疾控应用方案

------气相色谱法测定食品中苯甲酸、山梨酸

联系电话： 0576-89965381
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号 邮编： 317500
分析员：金迁 审核：刘健

气相色谱法测定食品中苯甲酸、山梨酸

一、执行标准

《GB 5009.28-2016 食品安全国家标准　食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》第二法 气相色谱法

二、方法概述

国标中提供了两种方法来测定食品中的苯甲酸、山梨酸和糖精钠：方法一是样品经水提取，高脂肪样品经正己烷脱脂、高蛋白样品经蛋白沉淀及沉淀蛋白，采用液相色谱分离、紫外检测器检测，外标法定量；方法二是试样经盐酸酸化后、用乙醚提取苯甲酸、山梨酸，采用气相色谱-氢火焰离子化检测器进行分离测定，外标法定量。本实验按照第二法 气相色谱法，采用 FFAP 毛细色谱柱，以苯甲酸、山梨酸梯度标准溶液制作校正曲线，线性相关系数均在 0.998 以上，117.2ug/mL 苯甲酸、山梨酸标准溶液的峰面积相对标准偏：苯甲酸为 2.7425%，山梨酸为 1.4877%。在取样量 2.5g，按国标中前处理操作，最后定容到 2mL 时，苯甲酸、山梨酸检出限均为 0.004688g/kg，定量限均为 0.01g/kg。

三、试剂及标准品

3.1 试剂

3.1.1 乙醚

3.1.2 乙醇

3.1.3 正己烷

3.1.4 乙酸乙酯，色谱纯

3.1.5 盐酸

3.1.6 氯化钠

3.1.7 无水硫酸钠：500℃烘 8h，于干燥器中冷却至室温后备用。

3.2 标准品

3.2.1 苯甲酸，纯度≥99.0%，或经国家认证丙授予标准物质证书的标准物质。

3.2.2 山梨酸，纯度≥99.0%，或经国家认证丙授予标准物质证书的标准物质。

联系电话： 0576-89965381
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号　　邮编： 317500
分析员：金迁　　审核：刘健

四、标准溶液及试剂配制

4.1 试剂配制

4.1.1 盐酸溶液（1+1）：取 50mL 盐酸盐，边搅拌边慢慢加入到 50mL 水中，混匀。

4.1.2 氯化钠溶液（40g/L）：称取 40g 氯化钠，用适量水溶解，加盐酸溶液 2mL，加水定容到 1L。

4.1.3 正己烷-乙酸乙酯混合溶液（1+1）：取 100mL 正己烷和 100mL 乙酸乙酯，混匀。

4.2 标准溶液配制

4.2.1 苯甲酸、山梨酸标准储备溶液：分别准确称取苯甲酸 0.0293g、山梨酸 0.0293g，用甲醇溶液并转移至 25mL 容量瓶中，定容摇匀，此溶液浓度为 1172ug/mL。

4.2.2 苯甲酸、山梨酸混合标准中间溶液：用移液管准确移取上述苯甲酸、山梨酸标准储备溶液 10.0mL 至装有少量乙酸乙酯的 50mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容至刻度，摇匀待测，此溶液浓度为 234.4ug/mL。

4.2.3 苯甲酸、山硫酸混合本标准系列工作溶液：在上述苯甲酸、山梨酸混合标准中间溶液逐级稀释。制备成浓度为 0、1.172、5.86、11.72、23.44、58.6、117.2、和 234.4ug/mL 的苯甲酸、山梨酸标准溶液（用正己烷-乙酸乙酯混合溶剂定容），供制作标准曲线用。

五、前处理方法

准确称取约 2.5g（精确至 0.001g）试样与 50mL 离心管中，加入 0.5g 氯化钠、0.5mL 盐酸溶液（1+1）和 0.5mL 乙醇，用 15mL 和 10mL 乙醚提取两次，每次振摇 1min，于 8000r/min 离心 3min。每次均将上层乙醚提取液通过无水硫酸钠滤入 25mL 容量瓶中。加乙醚清洗无水硫酸钠层并收集至约 25mL 刻度，最后用乙醚定容，混匀。准确吸取 5mL 乙醚提取液于 5mL 具塞刻度试管中，于 35℃氮吹至干，加入 2mL 正己烷-乙酸乙酯（1+1）混合溶液溶解残渣，待气相色谱测定。

六、 使用仪器设备

6.1 GC9720-FID 气相色谱仪

6.2 FL1090 自动进样器（选配）

6.3 RBX-FFAP/30m*0.32mm*0.25um 毛细柱

6.4 涡旋振荡器

联系电话： 0576-89965381
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号 邮编： 317500
分析员：金迁 审核：刘健

6.5 离心机

6.6 匀浆机

6.7 氮吹仪

6.8 分析天平：感量 0.001g

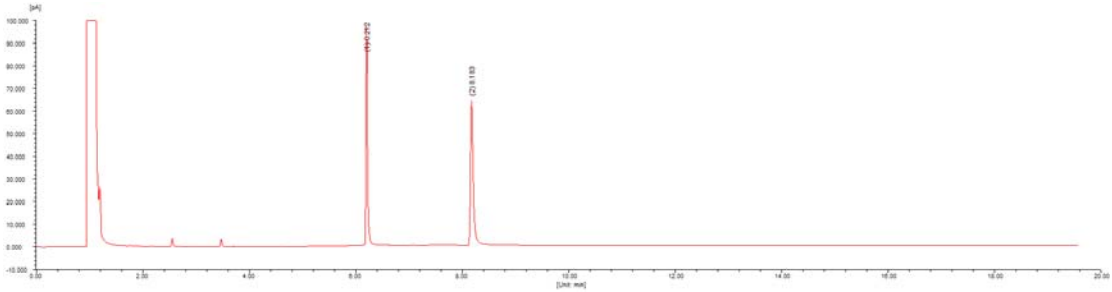
6.9 50mL 塑料离心管

6.10 容量瓶若干

6.11 具塞刻度试管

七、测定

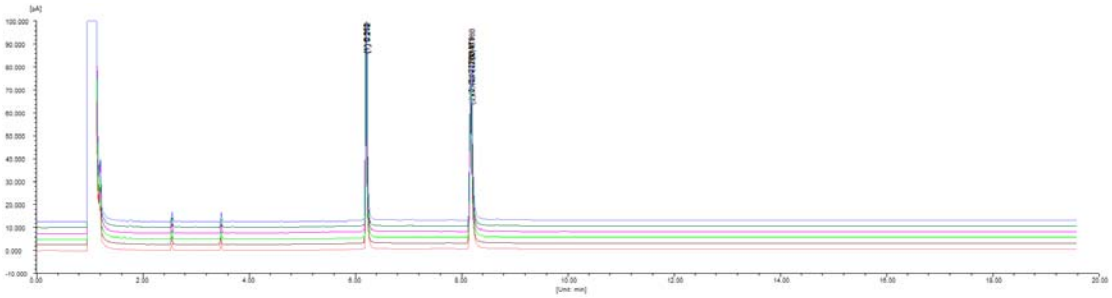
7.2 典型谱图



峰序	组分名	保留时间[min]	半峰宽[min]	峰高[fA]	峰面积[fA*s]	峰面积[%]	含量[%]
1	山梨酸	6.212	0.028	97745.2	199360.3	46.5198	46.5198
2	苯甲酸	8.183	0.050	64016.3	229189.3	53.4802	53.4802
			总计：	161761.6	428549.6	100.0000	100.0000

图 1 117.2ug/mL 苯甲酸山梨酸标准溶液

7.3 重复性实验



序号	组分名	平均时间	时间RSD%	平均面积	面积RSD%	平均峰高	峰高RSD%	平均含量	含量RSD%	谱图数
1	山梨酸	6.211	0.075	198983.3	1.4877	97968.4	2.8919	46.2532	0.7649	6
2	苯甲酸	8.181	0.061	231273.4	2.7425	64863.3	4.4656	53.7468	0.6582	6

图 2 117.2ug/mL 苯甲酸、山梨酸标准溶液重复性谱图及结果

7.4 校正曲线及相关系数

7.4.1 山梨酸曲线方程：A=1646.609375*（W），相关系数：0.99833

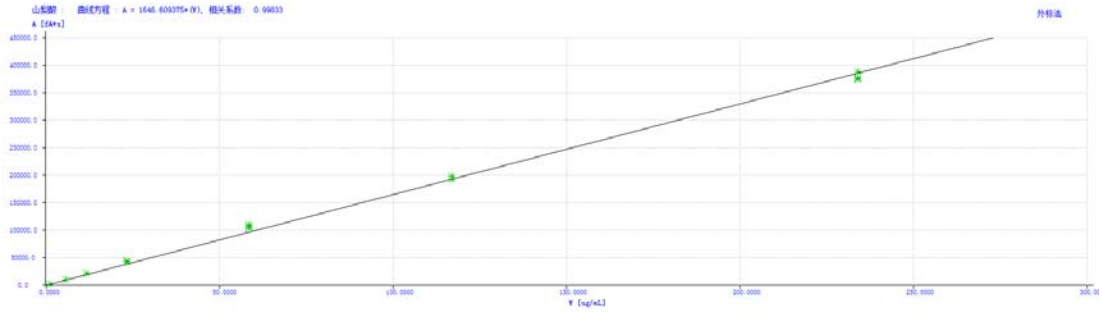


图 3 山梨酸标准溶液校正曲线

7.4.2 苯甲酸曲线方程：A=1924.557129*（W），相关系数：0.99881

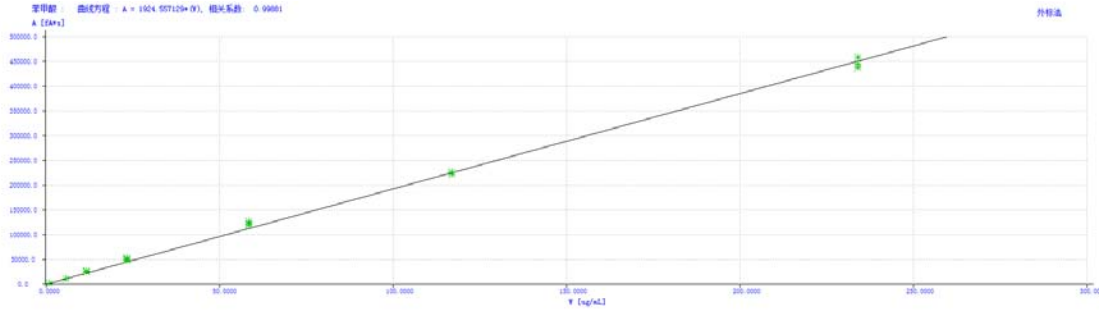
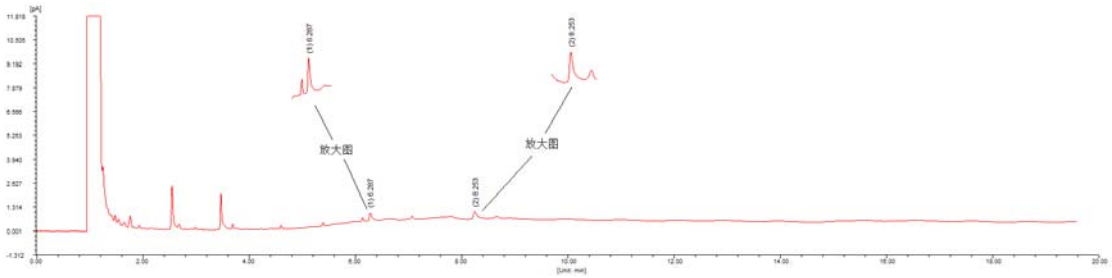


图 4 苯甲酸标准溶液校正曲线

7.5 最低检出限谱图

在称样量为 2.5g，按试样前处理方法操作，最后定容到 2mL 时，苯甲酸、山梨酸的检出限均为 0.004688g/kg，定量限均为 0.01g/kg。



峰序	组分名	保留时间[min]	半峰宽[min]	峰高[fA]	峰面积[fA*s]	峰面积[%]	含量[%]
1	山梨酸	6.287	0.048	475.6	1668.4	40.7840	40.7840
2	苯甲酸	8.253	0.078	413.5	2422.4	59.2160	59.2160
			总计:	889.1	4090.9	100.0000	100.0000

图 5 1.172ug/mL 苯甲酸标准溶液

八、色谱配置及主要试剂耗材清单

	分析项目		微量分析	
主机配置	GC9720		控温范围：室温加 5℃~450℃，(以 0.1℃增量任设)	
			程序升温速率：0-120℃/min	
			程序升温 30 阶	
			快速降温：250~100℃≤1.5 分钟	
			温度稳定性：±0.1℃	
		氢火焰离子化检测器 FID（含板）	最高使用温度：450℃ 温控精度：±0.1℃	1 套
			灵敏度≤3.0×10-12g/s[正十六烷]	
			自动点火	
		毛细进样系统	分流/不分流模式	1 套
		压力、流量传感器	压力控制范围：0-90psi 程序升压 8 阶 流量控制范围：0-600ml/min 程序升流 8 阶	
辅助进样系统		自动进样器（选配）	FL1090 自动进样器	1 套
色谱柱		毛细色谱柱	GsBp-FFAP（30m×0.32mm×0.25um）	1 根
色谱工作站		反控工作站	FL9720 色谱工作站	1 套
气源		载气	高纯钢瓶氮气+减压阀 （钢瓶气用户自备）	1 套
		燃气	高纯钢瓶氢气+减压阀/氢气发生器（钢瓶气用户自备）	1 套
		助燃气	无油空气发生器	1 台
净化器		气体净化器	GPI-2 气体净化器，用于净化气体	1 套
其他		电脑、打印机	电脑带 232 串口端口、网线端口，操作系统详见安装环境说明	1 套
		稳压电源	电压：220V±22V（不满足条件的用户必配），功率≥2500W	1 台

联系电话： 0576-89965381
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号 邮编： 317500
分析员：金迁 审核：刘健

易耗品	备件包	免费提供安装调试所有备件、半年期易耗品	1 套
试剂与材料	乙醚	分析纯	1 套
	盐酸	分析纯	1 套
	乙醇	分析纯	1 套
	氯化钠	分析纯	1 套
	硫酸钠	分析纯	1 套
	正己烷	分析纯	1 套
	乙酸乙酯	色谱纯	1 套
	苯甲酸	纯度≥99.0%或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质	1 套
	山梨酸	纯度≥99.0%或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质	1 套
	分析天平	感量 0.001g 和 0.0001g	各 1 套
	涡旋振荡器		1 套
	离心机	转速＞8000r/min	1 套
	均浆机		1 套
	氮吹仪		1 套
	烘箱		1 套
	塑料离心管	50mL	若干
	容量瓶	10mL、50mL、100mL	若干
	量筒	100mL	若干
	具塞刻度试管	5mL	若干
	移液管/玻璃刻度吸管	不同规格	若干

应用中心：于永庆、金迁

2018.3.27.-2018.4.4

联系电话： 0576-89965381
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号 邮编： 317500
分析员：金迁 审核：刘健