

食品防腐剂及其分析技术新编

王栩冬 渠志华

(天津市卫生防病中心 天津 300011)

王克利 李明元

(天津经济技术开发区卫生防病站 天津 300457)

摘要 随着食品种类以及防腐剂品种的增加,使用范围扩大,我国准许使用的防腐剂种类已经由 GB2760-1996 中 28 个品种增加到 2003 年的 36 个品种;在 GB2760-1996 已制定的食品防腐剂标准检验方法包括:食品中山梨酸、苯甲酸、丙酸钠、丙酸钙、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类、水果中乙氧基喹残留量等几种测定方法。近年来食品中防腐剂的测定,特别是多组分同时测定方法发展很快,多半采用 HPLC 法。上述国家标准检验方法已不能完全满足当前检验工作的需要。本文重点介绍饱和硫酸铵蒸馏法食品中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类等九种防腐剂同时测定法、柑橘类残留噻苯咪唑等五种防腐剂测定方法和 HPLC 法沙拉酱及干酪中纳他霉素含量测定方法。

关键词 防腐剂 高效液相色谱法

食品添加剂是指为改善食品品质及色、香味,以及为防腐和加工工艺的需要而加入食品中的化学合成或天然物质。这些物质在产品中必须不影响食品营养价值,并具有增强食品感官性状或提高食品质量的作用。按我国食品添加剂分类和代码(GB12493-1990)规定,食品添加剂共分成 21 类^{1~3},食品防腐剂是其中一类。

1 食品防腐剂

对微生物或霉菌具有杀灭、抑制或阻止生长作用的食品添加剂为防腐剂。我国准许使用的防腐剂 GB2760-1986 有:苯甲酸及其钠盐、山梨酸及其钾盐、二氧化硫、焦亚硫酸钠及其钾盐、丙酸钙、丙酸钠、对羟基苯甲酸乙酯、丙酯、脱氢醋酸、双乙酸钠、葡萄糖- δ -内酯和乳酸链球菌素。1996 年对 GB2760-1986 作很大修订,把二氧化硫、焦亚硫酸钾及其钠盐列入漂白剂。将葡萄糖- δ -内酯归到稳定和凝固剂中。特别是把保鲜剂、过氧化氢、乙氧基喹、仲丁胺、桂醛、噻苯咪唑、苯基苯酚、苯基苯酚钠等统统归到防腐剂中。这与日本相反。1997 年以前日本把噻苯咪唑、联苯、苯基苯酚、苯基苯酚钠等列为防腐剂,1997 年单列项为防霉剂。食品防腐剂 GB2760-1996 共有 28 个品种,1997 年新增丙酸、纳他霉素和液体二氧化碳(催化法)。1998 年增补单辛酸甘油酯。1999 年增加脱氢醋酸钠。2002 年增加对羟基苯甲酸甲酯钠,对羟基苯甲酸乙酯钠和对羟基苯甲酸丙酯钠。截止到 2003 年共 36 个品种。

食品防腐剂使用卫生标准参见 GB2760-1996,其中 1997~2003 年新增品种和扩大使用品种(见表 1)。

2 测定方法

已制定的食品防腐剂标准检验方法有:GB/T5009.29-2003 食品中山梨酸、苯甲酸测定法(GC、HPLC、TLC 法);GB/T5009.120-2003 食品中丙酸钠、丙酸钙的测定方法(GC 法);GB/T5009.121-2003 食品中脱氢乙酸的测定方法(GC 法);GB/T5009.31-2003 食品中对羟基苯甲酸酯类的测定方法(GC 法)和 GB/T5009.129-2003 水果中乙氧基喹残留量测定方法(GC 法)。随着食品防腐剂品种增加,使用范围扩大,苯甲酸山梨酸等已允许在肉灌肠、含乳饮料等基质比较复杂的食品中使用。上述检验方法已不能完全满足当前检验工作的需要。特别是噻苯咪唑、邻苯基苯酚、纳他霉素等已制定残留量标准,还没有标准检验方法。近年来食品中防腐剂的测定,特别是多组分同时测定方法发展很快,多半采用 HPLC 法。下面介绍饱和硫酸铵蒸馏法食品中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸酯类九种防腐剂同时测定法⁵、柑橘类残留噻苯咪唑等五种防腐剂测定方法⁶和 HPLC 法沙拉酱及干酪中纳他霉素含量测定方法⁷。

2.1 饱和硫酸铵蒸馏法

食品中苯甲酸、山梨酸、脱氢醋酸对羟基苯甲酸酯类九种防腐剂同时测定法。

食品中防腐剂的 analysis,试样前处理的方法有水蒸气蒸馏法和有机溶剂提取法。一般用气相色谱法

表 1 1997~2003 年食品防腐剂新增品种和扩大使用品种

食品防腐剂名称(代码)	使用范围	最大使用量 g/kg	备注
苯甲酸(17.001)	果汁(果味)冰	1.0 混用或单一使用	1998 年扩大使用
苯甲酸钠(17.002)	预调酒	0.2	2002 年扩大使用
山梨酸(17.003)	果汁(果味)冰	0.5 混用或单一使用	1998 年扩大使用
山梨酸钾(17.004)	含乳饮料	0.5	1999 年扩大使用
	预调酒	0.2	2002 年扩大使用
	肉灌肠	1.5	
丙酸	粮食	1.8	安尼妥司大药厂 1997 年扩大使用
对羟基苯甲酸乙酸钠 对羟基苯甲酸丙酸钠 对羟基苯甲酸甲酸钠	同 GB2760 中对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯 的规定		卫通(2002)7 号 2002.05.01 起实施
脱氢乙酸(17.009)	奶油	0.5	1999 年新增
脱氢乙酸钠	面包	0.1~0.3	
	汤料(调味料、速食汤料) 糕点(包括蛋糕、月饼、馅 料等)	0.5	卫通(2002)7 号扩大 使用
仲丁胺(17.011)	蒜苔、青椒	按 GB2760 规定(残留量: 0.003g/kg)	1998 年扩大使用
噻苯咪唑(17.018)	蒜苔、青椒	0.01(残留量 0.002g/kg)	河北农业大学 1998 年扩大使用
液体二氧化碳(催化法)	按 GB2760 有关 CO ₂ 的规 定执行	上海石化岩气体开发有 限公司 1997 年增补	液体二氧化碳(催化法)
食品防腐剂名称(代码)	使用范围	最大使用量 g/kg	备注
双乙酸钠(17.013)	膨化食品调味料 复合调味料 油炸薯片 油脂 调味品 肉制品 糕点 大米保鲜	8 10.0 1.0 1 2.5 3 4 0.2(残留量<0.03)	1997 年扩大使用 1998 年扩大使用 1998 年扩大使用 1999 年扩大使用 1999 年扩大使用 1999 年扩大使用 1999 年扩大使用 2003 年扩大使用
纳他霉素 natamycin (微生物发酵法)	乳酪、肉制品(肉汤、 西式火腿)、广式月 饼、糕点表面、果汁原 浆表面、易发霉食品 加工器皿表面 沙拉酱 发酵酒	200~300mg/kg 混悬液喷雾或 浸泡残留量小于 10mg/kg 10mg/kg 0.02(残留量:10mg/kg) 10mg/L	美国辉瑞有限公司 1997 年增补 科特尔(广州)有限公司 1998 年扩大使用
单辛酸甘油酯	肉汤 豆馅、蛋糕、月饼、 湿切面	0.5 1.0	1998 年增补

定量,近年来发表很多高效液相色谱法(HPLC)⁸,这些方法试样前处理简单,测定结果较准确,但是多数方法仅限于某种食品,应用于多种多样食品时,常常出现妨碍峰干扰。

用水蒸气蒸馏法进行试样预处理时,对羟基苯甲酸酯类(PHBA-Es)的回收率低,用饱和硫酸铵—

水蒸气蒸馏法进行试样预处理,用 HPLC 法测定苯甲酸(BA)、山梨酸(SOA)、脱氢醋酸(DHA)和 PHBA—ES。用 GC 法测定丙酸(PA)。

研究水蒸气蒸馏盐析效应,分别用 NaCl、KCl、NH₄Cl、Na₂SO₄、K₂SO₄ 和 (NH₄)₂SO₄ 饱和溶液做试验,结果 (NH₄)₂SO₄ 效果最好,回收率达 100%。

食品中含油量对蒸馏效果干扰试验证明,含油量增加,PHBA-ES的回收率随之降低。对羟基苯甲酸丁酯(PHBA-Bu)最显著,丙酯(PHBA-Pr)、乙酯(PHBA-Et)和甲酯(PHBA-M)影响较小。含油1%时,所有PHBA-ES的回收率均在90%以上。当试样含油50%时BA、DHA回收率略下降,但SOA和PA的回收率不受影响。

BA、SOA及DHA的标准原液用磷酸盐缓冲溶液甲醇(95:5)稀释成 $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$, $5\mu\text{g}/\text{mL}$, $10\mu\text{g}/\text{mL}$, $20\mu\text{g}/\text{mL}$, $30\mu\text{g}/\text{mL}$, $50\mu\text{g}/\text{mL}$, 取其 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ 进HPLC。PHBA-ES标准原液用磷酸盐缓冲溶液-甲醇(95:5)稀释成 $0.05\mu\text{g}/\text{mL}$, $0.5\mu\text{g}/\text{mL}$, $1\mu\text{g}/\text{mL}$, $2\mu\text{g}/\text{mL}$, $3\mu\text{g}/\text{mL}$, $5\mu\text{g}/\text{mL}$, 取其 $20\mu\text{L}$ 进HPLC。另外PA标准原液用水稀释成 $10\mu\text{g}/\text{mL}$, $100\mu\text{g}/\text{mL}$, $200\mu\text{g}/\text{mL}$, $400\mu\text{g}/\text{mL}$, $600\mu\text{g}/\text{mL}$, $1000\mu\text{g}/\text{mL}$, 取其 5mL 加 1mL 甲酸(1→50),加水至 10mL ,取其 $2\mu\text{L}$ 进GC。得到的色谱图制成标准曲线,其结果BA、SOA、DHA $0.5\sim 50\mu\text{g}/\text{mL}$; PHBA-ES $0.05\sim 5\mu\text{g}/\text{mL}$; PA $5\sim 500\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内呈通过原点的直线。检出限取 25g 试样蒸馏时,BA、SOA、DHA及PA为 $0.01\text{g}/\text{kg}$, PHBA-ES为 $0.001\text{g}/\text{kg}$ 。

在确知不含防腐剂的果酱、泡菜、辣酱油、酱油、人造黄油等6种食品中添加BA、SOA、DHA及PA $0.1\text{g}/\text{kg}$ 及 $1\text{g}/\text{kg}$;添加PHBA-ES $0.1\text{g}/\text{kg}$ 及 $0.01\text{g}/\text{kg}$,反复进行5次测定,其回收率BA $89.3\%\sim 101.4\%$, SOA $96.1\%\sim 100.8\%$ 。DHA $82.3\%\sim 95.4\%$ PA $96.7\%\sim 100.8\%$,但人造黄油中PHBA-ES的回收率较低为 68.1% ,其它食品中的回收率PHBA-Me $84.7\%\sim 99.3\%$, PHBA-Et $96.3\%\sim 102.6\%$, PHBA-iso-Pr $96.2\%\sim 103.5\%$, PHBA-Pr $92.6\%\sim 103.1\%$, PHBA-iso-Bu $93.9\%\sim 102.4\%$, PHBA-n-Bu $88.6\%\sim 101.1\%$ 。

2.1.1 试剂 (1) $0.025\text{mol}/\text{L}$ 磷酸盐缓冲液:磷酸二氢钾 3.4g 加 800mL 水溶液,加 $1\text{mol}/\text{L}$ 氢氧化钠溶液调 $\text{pH}7.2$,加水至 1000mL 。(2)离子交换树脂:用 10% 盐酸溶液将Dowex-50×4(100-200目)制成H型,用水洗至中性,再用甲醇洗涤,减压干燥保存。本离子交换树脂的离子交换能力为 $3.4\text{mM}/\text{g}$ 。(3)BA、SOA、DHA标准原液:精确称取BA、SOA和DHA各 100mg ,用 20mL 甲醇溶解之后,加磷酸盐缓冲溶液至 100mL 。(4)PHBA-ES标准原液:精确称取PHBA-Me、PHBA-Et、PHBA-n-Pr、PHBA-iso-Pr、PHBA-n-Bu、PHBA-iso-Bu各 100mg ,加甲醇至 100mL 。(5)PA标准原液:精确称取PA 100mg ,加水至 100mL 。其

他试剂均用优级纯或HPLC用的试剂。

2.1.2 试样溶液的制备 称取均碎的试样 25g 放入 500mL 蒸馏瓶中,加 100mL 水、 100g 硫酸铵、 10mL 磷酸溶液(1+9)及消泡剂硅酮树脂数滴。在 500mL 容量瓶中加入 $0.2\text{mol}/\text{L}$ KOH-甲醇溶液 25mL 作为接受器,冷凝器的出口插入接受器的液体内,以 $10\text{mL}/\text{min}$ 蒸馏速度进行蒸馏,收集液近 500mL 时,停止蒸馏,加水定容 500mL 。

(1)BA、SOA、DHA和PHBA-ES:取蒸馏液 25mL 放入 50mL 容量瓶中,加 $1\text{mol}/\text{L}$ 磷酸二氢钾溶液 1mL ,加水至 50mL ,用 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜过滤为HPLC用试样溶液。

(2)PA:取馏液 50mL (含多量醋酸等挥发有机酸的食品,用 $0.1\text{mol}/\text{L}$ NaOH溶液调 $\text{pH}9\sim 10$)放入烧瓶中,减压浓缩至干,残留物加水溶解,转移至 10mL 容量瓶中,加 1mL 甲酸(1→50),加水至 10mL 。加离子交换树脂 0.2g 搅拌 1min ,用玻璃棉过滤为GC试验用试液。

2.1.3 测定条件 (1)BA、SOA、DHA:柱:Inertsil-PH($4.6\text{mmid}\times 250\text{mm}$);流动相: $0.025\text{mol}/\text{L}$ 磷酸盐缓冲溶液+甲醇(95+5);流速: $1\text{mL}/\text{min}$;柱温:室温;检测波长: 220nm ;进样量: $5\mu\text{L}$ 。(2)PHBA-ES:柱:Inertsil-PH($4.6\text{mmid}\times 250\text{mm}$);流动相: $0.025\text{mol}/\text{L}$ 磷酸盐缓冲溶液+甲醇(45+55);流速: $0.8\text{mL}/\text{min}$;柱温:室温;检测波长: 254nm ;进样量: $20\mu\text{L}$ 。(3)PA:柱: 10% PEG-6000/shimalite TPA(60~80目)($3\text{mmid}\times 2\text{m}$)玻璃柱;柱温: 160°C ;进样口及检测器温度: 200°C ;载气: N_2 $40\text{mL}/\text{min}$;进样量: $2\mu\text{L}$ 。

2.1.4 果酱中苯甲酸、山梨酸及脱氢醋酸的HPLC的色谱图(见图1)。辣酱油中对羟基苯甲酸酯类HPLC的色谱图(见图2)。

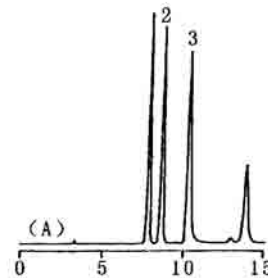


图1 山梨酸、苯甲酸及脱氢醋酸 $0.1\text{g}/\text{kg}$

1. 山梨酸 2. 苯甲酸 3. 脱氢醋酸

2.2 柑桔类残留五种防腐防腐剂的HPLC测定法

为防止收获后的柑桔类腐烂,常常添加防腐防腐剂的。常用的有:噻苯咪唑(TBZ)、邻苯基苯酚(OPP)、联苯(DP)、抑霉唑(IMZ)和苯菌灵(BM)。以上5种防腐剂个别定量法报导较多,5种防腐剂残留量一齐分析法较少。

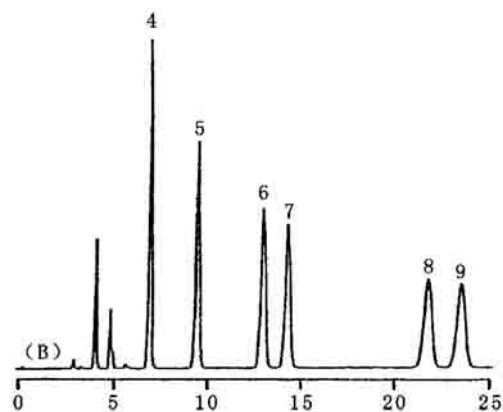


图2 对羟基苯甲酸酯类 0.1g/kg
4. PHBA-Me; 5. PHBA-Et; 6. PHBA-iso-Pr
7. PHBA-n-Pr; 8. PHBA-iso-Bu; 9. PHBA-n-Bu

下面介绍同一试样同时提取后,用 HPLC(紫外和荧光检测器)系统分析上述 5 种防腐剂残留量的方法。TBZ、IMZ 和 BM 在检样中的检出限为 0.05μg/g, DP 和 OPP 为 0.2μg/g,回收率均在 80.5%~97.3%。

2.2.1 试剂及标准溶液 苯菌灵(BM)标准原溶液:精确称取 10.0mg 加甲醇溶解,定容至 100mL (0.1mg/mL)。联苯(DP)、邻苯基苯酚(OPP)、噻苯咪唑(TBZ)和抑霉唑(IMZ)标准原溶液:分别精确称取 DP、OPP、TBZ 和 IMZ 各 100mg,用甲醇溶液并分别定容至 100mL (1mg/mL)。Sep-pak-FL: Water's 公司 Sep-pak-florisil cartridge (TBZ、IMZ 用),磷酸盐缓冲溶液:0.2mol/L KH₂PO₄ 和 0.2mol/L Na₂HPO₄。

2.2.2 装置 高效液相色谱仪、荧光检测器、柱温箱、数据处理、均质器。

2.2.3 操作 称取切碎的试样 100g 加 100mL 水,均质之后,称取其 20g 于烧瓶中,加丙酮 50mL,均质 2min,抽滤之后,残渣再加丙酮 50mL,同样操作,合并滤液密塞于 50℃ 放置 30min,放冷减压浓缩(20℃ 以下)约至 30mL,用 5% 氨水调 pH9,并转移至分液漏斗中,加乙酸乙酯 20mL,振摇提取,分取乙酸乙酯层,水层再用 20mL 乙酸乙酯提取一次,合并乙酸乙酯层(如形成乳浊液可加少量 NaCl)乙酸乙酯层用 5mL 10% NaCl 溶液洗涤二次,弃去水层。

乙酸乙酯层加 0.1mol/L HCL 溶液 20mL 振摇,乙酸乙酯(含 DP、OPP)和酸性水层(含 TBZ、IMZ 和 BM)分开,乙酸乙酯层再加 0.1mol/L HCL 溶液 20mL 同样操作。合并酸性水溶液,乙酸乙酯层加无水硫酸钠脱水后过滤减压浓缩(20℃ 以下),用乙酸乙酯定容 5mL(含 DP、OPP)。

DP、OPP 试验溶液:上述含 DP、OPP 的乙酸乙酯溶液 1mL 加甲醇至 2mL。

TMZ、IMZ 和 BM 用试验溶液:酸性水溶液用 5% 氨水调 pH 至 10 加 NaCl 7g 和乙酸乙酯 30mL,振摇提取。水层再用 30mL 乙酸乙酯提取一次,合并乙酸乙酯层,加无水硫酸钠脱水过滤后减压浓缩用乙酸乙酯定容 5mL。取其 1mL 放入 Sep-pak-FL 柱中,然后用 9mL 乙酸乙酯洗涤之后,用 15mL 甲醇洗脱,甲醇洗脱液在通氮气情况下减压浓缩至干,用 1mL 甲醇溶解。

2.2.4 HPLC 条件

	TBZ 和 MBC [*]	IMZ	OPP 和 DP
分析柱	Cosmosil 5C ₁₈ 4.6mmid×150mm	Cosmosil 5C ₁₈ 4.6mmid×150mm	Lichropher RP-18(e) 4mmid×125mm
预柱	Lichropher RP-18(e) 4mmid×4mm	Lichropher RP-18(e) 4mmid×4mm	Lichropher RP-18(e) 4mmid×4mm
流动相	CH ₃ OH-0.01mol/L KH ₂ PO ₄ (4:6)	CH ₃ CN-0.01mol/L KH ₂ PO ₄ (6:4)	CH ₃ OH-0.01mol/L KH ₂ PO ₄ (65:35)
流速	1.0mL/min	1.0mL/min	1.0mL/min
检测器	UV282nm 荧光:EX285nm EM315nm	UV230nm	荧光:EX225nm EM315nm
柱温	40℃	40℃	40℃
注入量	10μL	10μL	10μL

* BM 在酸性溶液浓缩时分解成 methyl-Z-Benzimidazole carbamate(简称 MBC)。

2.2.5 标准曲线:TBZ、IMZ 和 MBC 1~10μg/mL 范围呈良好的线性,样品中检出限为 0.05μg/g。DP 和 OPP 的标准曲线 0.2~5μg/mL 呈良好直线,检出限 0.2μg/g。

2.2.6 MBC、TBZ、OPP、DP 和 IMZ 的 HPLC 色谱图

(见图 3, 4, 5)。

2.3 HPLC 法测定沙拉酱及干酪中纳他霉素含量方法的研究

纳他霉素(Natamycin)别名多马霉素(Pimaricin)、游霉素,它是从放线菌产生的多烯大环内酯族的抗

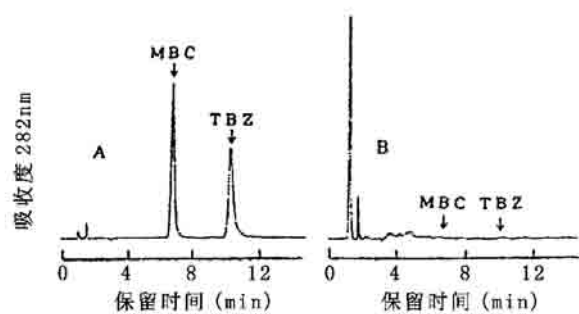


图3 检测器:UV282nm 谱图

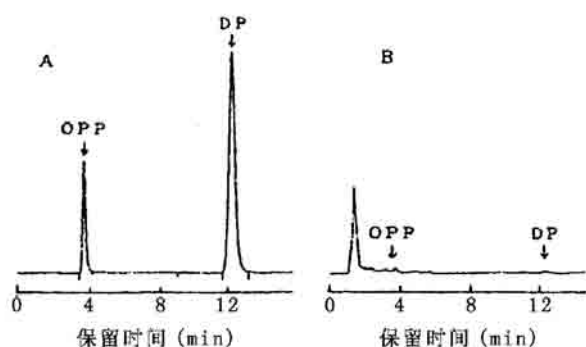
A. MBC 和 TBZ 标准(各 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$);B. 柠檬提取物

图4 荧光检测器:EX255nm, EM315nm 谱图

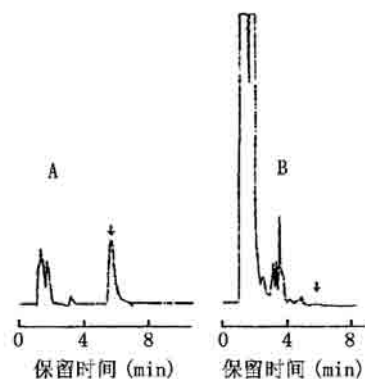
A. OPP 和 DP 标准(各 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$);B. 柠檬提取物

图5 检测器:UV230nm 谱图

A. IMZ 标准(2 $\mu\text{g}/\text{g}$);B. 柠檬提取物

菌物质,其分子式为 $\text{C}_{33}\text{H}_{47}\text{NO}_{13}$, 分子量为 665.7, 纳他霉素是高效的酵母和霉菌的抑制剂,通过防止食品中酵母和霉菌的生长以确保食品的质量,世界各国都称之为防腐剂,在天然干酪、腊肠中使用,在美国及西欧等 20 几个国家允许为天然干酪的表面处理剂。目前,其测定方法在我国尚未建立,本文对沙拉酱及干酪中测定纳他霉素的含量的方法作了研究,样品处理较为简单,操作简易,精密度 $\text{RSD} = 2.4\%$;线性范围 $0 \sim 10\mu\text{g}/\text{mL}$; $r = 0.999$;准确度添加回收率 $85\% \sim 104\%$ 。

2.3.1 原理 利用冰乙酸+水(5+40)直接提取沙拉酱(干酪)中的纳他霉素离心分离后,在高效液相色谱仪上于波长 305nm 处测定其含量。

2.3.2 试剂 (1)甲醇:色谱纯;(2)冰乙酸+水(5+40);(3)流动相:甲醇+水+冰乙酸(60+40+5)(经 $0.45\mu\text{m}$ 滤膜);(4)纳他霉素标准贮备液:称取纳

他霉素标准品 10.00mg,用试剂(2)溶解,定容至 100mL($100\mu\text{g}/\text{mL}$);(5)纳他霉素标准使用液:吸取 10.0mL 纳他霉素标准贮备液置于 100mL 容量瓶中,用试剂(2)定容至刻度($10\mu\text{g}/\text{mL}$);(6)2mol/L 的 NaOH 溶液。

2.3.3 色谱条件 柱:大连依利特科学仪器有限公司 HYPERSTLBDS C_{18} 4.6id \times 150mm;柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;流动相:甲醇+水+冰乙酸(60+40+5);流速:1.00mL/min;检测波长:305nm;进样量:10 μL 。

2.3.4 样品提取 以减量法称取试样(沙拉酱、干酪)1g 左右,置于 10mL 具塞比色管中,准确加 5mL 试剂(2),将试样充分混匀,剧烈振摇 1~2min,以 1500~2000r/min 离心 5min,清液用 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后待用(以 2mol/L NaOH 的溶液调 pH 在 6~7 之间)。

2.3.5 标准曲线制作 吸取纳他霉素标准使用液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL、6.0mL、7.0mL 分别置于 10mL 具塞比色管中,加试剂(2)至 8mL,调 pH6~7,定容至 10mL 即得到 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准系列,用 HPLC 做出对应的标准曲线。

2.3.6 讨论

(1)样品提取剂的选择 本方法试用几种提取剂:①乙腈+0.02mol/L 的磷酸盐缓冲液。②甲醇+水+冰乙酸(60+40+5)。③冰乙酸+水(5+40)。经过多次实验以③冰乙酸+水(5+40)提取效率最好,本方法采用第三种提取剂。

(2)纳他霉素吸收光谱 用 200~350nm 波长的紫外光对标准液进行扫描其最大吸收波长为 305nm (见图 6)。

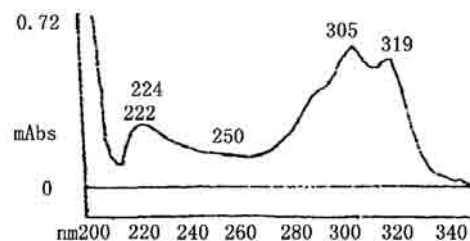


图6 纳他霉素吸收光谱

(3)标准曲线 本方法采用的标准系列 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为标准曲线。

$$Y = 5.45 \times 10^2 + 2.37 \times 10^5 X, \text{ 线性关系良好 } r = 0.999.$$

(4)准确度 依本方法取样品各 15 份,分别各取 5 份加入 35 μg 、20 μg 、5 μg 标准品,依法进行样品处理,做加标回收率,测定结果(见表 2,3)。

表2 沙拉酱中纳他霉素的添加回收率

加标量(μg)	测得量(μg)	平均回收率(%)
35	29.87	85.34
20	18.50	92.51
5	5.11	102.30

表3 干酪中纳他霉素的添加回收率

加标量(μg)	测得量(μg)	平均回收率(%)
35	29.95	85.58
20	18.52	92.58
5	5.13	104.40

n=5

(5)精密度 同一样品依本法测定6次,其平均值为 $3.76\mu\text{g}/\text{mL}$,标准差为0.092, $\text{CV} = 2.4\%$ 。

(6)干扰试验 样品提取液依法测定未发现干扰(见图7)。

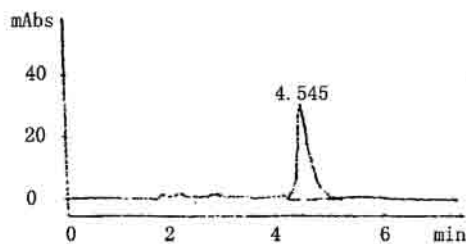


图7 空白样品加标提取液分析谱图

参考文献

- 1 中国预防医学科学院标准处:食品卫生国家标准汇编(2),北京:中国标准出版社2002
- 2 中国预防医学科学院标准处:食品卫生国家标准汇编(3),北京:中国标准出版社2000
- 3 中国预防医学科学院标准处:食品卫生国家标准汇编(5),北京:中国标准出版社1999
- 4 中华人民共和国卫生部通告:(1)卫通(1999)第14号;(2)卫通(2000)第1号;(3)卫通(2001)6号;(4)卫通(2002)7号;(5)卫通(2003)第4号
- 5 西山修、栗田礼子、黑田幹子等,硫酸铵水蒸气蒸馏法食品中防腐剂的分析和,食品卫生学杂志(日),1995,36(4):495~500
- 6 茶谷行、茶谷佑行,进本武次,栋久美左子等,进口柑桔类收获后使用的六种农药系统分析法,食品卫生学杂志(日),1996,37(4):187~194
- 7 王克利,张宜友,刘淳等,HPLC法测定沙拉酱及干酪中纳他霉素含量方法研究,中国卫生检验杂志,1998,8(6):380~381
- 8 李明元,胡玉英,王荫国等,HPLC法测定食品中对羟基苯甲酸酯,中华预防医学杂志,1998,22(6):363~364
- 9 张洪祥,卫生试验法,注解,北京:华文出版社,1995
- 10 中国强制性国家标准汇编:医药卫生劳动保护卷2(第二版),北京:中国标准出版社,1997
- 11 中国食品工业标准汇编,食品添加剂,北京:中国标准出版社,1997
- 12 食品卫生检验手册,食品添加剂手册,天津:天津科技翻译出版公司,1993

The introduction of food preservatives and its analytical method

Wang Xudong Qu Zhihua

(Tianjin Centers for Disease Control and Prevention Tianjin 300011)

Wang Keli Li Mingyuan

(Tianjin Economic-Technological Development Area Disease Prevention Center Tianjin 300457)

Abstract With the food category and preservatives species increasing and usage widening, the categories of preservatives allowed to be used in China had already increased from 28 species based on GB2760 - 1996 to 36 species by 2003. The standard methods of food preservatives analysis established in the GB2760 - 1996 include: determination of sorbic acid, benzoic acid, sodium propionate, calcium propionate, dehydroacetic acid, p-hydroxybenzoic in foods and the ethoxyquin residues in fruits. Recently, the methods for determining several preservatives at the same time are developing fast, most of which adopt High Performance Liquid Chromatograph. There are several methods of food preservatives analysis to be introduced: determination of nine preservatives including sorbic acid, benzoic acid, dehydroacetic acid, p-hydroxybenzoic and so on in foods by saturated ammonium sulfate distills, determination of five preservatives including Thiabendazole residues in oranges, determination of Natamycin in salad dressing and cheese by High Performance Liquid Chromatograph.

Key words Preservatives HPLC