

食品中苯甲酸和山梨酸的分离分析

邓小锋

(绵阳职业技术学院材料工程系, 绵阳, 621000)

摘 要 用毛细管气相色谱法对食品中的防腐剂苯甲酸和山梨酸进行了分离分析。样品用乙醚萃取, 萃取物蒸发至干, 残渣用 CHCl_3 溶解后直接进行色谱分析, FFAP 石英毛细管柱, 柱温 220°C , 邻苯二甲酸二甲酯为内标物。2 种化合物在 $0.25\sim 4.00\text{ mg/mL}$ 范围内具有良好的线性关系。

关键词 毛细管气相色谱法, 苯甲酸, 山梨酸

苯甲酸、山梨酸作为防腐剂广泛应用于酱油、水果汁、果酱等食品中, 我国在食品添加剂的卫生管理办法中, 对食品添加剂的生产和使用都作了严格规定。因此找到一个方便、快捷、准确的测定方法非常必要。有关食品中苯甲酸、山梨酸的测定方法主要有薄层色谱法^[1]、分光光度法^[2]、液相色谱法、气相色谱法等。其中前面 2 种方法的缺点是分析时间长, 准确度差; 液相色谱法则价格昂贵较难普及; 而气相色谱法由于价廉且方便快捷, 所以被普遍采用。气相色谱法对苯甲酸和山梨酸的分析包括酯化衍生化法^[3]和直接进样法^[4,5]。酯化衍生化法, 样品处理太繁琐, 且回收率低, 准确度差; 陈贻文、聂洪勇等人^[4,5]用乙醚-石油醚混合溶剂, 分别用 DEGS 毛细柱和 GDX-103 填充柱进行分析, 溶剂峰拖尾, 分离不理想, 而且内标物十一烷酸不易找到。本文对文献^[4,5]方法进行了改进, 用乙醚进行样品萃取, 氯仿为测定溶剂, 邻苯二甲酸二甲酯作内标物, 用 FFAP 石英毛细柱恒温测定, 结果山梨酸和苯甲酸分离效果好, 色谱峰形对称, 分析操作简单迅速。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

日本岛津 GC-16A 气相色谱仪, 配 C-R3A 数据处理机和氢火焰离子化检测器(FID); 山梨酸、苯甲酸(一级纯, 国家标准物质中心); 乙醚、 CHCl_3 、邻苯二甲酸二甲酯、 HCl 、 NaCl 均为分析纯; 实验用水为蒸馏水。

1.2 GC 分析条件

表 1 GC-16A 气相色谱仪的分析条件

色谱柱	FFAP 石英毛细管色谱柱 ($30\text{m} \times 0.25\text{mm} \times 0.33\mu\text{m}$)
载 气	高纯 N_2
载气线速度/ $\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$	17
氢气流量/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	30
空气流量/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	150
进样分流比	50:1
尾吹气流量/ $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$	50
进样品温度/ $^\circ\text{C}$	225
色谱柱温/ $^\circ\text{C}$	220
FID 检测温度/ $^\circ\text{C}$	250

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

以 CHCl_3 为溶剂, 配制山梨酸、苯甲酸和内标物邻苯二甲酸二甲酯浓度分别为 10.00 、 10.01 和 10.35mg/mL 的标准溶液。

依次移取苯甲酸、山梨酸标准溶液 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.00 、 4.00 mL 于 5 个 10 mL 的容量瓶中, 再分别加入 2.00 mL 内标液、定容, 配制成苯甲酸、山梨酸浓度为 0.25 、 0.50 、 1.00 、 2.00 、 4.00 mg/mL 、内标物浓度均为 2.0708 mg/mL 的系列标准溶液, 标记为 $1^\#$ 、 $2^\#$ 、 $3^\#$ 、 $4^\#$ 、 $5^\#$ 标准溶液。

1.3.2 样品的处理

方法一: 对于固体样品(如酱菜), 首先称取样品 100.00 g , 加入 2.00 mL 内标液, 放入打浆机中, 加入少许蒸馏水打匀, 取液体放入离心机中离心, 在 4000 r/min 速度下离心 30 min , 取上层液体, 用 6 mol/L HCl 调 pH 值为 $1\sim 2$, 加入 NaCl 至饱和, 然后移入分液漏斗中, 每次用 15 mL 乙醚萃取 3 次, 再对萃取的乙醚液各用 15 mL 蒸馏水洗 2 遍, 得到苯甲酸和山梨酸的乙醚溶液, 用 N_2 将乙醚吹干, 加入 CHCl_3 2.0 mL 后即可直接进样。对于固液混合物可用同固体样品同样的方法处理。对于纯液体样品可直接取样液 100.00 g 于小烧杯中, 加入 2.00 mL 内标液, 用 6

第一作者: 学士, 讲师。

收稿日期: 2005-07-15, 改回日期: 2005-08-03

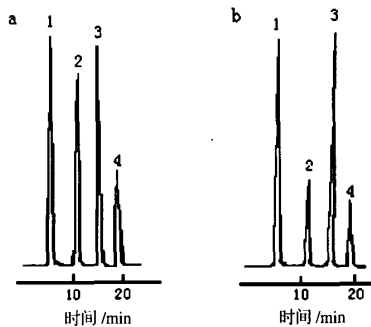
mol/L HCl 调 pH 值为 1~2,加入 NaCl 至饱和后,然后移入分液漏斗中,以下与固体样品处理方法相同。

方法二:对于固体样品,称取样品 10.00 g,加入 2.00 mL 内标液,按方法一打浆处理,离心后取上层清液,用 6 mol/LHCl 调 pH 为 1~2,振荡,静置分层,取上层清液直接进样。对于纯液体可直接取样液 10.00 g 移入试管中,加入 2.00 mL 内标液,加 6 mol/L HCl 调 pH 1~2,振荡,静置分层,取上层清液直接进样。

2 结果与讨论

2.1 柱型选择

实验了 BPX 70、OV101、SE52、FFAP 石英毛细柱和 OV17、SE30、DEGS 不锈钢填充柱。其中 FFAP 毛细柱所需柱温低,响应值大,分离效果好,且具有较低的检出限,若增加进样量或(和)减小分流比,可进一步降低检测限,因此本文采用了 FFAP 石英毛细柱。标准样品和样品色谱图分别见图 1 中的 a 和 b 由图 1 可知,山梨酸和苯甲酸的分离效果好,具有良好的峰形。



1. CHCl₃, 2. 山梨酸, 3. 邻苯二甲酸二甲酯(内标), 4. 苯甲酸

图 1 标准样品(a)和试样中(b)的苯甲酸、山梨酸的色谱图

2.2 柱温的选择

根据山梨酸在沸点(228℃)时分解以及苯甲酸在 100℃时升华的特性,在不同的温度条件下进行分离测定,结果表明:当柱温在 210℃ 以下时样品响应值太小,影响测定的准确度;在 220℃ 时分离效果比较好,且响应值大。当进样口温度在 230℃ 以上时,山梨酸发生分解,所以选择柱温为 220℃,进样口温度为 225℃。

2.3 校正因子

取 4[#] 标液进行校正因子测定,平行测定 6 次,测定结果: $f_{\text{苯甲酸}} = 1.063\ 7$, $SD = 1.79 \times 10^{-2}$, $RSD = 1.7\%$ 。 $f_{\text{山梨酸}} = 1.068\ 6$, $SD = 9.60 \times 10^{-3}$, $RSD = 0.$

9%。

2.4 检测限

对 1[#] 标液用二倍噪声法测定苯甲酸和山梨酸的检测下限,结果为: $d_{\text{苯甲酸}} = 5.695 \times 10^{-10}\text{g}$, $d_{\text{山梨酸}} = 6.39 \times 10^{-10}\text{g}$

2.5 回归方程

取各标准溶液 2.0 μL 依次进行色谱分析,每个样品平行测定 4 次,以样品的峰面积(A_i)与内标峰面积(A_s)比值 $Y(A_i/A_s)$ 为纵坐标,以组分含量 X (μg) 为横坐标,计算回归方程,结果如下: $Y_{\text{苯甲酸}} = 0.244\ 0X - 0.029\ 8$, $R = 0.999\ 7$; $Y_{\text{山梨酸}} = 0.237\ 0X - 0.030\ 5$, $R = 0.999\ 7$

2.6 方法检验

采用 t 检验法对 4[#] 标样进行准确度和精密度的检验,结果见表 2,其中 μ 表示样品的准确含量,X 表示用本方法测定的含量,t 为计算临界值,t_a 为文献临界值,若 $t < t_a$ 表示测定方法与标准值无显著性差异,则方法准确可靠^[6]。

表 2 方法检验结果

样 品	μ /mg·mL ⁻¹	X /mg·mL ⁻¹	SD	RSD /%	t _{计算}	t _a (a=0.05)
苯甲酸	2.02	2.01	0.061	3.03	0.55	2.31
山梨酸	2.00	1.98	0.039	1.98	0.27	2.31

由结果看出,2 种物质的临界值 t 都小于文献值,所以该方法准确可靠。

2.7 样品测定

用上述 2 种样品的处理方法对 5 种样品进行处理和测定,结果发现方法二虽简便快速,但重现性不好,回收率偏低,酱油样品的苯甲酸回收率为 95.5%,山梨酸回收率为 95.2%(n=3),因此,以下仅列出方法一的测定结果,见表 3 和表 4。

表 3 样品的处理结果

样 品	被测物	X/mg·kg ⁻¹	RSD/%
橙 汁	苯甲酸	431.7	0.5
	山梨酸	未检出	未检出
酱 菜	苯甲酸	62.21	3.4
	山梨酸	1.89	1.6
健力宝	苯甲酸	77.13	3.3
	山梨酸	60.62	3.4
酱 油	苯甲酸	588.6	0.2
	山梨酸	6.97	2.9
酱 菜	苯甲酸	2431	0.1
	山梨酸	30.76	3.3
咸蒜米	苯甲酸	未检出	未检出
	山梨酸	未检出	未检出

表4 回收试验结果

样 品	被测物	试样测定值 /mg	加标量 /mg	加标后测定 值/mg	RSD /%	回收率 /%
健力宝	苯甲酸	77.88	100.16	178.94	1.9	100.9
	山梨酸	60.41	101.12	161.23	1.6	99.7
酱油	苯甲酸	608.18	100.16	711.65	1.7	103.3
	山梨酸	6.80	101.12	105.19	1.9	97.3

3 结 论

(1) 采用 FFAP 毛细管柱所需的柱温低,响应值大,分离效果好,且具有较低的检出限,苯甲酸 5.7×10^{-10} g、山梨酸 6.4×10^{-10} g,所以进行分离时应首选 FFAP 毛细管柱。

(2) 采用 2 种样品的处理方法对 5 种样品进行处理和测定,结果发现方法二虽然简便快速,但是结果重现性不好,回收率偏低,所以进行样品测定时应选用方法一来处理样品。

(3) 采用乙醚萃取,萃取物蒸发至干,残渣用氯仿溶解后直接进行色谱分析,FFAP 毛细管柱,柱温

220℃,邻苯二甲酸二甲酯为内标物的方法,不仅改进了溶剂峰拖尾现象,而且分离效果好,内标物易得方法的精密度 ($RSD < 3.4\%$) 和回收率 $100.9\% \sim 103.3\%$ (苯甲酸)、 $97.3\% \sim 99.7\%$ (山梨酸) 均较高,经 t 检验证明本方法准确可靠,可应用于食品中的苯甲酸和山梨酸的测定。

参 考 文 献

- 1 杨祖英. 薄层色谱法测定山梨酸和苯甲酸[J]. 中国酿造, 1983,2(3):32
- 2 GB5009—1985. 食品中山梨酸、苯甲酸的测定方法[S]
- 3 胡家元. 酯化衍生气相色谱新法测定苯甲酸与山梨酸[J]. 色谱,1994,12(3):215
- 4 陈贻文,李庆宏,何 翎. 毛细管气相色谱法测定苯甲酸和山梨酸[J]. 色谱,1987,5(4):238
- 5 聂洪勇,黄志强,彭三和. 采用直接进样法测定苯甲酸和山梨酸[J]. 色谱,1992,10(4):244
- 6 李俊海,郝永生,孙配军. 计量基础知识[M]. 中国标准出版社,1997. 65~67

The Analysis of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Food

Deng Xiaofeng

(Department of Material Engineering, Mianyang Vocational and Technical College, Mianyang, 621000, China)

ABSTRACT The benzoic acid and sorbic acid in food were analyzed with capillary gas-chromatography. The samples were extracted with aether, and vaporized to nearly dry. The residue was dissolved with chloroform and analyzed with gas-chromatography: FFAP quartz capillary column, 220℃, and dimethyl phthalate (inner mark). A good linear range of the two compounds was found between 0.25~4.00mg/mL.

Key words apillary gas-chromatography, benzoic acid, sorbicacid

信 息 窗

为企业 提供进口生化试剂

目前我国食品和发酵领域的工业企业已经进入大型化、标准化和国际化发展阶段,企业自身的研发规模和水平都有显著提高,对于进口生化试剂的数量和质量的需求急剧增加。但是由于国内进口生化试剂针对企业的市场服务机制尚未完善,经常出现订货出现误差、供货延期甚至不能有效交货等现象,严重影响了企业生产和科研工作的正常进行。

中国食品发酵工业研究院为了更好地服务于行业,满足企业对进口试剂及时便捷地需求,确保科研和生产的顺利进行,现与国际著名的生化试剂公司合作,建立了国际生化试剂的快捷进口供货通道,并由具有化学、生物学和分子生物学背景的技术人员专职负责,充分满足企业及时、快速、安全购买进口生化试剂的需求。

美国 Sigma、德国 Fluka、Merck、比利时 Acros、日本东京化成以及世界其它著名试剂公司的产品,询价当天答复,供货周期仅为 2~4 周,最快到货时间只需 7 天。

联系人:杨梅

电话:010-64666552; 传真:010-64616613;

电子邮件:yangmei@china-cicc.org, 网址:www.china-cicc.org

地址:中国食品发酵工业研究院,北京市朝阳区霞云路 32 号,100027