

高效液相色谱法-差异加标法同时快速测定 饮料中的苯甲酸、山梨酸

游新侠*, 张 杰, 朱 玲

(郑州科技学院 食品科学与工程学院, 郑州 450064)

摘要: 目的 建立高效液相色谱法-差异加标法同时快速测定饮料中苯甲酸、山梨酸的分析方法。**方法** 以复合蛋白饮料、果蔬饮料为样品, 通过亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液提取后, 色谱柱为 Accucore C₁₈ 柱 (2.1 mm×150 mm), 以甲醇-0.02 mol/L 乙酸铵(5:95, V:V)为流动相梯度洗脱, 采用高效液相色谱法-差异加标法测定。**结果** 该法最佳差异加标量为 10 μg/g 和 15 μg/g, 在此条件下测得饮料中苯甲酸、山梨酸的质量分数分别为 11.8~27.6 μg/g 和 18.1~19.4 μg/g; 其回收率分别为 98%~111%和 94%~113%; 检出限分别为 1.10 μg/mL、1.72 μg/mL; 定量限分别为 3.68 μg/mL、5.73 μg/mL。**结论** 该方法简便、快捷, 不需绘制标准工作曲线与过柱去杂质, 简化了步骤、提升了检测效率与准确性, 同时也扣除了背景干扰, 准确、实用, 是一种新型的分析检测技术。

关键词: 高效液相色谱法; 差异加标法; 饮料; 苯甲酸; 山梨酸

Simultaneous and rapid determination of benzoic acid and sorbic acid in beverages by high performance liquid chromatography-differential standard addition method

YOU Xin-Xia*, ZHANG Jie, ZHU Ling

(Department of Food Science and Engineering, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the simultaneous determination of benzoic acid and sorbic acid in beverage by high performance liquid chromatography-differential standard addition method. **Methods** The compound protein beverage and fruit and vegetable beverage were extracted by potassium ferrocyanide solution and zinc acetate solution. The chromatographic column was Accucore C₁₈ column (2.1 mm×150 mm). Methanol-0.02 mol/L ammonium acetate (5:95, V:V) was used as mobile phase for gradient elution. The determination was performed by high performance liquid chromatography with differential standard addition method. **Results** The optimal differential addition values were 10 μg/g and 15 μg/g respectively. Under this condition, the mass fractions of benzoic acid and sorbic acid in the beverage were 11.8–27.6 μg/g and 18.1–19.4 μg/g respectively. The recovery rates were 98%–111% and 94%–113% respectively. The limits of detection were 1.10 μg/mL and 1.72 μg/mL, and the limits of quantitation were 3.68 μg/mL and 5.73 μg/mL, respectively. **Conclusion** This method is simple and fast, and does not need to draw the standard working curve and remove impurities through the column, which simplifies the steps, improves the detection efficiency and accuracy, and also eliminates the background interference.

*通信作者: 游新侠, 副教授, 主要研究方向为食品安全卫生检测及保藏。E-mail: youxin_8301@126.com

*Corresponding author: YOU Xin-Xia, Associate Professor, Department of Food Science and Engineering, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China. E-mail: youxin_8301@126.com

It is accurate and practical, and is a new analysis and detection technology.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; differential standard addition method; beverage; benzoic acid; sorbic acid

0 引言

苯甲酸、山梨酸是常用的防腐剂。过量使用苯甲酸、山梨酸可能会影响人体血压、心脏和肾脏功能。因此,针对食品添加剂方面,国家要加大力度,规范食品市场,提供给消费者一个更加健康安全的消费环境^[1-5]。目前,苯甲酸、山梨酸的测定方法主要有高效液相色谱法、气相色谱法、薄层色谱法、离子色谱法、毛细管电泳法、紫外分光光度法等方法^[6-7]。

国标检测苯甲酸、山梨酸采用的是外标法。此方法需要配制2个标准系列溶液,绘制标准工作曲线,所有的样品均要使用同一标准曲线,缺点就是样品间的测定结果缺乏可比性,实验误差大^[8-9]。

高效液相色谱法-差异加标法实现了被测定试液与标准溶液同背景同体系的同时同步测定,无需绘制工作曲线和测定空白溶液。此法能有效的扣除背景、消除干扰,且不需要配制标准系列溶液、无需绘制工作曲线和过柱除杂,既避免作图误差提高实验准确度,又简化了部分操作流程,同时其标准溶液与试剂消耗量减少,节约实验成本。总之,差异加标法应用范围广泛、操作简便、节约成本与时间,具有一定的推广价值。本研究采用高效液相色谱法-差异加标法测定了饮料中的苯甲酸、山梨酸,以期作为饮料的安全监控提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

花生牛奶复合蛋白饮料,编号为1;农夫山泉30%混合果蔬,编号为2;果味饮料,编号为3,均购于郑州市二七区马寨镇联合一百超市。

1.2 试剂

亚铁氰化钾(分析纯,郑州派尼化学试剂厂);氨水、无水乙醇、乙酸锌(分析纯,烟台市双双化工有限公司);甲醇、己烷、甲酸、乙酸铵(色谱纯,上海安谱实验科技股份有限公司);苯甲酸钠(CAS号:65-85-0,纯度 $\geq 99.0\%$,北京曼哈格生物科技有限公司);山梨酸钾(CAS号:24634-61-5,纯度 $\geq 99.0\%$,德国DR公司)。

1.3 仪器与设备

2015LH037 电子天平(0.001 g,日本岛津公司);SB25-12DTD 超声波清洗机(宁波新芝生物科技股份有限公司);

德国 Sigma3K15 高速冷冻离心机(北京五洲东方科技发展有限公司);注射器(1 mL,河南曙光汇康生物科技股份有限公司);水相微孔滤膜(0.22 μm)、ERAA-HM-01 多管漩渦混合仪(上海安谱实验科技股份有限公司);Ultimate 3000 高效液相色谱仪(美国赛默飞公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 溶液配制

(1)试剂配制

亚铁氰化钾溶液(92 g/L):称取106 g亚铁氰化钾,加水溶解,移至1000 mL容量瓶中,加水定容至刻度。

氨水溶液(1:99, V:V):用移液枪移取1 mL的氨水,置于100 mL容量瓶中,加入99 mL的水定容至刻度,混匀。

乙酸锌溶液(183 g/L):称取乙酸锌220 g,置于烧杯中,加水溶解,使用量筒与胶头滴管量取30 mL冰乙酸,并转移至同一容量瓶,用水定容至1000 mL。

乙酸铵溶液(20 mmol/L):将称量纸放置在千分之一天平上,称取1.54 g的20 mmol/L乙酸铵,置于烧杯中,适量水溶解,转移至1000 mL容量瓶中,用水定容至刻度,吸取1 mL溶液,经0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用。

甲酸-乙酸铵溶液(2 mmol/L甲酸+20 mmol/L乙酸铵):称取乙酸铵1.54 g,水溶解,用移液枪吸取75.2 μL 的2 mmol/L甲酸,转移至同一1000 mL容量瓶中,定容至刻度,吸取1 mL试液,经0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用^[10]。

(2)标准溶液的配制

苯甲酸、山梨酸标准储备溶液(1000 mg/L):分别准确称取0.118 g苯甲酸钠和0.134 g(精确到0.0001 g)山梨酸钾,分别放置于100 mL棕色容量瓶中,用甲醇溶液定容至刻度,4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

苯甲酸、山梨酸混合标准中间溶液(100 mg/L):使用移液枪分别准确吸取苯甲酸、山梨酸标准储备溶液各5.0 mL于50 mL棕色容量瓶中,用水定容至刻度。4 $^{\circ}\text{C}$ 贮存,有效期为3个月^[11]。

1.4.2 标准曲线法

定量方法:采用外标法定量,配制苯甲酸、山梨酸混合标准工作液(100 mg/L):使用移液枪分别准确吸取苯甲酸、山梨酸混合标准中间溶液0.05、0.10、0.50、1.00、2.00、5.00 mL放于6个样品瓶中,用水定容至10 mL,配制成质量浓度分别为0.5、1.00、5.00、10.0、20.0、50.0 mg/L的6个浓度的标准工作溶液。

质控方法:质控样品采用阴性基质添加标准溶液回收法。取一份阴性基质样品(以花生牛奶复合蛋白饮料为

例)2.000 g, 添加 100 mg/L 的标准工作液 400 μL , 对应添加浓度为 20 mg/L, 按样品前处理方法制得。

1.4.3 试样的提取

将具塞离心管放于天平上, 用塑料吸管准确吸取约 2 g(精确到 0.001 g)试样称重, 加入 25 mL 水, 放在多管漩渦混合仪上漩渦混匀, 于 50 $^{\circ}\text{C}$ 超声波水浴中超声 20 min, 冷却至室温后分别加入亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液各 2 mL, 混匀, 对称放于离心机中, 8000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移至 50 mL 容量瓶中。于具塞离心管的残渣中加水 20 mL, 漩渦混匀后超声 5 min, 于 8000 r/min 离心 5 min, 将上清液转移到同一 50 mL 容量瓶中, 并用水定容至刻度, 混匀。用注射器取适量上清液过 0.22 μm 滤膜, 待液相色谱上机测定^[12-15]。

1.4.4 差异加标法定量

准确称取约 2 g(精确至 0.001 g)试样各 5 份, 分别置于 5 个 50 mL 的具塞离心管中, 在 1 号管中加入 100 μL 的 100 mg/L 标准溶液, 为原样液, 加入的标准溶液等于样品本身的物质, 在 2、3、4、5 号管中分别加入 100、200、300、400 μL 的 100 mg/L 标准溶液。之后按照 1.4.3 节方法操作, 定容至 50 mL 混匀, 分别取适量上清液过 0.22 μm 滤膜, 待液相色谱测定, 各管平行测定 3 次, 取平均值, 按公式(1)(2)计算样品中苯甲酸、山梨酸的含量。

$$m_x = \frac{(h_{\text{标}1}m_{\text{标}2} - h_{\text{标}2}m_{\text{标}1})}{h_{\text{标}2} - h_{\text{标}1}} \quad (1)$$

$$\omega = \frac{m_x}{m} \quad (2)$$

式中:

m_x ——样液中待测物质的质量, μg ;

$h_{\text{标}1}$ ——第 1 份试液的响应信号, 即峰高或峰面积;

$h_{\text{标}2}$ ——第 2 份试液的响应信号, 即峰高或峰面积;

$m_{\text{标}1}$ ——第 1 份标准溶液中所含的标准品的质量, μg ;

$m_{\text{标}2}$ ——第 2 份标准溶液中所含的标准品的质量, μg ;

m ——样品质量, g;

ω ——样品中苯甲酸、山梨酸的质量分数, $\mu\text{g/g}$ 。

结果保留 3 位有效数字。

1.4.5 标准曲线法计算方法

准确称取约 2 g(精确至 0.001 g)的试样各 2 份, 分别置于 2 个编号为 A_1 、 A_2 的 50 mL 具塞离心管中, A_1 号管为原试液, 不加标准溶液; 在 A_2 号管中加入 400 μL 的 100 mg/L 标准溶液, 之后按照 1.4.3 节方法操作, 定容至 50 mL 混匀, 分别取适量上清液过 0.22 μm 滤膜, 待液相色谱测定, 各管平行测定 3 次, 取平均值, 按公式(3)计算试样中苯甲酸、山梨酸的含量。

$$X = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \quad (3)$$

式中:

X ——试样中待测组分含量, g/kg;

P ——由标准曲线得出的试样液中待测物的质量浓度, mg/L;

V ——试样定容体积, mL;

m ——试样质量, g;

1000——由 mg/kg 转换为 g/kg 的换算因子。

结果保留 3 位有效数字。

1.4.6 仪器参数

高效液相色谱仪: Ultimate 3000(2017LH132); 检测器: 二极管阵列; 检测波长: 230 nm; 色谱柱: Accucore C_{18} (2.1 mm \times 150 mm); 流速: 0.2 mL/min; 进样量: 2 μL ; 柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$; 流动相: 甲醇: 0.02 mol/L 乙酸铵(5:95, V:V)。

2 结果与分析

2.1 方法的线性范围、回归方程及回收率

根据标准曲线法的操作方法分别绘制苯甲酸、山梨酸标准曲线, 苯甲酸、山梨酸的标准曲线如图 1、图 2 所示。由图 1 可知, 在苯甲酸的标准曲线中, 其回归直线方程为 $Y=0.558X-0.054$, 相关系数 $r^2=1.0000$, 回归拟合效果较好。

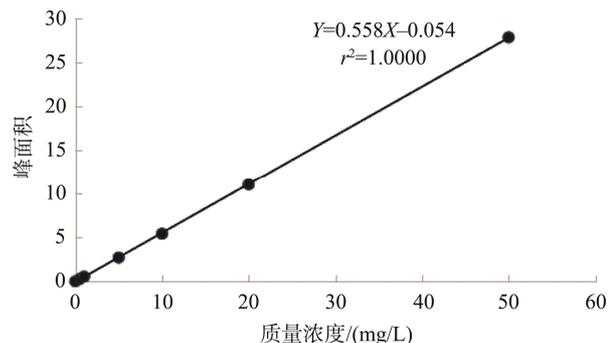


图 1 苯甲酸标准曲线

Fig.1 Standard curve for benzoic acid

由图 2 可知, 在山梨酸标准曲线中, 其回归方程为 $Y=0.87X-0.1397$, 相关系数为 $r^2=0.9999$, 回归拟合效果较好。

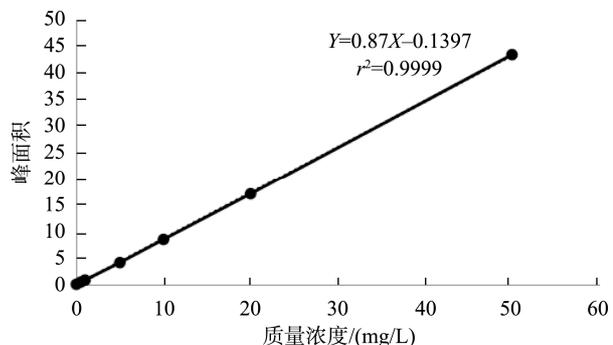


图 2 山梨酸标准曲线

Fig.2 Standard curve for sorbic acid

根据回收率计算公式,由表 1~2 可知,苯甲酸回收率在 91%~114%,山梨酸回收率在 94%~117%,范围合适,满足检测要求。

表 1 苯甲酸回收率
Table 1 Recovery of benzoic acid

样品编号	加标量/(g/kg)	加标后/(g/kg)	回收率/%
1	0.02	0.0184	92
2	0.02	0.0228	114
3	0.02	0.0287	91

表 2 山梨酸回收率
Table 2 Recovery of sorbic acid

样品编号	加标量/(g/kg)	加标后/(g/kg)	回收率/%
1	0.02	0.0187	94
2	0.02	0.0234	117
3	0.02	0.0266	98

2.2 差异加标法的结果与分析

2.2.1 加标量的优化

按照 1.4.4 节方法操作上机后,可得到试样在不同加标量下的色谱图。色谱图见图 3~6。

由图 3 可见,加入标准溶液的体积为 100 μL 时,试样花生牛奶复合蛋白饮料中,苯甲酸、山梨酸的保留时间分别为 3.120 min 和 4.047 min;峰面积分别为是 0.077 $\text{mAU}\cdot\text{min}$ 和 0.033 $\text{mAU}\cdot\text{min}$;峰高分别为 0.386 mAU 和 0.255 mAU 。由图 4 可见,加入标准溶液的体积为 200 μL 时,试样花生牛奶复合蛋白饮料中,苯甲酸、山梨酸的保留时间分别为 3.120 min 和 4.053 min;峰面积分别为 0.077 $\text{mAU}\cdot\text{min}$ 和 0.199 $\text{mAU}\cdot\text{min}$;峰高分别为 0.386 mAU 和 1.233 mAU 。

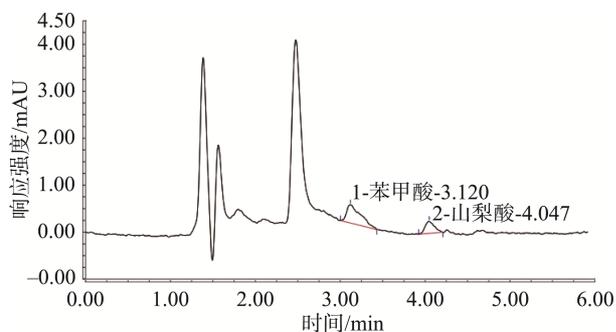


图 3 加入 100 μL 标液的试样谱图
Fig.3 Sample spectrum with 100 μL standard solution

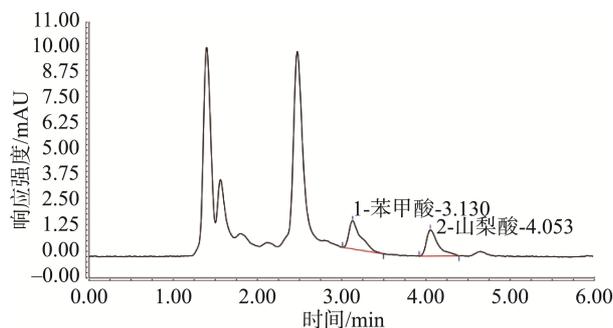


图 4 加入 200 μL 标液时的试样谱图
Fig.4 Sample spectrum with 200 μL standard solution

由图 5 可知,加入标准溶液的体积为 300 μL 时,试样花生牛奶复合蛋白饮料中,苯甲酸与山梨酸的保留时间分别为 3.123 min 和 4.040 min,峰面积分别为 0.367 $\text{mAU}\cdot\text{min}$ 和 0.297 $\text{mAU}\cdot\text{min}$,峰高分别为是 2.412 mAU 和 2.001 mAU 。

由图 6 可知,加入标准溶液的体积为 400 μL 时,试样花生牛奶复合蛋白饮料中,苯甲酸与山梨酸的保留时间分别为 3.127 min 和 4.040 min,峰面积分别为是 0.497 $\text{mAU}\cdot\text{min}$ 和 0.431 $\text{mAU}\cdot\text{min}$;峰高分别为 3.101 mAU 和 2.989 mAU 。

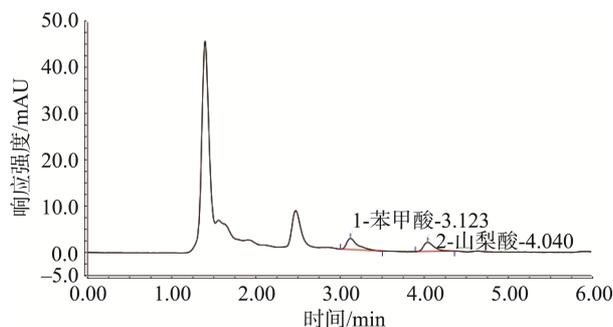


图 5 加入 300 μL 标液时的试样谱图
Fig.5 Sample spectrum with 300 μL standard solution

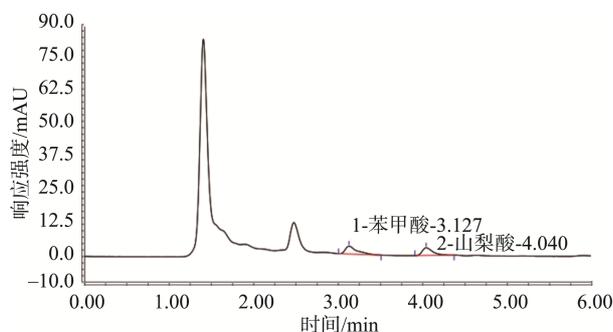


图 6 加入 400 μL 标液时的试样谱图
Fig.6 Sample spectrum with 400 μL standard solution

由图 3~6 可以发现, 当加入标准溶液的体积从 100 μL 到 400 μL 逐渐升高时, 试样色谱图中苯甲酸或山梨酸的峰高和峰面积的值也相对应的增加, 呈上升趋势, 即苯甲酸或山梨酸的含量也随加标体积的增加而增加。故可通过色谱图中峰高或者峰面积的信号强弱进行定量分析, 利用公式计算出试样中苯甲酸、山梨酸的含量。

根据 1.4.4 方法操作上机按照后, 公式计算试样中苯甲酸、山梨酸的含量, 检测结果见表 3。

由表 3 可得, 当 3、4 号管中加标量为 10 $\mu\text{g/g}$ 和 15 $\mu\text{g/g}$ 时, 所测得的试样中苯甲酸、山梨酸含量与其平均值最为接近。因此, 本研究选择的最佳差异加标量为添加 10、15 $\mu\text{g/g}$ 的 100 $\mu\text{g/mL}$ 标准溶液。

2.2.2 平行测定结果及精密度

由表 4~5 可得, 试样中苯甲酸的含量为: 11.8~27.6 $\mu\text{g/g}$, 测定的相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)不大于 12.6%($n=3$); 山梨酸的含量为 18.1~19.4 $\mu\text{g/g}$, 相对标准偏差(RSD)不大于 7.6%($n=3$), 满足检测要求。

2.2.3 加标回收率

准确称取约 2 g(精确至 0.001 g)试样, 用 100 mg/L 苯甲酸、山梨酸混合标准溶液进行加标回收率实验, 各加标质量浓度分别进行 3 次平行测定, 检测无疑后取平均值, 依据公式计算加标回收率, 加标回收率实验结果如表 6~7, 由表 6~7 可知, 试样中苯甲酸的加标回收率为 98%~111%, 山梨酸的加标回收率为 94%~113%, 符合检测要求。

表 3 加标体积的确定
Table 3 Determination of the spiked volume

样品	管号	加标量/ $(\mu\text{g/g})$	苯甲酸含量/ $(\mu\text{g/g})$	山梨酸含量/ $(\mu\text{g/g})$
	2、3	5、10	25.21	8.27
平均值	3、4	10、15	18.43	8.78
	4、5	15、20	10.21	17.9
	2、5	5、20	17.95	11.6

表 4 试样中苯甲酸的含量($n=3$)
Table 4 Content of benzoic acid in the sample ($n=3$)

试样编号	苯甲酸含量/ $(\mu\text{g/g})$	平均值/ $(\mu\text{g/g})$	标准偏差/ $(\mu\text{g/g})$	相对标准偏差/%
1	28.4, 29.5, 25.0	27.6	2.35	8.5
2	17.9, 16.8, 21.3	18.7	2.35	12.6
3	12.2, 12.9, 10.2	11.8	1.40	11.9

表 5 饮料中山梨酸的含量($n=3$)
Table 5 Content of sorbic acid in the sample ($n=3$)

试样编号	山梨酸含量/ $(\mu\text{g/g})$	平均值/ $(\mu\text{g/g})$	标准偏差/ $(\mu\text{g/g})$	相对标准偏差/%
1	17.4, 19.7, 17.2	18.1	1.38	7.6
2	18.7, 18.0, 19.7	18.8	0.85	4.5
3	18.0, 19.6, 20.7	19.4	1.36	7.0

表6 苯甲酸加标回收率测定($n=3$)
Table 6 Determination of standard recovery of benzoic acid ($n=3$)

试样编号	加标量/($\mu\text{g/g}$)	回收率/%
1	10.0	101
2	10.0	111
3	10.0	98

表7 山梨酸加标回收率测定($n=3$)
Table 7 Determination of standard recovery of sorbic acid ($n=3$)

试样编号	加标前/($\mu\text{g/g}$)	加标量/($\mu\text{g/g}$)	加标后测定值/($\mu\text{g/g}$)	回收率/%
1	10.4	10.0	19.5	94
2	10.2	10.0	21.4	113
3	10.1	10.0	20.2	101

2.2.4 检出限和定量限

按照仪器工作条件与设定的标准工作曲线,将100 $\mu\text{g/mL}$ 的苯甲酸、山梨酸的标准混合液连续测定11次,扣除背景矫正后,得到:苯甲酸的检出限为1.10 $\mu\text{g/mL}$,定量限为3.68 $\mu\text{g/mL}$;山梨酸的检出限为1.72 $\mu\text{g/mL}$,定量限为5.73 $\mu\text{g/mL}$,满足检测要求。

2.3 测定结果的对照

按1.4节方法与国标法(第一法 液相色谱法)所测得实验结果进行对照分析,以样品花生牛奶复合蛋白饮料为例,各进行3次平行测定,检测无疑后取平均值,其结果见表8。由表8可知,国标法第一法中:平行测定的苯甲酸的标准偏差为1.84 $\mu\text{g/g}$,相对标准偏差不大于10.8%;山梨酸的标准偏差为2.26 $\mu\text{g/g}$,相对标准偏差不大于14.8%。高效液相色谱法-差异加标法中:苯甲酸的标准偏差为2.35 $\mu\text{g/g}$,相对标准偏差不大于8.5%;山梨酸的标准偏差为1.38 $\mu\text{g/g}$,相对标准偏差不大于7.6%。

高效液相色谱法-差异加标法与国标法对照测定,试样测定结果进行经过 F 检验和 t 检验^[8],结果表明:2种方法的精密度不存在显著性差异,但在置信度为95%时,苯甲酸的测定有显著的系统误差,而山梨酸的测定则无明显的系统误差。可能是前处理或者别的干扰。

由回收率实验可得,国标法第一法的苯甲酸的回收率为91%~114%,差异加标法在98%~111%;山梨酸的回收率国标法为91%~117%,差异加标法为94%~113%。虽然2种方法回收率都在规定的范围之内,但高效液相色谱法-差异加标法的回收率相对于国标法第一法的回收率更加稳定、且都为高回收率。且差异加标法的相对标准偏差比国标法的小,故可推断,此次实验差异加标法的检测结果相对于更加准确、误差小。

3 结论与讨论

由以上实验数据可见,利用高效液相色谱法-差异加标法在最佳加标量为10、15 $\mu\text{g/g}$ 的条件下测得,饮料中的苯甲酸的含量为11.8~27.6 $\mu\text{g/g}$,山梨酸为4.52~7.62 $\mu\text{g/g}$;苯甲酸的回收率为98%~111%,山梨酸为94%~113%;苯甲酸的检出限为1.10 $\mu\text{g/mL}$,定量限为3.68 $\mu\text{g/mL}$;山梨酸的检出限为1.72 $\mu\text{g/mL}$,定量限为5.73 $\mu\text{g/mL}$ 。该法与国标法试样测定经 F 检验和 t 检验表明:2种方法的精密度不存在显著性差异。该法无需绘制标准曲线和测定空白值、成本低,简便快速,计算简单,工作效率得到很大地提高。为食品中山梨酸、苯甲酸的测定提供了一种新型的分析技术,有一定创新性和应用价值。

表 8 差异加标法与国标法测定蛋白饮料中苯甲酸山梨酸结果($n=3$)Table 8 Results of determination of sorbic acid benzoate in protein beverage by differential standard addition method and national standard method ($n=3$)

	国标第一法		HPLC 差异加标法	
	苯甲酸含量/($\mu\text{g/g}$)	山梨酸含量/($\mu\text{g/g}$)	苯甲酸含量/($\mu\text{g/g}$)	山梨酸物含量/($\mu\text{g/g}$)
平均值/($\mu\text{g/g}$)	17.1	15.3	27.6	18.1
标准偏差 S /($\mu\text{g/g}$)	1.84	2.26	2.35	1.38
相对标准偏差 RSD/%	10.8	14.8	8.5	7.6
方差 S^2	2.8	6.6	3.67	1.3
F 检验	苯甲酸: $F=1.727 < F_{表}=19.00$; 山梨酸: $F=5.077 < F_{表}=19.00$			
t 检验	苯甲酸: $t=6.99 > t_{表}=4.30$; 山梨酸: $t=2.48 < t_{表}=4.30$			

参考文献

- [1] 牟婧婧. 浅谈食品防腐剂在食品加工中的应用[J]. 食品安全导刊, 2018, (21): 48.
MOU JJ. Application of food preservative in food processing [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (21): 48.
- [2] 宋利军, 周鸿, 刘成伟, 等. 高效液相色谱法测定黄酒中苯甲酸, 山梨酸和糖精钠含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(8): 2922-2926.
LIU LJ, ZHOU H, LIU CW, *et al.* Determination of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium in rice wine by high performance liquid chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2017, 8(8): 2922-2926.
- [3] 黄惠华. 薄层色谱半定量法测定发酵食品及酒精饮料中的氨基甲酸乙酯[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(10): 3889-3894.
HUANG HH. Determination of ethyl carbamate in fermented foods and alcoholic beverages by semi-quantitative thin layer chromatography [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(10): 3889-3894.
- [4] 廖鹏. 高效液相色谱法测定碳酸饮料中苯甲酸和山梨酸的含量[J]. 浙江化工, 2018, 49(1): 44-46, 49.
LIAO P. Determination of benzoic acid and sorbic acid in carbonated drinks by HPLC [J]. Zhejiang Chem Ind, 2018, 49(1): 44-46, 49.
- [5] 郑晓楠, 白洁, 张丹, 等. HPLC 法测定 4 种市售碳酸饮料中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的含量[J]. 食品安全导刊, 2016, (15): 95.
ZHENG XN, BAI J, ZHANG D, *et al.* Determination of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium in four commercial carbonated beverages by HPLC [J]. Chin Food Saf Magaz, 2016, (15): 95.
- [6] 牛娜. 食品防腐剂检验检测技术的研究现状及进展[J]. 食品安全导刊, 2018, (34): 68-70.
NIU N. Research status and progress of detection technology for food preservatives [J]. Chin Food Saf Magaz, 2018, (34): 68-70.
- [7] 牟钰, 徐睿德. 食品添加剂检测技术探讨[J]. 现代食品, 2017, (20): 63-65.
MOU Y, XU RS. Discussion on detection technology of food additives [J]. Mod Food, 2017, (20): 63-65.
- [8] 杨晓燕, 张伟, 刘玉莲, 等. 高效液相色谱法测定饮料中的苯甲酸, 糖精钠, 山梨酸[J]. 山东化工, 2011, 40(3): 64-66.
YANG XY, ZHANG W, LIU YL, *et al.* Determination of benzoic acid, saccharin sodium and sorbic acid in beverages by HPLC [J]. Shandong Chem Ind, 2011, 40(3): 64-66.
- [9] 高向阳, 张娜, 郭楠楠, 等. 分子荧光差异加标法快速测定蛋黄中的 VB₂ 的含量[J]. 食品科学, 2017, 38(20): 318-321.
GAO XY, ZHANG N, GUO NN, *et al.* Rapid determination of VB₂ in egg yolk by molecular fluorescence differential addition method [J]. Food Sci, 2017, 38(20): 318-321.
- [10] 袁世青. HPLC 差异加标法同时快速测定食品中的苯甲酸, 山梨酸和糖精钠[D]. 郑州: 郑州科技学院, 2019.
YUAN SQ. Simultaneous determination of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium in food by HPLC with differential addition method [D]. Zhengzhou: Zhengzhou University of Science and Technology, 2019.
- [11] GB 5009.28—2016 食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定[S].
GB 5009.28—2016 National food safety standard-Determination of benzoic acid, sorbic acid and saccharin sodium in foods [S].
- [12] 高向阳. 现代食品分析(第二版)[M]. 北京: 科学出版社, 2018.
GAO XY. Modern food analysis (second edition) [M]. Beijing: Science Press, 2018.
- [13] QI P, HONG H, LIANG XY, *et al.* Assessment of benzoic acid levels in milk in China [J]. Food Control, 2008, 20(4): 414-418.
- [14] FAN YR, HUANG Y, ZHANG X. Determination of benzoic acid and

sorbic acid in sauce by HPLC-MS [Z]. IEEE, 2011, DOI: 10.1109/RSETE.2011.5964717

- [15] ABDERRAHMANE T, YOUCEF A, PILAR A, *et al.* Simultaneous extraction and analysis of preservatives and artificial sweeteners in juices by salting out liquid-liquid extraction method prior to ultra-high performance liquid chromatography [J]. Food Chem, 2019, 277: 586–594.

(责任编辑: 于梦娇)

作者简介

游新侠, 副教授, 主要研究方向为食品安全卫生检测及保藏。

E-mail: youxin_8301@126.com