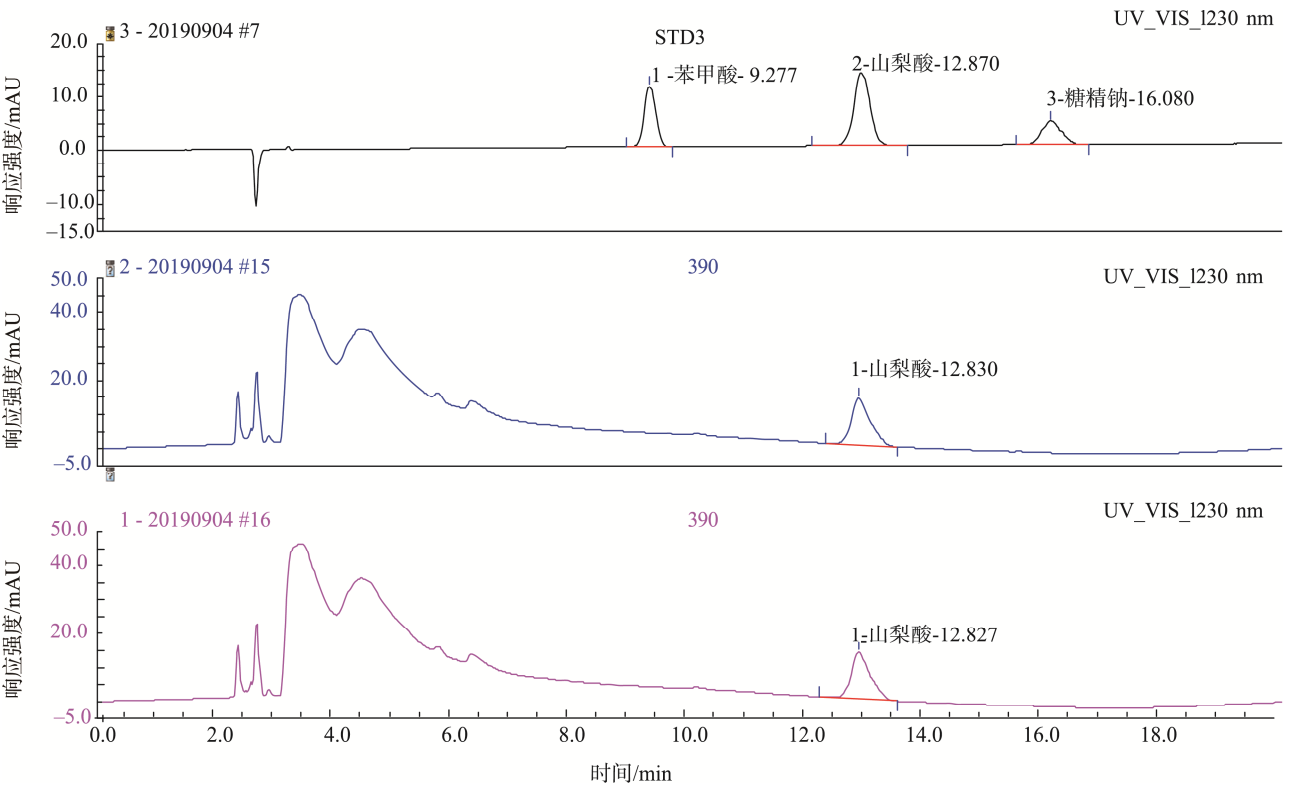


图 10 苯山糖混标液和生鲜面制品平行样色谱图
Fig.10 The chromatogram of standard solution of benzoic acid、sorbic acid and saccharin sodium、fresh noodles

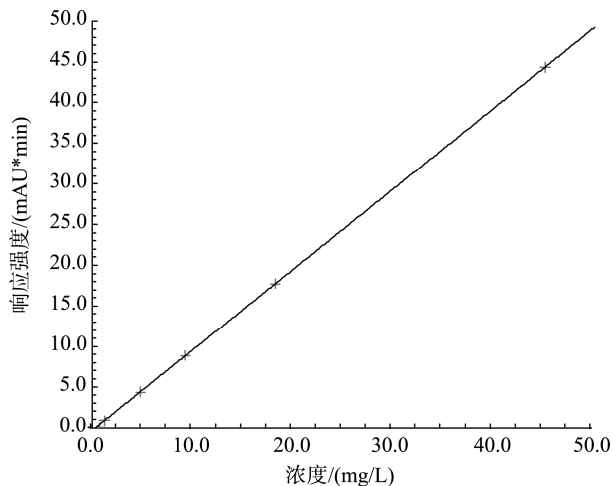


图 11 山梨酸标液校准曲线
Fig.11 Calibration curve of sorbic acid

3.2.2 高效液相色谱-DAD 联用排除生鲜面制品中山梨酸假阳性

根据图 12, 对山梨酸标品进行 DAD 在线提取光谱, 目标峰在 253.64 nm 波长处有最大吸收。对比山梨酸标品光谱图, 生鲜面制品平行样品所提取的光谱图, 出峰峰起

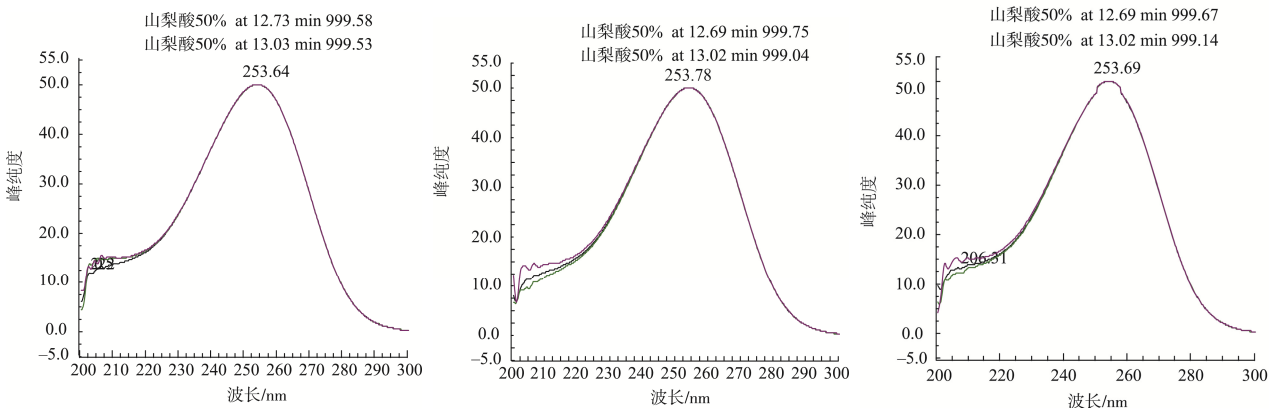


图 12 山梨酸标品(左)和生鲜面制品平行样(中、右)UV-Vis 光谱图
Fig.12 UV-Vis spectrogram of sorbic acid standard (left) and fresh noodles (middle and right)

表 3 山梨酸标品、生鲜面制品结果
Table 3 Results of sorbic acid standard and fresh noodles

化合物名	保留时间/min	面积/(mAU·min)	高度/mAU	浓度/(mg/L)
山梨酸标品	12.8700	4.3865	13.6751	4.4907
生鲜面制品中山梨酸-1	12.8300	5.1172	13.8521	5.2314
生鲜面制品中山梨酸-2	12.8267	5.1332	13.8327	5.2476

参考文献

[1] 刘敏. 高效液相色谱法测定食品中的添加剂和非法添加物[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
Liu M. Determination of food additives and illegal additives by HPLC in food [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.

[2] 罗爽, 范华峰. 高效液相色谱技术在食品检测中的应用探讨[J]. 现代食品, 2019, 7(31): 111-114.
Luo S, Fan HF. Application of high performance liquid chromatography in food detection [J]. Mod Food, 2019, 7(31): 111-114.

[3] 王常柱, 武杰, 高晓宇. 食品添加剂的基本属性、主要功能与三大特征

点、峰顶点、峰落点与山梨酸标品基本一致, 最大吸收波长的位置和整个光谱形状都与标品光谱图一致, 且样品中峰纯度都达到 999, 因此, 可以确定此物质是纯物质, 为山梨酸, 排除样品假阳性情况的存在, 该生鲜面制品检出山梨酸。

经计算, 该样品中山梨酸含量为 0.130 g/kg, 根据 GB 2760 规定, 生鲜面制品中不得使用山梨酸, 判定该样品不合格(表 3)。

4 结 论

按照国标要求, 高效液相色谱法检测常用食品添加剂通常采用紫外检测器, 以保留时间定性、峰面积定量。由于紫外检测器功能较单一, 对于基质较复杂的食品样品, 极易出现不同组分在同一保留时间出峰^[15], 如果仅通过保留时间定性, 容易出现诸如上述假阳性情况。不同物质具有不同的光谱信息, 通过上述糖精钠假阳性检测及山梨酸阳性判定经历, 检测中应结合实际配合采用二极管阵列检测器, 从保留时间和光谱信息综合进行定性分析, 这样才能保证检测结果更加准确可靠。

- [J]. 中国食品添加剂, 2015, (10): 154–158.
- Wang CZ, Wu J, Gao XY. Basic attributes, functions and characteristics of food additives [J]. Chin Food Addit, 2015, (10): 154–158.
- [4] 张辉, 贾敬敦, 王文月, 等. 国内食品添加剂研究进展及发展趋势[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(3): 225–233.
- Zhang H, Jia JD, Wang WY, *et al.* Current status and future trends of food additives research in China [J]. J Food Sci Biotechnol, 2016, 35(3): 225–233.
- [5] 武中庸, 赫欣睿, 叶永丽, 等. 高效液相色谱法在食品添加剂检测中的应用[J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2016, 37(102): 65–69.
- Wu ZY, He XR, Ye YL, *et al.* Applications of HPLC in food additives analysis [J]. J Northwest Univ National (Nat Sci), 2016, 37(102): 65–69.
- [6] 李巨中. 浅谈食品添加剂的作用与危害[J]. 科学之友, 2013, (4): 138–139.
- Li JZ. Introduction to the use of additives in food and the hazard [J]. Friend Sci Amat, 2013, (4): 138–139.
- [7] 潘晴, 武致, 杨芳, 等. 高效液相色谱法测定复杂基质食品中的防腐剂[J]. 食品科学, 2007, 28(8): 350–353.
- Pan Q, Wu Z, Yang F, *et al.* Preservatives determination in food of complex matrix by high performance liquid chromatography [J]. Food Sci, 2007, 28(8): 350–353.
- [8] 郑成荣, 范艳红, 孙洪峰, 等. 干燥蒜粉中苯甲酸检测的假阳性分析[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(7): 113–117.
- Zheng CR, Fan YH, Sun HF, *et al.* The false positive analysis of benzoic acid detection in dry garlic powder [J]. Food Res Dev, 2009, 30(7): 113–117.
- [9] 林楠, 周欣蕊, 王婷, 等. 高效液相色谱法在食品安全检测中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(6): 1431–1437.
- Lin N, Zhou XR, Wang T, *et al.* Application of high performance liquid chromatography in food safety detection [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(6): 1431–1437.
- [10] 康绍英, 张继红, 沈汇琴, 等. 二极管阵列-高效液相色谱同时检测食品中的安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠和脱氢乙酸[J]. 食品与机械, 2007, 23(5): 118–121.
- Kang SY, Zhang JH, Shen HQ, *et al.* The simultaneous determination of acesulfame-K, benzoic acid sorbic acid saccharin sodium and dehydroacetic acid in foods by high performance liquid chromatography with diode array detector [J]. Food Machin, 2007, 23(5): 118–121.
- [11] 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].
- [12] 张春梅, 马巧云, 时晓敏, 等. 食品样品的采集、初级制备与保存[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(14): 4461–4464.
- Zhang CM, Ma QY, Shi XM, *et al.* Collection, primary preparation and preservation of food sample [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(14): 4461–4464.
- [13] 梁超. 食品检验前样品的制备与保存分析[J]. 食品安全导刊, 2018, 30(29): 38.
- Liang C. Preparation and preservation analysis of food samples before inspection [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, 30(29): 38.
- [14] 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].
- [15] 计丹婷. HPLC-DAD 联用技术在食品添加剂假阳性检测方面的应用[D]. 南京: 南京理工大学, 2014.
- Ji DT. HPLC-DAD Method for the False-positive determination in food additives [D]. Nanjing: Nanjing University of Technology, 2014.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介



毛 敏, 助理工程师, 主要研究方向为食品理化检验及相关研究。
E-mail: 763202360@qq.com