

食醋中安赛蜜的检测

冉良骥 金燕

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

关键词

高效液相色谱；乙酰磺胺酸钾；WAX-1 色谱柱

目的

利用高效液相色谱仪，采用 WAX-1 色谱柱建立食醋中安赛蜜的检测方法，在现有国家标准和参考文献基础上，进一步消除基质干扰，确保分析过程快速、准确。

引言

安赛蜜（化学名：乙酰磺胺酸钾 Acesulfame-k，又称 AK 糖），

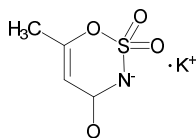


图 1 安赛蜜化学结构

属第四代合成甜味剂，其甜度为蔗糖的 200 倍，具有口感好，对热、酸稳定性好、安全性高等特点，我国卫生部于 1992 年 5 月已正式批准安赛蜜用于食品、饮料领域。但在食醋酿造工业中，为了确保产品的原始风味，防止商家借助添加剂擅自改变醋液口感并进行商业炒作，在 GB 2760-2011 食品安全国家标准《食品添加剂使用标准》中规定，安赛蜜在食醋中不得检出。

目前安赛蜜常见的国家标准及文献方法如表 1 所示。由表 1 内容可知，目前安赛蜜检测常用洗脱系统为硫酸铵或醋酸铵体系，分析柱通常为 C18 色谱柱，但采用上述方



法检测食醋中的安赛蜜时发现：由于检测波长接近末端吸收，基线噪音较大（特别是醋酸盐体系）；同时由于食醋的基质干扰较强，导致难以通过检测结果直观判定食醋样品中是否含有安赛蜜。

本方法通过优选色谱柱，最终确定使用 WAX-1 色谱柱，以

表 1. 安赛蜜的检测方法

方法出处	样品基质	色谱柱	流动相	检测波长
国家标准 ^[1] GB/T 5009.140-2003	饮料	C18 色谱柱	0.02M 硫酸铵 - 甲醇 - 乙腈 -10% 硫酸 (800:150:50:1)	214nm
方法开发报告 ^[2] APPBJ-LC-090728	食品	C18 色谱柱	0.02M 醋酸铵 - 甲醇 (90:10)	230nm
文献 ^[3]	液体调味料	C18 色谱柱	0.02M 醋酸铵 - 甲醇 (93:7)	230nm

阴离子交换结合反相分离的混合模式，以磷酸盐 - 乙腈洗脱系统实现了安赛蜜色谱峰与基质成份的良好分离，无需复杂前处理过程（简单稀释过滤即可），方法快速简便（测试周期约为 10min），灵敏度高（检测限按供试品取样量折算可达 0.8 µg/ml，而 GB/T 5009.140-2003 的方法检测限为 4 µg/ml），精密度和回收率好，为食醋类样品中安赛蜜的测定提供了较好的方法参考。

材料与方法

仪器

高效液相色谱仪（Thermo Scientific Dionex LPG 3400 系列，包括有带在线脱气单元的低压四元梯度泵，自动进样器，柱温箱，二极管阵列检测器。）

超纯水机（Thermo Scientific GenPure Pro UV-TOC/UF xCAD plus，P/N：50136146）

针式过滤器（Fisherbrand，尼龙膜，孔径 0.45 µm，P/N：CNG#431225）

试剂和对照品

乙腈（色谱纯，Fisher Chemical，P/N: A998-4）

磷酸二氢钾（分析纯，Acros，P/N: 424205000）

氢氧化钠（优级纯，Acros，P/N: 134070010）

安赛蜜（含量 99.5%，Dr. Erenstorfer GmbH，P/N:10010800）

标准品溶液制备

精密量取安赛蜜适量，以纯水逐级稀释为浓度分别为 20.0、10.0、5.00、2.00、1.00、0.50、0.05、0.025 µg/ml 的标准工作溶液。

样品溶液制备

精密量取样品 1.00 ml，加水稀释定容至 100 ml，过 0.45 µm 针式过滤器（尼龙膜）后待测。

加标溶液制备

精密量取样品 1 ml，准确加入 5 ml 标准品溶液（浓度 10 µg/ml），加水稀释定容至 100 ml，过 0.45 µm 针式过滤器（尼龙膜）后待测。

色谱条件

分析柱：Acclaim Mixed-Mode WAX-1 3 µm，3.0 × 150 mm
（P/N:001056，S/N: 070088）

流动相：100mM 磷酸盐缓冲液（pH6.8）- 乙腈（80:20）

流速：0.8 ml/min

进样量：10 µL

柱温：30 °C

检测波长：227nm。

结果与讨论

标准品色谱图（0.5 µg/ml）

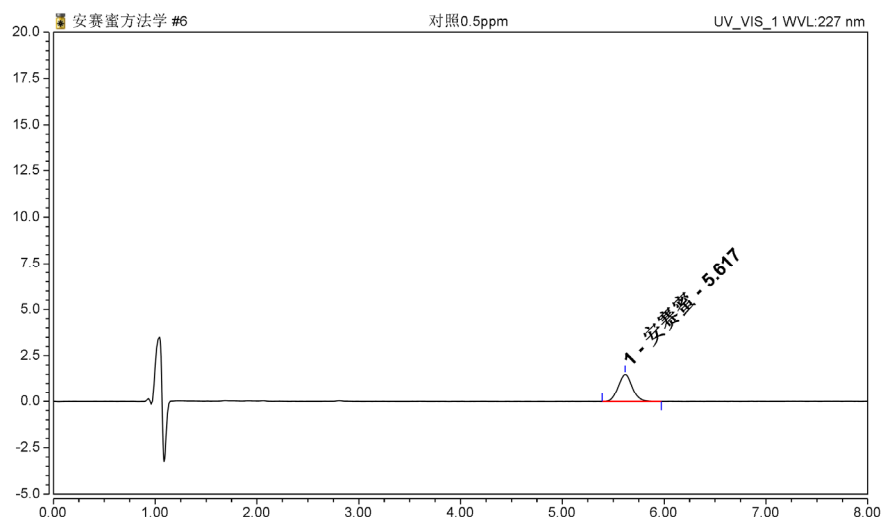


图 2. 标准品色谱图

样品及加标样品色谱图（加标量为 0.5 μ g/ml）

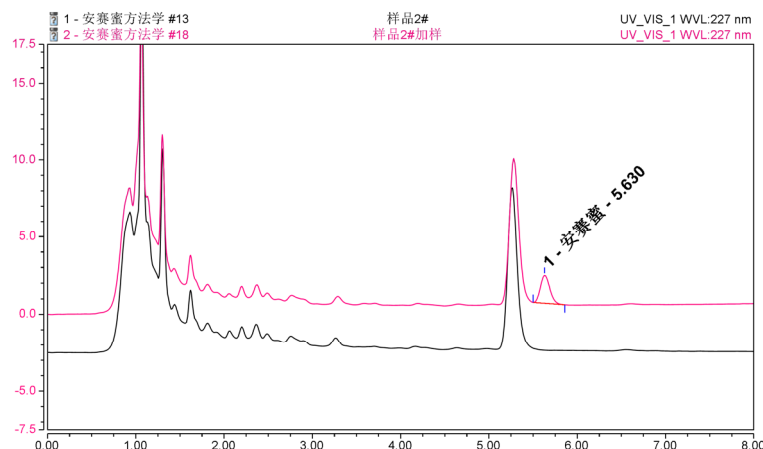


图 3. 样品 2# 及加标样品色谱图

（下 - 样品；上 - 加标样品，安赛蜜色谱峰纯度指数 994）

检测波长的选择

通过 DAD 检测器测得安赛蜜色谱峰的最大吸收波长为 227nm，由此确定方法检测波长

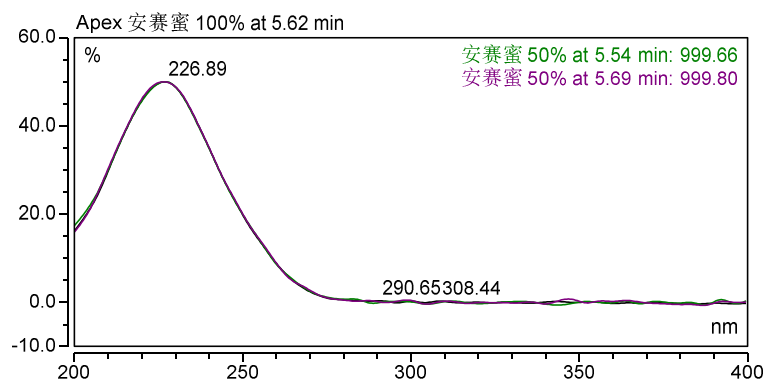


图 4. 安赛蜜紫外吸收图谱

色谱柱及流动相的选择

分别选择 Acclaim C18、Acclaim PA2、Acclaim WAX-1 色谱柱对样品和对照进行分离，结果发现 Acclaim PA2 色谱柱对安赛蜜保留较弱，峰形不佳（见图 5）；采用 Acclaim C18 分析，杂峰洗脱时间长，且基质干扰大（见图 6）；而采用 Acclaim WAX-1 色谱柱，色谱分离效果最好，且其他杂质保留时间均小于安赛蜜，便于控制总分析时间，故最终将其确定为本法的分析柱。

分别对流动相中缓冲液种类、浓度、pH 值进行筛选，

结果发现：

- (1) 采用磷酸盐缓冲液时，基线噪音最小；
 - (2) 当缓冲盐浓度 ≤ 50 mM 时，安赛蜜色谱峰在多次重复进样后容易发生变形，推测可能是样品中无吸收的物质在柱头处占据了活性位点，将缓冲盐浓度提高至 100mM 时，该问题可得到明显改善；
 - (3) 当 pH 由 6.0 调节至 7.0 过程中，2# 样品中主要杂峰与安赛蜜分离度逐渐增大，当 pH 达 6.8-7.0 时，分离效果最佳。
- 综上，最终确定本法的流动相比例。

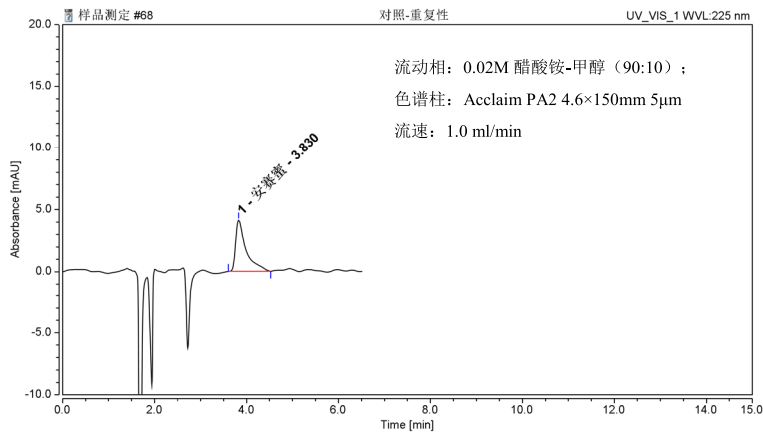


图 5. PA2 柱 - 对照品色谱图

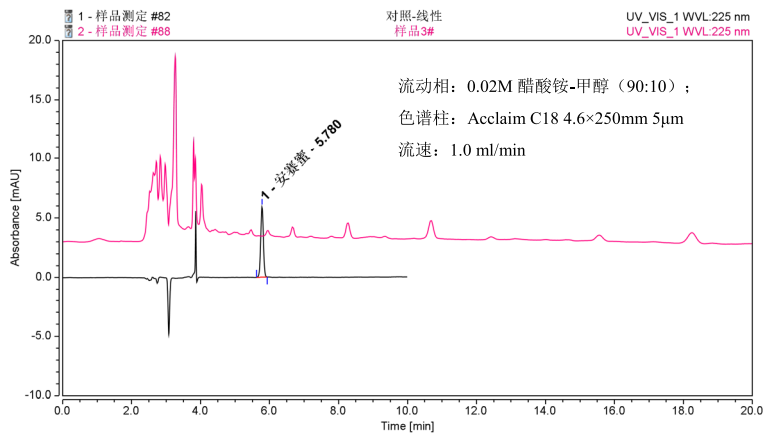


图 6. C18 柱 - 样品及加标样品色谱图 (上 - 样品; 下 - 加标样品)

方法的重现性

取浓度为 0.5 μg/ml 的对照品溶液重复进样 7 针, 保留时间 RSD 为 0.13 %, 色谱峰面积 RSD 为 0.36 %。

线性、检出限

取不同浓度安赛蜜标准工作溶液依次进样 10 μl 分析, 在 0.025 μg/ml ~ 20.0 μg/ml 范围, 以安赛蜜浓度和峰面积进行

线性回归, 标准曲线为 $A = 0.4874C$, 相关系数 1.0000。
当安赛蜜对照品进样浓度为 0.025 μg/ml 时, 安赛蜜色谱峰的 S/N 值为 9.9, 确定为方法定量限, 按 S/N 值为 3 折算本方法检出限为 0.008 μg/ml (按对照品浓度折算); 最低检出浓度为 0.8 μg/ml (按供试品取样量折算)。

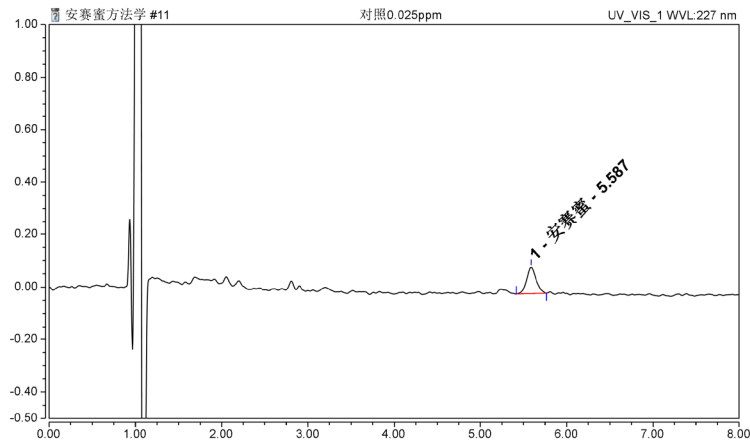


图 7. 方法定量限色谱图

实际样品的分析

取市售的样品，分别照 GB/T 5009.140-2003 和本方法进行测定，结果见表 2。

取样品进行加标回收试验，加样回收率均在 90 %~96 % 之间，说明本方法的准确度较高。

表 2. 样品检测及回收率考察结果

序号	基质	检测结果 (µg/kg)		
		国标 GB/T 5009.140-2003	本方法	加标回收率 (%, n=3)
1	果醋	基线不平, 有干扰	N.D	95.3
2	陈醋	基线不平, 有干扰	N.D	90.3

结论

本方法使用 WAX-1 色谱柱对食醋中安赛蜜进行测定，操作简便易行，大大降低基质的干扰，提高了方法重现性和准确度。

参考文献

[1] 国家标准 GB/T 5009.140-2003 饮料中乙酰磺胺酸钾的

测定

- [2] 赛默飞世尔公司方法开发报告 APPBJ-LC-090728 “食品中安赛蜜、糖精钠、苯甲酸、山梨酸同时测定的方法”
- [3] 董明, 反相高效液相色谱法同时检测复合液体调味料中安赛蜜、苯甲酸、山梨酸、糖精钠的含量 [J] 商品与质量, 2013(3): 244

赛默飞世尔科技（中国）有限公司

免费服务热线：800 810 5118
400 650 5118 (支持手机用户)

ThermoFisher
SCIENTIFIC