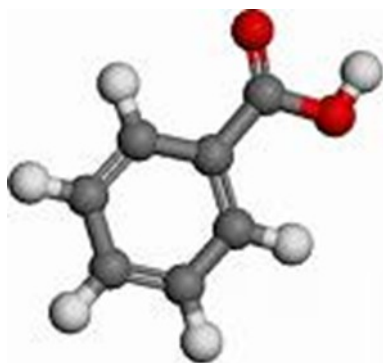


# 食品中添加剂的测定

---

## 食品中防腐剂的测定



# 防腐剂的概述

---

- **定义：**指能阻止或抑制微生物的繁殖，延长食品保存期的食品添加剂。
- 食品中具有同样作用的调味品如食盐、糖、醋、香辛料等不包括在内。
- 作为食品容器消毒灭菌的消毒剂亦不在此列。
- 主要利用化学的方法来杀死有害微生物或抑制微生物的生长，从而制止腐败或延缓腐败的时间。

# 防腐剂的合理使用

## 使用中必须注意的几个方面

- 了解所用防腐剂的抗菌谱，最低抑菌浓度，和食品所带的腐败性菌类，做到有的放矢。
- 了解所用防腐剂的物理化学性质，如 PH、溶解性等，以便正确合理使用。
- 了解食品加工、贮藏条件及期限，以便使防腐剂达到最有效的作用。



# 苯甲酸（钠）、山梨酸（钾）的测定

---

- 苯甲酸及其钠盐主要用于酸性食品的防腐，在 pH2.5-4 其抑菌作用最强，当 pH>5.5 时，抑菌效果明显减弱。对霉菌和酵母菌效果甚差。
- 苯甲酸进入人体后，大部分与甘氨酸结合形成无害的马尿酸，其余部分与葡萄糖醛酸结合生成苯甲酸葡萄糖醛酸甙从尿中排出，不在人体积累。苯甲酸的毒性较小。
- 山梨酸钾易溶于水，难溶于有机溶剂，与酸作用生成山梨酸，比苯甲酸更安全，在体内最后生成二氧化碳和水

# 苯甲酸（钠）、山梨酸（钾）的测定方法

---

GB/T 5009.29—2003

气相色谱法—氢火焰检测器，两种同时测  
高效液相色谱法—同时测这两种及糖精钠  
薄层色谱法

- 酸碱滴定法测定苯甲酸及苯甲酸钠
- 硫代巴比妥酸比色法测定山梨酸（钾）
- 紫外分光光度法测山梨酸（钾）

# 气相色谱法测定山梨酸、苯甲酸

原理：

样品经酸化后，用乙醚提取山梨酸和苯甲酸，在用带火焰离子化检测器的气相色谱仪进行分离测定，根据保留时间定性，标准曲线法定量

样品  $\xrightarrow[1:1HCL]{\text{酸化 乙醚}}$  提取  $\xrightarrow{\text{酸性 } NaCl}$  洗涤  $\xrightarrow{\text{无水 } Na_2SO_4}$  过滤 → 浓缩 → 定容 → 上机测定

# 仪器和试剂

---



气相色谱仪，带氢火焰离子化检测器

山梨酸、苯甲酸标准溶液

:

用石油醚 - 乙醚

( 3 : 1 ) 混合溶剂配制

# 样品的处理

降低苯甲酸在水中溶解度；防止发生乳化

取均匀的样品→HCL酸化→乙醚提取→氯化钠酸性水液洗涤→通过无水硫酸钠过滤（除去水分）→乙醚定容（25mL）→取乙醚提取液5mL于40℃水浴上挥干→加入1mL石油醚-乙醚（3:1）混合溶液溶解残渣。

为什么要经过酸化处理??

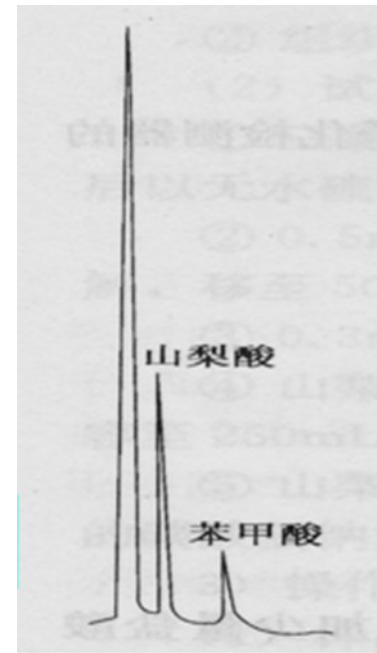
# 色谱条件

---

- ✓ 色谱柱：玻璃柱，内径3mm，长2m，内装涂以5%DEGS+1%磷酸固定液的60目~80目ChromosoybWAW
- ✓ 气流速度：载气、氮气，50mL/min（氮气和空气、氢气比按各仪器型号不同选择各自的最佳比例条件）
- ✓ 温度：进样口230℃，检测器230℃，柱温170℃

# 测定

- 进样 2uL 标准系列中各浓度标准使用液与气相色谱仪中，以浓度为横坐标，相应峰面积值为纵坐标，绘制标准曲线。
- 同时进样 2uL 样品溶液，测得峰面积与标准比较定量。



苯甲酸和山梨酸的标准色谱图

# 结果计算

$$X = \frac{\rho \times V_1 \times 1000}{m \times \frac{5}{25} \times 1000} \text{ (mg / Kg 或 mg / L)}$$

式中:

X—样品中山梨酸或苯甲酸的含量

$\rho$ —标准曲线上查得山梨酸或苯甲酸的量,  $\mu\text{g/mL}$

$V_1$ —加入石油醚-乙醚(3+1)混合溶剂的体积, mL

m—样品的质量, g

5—测定时吸取乙醚提取液的体积, mL;

25—样品乙醚提取液的总体积, mL

# 说明及注意事项

---

- 由测得苯甲酸的量乘以相对分子质量比 1.18，即为样品中苯甲酸钠含量。
- 由测得山梨酸的量乘以相对分子质量比 1.34，即为样品中山梨酸钾含量。
- 通过无水硫酸钠层过滤后的乙醚提取液应达到去除水分的目的，否则 5mL 乙醚提取液在 40℃ 挥去乙醚后残留少量水分会影响测定结果。当出现将残留水分挥干析出极少量白色氯化钠时，应搅松残留的无机盐后加入石油醚 - 乙醚（3：1）震摇，取上清液，否则氯化钠覆盖了部分山梨酸、苯甲酸，使测定结果偏低。

# 高效液相色谱法测定山梨酸、苯甲酸

- 可同时用于苯甲酸、山梨酸、糖精钠等的测定。
- 原理：

样品经加温除去二氧化碳和乙醇后，调节 pH 至近中性，**过滤**后进高效液相色谱仪。经反相色谱柱分离后，根据保留时间和峰面积进行定性和定量。

微孔滤膜  
过滤



# 仪器和试剂

---

- 仪器：高效液相色谱仪，带紫外检测器
- 试剂：甲醇

混合  
氨水（1+1）：氨水加等体积的水

乙酸铵溶液：0.02mol/L

苯甲酸、山梨酸标准溶液



# 样品处理

- (1) 汽水和配制酒类：微热搅拌出去二氧化碳和乙醇，再用氨水（1：1）调节 pH 约为 7，加水定容，过滤；
- (2) 饮料。果汁类：用氨水（1：1）调节 pH 约为 7，加水定容，离心过滤；
- (3) 固体样品：如凉果、蜜饯等，将样品捣碎，称取适量用温水浸泡，冷却后定容，过滤。

必要时加入硫酸铜和氢氧化钠做澄清剂。

除蛋白

# 高效液相色谱分析参考条件

---

- 检测器：紫外检测器
- 检测波长：230nm
- 色谱柱：C18 柱
- 流动相：甲醇 +0.02mol/L 乙酸铵（5+95）
- 流速：1.0mL/min
- 进样量：20uL

仪器稳定后，分别将 20uL 标准溶液和进样溶液注入色谱系统，根据保留时间定性，峰面积定量。

# 结果计算

---

$$X = \frac{\frac{A_{\text{样}}}{A_{\text{标}}} \times \rho_{\text{标}} \times V_{\text{样}}}{m_{\text{样}}} \text{ (mg / Kg 或 mg / L)}$$

A 样---- 样品的峰面积

A 标---- 标样的峰面积

$\rho$  标---- 标样的浓度 (ug/mL )

V 样---- 样品的定容体积 ( mL )

m 样---- 样品质量 (g)

# 说明及注意事项

---

- （1）本方法可同时测定食品中糖精钠、苯甲酸、山梨酸的含量；
- （2）被测溶液的 pH 值对测定和色谱柱使用寿命均有影响， $\text{pH} > 8$  或  $\text{pH} < 2$  时会影响被测组分的保留时间，对仪器有腐蚀作用，以中性为宜。

---

# 工作任务

## 酱油中苯甲酸含量测定



# 具体工作任务分解

仪器和试剂的准备

样品预处理

成分分析

数据记录与处理

结果判断

# 任务一 仪器和试剂的准备

---

## 仪器设备：

- 碱式滴定装置
- 三角瓶
- 过滤装置

## 试剂：

- 中性乙醚乙醇（1 + 1）混合溶液；
- 乙醚；
- 石蕊试纸；
- 95% 中性乙醇；
- 6mol/L 盐酸；
- 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液；
- 饱和氯化钠溶液；
- 酚酞指示剂

## 任务二 样品预处理

---

- 取 100mL 酱油样品 → 500mL 容量瓶 → 加 200mL 水 → 加 AR NaCl 直到不溶解为止 → 用 10%NaOH 调为碱性 → 用饱和 NaCl 定容 500mL → 静置 2 小时 → 活性炭过滤 → 弃去初液 → 收集滤液



---

## 【注释】

- 1、加入分析纯（AR）NaCl 直到不溶解为止的目的：  
除去蛋白质及其水解产物；降低苯甲酸在水中溶解度，以减少在提取及水洗过程中的损失。
- 2、用 10%NaOH 调为碱性的目的：使苯甲酸变成苯甲酸钠，并以苯甲酸钠状态存在。
- 3、活性炭过滤是为了除去酱油中的色素，以方便终点的显色。

# 任务三 成分分析

---

- 吸滤液 100mL→250mL 分液漏斗→加 1 : 1 HCl 5ml 酸化→用 150mL 乙醚分三次提取→每次振荡不能太激烈以防乳化→合并醚层→连接蒸馏装置→回收乙醚（50℃ 水浴）→用 10mL 中性醚醇 +10mL 水溶解残渣→加 2 滴酚酞→用 0.05mol/L NaOH 滴出微红色（同时做空白实验）

---

## 【注释】

- 当样品中有其它有机酸时，乙醚萃取时易带过来，所以此法测定误差较大。
- 用乙醚提取苯甲酸时，不可上下振荡以免乳化而不易分离，应用旋转分液漏斗进行提取，若形成乳化，可用玻棒搅拌，或进行一二次上下激烈振荡。
- 中性醚醇的作用：乙醚可以溶解其他的有机酸，加入醇后减少其他酸的溶出

# 任务四 数据记录与处理

项目名称		样品名称		接样日期	
设备				检验日期	
检验依据	美国 AOAC 官方仲裁法				
样品质量 $W$ ( g )					
NaOH 溶液浓度 $c$ ( mol/L )					
平行试验	1	2	空白		
滴定管初读数 ( mL )					
滴定管终读数 ( mL )					
NaOH 溶液消耗量 $V$ ( mL )					
苯甲酸钠含量 $X_1$ ( g/kg )					
测定结果平均值 $X_1$ ( g/kg )					
苯甲酸含量 $X_2$ ( g/kg )					
测定结果平均值 $X_2$ ( g/kg )					

# 任务四 数据记录与处理

计算公式：

$$X_1 = \frac{c \times V \times 10^{-3} \times 144.1 \times 250}{m \times 100}$$

$$X_2 = \frac{c \times V \times 10^{-3} \times 122.1 \times 250}{m \times 100}$$

$X_1$ ——苯甲酸钠含量，g/kg；

$X_2$ ——苯甲酸含量，g/kg；

$c$ ——NaOH 标准溶液的浓度，mol/L；

$V$ ——消耗 NaOH 的体积，mL

$m$ ——试样质量，g；

144.1——苯甲酸钠的摩尔质量，g/mol；

122.1——苯甲酸的摩尔质量，g/mol；

- **有效数字：计算结果保留三位有效数字。**
- **精密度：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10 %。**

# 任务五 结果判断

## □ 1、安全限量值

### 《食品添加剂使用标准》 GB2760-2007 规定

苯甲酸及其钠盐

benzoic acid, sodium benzoate

CNS号 17.001,17.002

INS号 210,211

功能 防腐剂

食品分类号	食品名称/分类	最大使用量/(g/kg)	备注
03.03	风味冰、冰棍类	1.0	以苯甲酸计
04.01.02.05	果酱(罐头除外)	1.0	以苯甲酸计
04.01.02.08	蜜饯凉果	0.5	以苯甲酸计
04.02.02.03	腌制的蔬菜	0.5	以苯甲酸计
05.02.03	乳脂糖果	0.8	以苯甲酸计
05.02.05	凝胶糖果	0.8	以苯甲酸计
05.02.08	胶基糖果	1.5	以苯甲酸计
11.05	调味糖浆	1.0	以苯甲酸计
12.03	醋	1.0	以苯甲酸计
12.04	酱油	1.0	以苯甲酸计
12.05	酱及酱制品	1.0	以苯甲酸计
12.10	复合调味料	0.6	以苯甲酸计
12.10.02	半固体复合调味料	1.0	以苯甲酸计

# 2、检测报告

样品名称		检测目的			
规格型号		检测日期			
生产日期		报告日期			
生产单位		样品状态			
检测依据		样品来源			
检验结果					
序号	检测项目	单位	技术要求	检测结果	单项判定
1					
2					
3					
4					
5					