

二阶导数紫外分光光度法测定面粉中的过氧化苯甲酰

邓真丽¹ 王龔龙² 李 栋² 方正东¹

(1. 湖北师范学院化学与环境工程系, 黄石 435002;

2. 湖北省黄石市产品质量监督检验所, 黄石 435002)

摘要 用铁粉与盐酸反应产生的原子态氢将面粉中的过氧化苯甲酰还原成苯甲酸, 用乙醚提取, 采用二阶导数紫外分光光度法测定其含量, 过氧化苯甲酰的检出限是 $1.0 \mu\text{g/mL}$, 回收率为 $94 \sim 106\%$, 其测量精密度优于国家标准 GB/T5009-1996 色谱法, 与校正曲线相当。

关键词 过氧化苯甲酰 面粉 紫外分光光度法

随着我国对外经济贸易的发展, 国产面粉逐渐走向国际市场。市售面粉大多数含有面粉增白剂——过氧化苯甲酰。过氧化苯甲酰是一种强氧化剂, 长期食用添加过量过氧化苯甲酰的面粉易导致肝脏病变和慢性中毒。因此, 有些国家禁止使用或限量使用增白剂, 如英国允许面粉中过氧化苯甲酰的添加量不大于 0.05g/kg 。我国国家标准 GB2760-1996 规定小麦粉中过氧化苯甲酰的限量为 0.06g/kg 。

目前, 我国对面粉中过氧化苯甲酰的测定方法主要有气相色谱法和液相色谱法。^[1]其中气相色谱法需反复地进行提取浓缩而大量消耗乙醚, 操作复杂, 实用性较差; 而液相色谱法虽然操作简便、节省溶剂, 但仪器过于昂贵, 不利于推广。分光光度法用于测定面粉中残留的过氧化苯甲酰, 其原理是利用面粉中的过氧化苯甲酰与 KI 反应生成 I_2 , 通过测定 I_2 的吸光度, 计算而得过氧化苯甲酰的含量。据文献[4]报道, 加入面粉中 81mg/kg 的过氧化苯甲酰两周后, 残留量就变成 22mg/kg , 仅为原添加量的 27% , 因此该方法只适用于新鲜面粉中过氧化苯甲酰的测定。笔者探讨了间接测定面粉中过氧化苯甲酰的含量的方法, 即用铁粉与盐酸反应产生的原子态的氢将过氧化苯甲酰还原为苯甲酸, 然后利用二阶导数紫外分光光度法测定苯甲酸的浓度, 从而间接计算面粉中过氧化苯甲酰的添加量。本方法操作简便, 乙醚用量少, 容易推广。

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

紫外分光光度计: TU-1900 型, 北京普析通用仪器有限公司;

电子分析天平: 普及型 B_N, 梅特勒-托利多仪器有限公司;

具塞三角瓶; 分液漏斗;

乙醚、盐酸、还原铁粉、NaCl、无水 Na_2SO_4 、NaOH: 均为分析纯;

苯甲酸: 基准试剂;

苯甲酸标准储备液: $50 \mu\text{g/mL}$ 。准确称取 0.0500g 苯甲酸于 1000mL 容量瓶中, 以 0.01mol/L NaOH 溶液溶解并定容。

实验用水为二次蒸馏水。

1.2 系列苯甲酸溶液的制备

准确吸取 $50 \mu\text{g/mL}$ 苯甲酸标准储备液 0 、 2 、 4 、 8mL 于 100mL 具塞三角瓶中, 分别加入 0.01g 铁粉、约 20 粒玻璃珠 ($\Phi 6\text{mm}$ 左右) 和 50mL 乙醚, 混匀, 逐滴加入 2mL 盐酸溶液 ($1+1$), 回旋摇动, 放置 12h 以上。将上述放置后的溶液过滤于 150mL 分液漏斗中, 静置后放出下层水溶液, 加入 30mL 饱和 NaCl 溶液, 振摇 5min , 静置后使溶液分层, 放出水层后, 加入适量无水 Na_2SO_4 , 振

摇脱水，以 0.01mol/LNaOH 溶液溶解并定容至 50.0mL，分别制得 0、2、4、8 $\mu\text{g/mL}$ 苯甲酸标准溶液。

1.3 样品溶液的制备

准确称取 3g 左右的面粉于 100 mL 碘量瓶中，加入 20 粒玻璃珠和 50mL 乙醚，振荡使面粉溶解，再加入还原铁粉 0.01g 和 3mL 盐酸溶液（1+1），振摇片刻后，静置 12h 以上。

1.4 实验方法

用紫外分光光度计在 200-300nm 区域扫描测到苯甲酸光谱图，对扫描的光谱图进行二阶求导，用两点垂直法进行定量。

2 结果与讨论

2.1 紫外光谱

图 1 是 8 $\mu\text{g/mL}$ 苯甲酸标准溶液的紫外光谱图。由图 1 可知，苯甲酸在紫外区段 230nm 处有单吸收峰，为消除面粉中色素及其它元素在此区间的吸收干扰，可对吸收光谱求导，通过不同阶次导数值和不同 $\Delta\lambda$ 值对苯甲酸导数光谱的影响分析可知，一阶导数不能扫描出 230nm 处的特征吸收峰，三阶以上的导数光谱图因平滑作用而使吸收峰变小甚至为零，并显著降低了灵敏度。在 $\Delta\lambda$ 分别为 1、2、4、6、8、12、14nm 时，以 $\Delta\lambda = 8\text{nm}$ 时得到的分辨率为最好，干扰最少。图 2 是 4 $\mu\text{g/mL}$ 苯甲酸标准溶液的二阶导数光谱图。

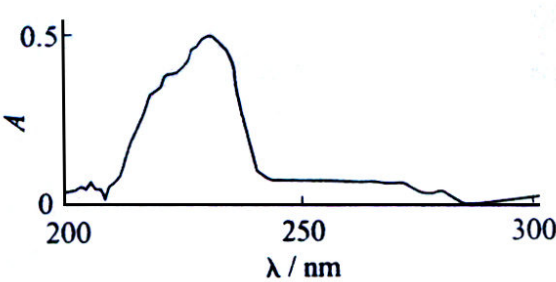


图 1 苯甲酸标准溶液的紫外光谱图

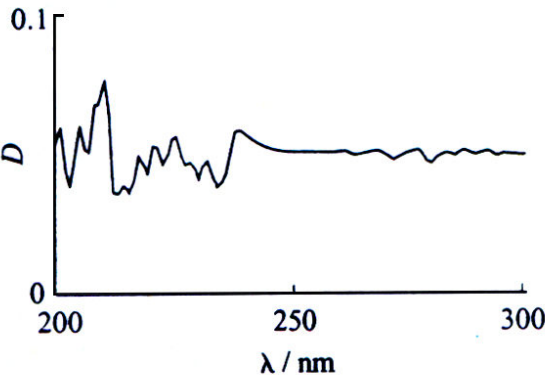


图 2 苯甲酸标准溶液的二阶导数光谱图

由图 2 可知，毗邻苯甲酸特征峰 230nm 的 235 nm、239nm 峰的二阶导数值相等，故可用两点垂直法定量测定。

2.2 线性方程

分别配置系列浓度的苯甲酸标准溶液，按实验方法测定，用二阶导数光度值

D 对溶液浓度 c (mg/L) 进行线性回归, 得到线性方程:

$$D=9.65 \times 10^{-3}c-3.07 \times 10^{-4}$$

相关系数 $\gamma = 0.9998$

线性范围为 $0.1-4.0 \mu\text{g/mL}$

2.3 干扰因素的考察

在本实验条件下, 水和饱和饱和 NaCl 溶液不影响测定, 而乙醚和 FeCl₂ 溶液均对测定产生干扰。因此, 在使用乙醚时应先把乙醚均匀混合, 然后在同一条件下使用。

改变铁粉、盐酸的用量, 设计平行试验, 根据试验结果确定铁粉、盐酸的加入量及其最佳比例。平行试验结果列入表 1。由表 1 可知, 铁粉和盐酸溶液 (1+1) 的最佳用量分别为 0.01g 和 3mL。当盐酸错误! 链接无效。的加入量大于 4mL 时, 在面粉提取过程中容易产生乳化现象, 从而影响实验结果的准确性。

表 1 铁粉和盐酸用量平行试验结果

面粉/g	Fe/g	HCl/mL	吸光度 A
3.2471	0.01	2	0.9527
	0.01	3	0.9841
	0.01	4	0.9824
	0.02	2	0.9654
	0.02	3	0.9832
	0.02	4	0.9745

2.4 提高萃取率的手段

在溶液中加入一定量的电解质, 利用盐析作用降低有机物和萃取剂在水中的溶解度, 可提高萃取率。在本实验中, 萃取次数的增加会导致溶剂乙醚的挥发, 从而使溶液浓度发生变化, 以致影响测定结果。故利用文献[6]提供的参考数据, 用 30 mL 饱和 NaCl 溶液进行一次萃取。

2.5 精密度

取 3 份面粉, 每份约 3g, 按实验方法用二次导数紫外分光光度法测定其中过氧化苯甲酰的含量, 测定结果列于表 2。由表 2 可知, 该法测定苯甲酸的精密度较高, 重现性较好。

表 2 样品中过氧化苯甲酰含量测定结果

样品	测得值/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$				平均值/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	RSD/%
1	0.36	0.36	0.38	0.37	0.37	2.60
2	0.54	0.52	0.51	0.53	0.53	2.46
3	0.75	0.74	0.75	0.74	0.75	0.77

2.6 回收试验

对已知过氧化苯甲酰含量的面粉进行回收试验, 测定数据见表 3。

表 3 样品中过氧化苯甲酰的回收试验结果

样品	实际含量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	测得值/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	回收率/%
1	0.021	0.020	95
2	0.035	0.037	106
3	0.047	0.045	96
4	0.032	0.030	94
5	0.024	0.025	104
6	0.051	0.050	98

7	0.054	0.051	94
8	0.061	0.063	103

由表 3 可知, 该法测定过氧化苯甲酰的回收率为 94%~106%, 远远优于国家标准 GB/T5009-1996 色谱法 (回收率为 60%)^[3], 达到了校正曲线法的准确度水平。

2.7 检出限

根据国际理论和应用化学家联合会 (IUPAC) 规定^[8], 测定 16 个全试剂空白, 计算出苯甲酸的检出限为 0.112 $\mu\text{g/mL}$, 换算成过氧化苯甲酰的检出浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$, 相当于面粉中的过氧化苯甲酰的含量为 3.3mg/kg。面粉中过氧化苯甲酰的允许添加量为 60 mg/kg, 因此完全能满足实际工作的需要。

参考文献

- 1 黄伟坤. 食品检验与分析. 北京: 中国轻工业出版社, 1993.140
- 2 林奕艺. 高效液相色谱法同时测定饮料中多种添加剂方法的研究. 食品科学, 2001, 22 (1): 63
- 3 马家奕. 食品添加剂的分析方法. 北京: 中国标准出版社, 1998.
- 4 余炳生, 梁广华. 饮料及果品中糖精、苯甲酸、山梨酸和咖啡因的反相 HPLC 同时快速测定. 食品科学, 2001, 22 (2): 67
- 5 王文博. 校正曲线法测食品中山梨酸的研究. 食品科学, 2001, 22 (3): 65
- 6 宋长春. 紫外分光光度法测定食品中添加剂苯甲酸的研究. 食品科学, 2001, 22 (3): 69
- 7 王竹天. 面粉中过氧化苯甲酰的测定方法 (气相色谱法). 食品发酵工业, 1994 (增刊): 98
- 8 武汉大学. 分析化学. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 1995

DETERMINATION OF BENZOYL PEROXIDE IN FLOUR BY QUADRIC DERIVATIVE ULTRAVIOLET SPECTROPHOTOMETRY

Deng Zhenli¹, Wang Yanlong², Li Dong², Fang Zhengdong¹

(1. Department of Chemistry and Environmental Engineering, Hubei Normal University, Huangshi 435002;

2. Huangshi Institute of Supervision & Testing on Product Quality, Huangshi 435002)

ABSTRACT Iron power and hydrochloric acid were used to make atomic hydrogen which would reduce benzoyl peroxide in wheat flour to benzoic acid, then benzoic was determined by the quadric derivative ultraviolet spectrophotometry. The detection limit of benzoyl peroxide was 1.0 $\mu\text{g/mL}$, and the recovery was 94%~106%. The method was better than GB/T5009-1996 and equivalent to curve-revise method.

KEY WORDS benzoyl peroxide, wheat flour, ultraviolet spectrophotometry

名词解释:

导数吸光光度法

一. 导数光谱及获得导数光谱的方法

导数吸光光度法是指吸收光谱对波长的一阶或多阶导数对波长的函数, 如下图所示。

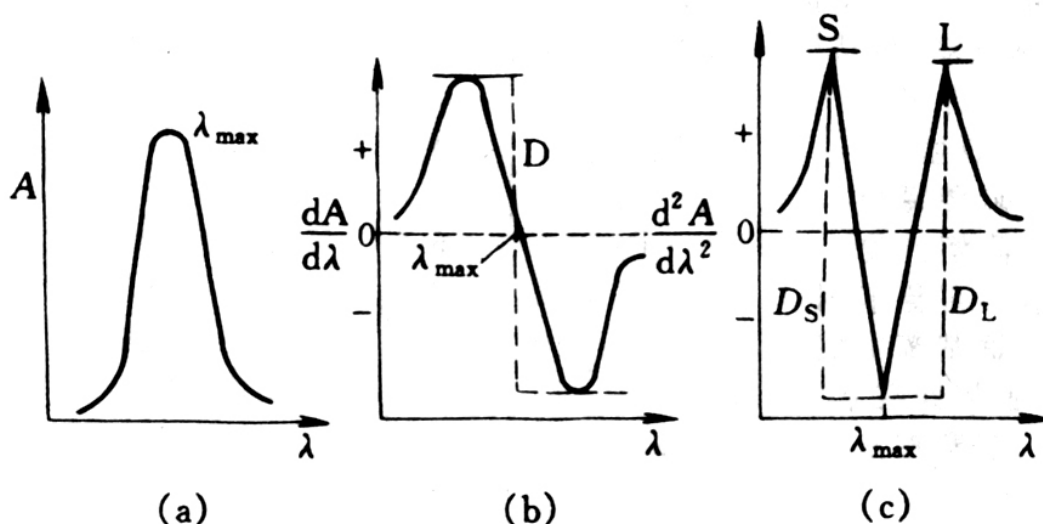


图 导数光谱示意图

(a) $A - \lambda$ (零阶) (b) $\frac{dA}{d\lambda} - \lambda$ (一阶) (c) $\frac{d^2A}{d\lambda^2} - \lambda$ (二阶)

获得导数光谱的方法分三大类:

1. 光学方法——其中包括波长调制法、双波长扫描法和固定狭缝法等。
2. 电子学法 (又叫电子微分法) ——用 RC 微分电路和运算放大器组成模拟微分电路和位移记忆法。
3. 数值微分法——将吸收光谱微分化, 再用计算机进行拟合、平滑和求导等数学处理。

二. 导数吸光光度法定量测定原理

对通用吸收定律进行一次微分, 则一阶导数为

$$dA/d\lambda = bc \, d\varepsilon/d\lambda$$

若进行 n 次微分, 则 n 阶导数为

$$d^n A/d\lambda^n = bc \, d^n \varepsilon/d\lambda^n$$

由上式可以看到, 各阶导数始终与试液浓度呈直线关系, 这就是导数分光光度法进行定量测定的原理。

三. 导数光谱的测量方法及主要仪器参数

1. 测量方法

在一定条件下, 导数信号与待测物浓度成正比, 测量导数信号一般有 4 种方法:

(1) 几何测量法

以导数光谱上合适的振幅作为定量信息。振幅的测量方法有基线法（切线法）、峰-峰法（峰-谷法）、峰-零法等。

(2) 代数计算法

包括一次干扰吸收的代数校正和二次干扰吸收的代数校正。

(3) 非特征吸收校正法

(4) 组合导数光谱法

将双波长 K 系数法的基本原理对导数光谱进行适当的数学解析，另外还有将等吸收点法和差示法与导数光谱结合的所谓等导数值导数光谱法和示差导数光谱法等。

2. 主要仪器参数

(1) 狭缝——灵敏度随狭缝变小而减小，但狭缝太小时，信噪比变坏，一般选用 0.5-2nm)。

(2) $\Delta \lambda$ 值——灵敏度随 $\Delta \lambda$ 值增大而增高，但 $\Delta \lambda$ 过大，会使分辨率降低。

(3) 扫描速度——扫描速度增加使灵敏度增大，分辨率降低。

(4) 时间常数——为获得好的分辨率，选用小的时间常数。在高阶导数光谱中，为提高信噪比，可采用较大的时间常数。

(5) 横向扩展因子——横向扩展因子增大使灵敏度降低。

在导数光谱中随着导数阶次的增加，信噪比越来越差。若零阶导数的信噪比为 σ_0 ，未经平滑的 n 阶导数噪声的标准偏差为

$$\sigma_n = \sigma_0 \left[\sum_{m=0}^n \frac{n!}{(n-m)!m!} \right]^{1/2}$$

通过平滑可以减小噪声，但平滑化也带来新的问题，表现为峰高的降低和峰宽的增加，从而降低了光谱的有效分辨率。

四. 导数吸光光度法的特点

1. 提高灵敏度，放大吸收峰

研究指出，导数光谱的灵敏度和导数阶次、 $\Delta \lambda$ 以及半峰宽之间存在复杂的关系，在通常仪器上只有半峰宽小于 30nm 的体系才有可能通过导数光谱提高灵敏度，而且灵敏度随导数阶次和 $\Delta \lambda$ 的增加而增加。

2. 提高选择性

导数吸光光度法对重叠吸收带理论分辨的研究从上世纪 50 年代以来就不断有报道，如计算等高、等宽及不等高、不等宽的两个重叠的高斯型带的二阶、四阶导数光谱的分辨情况。有人用量子化学角度讨论了导数光谱重叠谱带的相互干扰问题，得到了一些理论标准和误差公式。

3. 识别肩峰

当大的宽峰和小的锐峰重叠时，或在大峰的急剧上升部分所掩盖的弱小的锐峰时，导数光谱可以识别弱的小峰。

4. 消除背景干扰

5. 确定宽阔吸收带的最大峰位

