

· 论著 · 胃肠腹腔 ·

高效液相色谱法同时测定学生餐中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸优化研究

轩 辉* 程 敏 田军杰

商丘市疾病预防控制中心理化检验科(河南 商丘 476000)

【摘要】目的 建立并优化一种高效液相色谱方法,用于同时测定学生餐中山梨酸、苯甲酸和脱氢乙酸含量,并评估其在实际监测中的应用效果。**方法** 采用C18色谱柱,以甲醇-0.1%冰醋酸水溶液为流动相,配合二极管阵列检测器(PDA),分别在 226、254、290nm 波长下检测苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸。考察方法的线性关系、检出限及加标回收率,并对100份来自小学和初中学校的学生餐样品进行实际测定。**结果** 三种防腐剂在1~200 $\mu\text{g/mL}$ 范围内均具有良好的线性关系($r \geq 0.999$),方法检出限均低于0.006g/kg。不同食品基质的加标回收率为 94.0%~98.0%,方法准确度良好。对100份学生餐样品的检测结果显示,苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸均低于方法检出限,未发现违规添加或超量使用防腐剂的情况。**结论** 本研究建立的高效液相色谱方法分离效果好、灵敏度高、准确可靠,适用于学生餐中三种常见防腐剂的日常监测,可为学校食品安全监管提供科学依据。

【关键词】 高效液相色谱; 苯甲酸; 山梨酸; 脱氢乙酸; 学生餐**【中图分类号】** R284.1**【文献标识码】** A**DOI:**10.3969/j.issn.1009-3257.2026.6.048

Optimization Study on the Simultaneous Determination of Sorbic Acid, Benzoic Acid and Dehydroacetic Acid in Student Meals by High Performance Liquid Chromatography

XUAN Hui*, CHENG Min, TIAN Jun-jie.

Department of Physical and Chemical Inspection, Shangqiu Center for Disease Control and Prevention, Shangqiu 476000, Henan Province, China

Abstract: Objective To establish and optimize a high-performance liquid chromatography (HPLC) method for the simultaneous determination of sorbic acid, benzoic acid, and dehydroacetic acid in school meals, and to evaluate its application effect in practical monitoring. **Methods** A C18 column was used with a mobile phase consisting of methanol and 0.1% acetic acid aqueous solution, combined with a diode array detector (PDA). The detection wavelengths were set at 226 nm for benzoic acid, 254 nm for sorbic acid, and 290 nm for dehydroacetic acid. The method's linearity, detection limits, and spiked recovery rates were investigated. Furthermore, 80 school meal samples from elementary and middle schools were analyzed for the actual measurement of these preservatives. **Results** The three preservatives exhibited good linearity within the range of 1~200 $\mu\text{g/mL}$ ($r \geq 0.999$), and the detection limits for all preservatives were below 0.006g/kg. The recovery rates for spiked samples in different food matrices ranged from 94.0% to 98.0%, demonstrating good accuracy of the method. The results from testing the 100 school meal samples showed that the levels of benzoic acid, sorbic acid, and dehydroacetic acid were all below the detection limit, and no illegal addition or excessive use of preservatives was found. **Conclusion** The HPLC method established in this study provides good separation, high sensitivity, and reliable accuracy. It is suitable for the routine monitoring of these three common preservatives in school meals and can provide scientific evidence for food safety supervision in schools.

Keywords: High-Performance Liquid Chromatography; Benzoic Acid; Sorbic Acid; Dehydroacetic Acid; School Meals

随着学校供餐模式的不断发展,学生餐已成为中小学生学习日常能量和营养摄入的重要来源,其安全性直接关系到青少年健康水平^[1]。为了延长食品货架期、抑制微生物生长,食品生产与加工过程中常常会使用一定量的防腐剂。苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸是《食品添加剂使用标准》(GB 2760-2024)中规定的常用防腐剂,广泛应用于糕点、调味品、酱腌菜及肉类食品中^[2]。三者在规定剂量下较为安全,但过量摄入可能影响肝脏代谢、胃肠道功能及微生态环境,甚至引发过敏反应,儿童群体对此类物质的耐受性更低^[3]。因此,建立一种适用于复杂餐食基质的高效检测方法,对学生餐的风险监测具有实际意义。高效液相色谱法具有分离效率高、灵敏度好、重现性优良等优势,是食品添加剂检测中应用最广泛的方法之一^[4]。尽管近年来已有文献报道了食品中多种防腐剂的高效液相色谱法测定方法,但部分研究多针对单一食品类型,或样品前处理步骤较

为复杂,难以适用于学生餐“种类繁多、基质复杂”的特点^[5-6]。因此,有必要开发一种兼具前处理简便性和检测灵敏度的HPLC方法,用于学生餐中常见防腐剂的快速测定。基于上述背景,本研究以苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸为目标物,优化流动相比例、检测波长和前处理步骤,建立一种适用于多类学生餐基质的HPLC同时测定方法。通过方法学验证及对100份实际学生餐样品的检测,评价该方法的准确度、灵敏度及实用性,为学校食品安全监测及防腐剂风险评估提供可靠依据。

1 资料与方法

1.1 仪器与试剂 采用高效液相色谱仪(日本岛津公司, LC-20A)配二极管阵列检测器(PDA)、1/千电子分析天平(德国赛多利斯, BT 223 S)、涡旋振荡器、超声清洗器、低温高速离心机(德国赛多利斯, D-16C, 10000r/min)。色谱柱采用

【第一作者】轩 辉,男,主管技师,主要研究方向:理化检验检测技术。E-mail: SQJK0370@163.com

【通讯作者】轩 辉

InertSustainC18柱(250mm×4.6mm, 5μm)。标准品包括苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸(纯度≥99%)。甲醇、乙腈为色谱纯,冰醋酸、氢氧化钠、乙酸锌为分析纯。实验用水为GB/T 6682-2008一级水。

1.2 方法

1.2.1 色谱条件 色谱柱: InertSustainC₁₈柱(250mm×4.6mm, 5μm); 流动相: 甲醇-0.1%冰醋酸水溶液(v:v=50:50); 柱温: 30℃; 流速: 1.0mL/min; 检测波长: 苯甲酸226nm, 山梨酸254nm, 脱氢乙酸290nm(按其最大吸收峰); 进样量: 10μL。采用外标法定量分析。

1.2.2 标准溶液的制备 分别精密称取苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸标准品,以甲醇配制成各1000μg/mL的储备液。取适量标准储备液配成混合中间液,再稀释制备浓度为1μg/mL、5μg/mL、10μg/mL、20μg/mL、50μg/mL、100μg/mL、200μg/mL的系列混合标准溶液。

1.2.3 样品来源与采集 本研究按照学生餐安全监测方案,从全市10所学校采集学生午餐样品,城市与农村学校比例为1:1,涵盖小学与初中。每所学校连续采集5日午餐,每日采集1套完整学生餐(包括主食、菜肴、汤品、甜点、水果等)。采样后对各组成部分分别称量、拍照,并立即送实验室检测。本次共获得学生餐样品100份,其中检测指标包括三种防腐剂(苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸)。

1.2.4 样品前处理 (1)含蛋白食品(如禽肉类、牛羊肉类、蛋类制品)为避免蛋白影响过滤及色谱分离,对含蛋白样品采用碱化—金属盐沉淀方式去除蛋白。操作如下:精密称取样品2.5g(固体样品需充分混匀);加入1mL-0.5mol/L NaOH溶液碱化,使苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸全部呈离子态;加入2mL甲醇,轻微振荡;再加入2 mL-0.4mol/L 乙酸锌溶液及 1~2mL NaOH溶液,使蛋白沉淀;剧烈振荡5min;超声处理 20min;定容至50mL,10000r/min离心5min;取上清液经0.22μm水相滤膜过滤,供高效液相色谱分析。

(2)不含蛋白食品(如米饭、蔬菜、水果、部分汤品)精密称取2.5g样品;加入适量水,振荡混合5min,超声处理20min,定容至50mL; 10000r/min 离心5min;取上清液经0.22μm水相滤膜过滤,供高效液相色谱分析。

1.3 方法学验证 为保证所建立高效液相色谱方法的可靠性,按照食品中防腐剂测定的相关技术要求,对方法进行了必要的验证。主要考察内容包括:(1)线性关系:分别配制不同浓度的三种防腐剂混合标准溶液,在1~200μg/mL 范围内进样测定,建立标准曲线并评价线性;(2)方法检出限(MDL):依据3倍信噪比原则计算各组分的检出限,用于评价方法的灵敏度;(3)准确度:选择学生餐中具有代表性的主食类、荤菜类和蔬菜类基质进行加标回收实验,考察前处理与测定过程的准确性和基质适用性。

2 结 果

2.1 色谱分离效果及紫外吸收特征 在优化的色谱条件下,苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸在C18色谱柱上均得到良好分离,峰形对称、分离度满足定量分析要求,基线平稳,无明显干扰峰。三种标准品混合溶液的色谱图见图1。

利用PDA对200~800nm 全波段进行扫描,各化合物在其特征波长处均表现出明显吸收峰,其中苯甲酸在约226nm 处、山梨酸在约254nm 处、脱氢乙酸在约290nm 处吸收最强,适合作为检测波长。三种物质的紫外吸收光谱见图2。

2.2 标准曲线及检测限 将不同质量浓度(1~200μg/mL)的三种防腐剂混合标准溶液按色谱条件进样测定,以质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标进行线性回归分析。结果显示,苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸在考察范围内均具有良好的线性关系,各组分的相关系数(r)均≥0.999,说明该方法在线性范围内具有较好的定量能力。依据3倍信噪比(S/N=3)原则计算方法检出限(LOD),三种防腐剂的 LOD 均低于0.006g/kg,能够满足学生餐中微量防腐剂监测的灵敏度要求。三种防腐剂的线性范围、回归方程、相关系数及方法检出限见表1。

2.3 样品前处理效果 本研究分别针对含蛋白和不含蛋白两类学生餐基质,采用碱化—金属盐共沉淀去蛋白法以及直接提取法进行前处理。处理后样品溶液均呈澄清透明状态,通过0.45μm 微孔滤膜时未出现堵塞现象;色谱基线平稳,无明显基质干扰峰,色谱信噪比较未处理样品显著改善。与未经过处理或仅简单稀释的样品相比,经该前处理流程处理后的空白色谱图显著更干净,杂峰减少,能够有效降低复杂基质对检测灵敏度的影响,为三种防腐剂在学生餐中的痕量分析提供了可靠的基质条件。

2.4 样品测定结果 本方法应用于2024至2025年期间共100份学生餐样品的实际监测,样品来源涵盖小学与初中学校的主食、荤菜、蔬菜类、汤类及水果等多种食品类型。结果显示,所有样品中苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸的测定结果均低于方法检出限(<0.006g/kg),未检出超范围或超限量使用防腐剂的情况。代表性样品的色谱图如图3所示,基线稳定,无目标化合物的特征色谱峰。

本次监测结果提示,所采集学校供餐食品中三种防腐剂均未发现不规范添加或非法使用的现象,整体食品安全状况良好。

2.5 准确度试验 分别选择3种常见学生餐空白基质(主食类、荤菜类、蔬菜类),在每种基质中加入苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸标准溶液,使加标后溶液中三种防腐剂的浓度均为50μg/mL。按样品前处理方法进行处理后,按照仪器设定条件进行测定。结果显示,三种防腐剂在不同基质中的加标回收率均较理想,回收率范围为95%~98%,表明本方法具有良好的准确度(见表2)。

表1 三种防腐剂的线性范围、回归方程、相关系数和方法检出限

组分	线性范围(μg/mL)	回归方程	相关系数r	方法检出限(g/kg)
苯甲酸	1~200	y=10235x-18420	0.9996	0.0052
山梨酸	1~200	y=9518x-16680	0.9994	0.0055
脱氢乙酸	1~200	y=11287x-19340	0.9997	0.0048

表2 空白样品加标回收率

组分	样品本底值($\mu\text{g/mL}$)			样品加入量($\mu\text{g/mL}$)			样品测得值($\mu\text{g/mL}$)			回收率(%)		
	主食类	荤菜类	蔬菜类	主食类	荤菜类	蔬菜类	主食类	荤菜类	蔬菜类	主食类	荤菜类	蔬菜类
苯甲酸	0	0	0	50	50	50	48.2	48.9	49.0	96.4	97.8	98.0
山梨酸	0	0	0	50	50	50	47.0	47.8	48.1	94.0	95.6	96.2
脱氢乙酸	0	0	0	50	50	50	48.0	48.5	48.7	96.0	97.0	97.4

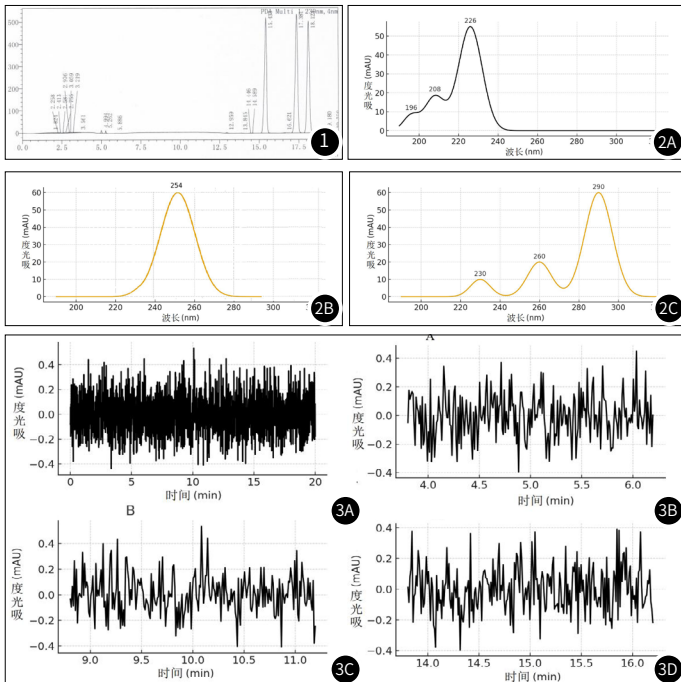


图1 三种防腐剂混合标准溶液的色谱图。图2 图2A~图2B: 苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸的紫外吸收光谱。图3 代表性学生餐样品色谱图(苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸均未检出)。图3B: 苯甲酸; 图3C: 山梨酸; 图3D: 脱氢乙酸。

3 讨论

本研究建立了以 C_{18} 色谱柱为分离系统、PDA为检测器的高效液相色谱方法,用于学生餐中苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸的同时测定。通过对色谱条件、样品前处理流程及方法学验证进行系统优化,本方法在复杂的学生餐基质中仍能保持良好的分离效率、检测灵敏度和定量准确度,具有较高的实用价值。在分离条件方面,采用甲醇-0.1%冰醋酸水溶液作为流动相,可有效改善峰形,提高三种防腐剂的分离度;同时,利用PDA确定特征吸收波长,使检测具有更高的选择性^[7]。结果表明,苯甲酸(226nm)、山梨酸(254nm)和脱氢乙酸(290nm)在其特征吸收波长下均呈现良好的响应,符合单一波长定量检测的要求^[8]。同时,本研究建立的前处理流程能有效克服学生餐复杂基质的干扰。学生餐样品中蛋白质、脂肪、淀粉等含量差异较大,若处理不当,容易导致滤膜堵塞、色谱基线漂移或假阳性干扰^[9]。本研究采用碱化-金属盐沉淀法处理含蛋白基质,对不含蛋白基质采用稀释-超声提取

方式,均能获得清晰透明的样品溶液。前处理结果显示,处理后色谱基线稳定,杂峰显著减少,说明该方法适用于多类型食物基质,为防腐剂的准确定量提供保障^[10]。方法学验证进一步证明了本方法的可靠性。三种防腐剂在1~200 $\mu\text{g/mL}$ 范围内均呈现良好的线性,相关系数 $r \geq 0.999$;检出限低于0.006g/kg,可满足学生餐“低添加”甚至“未添加”水平的监测要求^[11]。加标回收实验的回收率为94.0%~98.0%,RSD%均在允许范围以内,表明本方法具有良好的准确度和重复性,适合在大批量监测任务中使用。

综上所述,本方法具备操作简便、灵敏度高、分离效果好等优势,适用于学生餐食品中苯甲酸、山梨酸及脱氢乙酸的常规监测。本研究不仅为学校食品安全监管提供了科学依据,也为后续建立更全面的食品添加剂监测体系提供了技术支持。

参考文献

- [1] 曹岩. 高中寄宿制学校食品安全管理的实践路径[J]. 甘肃教育, 2024, (14): 45-48.
- [2] 食品安全国家标准食品添加剂使用标准: GB 2760-2024[S]. 中国标准出版社, 2024.
- [3] 高小云, 李林. 气相色谱法测定食品中苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸含量[J]. 食品安全导刊, 2024, (25): 72-74, 78.
- [4] 张悦, 边文文, 徐瑶. 气相色谱法测定酱油和食醋中对羟基苯甲酸酯的方法优化[J]. 农产品加工, 2025, (6): 60-63, 69.
- [5] 冯竟, 杨飞, 龚羽婷, 等. 直接浸入式固相微萃取-气相色谱法同时测定调味品中的山梨酸、苯甲酸和脱氢乙酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(15): 249-254.
- [6] 李灿, 李政, 康绍英, 等. 气相色谱法测定粮食加工品中脱氢乙酸的含量[J]. 食品安全导刊, 2024, (2): 98-102.
- [7] 陶汝青, 廖洁明. 离子色谱法在饮用水和食品检测中的应用[J]. 粮食与食品工业, 2023, 30(6): 71-74.
- [8] 李健华, 黄锦波. 气相色谱法同时测定日化工业废水中16种防腐剂[J]. 化学分析计量, 2023, 32(6): 74-79.
- [9] 李芳芳, 梁秀清, 张卉, 等. 分散液液微萃取-气相色谱法同时测定食醋中常用防腐剂和抗氧化剂[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(3): 367-373.
- [10] 丁立平. 分散固相萃取-气相色谱法测定谷物中4种苯甲酸类除草剂[J]. 分析试验室, 2023, 42(4): 496-500.
- [11] 谭芳芳, 陈强, 黄远景, 等. 学校食堂食品安全管理体系模型的建立和风险控制管理的探讨[J]. 食品安全导刊, 2024, (18): 150-154, 159.

(收稿日期: 2025-12-08)

(校对编辑: 姚丽娜)

(排版编辑: 刘淮嘉)