

出口食品中添加剂 测定方法

一九八六年一月

目 录

前 言	(1)
概 论	(2)
(一) 叔丁基羟基茴香醚, 叔丁基对羟基甲苯 和没食子酸丙酯的测定	(6)
(二) 各种亚硫酸盐及二氧化硫的检验方法	(26)
(三) 氰化物的测定	(37)
(四) 食品中硝酸盐和亚硝酸盐的测定	(48)
(五) 食品中磷酸盐的测定方法	(67)
(六) 食品中苯甲酸和山梨酸的测定	(74)
(七) 糖精(糖精钠)	(97)
(八) 食品中食用合成色素检验方法	(105)
(九) 精盐中碘化物的测定	(124)
(十) 食盐中亚铁氰化钾的测定	(126)
(十一) 食品中过氧化氢的测定	(128)
(十二) 蘑菇罐头中尿素的测定	(134)
(十三) 饮用酒中甲醇的测定	(139)
(十四) 啤酒中甲醛含量的测定	(145)
(十五) 酒中糠醛的测定	(150)
(十六) 罐头食品中苯酚残留量的测定	(155)
附 录:	(159)

前 言

在1979年末,国家商检局在天津召开有天津,上海,广州,武汉,青岛,福州进出口商品检验局参加的食品添加剂和有害元素分析科研座谈会上,提出要总结汇编商检系统食品中添加剂分析方法问题。其后由俞润民、赵皇民、卢康全、冯毅、刘学娣、余婉珍、郎冠芬、曾汉和孙兆芬、陆文波、胡永乐等同志分别执笔编写。初稿完成后,广泛地征求意见,又由国家商检局主持下,在1980年3月和12月在天津,1982年5月在上海的多次会议上进行了讨论,经多次修改和补充。1983年6月在武汉召开的食品添加剂会议上,八个兄弟单位和商检系统21个局(处)39名代表对初稿再次讨论,经过修改补充后,由俞润民同志统一汇总编写,最后由郑子厚同志审阅定稿。

本书收集的方法主要是各地进出口商品检验局(处)在进出口食品检验中常用的方法以及商检系统新近研试的方法,所录入的添加剂都对一般知识作了简单的介绍,本书增加了对检验方法的评述,根据经验体会增加了操作注意事项,书中并按添加剂的种类收集了近期食品中添加剂检验方面较有代表性的参考资料,供检验和科研中参考。

本书的编成是我商检系统广大科技人员在进出口食品检验中辛勤劳动的成果,许多同志还参加了研究试验和初稿的编写或汇编工作,在这里不一一提及,由于编者水平局限和经验不足,书中难免有错误和不足之处,希望广大读者批评指正。

概 论

食品加工生产中使用添加剂,已有长远历史,人们在日常生活中也都离不开使用添加剂,如蒸馒头时使用的碱面,烧肉烧鱼时使用的糖色都是。随着近代食品工业的发展,为改进食品中的色香味和生产、加工、贮存等方面的需要,使用食品添加剂的种类日渐增多,如防腐剂、抗氧化剂、色素、品质改良剂等,已成为食品工业中必不可少的物质。

食品添加剂的种类很多,根据联合国粮农组织和世界卫生组织所属食品法规委员会公布,对已建立每日允许摄入量的允许使用的食品添加剂就有15类372种,这些是:

酸类	11种
抗结块剂	33种
抗氧化剂	25种
碱类	7种
载体溶剂	7种
色素	32种
乳化剂、稳定剂和增稠剂	69种
香味剂	45种
香味增强剂	31种
盐类	91种
酶菌制造:	
来源于动物的	7种
来源于植物的	3种
来源于微生物的	9种

面粉处理剂	6种
非营养甜味剂	14种
防腐剂	32种
杂项	16种

食品法规委员会下属的食品添加剂法典委员会提出虽尚未建立每日允许摄入量或尚未列入规划暂时允许使用的有11类466种，这些是：

酸碱盐类	36种	萃取用溶剂	21种
抗氧化剂	1种	香味剂	312种
载体溶剂	8种	香味增强剂	3种
色素	31种	防腐剂	1种
乳化剂和稳定剂	23种	杂项	20种
酶菌	10种		

此外，食品添加剂法典委员会还提出了生产使用的辅助剂19类380种，因其成份或残留也进入到食品中，都列入了食品添加剂的范畴，这些是：

抗泡沫剂	42种	离子交换树脂	21种
促媒剂	28种	滤膜，分子筛	21种
澄清剂	25种	润滑剂，抗结剂	40种
冷冻剂	6种	脱膜剂	40种
干燥剂	12种	包装用气体推进剂	9种

酶菌制造：

来源于动物的	5种	洗涤剂、去皮剂	21种
来源于植物的	4种	酵母营养剂	15种
来源于微生物的	29种	面粉处理剂	7种
萃取溶剂	48种	微生物控制剂	6种
脂肪结晶改良剂	4种	其它生产辅助剂	12种

过滤辅助剂	4 种
凝聚剂	8 种
改良剂	34种
营养剂	15种

以上允许使用的和暂时允许使用的食品添加剂，以及生产使用的辅助剂共1218种，由此可见食品工业中使用的食品添加剂是一个非常广泛的领域。

食品添加剂的类别、品种很多，但就其使用来说，可以分为两种类型。一种是根据良好的生产作业（Good Manufacturing Practice简称GMP）不规定使用限量，但这并非随意应用，也并非随意加入多少，根据食品添加剂法典委员会的意见，虽然对良好的生产作业没有规定使用限量，但要求加入的物质不能改变食品的特有性质，及其营养价值，物质的本身也必须是食品级的，应按食品级的规定来制备和经营管理，由于在生产或包装过程中加入的物质，已成为食品成分的一部分，因此，要求加入的量应该减少至合理的范围内。另一种情况是规定了最大使用量或残留限量。我国国标对食品中的人工合成色素、糖精、食盐、抗结剂、抗氧化剂、防腐剂、漂白剂等，都规定了最高限量，世界各国也都规定了各自的最高限量，因此在使用这类食品添加剂时，必需加以重视，不得超过限量规定，否则会对人类健康带来不良的影响。但应该注意的是，有些食品添加剂加入食品后，由于分解、氧化、还原等原因，含量也会变化，甚至大部份消失。例如漂白用亚硫酸盐，发色用亚硝酸盐，以及一些抗氧化剂等，加入量和最终产品的残留量就会有很大的差别。但是也有一些添加剂是不会受影响的，如食品中加入糖精，苯甲酸或某些稳定性的无机盐类，加入量和最终产品残留量就

会一致。由此可见，最大使用量和最终产品的残留量，有时相同，有时也不一样。这个构想在许多国家的标准规定中都是存在的。食品添加剂法典委员会的讨论中认为，食品中食品添加剂的最高限量，应该是指最终产品的最高限量，因为从检验角度来看，产品在生产中掺入的添加剂，只有在检验以后才能知道。如遇到能被分解、氧化、还原的食品添加剂，由分析所得到的结果只能是产品中所含添加剂的最终含量。从另一方面说，有时食品中加入的食品添加剂，在食品本身就会含有的，如将磷酸盐加入蚕豆制品中，蚕豆本身即含有磷酸盐，将维生素丙加入果汁中，果汁本身也含有维生素丙。这样最终产品中食品添加剂的含量，就会高于加入量。

食品添加剂种类繁多，已如上述，食品类别更是五花八门，因此要有一套完整的食品中食品添加剂的检验方法是一项很复杂的工作，目前国内外还没有这样一套完整的检验方法，正因为如此，1983年国际食品法典委员会年会中注意了这一问题，提出了今后食品添加剂的工作方向中，要重视制定食品中食品添加剂检验方法的工作，列为该会应该优先考虑的问题之一，会议提出了食品中加入的食品添加剂或生产使用的辅助剂，目前还没有检验方法的都应该制定相应的检验方法，在确认食品标准时，也要求有相应的食品添加剂的检验方法。

由此可见，食品中食品添加剂检验方法的研究，对国内外来说，都是一项很大的工作，这不单是食品及食用添加剂的品类很多，需要一一建立相应的检验方法，更加复杂的还有食品的种类和添加剂的含量不一样，往往一种方法不能适用于各项食品的检验，还应该有多种检验方法，来满足各种类型食品的检验需要。例如测定一般酱油中的苯甲酸含量，

采用水蒸气蒸馏后，用紫外分光光度计测定，是一个可行的检验方法，但如用来测定特级酱油，如特浓的老抽酱油等，因采用水蒸气蒸馏时会产生大量泡沫，方法则不能适用，而要改用色谱法或薄层层析法。又如测定食品中的二氧化硫，盐酸副品红法准确可靠，灵敏度高，是一个很好的方法，但却不能用来测定洋葱或大蒜中的二氧化硫，因为洋葱或大蒜本身所含的硫化物，对测定有干扰。这种因食品种类不同，而需采用不同的检验方法的例证是很多的，因此，在食品添加剂的检验中，应注意根据不同食品的情况，选用不同的处理方法或检验方法。

随着食品工业的发展，人们生活水平的提高，对食品中的色香味以及生产储存等方面的要求愈来愈高，近代毒理学的发展，要求食品中使用的添加剂及最终产品的含量，不能有碍人们的身体健康，现在各国都很重视这一问题，相信食品中添加剂的检验研究将会有新的进展。

一、叔丁基羟基茴香醚(BHA)、 叔丁基对羟基甲苯(BHT)和 没食子酸丙酯(PG)的测定

在油脂和含油脂的食品中，往往需要加入抗氧化剂来防止氧化变质。这三种是目前国内使用的。它可以单独使用，也可以两种或三种混合使用。

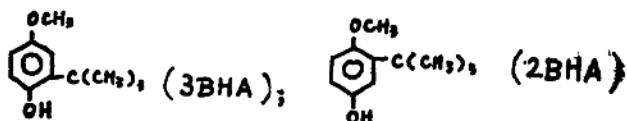
当油脂氧化生成过氧化物后，过氧化物又促使油脂的加速氧化，恶性循环。因此为防止油脂氧化，应尽早使用抗氧化剂，即在过氧化物未生成前，即加入抗氧化剂，能防止过氧化物的生成，抗氧化剂并能阻止或减弱氧化酶的活力。

BHA₁

分子量 180.25

分子式 $C_{11}H_{14}O_2$

有两种异构体，3 BHA 抗氧效果较 2 BHA 高 1.5—2 倍。

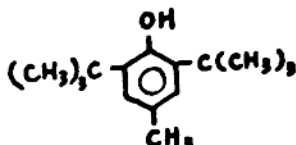


性状 白色或微黄色蜡状结晶粉末，带有酚类的刺激气味。工业品是两种异构体的混合物。熔点 57—60℃，不溶于水。易溶于酒精、乙醚、动植物油等。

BHT₁

分子量 220.36

分子式 $C_{15}H_{14}O$

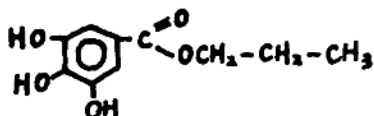


性状 白色结晶或白色粉末，无嗅，无味，熔点 69.5—70.5℃。不溶于水及甘油，易溶于酒精、乙醚，和动植物油等。

PG₁

分子量 212.21

分子式 $C_{10}H_{12}O_3$



性状 白色或灰白色粉末，微有苦味，微溶于水，易溶于酒精，乙醚和动植物油等。

(一) 方法概述

食品中使用抗氧化剂，有的单独使用，也有的混合使用，并由于食品种类不同，化验方法很多，主要常用的有：

1. 2,6-二氯醌氯亚胺法测定BHA； α ， α' 联吡啶法测定BHT。

2. 紫外分光光度法测定BHA。

3. 水蒸气蒸馏法测定油脂中BHT。

4. 气相色谱法测定食品中的BHA和BHT。

5. 气相色谱法测定油脂中BHA和BHT。

6. 反相液相色谱法测定油脂中BHA和BHT。

7. 酒石酸亚铁比色法测定PG。

这些方法中气相色谱法和液相色谱法可以同时测定BHA、BHT，快速、准确、灵敏度高。液相色谱法用梯度淋洗，可使BHA、BHT和干扰成份完全分离。但如是油脂或油脂成份很高的食品，则用乙腈-乙醇(1:5)为抽提溶剂。

比色法虽不如色谱法，但在一般化验室都可采用，便于普及，亦能适合一般食品中抗氧化剂的测定需要，比较通用的BHA显色剂是2,6-二氯醌氯亚胺，BHT的显色剂为 α ， α' 联吡啶-三氯化铁。水蒸气蒸馏后测定BHT，可免除干扰。紫外分光光度法测定BHT，可在分离的溶液中，直接测定，省去浓缩等步骤，也有其优点。这些方法各有优缺点，应根据不同样品和要求选用不同方法进行测定。

此外还有萤光光度法^③测定抗氧化剂的方法，也是近几年来研究和采用的。

(二) 检验方法

1. 2,6-二氯醌氯亚胺法测定BHA， α ， α' 联吡啶法测

定BHT (适用于饼干、酥糖、奶糖、速煮面、干鱼制品等)

(1) 方法原理: 用正己烷抽提BHA和BHT, 通过硅胶柱吸附BHA, 用70—72%乙醇洗脱后和2,6-二氯醌氯亚胺——硼砂生成兰色络合物。未被硅胶吸附的BHT, 蒸去正己烷后, 在乙醇溶液中和 α, α' 联吡啶-三氯化铁生成红色络合物。

(2) 仪器和试剂

①分光光度计

②硅胶柱: 长约250毫米, 内径10毫米玻璃柱, 带磨口玻璃活塞, 底部放玻璃棉和无水硫酸钠, 然后放入硅胶10—13克, 上面复盖玻璃棉。柱子装好后, 用正己烷50毫升分两次洗涤, 当第一份正己烷流完至硅胶顶端后, 再加入第二份正己烷洗涤。保持正己烷液面在硅胶之上。

③2,6-二氯醌氯亚胺溶液(0.01%)。称取2,6-二氯醌氯亚胺10毫克, 加无水乙醇100毫升, 置棕色瓶中, 在冰箱内保存。

④硼砂溶液: 称取硼砂1.2克, 氯化钾1.4克于烧杯中, 加入1N氢氧化钠0.5毫升, 用70—72%乙醇溶解, 并稀释至500毫升。

⑤0.2% α, α' 联吡啶溶液: 称取 α, α' 联吡啶0.2克于烧杯中, 加乙醇2毫升, 溶解后, 用水稀释至100毫升。

⑥0.2%三氯化铁溶液。

⑦乙醇溶液70—72% (体积/体积)。

⑧正己烷或石油醚(30—60℃)。

⑨硅胶, 不需活化。

⑩BHA标准储备液: 称取BHT 50毫克, 用乙醇溶液溶解, 配成100毫升溶液, 避光保存。

每毫升 ≈ 0.6 毫克 BHA

⑪ BHA 标准工作液：取上述储备液2毫升，用乙醇溶液稀释至100毫升。

每毫升 ≈ 10 微克 BHA

⑫ BHT 标准储备液：称取50毫克 BHT，用乙醇溶液溶解，配成100毫升，在棕色瓶中避光保存。

每毫升 ≈ 0.5 毫升 BHT

⑬ BHT 标准工作液：取上述储备液2毫升，用乙醇溶液稀释至100毫升，用时配制。

每毫升 ≈ 10 微克 BHA

(3) 试样处理：取粉碎混匀试样10克，置磨口瓶中，加正己烷50毫升。不断振摇20分钟，静置，取上层清液25毫升（相当5克试样），通过已制备好的硅胶柱。用100毫升量瓶承接洗出液，流速为5毫升/分。继续用正己烷洗涤至100毫升为止，正己烷溶液供测定 BHT 用。

在硅胶柱内吸附的 BHA，用乙醇溶液淋洗，以100毫升量瓶承接洗出液，弃去最初流出的5毫升，以后用乙醇溶液洗至100毫升为止，供测定 BHA 用。

(4) BHA 的测定：取上述 BHA 测定液4毫升，置25毫升比色管中，加乙醇溶液至10毫升，加入2,6-二氯醌氯亚胺溶液1毫升，硼砂溶液2毫升，静置20分钟，在波长620纳米测定吸收值，用试剂空白为参比液。

标准曲线的绘制：取 BHA 标准工作液1、2、3、4 和 5 毫升（相当 BHA 10、20、30、40 和 50 微克），分别置25毫升比色管中，加乙醇溶液至10毫升。以下按 BHA 的测定方法进行。绘制标准曲线。

(5) BHT 的测定：取上述正己烷溶液4毫升置小蒸

发器中，蒸去正己烷，用乙醇溶液 5 毫升溶解残留物并洗净蒸发器，用小滤纸过滤，再用乙醇溶液洗涤滤纸 2—3 次，总体积为 10 毫升，置 25 毫升比色管中，加 0.2% α , α' -联吡啶溶液 1 毫升，0.2% 三氯化铁 1 毫升，放置 60 分钟，在波长 520 纳米测定吸收值。以试剂空白为参比液。

标准曲线的绘制：取 BHT 标准工作液 1、2、3、4 和 5 毫升（相当于 BHT 10、20、30、40 和 50 微克）分别置 25 毫升比色管中，各加乙醇溶液至 10 毫升，以下按 BHT 的测定方法进行，绘制标准曲线。

(6) 计算：

$$\text{BHA 或 BHT (毫克/公斤)} = \frac{A}{W}$$

式中：A——由测得试样的吸收值，在标准曲线中求得 BHA 或 BHT 的微克数。

W——试样克数。

(7) 说明：

① BHT 遇光分解，整个试验过程都需要在暗处避光进行。

② 在用正己烷或石油醚抽提试样中 BHA 和 BHT 时，要注意溶剂挥发问题。必要时可以在试样加入 50 毫升正己烷后，连瓶和溶液称其总重量，在振摇抽提后，再次称重，如因溶剂挥发重量减少，可加溶剂补足至原重量。

2. 紫外分光光度法测定 BHT

(1) 方法原理：试样用正己烷抽提 BHA 和 BHT，通过硅胶柱，将 BHA 吸附，(BHA 仍可按方法一测定) 正己烷中的 BHT 用紫外分光光度计在波长 277—283 纳米测定。

(2) 仪器和试剂:

① 紫外分光光度计。

② BHT标准储备液: 称取50毫克BHT, 用少量正已烷溶解, 移入至100毫升容量瓶中, 用正已烷稀释至刻度。

每毫升 ≈ 0.5 毫克BHT

③ BHT标准工作液: 取上述溶液10毫升, 用正已烷稀释至50毫升。

每毫升 ≈ 100 微克BHT

④ 其它试剂同方法一。

(3) 试样处理: 同方法一。

(4) BHA的分离和测定: 同方法一。

(5) BHT的测定: 取上述正已烷溶液, 用紫外分光光度计在波长277—283纳米测定吸收值。另取BHT标准工作液1、2、3、4、6、8和10毫升分别置50毫升量瓶中, 用正已烷稀释至刻度(此标准系列每毫升含2、4、6、8、12、16和20微克), 测定吸收值, 绘制标准曲线。

(6) 计算:

BHA计算同方法一。

$$\text{BHT (毫克/公斤)} = \frac{A}{W}$$

式中: A——测定试样溶液的吸收值, 由标准曲线求得
BHT, 微克/毫升。

W——测定时每毫升试液中含试样重, 克。

(7) 说明:

① 用紫外分光光度计测定BHT, 优点是含BHT的正已烷溶液可以直接测定吸收值, 省去蒸发正已烷, 再溶解等步骤。

②不被硅胶吸附，又能溶解于正己烷的其它干扰成份，对测定是有影响的，如含维生素乙的饼干，和其它成份复杂的食品，则不能采用直接紫外分光光度法。

3. 水蒸气蒸馏法（适用于油脂中BHT的测定）

（1）方法原理：油脂中的BHT，通过水蒸气蒸馏，用乙醇吸收，按 α, α' 联吡啶——三氯甲烷法测定。

（2）仪器和试剂：

水蒸气蒸馏装置

试剂——同方法一，比色法测定BHT

（3）测定：

取混匀油脂试样5—10克（含BHT约0.5—1.0毫克），置100毫升蒸馏瓶内，加无水氯化钙16克，水100毫升，将蒸馏瓶放入至165℃油浴内，立即连接蒸馏装置进行蒸气蒸馏，用黑纸包好的200毫升量瓶承接蒸出液（瓶中事先放入无水乙醇50毫升），收集馏出液100毫升，蒸馏速度1.5—2.0毫升/分钟。用约50毫升无水乙醇洗涤冷凝器，并稀释至刻度。

取上述溶液10毫升置比色管中，加入0.2% α, α' 联吡啶溶液1毫升，0.2%三氯化铁溶液1毫升，在暗处放置60分钟，在波长520纳米测定吸收值。

并按方法一中绘制BHT标准曲线。由测得试样的吸收值用标准曲线求出BHT含量。

（4）说明：

①水蒸气蒸馏法，将BHT与试样中其它成份分离，不受其它物质干扰，最适用于油脂中BHT的测定，其它样品也可以用此蒸馏法测定，但手续较烦，测定非全油脂性食品，以用方法一或方法二较为简便。

②经蒸气蒸馏后的试液，也可以用紫外光光度法直接测定。

4. 气相色谱法测定BHA和BHT (适用范围同方法一)

(1) 方法原理：混匀试样用二硫化碳抽提BHA和BHT，加C—15烷为内标物，用10% QF—1 Gas Chrom-Q80—100目，2米长不锈钢柱，氢火焰离子化检测器测定。

(2) 气相色谱仪 (P·E·Sigma I 或其它相当型号)

氢火焰离子化检测器

不锈钢柱 长2米，内径2毫米

色谱柱填料 10% QF—1, Gas Chrom Q80—100目

一个15毫米长，内径2毫米石英管，内装硅烷化玻璃棉，

放在色谱柱前端。

色谱条件：

氮气 40毫升/分

柱温 150℃

检测器温度 220℃

进样口温度 200℃

氢气 40毫升/分

空气 300毫升/分

量程 100

衰减 1

纸速 10毫米/分

(3) 试剂：

① BHA 标准品

② BHT 标准品

③ C—15烷，色谱纯

④硅烷化玻璃棉

⑤玻璃棉 用丙酮回流烘干备用

⑥二硫化碳提取液 每毫升含C—15烷0.1毫克。

⑦BHA, BHT和C—15烷标准溶液——称取BHA, BHT和C—15烷各10毫克, 放入小烧杯内, 加少量二硫化碳溶解, 移入100容量瓶内, 用二硫化碳稀释至刻度, 每毫升含各物0.10毫克。

⑧干燥管 长约7.5厘米, 内径约3.5毫米的玻璃管, 底部放玻璃棉, 在玻璃棉上放入高约一厘米的无水硫酸钠。

(4) 操作步骤:

①准确称取混匀试样5克, 置磨口离心瓶中。

②用移液管准确加入7—10毫升二硫化碳提取液(每毫升含C—15烷0.1毫克, 内标物含量最好与样品中BHA, BHT含量接近。)

③盖上磨口塞, 振摇2分钟。

④静置二小时以上或离心分离10分钟(3000转/分)

⑤将上层清液用滤纸过滤至10毫升带磨口的尾管内, 并放入一支干燥管。

⑥用微注射器取干燥后的滤液2—10微升注入色谱仪内

⑦校正因子的测定 将每毫升含有C—15烷, BHA和BHT各0.10毫克的二硫化碳溶液, 用微量注射器取5微升, 注入色谱仪中(重复10次以上)所得峰面积以C—15烷为1,000, 求出其它两组份的相对响应因子, 并求出平均值。

(5) 计算:

BHA或BHT含量(毫克/公斤) =

$$[f_i \cdot A_i / f_s \cdot A_s] \cdot \frac{W_s}{W} \times 1000$$