

MM_FS_CNG_0046

水果蔬菜及制品中山梨酸含量的测定

1. 适用范围

本方法适用于水果、蔬菜及制品中山梨酸的测定。

2. 原理概要

匀化样品，存在于试样中的山梨酸通过蒸汽蒸馏，可定量地蒸出。所得馏出物在铜催化剂的作用下使二氧化硫氧化以除去干扰，然后用紫外分光光度法测定山梨酸含量，或者通过铬酸氧化后用硫代巴比妥酸处理得到粉红色溶液，用分光光度法测定。

3. 主要仪器和试剂

3.1 主要试剂

3.1.1 酒石酸，结晶状；

3.1.2 山梨酸标准溶液：0.01g/L；准称 0.100g 山梨酸溶于 10~12mL 0.1mol/L 氢氧化钠溶液中，移入 1000mL 容量瓶里定容。吸取上述溶液 50.0mL 置于 500mL 容量瓶中定容；

3.1.3 氢氧化钙溶液：0.02mol/L；

3.1.4 铜催化剂溶液：准称 0.5g 碳酸氢钠和 0.001g 硫酸铜结晶溶解稀释至 1L。

3.1.5 铬酸-硫酸溶液：0.15mol/L 硫酸溶液：取 8.4mL 比重 1.84g/mL 的浓硫酸加入水中，稀释至 1L。

3.1.6 铬酸-硫酸溶液：称取 0.05g 重铬酸钾溶于 90mL 水，移入 200mL 容量瓶中，加入 0.15mol/L 硫酸溶液，定容；

3.1.7 硫代巴比妥酸溶液：称取 0.500g 硫代巴比妥酸溶于 50mL 水中。加入 10mL 1mol/L 氢氧化钠溶液，移至 100mL 容量瓶中，加入 11mL 1mol/L 盐酸溶液，定容。

3.2 仪器

3.2.1 分析天平：感量 0.001 g；

3.2.2 捣碎机或研钵；

3.2.3 电热恒温水浴；

3.2.4 蒸汽蒸馏装置；

3.2.5 蒸汽发生器：烧瓶容量为 1 000、1500mL；

3.2.6 起泡器；

3.2.7 分馏柱；

3.2.8 冷凝器：有效长度 400 mm，垂直放置，

3.2.9 接收烧瓶：200、500mL 容量瓶。

3.2.10 蒸馏装置效果检查：在正常蒸馏条件下，用 20mL 0.1mol/L 乙酸溶液加入起泡器中，在 15~20min 内收集蒸馏液 200mL，乙酸的回收率应达 99.5%。

3.2.11 分光光度计：检测波长 256nm 或 532nm。

4. 过程简述

4.1 试样的制备

4.1.1 液体样品和粘稠样品：将样品充分混合后匀化。

4.1.2 固体样品（水果、蔬菜）：

将样品切成小块，检去种子和果壳，取约 40g，在捣碎机或研钵中使其匀化。

冷冻样品：首先在密闭容器中融化，将融化的液体与样品合并后匀化。

4.2 试样的分取

4.2.1 液体样品：吸取 10.0mL 试样放到起泡器里。或称取试样 10g，精确至 0.01g。

4.2.2 粘稠或固体样品：称取 10g 试样，精确至 0.01g，放入起泡器里，加水量至少需要淹没全部样品，摇匀，使其充分液化。若需要可将试样在水里浸泡 1-2h。

4.3 蒸馏

将 0.5g 酒石酸放进盛有试样的起泡器里，把起泡器与烧瓶和冷凝器连结，同时加热烧瓶和起泡器，进行蒸馏，保持起泡器内容物体积增减在 5mL 以内。

4.3.1 对液体样品(4.2.1)，收集蒸馏液于 200mL 的容量瓶内，当达到刻度时，停止蒸馏。

4.3.2 对粘稠或固体样品(4.2.2)，收集蒸馏液于 500mL 容量瓶内，蒸馏液的体积至少比起泡器内容物体积大 20 倍。

4.4 测定

4.4.1 方法 A：紫外分光光度法

4.4.1.1 如果原产品含有大蒜、洋葱、韭菜的香精油时，取 25mL 蒸馏液(4.3)移入小蒸发皿中，加 1.5~2.0mL 的氢氧化钙溶液使其呈碱性，水浴蒸干，然后溶解残渣使其恢复到原来的体积。

4.4.1.2 吸取 10.0mL 蒸馏液(4.3)或蒸干后重新得到的溶液(4.4.1.1)置于 50mL 锥形瓶内，加 10mL 铜催化剂，摇动，静置与空气接触几分钟。以试剂空白作对照，于分光光度计 256nm 波长处测定溶液的吸光度。

注：通常分取 10.0 mL，相当于 200 mg/L，对于高含量的样品只取 5.0 或 2.0 mL 用水稀释至 10.0 mL。

4.4.1.3 标准曲线的绘制：吸取山梨酸标准溶液(3.2) 0.0、1.0、2.0、3.0、5.0、10.0 mL 分别置入 50 mL 锥形瓶中，相应加入蒸馏水 10.0、9.0、8.0、7.0、5.0、0.0 mL 使体积为 10mL，所得溶液的浓度为：0、1、2、3、5、10 mg/L 的山梨酸，分别向每瓶中加入铜催化剂 10mL。以试剂空白为对照，于分光光度计 256 nm 波长处测定溶液的吸光度。以山梨酸的含量为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线。

4.4.2 方法 B：分光光度法

4.4.2.1 如果原产品中含乙醇，取 25mL 的蒸馏液(4.3)移入小蒸发皿中，加 1.5~2.0mL 的氢氧化钙溶液使之呈碱性，蒸发到原体积的一半，冲洗皿，转移至 25mL 的容量瓶中，定容、摇匀。如果原产品含香精油时，可按步骤 4.4.1.1 进行。

4.4.2.2 吸取 10.0mL 蒸馏液(4.3)或经处理制得的溶液(4.4.2.1)于 25mL 容量瓶中，加入 4mL 铬酸-硫酸溶液，放入沸水浴中 10min。加 4mL 硫代巴比妥酸溶液，再置沸水浴中 20min。溶液呈粉红色，取出放在冰水浴中冷却，定容。以试剂空白作对照，于分光光度计 532nm 波长处测定溶液的吸光度。

4.4.2.3 标准曲线的绘制配制：用 2.0mg/L 山梨酸标准液制备体积为 10 mL，浓度分别为 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0 mg/L 的山梨酸。以下步骤按试样的测定(4.4.2.2)进行。绘制标准曲线。

5. 结果计算表示

5.1 计算方法和公式

5.1.1 液体样品

山梨酸含量以 mg/L 表示，按式 (1) 计算：

$$\text{山梨酸 (mg/L)} = \frac{m_1 \times 200}{V_1} \dots\dots\dots(1)$$

式中：m₁—在标准曲线上查得蒸馏液 (4.3.1) 中山梨酸的含量，mg/L；
V₁—在 4.4.1.2 或 4.4.2.2 中所取的体积，mL。

5.1.2 粘稠或固体样品：山梨酸含量以 mg/kg 表示，按式 (2) 计算：

$$\text{山梨酸 (mg/kg)} = \frac{m_1 \times V \times 10}{m_0 \times V_1} \dots\dots\dots(2)$$

式中：m₀—试样的重量，g；
m₁—在标准曲线上查得蒸馏液 (4.3.2) 中山梨酸的含量，mg/L；
V—收集蒸馏液的体积，mL；
V₁—在 4.4.1.2 或 4.4.2.2 中所取的体积，mL。

6. 允许差

同一人员对同一试样同时或连续两次测定结果之间差异不超过平均值的 5%。

7. 来源：

中国国家标准：GB 12290—90

国际标准：ISO 5519—1978