

一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法

技术领域

本发明属于食品检测技术领域，具体涉及一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法。

背景技术

乙酰磺胺酸钾是泡菜产品中主要添加的甜味剂之一，因其是人工合成甜味剂，经常食用含乙酰磺胺酸钾的泡菜食品会在人体内残留，对人体造成一定危害。《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》GB 2760 标准中规定腌渍的蔬菜限量值为0.3 g/kg,而目前我国泡菜产品大多都添加了乙酰磺胺酸钾作为甜味剂，每年国家针对泡菜产品监督抽检也要求检验此项目，但目前国家或者行业内都没有对泡菜产品中乙酰磺胺酸钾形成统一的检测标准，只有一个关于《饮料中乙酰磺胺酸钾的测定》GB/T 5009.140-2003 的检测标准，大多泡菜企业都是参照该方法来进行检测工作。此外，由于各个泡菜企业实验室之间采用的前处理方法有所不同，容易造成检测数据参差不齐，从而无法保证泡菜成品质量安全。因此针对泡菜产品的乙酰磺胺酸钾检测问题应该受到重视，并亟需建立一种科学合理、准确率和可信度高且操作简单的泡菜中乙酰磺胺酸钾的检测方法。

发明内容

针对现有技术存在的上述问题，本发明提供一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法，该检测方法设计科学合理，操作简单，重现性好，检测准确率和可信度高，并为建立泡菜中乙酰磺胺酸钾的检测标准提供参考。本发明的技术方案为：

说明书

一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法，包括以下步骤：

步骤 1：配制浓度为 4.0~20.0 $\mu\text{g/ml}$ 的乙酰磺胺酸钾标准溶液；

步骤 2：配制泡菜样品溶液，具体包括：

步骤 2-1：将泡菜样品粉碎后加入超纯水和乙酸铅溶液混合均匀；

步骤 2-2：加入超纯水定容后调节 pH 至中性，超声提取；

步骤 2-3：提取完毕离心，将上清液收集后微滤；

步骤 3：采用二极管阵列高效液相色谱法和外标法检测微滤后的泡菜样品。

进一步地，所述步骤 1 中配制浓度为 4.0~20.0 $\mu\text{g/ml}$ 的乙酰磺胺酸钾标准溶液包括：

(1) 称取 0.1000g 乙酰磺胺酸钾标准物质，用体积比为 1:1 的甲醇-水溶液溶解后再用其定容至 100mL，配置成浓度为 1g/L 的乙酰磺胺酸钾标准母液；

(2) 从母液中准确吸取 0.4mL、0.8mL、1.2mL、1.6mL、2.0mL 至 100mL 容量瓶中，用体积比为 5:95 的甲醇和 0.02mol/L 乙酸铵溶液配制成混合溶液定容，分别配制成 4.0 $\mu\text{g/ml}$ 、8.0 $\mu\text{g/ml}$ 、12.0 $\mu\text{g/ml}$ 、16.0 $\mu\text{g/ml}$ 、20.0 $\mu\text{g/ml}$ 的乙酰磺胺酸钾标准溶液。

进一步地，所述步骤 2-1 中乙酸铅溶液的浓度为 0.02-0.05g/mL，加入量为 0.1-0.2mL/g 泡菜样品。

进一步地，所述步骤 2-2 中调节 pH 采用氨水。

进一步地，所述步骤 2-2 中超声提取的控制参数为：超声频率 20-50KHz，温度控制在 40-50 $^{\circ}\text{C}$ 。

进一步地，所述步骤 2-3 中离心的控制参数为：离心转速 3500-4000r/min，时间 3-5min。

进一步地，所述步骤 3 中高效液相色谱法的控制条件为：

1) 色谱柱：C18 150mm \times 4.6 μm ；

2) 流动相：有机相为甲醇，水相为 0.02mol/L 乙酸铵溶液，且甲醇与乙酸

铵溶液的体积比为 5: 95;

3) 泵: 二元泵/四元泵;

4) 流速: 1mL/min;

5) 柱温: 35℃;

6) 进样量: 10μL;

7) 检测器: 二极管阵列检测器的检测波长为 230nm。

本发明的有益效果在于: 本发明的检测泡菜食品中乙酰磺胺酸钾的方法科学合理, 过程简单, 重现性好, 干扰少且准确度高, 为建立泡菜中乙酰磺胺酸钾的检测标准提供参考。

附图说明

图 1 为本发明实施例 1 中乙酰磺胺酸钾标准溶液曲线图。

图 2 为本发明实施例 1 中乙酰磺胺酸钾的二极管阵列检测器色谱图。

图 3 为本发明实施例 1 中乙酰磺胺酸钾的二极管阵列检测器扫描所得二维光谱图。

图 4 为本发明实施例 1 中乙酰磺胺酸钾的二极管阵列检测器扫描所得三维光谱图。

图 5 为本发明实施例 1 中泡菜样品实际乙酰磺胺酸钾的检测结果显示。

图 6 为本发明实施例 2 中泡菜样品实际乙酰磺胺酸钾的检测结果显示。

图 7 为本发明实施例 3 中泡菜样品实际乙酰磺胺酸钾的检测结果显示。

图 8 为本发明对比例 1 中泡菜样品实际乙酰磺胺酸钾的检测结果显示。

图 9 为本发明对比例 2 中乙酰磺胺酸钾标准溶液色谱图。

图 10 为本发明对比例 2 中泡菜样品实际乙酰磺胺酸钾的检测结果显示。

具体实施方式

本发明实施例采用的液相色谱仪为 Agilent1200 液相色谱仪，其二极管阵列检测器（DAD）的光谱扫描波长范围为 190-700nm。

本发明实施例采用的超纯水符合《GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法》中一级水要求。

在本发明的描述中，需要说明的是，实施例中未注明具体条件者，按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者，均为可以通过市售购买获得的常规产品。

下面结合附图和具体的实施例对本发明做进一步详细说明，所述是对本发明的解释而不是限定。

实施例 1

本实施例提供一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法，包括以下步骤：

步骤 1：配制浓度为 4.0~20.0 μ g/ml 的乙酰磺胺酸钾标准溶液；具体包括：

（1）称取 0.1000g 乙酰磺胺酸钾标准物质，用体积比为 1:1 的甲醇-水溶液溶解后再用其定容至 100mL，配置成浓度为 1g/L 的乙酰磺胺酸钾标准母液；

（2）从母液中准确吸取 0.4mL、0.8mL、1.2mL、1.6mL、2.0mL 至 100mL 容量瓶中，用体积比为 5:95 的甲醇和 0.02mol/L 乙酸铵溶液配制成混合溶液定容，分别配制成 4.0 μ g/ml、8.0 μ g/ml、12.0 μ g/ml、16.0 μ g/ml、20.0 μ g/ml 的乙酰磺胺酸钾标准溶液。

步骤 2：配制泡菜样品溶液，该泡菜样品为市售某品牌橄榄菜（228g/袋）。配制方法具体包括：

步骤 2-1：将泡菜样品粉碎后加入超纯水和乙酸铅溶液混合均匀，其中，乙酸铅溶液的浓度为 0.03g/mL，加入量为 0.15mL/g 泡菜样品；

步骤 2-2：加入超纯水定容后用氨水调节 pH 至中性，超声提取，超声频率为 30KHz，温度控制在 40-45℃；

步骤 2-3：提取完毕离心，离心转速为 4000r/min，时间 5min，将上清液收

集后微滤；

步骤 3：采用二极管阵列高效液相色谱法和外标法检测微滤后的泡菜样品，其中，高效液相色谱法的控制条件为：

- 1) 色谱柱：C18 150mm×4.6μm；
- 2) 流动相：有机相为甲醇，水相为 0.02mol/L 乙酸铵溶液，且甲醇与乙酸铵溶液的体积比为 5：95；
- 3) 泵：二元泵/四元泵
- 4) 流速：1mL/min；
- 5) 柱温：35℃；
- 6) 进样量：10μL；
- 7) 检测器：二极管阵列检测器的检测波长为 230nm。

本实施例的实验结果分析：

1、标准曲线图

标准溶液浓度系列：0.0、4.0、8.0、12.0、16.0、20.0 mg/ml。如图 1 所示，标准系列相关系数为 0.9999，在线性范围内的值，线性良好。

2、标准溶液色谱图

如图 2 所示，乙酰磺胺酸钾标准溶液出峰时间在 3.5min 附近，在该时间点有着良好的分离度。

3、二维和三维光谱图

如图 3、4 所示，乙酰磺胺酸钾的二极管阵列检测器扫描所得二维和三维光谱图，可以通过查看乙酰磺胺酸钾在波长 190-265nm 内有紫外吸收，其次可通过得出光谱图形状可对乙酰磺胺酸钾进行定性。

4. 检测结果

该产品通过以上步骤测试，其上机测得泡菜处理后溶液峰面积为 98.3，如图 5 所示，带入标准曲线计算所得该产品乙酰磺胺酸钾含量为 0.029g/kg。

5、回收率，如表 1 所示：

表 1 回收率结果

说 明 书

准确度（空白样品加标）	加标量（mg）	回收率（%）		
		1	2	3
	0.06	94	94	95
	0.5	96	99	97
	1.5	99	98	99

由表 1 中的实验数据可以看出，回收率处于一个合理范围内，样品乙酰磺胺酸钾含量越高，回收率越稳定。

6、方法精密度，如表 2 所示：

表 2 精密度结果

方法精密度	样品平行	1	2	3	4	5	6	7
	峰面积	358.7	370.2	356.8	365.3	371.0	369.2	355.5
	检测结果	0.093	0.096	0.093	0.095	0.096	0.096	0.092
	RSD	1.8%						

由表 2 中的实验数据可以看出，方法 RSD 值较小，说明实验重复性好，实验结果准确可靠，该方法精密度高。

7、方法检出限

按照上述处理方法处理后的样品，通过加标测算信噪比，当 S/N（信噪比）=3 时，得出本方法定性检出限为 3mg/kg。当 S/N（信噪比）=10 时，得出本方法定量检出限为 10mg/kg。

实施例 2

与实施例 1 的区别在于泡菜产品为：该泡菜样品为红油豇豆（180g/袋），来自市售产品，其他同实施例 1。

本实施例的实验结果分析：该产品通过以上步骤测试，其上机测得泡菜处理后溶液峰面积为 335.2，如图 6 所示，带入标准曲线计算所得该产品乙酰磺胺酸钾含量为 0.10g/kg。

实施例 3

与实施例 1 的区别在于泡菜产品为：该泡菜样品为香辣大头菜（80g/袋），来自市售产品，其他同实施例 1。

本实施例的实验结果分析：该产品通过以上步骤测试，其上机测得泡菜处理后溶液峰面积为 417.9，如图 7 所示，带入标准曲线计算所得该产品乙酰磺胺酸钾含量为 0.13g/kg。

对比例 1

本对比例提供一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法，采用的泡菜样品同实施例 1，参考《饮料中乙酰磺胺酸钾的测定》GB/T 5009.140-2003 的检测标准，具体过程如下：

（1）称取 0.1000g 乙酰磺胺酸钾标准物质，用体积比为 1:1 的甲醇-水溶液溶解后再用其定容至 100mL，配置成浓度为 1g/L 的乙酰磺胺酸钾标准母液；

（2）从母液中准确吸取 0.4mL、0.8mL、1.2mL、1.6mL、2.0mL 至 100mL 容量瓶中，用体积比为 5:95 的甲醇和 0.02mol/L 乙酸铵溶液配制成混合溶液定容，分别配制成 4.0μg/ml、8.0μg/ml、12.0μg/ml、16.0μg/ml、20.0μg/ml 的乙酰磺胺酸钾标准溶液。

（3）泡菜样品粉碎后，称取 2.5g 试样，加入超纯水约 20mL 混匀后，用离心机在 4000r/min 离心 15min。

（4）上清液全部转入中性氧化铝柱，待水溶液流至主表面时，再用体积比为 5:95 的甲醇和 0.02mol/L 乙酸铵溶液配制成混合溶液洗脱。

（5）收集洗脱液 25mL，超声脱气，此液作为液相色谱分析用。

（6）液相色谱法的控制条件为：

1）色谱柱：C18 150mm×4.6μm；

2）流动相：有机相为甲醇，水相为 0.02mol/L 乙酸铵溶液，且甲醇与乙酸铵溶液的体积比为 5：95；

3）泵：二元泵/四元泵；

4）流速：1mL/min；

5) 柱温: 35℃;

6) 进样量: 10μL;

7) 检测器: 二极管阵列检测器的检测波长为 214nm。

本对比例的实验结果分析:

1、检测结果

该产品通过以上步骤测试, 其上机测得泡菜处理后溶液峰面积为 82.1, 如图 8 所示, 带入标准曲线计算所得该产品乙酰磺胺酸钾含量为 0.025g/kg。因此相对于实施例 1 的方法, 样品乙酰磺胺酸钾检测结果低于本发明。

2、回收率, 如表 3 所示:

表 3 回收率结果

	加标量 (mg)	回收率 (%)		
		1	2	3
准确度 (空白样品 加标)	0.06	86	86	89
	0.5	92	93	93
	1.5	95	96	94

由表 3 中的实验数据可以看出, 回收率处于一个合理范围内, 但是要经过中性氧化铝柱过柱, 并不能保证所有乙酰磺胺酸钾都能洗脱。因此相对于实施例 1 的方法, 样品回收率整体低于本发明。

3、方法精密度, 如表 4 所示:

表 4 精密度结果

方法精 密度	样品平行	1	2	3	4	5	6	7
	峰面积	338.4	340.5	321.3	345.9	348.6	339.4	326.8
	检测结果	0.091	0.092	0.088	0.093	0.094	0.092	0.089
	RSD	2.6%						

由表 4 中的实验数据可以看出，参考方法饮料中乙酰磺胺酸钾的测定 RSD 值为 2.6%，也是因为经过中性氧化铝柱过柱，并不能保证所有乙酰磺胺酸钾都能洗脱，造成检测数据波动性较大，因此该方法实验结果 RSD 值比本发明实施例 1 的大。

对比例 2

本对比例提供一种检测泡菜中乙酰磺胺酸钾的方法，与实施例 1 的区别在于采用岛津液相色谱仪（带紫外检测器）。

本对比例的实验结果分析：

1、标准溶液色谱图

如图 9 所示，乙酰磺胺酸钾标准溶液出峰时间在 5.2min 附近，在该时间点有着良好的分离度。但是无法看到二维光谱图形状和三维光谱图形状，无法通过观察光谱图定性，只能通过出峰时间来定性，在复杂的基质样品中，有可能造成杂峰在 5.2min 出峰时，不能进一步确认乙酰磺胺酸钾。

2、检测结果

将市售橄榄菜（228g/袋）产品按照实施例 1 的步骤进行前处理，采用岛津液相色谱仪（带紫外检测器）进行检测，如图 10 所示，带入标准曲线计算所得该产品乙酰磺胺酸钾含量为 0.030g/kg。因此相对于实施例 1 的方法，样品中乙酰磺胺酸钾检测结果和本发明检测结果无明显差异。

3、回收率，如表 5 所示：

表 5 回收率结果

	加标量（mg）	回收率（%）		
		1	2	3
准确度（空白样品加标）	0.06	93	94	95
	0.5	97	98	98
	1.5	99	98	99

由表 5 中的实验数据可以看出，回收率处于一个合理范围内，回收率与检测器无关。

4、方法精密度，如表 6 所示：

表 6 精密度结果

	样品平行	1	2	3	4	5	6	7
方法精密度	峰面积	358.7	370.2	356.8	365.3	371.0	369.2	355.5
	检测结果	0.093	0.096	0.093	0.095	0.096	0.096	0.092
	RSD	1.8%						

由表 6 中的实验数据可以看出，该方法 RSD 值较小，实验重复性好，实验精密度与检测器无关。尽管对比例 2 采用普通液相色谱仪也能获得准确的结果，但是由于无法通过光谱图进行定性，单纯只能通过出峰时间来确定目标峰，一旦有杂质峰与目标峰重合，则会产生较大测量误差，造成检查结果的不确定性。

综上，本发明采用以上技术方案，样品经过粉碎过后，加入乙酸铅沉淀蛋白质，用氨水将样品溶液 pH 值调到中性，经过超声波提取，离心所得上清液再经过微孔滤膜过滤，再上机测试，通过乙酰磺胺酸钾光谱图吸收范围、三维光谱图和保留时间定性，其优点在于：一、样品溶液含有少量蛋白质，加入乙酸铅可沉淀蛋白质。二是用氨水把样品溶液 pH 值调到中性，可确保每个样品中乙酰磺胺酸钾出峰时间稳定，便于定性。三是采用 230nm 检测波长，可避免在采用 190-230nm 波长段检测时引起的基线噪音较大问题，确保基线平稳，提高检测数据准确性。四是采用二极管阵列检测器，能扫描乙酰磺胺酸钾光谱图，可得到二维光谱图和三维光谱图，由于具有紫外吸收的物质在每个波段吸收强度不同，因此每种具有紫外吸收的物质都有自己独特的吸收光谱图。五是可通过样品中检测得到的光谱图形状与标准溶液检测得到的光谱图形状进行对比，如果光谱图形状重合，可以初步对乙酰磺胺酸钾进行定性，再根据出峰时间进一步定性。而采用单一的紫外检测器只能用出峰时间来定性，不能确保目标物质的准确性。本发明预处理后溶液清澈透明，且该预处理方法操作简单，

时间短，重现性好，能够满足大量样品的快速检测要求，其采用二极管阵列检测器，通过光谱图可有效进行初步定性，保证结果准确可靠。

以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明的保护范围应以所附权利要求为准。