

# 多样品同时萃取-气相色谱法测定食品中山梨酸和苯甲酸

朱国强, 韦丽丽, 江恩源

(梧州市疾病预防控制中心, 广西梧州 543002)

**摘要:** 研究了多样品同时萃取/气相色谱法对食品中山梨酸和苯甲酸的快速测定。以醋酸乙酯+正己烷(1+1)混合溶剂对样品和标准系列进行一次性萃取, 用 SE-30 宽口径毛细柱作分析柱对萃取相进行分析。方法条件下, 样品中山梨酸和苯甲酸的检出限为 1 mg/kg, 线性范围 25~500 mg/kg, 回收率 93.2%、102.4%, 相对标准偏差(RSD)为 1.9~4.1%。方法操作简便快捷易于控制, 使用试剂少成本低, 用于批量样品的山梨酸和苯甲酸快速测定获得良好效果。

**关键词:** 气相色谱法; 多样品同时萃取; 山梨酸和苯甲酸

文章编号: 1673-9078(2013)5-1166-1169

## Determination of Sorbic Acid and Benzoic Acid in Foods Using Multi-sample Simultaneous Extraction-gas Chromatography

ZHU Guo-qiang, WEI Li-li, JIANG En-yuan

(Wuzhou Center for Disease Control and Prevention, Wuzhou 543002, China)

**Abstract:** A novel method for determination of sorbic acid and benzoic acid in food was developed using multi-sample simultaneous extraction-gas chromatography. The samples and standard series solution were extracted simultaneously, with a mixture of ethyl acetate and hexane (1+1) as extraction solvent. The contents of sorbic acid and benzoic acid were measured by SE-30 wide caliber capillary. In the selected conditions, the detection limit for sorbic acid and benzoic acid was 1 mg/kg, the linear range was 25~500 mg/kg, the recoveries was 93.2~102.4% and the RSD was 1.9~4.1%. The method was simple, rapid, easy control and low-cost. It can be used for the rapid quantitative analysis of batch sample.

**Key words:** gas chromatography; multi-sample simultaneous extraction; sorbic acid and benzoic acid

在食品加工行业, 山梨酸和苯甲酸及其盐类被广泛用作食品的防腐保鲜剂。由于存在的安全性问题, 在我国食品安全管理中山梨酸和苯甲酸及其盐类的使用范围和使用量都有特别规定<sup>[1]</sup>。目前食品中山梨酸和苯甲酸常用的测定方法有高效液相色谱法、气相色谱法、紫外分光光度法和薄层色谱法<sup>[2-15]</sup>, 其中以前两种方法报道最多, 而气相色谱法由于仪器普及使用较多。现有文献报道的气相色谱法多采用经典的多步萃取法处理样品<sup>[6-12]</sup>, 过程繁琐费时并耗费大量的试剂; 此外, 因使用低沸点高挥发性的乙醚或乙醚加石油醚(30~60 °C)作为溶剂, 在高温季节开展检测时环境条件容易对分析工作造成较大影响。也有报道采用溶剂一步萃取法和溶剂直接混溶浸提取样法对食品中山梨酸和苯甲酸快速检测<sup>[13-15]</sup>, 但采用的一步萃取法分析过程仍易受实验室环境温度条件影响, 而溶剂

收稿日期: 2012-12-28

作者简介: 朱国强(1964-), 主管技师, 理学学士, 主要从事理化检验

直接混溶浸提取样法由于相当于直接进样分析, 会把大量样品基质带入仪器进样口造成严重积炭并损害色谱柱。另外现行气相色谱法中, 标准系列溶液的制备与样品试液的制备方法是不一致的, 容易造成分析误差。作者将样品萃取试验小试量化设计, 用乙酸乙酯+正己烷(1+1)混合溶剂作为萃取剂, 通过选用相应的试管架作为样品振荡萃取支架, 同时对多个试样进行一次萃取, 用 SE-30 宽口径毛细柱作为分析柱对萃取相进行分析, 应用于食品中山梨酸和苯甲酸含量的测定获得良好效果。

### 1 试验部分

#### 1.1 仪器与试剂

安捷伦7890A气相色谱仪, FID检测器, 安捷伦化学工作站 B.04.01版; 82-1型离心机; 100~500  $\mu$ L可转移液枪。

山梨酸和苯甲酸标准溶液, 质量浓度均为1.00

mg/mL (购自中国国家标准物质研究中心); 醋酸乙酯; 正己烷; 氯化钠; 6 mol/L 盐酸溶液。除标准溶液外所用试剂均为分析纯, 实验用水为蒸馏水。

## 1.2 色谱条件

SE-30宽口径毛细柱(12 m× 0.53mm, 1 μm)(日本岛津), 柱温145 °C, 进样口温度235 °C, 检测器温度235 °C; 载气为氮气(99.999%), 流速3 mL/min, 空气400 mL/min, 氢气30 mL/min, 分流进样, 分流比2:1, 进样量1 μL。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 样品预处理

在10 mL比色管中加入2 g氯化钠, 称取充分匀质后的食品样品1.00 g于其中, 碳酸饮料、酒类试样通过水浴加热除去其中的二氧化碳、乙醇后冷却至室温; 吸取山梨酸和苯甲酸标准溶液0、0.10、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00 mL分别置于对应比色管中作为标准系列。各管加水至5 mL刻度, 滴加3滴6 mol/L盐酸溶液使溶液呈酸性, 准确加入乙酸乙酯+正己烷(1+1)混合溶剂2.00 mL。将各比色管加塞置于试管架上, 再用一泡沫板压在试管塞上并用橡皮筋箍紧防止松动, 然后手持试管架上下剧烈振荡120次。取出样品管置于离心机以3000 r/min离心30 s, 用移液枪吸取上层有机相置于另一预先放有约1 g无水硫酸钠的10 mL具塞试管中, 供气相色谱分析用。

### 1.3.2 工作曲线绘制

标准系列经上面步骤制备后, 得到0、50、100、200、300、400、500 μg/mL的山梨酸和苯甲酸标准系列, 按色谱条件进行分析, 并绘制标准曲线。

## 2 结果与讨论

### 2.1 萃取溶剂的选择

现行方法通常采用乙醚作萃取剂和使用乙醚+石油醚(30~60 °C)作溶剂, 此类溶剂沸点低饱和蒸汽压高而具有很好的挥发性, 利于样品的浓缩处理和改善色谱峰形。但在环境温度偏高的情况下, 萃取过程因溶剂汽化导致萃取器内压力升高而极易发生溶液飞溅渗漏现象, 因此萃取操作必须非常小心, 而且, 上机分析时样液的太快汽化也给进样针准确取样带来很大困难, 影响分析结果的准确性。针对以上问题, 根据相似相溶的原理, 实验选用了乙酸乙酯、以及乙酸乙酯与正己烷不同比例的混合溶剂体系分别对相同质量浓度的山梨酸和苯甲酸的模拟样品进行了一次性萃取分析。实验表明, 即使实验环境温度达到34 °C, 操作过程的可控性仍然良好, 分析结果如图1所示。从极性来看, 乙酸乙酯对山梨酸和苯甲酸具有良好的

溶解性, 但其在水中的溶解度较大, 因此对山梨酸和苯甲酸的一次性萃取效率并不理想。对于乙酸乙酯+正己烷溶剂体系, 随着正己烷比例增加, 乙酸乙酯在水中溶解度降低, 两者体积比达1:1时, 混合溶剂仍具有较好的极性而醋酸乙酯在水中的溶解度已经很小, 因此对山梨酸和苯甲酸的萃取效果最好; 随着正己烷比例进一步增加, 混合溶剂极性减小, 对山梨酸和苯甲酸的萃取率降低。方法选用乙酸乙酯+正己烷(1+1)混合溶剂作为萃取剂。

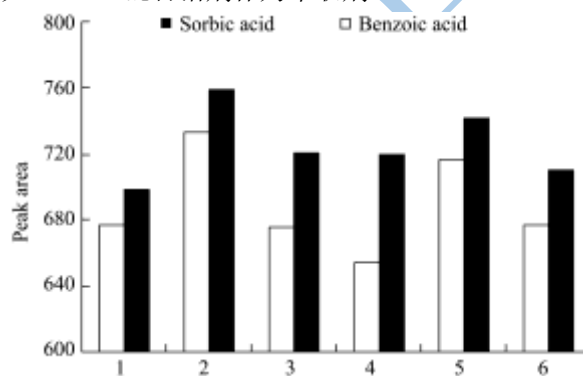


图1 不同萃取剂对试样一次性萃取的结果比较

Fig.1 Effect of different extraction solvent by disposable extraction

注: 1.乙酸乙酯; 2.乙酸乙酯+正己烷(1+1, V/V); 3.乙酸乙酯+正己烷(1+2, V/V); 4.乙酸乙酯+正己烷(1+3, V/V); 5.乙酸乙酯+正己烷(2+1, V/V); 6.乙酸乙酯+正己烷(3+1, V/V)。

### 2.2 萃取剂体积及萃取次数的选择

选取了1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL三种溶剂量的萃取剂进行试验, 对含25 mg/kg、100 mg/kg、400 mg/kg山梨酸和苯甲酸的模拟样进行多次萃取并对各次萃取相进行色谱分析, 直至相关色谱数据接近空白样品。为方便每次萃取时将萃取相和萃取相完全分离, 每种萃取剂用量对应浓度的测定管做多个平行样, 在试管完成振摇后再集中转移到一个分液漏斗中静置分层, 分出下层溶液后再取样于比色管中进行下一次萃取。分别将每种溶剂量各次萃取对应的目标色谱数据做归一化处理, 计算第一次萃取的目标色谱响应值所占的比率, 以观察第一次萃取的效果。结果显示, 对低浓度样品, 1.00 mL溶剂量对应的比率约为82~87%, 2.00 mL和3.00 mL溶剂量对应的比率约为92~96%; 对中高浓度样品, 1.00 mL溶剂量对应的比率约为88~94%, 2.00 mL和3.00 mL溶剂量对应的比率约为95~99%。可见, 萃取剂用量为2.00 mL时一次性萃取已可满足分析的要求。综合色谱响应、萃取效率、操作难易、试剂成本等因素, 实验选用2.00 mL混合溶剂作萃取剂, 萃取次数选择一次萃取。

2.3 色谱柱的选择

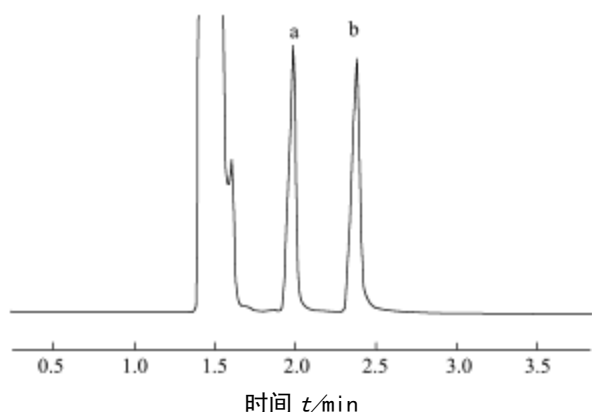


图2 山梨酸(a)和苯甲酸(b)色谱图

Fig.2 Chromatogram of (a) sorbic acid and (b) benzoic acid

SE-30 毛细柱为非极性柱,可用于酸的分析<sup>[9]</sup>。本试验使用 SE-30 宽口径毛细管柱在相应色谱条件下分

析了山梨酸和苯甲酸,出峰快、无拖尾,检测效果良好。色谱图如图 2 所示。

2.4 工作曲线及检出限

在实验方法条件下对标准系列进行分析,以山梨酸和苯甲酸质量浓度 y 为横坐标,以峰面积 x 为纵坐标制作工作曲线,以 3 倍信噪比(N/S)计算检出限。山梨酸的回归方程为  $y=2.0056x-3.1195$ ,  $r=0.9993$ , 线性范围为 25~500  $\mu\text{g/mL}$ , 检出限为 1 mg/kg; 苯甲酸的回归方程为  $y=2.2420x-5.8618$ ,  $r=0.9995$ , 线性范围为 25~500  $\mu\text{g/mL}$ , 检出限为 1 mg/kg。山梨酸的质量浓度大于 400  $\mu\text{g/mL}$  时,对应的色谱峰会

2.5 样品分析结果

按实验方法对市售某品牌的酱油、酸桃、橙汁汽水、葡萄酒进行测定,结果见表 1。

表 1 样品分析和回收率测定结果 (n=5)

Table 1 Results of sample analysis and recovery test

样品	测定值 /(mg/kg)	加入量 /(mg/kg)	测得总量 /(mg/kg)	回收率 /%	RSD /%	测定值 /(mg/kg)	加入量 /(mg/kg)	测得总量 /(mg/kg)	回收率 /%	RSD /%
酱油	141.2	50	188.1	93.8	3.6	294.7	50	341.7	94.0	3.3
		500	653.2	102.4	2.2		500	802.7	101.6	2.2
酸萝卜	未检出	50	46.6	93.2	4.1	58.5	50	105.2	93.4	3.8
		500	491.5	98.3	2.7		500	547.0	97.7	3.0
橙味汽水	106.0	100	201.3	95.3	6.0	138.4	100	233.1	94.7	6.0
		800	910.8	100.6	3.3		800	946.4	101.0	3.1
葡萄酒	未检出	50	47.0	94.0	3.2	152.0	50	199.4	94.8	3.5
		200	194.3	97.2	2.5		200	346.8	97.4	2.3
		800	773.6	96.7	2.5		800	928.0	97.0	2.8

2.6 影响测定结果的其它因素

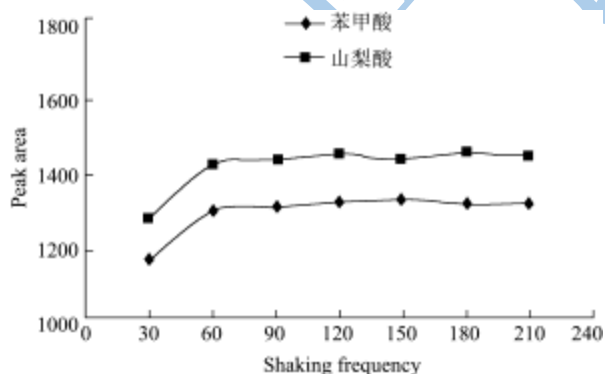


图3 萃取振摇次数对色谱响应值的影响

Fig.3 Influences of different shaking frequency on Chromatographic response

由于方法采用一次性萃取,萃取振摇的强度和频次对萃取效果有显著影响。当振摇强度不足、频次不大一致时,易导致萃取率偏低、平行样分析结果不平行。为保证各样品间萃取强度和频次近似相同,将样品管和标准管置于同一试管架上加塞并特别固定后进行振摇。从图 3 萃取振摇次数与色谱分析结果的关系

曲线可以看出,当剧烈振摇达 120 次以上时,萃取物的色谱响应值基本相近,说明此时萃取率趋于稳定。

试样加入过饱和量的氯化钠可以阻止乙酸乙酯解离、降低溶剂和被分析物在水中的溶解度,而过量的氯化钠晶体颗粒在振摇过程中也起到搅拌的作用,有利于提高萃取效率。

由于试验采用的萃取溶剂乙酸乙酯和正己烷的体膨胀系数仍然较高,分别达到  $1.39 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$  和  $1.37 \times 10^{-3} \text{ mL/}^\circ\text{C}$ , 因此本方法分析过程仍然需要控制实验环境温度相对稳定,否则易引起分析误差。此外,含油脂样品不适于直接使用本法。

2.7 实际应用

按实验方法对市售散装酱油和瓶装酱油各 2 份、腌制果蔬 10 份、各种包装饮料 10 份、配制葡萄酒 5 份进行检测,其中 1 份散装酱油山梨酸和苯甲酸超标,2 份腌制果蔬苯甲酸超标,与用国标方法测定结果一致;随机抽取其他未超标的样品 5 份用国标方法测定,结果也与本方法的测定结果近似。

### 3 结论

本研究分析过程操作可控性良好,不易受偏高的环境温度影响。试验小型化设计便于样品的批量处理,并方便直接通过离心解决试样萃取时发生的乳化现象,分析过程方便快捷、成本低廉。方法将样品与标准系列按同样实验条件实施萃取,避免了其他方法因标准系列配制与样品试液的制备方法不一致可能带来的方法误差,同时也有利于平行样品的平行,保证检测方法的准确性。

### 参考文献

- [1] 王竹天.食品卫生检验方法(理化部分)注解[M].北京:中国标准出版社,2008
- [2] 牟冠文,李光浩.食品防腐剂的概况及其检测方法[J].食品与发酵工业,2006,32(10):103-106
- [3] 张春玲.高效液相色谱法测定食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠[J].中国卫生检验杂志,2007,17(5):936-937
- [4] 文红.高效液相色谱法测定肉制品中糖精钠、山梨酸和苯甲酸[J].理化检验-化学分册,2006,42(4):293-295
- [5] 加列西·马那甫,陈财来,毛丽珍,等.多元校正/紫外光度法同时测定食品中防腐剂含量[J].食品科技,2011,36(8):294-296
- [6] GB/T5009.29-2003.食品中山梨酸、苯甲酸的测定[S].
- [7] 殷德荣.气相色谱法同时测定食品中多种防腐剂的研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(12):3214-3215
- [8] 邓小峰.食品中苯甲酸和山梨酸的分离分析[J].食品与发酵工业,2005,31(9):88-89
- [9] 牛波.气相色谱法测定酱油中山梨酸和苯甲酸的含量[J].中国医药指南,2011,9(6):218-219
- [10] 郑定钊.毛细柱色谱法测定食品防腐剂山梨酸和苯甲酸的探讨[J].海峡科学,2012,6:115-117
- [11] 陈立新,杨晓东,谭年元.用 GDX 柱分析食品中防腐剂山梨酸和苯甲酸的探讨[J].现代食品科技,2009,25(3):331-332 转 340
- [12] 何风云,顾卫东,朱子丰.毛细柱气相色谱法测定食品中的防腐剂[J].现代仪器,2008,8:68-69
- [13] 赵维佳,向增旭,张琼.气相色谱法测定食品中山梨酸、苯甲酸方法[J].粮油食品科技,2006,14(6):51-53
- [14] 聂洪勇,黄志强,彭三和.气相色谱法快速测定食品中山梨酸和苯甲酸[J].色谱,1992,10(4):244-246
- [15] 庞楠楠,迪丽努尔·马克力.快速气相色谱法测定食品的常见防腐剂[J].分析实验室,2005,24(3):48-51
- [16] 李浩春.分析化学手册第五分册:气相色谱分析[M].北京:化学工业出版社,1999