

# HPLC 法测定巧克力中苯甲酸

俞 晔, 何松涛, 刘一军, 郁凤娟

(张家港出入境检验检疫局, 江苏 张家港 215633)

**摘 要:** 采用 HPLC 法测定巧克力中的苯甲酸, 并提出了亚铁氰化钾和乙酸锌作为沉淀剂的前处理方法。该方法简便、快速, 稳定可靠, 苯甲酸检测限为 0.5mg/L, 相对标准偏差为 2.4%, 回收率为 90.08%~103.91%。

**关键词:** 色谱法; 高效液相; 苯甲酸; 巧克力

## Detection for Benzoic Acid in Chocolate by HPLC

YU Ye, HE Song-tao, LIU Yi-jun, YU Feng-juan

(Zhangjiagang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Zhangjiagang 215633, China)

**Abstract:** A method for determining benzoic acid in chocolate was established and advanced a pretreatment method by using ferrocyanic cyano-potassium and acetic acid zinc as precipitating agent. The detection limits of benzoic acid were, the RSD 2.4%, and the recovery in the range of 90.08%~103.91%.

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)03-0200-02

巧克力是儿童非常喜欢的食品, 它的主要原料是奶粉、可可粉、可可液块和糖, 一些奶牛养殖户为防止牛奶变质就在其中添加苯甲酸, 添加的苯甲酸就随着奶粉最终残留在巧克力中, 因此准确测定巧克力中苯甲酸含量, 对于保护少年儿童健康成长具有重要的意义。我国食品卫生标准对苯甲酸的应用范围和使用限量都有明确的规定<sup>[1]</sup>, 对它的测定是食品检测中常见项目。现有的分析方法很多, 如薄层色谱法、气相色谱法、液相色谱法<sup>[4]</sup>。其中薄层色谱法和气相色谱法都是将样品酸化后用有机溶剂提取, 这种前处理方法存在着费时费力, 有机溶剂消耗量大等缺点; 液相色谱法只规定了汽水、果汁中苯甲酸含量测定的处理方法, 对于巧克力这种蛋白质、脂肪含量较高的食品, 未作明确规定, 给实际工作带来很大

困难。本文采用亚铁氰化钾和乙酸锌作为沉淀剂, 使巧克力中的油脂和蛋白质被沉淀, 去除了大部分杂质, 大大简化了前处理步骤, 完全避免了有机试剂的使用, 对于操作人员的安全保护也有积极作用。

### 1 材料与方法

**1.1 试剂** 甲醇, HPLC 专用试剂; NH<sub>4</sub>Ac, 分析纯; 二次蒸馏水, 经 Millipore 装置纯化后使用; 106g/L 亚铁氰化钾溶液; 219g/L 乙酸锌溶液; 1g/L 碳酸氢钠溶液; 苯甲酸标准贮备液: 1.0mg/ml, 由国家标准物质中心提供。

**1.2 仪器及工作参数** HP1100 液相色谱仪; 紫外检测器; 色谱柱 BDS(25X4.6mm)注射式滤膜(0.45μm)过滤器。流

收稿日期: 2004-02-03

作者简介: 俞晔(1972-), 女, 工程师, 主要从事食品分析检测研究。

由表 1 得出, 等级越高的酱油铵盐氮含量越低, 二者呈反比。

3.4 茚三酮比色法既具有 ZBX66014-87 检验方法一半微量凯氏定氮法的准确性, 又操作简便、快速, 此方法应推广使用。

参考文献:

- [1] 阮富升, 陈晓霞. 酿造酱油的总酸和氨基酸态氮采用两种检验标准的比较[J]. 中国调味品, 2001, (2).
- [2] ZBX 66013-87, 低盐固态发酵酱油. ZBX 66014-87, 低盐固态发酵酱油检验方法.
- [3] GB 2717-1996, 酱油卫生标准. GB/T 5009.39-1966, 酱油卫生标准的分析方法.

动相: 甲醇: 0.01mol/L 乙酸铵(3: 97); 流量: 1.0ml/min; 柱温: 40℃; 波长: 230nm

### 1.3 实验步骤

1.3.1 样品处理 称取巧克力2g左右样品于50ml具塞比色管中, 加少量热水溶解浸泡, 加入碳酸氢钠溶液5.0ml, 再加入亚铁氰化钾2.0ml、乙酸锌溶液2.0ml, 并加水定容, 振荡使其充分混合后, 用滤纸初滤沉淀物, 初滤液再用0.45μm微孔滤膜过滤, 收集滤液于样品瓶中。

1.3.2 标准曲线的制备 将苯甲酸标准使用液分别稀释成1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0、100.0mg/L的标准工作溶液, 各进样20.0μl, 记录保留时间与峰面积, 以不同浓度及相应峰面积绘制标准曲线。

1.3.3 样品测定 将处理好的样液进样20.0μl测定其峰面积, 并与标准曲线比较, 求出苯甲酸含量。

## 2 结果与讨论

### 2.1 前处理方法的选择

巧克力中含有较多的脂肪和蛋白质, 用水直接溶解提取时, 样液为粘稠液体, 很难过滤。有机溶剂提取法是将样品酸化后再用乙醚分两次提取, 吸取提取液经洗涤脱水后于水浴上蒸干, 最后用乙醚-石油醚溶解定容后再检测, 花费时间较长, 而且用乙醚提取时, 脂肪和大部分的色素等杂质也一起被提取出来, 影响苯甲酸测定。本文所采用加入沉淀剂的方法不需要有机溶剂, 能使巧克力中的大部分油脂和蛋白质被沉淀, 处理过的样品能被快速过滤, 大大缩短了检测时间。

### 2.2 沉淀剂的用量

在巧克力中分别加入亚铁氰化钾、乙酸锌溶液各1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml, 经试验证明, 加入2.0ml较适中, 既达到沉淀作用, 又是沉淀剂的最小用量。

### 2.2 标准曲线和最低检测限

注入高效液相色谱仪进行测定, 以组分的色谱峰面积

表1 样品分析结果

Table 1 Analytical results of samples

Sample	Certified value(mg/kg)	Added(mg/kg)	Found(mg/kg)	Recovery(%)
1	49.03	25.0	69.58	90.92
2	50.18	50.0	102.14	103.91
3	58.90	100.0	153.06	90.08
4	45.14	200.0	241.16	91.18

为纵坐标, 组分的质量浓度为横坐标绘制标准曲线。在所测定的浓度范围之内, 苯甲酸的标准曲线具有极高的线性相关性,  $y=61.39x+8.69295$ , 相关系数为0.99978。按仪器噪音的3倍值计算, 苯甲酸的最低检测限为0.5mg/L。

### 2.3 方法的精密度试验

在上述分析程序和条件下对同一样品重复测定6次, 相对标准偏差为2.4%。

### 2.4 方法的准确度试验

在巧克力样品中加入不等量的标准溶液, 按上述步骤处理, 测定苯甲酸回收率, 结果见表1。苯甲酸的回收率在90.08%~103.91%之间, 说明本法是可靠的。

### 参考文献:

- [1] 高鹤娟, 高强, 王竹天. 食品添加剂使用标准[A]. GB2760-86. 食品卫生国家标准汇编(2)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997.10-30.
- [2] 翟永信. 现代食品分析手册[M]. 北京: 北京大学出版社, 1988.379-393.
- [3] 刘邵钢, 王华红, 唐爱良, 等. 卡尔曼滤波紫外光度同时测定饮料中苯甲酸和糖精的研究[J]. 分析实验室, 1997, 16(6): 61.
- [4] 天津市食品卫生监督检验所. 食品中山梨酸苯甲酸的测定方法[A]. GB/T5009.29-1996. 食品卫生国家标准汇编(4)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1997. 319-325.
- [5] 牟志春. HPLC法快速测定食品中苯甲酸山梨酸和糖精钠[J]. 青岛大学学报, 2002, 15(4): 25.

## 信息

## 印度开发“香蕉酒”

据悉, 印度科学家成功地研发出用当地种植的水果批量酿酒的技术, 并准备把该项技术转让给企业。该项技术在印度还是史无前例的, 它很便宜, 还将减少因运输、天气突变而造成的香蕉浪费, 并把香蕉变为美酒。目前, 水果的浪费百分比大约为25%, 这是一个相当大的数字。科学家说, 葡萄一般有酿酒所需的糖和酸而营养丰富的香蕉, 不仅在传统医学方面有广泛用途, 在饮料制造领域, 也是仅次于葡萄的水果。“它的味道真是非常特别, 是葡萄酒所不具备的。香蕉酒含有香蕉的甜味, 但又跟香蕉味不太一样, 这就是很多习惯喝葡萄酒的人突然开始喜欢上香蕉酒的原因。”科研人员说。