高效液相色谱法检测液态奶中苯甲酸、山梨酸含量的优化研究

杜晓萌，曹文燕*，王美娜，翟　婧，侯晓锋，周田军，马建军

保定蒙牛饮料有限公司，河北省乳品智能化检测技术重点实验室，河北保定 072450

摘　要：[目的]通过优化《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》中第一法液相色谱法，检测液态奶中苯甲酸、山梨酸含量，验证优化方法的提取效果。[方法]通过监控回收率检测、精密度检测、重复性检测的方式对此优化方法进行适用性验证，积累数据。[结果]优化后的方法提取效果更高，精密度符合要求，回收率更接近真实值。[结论]优化方法对苯甲酸、山梨酸的提取更充分，可辅助用于日常复杂基质样品的检测。

关键词：优化方法；提取效果；回收率；标准曲线；分离度

文章编号：1671–4393（2025）07–0126–05　　DOI:10.12377/1671–4393.25.07.21

0 引言

乳制品是日常生活中重要的营养食品。当前，乳制品已成为日常饮食的一部分，且深受消费者喜爱，其质量与消费者身体健康直接相关。食品添加剂，在现代食品工业中几乎无处不在。从预制菜的防腐剂疑云，到“3·15”晚会上曝光的磷酸盐含量超标145%的“保水虾仁”，食品添加剂的滥用问题，已成为老百姓餐桌上挥之不去的隐忧[1]。因此，寻找准确、快捷、经济、环保的检测技术是保障食品安全的必要手段。

苯甲酸、山梨酸是常见的食品添加剂，合理使用可防腐保鲜。但若滥用或过量使用，将对人体健康造成一定危害[2]。我国政府有关部门在乳制品制造业中对食品添加剂使用量作出明确规定，但是实际执行情况尚未可知，因此检测液态奶中苯甲酸等

基金项目：河北省乳品智能化检测技术重点实验室项目（SZQ2020018）

作者简介：杜晓萌（1989–），女，河北保定人，本科，食品药品中级工程师，研究方向为食品检验检测；
王美娜（1984–），女，河北保定人，本科，食品药品中级工程师，研究方向为食品检验检测；
翟　婧（1993–），女，河北保定人，本科，食品药品中级工程师，研究方向为食品检验检测；
侯晓锋（1987–），男，河北张家口人，本科，研究方向为食品质量与安全、食品检测和追溯系统；
周田军（1983–），男，河北保定人，本科，研究方向为食品质量与安全、食品检验检测；
马建军（1984–），男，内蒙古呼和浩特人，本科，研究方向为行政管理。
*通信作者：曹文燕（1987–），女，山东济南人，本科，食品药品高级工程师，研究方向为食品质量与安全、食品检测和追溯系统。

中国乳业线上阅读

食品添加剂含量有现实意义[3]。本研究通过优化前处理方法，更充分地提取液态奶中苯甲酸、山梨酸含量，并验证方法适用性、分离度、检出限、定量限、加标回收率等均能够满足《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》[4]与《GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范 食品理化检测》[5]检测要求。

1 试验材料、仪器设备与上机条件

1.1 试验材料

甲醇、色谱纯、北京汇海科仪科技有限公司；乙酸铵，色谱纯，福晨（天津）化学试剂有限公司；亚铁氰化钾、乙酸锌，分析纯，福晨（天津）化学试剂有限公司；苯甲酸标准品，CAS 65-85-0 标准值1.00 mg/mL；山梨酸标准品，CAS 65-85-0 标准值1.00 mg/mL；微孔滤膜，0.22 μm，水系；塑料离心管，50 mL。

1.2 仪器设备

高效液相色谱仪（戴安U3000）：配有紫外检测器，赛默飞世尔（上海）仪器有限公司；电子天平，AL204，梅特勒-托利多仪器（上海）有限公司；超声波清洗机，宁波新芝生物科技股份有限公司；旋涡混合器，MS3 basic，德国IKA集团；高速冷冻离心机，上海力申科学仪器有限公司。

1.3 上机条件

色谱柱：C18，4.6mm×250 mm；流动相：乙酸铵，甲醇；流速：1.0 mL/min；柱温：35 ℃；波长：230 nm；进样量：10 μL。

2 检测方法

2.1 标准曲线的绘制

2.1.1 苯甲酸、山梨酸标准储备液

1.0 mg/mL标准储备溶液，购于中国计量科学研究院。

2.1.2 苯甲酸、山梨酸混合标准工作曲线的绘制

用一级水将苯甲酸、山梨酸标准储备溶液配制成100 mg/L混合标准中间液。分别准确吸取混合标准中间液配制成浓度为0.5、1.0、1.5、2、2.5、3、4 μg/mL标准工作液。将不同浓度的标准工作溶液分别注入液相色谱仪，测定相应峰面积，以混合标准工作液的质量浓度为横坐标，以峰面积为纵坐标，绘制标准工作曲线。

2.2 优化内容

优化方法对针对GB 5009.28—2016中称样量未做改变，仅在样品前处理步骤进行优化（表1）。

2.3 液态奶试样前处理效果对比

如表2所示，用优化方法前处理的离心液比GB 5009.28—2016中方法处理的离心液更澄清。合并两次离心液至50 mL容量瓶定容，GB 5009.28—2016中方法需静置一段时间，沉淀残留脂肪和蛋白溶液，而优化方法处理的定容样品更澄清，可直接吸取溶液上机操作。由此可缩短检测时间并减少上机液中

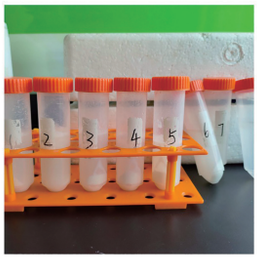
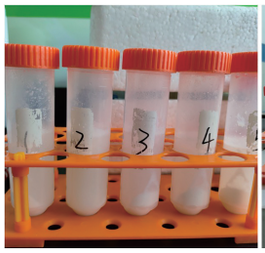
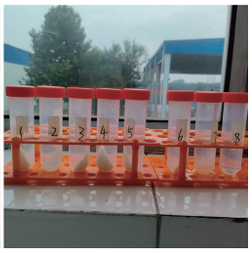
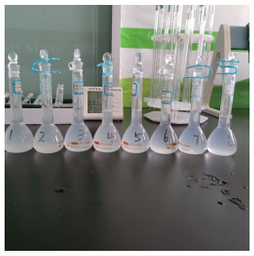
表 1 两种不同方法的前处理步骤对比

处理步骤	GB 5009.28—2016 中方法	优化方法
称量及沉淀	准确称取 2 g（精确至 0.001 g）试样于 50 mL 具塞塑料离心管中	
样品提取	加 25 mL 水，涡旋混匀，50 ℃水浴超声 20 min，冷却至室温后加 2 mL 亚铁氰化钾和 2 mL 乙酸锌，混匀，8 000 r/min 离心 5 min，将水相转移至 50 mL 容量瓶中，残渣中加水 20 mL，涡旋混匀后超声 5 min，8 000 r/min 离心 5 min，将水相转移至同一 50 mL 容量瓶中，并用水定容至刻度，混匀。取适量上清液过 0.22 μm 滤膜，待液相色谱测定。	加 25 mL 甲醇，涡旋混匀，50 ℃水浴超声 20 min，冷却至室温后加亚铁氰化钾和 2 mL 乙酸锌 2 mL，混匀，8 000 r/min 离心 5 min，将有机相转移至 50 mL 容量瓶中，残渣中加甲醇 20 mL，涡旋混匀后超声 5 min，8 000 r/min 离心 5 min，将有机相转移至同一 50 mL 容量瓶中，并用甲醇定容至刻度，混匀。取适量上清液过 0.22 μm 滤膜，待液相色谱测定。

中国乳业线上阅读

的杂质，延长色谱柱使用寿命。

表 2 不同方法前处理试样效果对比情况

对比环节	GB 5009.28—2016 中方法	优化方法
第一次离心		
第二次离心		
定容		

3 结果分析

3.1 检测结果

使用不同类型液态奶配制浓度为5 mg/kg、10 mg/kg的阳性试样。外标法定量后得到相应检测结果及批间标准偏差[6]。优化后检测结果精密度符合10%要求（表3、表4）。

3.2 回收率

通过分别计算液态奶中苯甲酸和山梨酸含量检出限与定量限回收率，GB 5009.28—2016中方法与优化方法所得结果均在90%～110%范围内，符合 GB 5009.28—2016 与GB/T27404—2008中要求。优化方法所得回收率显著提升，尤其在复杂基质的调制乳和含乳饮料中提取苯甲酸、山梨酸更为充分。数据统计见图1~4。

3.3 标准工作曲线线性

建立苯甲酸、山梨酸混合标准工作曲线，相关系数为苯甲酸0.998 734，山梨酸0.999 016；此曲线相关

表 3 不同方法检测液态奶中苯甲酸含量结果

液态奶试样	GB 5009.28—2016 中方法			优化方法		
	检出限 5 mg/kg	定量限 10 mg/kg	标准偏差（%）	检出限 5 mg/kg	定量限 10 mg/kg	标准偏差（%）
生乳	5.02/5.06	10.20/10.20	0.79/0.00	5.27/5.34	10.20/9.28	1.32/9.45
灭菌乳	5.12/5.08	9.99/10.00	0.78/0.10	5.31/5.34	10.80/10.80	0.56/0.00
调制乳	5.09/5.02	9.28/9.32	1.38/0.43	5.23/5.22	10.70/10.60	0.19/0.94
发酵乳	4.57/4.61	10.50/10.80	0.87/2.82	5.44/5.39	10.88/10.56	0.92/2.99
含乳饮料	4.99/4.98	9.87/10.10	0.20/2.30	5.28/5.16	10.60/10.70	2.30/0.94

表 4 不同方法检测液态奶中山梨酸含量结果

液态奶试样	GB 5009.28—2016 中方法			优化方法		
	检出限 5 mg/kg	定量限 10 mg/kg	标准偏差（%）	检出限 5 mg/kg	定量限 10 mg/kg	标准偏差（%）
生乳	4.92/4.88	9.73/9.69	0.82/0.41	5.46/5.49	9.54/10.20	0.55/6.69
灭菌乳	4.65/4.57	9.18/9.27	1.74/0.98	5.23/5.03	10.70/9.82	3.90/8.58
调制乳	4.61/4.72	9.11/9.17	2.36/0.66	5.12/5.42	10.21/10.73	5.69/4.97
发酵乳	4.67/5.01	9.09/9.12	7.02/0.33	5.44/5.44	10.46/10.49	0.00/0.29
含乳饮料	4.69/4.64	9.11/9.20	1.07/0.98	5.18/5.26	10.37/10.44	1.53/0.67

中国乳业在线阅读

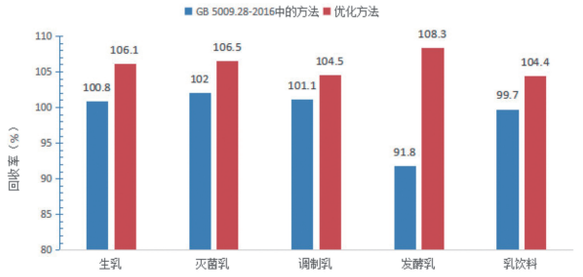


图 1 不同方法检测液态奶中苯甲酸含量检出限回收率对比情况

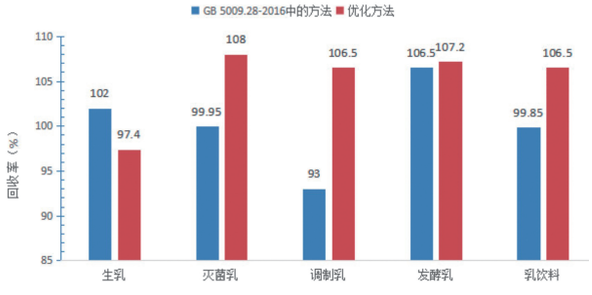


图 2 不同方法检测液态奶中苯甲酸含量定量限回收率对比情况

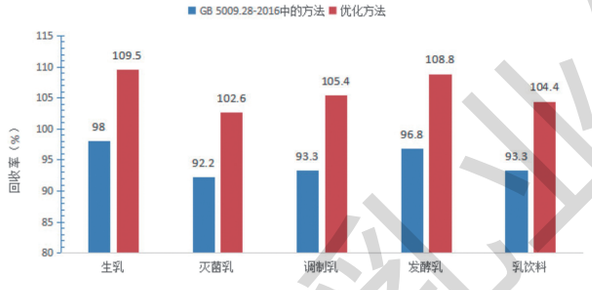


图 3 不同方法检测液态奶中山梨酸含量检出限回收率对比情况

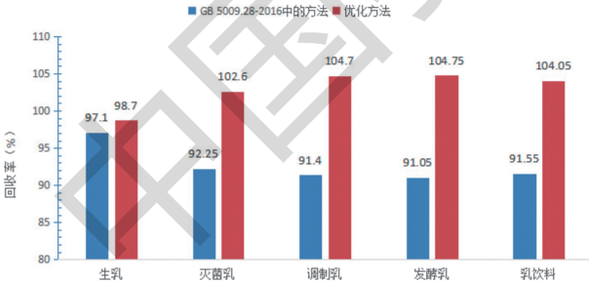
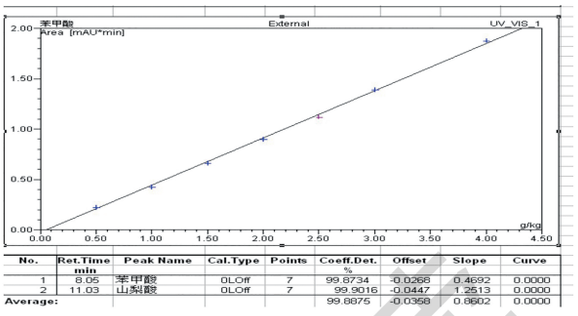


图 4 不同方法检测液态奶中山梨酸含量定量限回收率对比情况

系数符合≥0.99的要求[7]，可投入使用（图5）。

3.4 分离度与不对称因子

使用优化方法进行不同种类样品检测，检测目标峰分离度[8]与不对称因子[9]参数如表5所示.



No.	Ret.Time min	Peak Name	Cal.Type	Points	Coeff.Det. %	Offset	Slope	Curve
1	8.05	苯甲酸	OLOff	7	99.8734	-0.0268	0.4692	0.0000
2	11.03	山梨酸	OLOff	7	99.9016	-0.0447	1.2513	0.0000
Average:					99.8875	-0.0358	0.8602	0.0000

图 5 苯甲酸、山梨酸混合标准工作曲线

表 5 分离度

检测项目	分离度	标准
苯甲酸	7.61 ~ 9.07	≥ 1.50
山梨酸	4.21 ~ 5.26	

表 6 不对称因子

加标点	苯甲酸不对称因子	山梨酸不对称因子	《JJG 705–2014 液相色谱仪》[10] 中方法要求
5	1.09 ~ 1.40	1.12 ~ 1.37	0.80 ~ 1.60
10	1.15 ~ 1.41	1.21 ~ 1.45	

优化方法检测目标峰图谱分离度与不对称因子均符合JJG 705—2014中方法要求，基线平稳，目标

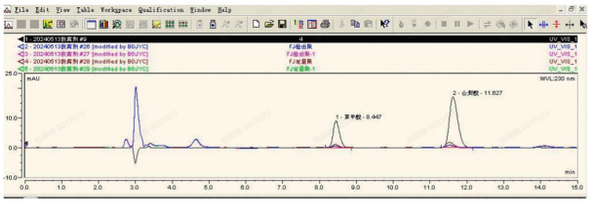


图 6 发酵乳产品检出限、定量限检测图谱

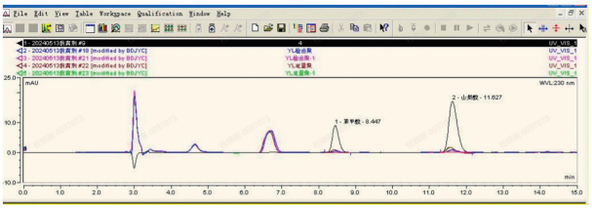


图 7 乳饮料产品检出限、定量限检测图谱

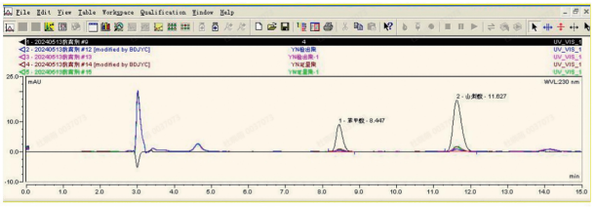


图 8 生乳产品检出限、定量限检测图谱

中国乳业线上阅读

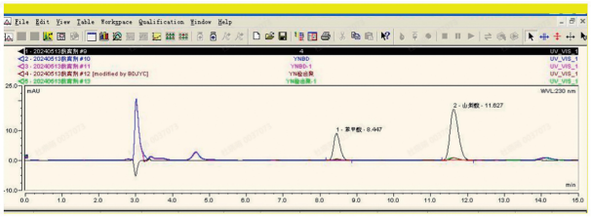


图 9 灭菌乳产品检出限、定量限检测图谱

峰重复性良好，符合结果出具条件，目标峰附近无杂峰干扰判定（图6~9）。

4 结论

本研究对优化高效液相色谱法在检测液态奶中苯甲酸、山梨酸含量的效果进行数据验证，通过对比离心提取效果、精密度、回收率、目标峰的分离度、不对称因子证实优化方法的可行性。优化方法能更好地提取苯甲酸、山梨酸物质，而且试样上机检测重复性与峰形良好，符合JJG 705—2014中关于色谱柱性能的要求。同时对于复杂基质样品适用性更好。在日常检测过程中，可辅助用于样品的检测，更准确、更高效地确定目标物质含量，达到精准检测目的。

参考文献

[1] 央视网，从农田到餐桌：全链条治理食品添加剂，守护舌尖上的安全[EB/OL].https://nems.cctv.cn/2025/05/11/ART13mo1rrka6gcULjvqxjPd20250511.shtml，2025-5-11.

[2] 卢建华，吕建民，武兰英，等.乳制品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠含量的调查[J].中国卫生监督杂志，2002，9（5）：287-288.

[3] 潘慧芳.乳制品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠含量的测定[J].食品安全导刊，2017（7X）：67

[4] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会，国家食品药品监督管理总局.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].

[5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局，中国国家标准化管理委员会. GB/T27404-2008.实验室质量控制规范 食品理化检验[S].

[6] 陈同强，曾湘媚，李灿，等.高效液相色谱法检测白酒中非法添加头痛粉[J].中国酿造，2019，38（12）：179-182.

[7] 冯灏，姚晓帆，胡家勇，等.标准加入法和标准曲线法测定奶粉中锰的比较研究[J].中国乳品工业，2021（2）：42-46.

[8] 马渊，李妍静，王惠丽，等.高效液相色谱法测定车内空气中14 种醛酮类化合物[J].化学分析计量，2022，31（4）：50-54.

[9] 唐意红，朱道乾，关亚风.不锈钢宽口径填充毛细管液相色谱柱的制备及评价[J].分析化学，2001，29（10）：1228-1232.

[10] 国家质量监督检验检疫总局. JJG 705-2014液相色谱仪[S].

Optimization Study on the Detection of Benzoic Acid and Sorbic Acid in Liquid Milk by High Performance Liquid Chromatography

DU Xiaomeng，CAO Wenyan*，WANG Meina，ZHAI Jing，HOU Xiaofeng，ZHOU Tianjun，MA Jianjun

Baoding Mengniu Beverage Co.，Ltd.，Hebei Province Key Laboratory of Intelligent Testing Technology for Dairy Products，Baoding Hebei 072450

Abstract：[Objective]The contents of benzoic acid and sorbic acid in liquid milk were determined by optimizing the liquid chromatography method in the first step of “GB 5009.28-2016 National Food Safety Standard - Determination of Benzoic Acid, Sorbic Acid and Sodium Saccharin in Foods”，and the extraction effect of the optimized method was verified.[Method]The applicability of this optimized method was verified by monitoring the recovery rate detection，precision detection and repeatability detection，and the data was accumulated.[Result]The optimized method had a higher extraction effect，the precision meets the requirements，and the recovery rate was closer to the true value.[Conclusion]The optimized method was more adequate for the extraction of benzoic acid and sorbic acid.It could be used as anauxiliary in the daily detection of complex matrix samples.

Keywords：optimized method；extraction effect；recovery rate；standard curve；resolution

中国乳业编辑部录用