

Studies on the Optimisation of Extration Procedures for the Analysis of Sorbic、Dehydroacetic and Benzoic Acids inDiffer

施麗貞、游銅錫

E-mail: 9509759@mail.dyu.edu.tw

ABSTRACT

The main goal of this research is to develop the fast and suitable method to extract and analyze the preservatives from different types of food matrices, including those with high sugar, high starch, and high protein content on the market by HPLC. This experiment sampled different kinds of foodstuff sold in the market. Two known kinds of different concentration of preservatives were added to the samples. Recovery studies were performed by standard addition method and carried out in duplicate. Average recoveries and the duplicated coefficient of variation (CV%) were evaluated by measuring the peak area on different extracts of the same sample to compare in order to figure out the most suitable analyzing method corresponding to different type of samples. This experiment analysis method includes: 1.AOAC, 2.Solid-phase extraction, 3.Steam distillation, 4.Direct dilution method, 5.shake extraction. Resolution of the ingredients was conducted by the C18 column which the flow rate is 1.0 mL per minute and pH4 methanol: acetonitrile: 5mM citric acid buffer equal to 1: 2 : 7 was used as the mobile phase. Ultraviolet detector measured at 230 nm was used to analysis. In this way, we can compare the content of preservatives in different kinds of tested foodstuff. The result of the experiment was analyzed by the Statistical Analysis System. The first sample group included: pearl starch ball , taro starch ball, rice noole, mesona, konnyaku gelatin, vegetarian gelatin, jelly, honey runner bean, and bean paste .Benzoic acid and sorbic acid can have better average recoveries via AOAC method and steam distillation, but there ' s little difference between the three methods used in detection of dehydroacetic acid. The second sample group included: condensed confiture, jam, sauce, soy- bean sauce and soybean milk . Benzoic acid, sorbic acid and dehydroacetic acid can have better average recoveries via direct dilution method and AOAC method. The third sample group included: steamed buns with stuffing, a steamed bun and bread. Benzoic acid and dehydroacetic acid can have better average recoveries via shake extraction. Sorbic acid can have better average recoveries via shake extraction and steam distillation. Eighty-eight commercial foodstuffs sold in the market were assayed .We find that there are 13 unqualified samples contained sorbic acid and the coefficient of variation all less than 5.7%; there are 3 unqualified samples contained dehydroacetic acid and the coefficient of variation all less than 3.3%; there are 6 unqualified samples contained benzoic acid and the coefficient of variation all less than 4.8%; there are 4 unqualified samples contained benzoic acid and sorbic acid ;there are 2 samples contained sorbic acid and dehydroacetic acid .

Keywords : high performance liquid chromatography (HPLC) ;benzoic acid ; sorbic acid ; dehydroacetic acid

Table of Contents

封面內頁 簽名頁 授權書.....	iii	中文摘要.....	iv	英文摘要.....	vi	誌謝.....	viii	目錄.....	ix	圖目錄.....	xiii	表目錄.....	xiv																																																																		
第一章 前言.....	1	第二章 文獻回顧.....	3	第一節 防腐劑的簡介.....	3	一、防腐劑的理化特性及其毒性.....	3	二、防腐劑對人體的危害性及注意事項.....	8	第二節 防腐劑之檢測方法介紹.....	8	一、薄層層析法.....	8	二、氣相層析法.....	9	三、高效液相層析法.....	12	第三節 層析法與高效液相層析法之簡介及應用.....	12	一、高效液相層析法應用範圍.....	12	二、高效液相層析儀之介紹.....	13	三、高效液相層析法應用原理.....	13	四、層析法的類型與應用.....	14	第四節 空白、重複及添加試驗.....	16	一、空白試驗.....	16	二、重複試驗.....	16	三、添加試驗.....	18	第五節 偵測極限之測定.....	18	一、儀器偵測極限測定法.....	18	二、方法偵測極限測定法.....	20	第三章 材料與方法.....	22	第一節 實驗材料與設備.....	22	一、標準品.....	22	二、溶劑與試藥.....	22	三、儀器設備與裝置.....	23	四、器具及材料.....	23	五、樣品來源.....	24	第二節 移動相與標準液配製.....	26	一、移動相之配製.....	26	二、標準液之配製.....	26	三、檢量線製作.....	27	第三節 實驗架構及方法.....	27	一、實驗架構.....	27	二、檢體之前處理方法.....	29	第四章 結果與討論.....	32	第一節 高效液相層析法分析條件之探討.....	32	一、苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸高效液相層析法圖 譜之分析條件.....	32	二、苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸之偵測極限.....	32	第二節 不同種類食品檢體中防腐劑(己二烯酸、去水 醋酸、苯甲酸)之各種萃取方法及分析結果之 比	

較.....	33
一、第一類(粉圓、芋圓、米苔目、粉粿、愛玉、果凍、仙草、蜜豆、豆餡)等樣品之最佳萃取程序.....	33
二、第二類(濃糖果漿、果醬、調味醬、醬油、豆漿)等樣品之最佳萃取程序.....	38
三、第三類(饅頭、包子、麵包)等樣品之最佳萃取程序.....	43
第三節 三種防腐劑不同分析條件、不同層析管柱之線性回歸方程式及決定係數之比較.....	47
一、苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸兩種不同分析條件及兩種不同廠牌、不同長度層析管柱線性回歸方程式、決定係數之比較.....	47
二、不同條件及不同層析管柱配對分析之防腐劑檢測圖譜.....	49
第四節 市售食品三種防腐劑含量調查.....	52
一、第一類(粉圓、芋圓、米苔目、粉粿、愛玉、果凍、仙草、蜜豆、豆餡)等樣品分析結果.....	58
二、第二類(濃糖果漿、果醬、調味醬、醬油、豆漿)等樣品分析結果.....	60
三、第三類(饅頭、包子、麵包)等樣品分析結果.....	61
第五章 結論.....	63
參考文獻.....	65

REFERENCES

- 中文部份 1、王有忠。2000。食品安全。華香園出版社。台北。台灣。pp99-115。 2、王有忠。2000。食品添加物。華香園出版社。台北。台灣。pp81-110。 3、王鳳英、蔡正賢、程俊龍、王貞懿及廖俊亨。1998。台北地區市售壽司食品之衛生調報告。八十七年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp413-421。 4、中華民國實驗室認證體系。測試結果量測不確定度評估指引。2000。中華民國實驗室認證體系。pp1-24。 5、尤心正、許家瑞及蔡樞庭。1993。蜜餞中防腐劑、人工甘味劑之調查報告。八十二年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp313-319。 6、行政院衛生署。1999~2002。衛生統計。行政院衛生署編。台北。台灣。 7、行政院衛生署。2004。食品衛生管理法。行政院衛生署編。台北。台灣。 8、行政院衛生署。2000。食品添加物使用範圍及用量標準。行政院衛生署編。台北。台灣。 9、行政院衛生署藥物食品檢驗局。1990。常用食品檢驗方法專輯(一)。台北。pp178-199 & 321-337。 10、江春桂。2003。花蓮名產(花蓮糯、粟餅)衛生安全調查。國立海洋大學食品科學系碩士論文。基隆。台灣。 11、何淑德、邱麗華及邱建華。1995。台北市市售蜜餞中防腐劑及糖精之調查報告。八十四年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp313-319。 12、李登洲、黃克鏗、洪麗玲及林淑英。1998。壽司米飯防腐劑苯甲酸、己二烯酸、去水醋酸含量檢測調查。八十七年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp321-324。 13、吳文成 編著。1999。食品化學。第213頁。復文書局。台南。台灣。 14、沈明來。1998。實用多變量分析。九州圖書文物有限公司。台北。台灣。 15、沈明來。2000。生物檢定統計法。九州圖書文物有限公司。台北。台灣。 16、林元興。1981。不確定情況下的決策。統計理論與方法。華泰圖書文物公司。台北。台灣。pp353-355。 17、林東煥。2002。以HPLC同步分析食品中五種防腐劑及兩種人工甘味劑。朝陽科技大學應用化學系碩士論文。台中。台灣。 18、林敬二及林宗義。1994。儀器分析第四版。美亞書版股份有限公司。台北。台灣。pp605-611。 19、林玉含。1996。以毛細管電泳法分析蜜餞中人工甜味劑與防腐劑之研究。國立台灣大學園藝學系研究所碩士論文。台北。台灣。 20、施仁興。1988。花蓮特產食品(名產篇、金針篇)。英文社印刷廠有限公司。花蓮。台灣。pp2-31。 21、柯文慶、沈賜川及賴滋漢。1995。市售包裝調味豆乾製品之品質調查。中興大學農林學報44(4):1-9。 22、柯文慶、張獻瑞及紀學斌。1997。食品品質管制。富林出版社。台中。台灣。pp1-155。 23、徐佩鈴、劉小菁、張雯麗、林淑娟、蔡淑美及胡智強。2004。麵線中防腐劑含量調查。九十三年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp55。 24、張惠淑。1996。食品化學分析方法之簡介。食品工業月刊28(6):25-35。 25、許振耀。1995。食品添加物使用法。華香園出版社。台北。台灣。pp1-10。 26、許明倫。2001。食品檢驗量測不確定度評估技術與制度之建立。九十年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp126-139。 27、洪達朗及胡仲勳。1991。花蓮薯衛生品質改進。藥物食品檢驗局調查研究年報9:354-359。 28、程竹青(1991)食品添加物。食品工業月刊23(8):26-39。 29、黃春心。1998。實驗室品質管理之理論與實務。台灣地區各縣市衛生局檢驗室推動GLP研習會講義。行政院衛生署藥物食品檢驗局。pp.22-27。 30、邱再預及計惠卿。1986。包子饅頭中防腐劑使用情形調查。食品科學13(3):222-228。 31、傅淑卿。1994。以離子配對液態層析法同步測定食品添加物的探討。輔仁大學食品營養學系碩士論文。台北。台灣。 32、陳吉平 編著。2000。分析化學。第473-481頁。東華書局。台北。台灣。 33、陳自珍及沈介仁 編著。1996。食品添加物。第168-201頁。文源出版社。台北。台灣。 34、陳岳舟及方承彥。2001。量測不確定度評估理論與實務。財團法人工業技術研究院量測技術發展中心。新竹。台灣。 35、陳素娥及林信仁。2002。農藥測試中品質管制及量測不確定度之研究。私立高雄醫學大學化學系碩士論文。高雄。台灣。 36、陳敬三及楊俊賢。1992。桃園縣包裝調味豆干使用防腐劑之探討。八十一年度食品衛生檢驗科技研討會研討報告彙編。pp153-162。 37、陳明欽。2004。市售食品中防腐劑含量調查及分析研究。屏東科技大學食品科學系論文。屏東。台灣。 38、陳淑惠。2003。中縣某縣市饅頭製造防腐劑使用調查與良好衛生規範之輔導。大葉大學食品工程學系論文。彰化。台灣。 39、陳自珍及沈介仁。1986。食品添加物。文源出版社。台北。台灣。pp168-201。 40、陳靜香。2003。同時檢測糖精及甜精之現行方法比較。大葉大學食品工程學系論文。彰化。台灣。 41、鍾玉明、古國隆及王美苓。1997。食品中果糖酸、己二烯酸及苯甲酸之同步簡易快速定量分析。中國農業化學會誌31(1):26-39。 42、黃中平。1980。食物防腐劑之應用。食品工業月刊13(5):44-47。 43、經濟部中央標準局。2001。中國國家標準CNS總號10949類號N6190公告。中央標準局編。台北。台灣。 44、葉伶宜。1996。氣相層析儀之最佳分析條件探討。食品工業月刊28(6):36-41。 45、廖啟宏及蕭新祿。2001。測試實驗量測不確定度評估之研究。私立逢甲大學土木及水利工程研究所碩士論文。台中。 46、謝明哲及葉松鈴。1982。國人膳食中防腐劑攝食量之調查分析。台北醫學院學報12(4):121-26。 47、羅李及黃登福。2001。宜蘭地區名產畜產品、金棗糕蜜餞及其他食品中防腐劑含量之探討。國家圖書館總館。pp26-54。 48、鍾玉明及李敏雄。1995。食品中己二烯酸及苯甲酸之簡易定量分析。中國農業化學會誌33(2):247-261。 英文部份 1、Bousquet,E.,Spadaro,A.,Santagati,N.A., Scalia,S.and Ronsisvalle,G.2002. Determination of undecylenic and sorbic acids in cosmetic preparations by high performance liquid chromatography with electrochemical detection. Journal of pharmaceutical and Biomedical Analysis.30:947-954. 2、

Campos, C.A. and Gerschenson, L. N. 1996. Effect of certain additives on sorbate stability. *Food Research international*. 29(2) :147-154. 3、
Cunha, S.C., Beatriz, M. and Oliveira, P.P. 2003. Optimisation of extraction procedures for analysis of benzoic and sorbic acids in foodstuffs. *Food Chemistry*. 82:469-473. 4、 El-Gindy, A., El-Yazby, F., Mostafa, A. and Maher, M.M. 2004 HPLC and chemometric methods for the simultaneous determination of cyproheptadine hydrochloride, multivitamins, and sorbic acid. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 35:703-713. 5
、 Gonzalcz, M., Gallego, M. and Valcarcel, M. 1998. Simultaneous gas chromatographic determination of food preservatives following solid-phase extraction. *Journal of chromatography A*. 823:321-329. 6、 Garcia, I., Ortiz, M.C., Sarabia, L., Vilches, C. and Gredilla, E. 2003. Advances in methodology for the validation of methods according to the International Organization for Standardization Application to the determination of benzoic and sorbic acids in soft drinks by high-performance liquid chromatography. *Journal of chromatography A*. 992:11-27. 7、 Gonzalez, M., Gallego, M. and Valcarcel, M. 1999. Gas chromatographic flow method for the preconcentration and simultaneous determination of antioxidant and preservative additives in fatty foods. *Journal of chromatography A*. 848: 529-536. 8、 Mihyar, G.F., Yousif, A.K. and Yamani, M.I. 1999. Determination of benzoic and sorbic acids in Labaneh by High-Performance Liquid chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis*. 12:53-61. 9、 Mendes, E. and Brito, P. 2000. Simultaneous determination of benzoic acid and sorbic acids in quince jam by HPLC. *Food Research International*. 33:113-117. 10、 Mikami, E., Goto, T., Ohno, T., Matsumoto, H. and Nishida, M. 2002. Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 28:261-267. 11、 Pupin, A.M., Dennis, M.J. and Toledo, M.C.F. 1999. HPLC analysis of carotenoids in orange juice. *Food Chemistry*. 64:269-275. 12、 Praphailong, W. and Fleet, G.H. 1997. The effect of pH, sodium chloride, sucrose, sorbate and benzoate on the growth of food spoilage yeasts. *Food Microbiology*. 14:459-468. 13、 Sicber, R., Fer U.B. and Bosset, J.O. 1995. Benzoic acid as a natural compound in cultured dairy products and cheese. *J. Dairy Journal*. 5:227-246. 14、 Tfouni, S.A.V. and Toledo, M.C.F. 2002. Determination of benzoic and sorbic acids in Brazilian food. *Food Control*. 13:117-123. 15、 Tang, Y. and Wu, M. 2005. A quick method for the simultaneous determination of ascorbic acid and sorbic acid in fruit juices by capillary zone electrophoresis. *Talanta*. 65:794-798 16、 Thompson, C.O., Trener, V.C. and Kemmerly, B. 1995. Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low-Joule soft drinks and other foods. *Journal of Chromatography A*. 694: 507-514. 17、 Zhao, Y.H., Ji, G.D., Cronin, M.T.D. and Dearden, J.C. 1998. QSAR study of the toxicity of benzoic acids to *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* and carp. *The science of the total Environment*. 216:205- 215.