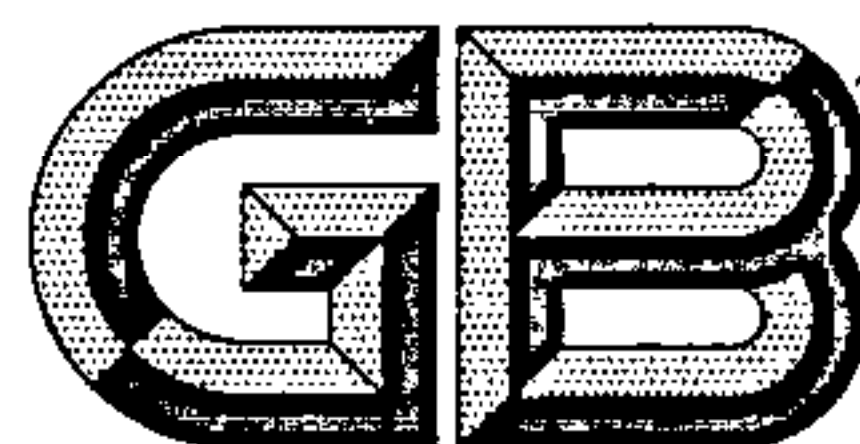


ICS 67.040  
C 53



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.29—2003  
代替 GB/T 5009.29—1996

---

## 食品中山梨酸、苯甲酸的测定

Determination of sorbic acid and benzoic acid in foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布  
中国国家标准化管理委员会

231

## 前 言

本标准代替 GB/T 5009.29—1996《食品中山梨酸、苯甲酸的测定方法》。

本标准与 GB/T 5009.29—1996 相比主要修改如下：

——修改了标准的中文名称，标准中文名称改为《食品中山梨酸、苯甲酸的测定》；

——按照 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分：化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准第一法由卫生部食品卫生监督检验所负责起草。

本标准第二法由天津食品卫生监督检验所、辽宁省食品卫生监督检验所、武汉市卫生防疫站、浙江省卫生防疫站、四川省卫生防疫站负责起草。

本标准第三法由卫生部食品卫生监督检验所负责起草。

本标准于 1985 年首次发布，1996 年第一次修订，本次为第二次修订。

## 食品中山梨酸、苯甲酸的测定

### 1 范围

本标准规定了酱油、水果汁、果酱等食品中山梨酸、苯甲酸含量的测定方法。

本标准适用于酱油、水果汁、果酱等食品中山梨酸、苯甲酸含量的测定。

最低检出浓度：气相色谱法最低检出量为  $1\ \mu\text{g}$ ，用于色谱分析的试样为  $1\ \text{g}$  时，最低检出浓度为  $1\ \text{mg/kg}$ 。

### 第一法 气相色谱法

### 2 原理

试样酸化后，用乙醚提取山梨酸、苯甲酸，用附氢火焰离子化检测器的气相色谱仪进行分离测定，与标准系列比较定量。

### 3 试剂

3.1 乙醚：不含过氧化物。

3.2 石油醚：沸程  $30^\circ\text{C}\sim 60^\circ\text{C}$ 。

3.3 盐酸。

3.4 无水硫酸钠。

3.5 盐酸(1+1)：取  $100\ \text{mL}$  盐酸，加水稀释至  $200\ \text{mL}$ 。

3.6 氯化钠酸性溶液(40 g/L)：于氯化钠溶液(40 g/L)中加少量盐酸(1+1)酸化。

3.7 山梨酸、苯甲酸标准溶液：准确称取山梨酸、苯甲酸各  $0.2000\ \text{g}$ ，置于  $100\ \text{mL}$  容量瓶中，用石油醚-乙醚(3+1)混合溶剂溶解后并稀释至刻度。此溶液每毫升相当于  $2.0\ \text{mg}$  山梨酸或苯甲酸。

3.8 山梨酸、苯甲酸标准使用液：吸取适量的山梨酸、苯甲酸标准溶液，以石油醚-乙醚(3+1)混合溶剂稀释至每毫升相当于  $50$ 、 $100$ 、 $150$ 、 $200$ 、 $250\ \mu\text{g}$  山梨酸或苯甲酸。

### 4 仪器

气相色谱仪：具有氢火焰离子化检测器。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样提取

称取  $2.50\ \text{g}$  事先混合均匀的试样，置于  $25\ \text{mL}$  带塞量筒中，加  $0.5\ \text{mL}$  盐酸(1+1)酸化，用  $15$ 、 $10\ \text{mL}$  乙醚提取两次，每次振摇  $1\ \text{min}$ ，将上层乙醚提取液吸入另一个  $25\ \text{mL}$  带塞量筒中，合并乙醚提取液。用  $3\ \text{mL}$  氯化钠酸性溶液(40 g/L)洗涤两次，静置  $15\ \text{min}$ ，用滴管将乙醚层通过无水硫酸钠滤入  $25\ \text{mL}$  容量瓶中。加乙醚至刻度，混匀。准确吸取  $5\ \text{mL}$  乙醚提取液于  $5\ \text{mL}$  带塞刻度试管中，置  $40^\circ\text{C}$  水浴上挥干，加入  $2\ \text{mL}$  石油醚-乙醚(3+1)混合溶剂溶解残渣，备用。

5.2 色谱参考条件

5.2.1 色谱柱:玻璃柱,内径 3 mm,长 2 m,内装涂以 5%DEGS+1%磷酸固定液的 60 目~80 目 Chromosorb W AW。

5.2.2 气流速度:载气为氮气,50 mL/min(氮气和空气、氢气之比按各仪器型号不同选择各自的最佳比例条件)。

5.2.3 温度:进样口 230℃;检测器 230℃;柱温 170℃。

5.3 测定

进样 2 μL 标准系列中各浓度标准使用液于气相色谱仪中,可测得不同浓度山梨酸、苯甲酸的峰高,以浓度为横坐标,相应的峰高值为纵坐标,绘制标准曲线。

同时进样 2 μL 试样溶液,测得峰高与标准曲线比较定量。

5.4 结果计算

试样中山梨酸或苯甲酸的含量按式(1)进行计算。

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times \frac{5}{25} \times \frac{V_2}{V_1} \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X —— 试样中山梨酸或苯甲酸的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A —— 测定用试样液中山梨酸或苯甲酸的质量,单位为微克(μg);

V<sub>1</sub> —— 加入石油醚-乙醚(3+1)混合溶剂的体积,单位为毫升(mL);

V<sub>2</sub> —— 测定时进样的体积,单位为微升(μL);

m —— 试样的质量,单位为克(g);

5 —— 测定时吸取乙醚提取液的体积,单位为毫升(mL);

25 —— 试样乙醚提取液的总体积,单位为毫升(mL)。

由测得苯甲酸的量乘以 1.18,即为试样中苯甲酸钠的含量。

计算结果保留两位有效数字。

5.5 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%。

5.6 其他

山梨酸和苯甲酸的气相色谱图见图 1。

山梨酸保留时间 2 min53 s;苯甲酸保留时间 6 min 8 s。



图 1

## 第二法 高效液相色谱法

### 6 原理

试样加温除去二氧化碳和乙醇,调 pH 至近中性,过滤后进高效液相色谱仪,经反相色谱分离后,根据保留时间和峰面积进行定性和定量。

### 7 试剂

方法中所用试剂,除另有规定外,均为分析纯试剂,水为蒸馏水或同等纯度水,溶液为水溶液。

7.1 甲醇:经滤膜(0.5  $\mu\text{m}$ )过滤。

7.2 稀氨水(1+1):氨水加水等体积混合。

7.3 乙酸铵溶液(0.02 mol/L):称取 1.54 g 乙酸铵,加水至 1 000 mL,溶解,经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

7.4 碳酸氢钠溶液(20 g/L):称取 2 g 碳酸氢钠(优级纯),加水至 100 mL,振摇溶解。

7.5 苯甲酸标准储备溶液:准确称取 0.100 0 g 苯甲酸,加碳酸氢钠溶液(20 g/L)5 mL,加热溶解,移入 100 mL 容量瓶中,加水定容至 100 mL,苯甲酸含量为 1 mg/mL,作为储备溶液。

7.6 山梨酸标准储备溶液:准确称取 0.100 0 g 山梨酸,加碳酸氢钠溶液(20 g/L)5 mL,加热溶解,移入 100 mL 容量瓶中,加水定容至 100 mL,山梨酸含量为 1 mg/mL,作为储备溶液。

7.7 苯甲酸、山梨酸标准混合使用溶液:取苯甲酸、山梨酸标准储备溶液各 10.0 mL,放入 100 mL 容量瓶中,加水至刻度。此溶液含苯甲酸、山梨酸各 0.1 mg/mL。经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤(同时测定糖精钠时可加 GB/T 5009.28—2003 中 3.4 糖精钠标准储备溶液)。

8 仪器

高效液相色谱仪(带紫外检测器)。

9 分析步骤

9.1 试样处理

9.1.1 汽水:称取 5.00 g~10.0 g 试样,放入小烧杯中,微温搅拌除去二氧化碳,用氨水(1+1)调 pH 约 7。加水定容至 10 mL~20 mL,经滤膜(HA 0.45 μm)过滤。

9.1.2 果汁类:称取 5.00 g~10.0 g 试样,用氨水(1+1)调 pH 约 7,加水定容至适当体积,离心沉淀,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤。

9.1.3 配制酒类:称取 10.0 g 试样,放入小烧杯中,水浴加热除去乙醇,用氨水(1+1)调 pH 约 7,加水定容至适当体积,经 0.45 μm 滤膜过滤。

9.2 高效液相色谱参考条件

9.2.1 柱:YWG-C<sub>18</sub> 4.6 mm×250 mm,10 μm 不锈钢柱。

9.2.2 流动相:甲醇:乙酸铵溶液(0.02 mol/L)(5:95)。

9.2.3 流速:1 mL/min。

9.2.4 进样量:10 μL。

9.2.5 检测器:紫外检测器,230 nm 波长,0.2AUFS。

根据保留时间定性,外标峰面积法定量。

9.3 结果计算

试样中苯甲酸或山梨酸的含量按式(2)进行计算。

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1\,000} \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X——试样中苯甲酸或山梨酸的含量,单位为克每千克(g/kg);

A——进样体积中苯甲酸或山梨酸的质量,单位为毫克(mg);

V<sub>2</sub>——进样体积,单位为毫升(mL);

V<sub>1</sub>——试样稀释液总体积,单位为毫升(mL);

m——试样质量,单位为克(g)。

计算结果保留两位有效数字。

9.4 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%。

9.5 其他

同 GB/T 5009.28—2003 的 5.6。

注:本方法可同时测定糖精钠。

第三法 薄层色谱法

10 原理

试样酸化后,用乙醚提取苯甲酸、山梨酸。将试样提取液浓缩,点于聚酰胺薄层板上,展开。显色后,根据薄层板上苯甲酸、山梨酸的比移值。与标准比较定性,并可进行概略定量。



## 11 试剂

- 11.1 异丙醇。
- 11.2 正丁醇。
- 11.3 石油醚:沸程 30℃~60℃。
- 11.4 乙醚:不含过氧化物。
- 11.5 氨水。
- 11.6 无水乙醇。
- 11.7 聚酰胺粉:200 目。
- 11.8 盐酸(1+1):取 100 mL 盐酸,加水稀释至 200 mL。
- 11.9 氯化钠酸性溶液(40 g/L):于氯化钠溶液(40 g/L)中加少量盐酸(1+1)酸化。
- 11.10 展开剂如下:
- 11.10.1 正丁醇+氨水+无水乙醇(7+1+2)。
- 11.10.2 异丙醇+氨水+无水乙醇(7+1+2)。
- 11.11 山梨酸标准溶液:准确称取 0.200 0 g 山梨酸,用少量乙醇溶解后移入 100 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,此溶液每毫升相当于 2.0 mg 山梨酸。
- 11.12 苯甲酸标准溶液:准确称取 0.200 0 g 苯甲酸,用少量乙醇溶解后移入 100 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,此溶液每毫升相当于 2.0 mg 苯甲酸。
- 11.13 显色剂:溴甲酚紫-乙醇(50%)溶液(0.4 g/L),用氢氧化钠溶液(4 g/L)调至 pH=8。

## 12 仪器

- 12.1 吹风机。
- 12.2 层析缸。
- 12.3 玻璃板:10 cm×18 cm。
- 12.4 微量注射器:10 μL,100 μL。
- 12.5 喷雾器。

## 13 分析步骤

### 13.1 试样提取

称取 2.50 g 事先混合均匀的试样,置于 25 mL 带塞量筒中,加 0.5 mL 盐酸(1+1)酸化,用 15、10 mL 乙醚提取两次,每次振摇 1 min,将上层醚提取液吸入另一个 25 mL 带塞量筒中,合并乙醚提取液。用 3 mL 氯化钠酸性溶液(40 g/L)洗涤两次,静止 15 min,用滴管将乙醚层通过无水硫酸钠滤入 25 mL 容量瓶中。加乙醚至刻度,混匀。吸取 10.0 mL 乙醚提取液分两次置于 10 mL 带塞离心管中,在约 40℃ 的水浴上挥干,加入 0.10 mL 乙醇溶解残渣,备用。

### 13.2 测定

13.2.1 聚酰胺粉板的制备:称取 1.6 g 聚酰胺粉,加 0.4 g 可溶性淀粉,加约 15 mL 水,研磨 3 min~5 min,立即倒入涂布器内制成 10 cm×18 cm、厚度 0.3 mm 的薄层板两块,室温干燥后,于 80℃ 干燥 1 h,取出,置于干燥器中保存。

13.2.2 点样:在薄层板下端 2 cm 的基线上,用微量注射器点 1 μL、2 μL 试样液,同时各点 1 μL、2 μL 山梨酸、苯甲酸标准溶液。

13.2.3 展开与显色:将点样后的薄层板放入预先盛有展开剂(11.10.1 或 11.10.2)的展开槽内,展开槽周围贴有滤纸,待溶剂前沿上展至 10 cm,取出挥干,喷显色剂,斑点成黄色,背景为蓝色。试样中所含山梨酸、苯甲酸的量与标准斑点比较定量(山梨酸、苯甲酸的比移值依次为 0.82、0.73)。

### 13.3 结果计算

试样中苯甲酸或山梨酸的含量按式(3)进行计算。

$$X = \frac{A \times 1\,000}{m \times \frac{10}{25} \times \frac{V_2}{V_1} \times 1\,000} \dots\dots\dots(3)$$

式中:

- X——试样中苯甲酸或山梨酸的含量,单位为克每千克(g/kg);
- A——测定用试样液中苯甲酸或山梨酸的质量,单位为毫克(mg);
- V<sub>1</sub>——加入乙醇的体积,单位为毫升(mL);
- V<sub>2</sub>——测定时点样的体积,单位为毫升(mL);
- m——试样质量,单位为克(g);
- 10——测定时吸取乙醚提取液的体积,单位为毫升(mL);
- 25——试样乙醚提取液总体积,单位为毫升(mL)。

注:本方法还可以同时测定果酱、果汁中的糖精。

### 禁用防腐剂定性试验

#### 14 硼酸、硼砂

##### 14.1 试剂

14.1.1 盐酸(1+1):量取盐酸 100 mL,加水稀释至 200 mL。

14.1.2 碳酸钠溶液(40 g/L)。

14.1.3 氢氧化钠溶液(4 g/L):称取 2 g 氢氧化钠,溶于水并稀释至 500 mL。

14.1.4 姜黄试纸:称取 20 g 姜黄粉末,用冷水浸渍 4 次,每次各 100 mL,除去水溶性物质后,残渣在 100℃干燥,加 100 mL 乙醇,浸渍数日,过滤。取 1 cm×8 cm 滤纸条,浸入溶液中,取出,于空气中干燥,贮于玻璃瓶中。

##### 14.2 分析步骤

###### 14.2.1 试样处理

称取 3 g~5 g 固体试样,加碳酸钠溶液(40 g/L)充分湿润后,于小火上烘干、炭化后再置高温炉中灰化。量取 10 mL~20 mL 液体试样,加碳酸钠溶液(40 g/L)至呈碱性后,置水浴上蒸干、炭化后再置高温炉中灰化。

###### 14.2.2 定性试验

14.2.2.1 姜黄试纸法:取一部分灰分,滴加少量水与盐酸(1+1)至微酸性,边滴边搅拌,使残渣溶解,微温后过滤。将姜黄试纸浸入滤液中,取出试纸置表面皿上,于 60℃~70℃干燥,如有硼酸、硼砂存在时,试纸显红色或橙红色,在其变色部分熏以氨即转为绿黑色。

14.2.2.2 焰色反应:取灰分置于坩埚中,加硫酸数滴及乙醇数滴,直接点火,硼酸或硼砂存在时,火焰呈绿色。

#### 15 水杨酸

##### 15.1 试剂

15.1.1 三氯化铁溶液(10 g/L)。

15.1.2 亚硝酸钾溶液(100 g/L)。

15.1.3 乙酸(50%)。

15.1.4 硫酸铜溶液(100 g/L):称取 10 g 硫酸铜(CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O),加水溶解至 100 mL。



15.2 分析步骤

15.2.1 试样提取

按 GB/T 5009.28—2003 中 9.1 操作,将乙醚提取液蒸干后,残渣备用。

15.2.2 定性试验

15.2.2.1 三氯化铁法:残渣加 1 滴~2 滴三氯化铁溶液(10 g/L),水杨酸存在时显紫堇色。

15.2.2.2 确证试验:溶解残渣于少量热水中,冷后加 4 滴~5 滴亚硝酸钾溶液(100 g/L),4 滴~5 滴乙酸(50%)及 1 滴硫酸铜溶液(100 g/L),混匀,煮沸 0.5 h,放置片刻,水杨酸存在时呈血红色(苯甲酸不显色)。

---