

两种吸收光度法同时测定果味饮料中苯甲酸钠和山梨酸钾含量的比较研究

汪显阳, 冯 伟, 胡岩岩, 刘贤香
(安徽医科大学化学教研室, 安徽 合肥 230032)

摘 要: 目的: 选择果味饮料中苯甲酸钠和山梨酸钾含量的测定方法。方法: 分别采用等吸收点法、多元线性回归法测定饮料中苯甲酸钠和山梨酸钾的含量, 并对测量结果进行比较。结果: 多元线性回归测得苯甲酸钠回收率 99.75%~100.9%, 山梨酸钾回收率 99.16%~101.1%, 等吸收点法测得苯甲酸钠回收率 98.58%~99.38%, 山梨酸钾回收率 98.42%~99.56%。结论: 多元线性回归方法更适用于果味碳酸饮料中苯甲酸钠和山梨酸钾的同时测定。
关键词: 多元线性回归; 等吸收点; 紫外吸收光度法; 苯甲酸钠; 山梨酸钾; 果味饮料

A Comparative Study on Two Ultraviolet Spectrophotometry Methods for Simultaneous Determination of Sodium Benzoate and Potassium Sorbate in Fruit-flavored Beverages

WANG Xian-yang, FENG Wei, HU Yan-yan, LIU Xian-xiang
(Department of Chemistry, Anhui Medical University, Hefei 230032, China)

Abstract: Objective: To choose an appropriate method to measure sodium benzoate(SB)and potassium sorbate(PS) in the fruit-flavored beverages. Method: The content of SB and PS in the fruit-flavored beverages were determined by multiwavelength linear regression and iso-absorptive point double-wavelength UV spectrophotometry, and the performance of the two methods were compared. Results: Recovery of PS and SB by multiwavelength linear regression spectrophotometry was 99.75%—100.9% and 99.16%—101.1% respectively, and recovery of PS and SB by iso-absorptive point double-wavelength was 98.58%—99.38% and 98.42%—99.56% respectively. Conclusion: Multiwavelength linear regression is more suitable method to measure SB and PS in the fruit-flavored beverages.

Key words: multiwavelength linear regression; iso-absorptive point; ultraviolet spectrophotometry; sodium benzoate; potassium sorbate; fruit-flavored beverages

中图分类号: TS207.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2009)24-0337-03

苯甲酸(钠)和山梨酸(钾)是饮料中常用的防腐剂, 由于其有一定的毒性, 我国强制性(B类项目)规定了其在碳酸饮料中的最大使用量均为 0.2g/kg^[1]。由于苯甲酸(盐)常与山梨酸(盐)合用, 所以同时监测它们在饮料中的使用量, 对于保障人们身体健康具有重要的现实意义。目前同时测定苯甲酸(钠)和山梨酸(钾)方法有高效液相色谱法、气相色谱法、紫外-可见分光光度法等^[2-7]。其中以吸收光度法仪器要求低, 便于基层实验室使用。本实验采用两种吸收光度法即多元线性回归法^[5]和等吸收点法^[7], 不经分离, 直接同时测定碳酸饮料中苯甲酸(钠)和山梨酸(钾)含量, 并对两种方法加以比较。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

碳酸饮料样品为市购。所用试剂均为国产分析纯。756MC 型紫外-可见分光光度计、PHS-3C 型精密 pH 计 上海精密科学仪器有限公司; FA1004 电子天平 上海精胜科学仪器有限公司; TBZ-12 型恒温磁力搅拌器 江苏省金坛市医疗仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 标准储备液的配制

准确称取 0.5g 苯甲酸钠, 溶于适量蒸馏水中, 转

收稿日期: 2008-12-15

基金项目: 安徽医科大学教学研究基金资助项目(2008-ZQKY-62)

作者简介: 汪显阳(1964—), 男, 副教授, 硕士, 研究方向为医学化学。E-mail: xianyangw@tom.com

入 100ml 容量瓶中并定容, 混匀, 得 5mg/ml 苯甲酸钠储备液。另准确称取 0.4g 山梨酸钾, 配成 4mg/ml 山梨酸钾储备液。

1.2.2 测定波长的选择

分别将苯甲酸钠储备液和山梨酸钾储备液稀释至 10 μ g/ml 和 4 μ g/ml, 并以蒸馏水为参比液(下同), 于波长 200~300nm 范围内测定吸收光谱。

1.2.3 供试样品溶液的制备

准确移取 50ml 碳酸饮料于锥形瓶中, 60℃水浴、磁力搅拌去除 CO₂, 将去除 CO₂ 的样品定量转入 100ml 容量瓶并定容, 混匀; 从中准确移取 10ml 至 125ml 分液漏斗中, 加入 2ml 1:1 盐溶液酸化, 并以每次 20ml 的乙醚萃取 4 次; 合并乙醚层至 250ml 分液漏斗, 以每次 20ml 的 5% Na₂HPO₄ 溶液提取 4 次; 合并 Na₂HPO₄ 溶液层于锥形瓶中, 60℃水浴、磁力搅拌去除乙醚, 将去除乙醚的溶液定量转入 100ml 容量瓶并定容, 混匀, 即得供试样品溶液。

2 结果与分析

2.1 测定波长的确定

扫描结果见图 1, 苯甲酸钠和山梨酸钾的吸收光谱相互交叠, 因此不能直接同时进行定量测定; 但吸收光谱有很大差异, 这种差异性为计算分光光度提供了依据。

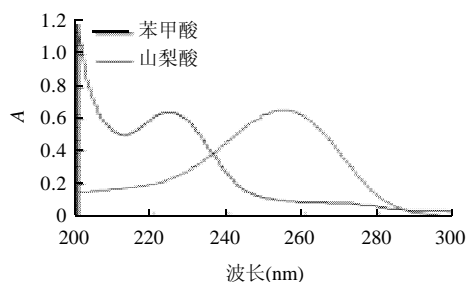


图 1 苯甲酸钠和山梨酸钾的吸收光谱

Fig.1 UV absorbtion spectrum of sodium benzoate and potassium sorbate

2.1.1 多元线性回归法测定波长的选择

由图 1 可见, 苯甲酸钠的最大吸收波长为 225nm, 山梨酸钾最大吸收波长为 255nm, 按照多元线性回归法原理^[8], 选择在 220~260nm 范围内, 每间隔 5nm(共 9 个)测定波长。

2.1.2 等吸收点法测定波长的选择

由图 1 可见, 山梨酸钾在 225nm(苯甲酸钠的最大吸收波长), 有一对应等吸收点 275nm; 因此, 选择苯甲酸钠的测定波长 225nm, 参比波长 275nm。

2.1.3 加和性检验

在选定波长条件下, 分别测定 4 μ g/ml 山梨酸钾溶液、10 μ g/ml 苯甲酸钠溶液, 以及 4 μ g/ml 山梨酸钾和 10 μ g/ml 苯甲酸钠混合溶液的吸光度(表 1)。

表 1 加和性考查结果(n=6)

Table 1 Results of the sum absorbance (n=6)

波长(nm)	A ₁	A ₂	A ₁ +A ₂	A ₁₊₂	ΔA	RSD(%)
220	0.538	0.196	0.734	0.725	0.009	0.221
225	0.577	0.227	0.804	0.798	0.006	0.152
230	0.508	0.284	0.792	0.787	0.005	0.106
235	0.359	0.363	0.722	0.719	0.003	0.169
240	0.203	0.458	0.661	0.657	0.004	0.136
245	0.109	0.551	0.660	0.656	0.004	0.158
250	0.074	0.622	0.696	0.690	0.006	0.109
255	0.057	0.647	0.704	0.698	0.006	0.211
260	0.048	0.609	0.657	0.651	0.006	0.097

注: A₁ 为苯甲酸钠吸光度; A₂ 为山梨酸钾吸光度; A₁+A₂ 为苯甲酸钠和山梨酸钾吸光度之和; A₁₊₂ 为苯甲酸钠和山梨酸钾混合溶液吸光度。

由表 1 可见, 标准混合溶液的吸光度与单一苯甲酸钠和山梨酸钾的吸光度之和比较, RSD < 0.221%, 加和性良好。

2.2 回归方程的绘制

2.2.1 多元线性回归方程的绘制

配制一系列不同质量浓度比的苯甲酸钠和山梨酸钾标准混合溶液, 在选定波长处测定吸光度, 所得数据输入计算机用 Microsoft Excel 软件处理求得回归方程^[9], 并作 *r* 和 *F* 检验(表 2)。

表 2 回归方程及 *F* 检验

Table 2 Regression equation and *F*-examination

波长(nm)	回归方程	<i>F</i>	<i>r</i>
220	$A = -0.051924C_1 + 0.045626C_2 - 0.01832$	1.179×10^3	0.9994
225	$A = -0.055826C_1 + 0.05324C_2 - 0.01256$	1.774×10^3	0.9996
230	$A = -0.049285C_1 + 0.066572C_2 - 0.00814$	8.310×10^2	0.9991
235	$A = -0.034684C_1 + 0.084732C_2 - 0.00079$	8.913×10^2	0.9992
240	$A = -0.019592C_1 + 0.107278C_2 - 0.00082$	2.017×10^3	0.9996
245	$A = -0.010381C_1 + 0.128434C_2 + 0.00644$	2.824×10^3	0.9997
250	$A = -0.006969C_1 + 0.144913C_2 + 0.007056$	3.550×10^3	0.9998
255	$A = -0.005206C_1 + 0.149844C_2 + 0.010888$	4.496×10^3	0.9998
260	$A = -0.004275C_1 + 0.140535C_2 + 0.01072$	2.867×10^3	0.9997

表 2 表明, 相关系数 *r* > 0.999, 说明因变量与自变量间有良好的线性相关性; *F* 观察值远远大于临界值 $F_{0.05(2,3)} = 9.55$, 说明因变量与自变量间相关性并非偶然, 所以回归方程有实际意义, 其中苯甲酸钠的线性范围为 2~16 μ g/ml, 山梨酸钾的线性范围为 2~8 μ g/ml。

2.2.2 等吸收点法标准工作曲线的绘制

苯甲酸钠和山梨酸钾标准混合溶液标准工作曲线: 分别在波长 225nm 和 275nm 处测定系列苯甲酸钠和山梨

酸钾标准混合溶液吸光度,求得苯甲酸钠的差示回归方程 $\Delta A=0.0524C-0.0126$, $r=0.9996$, 线性范围为 $1\sim 20\text{g/ml}$ 。

苯甲酸钠溶液标准工作曲线:在 255nm 波长处测定系列苯甲酸钠标准溶液吸光度,求得苯甲酸钠的回归方程 $A=0.0052C+0.0094$, $r=0.9999$, 线性范围为 $1\sim 28\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。

山梨酸钾溶液标准工作曲线:在波长 255nm 处测定系列山梨酸钾标准溶液吸光度,求得山梨酸钾的回归方程 $A=0.1509C+0.0312$, $r=0.9995$, 线性范围 $1\sim 12\text{ }\mu\text{g/ml}$ 。

2.3 样品测定

按 1.3.3 节方法处理碳酸饮料样品 A、B;以 Na_2HPO_4 溶液为参比液,在选定波长处测定吸光度,计算苯甲酸和山梨酸的含量,结果见表 3。

表 3 样品测定结果($n=5$)
Table 3 Results of samples determination ($n=5$)

碳酸饮料	待测组分	多元线性回归法		等吸收点法	
		含量($\mu\text{g/ml}$)	RSD(%)	含量($\mu\text{g/ml}$)	RSD(%)
A	苯甲酸	121.08	0.23	116.01	1.44
	山梨酸	67.54	0.33	65.01	1.40
B	苯甲酸	178.06	0.34	170.79	0.76
	山梨酸	0	0	0	0

表 3 结果表明,两种方法测得结果基本一致,精密度较好。其中多元线性回归法较等吸收点法测定结果含量略高,RSD(%)略低。

2.4 加标回收率实验

准确移取 50ml 碳酸饮料于锥形瓶中,加入一定量苯甲酸钠储备液和山梨酸钾储备液,按 2.3 节方法处理,在选定波长处测定吸光度,计算苯甲酸钠和山梨酸钾的含量,结果见表 4。

表 4 加标回收率实验结果
Table 4 Results of recovery tests

方法	待测组分	加入量($\mu\text{g/ml}$)	测定量($\mu\text{g/ml}$)	回收量($\mu\text{g/ml}$)	回收率(%)
多元线性回归法	苯甲酸钠	4.00	6.848	3.990	99.75
		1.60	3.396	1.586	99.13
	山梨酸钾	5.00	7.904	5.046	100.9
		4.80	6.665	4.855	101.1
等吸收点法	苯甲酸钠	4.00	6.833	3.975	99.38
		5.00	7.787	4.929	98.58
	山梨酸钾	1.60	3.393	1.593	99.56
		4.80	6.534	4.724	98.42

表 4 结果表明,多元线性回归法加标回收率:苯甲酸钠在 $99.75\%\sim 100.9\%$,山梨酸钾在 $99.16\%\sim 101.1\%$;等吸收点法加标回收率:苯甲酸钠在 $98.58\%\sim 99.38\%$,山梨酸钾在 $98.42\%\sim 99.56\%$ 。两种方法都具有极好的加标回收率,能较好地排除干扰,准确度高。

3 讨论

3.1 样品前处理实验表明,经加热、搅拌去除 CO_2 的饮料,其吸光度不稳定,随时间变化较大,不可直接进行定量分析。本实验采用酸化、乙醚萃取、 Na_2HPO_4 溶液反萃取处理后,样品吸光度稳定,同时也消除了饮料中一些常见组分的干扰^[10]。 NaHCO_3 溶液常作为反萃取溶剂,但由于其与乙醚中残留的酸作用生成 CO_2 ,影响操作和吸光度; Na_2HPO_4 溶液可以克服这些缺点,而且其反萃取溶液 pH 值较稳定,可以消除溶液 pH 值对吸光度的影响。

3.2 多元线性回归法多元线性回归方程相关系数大于 0.999 , F 观察值远远大于临界值 $F_{0.05(2,3)}=9.55$,其中苯甲酸钠的线性范围为 $2\sim 16\text{ }\mu\text{g/ml}$,山梨酸钾的线性范围 $2\sim 8\text{ }\mu\text{g/ml}$,样品加标回收率:苯甲酸钠在 $99.75\%\sim 100.9\%$,山梨酸钾在 $99.16\%\sim 101.1\%$ 。等吸收点法苯甲酸钠的差示回归方程: $\Delta A=0.0524C-0.0126$, $r=0.9996$,线性范围 $1\sim 20\text{ }\mu\text{g/ml}$;苯甲酸钠的回归方程: $A=0.0052C+0.0094$, $r=0.9999$,线性范围 $1\sim 28\text{ }\mu\text{g/ml}$;山梨酸钾的回归方程: $A=0.1509C+0.0312$, $r=0.9995$,线性范围 $1\sim 12\text{ }\mu\text{g/ml}$;样品加标回收率:苯甲酸钠在 $98.58\%\sim 99.38\%$,山梨酸钾在 $98.42\%\sim 99.56\%$ 。两种方法都具有极好的线性关系和加标回收率,能较好地排除干扰,准确度高。

3.3 样品测定实验结果显示,两种方法同时测定苯甲酸钠和山梨酸钾含量重现性好,结果基本一致。其中等吸收点法通过扣除相互影响来计算含量,容易出现其他食品添加剂干扰;多元线性回归方法通过多波长线性回归,能有效消除干扰^[5],计算也比较方便。因此,在实际样品测定中,推荐使用多元线性回归方法。

参考文献:

- [1] GB 2760—2007 食品添加剂使用卫生标准[S].
- [2] 陈悦娇,马应丹,洗敬恒.反相 HPLC 快速测定饮料中的苯甲酸和山梨酸[J].食品研究与开发,2007,28(11): 140-145.
- [3] 丁健桦,罗明标,王兴祥,等. HPLC 法同时测定饮料中维生素 C、苯甲酸和山梨酸[J].理化检验:化学分册,2006,42(4): 294-295.
- [4] 高晓杉,李淑兰.毛细柱气相色谱法测定饮料中的山梨酸、苯甲酸[J].饮料工业,2004,7(2): 46-48.
- [5] 陈海春,余萍,王颖,等.饮料中防腐剂苯甲酸钠和山梨酸钾的同时测定[J].沈阳工程学院学报,2002,21(2): 98-100.
- [6] 桑宏庆,蔡华珍.紫外分光光度法同时测定饮料中山梨酸钾和苯甲酸钠[J].饮料工业,2006,9(8): 34-37.
- [7] 顾建华,徐爱萍.紫外分光光度法同时测定饮料中苯甲酸和山梨酸[J].浙江预防医学,1997,9(3): 57-58.
- [8] 张大伦,马媛媛,周燕.多元线性回归同时萃取光度法快速测定钙镁[J].武汉化工学院学报,1999,21(1): 20-23.
- [9] 王中华,山桂云,林英武. Excel 多元线性回归及在化学中的应用[J].计算机与应用化学,2005,22(9): 818-820.
- [10] 管健,沈永伟.食品中山梨酸、苯甲酸、糖精钠提取方法探讨[J].中国卫生检验杂志,2005,15(10): 1260; 1270.