

# 分光光度法和高效液相色谱法测定啤酒中 残留直链烷基苯磺酸钠含量

李旭<sup>1\*</sup>, 周蓉<sup>2</sup>

(1. 荆门市食品药品质量检验所, 荆门 448124; 2. 沙洋县公共检验检测中心, 沙洋 448200)

**摘要:** **目的** 建立分光光度法和高效液相色谱法测定啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠的分析方法。**方法** 确定实验过程主要参数。制作吸光度浓度工作曲线, 定量样品检测结果。采用液液萃取法提取样品中的直链烷基苯磺酸钠, 在最佳色谱条件下, 制作了阴离子表面活性剂(以十二烷基苯磺酸钠计)标准曲线, 采用峰高外标法定量样品检测结果。**结果** 通过实验验证亚甲基蓝活性物质(methylene-blue active substances, MBAS)的特征吸收波长为 652 nm, 表观摩尔吸光系数  $\epsilon=1.93 \times 10^6$  L/(mol·cm), 检出限为  $4.04 \times 10^{-3}$  mg/L, 检测方法回收率 73.4%~104.5%, 相对标准偏差 3.04%, 线性范围为  $4.04 \times 10^{-3}$ ~2.0 mg/L。在确定的最佳实验条件下检测了 6 份啤酒样品, 其中直链烷基苯磺酸钠残留量在 0.024~0.036 mg/L 之间。高效液相色谱法的线性范围是 2.0~200 mg/L, 检出限为  $2.05 \times 10^{-3}$  mg/L, 回收率为 78.6%~98.5%, 相对标准偏差  $\leq 8.9\%$ 。在确定的最佳色谱条件下检测了 6 个样品, 测得啤酒中直链烷基苯磺酸钠的残留量在 0.014~0.022 mg/L 之间。**结论** 液液萃取高效液相色谱法检测结果的准确度略高于分光光度法, 但不宜在低浓度(<2 mg/L)下作标准曲线。对啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠的直接快速检测宜选取分光光度法, 而准确检测则优先选用液液萃取高效液相色谱法。

**关键词:** 啤酒; 直链烷基苯磺酸钠; 分光光度法; 高效液相色谱法

## Determination of linear alkylbenzene sulfonate residues in beer by spectrophotometry and high performance liquid chromatography

LI Xu<sup>1\*</sup>, ZHOU Rong<sup>2</sup>

(1. Jingmen Food and Drug Quality Inspection Institute, Jingmen 448124, China; 2. Shayang County Public Inspection and Testing Center, Shayang 448200, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method of determination of the linear alkylbenzene sulfonate residues in beer by spectrophotometry and high performance liquid chromatography. **Methods** Determine the main parameters of experimental process. Making absorbance concentration working curve, Quantitative sample test results. The linear alkylbenzene sulfonate was extracted from samples by liquid liquid extraction. Under the best chromatographic conditions, the standard curve of anionic surfactants (based on sodium dodecylbenzene sulfonate) was made. By using the base high external standard method quantitative sample test results. **Results** Through the experiment, the methylene blue active substances (MBAS) features absorption wavelength was 652 nm. The apparent molar absorption coefficient was  $\epsilon=1.93 \times 10^6$  L/(mol·cm), the detection limit was  $4.04 \times 10^{-3}$  mg/L, the recovery of test method was 73.4%–104.5%, the relative standard deviation was 3.04%, and the linear range was  $4.04 \times 10^{-3}$ –2.0 mg/L. Six beer

\*通讯作者: 李旭, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全。E-mail: 565841861@qq.com

\*Corresponding author: LI Xu, Master, Senior Engineer, Jingmen Food and Drug Quality Inspection Institute, No.227, Xinglong Road, Duodao District, Jingmen 448124, China. E-mail: 565841861@qq.com

samples were tested under the optimum best experimental conditions, among which the residue of the linear alkylbenzene sulfonate was 0.024–0.036 mg/L. The linear range of HPLC was 2.0–200 mg/L, the detection limit was  $2.05 \times 10^{-3}$  mg/L. The recovery was 78.6%–98.5%, and the relative standard deviation was less than or equal to 8.9%. Six samples were detected under the optimum conditions of chromatographic, the results showed that the residues of the linear alkylbenzene sulfonate in beer were 0.014–0.022 mg/L. **Conclusion** The accuracy of HPLC is slightly higher than that of spectrophotometry. But it is not suitable to make standard curve at low concentrations (<2 mg/L). Spectrophotometry could be selected for the direct and rapid testing of the residual sodium linear alkylbenzene sulfonate in beer, and LLE-HPLC could be preferred for the accurate detection.

**KEY WORDS:** beer; linear alkylbenzene sulfonate; spectrophotometry; high performance liquid chromatography

## 1 引言

清洗是啤酒生产的基础性工作。清洗的目的是要尽可能地去除生产过程中管道及设备 and 包装物内壁生成的污物, 消除杂质及微生物对啤酒质量的威胁, 其中回收啤酒瓶必须只清洗。糖化、发酵、过滤、灌装基本生产环节的设备必须有高效合理的清洗消毒手段, 包括原位清洗 (cleaning in place, CIP)、移位清洗 (clean out of place, COP)、洗瓶工艺等。啤酒工业清洗剂可以分为碱性清洗剂和酸性清洗剂 2 种。碱性清洗剂大多是在 60%~80% 的 NaOH 基础上添加苏打、硅酸盐、磷酸盐、螯合剂及表面活性剂等构成, 酸性清洗剂则主要是由磷酸、硫酸、硝酸或柠檬酸添加表面活性剂等构成<sup>[1]</sup>。通过了解啤酒工业清洗剂诸多配方, 发现阴离子表面活性剂十二烷基苯磺酸钠在清洗剂中的使用非常普遍。烷基苯磺酸钠根据制造所用的原料不同有直链和支链之分, 但支链的生物降解性极差, 称硬性烷基苯磺酸钠, 现已逐步淘汰。直链烷基苯磺酸钠的生物降解性好, 称软性烷基苯磺酸钠, 通称“LAS (linear alkylbenzene sulfonate)”, 是清洗剂配方中的主流产品<sup>[2]</sup>。

清洗剂中普遍使用的直链烷基苯磺酸钠带入啤酒中除了对啤酒泡沫产生影响<sup>[3]</sup>外, 还给食品安全带来一定的隐患。表面活性剂被吸附后, 有可能破坏细胞组织。我国生活饮用水水质卫生要求也规定<sup>[4]</sup>: 阴离子合成洗涤剂  $\leq 0.3$  mg/L。目前较公认的清洗剂中 LAS 的苯核部分, 进入水体后对生物及水生态系统具有毒性作用。尽管当前关于 LAS 对人体的致癌性和致畸性还没有统一的结论, 但是可以肯定的是 LAS 的过量摄入可使人体发生异常变化, LAS 对人体的皮肤、血液、肝脏以及电解质代谢都有一定的危害<sup>[5,6]</sup>。动物实验证实了 LAS 可以破坏小鼠睾丸形态结构, 造成生精功能下降<sup>[7]</sup>。赵文红等<sup>[8]</sup>研究发现 LAS 可抑制人张氏肝细胞增殖, 改变细胞形态, 并导致细胞损伤、凋亡和坏死。

LAS 为全世界普遍使用的表面活性剂, 因此广泛存在于环境中, 甚至在南极麦克斯韦尔海湾海域水体中都能检出<sup>[9]</sup>。通常啤酒加工企业大多建在城镇附近, 啤酒生产

用水容易受到工农业废水及生活污水的污染, 导致直链烷基苯磺酸钠含量比较高, 经过啤酒加工过程中的糖化发酵等工序仍可残留于最终的啤酒成品中, 因此啤酒中残留的直链烷基苯磺酸钠除啤酒生产清洗环节带入外, 还有可能来源于酿造用水。

本研究分别采用分光光度法和高效液相色谱法测定啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠, 旨在寻找针对啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠检测适用、快速、准确的常规检测方法, 为食品中直链烷基苯磺酸钠残留的检测提供参考。

## 2 材料与方法

### 2.1 材料与仪器

#### 2.1.1 材料与试剂

瓶装啤酒共 6 种, 依次为 1~6 号, 生产单位为: 1~2 号 (金龙泉啤酒有限公司); 3~4 号 (百威国际啤酒有限公司); 5~6 号 (华润雪花啤酒有限公司); 洗瓶添加剂 (北京茂华科技有限公司); 氢氧化钠 (分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司); 硫酸 (分析纯, 武汉市化学试剂厂); 氯仿 (分析纯, 天津市东丽区天大化学试剂厂); 直链烷基苯磺酸钠标准溶液 (500 mg/L, 环境保护部标准样品研究所); 亚甲基蓝 (指示剂级, 中国医药公司北京采购供应站); 酚酞 (分析纯, 中国湘中地质实验研究所); 乙酸铵 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂开发中心); 孔雀绿 (分析纯, 上海诚心化工有限公司);  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (分析纯, 北京市红星化工厂); 二氮杂菲 (指示剂级, 武汉福德精细医药化工有限公司); 十二烷基苯磺酸钠 (分析纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 甲醇 (色谱纯, 天津市科密欧化学试剂有限公司); 盐酸羟胺 (分析纯, 天津市化学试剂研究所); 阴离子表面活性剂溶液标准物质 (1000  $\mu\text{g/mL}$ , 中国计量科学研究院)。

#### 2.1.2 仪器与设备

Tu-1800 紫外可见分光光度计 (北京普析通用仪器有限责任公司); DZKW-D-4 电热恒温水浴锅 (北京永光明医疗仪器厂); pH 计 (美国热电奥利龙公司); LC-10Avip 液相色谱 (日本岛津集团); 超纯水器 (Human 公司); As3120 超声

波清洗器(天津奥特赛恩斯仪器有限公司); MICRO PES 聚醚砜滤膜(德国 MEMBRANA 公司); Kd 浓缩器(上海越磁电子科技有限公司); Waters2695 液质联用仪(美国 Waters 公司); 分液漏斗(天津玻璃仪器厂)。

## 2.2 实验方法

### 2.2.1 分光光度法

#### (1) 分光光度法条件的确定

分光光度法检测啤酒中残留十二烷基苯磺酸钠的含量要选择好进行络合反应的显色剂、显色时间以及最适 pH 值等。啤酒组分复杂, 共存离子的干扰影响被测组分测定, 选择分离杂质消除干扰方法比较适宜。

#### (2) 检测步骤

①工作曲线的绘制: 取一组分液漏斗 9 个, 分别加入 100、99、97、95、93、91、89、87、85 mL 水, 然后分别移入 0.00、1.00、3.00、5.00、7.00、9.00、11.00、13.00、15.00 mL 直链烷基苯磺酸钠标准溶液, 摇匀。处理标准系列, 以测得的吸光度扣除试剂空白值( $\text{CHCl}_3$  的吸光度)后以吸光度对相应的 LAS 含量(mg/L)进行回归分析, 绘制工作曲线。

②啤酒样品的前处理: 参考 GB/T 4928-2008《啤酒分析方法》<sup>[10]</sup>, 本研究啤酒样品的处理方法是: 将恒温在 15~20 °C 的酒样约 300 mL 移入带排气塞的瓶中, 置于超声波水槽中, 超声一段时间后, 用单层中速干滤纸过滤(漏斗上面盖表面玻璃)。将除气后的酒样收集于具塞锥形瓶中, 保温 15~20 °C, 密封保存(限 2 h 以内使用)。

③试份体积: 根据预计的亚甲蓝表面活性物质的浓度选用试份体积, 其中处理好的啤酒取用样品量为 100 mL, 洗瓶添加剂先稀释 100 倍后取用 100 mL, 加标回收测定时取用 100 mL 啤酒, 分别加入 1 mL 的 1、2、5 mg/L 的直链烷基苯磺酸钠标准溶液混匀后测试。

④将所取试份移至分液漏斗, 以酚酞为指示剂, 逐滴加入 1 mol/L 氢氧化钠溶液至水溶液呈桃红色, 再滴加 0.5 mol/L 硫酸到桃红色刚好消失。

⑤加入 15 mL 亚甲蓝溶液, 摇匀后再移入 10 mL 氯仿, 激烈振摇 30 s, 然后静置分层。

⑥将氯仿层放入预先盛有 50 mL 洗涤液的第 2 个分液漏斗, 激烈摇动 30 s, 静置分层。

⑦放出氯仿层, 在 652 nm 处进行吸光度测定。啤酒氯仿层有絮状悬浮物, 主要是啤酒中有易溶于  $\text{CHCl}_3$  的醇类、异  $\alpha$  酸、以及维生素胆碱等, 用快速定性滤纸过滤去除, 取滤出液进行吸光度测定。

⑧结果计算: 在线性范围内设样品中 LAS 的含量为  $X$  (mg/L), 则  $X = \frac{C}{10}$  [其中:  $C$  为从工作曲线查得的浓度 (mg/L)], 计算结果保留 2 位有效数字。

### 2.2.2 高效液相色谱检测法

#### (1) 高效液相色谱条件的确立

高效液相色谱分析条件的建立就是确立检测器、色谱柱、流速及流动相组成等因素最优化的条件, 实现被检测物质分离度的最优化, 特别是优化流动相组成, 以获得样品中各组分的最佳分离度和最短的分析时间。

#### (2) 高效液相色谱法检测步骤

样品前处理过程如下: ①分别吸取 10 mL 的洗瓶添加剂、200 mL 处理好的啤酒(含量低的取样 500 mL 或 1000 mL)及 10 mL LAS 标准溶液(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ );

②转入洁净的 250 mL(或 1000 mL)的分液漏斗中, 分别用 20 或 50 mL 的  $\text{CHCl}_3$  反复萃取 3 次, 合并滤出的  $\text{CHCl}_3$  相至洁净的烧杯中, 若静置分层, 用塑料吸管吸除上清液;

③烧杯中萃取物移入快速滤纸上过滤, 或真空抽滤, 除去絮状白色悬浮物;

④盛有洗瓶添加剂提取物的烧杯放在水浴锅上挥发至干, 用去离子水清洗烧杯并转入 100 mL 容量瓶内容备用;

⑤啤酒和 LAS 标准溶液再用分液漏斗分液, 下层移入 Kd 浓缩器中浓缩近干后再用超纯水定容至 1 mL, 用 1 mL 注射器反复吸推将尾管中的待测液混匀, 待测;

⑥分别用 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤后, 取 20  $\mu\text{L}$  上机测试。

标准溶液的配制: 精确吸取阴离子表面活性剂溶液的标准物质(标准值 1000 mg/L)至容量瓶, 用去离子水逐级稀释定容分别配成 0.05、0.5、1.0、2.0、10、20、50、100、200 mg/L 的标准系列, 用 0.45  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤后供测试使用。

标准曲线绘制: 依次将 0.05、0.5、1.0、2.0、10、20、50、100、200、1000 mg/L 经过微孔滤膜过滤处理的标准溶液取样 20  $\mu\text{L}$  上机(每个标样重复进样 3 次), 22 min 后停止采样, 对检测谱图上  $C_{10}$ 、 $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$  的峰高叠加(3 次平均值), 绘制峰高浓度标准曲线。

定性分析: 将标准色谱峰的保留时间与样品中相应峰的保留时间相对照, 如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品的色谱峰的保留时间相一致(保留时间相差在  $\pm 0.5$  min 内), 则可基本判定分离净化的样品中存在这种直链烷基苯磺酸钠。

定量分析: 利用外标法定量, 用检测的样品  $C_{10}$ ~ $C_{13}$  直链烷基苯磺酸钠峰高之和与十二烷基苯磺酸钠标准色谱峰峰高之和相比较进行定量。

结果计算: 在线性范围内以单点或曲线校正, 外标法以峰高定量。试样中 LAS 的残留量  $X$ , 以(mg/L)表示, 单点校正按公式(1)计算, 曲线校正按照公式(2)计算。

$$X = \frac{H \times C_s \times V_1 \times 1000}{H_s \times V_0 \times 1000} \quad (1)$$

式中:  $H_s$ —直链烷基苯磺酸钠标准溶液对应的峰高;

$H$ —样品溶液对应的峰高;

$C_s$ —LAS 标准溶液的浓度, mg/L;

$V_1$ —样品处理后进样时定容的体积, mL;

$V_0$ —样品体积, mL。

注: 计算结果保留 2 位有效数字。

$$X = \frac{C \times V_1 \times 1000}{V \times 1000} \quad (2)$$

式中:  $C$ —从标准曲线查得的样品处理后进样时的 LAS 的浓度, mg/L;

$V_1$ —处理后样品定容的体积, mL;

$V$ —样品的体积, mL。

注: 计算结果保留 2 位有效数字。

### 3 结果与分析

#### 3.1 亚甲基蓝分光光度法

##### 3.1.1 分光光度法检测条件的确定

###### (1) 显色剂

目前分光光度法测定直链烷基苯磺酸钠除亚甲基蓝分光光度法(GB 7494-87《水质 阴离子表面活性剂的测定 亚甲基蓝分光光度法》)外, 还有文献<sup>[11]</sup>报道: 孔雀绿试剂与阴离子表面活性剂十二烷基磺酸钠(DOSO<sub>3</sub>Na)反应会形成紫色离子缔合物, 其最大吸收位于 582 nm 处, 以及文献<sup>[12]</sup>报道: 利用 Ferrioin 试剂(Fe<sup>2+</sup>与二氮杂菲形成的配合物)与阴离子表面活性剂形成红色的离子缔合物, 经 CHCl<sub>3</sub> 萃取后在 510 nm 处有最大吸收峰等。在本实验室条件下, 经实验证实 LAS 和孔雀绿试剂及 Ferrioin 试剂不发生显色反应, 经光谱扫描没有明显的吸收峰。因此本研究选用亚甲基蓝为显色剂。

###### (2) 入射光波长

用 CHCl<sub>3</sub> 进行基线校正, 扫描得到可见光全波段氯仿层中 MBAS 的特征吸收波长在 652 nm 处。

###### (3) 显色时间

阳离子染料亚甲基蓝与阴离子表面活性剂作用, 生成蓝色盐类, 其颜色稳定性直接影响光度值从而影响最终测定的含量。本研究从加入亚甲基蓝开始计时, 每隔 15 min 左右测定吸光度, 绘制吸光度  $A$ —时间  $t$  曲线, 由曲线确定吸光度稳定的时间是测定适宜的显色时间在 50 ~ 120 min 之间。

###### (4) 最适 pH

溶液的酸碱性对光度测定有显著影响, 它影响显色剂的形态、待测组分的化合状态及显色化合物的组成。阳离子染料亚甲基蓝在氧化性的环境中呈蓝色, 遇还原剂会被还原成无色的状态。溶液的酸碱性影响其氧化还原性, 本研究用 1 mol/L 的 NaOH 溶液和 0.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液调节试液酸碱度至中性后, 再与亚甲基蓝作用显色效果较好。

###### (5) 显色剂用量

亚甲基蓝的用量可用与 LAS 络合反应的配比系数确定, 但显色反应在一定程度上是可逆的, 为了减少反应的可逆性, 一般需加入过量的显色剂, 但显色剂过多也可带来副反应。亚甲基蓝和 LAS 的反应用量, 可用如下方法确定: 在 1.5 mg/L 的 LAS 标准溶液中, 依次加入 2、5、10、15、20、25、30、35、40 mL 的亚甲基蓝溶液, 摇匀后再移入 10 mL 的 CHCl<sub>3</sub>, 激烈振摇 30 s, 然后静置分层取 CHCl<sub>3</sub> 层在 652 nm 处测其吸光度, 通过吸光度—显色剂用量的关系曲线, 可知当亚甲基蓝 10 mL 及以上时, 吸光度无明显变化。但在检测中考虑到啤酒成分对亚甲基蓝的影响, 确定亚甲基蓝用量以 15 mL 为宜。

###### (6) 共有离子的干扰及消除方法

啤酒的化学组成及重要的风味成分主要有乙醇、CO<sub>2</sub>、糖、17 种氨基酸以及醇、醛、酯类等风味成分, 除此之外还有酒花苦味值和 3%~4% 的无机盐类<sup>[13]</sup>。其中的无机盐类会与亚甲基蓝作用, 生成可溶于氯仿的蓝色络合物, 致使结果偏高, 可将氯仿层用洗涤液(一水磷酸二氢钠+浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)洗涤后测试吸光度值, 所得结果明显偏低。啤酒中的金属离子主要有 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>、Zn<sup>2+</sup>, 这些离子中实际上能和亚甲基蓝作用的只有 Ca<sup>2+</sup><sup>[14]</sup>, 用此法可消除部分无机盐类主要是金属离子对测定结果的影响。因此实验也可以发现 LAS 的标准溶液中也含有其他的无机盐类, 结果见图 1。

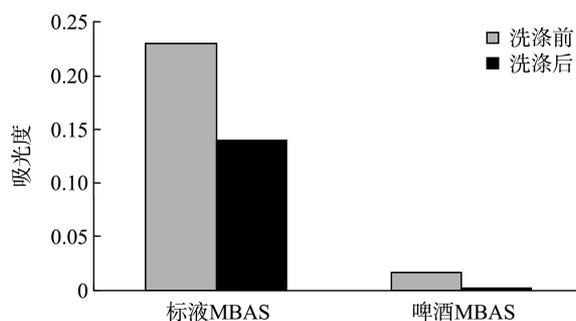


图 1 标准溶液和啤酒中 MBAS 洗涤前后吸光度的变化图  
Fig. 1 Map about the MBAS in the standard solution and beer absorbance changes before and after washing

有文献<sup>[15]</sup>报道亚甲基蓝萃取光度法可采用一次萃取, 不经酸洗直接对萃取液进行测定。本研究实验表明: 此方法由于省略了步骤, 用时较短, 但吸光度和浓度之间线性相关较差, 经过 4 次实验相关系数  $r$  分别为 0.976、0.978、0.992、0.995。但经过洗涤后测试相关系数  $r$  达到 0.999 以上( $n=6$ )。因此对低含量的 LAS 检测, 经过洗涤去除离子干扰后准确度要高一些, 检测啤酒中残留的直链烷基苯磺酸钠应经过洗涤。

### 3.1.2 分光光度法检测的方法学考察

#### (1) 工作曲线及线性范围

亚甲基蓝分光光度法检测阴离子表面活性剂(十二烷基苯磺酸钠)工作曲线的线性范围通过表 1 中的数据可得。

依据表 1 数据分析可知亚甲基蓝分光光度法检测  $\text{CHCl}_3$  层十二烷基苯磺酸钠在 0 ~ 3 mg/L 之间线性关系良好, 相关系数  $r > 0.999$ , 因此适合低含量(0 ~ 0.3 mg/L)的样品检测, 于最大吸收波长 652 nm 处的表观摩尔吸收系数  $\epsilon = 1.93 \times 10^6 \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{cm})$ , 反映用分光光度法在确定的实验方法下测定该络合物具有很高的灵敏度。经过进一步实验表明本方法的线性范围在  $4.04 \times 10^{-3} \sim 2.0 \text{ mg/L}$  之间, 且符合比耳定律, 检测上限为 2.0 mg/L 的 LAS。

以吸光度为纵坐标, 样品中十二烷基苯磺酸钠的含量为横坐标, 建立工作曲线。工作曲线方程:  $C = k \cdot A \cdot b + b$  其中斜率:  $k = 5.533$ , 截距:  $b = -0.100$ , 相关系数:  $r = 0.9994$ ,  $4.04 \times 10^{-3} \text{ mg/L} \leq C \leq 0.3 \text{ mg/L}$ 。

#### (2) 检出限

用  $\text{CHCl}_3$  调零, 测定 20 次空白溶液的浓度值, 确定检出限为  $4.04 \times 10^{-3} \text{ mg/L}$ , 因此当采用 10 mm 光程的比色器, 试份体积为 100 mL 时, 本方法的检出限为  $4.04 \times 10^{-3} \text{ mg/L}$ 。

#### (3) 精密度

取直链烷基苯磺酸钠含量差别较大的样品: 1 号啤酒和洗瓶添加剂连续测定 6 次, 变异系数分别为 3.04% 和 6.94%, 说明本方法对低含量的直链烷基苯磺酸钠的检测精密度要高一些。

#### (4) 回收率

分别取 1 号啤酒和 5 号啤酒处理好的样品 100 mL 各 4 份, 其中 1 份加入 1 mL 1 mg/L 的直链烷基苯磺酸钠标准

溶液, 按确定的分光光度法实验步骤, 测试直链烷基苯磺酸钠的含量, 各 6 次, 求出平均检出量, 计算平均回收率。同样分别取 1 mL、2 mg/L 和 5 mg/L 的 LAS 加入 100 mL 的啤酒中进行回收率试验。以样品加标回收率来表示本方法的准确度结果见表 2。

#### (5) 样品测定结果

亚甲基蓝法对样品的测定结果见表 3。

## 3.2 高效液相色谱法

### 3.2.1 液液萃取

#### (1) 溶剂的选择

直链烷基苯磺酸钠具有两亲性的分子结构, 对其萃取多采用水、氯仿等。氯仿微溶于水(0.8 g/100 mL, 20 °C)、沸点 61.2 °C, 从啤酒中溶剂萃取 LAS, 选用极性小的氯仿( $\text{CHCl}_3$ )为萃取剂适宜。

#### (2) pH 值的影响

十二烷基苯磺酸钠属于强酸强碱盐, 水溶液呈中性(25 °C, pH=6.4), 在水溶液中呈完全电离的状态, 通过实验可以证明水溶液中提取 LAS 的效率, 受 pH 值的影响不大, 但中性环境的提取效率不及酸性和碱性。

在啤酒中通过液液萃取分离提取残留的 LAS, 由于啤酒中含有脯氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甘氨酸、组氨酸等 17 种氨基酸, 它们的等电点(isoelectric point, PI)各不相同, 绝大多数在 5.02~7.59 之间, 中性碱性氨基酸居多, 在等电点时偶极离子的浓度最大, 这时的氨基酸在水中的溶解度最小, 干扰 LAS 的提取净化, 因此在啤酒中分离提取 LAS 的最适 pH 值不应在 pH=7 附近, pH 范围可在强酸性或强碱性范围内考虑。啤酒的 pH 值一般在 4.5 左右, 是液液萃取的最适 pH 值。

表 1 阴离子表面活性剂(十二烷基苯磺酸钠)的标准溶液吸光度测定值

Table 1 Measured values of anionic surfactants(sodium dodecylbenzene sulfonate)standard solution absorbance

标准溶液体积/mL	0	0.5	1.00	5.00	10.00	15.00	20.00	25.00	30.00
标液浓度 (以萃取到 $\text{CHCl}_3$ 层计)/(mg/L)	0	0.05	0.100	0.500	1.000	1.500	2.000	2.500	3.00
吸光度/Abs	0.018	0.037	0.036	0.058	0.193	0.295	0.3	0.478	0.552

表 2 分光光度法准确度实验结果

Table 2 Spectrophotometric accuracy of results

回收组分	样品	加入量/ $\mu\text{g}$	检出量 <sup>a</sup> / $\mu\text{g}$	回收率 <sup>b</sup> /%	平均回收率/%
阴离子表面活性剂 (以十二烷基苯磺酸钠计)	1 号啤酒	1	4.237	93.7	73.4 ~ 104.5
		2	5.206	95.3	
		5	6.970	73.4	
	5 号啤酒	1	3.714	91.4	
		2	4.890	104.5	
		5	6.935	82.7	

注: a 表示 6 次平均检出量; b 表示 6 次平均回收率。

表3 分光光度法样品测定结果

Table 3 Results of sample determination in spectrophotometric

序号	材料(样品)名称	平行试验/(mg/L)		平均值/(mg/L)
		1	2	
1	1号啤酒	0.032	0.034	0.033
2	2号啤酒	0.034	0.034	0.034
3	3号啤酒	0.023	0.024	0.024
4	4号啤酒	0.025	0.026	0.025
5	5号啤酒	0.028	0.028	0.028
6	6号啤酒	0.029	0.027	0.028

对于啤酒中残留 LAS 的提取,可采用  $\text{CHCl}_3$  连续多次萃取法。用  $\text{CHCl}_3$  多次萃取,收集有机相进行蒸干浓缩提取,得到啤酒中残留的 LAS 提取物。

### 3.2.2 分离提取物的质谱确证

将 LAS 的标准溶液及液液萃取 (liquid-liquid extraction, LLE) 法分别从啤酒中和洗瓶添加剂中提取的目标检测物以一定的流量自动注入 micromass 质谱仪,进行质谱扫描,离子源用电喷雾离子源 ESI(+, -), 质谱条件为:毛细管电压:400 V;样品锥孔电压:40 V;二级锥孔电压:3 V;脱溶剂气温度:120 °C;源温:120 °C;锥孔气流量:15 L/hr;脱溶剂气流量:313 L/hr。质谱确证图如图 2。

由图 2(a)LAS 标准溶液负离子质谱图可知,质谱峰  $m/z$  338.2 失去质量为 14 的碎片( $-\text{CH}_2$ )产生  $m/z$  324.2, 质谱峰  $m/z$  310.2 为  $m/z$  324.2 失去质量为 14 的碎片( $-\text{CH}_2$ )产生的,同样质谱峰  $m/z$  310.2 失去质量为 14 的碎片( $-\text{CH}_2$ )产生  $m/z$  296.2 的质谱峰,由此可知该混合物主要有 4 种成分,对应的分子量分别为 338.2、324.2、310.2、296.2,对应的离子式分别为  $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{SO}_3^-$ 、 $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{SO}_3^-$ 、 $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{SO}_3^-$ 、 $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{SO}_3^-$ , 确证了 LAS 标准溶液的组成为  $\text{C}_{10}$ ~ $\text{C}_{13}$  直链烷基苯磺酸钠。

图 2(b)、(c)分别为啤酒和洗瓶添加剂 LLE 提取物的负离子质谱图,对比图 2(a),得知啤酒提取物中存在  $\text{C}_{10}$ ~ $\text{C}_{13}$  的直链烷基苯磺酸钠,洗瓶添加剂中  $\text{C}_{10}$ ~ $\text{C}_{13}$  直链烷基苯磺酸钠也是其中的一种有效成分。

### 3.2.3 高效液相色谱法色谱条件的建立

#### (1) 色谱柱的选择

选用岛津 GL-液相色谱柱 Inertsil ODS-SP (4.6 mm×250 mm, 5 μm)即十八烷基键合硅胶(octadecylsilane,  $\text{C}_{18}$ ), 有文献<sup>[16]</sup>报道  $\text{C}_8$  柱上各目标峰形更尖锐,分离效果更好,通过实验验证,两者的整体谱图的分离度一致均为  $r=0.99$ ,  $\text{C}_{18}$  柱第 4 号峰的保留时间为 13.17 min,  $\text{C}_8$  柱第 4 号峰的保留时间为 14.93 min, 但用  $\text{C}_8$  柱峰形对称性好,并尖锐,较  $\text{C}_{18}$  柱有改观。 $\text{C}_8$  柱是硅胶键合辛烷基,极性强于 ODS,但物质在其上的保留不如 ODS。本研究采用 Acclaim@120  $\text{C}_8$  柱,规格型号 5 μm 120Å 4.6 mm×250 mm。

#### (2) 检测波长的选择

用 Tu-1800 紫外可见分光光度计对十二烷基苯磺酸钠溶

液进行紫外光区全波段光谱扫描,结果表明十二烷基苯磺酸钠标准溶液在 224 nm 附近有较大吸收,重复性好,不受流动相中其他物质的干扰,故选择最佳的检测波长为 224 nm。

#### (3) 流动相选择

##### ① 流动相流速的选择

因柱效是柱中流动相线性流速的函数,使用不同的流速可得到不同的柱效。对于一根特定的色谱柱,要追求最佳柱效,最好使用最佳流速。对内径为 4.6 mm 色谱柱,流速一般选择 1 mL/min。

##### ② 流动相系统的选择

本实验确立分离条件优化的因子有流动相比、改性剂及改性剂的 pH 值。特别是缓冲溶液的 pH 值,考虑到 Acclaim@120  $\text{C}_8$  柱的 pH 范围为 2~8 之间,以及乙酸铵作为缓冲溶液可控制的 pH 范围( $\text{pKa}\pm 1$ )。还有十二烷基苯磺酸钠溶于水直接电离的情况,乙酸铵的 pH 值选择 2 个水平,即正常的乙酸铵 pH 值,以及比正常低一个单位的 pH 值。缓冲溶液的浓度直接影响缓冲容量的大小,影响流动相的稳定性,从而影响色谱柱的分离效果。高浓度的缓冲溶液会增加流动相的本底吸收,降低灵敏度从而影响分离效果;另外高浓度的盐会对泵和色谱柱的寿命产生影响,因此实验中乙酸铵尽量选择低浓度。参考相关文献<sup>[16,17]</sup>,确定 2 个因子 3 个水平,1 个因子 2 水平进行正交试验,按照正交试验计划安排。设置柱温 20 °C,流速 1.0 mL/min,进样量 10 μL 依次进行试验。通过检测出色谱图分析比较发现:0000.org 和 0012.org 分离出峰效果比较好,特别是 0012.org 的峰形较好,但出峰时间相对比较集中。依据 Drouen 等<sup>[18]</sup>提出的描述色谱图的优化标准,利用峰对优化标准 R 及整体谱图优化标准  $r$ 、 $r^*$ ,考察 2 个谱图评价结果,见表 4。

因此根据分析及计算最终确定 0000.org 对应的流动相系统条件为最佳条件。此条件满足在尽可能短的时间内,样品中目标检测物能得到比较满意的分离。

#### (4) 仪器精密度实验结果

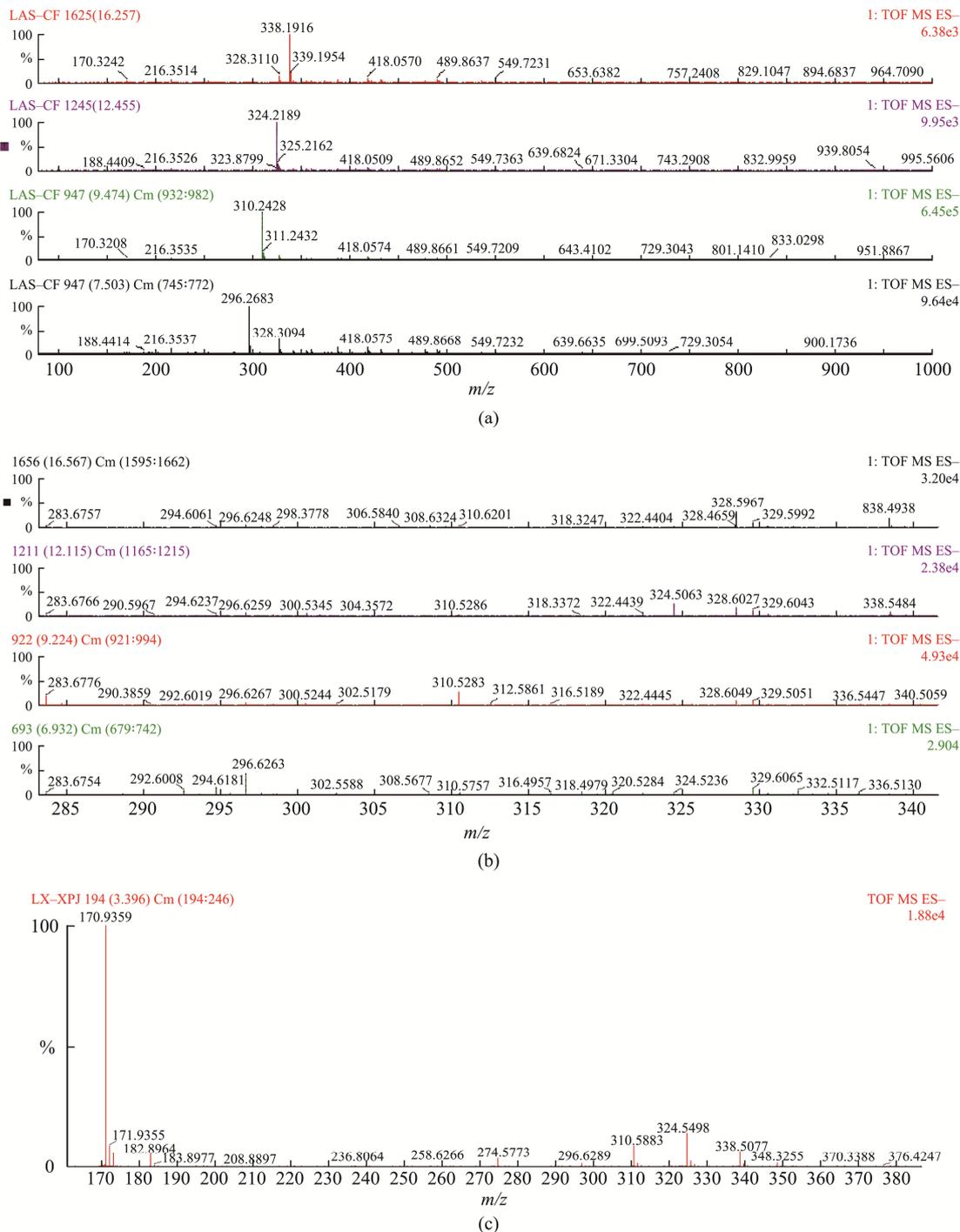
利用确定的色谱条件,选用 1000 μg/mL 阴离子表面活性剂溶液,连续进样 5 次,进样量 10 μL,考察仪器的精密度。根据实测结果各色谱峰保留时间的  $\text{RSD}<1.15\%(n=5)$ ,各色谱峰的峰面积的  $\text{RSD}<4.5\%(n=5)$ ,各色谱峰的峰高  $\text{RSD}<3.3\%(n=5)$ ,表明仪器在确定的色谱条件下精密度良好。

### 3.2.4 方法学考察

#### (1) 标准曲线及线性范围

本试验采用外标法。方法与结果如下:

阴离子表面活性剂(以十二烷基苯磺酸钠计)标准溶液浓度色谱图使用仪器类型:液相色谱;梯度方式:恒流;检测器:紫外;仪器型号:岛津(LC-10ATVP/SPD-10AVP);柱温:20°C;波长:224 nm;柱型号:Acclaim120  $\text{C}_8$  5 μm;进样:20 μL;积分方法:高度外标法。



注: (a)LAS 标准溶液; (b)啤酒 LLE 提取物; (c)洗瓶添加剂提取物。

图 2 负离子质谱图

Fig.2 Mass spectrum of anion

高效液相色谱法检测十二烷基苯磺酸钠的标准曲线方程为:  $Y=771.94X$ ,  $r^2=0.9965$  ( $n=6$ ), 线性范围 2~200 mg/L。由色谱图(图 3)可知, 在浓度较低(<20 mg/L)时, 各组分的出峰情况发生了明显变化, 这是由于阴离子表面活性剂 LAS 以离子形式及以胶团的形式在  $C_8$  柱上保留分离情况不同造成的。当浓度很低时(<2 mg/L), 标准溶液主要是以

$Na^+$ 、 $C_{18}H_{29}SO_3^-$ 、 $C_{18}H_{29}SO_3H$ 、 $OH^-$ 等形式共存, 在  $C_8$  柱上的保留与分离集中以  $C_{10}$  直链烷基苯磺酸钠出峰的形式体现, 7.7 min 左右出峰, 而  $C_{11}$ 、 $C_{12}$ 、 $C_{13}$  直链烷基苯磺酸钠出峰不明显, 导致浓度峰高线性相关较差。当标准溶液的浓度升高时,  $C_{11} \sim C_{13}$  直链烷基苯磺酸钠的峰形逐渐出现, 浓度达到十二烷基苯磺酸钠的临界胶束浓度 400 mg/L

左右时, C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub> 直链烷基苯磺酸钠各自开始形成胶团, 显然 C<sub>10</sub> 分子形成胶团的浓度要远远低于 400 mg/L, 而 C<sub>13</sub> 分子则要大于 400 mg/L, 理论推测和实际出峰情况基本一致。浓度愈高, 则直链烷基苯磺酸钠分子就主要以各自的胶团形式在色谱柱上分离与保留, C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub> 更能很好地分离, 适合单一的同系物定性定量。此时若更换成 C<sub>18</sub> 柱实验情况也类似。

(2)检出限

在确定色谱条件下, 22 min 内基线噪声 Nd=0.094 mV, 由于低浓度不在线性范围内, 依据  $D_L = \frac{2N_d \cdot C}{H}$  采用单点比例计算检出限  $D_L=2.05 \times 10^{-3}$  mg/L, 因此该方法在进样量 20 μL, 流速 1.0 mL/min 时的检出限为  $2.05 \times 10^{-3}$  mg/L。

(3)精密度与回收率

高效液相色谱法对样品检测的准确度以相对误差和样品加标回收率来表示, 而精密度以相对标准偏差来表示。10 mg/L 标准物质直接用 CHCl<sub>3</sub> 经过 3 次萃取, 可以获得较高的萃取率。标准溶液平均检测值为 9.92 mg/L, 相

对误差-0.8%。样品平均检出量和回收率见表 5, 说明该方法的精密度较高、准确性较好, 满足实验的要求。

(4)样品检测结果

根据上述选定的色谱检测条件, 对待测样品进行检测, 其色谱检测结果如图 4 所示。

表 4 色谱图优化评价表  
Table 4 Optimization of chromatogram evaluation form

谱图编号	色谱峰编号	色谱峰分离度 (R)	色谱图整体优化标准值
0000.org (a)	1	0	r=0.965
	2	2.644	r*=0.0646
	3	3.095	Rmin=2.644
	4	3.844	
0012.org (m)	1	0	r=0.945
	2	1.503	r*=1.572
	3	1.776	Rmin=1.503
	4	2.391	

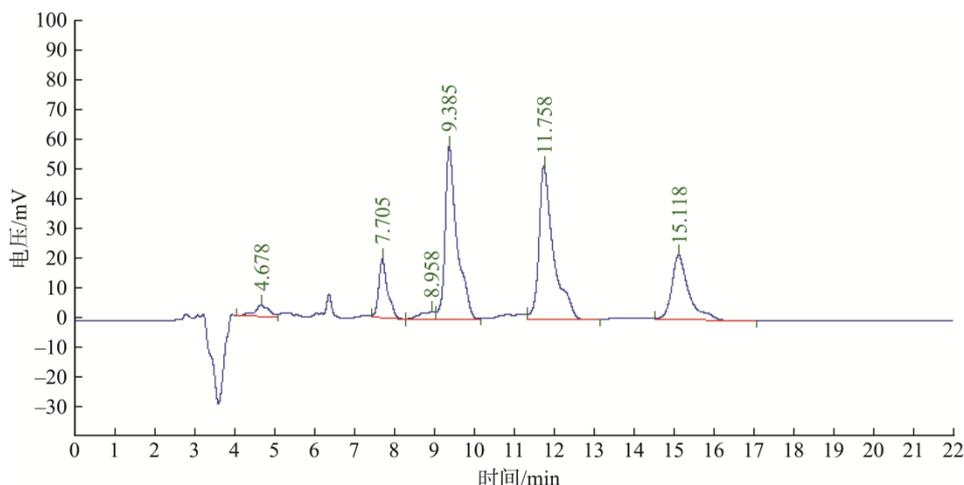


图 3 200 mg/L LAS 标准溶液浓度色谱图  
Fig.3 200 mg/L LAS standard solution concentration of chromatograms

表 5 高效液相色谱法检测结果的精密度和回收率  
Table 5 Recoveries and precision of HPLC test results

回收组分	样品	加入量/μg	检出量 <sup>a</sup> /μg	回收率 <sup>b</sup> /%	平均回收率/%	RSD/%
阴离子表面活性剂 (以十二烷基苯磺酸钠计)	3 号啤酒	1	3.038	83.8	78.6 ~ 99.5	8.5
		2	3.806	80.3		7.4
		5	6.630	88.6		6.4
	4 号啤酒	1	2.963	86.3		8.9
		2	4.090	99.5		6.8
		5	5.630	78.6		7.7

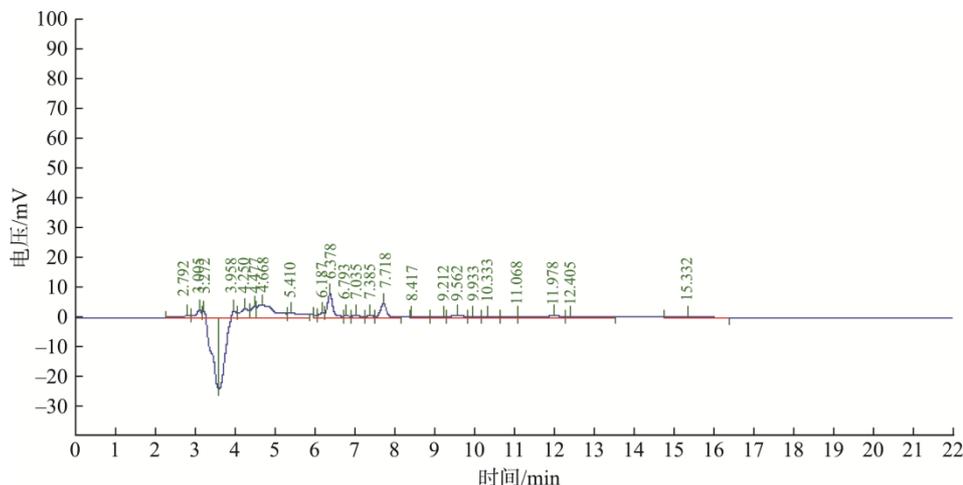


图 4 色谱检测结果(5号啤酒)

Fig.4 Chromatographic detection results (beer 5)

采用峰高外标法定量, 利用 4 个峰高相加之和与浓度值的线性关系, 确定待检样品的浓度。计算结果如下表 6。

表 6 高效液相色谱法检测结果  
Table 6 HPLC test results

序号	(材料) 样品名称	阴离子表面活性剂含量 (以十二烷基苯磺酸钠计)/(mg/L)
1	1号啤酒	0.022
2	2号啤酒	0.021
3	3号啤酒	0.017
4	4号啤酒	0.019
5	5号啤酒	0.014
6	6号啤酒	0.014

### 3.3 2种方法的比较

通过分光光度法和高效液相色谱法检测啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠方法建立的研究与样品检测情况的比较发现:

检测对象: 分光光度法主要被检测物是 LAS、烷基磺酸钠和脂肪醇硫酸钠, 但可能存在一些正的和负的干扰, 有文献报道亚甲蓝法还可以快速检测糖精钠<sup>[19]</sup>。从本研究对样品测试结果来看, 检测结果较 HPLC 法的检测结果高, 见图 5。究其原因可能在于啤酒成分对亚甲蓝作用影响造成的。高效液相色谱法的检测对象由标准物质决定。鉴于目前的标准物质多是 C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub> 混合的直链烷基苯磺酸钠。因此目前只能对这个范围的待检物质定性定量。但 HPLC 法的 LLE 要求对目标检测物高倍富集, 因此处理样品要求精细准确。

器材的要求: 2 种方法使用的玻璃器皿在使用前都必须先用水彻底清洗, 然后用 10%(m:m)的乙醇盐酸清洗, 最后用去离子水冲洗干净方可使用。

准确度比较: 从用 2 种方法测得的数据来看, 高效液

相色谱准确度略高于分光光度法, 但低浓度下(<2 mg/L), 高效液相色谱法的浓度、峰高线性关系较差。

检测方法优缺点的比较: 分光光度法检测的主要优点在于反应灵敏度高, 设备要求不高, 且样品前处理较为简单; 其缺点主要是操作麻烦、重复性差。高效液相色谱法的检测优点主要在于定性准确、操作方便、灵敏度高、样品需要量少; 但检测时样品提取较为繁琐。

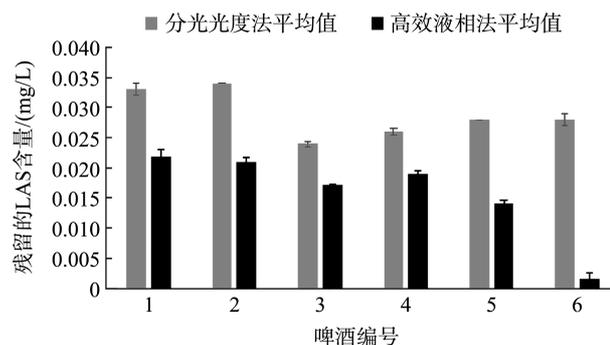


图 5 亚甲蓝分光光度法和高效液相色谱法检测结果比较  
Fig.5 Comparison of detection results about methylene blue spectrophotometric method and HPLC

## 4 结论与讨论

分光光度法亚甲蓝为最灵敏的显色剂。反应体系在中性条件下和亚甲蓝作用显色效果较好, 显色剂亚甲蓝用量以 15 mL 为宜, 并在加显色剂后 50~120 min 之间测试吸光值最稳定, CHCl<sub>3</sub> 萃取的亚甲蓝活性物质经洗涤后测试浓度和吸光值之间的相关性良好, 相关系数  $r$  大于 0.999。

分光光度法检测啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠线性范围为  $4.04 \times 10^{-3} \sim 2.0$  mg/L, 其中在  $4.04 \times 10^{-3} \sim 0.3$  mg/L 范围内线性关系良好, 相关系数  $r > 0.999$ , 检出限为  $4.04 \times 10^{-3}$  mg/L, 平均回收率为 73.4%~104.5%, 相对标准偏差为 3.04%。其检测上限为 2.0 mg/L, 适宜低浓度检验。由于检

验不需分离提取,较适宜快速检验,但方法的专属性较差,且需使用大量有毒溶剂,易对环境造成二次污染。

研究过程中确立了高效液相色谱分离分析十二烷基苯磺酸钠的条件,此条件下 22 min 内 C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub> 直链烷基苯磺酸钠能良好分离,且峰型尖锐,较有关文献<sup>[20]</sup>报道的分析条件简单。另外建立了样品中提取直链烷基苯磺酸钠的 LLE 法, LLE 法中用 CHCl<sub>3</sub> 连续 3 次萃取直链烷基苯磺酸钠标准溶液,萃取率达 99.2%。

高效液相色谱检测啤酒中残留直链烷基苯磺酸钠在 2 ~ 200 mg/L 范围内线性关系良好,检测限为 2.05 × 10<sup>-3</sup> mg/L。由于标准物质的限制目前仅能对 C<sub>10</sub>~C<sub>13</sub> 范围内的直链烷基苯磺酸钠定性定量。HPLC 法的相对误差: -0.8%,回收率为 78.6% ~ 98.5%,相对标准偏差: 6.4% ~ 8.9%。

分光光度法和高效液相色谱法,由于它们线性范围之间具有连续性因此采用这 2 种方法可以满足食品(啤酒)中直链烷基苯磺酸钠残留(微量)检测及添加(常量)检测。

由于条件的限制,亚甲基蓝分光光度法没有探讨啤酒中氨基酸干扰的问题。随着常温富集技术的发展及 LAS 分子两亲性特点,可以考虑直接对啤酒在常温下浓缩或固(液)相萃取技术提取后,采用 HPLC 在确定的色谱条件下对残留的 LAS 定量。

## 参考文献

- [1] 左永泉,刘芳. 淡淡啤酒发酵罐的清洗和灭菌[J]. 食品科技, 2001, (6): 48-50.  
Zuo YQ, Liu F. Cleaning and sterilization of light beer fermenter [J]. Food Sci Technol, 2001, (6): 48-50.
- [2] 顾民,吕静兰. 工业清洗剂[M]. 北京: 中国石化出版社, 2008.  
Gu M, Lv JL. Industrial cleaning agent [M]. Beijing: China Petrochemical Press, 2008.
- [3] 黄树丽,余俊红,胡淑敏,等. 洗涤剂及主要成分表面活性剂对啤酒泡沫的影响[J]. 酿酒科技, 2014, (3): 9-12.  
Huang SL, Yu JH, Hu SM, et al. Study on the Effects of detergent and its main ingredients-surfactant on beer foam performance [J]. Liquor-Mak Sci Technol, 2014, (3): 9-12.
- [4] GB 5749-2006 生活饮用水卫生标准[S].  
GB 5749-2006 Sanitary standard for drinking water [S].
- [5] 禾治宇,冯彩英. 阴离子表面活性剂的生态学及毒性评估[J]. 日用化学工业, 2000, 4(30): 22-24.  
Qiao ZY, Feng CY. Ecology and toxicity evaluation of anionic surfactants [J]. Daily Chem Ind, 2000, 4(30): 22-24.
- [6] 陈加平,徐立红,吴振斌. 家用洗涤剂对鱼生物标志物的影响[J]. 中国环境科学, 2001, 21(3): 248-251.  
Chen JP, Xu LH, Wu ZB. Effects of household detergents on biomarkers of fish [J]. Chin Environ Sci, 2001, 21(3): 248-251.
- [7] 王琦,刘小强,李丹,等. 直链烷基苯磺酸钠暴露对雄性小鼠的生殖毒性[J]. 青岛大学学报(医学版), 2019, 55(4): 437-441.  
Wang Q, Liu XQ, Li D, et al. Reproductive toxicity of sodium linear alkylbenzene sulfonate to male mice [J]. J Qingdao Univ (Med Sci Ed), 2019, 55(4): 437-441.
- [8] 赵文红,赵红,王开磊,等. 直链烷基苯磺酸钠致人张氏肝细胞损伤的毒性作用[J]. 卫生研究, 2016, 45(2): 263-267.  
Zhao WH, Zhao H, Wang KL, et al. Cytotoxic effect of linear alkylbenzene

sulfonate on human Chang liver cells [J]. J Hyg Res, 2016, 45(2): 263-267.

- [9] 袁峻峰,陈浩文,吴宝玲. 南板麦克斯韦尔海湾阴离子洗涤剂污染研究[J]. 中国环境科学, 1998, 18: 151-153.  
Yuan JF, Chen HW, Wu BL. Study on anionic detergent pollution in Maxwell Bay, Antarctica [J]. Chin Environ Sci, 1998, 18: 151-153.
- [10] GB/T 4928-2008 啤酒分析方法[S].  
GB/T 4928-2008 Beer analysis method [S].
- [11] 杨胜利,费晓华. 水中阴离子表面活性剂的光度法测定[J]. 分析科学学报, 2004, 20(4): 444-445.  
Yang SK, Fei XH. Spectrophotometric determination of anionic surfactants in water [J]. J Anal Sci, 2004, 20(4): 444-445.
- [12] 巧力潘,赵燕. 水中阴离子表面活性剂洗涤剂测定新方法的研究[J]. 干旱环境监测, 2003, 17(3): 189-192.  
Qiao LP, Zhao Y. A new method for the determination of anionic surfactants in water [J]. Arid Environ Monit, 2003, 17(3): 189-192.
- [13] 大连轻工业学院,无锡轻工业学院,天津轻工业学院. 酿造酒工艺学[M]. 北京: 轻工业出版社, 1982.  
Dalian institute of light industry, Wuxi institute of light industry, Tianjin institute of light industry. Brewing technology [M]. Beijing: Light Industry Press, 1982.
- [14] 杭州大学化学系分析化学教研室. 分析化学手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 1989.  
Department of chemistry, Hangzhou university. Handbook of analytical chemistry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 1989.
- [15] 覃建民,王小杰,杨雪峰,等. 亚甲基蓝分光光度法测定生活饮用水中阴离子表面活性剂探究[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 16: 1185-1186.  
Qin JM, Wang XJ, Yang XF, et al. Study on the determination of anionic surfactants in drinking water by methylene blue spectrophotometry [J]. Chin J Health Lab Technol, 2006, 16: 1185-1186.
- [16] 石相莉,曾雪萍,林尚鹏. 高效液相色谱法测定泡打粉中非食用物质直链烷基苯磺酸钠的方法研究[J]. 中国食品添加剂, 2009, 5: 183-186.  
Shi XL, Zen XP, Lin SP. Study on the method for the determination of non edible substance in paoda powder by HPLC [J]. Chin Food Addit, 2009, 5: 183-186.
- [17] 莫平,黄玉民. HPLC-UV 检测法测定废水中十二烷基苯磺酸钠[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, (1): 65-68.  
Mou P, Huang YM. Determination of sodium dodecylbenzene sulfonate in waste water by HPLC-UV [J]. J Southwest Univ (Nat Sci Ed), 2007, (1): 65-68.
- [18] 于世林. 高效液相色谱方法及应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.  
Yu SL. High performance liquid chromatography and its application [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [19] 王玉芳,唐宏兵. 饮料中糖精钠的亚甲基蓝快速测定法[J]. 职业与健康, 2006, (8): 1171-1172.  
Wang YF, Tang HB. Rapid determination of saccharin sodium in beverages by methylene blue [J]. Occup Health, 2006, (8): 1171-1172.
- [20] Santos JL, Aparicio I, Alonso E. A new method for the routine analysis of LAS and PAH in sewage sludge by simultaneous sonication-assisted extraction prior to liquid chromatographic determination [J]. Anal Chim Acta, 2007, 605: 102-109.

(责任编辑: 于梦娇)

## 作者简介



李旭,高级工程师,主要研究方向为食品质量安全。

E-mail: 565841861@qq.com