

毛细管电泳法分离测定 食品中山梨酸、苯甲酸、糖精

胡美珍, 王文铮, 张燕琴

(上海师范大学 生命与环境科学学院, 上海 200234)

摘要: 采用毛细管电泳-紫外检测法, 考察了波长、电压、缓冲试剂、浓度、pH 对山梨酸、苯甲酸、糖精分离的影响, 得到了优化的实验条件. 以硼砂 20mmol/L (pH = 7.5) 为运行缓冲溶液, 20kV 为分离电压, 检测波长为 230nm 的电泳条件下, 进样时间为 10s, 山梨酸、苯甲酸、糖精可在 12min 内实现分离. 山梨酸在 5mg/L ~ 50mg/L, 苯甲酸在 5mg/L ~ 50mg/L, 糖精在 15mg/L ~ 150mg/L 范围内呈良好线性关系, 迁移速度、峰面积相对标准偏差均小于 4.5%, ($n = 5$). 用上述方法对实际样品进行测定, 回收率在 95% 以上.

关键词: 毛细管电泳-紫外检测法; 添加剂; 山梨酸; 苯甲酸; 糖精

中图分类号: O657 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-5137(2004)03-0063-04

0 引言

毛细管电泳(简称 CE), 是 80 年代初发展起来的一种新型高效的分离技术^[1]. 它具有高效、快速、样品用量少、测定成本低等优点, 自其产生以来, 迅速渗透到与分析化学相关的各个学科. 如: 医药、环境、食品等各个领域. 苯甲酸、山梨酸、糖精是常用的食品添加剂. 国家规定限量使用. 所以测定食品中苯甲酸、山梨酸、糖精的含量十分重要. 目前上述三种添加剂, 大都采用紫外分光光度法、薄层层析法、气相色谱法和高效液相色谱法等^[2-4]. 本文用 CE 法分离测定上述三种添加剂, 方法简便, 灵敏度和重现性均符合食品分析的要求, 样品前处理测定步骤较紫外光度法、薄层层析法简单, 测定成本较 HPLC 低, 有很好的实用价值.

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

仪器 高效毛细管电泳仪、ACS2000 紫外检测器(北京彩陆科学仪器有限公司)(中科院研究生院应用化学研究所); 毛细管总长度: 60cm, 有效长度: 54cm, 直径: 50 μ m; CQ50 超声波清洗器(上海超声波仪器厂); pHs-3C 型酸度计(上海华侨仪表厂); 过滤器 \varnothing 25(上海市医工院); 0.22 μ m 滤膜(上海兴亚净化材料厂); 注射器 5mL

试剂 硼砂(优级纯)、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、三(羟甲基)氨基甲烷(简称 Tris)、山梨酸、苯甲酸、糖精均为分析纯, 样品为汽水、番茄沙司、蜜饯, 水为二次蒸馏水.

收稿日期: 2003-11-01

作者简介: 胡美珍(1945-), 女, 上海师范大学生命与环境科学学院副教授.

1.2 实验方法

1.2.1 标准样品的制备

参照国标法,准确称取山梨酸、苯甲酸、糖精,分别溶解、定容,使其质量浓度均为1.0mg/mL。以0.22 μ m滤膜过滤备用。

1.2.2 样品的制备

汽水,经超声波超声,除去二氧化碳,0.22 μ m滤膜过滤,待用。

番茄沙司、蜜饯:准确称取2g左右样品置于具塞小量筒中,加H₃PO₄数滴,准确加入乙醚10mL,连同量筒称其总量,猛烈振摇2min,再次称重,如重量减少,加入乙醚补充至原有重量,混匀。取乙醚5mL,置于烧杯中,经40℃水浴加热,将乙醚挥发后,用硼砂缓冲液定容至10mL。经0.22 μ m滤膜过滤,待用。

1.2.3 电泳条件

以硼砂20mmol/L(pH=7.5)为电泳缓冲液,在20kV恒压下进行电泳分离,在230nm波长处检测,电动进样,进样时间10s。毛细管使用前用0.10mol/L的NaOH,水和电泳缓冲液分别冲洗30min。每次电泳后,用上述溶液各冲洗2min。

2 结果与讨论

2.1 测定波长的选择

据有关资料^[3,4]报道苯甲酸的最大吸收波长为227nm,山梨酸为250nm,糖精为207nm,综合考虑以230nm为测定波长。

2.2 分离电压的选择

分别配制山梨酸、苯甲酸、糖精浓度均为10mg/L的混合标准溶液。在波长为230nm,进样时间为10s,缓冲液为硼砂30mmol/L(pH=7.5)的电泳条件下,改变电压(10~25kV),并观察分离情况。结果表明,电压在10~20kV范围内各组分的迁移时间随着分离电压增高,迁移时间减小,峰高增大,但分离度有所降低。电压增高,电流增大,产生焦耳热,使谱线变宽。综合考虑,实验选用20kV作为分离电压。

2.3 缓冲试剂的选择

分别配制浓度均为30mmol/L的硼砂、磷酸体系(磷酸二氢钠和磷酸氢二钠混合液)、Tris的缓冲体系,调节pH到7.5,进行试验。用山梨酸、苯甲酸、糖精浓度均为10mg/L的混合标准溶液试验。电泳条件:波长为230nm,进样时间为10s,电压20kV。结果表明,山梨酸、苯甲酸、糖精在硼砂体系中分离情况最好,选择硼砂体系作为缓冲体系。

2.4 缓冲液浓度选择

以硼砂为缓冲液,分别配制20,30,40mmol/L硼砂溶液,pH均调节为7.5,按上述电泳条件进行。结果表明,硼砂浓度为20mmol/L时,山梨酸、苯甲酸、糖精可在12min内得到很好的分离,峰面积、峰高和峰形较30mmol/L,40mmol/L好,故选择20mmol/L硼砂作为运行缓冲溶液。

2.5 缓冲液pH的选择

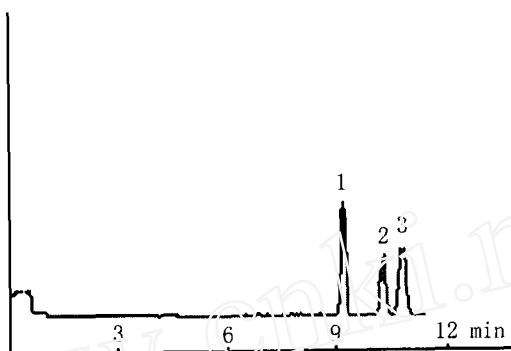
以20mmol/L硼砂溶液为缓冲介质,分别调节溶液的pH为7.5,8.0,8.5,9.0。在上述试验确定的条件下,观察上述3种组分的迁移行为,实验结果表明在pH为7.5时山梨酸、苯甲酸、糖精迁移时间差别最大,而且其中糖精的峰高较其他pH值时高,故缓冲液pH选择7.5。

2.6 优化条件下的电泳图

配制30mg/L的山梨酸、30mg/L的苯甲酸和90mg/L的糖精混合标准溶液,按上述确定的分离条件进行,分离情况,见图1。

2.7 工作曲线及检测限

在上述优化条件下,对一系列山梨酸、苯甲酸、糖精的标准混合样品进行分析测定,测定其峰面积与浓度的关系,所得山梨酸、苯甲酸、糖精的线性范围相关系数及检测限。结果见表1。



1 - 山梨酸; 2 - 苯甲酸; 3 - 糖精

图1 混合标准液电泳图

表1 山梨酸、苯甲酸、糖精的线性范围及检测限

被测物	线性范围 mg/L	相关系数 γ	检测限 mg/L
山梨酸	5.0 ~ 50	0.9958	3.0
苯甲酸	5.0 ~ 50	0.9950	4.0
糖精	15 ~ 150	0.9953	5.0

* 检测限按3倍噪声计算

2.8 精密度试验

配制浓度分别为30 mg/L的山梨酸、苯甲酸和90 mg/L的糖精的标准混合液平行进样5次,测得山梨酸迁移时间的RSD为1.9%,峰面积的RSD为4.5%;苯甲酸的迁移时间的RSD为2.2%,峰面积的RSD为4.2%;糖精的迁移时间的RSD为3.8%,峰面积的RSD为3.3%.

2.9 实际样品的测定

取汽水、番茄沙司、蜜饯,经预处理后,按上述确定的电泳条件进行分离测定,结果见表2:

表2 实际样品测定结果($n=3$)

样品名称	组分	实际含量 (mg/L)	添加量 (mg/L)	测得量 (mg/L)	回收率 (%)
汽水	苯甲酸	81.44	40	119.4	95.0
番茄沙司	苯甲酸	82.20	80	169.4	109
	山梨酸	68.35	80	149.2	101
蜜饯	苯甲酸	107.0	80	183.2	95.0
	糖精	104.0	40	145.1	103

2.10 结论

本法选用20mmol/L (pH=7.5)的硼砂作为缓冲溶液,20kV为采样和分离电压,10s进样,检测波长为230nm的电泳条件下,,山梨酸、苯甲酸、糖精可在12min内得到分离.本法线性关系良好($R > 0.995$),迁移时间和峰面积相对标准偏差均小于4.5%,实际样品测定的回收率在95%以上,方法简单、快速,相对于其他分析方法,具有预处理简便,检测成本低等特点.由此可见,毛细管电泳法在食品分析领域有良好的应用前景.

参考文献:

- [1] 陈义. 毛细管电泳技术及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
- [2] 胡慰望, 谢笔钧. 食品化学[M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- [3] 国家技术监督局. 中华人民共和国国家标准[S]. 1996.
- [4] 黄伟坤. 食品检验与分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.

Separation and determination of sorbic acid, benzoic acid, saccharin in food by capillary electrophoresis

HU Mei-zhen, WANG Wen-zheng, ZHANG Yan-qin

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

Abstract: A new method for determination of sorbic acid, benzoic acid, and saccharin in food was developed by capillary electrophoresis with UV detection. The main effect factors on the separation, the separation voltage, the composition of the running buffer solution and its pH, as well as the waves length of the UV detector, were optimized. With 20 mmol/L borax (pH = 7.5) running buffer solution, 20 kV of the separation voltage, and 230 nm of the detection wave length, the above substances could be separated within 12 min. Under such optimum conditions, the linear ranges for sorbic acid, benzoic acid, and saccharin are 5 mg/L ~ 50 mg/L, 5 mg/L ~ 50 mg/L, and 15 mg/L ~ 150 mg/L, respectively, and the relative standard deviation was less than 4.5%. The recovery of this method to the real samples was found to be better than 95%.

Key words: UV detection; additive; sorbic acid; benzoic acid; saccharin