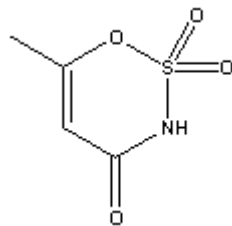


高效液相色谱法同时测定食品中的安赛蜜和糖精钠

背景知识介绍

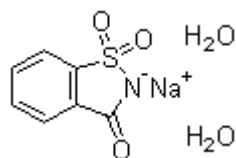
食品添加剂在食品工业扮演很重要的角色，它们影响着食品的质量和性质。在食品工业中，食品添加剂的使用目的有：(1)改进和保持食品的营养价值；(2)延长食品的货架期；(3)方便食品的加工；(4)增强食品的风味，改变食品的色泽；(5)确保微生物的安全性；(6)保持食品品质连续性和统一性。甜味剂是人们日常生活所必须的食品添加剂之一，它们不仅可以改进食品的可口性，而且有的还能起到一定的预防及治疗疾病作用，此外，它还是使用最广泛的添加剂，为食品生产中最常用的配料。随着生活水平的提高，人们对健康也越来越重视。近年来，一些热值性甜味剂如蔗糖、葡萄糖、麦芽糖等的过量摄入所引起的肥胖、糖尿病、高血脂等疾病严重影响消费者的健康，也引起国家的重视。越来越多的消费者选择低糖分食品来控制能量的摄入，人工合成高倍甜味剂如糖精钠、安赛蜜，正是符合了消费者的需求，它们热值低，甜度高，不会被吸收，不参与人体代谢，因此不会引起肥胖、糖尿病、高血脂等疾病。它们既可以单独使用，也可以和其它种类联合使用，甜味剂的联合使用随着商业的发展、技术的提高和健康的需要，已经越来越广泛。安赛蜜和糖精钠是两种常用的人工合成的高倍甜味剂，它们在食品工业中应用广泛。

安赛蜜又名 A-K 糖，结构式为



1967年由德国的 Karl Clauss 博士合成出来，化学名为乙酰磺胺酸钾，是以乙酰乙酐化合物为原料所形成的六元环化合物，经氢氧化钾碳酸钾成盐而得。它被发现以来，经过近 20 年的毒理学试验和严格的审查，证明该物质对人体安全无害，是一种理想的食用甜味剂，但是最近有报道指出，安赛蜜会导致糖尿病人的血压升高，过量使用会对人体造成伤害。

糖精钠又称为糖精，为邻苯磺亚胺盐，分子式： $C_7H_4O_3NSNa \cdot 2H_2O$ 结构式为



是最早食用的化学合成甜味剂。由于他的价格低，不参加代谢，提供能量，摄入后不会引起人体发胖，不影响口腔卫生，且性质稳定，所以用途非常广泛。在上个世纪，科学家们通过老鼠实验发现糖精具有致癌性。1983年5月，许多科学家聚集在 Duck 大学，对糖精的安全问题行了最权威的评价，他们认为：白鼠摄入大量的糖精后出现各种明显的生理特性和生化变化，但异常变化不会在人体正常的摄入范围内出现。1979年，美国国家癌症研究所（NCD）的一份报告认为，通过对9000人分析表明：人体较长时间（20年）摄入任何形式的糖精不会有增加癌症发病率的可能，但是对糖精的安全问性题还在研究，糖精钠的安全性也备受争议。

随着人们的食品安全意识不断提高，在不同国家都出台了严格的法律用以约束食品添加剂的使用。在食品添加剂的使用方面，很多国家都遵循世界粮农组织和世界卫生组织联合委员会关于食品添加剂的建议（JECFA），其中规定糖精钠的每天允许摄入量（ADI）为0-5mg/kg 体重，安赛蜜为0-15 mg/kg 体重，苯甲酸及其盐为0-5 mg/kg 体重，山梨酸及其盐为0-25 mg/kg 体重。我们国家食品添加剂卫生标准规定：瓜子炒货类食品中安赛蜜的最大使用量为3.0 g/kg，糖精钠的最大使用量为1.2 g/kg，饮料类食品中安赛蜜最大使用量为0.30 g/kg，糖精钠最大使用量为0.15 g/kg，话梅、陈皮、蜜饯类食品中安赛蜜最大使用量为0.30 g/kg，糖精钠最大使用量为5.0 g/kg。

食品添加剂过量使用会危害人体健康，添加剂的危害也主要来自滥用添加剂，所以对食品中的添加剂含量进行检测并加以控制，具有重要意义。

一、实验目的

- 1、了解和掌握高效液相色谱法在食品添加剂检测中的应用；
- 2、了解食品中甜味剂的作用。学会对食品中甜味剂进行监控的方法；
- 3、加深对食品安全重要性的认识,培养分析问题和解决问题的能力。

二、实验原理

高效液相色谱法是现代分离测定的重要手段，具有分析速度快、分离效率高、

灵敏度好和操作自动化等优点，被广泛应用于无机分析、生化分析、食品分析、医药领域和环境分析中，尤其在食品分析中起着重要作用，用来检测食品中多种添加剂，如：甜味剂、防腐剂、氨基酸、抗氧化剂等^[1]。

目前，反相液相色谱(RP-HPLC)在分离食品添加剂中的应用得到发展，已用来分离食品中的糖精钠、安赛蜜、苯甲酸、山梨酸。反相液相色谱的优点是：它是一个动态过程，在检测过程样品的消耗量小，定性分析过程中只需测定保留时间。离子对液相色谱法和胶束电动色谱法，在同时测定食品中的防腐剂和甜味剂也已经被报道。在很多食品检测的案例中，食品中往往是不止含有一种添加剂，一些低热量的软饮料中同时含有防腐剂和甜味剂，能同时测定食品中的人工合成甜味剂和防腐剂的的分析方法是很有用的^[2]。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

仪器：岛津 LC-20AT 型高效液相色谱仪（日本岛津公司），包括：二元泵，自动进样器，柱温箱，二极管阵列检测器，LC-solution 色谱工作站；分析天平（ALC-210.4）；KQ-100DE 型数控超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）。

试剂：乙酸铵（色谱纯）；甲醇（色谱纯）；糖精钠和安赛蜜标准品（Sigma 公司）。

2.2 色谱条件

色谱柱为 Shim-pack VP-ODS (150×4.6 mm, 5 μm) 色谱柱，流动相为甲醇和 0.02 mol/L 乙酸铵溶液（体积比 16:84），流速为 1 mL/min，检测波长为 230 nm，进样量为 5 μL，柱温为常温，采用外标法定量。

2.3 溶液制备

2.3.1 标准储备液的制备

糖精钠标准储备液的制备：精密称取糖精钠对照品 0.0222 g，用超纯水稀释至 100 mL，摇匀。

安赛蜜标准储备液的制备：精密称取安赛蜜对照品 0.0555 g，用超纯水稀释至 100 mL，摇匀。

糖精钠和安赛蜜的混合标准储备液的制备：精密称取糖精钠对照品 0.0114 g 和安赛蜜对照品 0.0104 g，用超纯水稀释至 100 mL，摇匀。

2.3.2 标准工作液的制备

精密吸取混合标准储备液 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL，分别稀释至 2 mL，摇匀。安赛蜜浓度依次为 0.0104、0.0208、0.0312、0.0416、0.0520 g/L，糖精钠浓度依次为 0.0114、0.0228、0.0342、0.0456、0.0570 g/L，经 0.45 μm 滤膜过滤，上机测定。

2.3.3 供试品溶液的制备

瓜子和话梅类供试品溶液的制备：剪碎，称取样品约 5 g，加少量水，超声提取 30 min，使样品中的添加剂充分溶入水中，用水稀释至 50 mL，摇匀，静置一段时间，取上清液经 0.45 μm 滤膜过滤后上机测定。

可乐类的供试品溶液制备：量取 25 mL，放入超声仪中超声 30 min，除去可乐中的 CO₂ 气体，经 0.45 μm 滤膜过滤后上机测定。

3 结果与讨论

3.1 标准曲线的绘制

按上述色谱条件，分别吸取系列标准工作液各 5 μL 、混合标准工作液 5 μL 进样，以测得峰面积为纵坐标，以浓度为横坐标，绘制安赛蜜和糖精钠的标准曲线。

3.2 精密度实验

精密吸取 2 mL 标准储备液，加水稀释至 6 mL，摇匀，经 0.45 μm 滤膜过滤后，连续进样 5 次，根据测得峰面积，求出相应浓度，计算安赛蜜和糖精钠的 RSD。

3.3 稳定性实验

精密吸取标准储备液 0.8 mL，加水稀释至 4 mL，摇匀，经 0.45 μm 滤膜过滤后，分别于 0、4、8、12、24、48 小时进样，根据峰面积和标准曲线求出相应的浓度，计算 RSD，说明样品测定液中安赛蜜和糖精钠的稳定性。

3.4 方法回收率实验

取三种可乐供试品溶液各 5 mL，加水稀释至 10 mL，分别吸取 0.25 mL 两份，一份加水稀释至 2.5 mL，另一份加 1 mL 混合标准储备液，用水稀释至 2.5 mL，吸取 5 μL 进样，根据测得结果，分别计算出各样品中安赛蜜和糖精钠添加量，回收量，计算回收率。

3.5 样品含量测定

取瓜子、蜜饯和可乐类供试品溶液，进行检测，求出各样品中安赛蜜和糖精钠的浓度，样品重量以千克为单位，计算出每千克样品对应添加剂的量。

4 结论

参考文献

- [1] Catherine O.,Thompson V..Micellar electrokinetic capillary chromatographic determination of artificial sweeteners in low-Joule soft drinks and other foods. Journal of Chromatography A, 1995: 507~514.
- [2] E. Cubuk Demirala , G. Ozkan, Z. Guzel-Seydim. Isocratic Separation of Some Food Additivesby Reversed Phase Liquid Chromatography. Chromatographia, 2006:91~92.
- [3]牛培志,康明丽. 甜味剂的种类、功能及发展趋势. 山西食品工业, 2004 (2): 2~3.
- [4] 张 琰, 赵堡宁, 隋明辉. 食品添加剂发展现状及使用中存在的问题. 肉类工业, 2007 (4): 37.
- [5] 汪文陆, 陈子昂, 李韶雄. 新型低热量甜味剂——安赛蜜 (A-K 糖) .
- [6] 田丽铁, 田年寿. 第四代合成甜味剂——安赛蜜. 食品科学, 1998 (8): 19.
- [7]《食品添加剂分析检验手册》[M]. 中国食品添加剂生产应用工业协会编制. 中国轻工业出版社 , 1999
- [8]GB-食品添加剂卫生标准. 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 全国食品添加剂标准化技术委员会秘书处.

(宋丹丹提供)