

BJS

食品补充检验方法

BJS 202201

食品中爱德万甜的测定

2022-02-07 发布

国家市场监督管理总局 发布

食品中爱德万甜的测定

1 范围

本方法规定了食品中爱德万甜的测定方法。

本方法第一法为高效液相色谱-串联质谱法,适用于饮料、酒类、焙烤食品、可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果、发酵乳和风味发酵乳、果冻、冷冻饮品、蛋制品、复合调味料中爱德万甜的测定。

本方法第二法为高效液相色谱-荧光检测法,适用于加工水果(水果干类、水果罐头、果酱、果泥、蜜饯凉果等)中爱德万甜的测定。

2 第一法 高效液相色谱-串联质谱法

2.1 原理

试样中的爱德万甜用乙腈溶液提取,经离心取上清液加入 C_{18} 粉末净化后,用反相液相色谱分离、串联质谱正离子模式检测,外标法定量。

2.2 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为色谱纯,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

2.2.1 试剂

2.2.1.1 甲醇(CH_3OH)。

2.2.1.2 乙腈(CH_3CN)。

2.2.1.3 正己烷(C_6H_{14})。

2.2.1.4 甲酸($HCOOH$)。

2.2.1.5 氯化钠($NaCl$):分析纯。

2.2.2 试剂配制

2.2.2.1 饱和氯化钠水溶液(常温 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$):称取过量($>36\text{ g}$)氯化钠(2.2.1.5)加入 100 mL 水溶解,溶液底部应有过量的氯化钠固体。

2.2.2.2 乙腈溶液(含氯化钠水溶液):量取 800 mL 乙腈(2.2.1.2)和 200 mL 饱和氯化钠水溶液(2.2.2.1),混匀后静置,收集上层乙腈层备用。

2.2.2.3 乙腈溶液(含正己烷):量取 800 mL 乙腈(2.2.1.2)和 200 mL 正己烷(2.2.1.3),混匀后静置,收集下层乙腈层备用。

2.2.3 标准品

爱德万甜标准物质($C_{24}H_{30}N_2O_7 \cdot H_2O$,CAS 号 714229-20-6,相对分子质量 476.52):经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。(相关信息见附录 A)

2.2.4 标准溶液配制

2.2.4.1 爱德万甜标准储备液:称取爱德万甜标准物质 10 mg(精确至 0.01 mg),于 10 mL 容量瓶,用

甲醇(2.2.1.1)溶解并稀释至刻度。4℃下避光保存,保存期为6个月。

2.2.4.2 标准中间溶液:吸取上述标准储备液(2.2.4.1)1.00 mL于100 mL容量瓶中,用甲醇(2.2.1.1)稀释到刻度配制质量浓度为10.0 μg/mL的标准中间溶液,4℃下避光保存,保存期为1个月。

2.2.5 材料

2.2.5.1 微孔滤膜:0.22 μm,有机相。

2.2.5.2 C₁₈吸附剂:粒径40 μm~60 μm。

2.3 仪器和设备

2.3.1 高效液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

2.3.2 电子天平:感量分别为0.01 mg和0.01 g。

2.3.3 涡漩混合器。

2.3.4 超声波清洗器。

2.3.5 恒温水浴振荡器。

2.3.6 离心机:转速不低于4 000 r/min。

2.3.7 匀浆机。

2.3.8 高速粉碎机。

2.4 分析步骤

2.4.1 试样制备与保存

2.4.1.1 果冻、巧克力和巧克力制品以及糖果、冷冻饮品、焙烤食品、蛋制品、固体及半固体复合调味料经匀浆机或高速粉碎机捣碎后备用。除冷冻饮品(现用现制)外将样品置于样品瓶中,密封,标识后2℃~6℃下保存。

2.4.1.2 碳酸饮料倒入洁净烧杯中,超声30 min去除溶解性二氧化碳后,存贮于样品瓶中,密封,标识后2℃~6℃下保存。

2.4.2 样品前处理

2.4.2.1 提取

2.4.2.1.1 冷冻饮品、复合调味料、蛋制品、酒类、果冻类食品

称取2 g样品(精确至0.01 g),置于50 mL聚丙烯离心管中,加入3 mL水,涡漩振荡30 s,加入2 g NaCl(2.2.1.5)后,加入20 mL乙腈溶液(2.2.2.2),加入0.2 mL甲酸(2.2.1.4),涡漩提取1 min,4 000 r/min离心5 min,上清液待净化。

2.4.2.1.2 可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果(胶基糖果除外)、焙烤类食品

称取2 g样品(精确至0.01 g),置于50 mL聚丙烯离心管中,加入5 mL水,60℃水浴振荡10 min后,涡漩振荡30 s,加入2 g NaCl(2.2.1.5),加入20 mL乙腈溶液(2.2.2.2),加入0.2 mL甲酸(2.2.1.4),涡漩提取1 min,4 000 r/min离心5 min,上清液待净化。

2.4.2.1.3 胶基糖果类食品

称取1 g样品(精确至0.01 g),置于50 mL聚丙烯离心管中,加入10 mL正己烷,超声提取20 min,加入乙腈溶液(2.2.2.3)20 mL,涡漩提取1 min,4 000 r/min离心5 min,取下层乙腈溶液,0.22 μm滤膜

过滤,待测。

2.4.2.1.4 风味发酵乳、饮料类食品

称取 1 g 样品(精确至 0.01 g),置于 100 mL 聚丙烯离心管中,加入 5 mL 水,涡漩振荡 30 s,加入 2 g NaCl(2.2.1.5)后,加入 50 mL 乙腈溶液(2.2.2.2),加入 0.2 mL 甲酸(2.2.1.4),涡漩提取 1 min,4 000 r/min 离心 5 min,上清液待净化。

2.4.2.2 净化

移取 2.4.2.1.1、2.4.2.1.2 和 2.4.2.1.4 待净化液 2 mL,转移至装有 40 mg C₁₈吸附剂(2.2.5.2)的离心管中,振摇 2 min,以 4 000 r/min 离心 5 min,取 1 mL 上层清液,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

2.4.3 基质匹配标准溶液的制备

2.4.3.1 空白样品基质溶液:取经质谱确认不含爱德万甜的与被测样相同基质的样品,按照 2.4.2 样品前处理方法制备。

2.4.3.2 基质匹配标准工作溶液:吸取适量的标准中间溶液(2.2.4.2),用空白样品基质溶液(2.4.3.1)配制成质量浓度为 1.00 μg/L、5.00 μg/L、20.0 μg/L、50.0 μg/L、100 μg/L、250 μg/L 系列标准工作溶液,或者根据仪器响应与实际情况配制适当浓度范围的标准曲线,临用时配制。

2.4.4 仪器参考条件

2.4.4.1 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱:C₁₈柱,4.6 mm×50 mm,2.7 μm,或性能相当者;
- b) 流动相:A 相为水,B 相为乙腈(2.2.1.2),梯度洗脱条件见表 1;
- c) 流速:0.4 mL/min;
- d) 柱温:30 °C;
- e) 进样量:2 μL。

表 1 梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0	75	25
3	75	25
6	20	80
7	20	80
7.1	75	25
11	75	25

2.4.4.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下:

- a) 离子源:电喷雾离子源(ESI);
- b) 扫描方式:正离子扫描;

- c) 检测方式:多反应离子监测(MRM);
- d) 脱溶剂气、锥孔气、碰撞气均为高纯氮气或其他合适气体;
- e) 喷雾电压、碰撞能等参数应优化至最优灵敏度;
- f) 质谱检测参数详见附录 B。

2.4.5 空白试验

除不加试样外,均按试样同法操作。

2.4.6 测定

2.4.6.1 标准曲线

在仪器参考条件(2.4.4)下,将系列标准工作溶液(2.4.3.2)按浓度由低到高的顺序进行测定,得到相应的标准溶液的色谱峰面积,以基质匹配标准工作溶液的浓度为横坐标,以色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

2.4.6.2 定性确证

试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较,变化范围应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

目标化合物的质谱定性离子必须出现,至少应包括一个母离子和两个子离子,而且同一检测批次,样品中目标化合物的定量离子和定性离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比,其允许的相对偏差不得超过表 2 规定的范围。

表 2 定性确定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 $k/\%$	$k > 50$	$20 < k \leq 50$	$10 < k \leq 20$	$k \leq 10$
允许的相对偏差/ $\%$	± 20	± 25	± 30	± 50

2.4.6.3 定量测定

试样中待测物的响应值应在标准曲线的线性范围内,若含量超出线性范围,应使用空白基质提取液将试样稀释后上机测定。基质匹配标准工作溶液的高效液相色谱-串联质谱 MRM 色谱图见附录 C 中图 C.1。

2.5 结果计算

试样中爱德万甜含量按式(1)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

- X —— 试样中待测组分的含量,单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);
- ρ —— 试样溶液中待测组分的质量浓度,单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);
- V —— 试样提取液体积,单位为毫升(mL);
- f —— 试样制备过程中的稀释倍数;
- m —— 称样量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数

字,计算结果应扣除空白值。

2.6 方法灵敏度、准确度和精密度

2.6.1 灵敏度

数据见表 3。

表 3 不同食品基质中爱德万甜测定的检出限和定量限

食品类别	称样量/g	提取液体积/mL	进样量/ μL	检出限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$	定量限/ $(\mu\text{g}/\text{kg})$
复合调味料,冷冻饮品,可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果(胶基糖果除外),果冻,焙烤食品,酒类,蛋制品	2	20	2	3.0	10.0
胶基糖果	1	20	2	6.0	20.0
饮料,发酵乳和风味发酵乳	1	50	2	15.0	50.0

2.6.2 准确度

本方法在 $10 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 6\,000 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度范围内,回收率为 $80\% \sim 110\%$ 。

2.6.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差不得超过算术平均值的 15% 。

3 第二法 高效液相色谱-荧光检测法

3.1 原理

试样中的爱德万甜用水溶液或乙腈/水溶液提取,在离心、稀释、过滤后经反相液相色谱分离、荧光检测器检测,外标法定量。

3.2 试剂和材料

除另有说明外,在分析中仅使用分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的一级水。

3.2.1 试剂

3.2.1.1 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.2.1.2 乙腈(CH_3CN):色谱纯。

3.2.1.3 氯化钠(NaCl)。

3.2.2 试剂配制

3.2.2.1 饱和氯化钠水溶液(常温 $10\text{ }^\circ\text{C} \sim 30\text{ }^\circ\text{C}$):称取过量($>36\text{ g}$)氯化钠(3.2.1.3)加入 100 mL 水溶解,溶液底部应有过量的氯化钠固体。

3.2.2.2 乙腈溶液(含氯化钠水溶液):量取 800 mL 乙腈(3.2.1.2)加入到 200 mL 饱和氯化钠水溶液(3.2.2.1)中,混匀后静置,收集上层乙腈层备用。

3.2.2.3 20%乙腈溶液:量取 200 mL 乙腈(3.2.1.2)加入 800 mL 水中,混匀备用。

3.2.3 标准品

爱德万甜标准物质($C_{24}H_{30}N_2O_7 \cdot H_2O$,CAS 号 714229-20-6,相对分子质量 476.52):经国家认证并授予标准物质证书的标准物质(相关信息见附录 A)。

3.2.4 标准溶液配制

3.2.4.1 标准储备液(1.0 mg/mL):称取爱德万甜标准物质 10 mg(精确至 0.01 mg),于 10 mL 容量瓶,用甲醇(3.2.1.1)溶解并稀释至刻度。4 °C 下避光保存,保存期为 6 个月。

3.2.4.2 标准中间溶液:分别吸取标准储备液(3.2.4.1)1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中,用甲醇(3.2.1.1)稀释到刻度配制成质量浓度为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的标准中间溶液,4 °C 下避光保存,保存期为 1 个月。

3.2.4.3 标准工作溶液:吸取适量的标准中间溶液(3.2.4.2),用 20%乙腈溶液(3.2.2.3)配制成质量浓度为 0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.5 mg/L、1 mg/L、2 mg/L、5 mg/L 系列标准工作溶液,或者根据仪器响应与实际情况配制适当浓度范围的标准曲线,临用时配制。

3.2.5 材料

微孔滤膜:0.22 μm ,有机相。

3.3 仪器和设备

3.3.1 液相色谱仪:配有荧光检测器。

3.3.2 天平:感量 0.01 mg 和 0.01 g。

3.3.3 涡漩混合器。

3.3.4 恒温水浴振荡器。

3.3.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

3.3.6 匀浆机。

3.3.7 高速粉碎机。

3.4 分析步骤

3.4.1 试样制备

水果干类、水果罐头、蜜饯凉果等经匀浆机或高速粉碎机粉碎后备用。

3.4.2 提取

3.4.2.1 水果罐头

称取 1 g 样品(精确至 0.01 g),置于 100 mL 聚丙烯离心管中,加入 12.5 mL 乙腈(3.2.1.2),涡漩混匀,加入 10 mL 水,涡漩振荡 30 s,4 000 r/min 离心 5 min 后,将上层清液转移至 25 mL 容量瓶中,用水定容,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

3.4.2.2 水果干类、蜜饯凉果中的果糕类

称取 1 g 样品(精确至 0.01 g),置于 50 mL 聚丙烯离心管中,加入 20 mL 水,80 °C 水浴加热 15 min,涡漩振荡 30 s,冷却至室温,4 000 r/min 离心 5 min 后,将上层清液转移到 50 mL 容量瓶中,用水定容,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

3.4.2.3 果酱、果泥、除果糕类以外的蜜饯凉果

称取 1 g 样品(精确至 0.01 g),置于 100 mL 聚丙烯离心管中,加入 20 mL 水,其中除果糕类以外的蜜饯凉果需经 80 °C 水浴加热 15 min,冷却后加入 10 g NaCl(3.2.1.3),加 50 mL 乙腈溶液(3.2.2.2),涡漩振荡 30 s,4 000 r/min 离心 5 min 后,取 1 mL 上层清液,0.22 μm 滤膜过滤,待测。

3.4.3 液相色谱参考条件

液相色谱参考条件如下:

- a) 色谱柱: C₁₈ 柱, 4.6 mm × 150 mm, 5 μm, 或性能相当者;
- b) 流动相: A 相为水, B 相为乙腈, 梯度洗脱条件见表 4;

表 4 梯度洗脱条件

时间/min	A/%	B/%
0	90	10
1	90	10
8	70	30
14	70	30
14.1	10	90
15	10	90
17	90	10
20	90	10

- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 柱温: 30 °C;
- e) 进样体积: 10 μL;
- f) 检测波长: 激发波长 230 nm, 发射波长 312 nm;
- g) 液相色谱图: 见附录 D 中图 D.1。

3.4.4 测定

3.4.4.1 标准曲线

用系列标准工作溶液(3.2.4.3)分别按仪器参考条件(3.4.3)进行测定,得到相应的标准溶液的色谱峰面积,以标准工作溶液的浓度为横坐标,以色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。

3.4.4.2 试样溶液的测定

将处理好的试液和标准溶液,分别按仪器参考条件进行测定。根据保留时间定性,外标峰面积法定量。以标准工作溶液的浓度为横坐标,以色谱峰的峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。根据标准曲线得到试液中组分的浓度,平行测定次数不少于两次。标准物质液相色谱图见图 D.1。

3.5 结果计算

试样中爱德万甜含量按式(2)计算:

$$X = \frac{\rho \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中待测组分的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)；

ρ ——由标准曲线得出的样液中爱德万甜的质量浓度,单位为毫克每升(mg/L)；

V ——试样溶液定容体积或试样提取液体积,单位为毫升(mL)；

m ——试样称取的质量,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

3.6 方法灵敏度、准确度、精密度

3.6.1 灵敏度

数据见表 5。

表 5 加工水果基质中爱德万甜测定的检出限和定量限

食品类别		称样量/g	定容体积或提取液 体积/mL	进样量/ μ L	检出限/(mg/kg)	定量限/(mg/kg)
加工 水果	水果罐头	1	25	10	0.5	1.5
	果酱、果泥、水果干类 以及蜜饯凉果	1	50	10	1.0	3.0

3.6.2 准确度

本方法在 1.5 mg/kg~120 mg/kg 添加浓度范围内,回收率为 80%~110%。

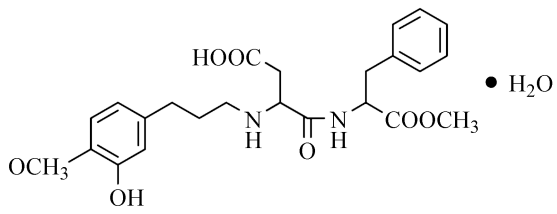
3.6.3 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%。

附 录 A
(资料性)
爱德万甜相关信息表

爱德万甜名称、CAS号、分子式、相对分子质量及结构式见表 A.1。

表 A.1 爱德万甜名称、CAS号、分子式、相对分子质量及结构式

项目	内容
中文名称	爱德万甜 ^a
英文名称	<i>N</i> -[<i>N</i> -[3-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl) propyl]- <i>L</i> - α -aspartyl]- <i>L</i> -phenylalanine 1-methyl ester
化学命名	<i>N</i> -{ <i>N</i> -[3-(3-羟基-4-甲氧基苯基)丙基]- <i>L</i> - α -天冬氨酰}- <i>L</i> -苯丙氨酸-1-甲酯
CAS号	714229-20-6
分子式	$C_{24}H_{30}N_2O_7 \cdot H_2O$
相对分子质量	476.52
结构式	
<p>^a 引用于国家卫生计生委食品安全标准与监测评估司 2017 年第 8 号公告《关于爱德万甜等 6 种食品添加剂新品种、环己基氨基磺酸钠(又名甜蜜素)等 6 种食品添加剂扩大用量和使用范围的公告》。</p>	

附 录 B
(资料性)
参考质谱参数

参考质谱参数如下：

- a) 离子源:电喷雾离子源；
- b) 扫描方式:正离子扫描(ESI+)；
- c) 检测方式:多反应监测(MRM)；
- d) 离子化电压(IS):5 500 V；
- e) 雾化气压力(Gas1):345 kPa；
- f) 辅助气压力(Gas2):345 kPa；
- g) 气帘气压力(CUR):242 kPa；
- h) 雾化温度(TEM):500 ℃；
- i) 定性离子对、定量离子对及其他质谱参数见表 B.1。

表 B.1 爱德万甜的定性离子对、定量离子对和质谱分析参数

分析物	离子对(m/z)	去簇电压/V	碰撞能量/eV	入口电压/V	出口电压/V
爱德万甜	459.2/102.0 ^a	170	32	10	13
	459.2/84.0 ^b	170	49	10	13
	459.2/252.2 ^c	170	27	10	13
^a 定量离子对。 ^b 定性离子对。 ^c 参考定性离子对,如检测过程中定性离子对遇到干扰,可增加参考定性离子对,增加定性的准确性。					

附录 B 所列参考质谱条件仅供参考,当采用不同质谱仪器时,仪器参数可能存在差异,测定前应将质谱参数优化到最佳。

附录 C
(资料性)
参考质谱谱图

参考质谱谱图见图 C.1~图 C.2。

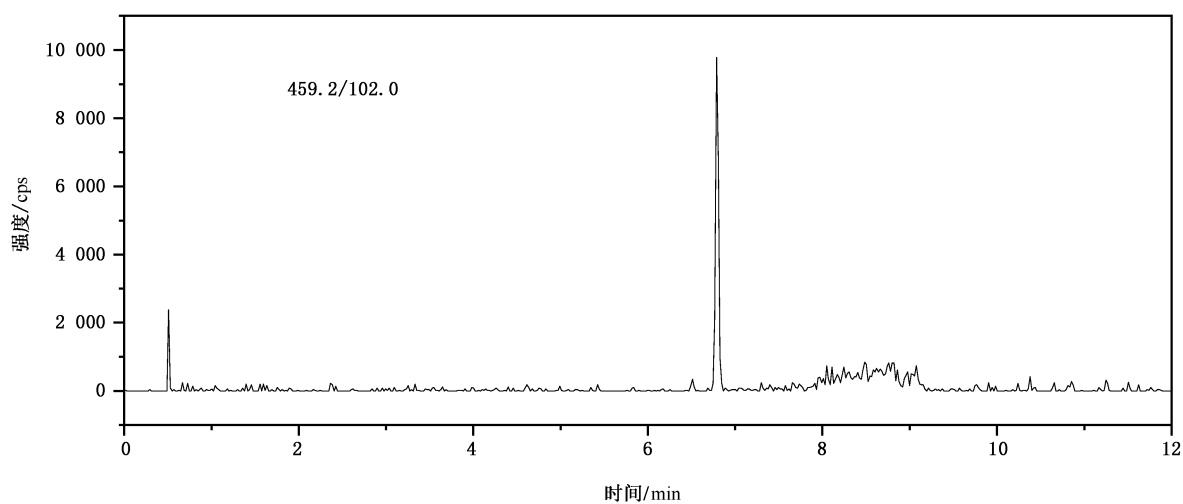


图 C.1 爱德万甜定量离子对质量色谱图(1 µg/L)

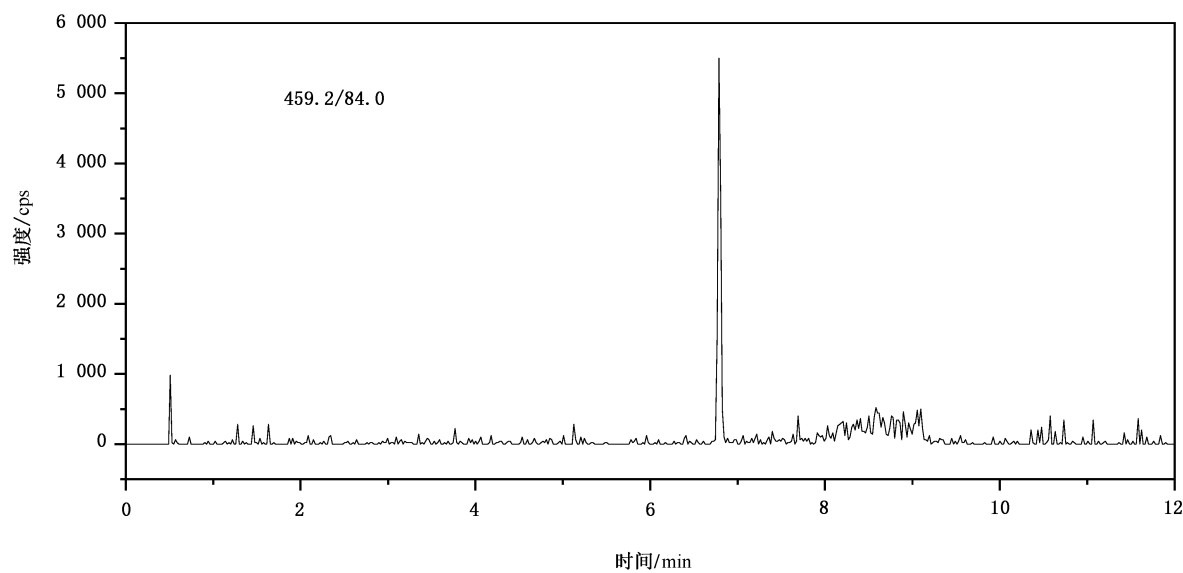


图 C.2 爱德万甜定性离子对质量色谱图(1 µg/L)

附录 D
(资料性)
参考液相色谱谱图

参考液相色谱谱图见图 D.1。

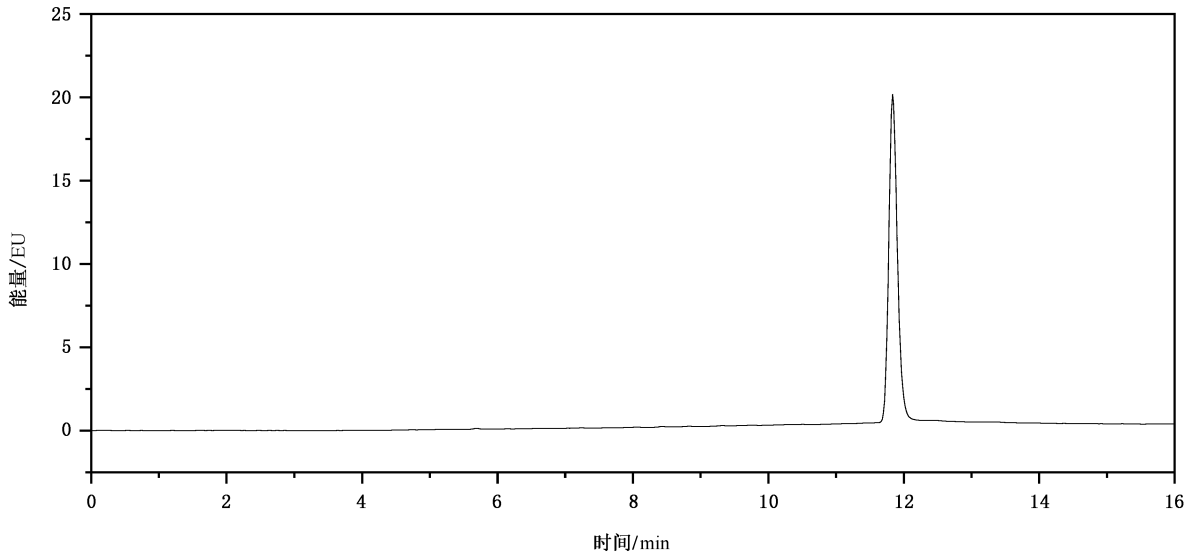


图 D.1 爱德万甜标准物质液相色谱图 (0.5 mg/L)

本方法负责起草单位:大连市食品检验检测院。

本方法验证单位:沈阳海关技术中心、湖北省食品质量安全监督检验研究院、深圳海关食品检验检疫技术中心、南京海关动植物与食品检测中心、河北省药品医疗器械检验研究院、大连海洋大学、大连理工大学。

本方法主要起草人:曲宝成、毛希琴、勇艳华、李海燕、姜俊、李鹏、刘怡君、刘畅、边海涛、赵洪霞、李莉。