

食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定

一、检测方法：

依据国家标准：食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定 (GB 5009.28-2016)。

二、方法提要

样品经水提取，经蛋白沉淀剂沉淀蛋白，采用液相色谱分离、紫外检测器检测，外标法定量。

三、试剂和材料

3.1 甲醇：色谱纯。

3.2 亚铁氰化钾溶液 (92 g/L)：称取 10.6 g 亚铁氰化钾，加入适量水溶解，用水定容至 100 mL。

3.3 乙酸锌溶液 (183 g/L)：称取 22 g 乙酸锌溶于少量水中，加入 3 mL 冰乙酸，用水定容至 100 mL。

3.4 乙酸铵溶液 (20 mmol/L)：称取 1.54 g 乙酸铵，加入适量水溶解，用水定容至 1000 mL，经 0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用。

3.5 水：纯净水。

四、仪器和装置

4.1 高效液相色谱仪：福立 LC5090 高效液相色谱仪，配备 LC5090 在线脱气机、LC5090 二元高压输液泵、LC5090 自动进样器、LC5090 柱温箱、LC5090 双波长-紫外检测器。

4.2 色谱柱：Sunniest C18 色谱柱，4.60 mm * 250 mm，粒径为 5.0 μm 。

4.3 一次性注射器。

4.4 针头过滤器：0.22 μm 有机滤膜。

4.5 超声清洗仪。

4.6 离心机。

4.7 一般实验室常用仪器。

五、实验

5.1 样品制备

准确称取约 2 g (精确到 0.0001 g) 试样于具塞离心管中，加水约 25mL，涡旋混匀，于 50 $^{\circ}\text{C}$

水浴超声 20 min, 冷却至室温后亚铁氰化钾溶液 2 mL 和乙酸锌 2 mL, 混匀, 于 8000 r/min 离心 5min, 将水相转移至 50 mL 容量瓶, 于残渣中加水 20 mL, 涡旋混匀后超声 5min, 于 8000 r/min 离心 5min, 将水相转移到同一 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, 待测。

5.2 标准曲线的制备

5.2.1 苯甲酸、山梨酸标准储备溶液: 分别准确称取 0.0275g 苯甲酸、0.0241 g 山梨酸, 用甲醇溶解并定容至 10 mL, 配制成苯甲酸、山梨酸浓度分别为 2750 mg/L、2410 mg/L 的混合储备溶液;

5.2.2 糖精钠(以糖精计)标准储备溶液: 称取 0.0226 g 糖精钠, 用水溶解并分别定容至 10 mL, 配制成糖精钠浓度为 2260 mg/L 的储备溶液。

5.2.3 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第一级标准溶液: 分别准确吸取苯甲酸、山梨酸(5.2.1) 0.75 mL 和糖精钠(5.2.2) 0.9 mL 标准储备溶液于 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 206.25 mg/L、177.00 mg/L、196.2 mg/L 的标准溶液。

5.2.4 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第二级标准溶液: 准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第一级标准溶液(5.2.3) 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 103.12 mg/L、88.5mg/L、98.1 mg/L 的标准溶液。

5.2.5 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第三级标准溶液: 准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第二级标准溶液(5.2.4) 5mL 于 10 mL 容量瓶 40 中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 51.56mg/L、44.25mg/L、49.05mg/L 的标准溶液。

5.2.6 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第四级标准溶液: 准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第三级标准溶液(5.2.5) 4 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 19 mg/L、18.6 mg/L、17.64 mg/L 的标准溶液。

5.2.7 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第五级标准溶液: 准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第四级标准溶液(5.2.6) 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 9.5 mg/L、9.3 mg/L、8.82 mg/L 的标准溶液。

5.2.8 苯甲酸、山梨酸和糖精钠(以糖精计)第六级标准溶液: 准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第五级标准溶液(5.2.7) 5 mL 于 10 mL 容量瓶中, 用水定容, 配制成苯甲酸、山梨酸、

糖精钠浓度分别为 4.75 mg/L、 4.65 mg/L、 4.41 mg/L 的标准溶液。

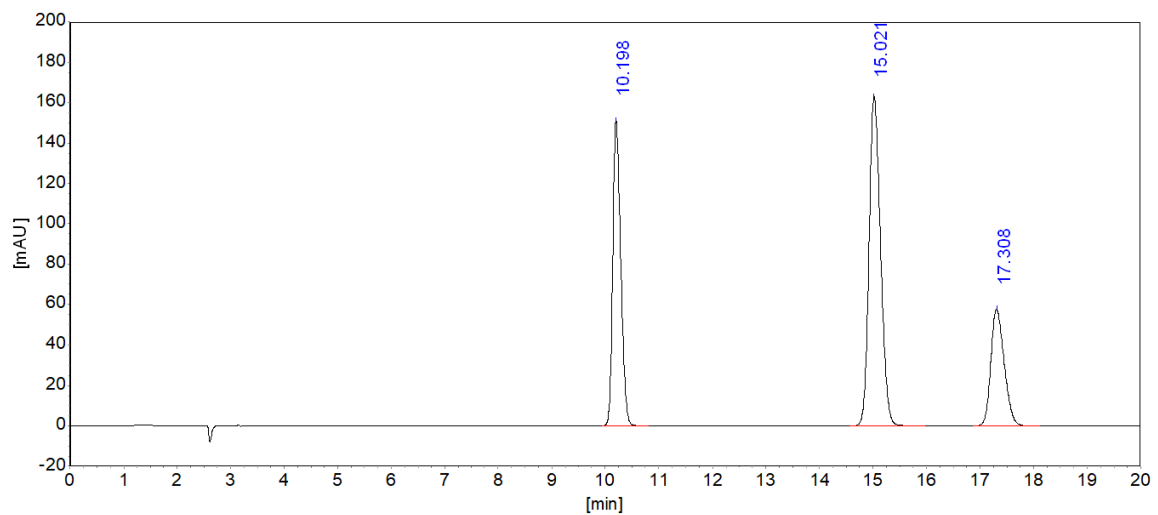
5.2.9 苯甲酸、山梨酸和糖精钠（以糖精计）第七级标准溶液：准确吸取苯甲酸、山梨酸和糖精钠第六级标准溶液（5.2.8）2 mL 于 10 mL 容量瓶中，用水定容，配制成苯甲酸、山梨酸、糖精钠浓度分别为 0.95 mg/L、 0.93 mg/L、 0.88 mg/L 的标准溶液。

5.3 仪器条件

- a) 色谱柱：Sunniest C18，柱长 250 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μ m；
- b) 流动相：甲醇：乙酸铵溶液=5：95；
- c) 流速：1 mL/min；
- d) 检测器：UV 230nm；
- e) 柱温：40 $^{\circ}$ C；
- f) 进样量：10 μ L；

5.4 分析结果

5.4.1 苯甲酸、山梨酸和糖精钠第三级标准溶液典型谱图及结果



1、苯甲酸 2、山梨酸 3、糖精钠

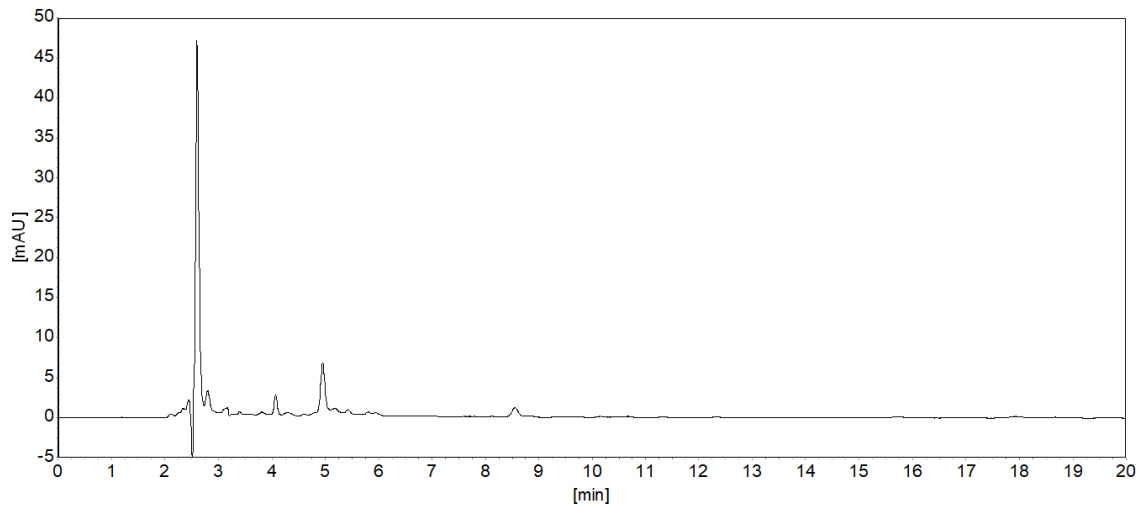
峰序	组分名	保留时间 [min]	峰面积 [uAU*s]	峰高[uAU]	理论塔板	拖尾因子
1	苯甲酸	10.198	151143.9	1562345	22448	1.285
2	山梨酸	15.021	162945.7	2427907	23459	1.187
3	糖精钠	17.308	57844.9	996515.4	23287	1.233

5.3.3 标准曲线

标准曲线的绘制：分别进样第一到第七级标准系列工作溶液各 10 μ L，进行 HPLC 分析。然后以峰面积为纵坐标，以目标物的含量为横坐标，绘制标准曲线。

5.4.5 样品典型谱图及结果

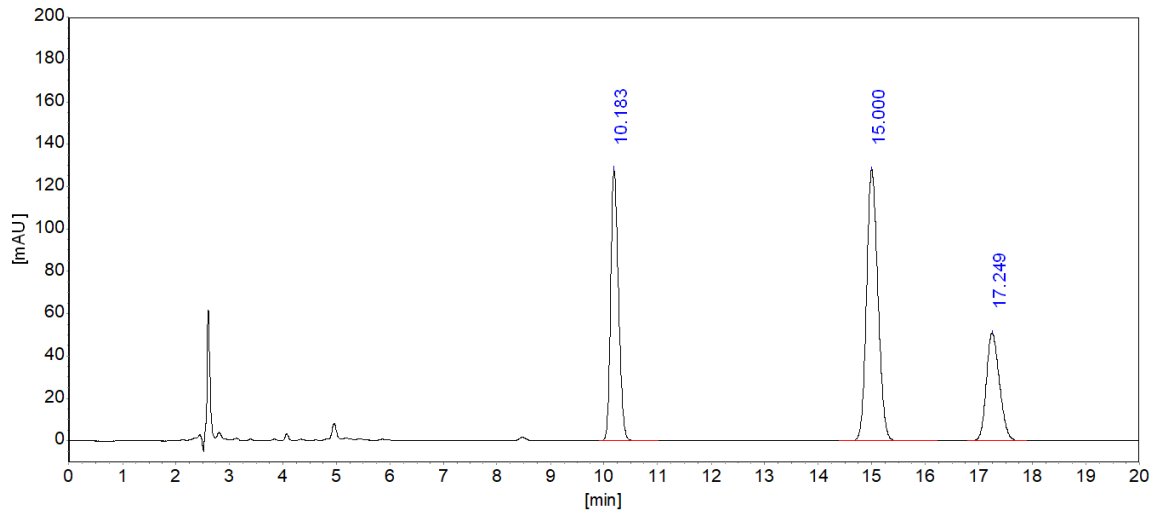
5.4.5.1 某方便面酸菜包样品典型谱图及结果



未检出

本实验测定的酸菜结果均符合国家标准 GB 2760-2014 《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中对苯甲酸、山梨酸和糖精钠的限量要求。

5.4.6 样品加标回收率数据汇总



样品种类	组分名	样品中平均含量 (g/kg)	加标浓度 (mg/L)	称样量 (g)	测量值 (g/kg)	回收率 (%)	回收率范围 (%)
酸菜包	苯甲酸	未检出	50.58	0.4181	0.9922	82.02	82.02-88.65
				0.4420	0.9701	84.77	
				0.4490	0.9986	88.65	
	山梨酸	未检出	43.38	0.4181	0.8027	77.36	77.36-82.96
				0.4420	0.7784	79.31	
				0.4490	0.8015	82.96	
	糖精钠	未检出	49.72	0.4181	0.9314	78.32	78.32-89.13
				0.4420	0.9600	85.34	
				0.4490	0.9870	89.13	

六、实验结果

方法验证结论：苯甲酸、山梨酸和糖精钠的精密度、线性相关系数、检出限及回收率汇总

如下：

方法评价						
组分名	保留时间/min	检出限 g/kg	定量限 g/kg	峰面积 RSD%	线性相关系数	加标回收率%
苯甲酸	10.198	0.00069	0.0028	0.38	0.999	82.02-88.65
山梨酸	15.021	0.00066	0.0026	0.11	0.999	77.36-82.96
糖精钠	17.308	0.00064	0.0026	0.49	0.999	78.32-89.13

由以上实验结果可知，采用福立 LC5090 测定食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠，方法稳定



FULI

可靠，目标物线性范围良好，灵敏度较高，有很好的重现性，能够对样品进行准确定量

地址：浙江温岭城东街道百丈南路95号

分析员：陈卿卿、金字雨、陈宇洋

电话：15657600120

邮编：317500

审核：金迁

日期：2022.3.17