

食品添加剂分析方法

刘莲芳 王式箴 李家瑞 编

SHIPINTIANJIAJIFENXIFANGFA

食品添加剂分析方法

刘莲芳 王式箴 李家瑞 编

轻工业出版社

内 容 提 要

本书比较全面地介绍了我国食品行业中正在使用和估计近期内将获得使用的食品添加剂的分析方法。书中提到的方法不仅有显示现代分析技术水平的气相、液相色谱法、原子吸收光谱法等，而且也有简便易行、便于推广、适合一般工厂企业使用的紫外、可见分光光度及重量、容量、直接滴定法等。

本书可供食品工业、商业、农牧、外贸、卫生防疫、食品检测等部门的开发、检测、研究人员以及有关的高等院校师生和生产管理部门的技术人员参考。

食品添加剂分析方法

刘莲芳 王式箴 李家瑞 编

轻工业出版社出版

(北京广安门南滨河路25号)

地质印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

*

787×1092毫米 $1/32$ 印张: $74/32$ 字数 160千字

1989年9月第一版第一次印刷

印数: 1-5,000 定价: 5.20元

ISBN 7—5019—0559—2 /TS·0379

前 言

食品添加剂系食品生产、加工或保藏过程中加入的少量化学合成或天然物质。这些物质必须具有低毒或无毒的可食性。它们的作用有防止或减缓食品腐败变质；延长保藏期；强化蛋白质、氨基酸及维生素等营养物；增加香味、甜味、鲜味、乳化性能以及改善外观等等。因此，正确地使用食品添加剂对提高食品质量、防止食品变坏具有相当的积极作用。但是，如果使用不当也十分可能对人体带来危害。所以，加强食品添加剂的管理工作对于保障人们健康有十分重要的意义。

近几年来，随着食品工业的发展，食品添加剂的品种、数量日趋增多。为更好地进行引导、管理和监督，除了严格制定产品的国家标准外，还必须掌握食品添加剂在食品中残留量的分析检测手段。虽然，有关部门已做了不少工作，研究和建立了一些分析方法，但局限性还很大，远远不能满足实践中的要求，甚至至今还有常用添加剂尚无分析方法。为此，根据我国现有食品添加剂和将要发展的产品，把国际上较为先进和国内已收集到的食品添加剂检测方法汇编成册，供广大科技和管理人员工作中参考。这些方法中，有些是翻译的，有些是轻工部食品发酵研究所的研究成果，也有些是商检和卫生部门提供的方法，内容较多，也比较全面。

本书由刘莲芳、王式箴、李家瑞合编。由于来自各个方面，书中难免出现一些缺点和错误，诚恳希望读者予以批评指教。

目 录

第一章 防腐剂	(1)
一、苯甲酸和苯甲酸钠的测定方法	(1)
(一) 气相色谱法	(1)
(二) 薄层色谱法	(3)
(三) 紫外分光光度法	(6)
二、山梨酸和山梨酸钾的测定方法	(8)
(一) 气相色谱法	(8)
(二) 比色法	(11)
三、硼酸与硼砂定性试验	(12)
四、水杨酸定性试验	(13)
五、丙酸钙和丙酸钠的测定方法	(14)
六、快速筛选法测定碎牛肉中的防腐剂——亚硫酸 盐、苯甲酸盐、山梨酸盐及抗坏血酸盐	(16)
七、苯甲酸和山梨酸的测定方法	(19)
第二章 漂白剂	(22)
一、无水亚硫酸和亚硫酸盐类的测定方法	(22)
二、次亚氯酸及其盐类测定方法	(27)
第三章 发色剂	(31)
一、亚硝酸钠的测定方法	(31)
二、硝酸钾和硝酸钠等盐的测定方法	(34)
第四章 抗氧化剂	(40)
一、叔丁基-4-羟基茴香醚(BHA)与2,6-二叔	

丁基对甲酚(BHT)的分离与测定	(40)
二、BHA和BHT混合使用时的测定方法	(43)
三、PG、BHA、BHT混合使用时的测定方法	(49)
四、油脂及食品中BHA、BHT、PG的 测定方法	(52)
五、油脂中BHT的测定方法	(58)
六、没食子丙酸的测定方法	(59)
七、维生素E的测定方法	(62)
(一) 比色法	(62)
(二) 荧光法	(64)
(三) 薄层扫描法	(66)
第五章 乳化剂	(69)
一、食品中甘油脂肪酸酯的测定方法	(69)
二、食品中蔗糖脂肪酸酯的测定方法	(73)
三、食品中山梨聚糖脂肪酸酯的测定方法	(77)
第六章 增稠剂	(81)
一、果胶的测定方法	(81)
二、果胶质的测定方法	(84)
(一) 重量法	(84)
(二) 容量法(蒸馏滴定法)	(85)
(三) 比色法	(87)
三、淀粉的测定方法	(89)
第七章 甜味剂	(96)
一、食品中糖精的测定方法	(96)
(一) 比色法	(96)
(二) 气相色谱法	(99)
(三) 紫外吸收光谱法	(101)

(四) 薄层层析法	(105)
(五) 纳氏比色法	(109)
二、甜菊糖苷的测定方法	(112)
(一) 比色法	(112)
(二) 薄层色谱法	(113)
第八章 着色剂	(116)
一、食品中合成焦油系色素的测定方法	(116)
(一) 薄层色谱法	(116)
(二) 单波长分光光度法	(122)
(三) 双波长分光光度法	(126)
二、水果糖中虫胶色素的测定方法	(129)
三、食品中叶绿素铜钠盐的测定方法	(131)
四、食品中添加的天然色素的检定方法	(133)
(一) 食品中叶绿素铜钠盐的检定	(133)
(二) 食品中虫胶色素的检定	(136)
(三) 食品中姜黄色素的检定	(139)
(四) 食品中红花黄的检定	(142)
第九章 酸味剂	(145)
一、食品中总酸度的测定方法	(145)
二、食品中柠檬酸及其盐类的测定方法	(146)
(一) 气相色谱法	(146)
(二) 比色法	(149)
三、食品中琥珀酸及其盐类的测定方法	(152)
四、食品中d-, dl-酒石酸及其盐类的测定方法	(157)
五、食品中乳酸及其盐类的测定方法	(157)
六、食品中冰醋酸及醋酸钠的测定方法	(163)
七、食品中富马酸及富马酸钠的测定方法	(165)
八、食品中dl-苹果酸和dl-苹果酸钠的测定方法	(170)

第十章 其他食品添加剂	(171)
一、食品中磷酸及其盐类的测定方法	(171)
二、食品中焦磷酸盐类的测定方法	(175)
三、食品中钙盐类的测定方法	(176)
四、二氧化碳的测定方法	(179)
五、食品中铵及其盐类的测定方法	(182)
第十一章 营养强化剂	(186)
一、食品中铁化合物的测定方法	(186)
二、食品中维生素A的测定方法	(188)
(一) 三氯化锑比色法	(188)
(二) 紫外分光光度法	(193)
三、维生素A棕榈酸盐和维生素A醋酸盐的 测定方法	(196)
四、维生素B ₁ 的测定方法	(198)
五、维生素B ₂ 的测定方法	(204)
六、维生素C的测定方法	(206)
(一) 2,6-二氯酚靛酚滴定法	(206)
(二) 2,4-二硝基苯肼法	(210)
(三) 荧光测定法	(212)
(四) 高压液相色谱法	(216)
七、维生素D的测定方法	(218)
(一) 三氯化锑比色法	(218)
(二) 高压液相色谱法	(221)
八、L-赖氨酸盐酸盐的测定方法	(223)
九、DL-色氨酸和L-色氨酸的测定方法	(227)

第一章 防腐 剂

一、苯甲酸和苯甲酸钠的测定方法

(一) 气相色谱法

1. 原理

食品中苯甲酸和苯甲酸钠由气相色谱法定量苯甲酸，再乘以适当的分子量比，求出苯甲酸钠量。食品中存在天然苯甲酸，其定量值应为食品中天然和添加的总量。

2. 操作方法

(1) 试剂和溶液：

- ①碳酸氢钠：分析纯以上。
- ②无水硫酸钠：分析纯以上。
- ③硫酸钠：结晶，分析纯以上。

(2) 样品和标准液配制：准确称取约 10~25g 样品¹⁾。加入搅拌机的杯中，再加入 25ml 饱和硫酸钠及 (1→10) 硫酸液，成为强酸性²⁾。再加 150ml 乙醚，用冰水边冷却边搅拌约 2~3min。然后，分取乙醚层，在水层中每次加入 100ml 乙醚，按上述操作，重复两次。将所有乙醚层合并于分液漏斗，加入 30ml 饱和硫酸钠，轻轻摇匀后，弃去水层。在乙醚层中加入 50ml (1→100) 碳酸氢钠，摇晃，把水层分入另一个 300ml 分液漏斗中，再用 50ml (1→100) 碳酸氢钠液重复同

样操作，于分液漏斗中合并水层。

然后，水层用(1→10) 硫酸溶液调至酸性，加入硫酸钠饱和后，加入50ml 乙醚，激烈摇晃，将水层移入另一分液漏斗，在水层中每次加50ml乙醚，反复操作二次。合并全部乙醚层，加入无水碳酸钠脱水，以浓缩器为接受器，过滤³⁾。用少量乙醚洗涤残渣，合并洗液于滤液中，在40℃下真空浓缩至近干程度，加入丙酮，定容至25ml，作为试样液。

标准液配制：准确称取50mg 苯甲酸，加入丙酮溶解，定容至100ml，作为标准液(该液1ml 含500 μ g 苯甲酸)。分别准确吸取标准液0、1、2、3、4 和5ml，加入丙酮定容至5ml，作为标准曲线制作用标准液(该液1ml 含有0、100、200、300、400和500 μ g 苯甲酸)。也可用内标法⁴⁾。

(3) 测定步骤：

①仪器和条件：带氢焰鉴定器的气相色谱仪(FID-GC)。

填充剂：在60~80目以硅烷处理过的气相色谱纯硅藻土担体上涂覆5%二甘醇和1%磷酸。

柱：内径3mm，长度2m的玻璃管。

柱温：160℃

注入口温度：200℃

载气：氮气，调整至苯甲酸约在5~10min 后出峰的流速。

②标准曲线的制作：分别每次准确吸取标准曲线制作用标准液5ml，注入气相色谱仪，由峰高制作标准曲线。

③定量与计算：准确吸取样品液5ml，注入气相色谱仪，根据得到的峰高和标准曲线求出样品液中的苯甲酸浓度，再按下式计算样品中苯甲酸含量。

$$\text{苯甲酸含量 (g/kg)} = \frac{C}{40 \times m}$$

C ——样品液中苯甲酸浓度, $\mu\text{g/ml}$

m ——样品质量, g

苯甲酸钠含量(g/kg) = 苯甲酸含量(g/kg) $\times 1.180$

注: 1) 液状食品不需捣碎, 可直接用分液漏斗抽提。

2) pH 为 $1 \sim 2$ 。

3) 可使用Kudema-Danish浓缩器或其他型真空浓缩器。一般情况下, 浓缩至干会使回收率降低, 所以浓缩至几乎要干时停止。

4) 按需要, 作为内标液可使用对甲苯酸为内标的方法。

(二) 薄层色谱法

1. 原理

苯甲酸、苯甲酸钠经分离提取后, 用薄层层析分离, 在紫外光下或显色后与标准比较定性与概略定量。

2. 操作方法

(1) 试剂:

① $6N$ 盐酸: 取盐酸 100ml , 加水至 200ml 。

② 4% 氢氧化钠溶液。

③ $0.02N$ 氢氧化钠溶液: 4% 氢氧化钠溶液稀释 50 倍。

④ 乙醚。

⑤ 无水硫酸钠。

⑥ 10% 硫酸铜溶液。

⑦ 乙酸乙酯或乙醇。

⑧ 展开剂:

1) 苯: 乙酸乙酯: 乙酸 ($12: 7: 1$) 。

2) 氯仿: 丙酮: 甲酸 ($9: 3: 0.1$) 。

3) 正丁醇:丙酮:氨水(4:1:1)。

⑨显色剂:

1) 0.5% α -萘胺乙醇溶液。

2) 溴甲酚绿-溴酚蓝乙醇溶液: 取溴甲酚绿及溴酚蓝各0.1g, 加乙醇溶解并稀释至200ml。

⑩苯甲酸标准溶液: 精确称取苯甲酸 50mg, 加无水乙醇溶解, 移入50ml 容量瓶中, 并稀释至刻度, 混匀, 此溶液每毫升相当苯甲酸1mg。

(2) 测定步骤:

①仪器:

1) 玻璃纸。

2) 薄板涂敷器。

3) 玻璃基板。

4) 层析槽。

5) 玻璃喷雾器。

6) 微量注射器。

7) 紫外光灯: 波长253.7nm或365nm。

②提取:

1) 不含蛋白质脂肪的液体样品: 浓缩果汁 冷饮类, 直接精确吸取样品10ml(汽水需除去二氧化碳后取样), 加6N盐酸酸化, 用乙醚20、10、10ml分三次提取, 合并乙醚提取液, 用盐酸酸化的水洗2次, 每次5ml, 弃去水层, 从分液漏斗上部分出乙醚层, 通过无水硫酸钠脱水 滤入50ml 容量瓶中, 加乙醚至刻度, 混匀, 精确吸取乙醚提取液10ml(相当原样品2ml), 分次置于15ml离心管中, 于热水浴中缓缓挥干, 精确加入乙酸乙酯或乙醇 0.2ml, 密塞, 使残渣溶解, 供薄层层析用。

2) 含酒精的液体样品: 精密吸取样品10ml, 加水10ml, 加4%氢氧化钠溶液使成碱性, 于沸水浴上蒸去酒精, 加6N盐酸酸化, 以下自“用乙醚20、10、10ml分三次提取……”起按上述操作。

3) 含蛋白质、脂肪、淀粉量高的样品: 糕点、饼干、面包、蜜饯、酱菜均采用透析法处理。称取捣碎样品25g, 放入透析用的玻璃纸内, 置大小适当的烧杯中, 加入0.02N氢氧化钠溶液50ml, 调成浆糊状后, 将玻璃纸口扎紧, 放入盛有0.02N氢氧化钠溶液200ml的烧杯中, 盖上表面皿, 搅动3~5次, 透析过夜。取透析液125ml(相当原样品12.5g), 用6N盐酸调至中性, 加10%硫酸铜溶液20ml, 再加4%氢氧化钠液体4.4ml, 混匀(如样品蛋白质含量高, 可按比例多加硫酸铜溶液及氢氧化钠溶液), 静置30min后过滤, 取滤液120ml(相当原样品10g), 置分液漏斗中, 加6N盐酸2ml使成酸性, 用乙醚50、30、20ml分三次提取, 合并提取液, 用盐酸酸化的水洗二次, 每次5ml, 弃去水层, 从分液漏斗上部倾出乙醚层, 通过无水硫酸钠脱水, 滤入100ml容量瓶中并稀释至刻度, 混匀, 精确吸取乙醚提取液20ml(相当原样品2g), 分次加入15ml离心管中, 于热水浴上缓缓挥干, 精密加入乙酸乙酯或乙醇0.2ml, 密塞, 使残渣溶解, 供薄层层析用。

③薄层板的制备: 将硅胶G或硅胶GF-254 1.5~2g, 调成浆糊状, 涂成0.25~0.3mm厚的10×20cm或20×20cm的薄板上, 稍干后于110℃活化1h, 取出后放于干燥器内备用。

④点样: 在薄板下端2cm的基线上, 用微量注射器或色素吸管, 点样液10 μ l及20 μ l两个点, 同时取糖精钠标准溶

液点 3、5、7、10 μ l 等几个点。

⑤展开与显色：将点样后的薄层板放入盛有展开剂1)或2)的展开槽内，预饱和10min后展开至10cm处，取出挥干有机溶剂后，即可在紫外灯下观察，如用显色剂显色，先将薄层板放入90 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C的干燥箱中10~15min，取出后立即用显色剂显色，如喷洒 α -萘胺乙醇溶液至板面刚湿润，斑点显白色。

⑥计算

$$\text{苯甲酸 (g/kg 或 L)} = \frac{A \times 1000}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000}$$

式中 A ——点样用样液中苯甲酸的含量，mg

m ——吸取乙醚提取液相当于原样品的质量，g

V_1 ——加入乙酸乙酯或乙醇的体积，ml

V_2 ——点样用样品液的体积，ml

(三) 紫外分光光度法

1. 原理

苯甲酸、苯甲酸钠在酸性溶液中蒸出后，在重铬酸钾硫酸溶液中氧化除去挥发性杂质及山梨酸，再进行蒸馏分离，蒸馏液在波长 225 λ 处测光密度与标准比较定量。本法适用于酱油、酱菜、果汁、果酱等样品。

2. 操作方法

(1) 试剂：

①无水硫酸钠：使用前灼烧。

②1N氢氧化钠溶液：取氢氧化钠 40g，加水溶解并稀释至1000ml。

③0.1N氢氧化钠溶液：取1N氢氧化钠溶液，加水稀释

10倍。

④0.01N氢氧化钠溶液：取0.1N氢氧化钠溶液，加水稀释10倍。

⑤0.2N重铬酸钾溶液：取重铬酸钾4.9g，加水溶解并稀释至500ml。

⑥4N硫酸：取硫酸55ml，缓缓加入400ml水中，冷后加水至500ml。

⑦苯甲酸标准溶液：精确称取置于硫酸干燥器中干燥至恒重的苯甲酸0.1000g，溶于0.1N氢氧化钠溶液中，移入1000ml容量瓶中，并稀释至刻度，混匀，此溶液每毫升相当苯甲酸0.1mg，精确吸取此溶液10ml于50ml容量瓶中，加0.01N氢氧化钠溶液至刻度，混匀，此溶液每毫升相当苯甲酸20 μ g。

(2) 仪器：751型紫外分光光度计。

(3) 测定步骤：

①样品处理：称取样品10g，置于250ml蒸馏瓶中，加磷酸1ml、无水硫酸钠20g及水70ml，进行蒸馏，用盛有0.1N氢氧化钠溶液10ml的100ml容量瓶进行吸收至馏出液约45ml左右，当蒸馏瓶中开始暴沸时停止蒸馏，放冷，加水20ml，再蒸馏如前，至第三次蒸馏完毕，用水5ml洗涤冷凝管，洗液并入容量瓶中并稀释至刻度，混匀，为甲液。精确吸取甲液25ml，置另一250ml蒸馏瓶中，加入0.2N重铬酸钾溶液25ml、4N硫酸6.5ml，连接蒸馏装置，在沸水浴上准确加热4min，冷却，加磷酸1ml、无水硫酸钠20g及水30ml，进行蒸馏，用盛有0.1N氢氧化钠溶液10ml的100ml容量瓶进行吸收，至馏出液约45ml左右，停止蒸馏，放冷。由蒸馏瓶顶端加水20ml，继续蒸馏如前，然后冷却，加水20ml，

再蒸馏如前，至第三次蒸馏完毕，用水5ml洗涤冷凝管，洗液并入容量瓶中并稀释至刻度，摇匀，为乙液。

②空白试验：称取样品10g，置于250ml蒸馏瓶中，加1N氢氧化钠溶液5ml、无水硫酸钠20g、水65ml进行蒸馏，以下自“用盛有0.1N氢氧化钠溶液10ml的100ml容量瓶进行吸收，……”起按样品处理的方法操作，制备甲液与乙液。

③测定：精确吸取样品处理中的乙液及空白试验中的乙液各10~20ml，另精确吸取苯甲酸标准溶液0、5、10、15、20、25ml(相当苯甲酸0、100、200、300、400、500 μ g)，分别置于50ml容量瓶中，加0.01N氢氧化钠溶液至刻度，混匀。用1cm石英杯，以0管调节零点，于波长225nm测光密度，绘制标准曲线比较。

④计算：

$$\text{苯甲酸(g/kg或L)} = \frac{(A_1 - A_2) \times 100}{m \times \frac{25}{100} \times \frac{V}{100} \times 1000 \times 1000}$$

式中 A_1 ——样品乙液中苯甲酸的含量， μ g

A_2 ——与样品乙液同量的空白试验乙液中苯甲酸的含量， μ g

m ——样品质量，g

V ——吸取样品乙液的体积，ml

二、山梨酸和山梨酸钾的测定方法

(一) 气相色谱法

1. 原理

食品中的山梨酸和山梨酸钾可依气相色谱定量山梨酸。

按需要分别乘以分子量比而求出山梨酸钾的量。

2. 操作方法

(1) 试剂和溶液:

①碳酸氢钠: 分析纯以上。

②无水硫酸钠: 分析纯以上。

③硫酸钠: “结晶”分析纯以上。

(2) 样品和标准液的制备:

①样品液制备: 准确称取约 10~25g 样品, 加入均质杯中, 再加 25ml 饱和硫酸钠溶液及 (1→10) 硫酸溶液, 使其成为强酸性 ($\text{pH } 1 \sim 2$), 加入 150ml 乙醚, 边用冷水冷却边均质 2~3min。然后, 分离提取乙醚层, 在水层中每次加 100ml 乙醚, 以同样的操作, 反复操作两次。将全部乙醚层合并并在分液漏斗中, 加入 30ml 饱和硫酸钠溶液, 轻轻摇匀后, 弃去水层。在乙醚层中加入 (1→100) 碳酸氢钠溶液 50ml, 摇匀, 将水层放入另一个分液漏斗, 继而以 50ml 碳酸氢钠溶液, 同样反复操作, 于前面的分液漏斗中合并水层。

接着用 (1→10) 硫酸溶液将水层酸性化, 加入硫酸钠达饱和后, 再加 50ml 乙醚, 激烈摇晃, 把水层移至另一个分液漏斗中。水层每次加 50ml 乙醚, 以同样操作反复两次。

合并所有乙醚层, 加无水硫酸钠脱水, 以浓缩器¹⁾做为受器, 过滤。用少量乙醚洗涤容器和残渣, 洗液并入滤液, 在 40℃ 水浴上真空浓缩至尚要干的程度, 以少量丙酮转入容量瓶中, 加入丙酮定容²⁾, 作为试样液。

②标准液制备: 准确称取 50ml 山梨酸, 加入丙酮溶解, 定容至 100ml, 以此为标准液 (该液 1ml 含山梨酸 500 μg)。

分别准确吸取标准液 0、1、2、3、4 和 5ml, 分别加入