

前 言

本标准非等效采用国外标准。

本标准的附录 A 是提示的附录。

本标准由卫生部卫生监督司提出。

本标准负责起草单位：卫生部食品卫生监督检验所；参加起草单位：北京市卫生防疫站、中国预防医学科学院环境卫生监测所。

本标准主要起草人：杨祖英、张平伟、孙淳、姚孝元、郑兰波。

本标准由卫生部委托技术归口单位卫生部食品卫生监督检验所负责解释。

饮料中乙酰磺胺酸钾(安赛蜜)的测定

Determination of acesulfame K in beverage

1 范围

本标准规定了饮料中乙酰磺胺酸钾的测定方法。

本标准适用于汽水、可乐型饮料、果汁、果茶等食品中乙酰磺胺酸钾的测定。也适用于糖精钠的测定。本法取样量为 2.5 g 时,最低检出限为乙酰磺胺酸钾、糖精钠各 50 mg/kg(L)。

2 原理

样品中乙酰磺胺酸钾、糖精钠经高效液相反相柱 C_{18} 分离后,以保留时间定性,峰高或峰面积定量。

3 试剂

有机溶剂需重蒸。

3.1 甲醇:分析纯。

3.2 乙腈:分析纯。

3.3 0.02 mol/L 硫酸铵溶液:称取硫酸铵 2.642 g,加水溶解至 1 000 mL。

3.4 硫酸溶液:10%。

3.5 中性氧化铝:层析用,100~200 目。

3.6 乙酰磺胺酸钾、糖精钠标准储备液:精密称取乙酰磺胺酸钾、糖精钠各 0.100 0 g,用移动相溶解后移入 100 mL 容量瓶中,并用移动相稀释至刻度,即含乙酰磺胺酸钾、糖精钠各 1 mg/mL 的溶液。

3.7 乙酰磺胺酸钾、糖精钠标准使用液:吸取乙酰磺胺酸钾、糖精钠标准储备液 2 mL 于 50 mL 容量瓶,加移动相至刻度,然后分别吸取此液 1 mL、2 mL、3 mL、4 mL、5 mL 于 10 mL 容量瓶中,各加移动相至刻度,即得各含乙酰磺胺酸钾、糖精钠 0.004 mg/mL、0.008 mg/mL、0.012 mg/mL、0.016 mg/mL、0.020 mg/mL 的混合标准液系列。

3.8 移动相:0.02 mol/L 硫酸铵(740~800 mL)+甲醇(170~150 mL)+乙腈(90~50 mL)+10% H_2SO_4 (1 mL)。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪。

4.2 超声清洗仪(溶剂脱气用)。

4.3 离心机。

4.4 抽滤瓶。

4.5 G3 耐酸漏斗。

4.6 微孔滤膜:0.45 μm 。

4.7 层析柱,用 10 mL 注射器筒代替较好,内装 3 cm 高的中性氧化铝。

5 分析步骤

5.1 样品处理

5.1.1 汽水:将样品温热,搅拌除去二氧化碳或超声脱气。吸取样品 2.5 mL 于 25 mL 容量瓶中。加移动相至刻度,摇匀后,溶液通过微孔滤膜过滤,滤液备作 HPLC 分析用。

5.1.2 可乐型饮料:将样品温热,搅拌除去二氧化碳或超声脱气,吸取已除去二氧化碳的样品 2.5 mL,通过中性氧化铝柱,待样品液流至柱表面时,用移动相洗脱,收集 25 mL 洗脱液,摇匀后超声脱气,此液备作 HPLC 分析用。

5.1.3 果茶、果汁类食品:吸取 2.5 mL 样品,加水约 20 mL 混匀后,离心 15 min(4 000 r/min),上清液全部转入中性氧化铝柱,待水溶液流至柱表面时,用移动相洗脱,收集洗脱液 25 mL,混匀后,超声脱气,此液作 HPLC 分析用。

5.2 测定

5.2.1 HPLC 参考条件

分析柱:Spherisorb C₁₈、4.6 mm×150 mm,粒度 5 μm。

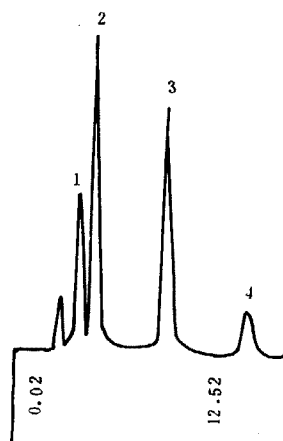
移动相:0.02 mol/L 硫酸铵(740~800 mL)+甲醇(170~150 mL)+乙腈(90~50 mL)+10% H₂SO₄(1 mL)。

波长:214 nm。

流速:0.7 mL/min。

5.2.2 标准曲线:分别进含乙酰磺胺酸钾、糖精钠 0.004 mg/mL、0.008 mg/mL、0.012 mg/mL、0.016 mg/mL、0.020 mg/mL 混合标准溶液各 10 μL,进行 HPLC 分析,然后以峰面积为纵坐标,以乙酰磺胺酸钾、糖精钠的含量为横坐标,画标准曲线。

5.2.3 样品测定:进 5.1 项下的样品处理后的样品溶液 10 μL,测定其峰面积,从标准曲线查得测定液中乙酰磺胺酸钾、糖精钠的量。HPLC 色谱图如下:



1—乙酰磺胺酸钾;2—糖精钠;3—咖啡因;4—天门冬酰苯丙氨酸甲酯

图 1 HPLC 色谱图

6 结果

6.1 计算

$$X = \frac{c \times 1\,000}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中: X —— 样品中乙酰磺胺酸钾、糖精钠的含量, g/kg(g/L);

c —— 由标准曲线上查得进样液中乙酰磺胺酸钾、糖精钠的含量, mg/mL;

V_1 —— 样品稀释液总体积, mL;

V_2 —— HPLC 测定时进样的体积, mL;

m —— 样品质量, g。

6.2 检出限

仪器检出限 0.04 μ g; 方法检出限: 乙酰磺胺酸钾、糖精钠各 0.004 mg/mL(g), 标准曲线范围乙酰磺胺酸钾、糖精钠各为 0.004 mg/mL~0.020 mg/mL。方法回收率为 88.0%~105%, 平均回收率为 92.12%、 $S_x = 4.8$, 相对标准差(R. S. D)=5.0%。

附录 A
(提示的附录)
方法评价

A1 方法评价

本标准规定了用高效液相法测定饮料中乙酰磺胺酸钾、糖精钠,并能同时测定咖啡因、天门冬酰苯丙氨酸甲酯,且简化样品处理,国内外未见同时测定这四种物质的报导。

A2 方法验证

A2.1 柱层析洗脱液的研究

样品通过中性氧化铝小柱后,比较了水、移动相两种洗脱剂,结果表明水不能洗脱乙酰磺胺酸钾、糖精钠,而移动相能洗脱乙酰磺胺酸钾、糖精钠、咖啡因、天门冬酰苯丙氨酸甲酯。

A2.2 乙酰磺胺酸钾、糖精钠在中性氧化铝柱上流出曲线

吸取 100 mg/L 的加标乙酰磺胺酸钾、糖精钠的可乐,通过已用少量水润湿的中性氧化铝小柱,然后以流动相洗脱,连续收集 7 管,每管 5 mL,用 HPLC 测定每管中乙酰磺胺酸钾、糖精钠量。结果表明,从第 4 管起均未检出乙酰磺胺酸钾、糖精钠。

A2.3 HPLC 移动相的研究

本标准研究了乙酸铵缓冲液+甲醇、乙酸铵缓冲液+异丙醇系统,硫酸铵缓冲液+甲醇系统,试验结果表明硫酸铵缓冲液+甲醇系统能分离乙酰磺胺酸钾、糖精钠、咖啡因、天门冬酰苯丙氨酸甲酯。见表 A1。

表 A1 移动相试验表

移动相	R_t			
	乙酰磺胺酸钾	糖精钠	咖啡因	天门冬酰苯丙氨酸甲酯
0.02 mol/L 硫酸铵+甲醇+10%硫酸				
(1)700+300+1	3.010	3.637	9.002	10.870
(2)720+280+1	2.870	3.479	11.197	13.582
(3)750+250+1	3.292	4.622	13.960	16.320
0.02 mol/L 硫酸铵+甲醇+乙腈+10%硫酸				
(4)750+200+50+1	3.329	4.435	9.734	14.520
(5)740+170+90+1	3.969	5.050	9.915	15.620

从表 A1 看出移动相(5)较好。

A2.4 标准曲线

在试验条件下,取不同浓度的乙酰磺胺酸钾、糖精钠混合标准使用液 0.004 mg/mL、0.008 mg/mL、0.012 mg/mL、0.016 mg/mL、0.020 mg/mL,各进样 10 μ L,进行 HPLC 分析,然后以峰面积对乙酰磺胺酸钾、糖精钠浓度作图,画标准曲线。乙酰磺胺酸钾的回归方程为 $r=0.998, Y=99264.4+3.34 \times 10^7 X$;糖精钠的回归方程为 $r=0.998, Y=161944+7.26 \times 10^7 X$ 。乙酰磺胺酸钾、糖精钠的线性范围是 0~0.020 mg/mL。

A2.5 回收试验

选择不含乙酰磺胺酸钾、糖精钠的汽水、果汁、果茶进行加标试验,分别加入 50 mg/L、100 mg/L 的

两个不同浓度,依法操作,测得回收率为 88%~105%,平均回收率为 92.12%, $S_x = 4.8$,相对标准差(R. S. D)=5.0%。

A3 验证结果

本标准委托北京市卫生防疫站、中国预防医学科学院环境卫生监测所验证,验证时采用已加入 100 mg/L的乙酰磺胺酸钾、糖精钠的可乐饮料为统一样品。两单位平均测得值为:乙酰磺胺酸钾浓度为 105.6 mg/L,回收率为 105.6%, $S_x = 4.97$,相对标准差(R. S. D)为 4.71%;糖精钠测得浓度为 98.3 mg/L,回收率为 98.3%, $S_x = 2.45$,相对标准差(R. S. D)为 2.49%。
