



中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

食品安全国家标准 食品中爱德万甜的测定

(征求意见稿)

食品安全国家标准
征求意见稿

××××-××-××发布

××××-××-××实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

食品安全国家标准

食品中爱德万甜的测定

1 范围

本标准规定了食品中爱德万甜的测定方法。

第一法液相色谱-串联质谱法，适用于发酵乳和风味发酵乳、冷冻饮品、加工水果、可可制品、巧克力和巧克力制品以及糖果、蛋制品、复合调味料、饮料、果冻、白酒中爱德万甜含量的测定。

第二法液相色谱法，适用于加工水果、饮料中爱德万甜含量的测定。

第一法 液相色谱-串联质谱法

2 原理

试样采用乙腈水溶液振荡提取，提取液经液相色谱-串联质谱仪测定，外标法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为色谱纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 乙腈 (CH₃CN)。

3.1.2 甲醇 (CH₃OH)。

3.1.3 甲酸 (HCOOH)

3.2 试剂配制

3.2.1 0.1%甲酸水溶液：移取 1 mL 甲酸，用水稀释定容至 1 L，混匀。

3.2.2 乙腈-水溶液 (8+2)：量取 800 mL 乙腈，加水 200 mL，混匀。

3.2.3 乙腈-水溶液 (3+7)：量取 300 mL 乙腈，加水 700 mL，混匀。

3.3 标准品

3.3.1 爱德万甜 (Advantame, C₂₄H₃₀N₂O₇·H₂O, CAS 号：714229-20-6)：纯度≥99%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 爱德万甜标准储备溶液 (1.00 mg/mL)：准确称取爱德万甜标准品 10 mg (精确至 0.1 mg)，用甲醇溶解并定容至 10 mL，混匀。-18 ℃下密封保存，有效期 6 个月。

3.4.2 爱德万甜标准中间溶液 (10.0 μg/mL)：准确移取标准储备溶液 (3.4.1) 1.00 mL 于 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释定容至刻度，混匀。此溶液 4℃避光密封保存，有效期 3 个月。

3.4.3 爱德万甜标准使用溶液（100 ng/mL）：准确移取标准中间溶液（3.4.2）0.10 mL 于 10 mL 容量瓶中，用乙腈-水溶液（8+2）稀释定容至刻度，混匀。临用前配制。

3.5 材料

3.5.1 微孔滤膜（有机相）：0.22 μm 。

4 仪器和设备

4.1 液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾离子源（ESI）。

4.2 分析天平：感量 1 mg 和 0.1 mg。

4.3 均质器。

4.4 涡旋振荡器。

4.5 水浴锅。

4.6 超声波清洗器。

4.7 离心机：转速不小于 4000 r/min。

5 分析步骤

5.1 试样制备

取适量有代表性的样品，饮料、白酒等液体样品直接混匀；发酵乳和风味发酵乳、冷冻饮品、加工水果、可可制品、糖果、蛋制品、复合调味料、果冻等样品匀浆或粉碎均匀；巧克力采用 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右水浴加热熔融并趁热充分搅拌均匀。

注：碳酸饮料需除去二氧化碳。

5.2 试样提取

5.2.1 发酵乳和风味发酵乳、冷冻饮品、加工水果、可可制品、复合调味料、蛋制品、饮料类、果冻、糖果（不含胶基）

称取 2 g 混合均匀的试样（精确至 0.001 g），置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 乙腈-水溶液（8+2）振荡提取 10 min，以 4000 r/min 离心 5 min 后，上清液转移至 20 mL 容量瓶，于残渣中再加入 5 mL 乙腈-水溶液（8+2）涡旋混匀后振荡提取 10 min，以 4000 r/min 离心 5 min，上清液转至同一 20 mL 容量瓶中，用乙腈-水溶液（8+2）定容至刻度，混匀，经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤，滤液供液相色谱-串联质谱仪测定。

5.2.2 巧克力及其制品

称取 2 g 混合均匀的试样（精确至 0.001 g），置于 50 mL 离心管中，60 $^{\circ}\text{C}$ 左右加热熔融，并趁热加入 10 mL 乙腈-水溶液（8+2）振荡提取 10 min，以 4000 r/min 离心 5 min，上清液转移至 20 mL 容量瓶，残渣经 60 $^{\circ}\text{C}$ 左右加热熔融后，趁热加入 8 mL 乙腈-水溶液（8+2）振荡提取 10 min，以 4000 r/min 离心 5 min，上清液转至同一 20 mL 容量瓶中，溶液冷却至室温后，用乙腈-水溶液（8+2）定容至刻度，混匀，经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤，滤液供液相色谱-串联质谱仪测定。

5.2.3 胶基糖果

称取 1 g 混合均匀的试样（精确至 0.001 g），置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 乙腈-水₂

溶液(3+7)振荡提取10 min,以4000 r/min离心5 min后,上清液转移至20 mL容量瓶,于残渣中再加入8 mL乙腈-水溶液(3+7)涡旋混匀后振荡提取10 min,以4000 r/min离心5 min,上清液转至同一20mL容量瓶中,用乙腈-水溶液(3+7)定容至刻度,混匀,经0.22 μm有机微孔滤膜过滤,滤液供液相色谱-串联质谱仪测定。

5.2.4 白酒

称取10 g均匀的试样(精确至0.001 g),置于50 mL烧杯中,沸水浴蒸发至近干,准确移取5.00 mL乙腈-水溶液(8+2)复溶(可盖上表面皿进行超声加速溶解),混匀。经0.22 μm有机微孔滤膜过滤,滤液供液相色谱-串联质谱仪测定。

注:在实际样品测定中,可根据样品浓度调整稀释倍数,同时用等稀释倍数的空白基质配制标准曲线溶液后再测定。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 液相色谱参考条件

- a) 液相色谱柱: C₁₈色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3.5 μm),或性能相当色谱柱。
- b) 色谱柱柱温: 35 ℃。
- c) 流动相: (A) 甲醇; (B) 0.1%甲酸水溶液; 洗脱梯度参考条件见表1。
- d) 流速: 0.3 mL/min。
- e) 进样体积: 2 μL。

表1 色谱洗脱梯度参考条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	40.0	60.0
1.00	40.0	60.0
1.10	95.0	5.0
5.00	95.0	5.0
5.10	40.0	60.0
10.00	40.0	60.0

5.3.2 质谱参考条件

- a) 电离模式: 电喷雾(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) 其他参考质谱条件:

毛细管电压: 4500 V;	碰撞气: 氮气;
锥口电压: 1000 V;	氮气流量: 5.0 L/min;
离子源温度: 350 ℃;	鞘气流速: 11 L/min;
鞘气温度: 300 ℃;	监测离子参数情况见表2。

表 2 爱德万甜特征离子参考条件

化合物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能 (eV)
爱德万甜 (Advantame)	459.1	101.9*	120	30
		251.9	120	20
		192.1 ^a	120	30
		83.9 ^a	120	35

注：*为定量离子；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；^a为参考定性离子对，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。

5.4 定性测定

5.4.1 保留时间

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±2.5%之内。

5.4.2 定量离子、定性离子及相对离子丰度比

每种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，且同一检验批次，对同一化合物，样品中目标化合物的两个子离子的相对丰度比与浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表3规定的范围。

表 3 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	20~50	10~20	≤10
允许相对偏差/%	±20	±25	±30	±50

5.5 定量测定

5.5.1 标准曲线的制作

取各空白基质试样，按 5.1.2 方法处理分别制得空白基质溶液。移取适量 100 ng/mL 爱德万甜标准使用溶液，空白基质溶液稀释配制成 0.5 ng/mL、1.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL 标准系列工作溶液，临用前配制，供液相色谱-串联质谱测定。

将标准系列工作液分别注入液相色谱质谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以爱德万甜峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。爱德万甜标准溶液液相色谱-质谱图参见附录A。

5.6 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱质谱仪中，得到爱德万甜峰面积，根据校准曲线得到待测溶液中爱德万甜的浓度。

待测样液中爱德万甜的响应值应在标准曲线线性范围内，浓度超过线性范围的样品则应稀释后重新进样分析。

5.7 空白试验

不称取试样，按照5.2 的步骤做空白试验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

6 分析结果的表述

试样中爱德万甜含量按式（1）计算：

$$X = \frac{\rho \times V \times f \times 1000}{m \times 1000 \times 1000 \times 1000}$$

.....（1）

式中：

X ——试样中爱德万甜的含量，单位为克每千克（g/kg）；

ρ ——试样测定液中爱德万甜的浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试液定容体积，单位为毫升（mL）；

f ——试液稀释因子；

m ——试样的称样量，单位为克（g）；

1000——换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

7 精密度

爱德万甜含量在 0.0003 mg/kg~5 mg/kg（不包含 5 mg/kg）范围时，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 20%；

爱德万甜含量在 5 mg/kg~120 mg/kg 范围时，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 10%。

8 其他

白酒样品当取样量为 10 g，定容 5 mL 时，爱德万甜检出限为 0.0001 mg/kg，定量限为 0.0003 mg/kg；含胶基糖果样品当取样量为 1 g，定容 20 mL 时，爱德万甜检出限为 0.004 mg/kg，定量限为 0.010 mg/kg；其余样品当取样量为 2 g，定容 20 mL 时，爱德万甜检出限为 0.002 mg/kg，定量限为 0.005 mg/kg。

第二法 液相色谱法

9 原理

试样采用乙腈水溶液振荡提取，提取液经液相色谱分离，荧光检测器检测，外标法定量。

10 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为色谱纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

10.1 试剂

10.1.1 乙腈（CH₃CN）。

10.1.2 甲醇（CH₃OH）。

10.2 试剂配制

同 3.2.3。

10.3 标准品

同 3.3.1。

10.4 标准溶液配制

10.4.1 爱德万甜标准储备溶液（1.00 mg/mL）：同 3.4.1。

10.4.2 爱德万甜标准中间溶液（10.0 μg/mL）：准确移取爱德万甜标准储备溶液（10.4.1）0.10 mL 于 10 mL 容量瓶中，用乙腈-水溶液（3+7）稀释定容至刻度，混匀。临用前配制。

10.4.3 爱德万甜标准使用溶液（1.00 μg/mL）：准确移取爱德万甜标准中间溶液（10.4.2）1.00 mL 于 10 mL 容量瓶中，用乙腈-水溶液（3+7）稀释定容至刻度，混匀。临用前配制。

10.5 材料

10.5.1 微孔滤膜（有机相）：0.22 μm。

11 仪器和设备

11.1 液相色谱仪：配荧光检测器。

11.2 分析天平：感量 1 mg 和 0.1 mg。

11.3 均质器。

11.4 涡旋振荡器。

11.5 超声波清洗器。

11.6 离心机：转速不低于 4000 r/min。

12 分析步骤

12.1 试样处理

取适量有代表性的样品，饮料液体样品直接混匀；加工水果匀浆或粉碎混合均匀。

注：碳酸饮料需除去二氧化碳。

12.2 试样提取

称取 2 g 混合均匀的试样（精确至 0.001 g），置于 50 mL 离心管中，加乙腈-水溶液（3+7）10 mL 振荡提取 10 min，以不低于 4000 r/min 转速离心 5 min 后，上清液转移至 20 mL 容量瓶，于残渣中再加乙腈-水溶液（3+7）5 mL 涡旋混匀后振荡提取 10 min，以不低于 4000 r/min 转速离心 5 min，上清液转至同一 20 mL 容量瓶中，用乙腈-水溶液（3+7）定容至刻度，混匀，经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤，滤液供液相色谱仪测定。

注：澄清液体样品取样后，用乙腈-水溶液（3+7）定容至 20 mL 容量瓶刻度，混匀，经 0.22 μm 有机微孔滤膜过滤，滤液供液相色谱仪测定。

12.3 仪器参考条件

12.3.1 液相色谱参考条件

a) 液相色谱柱：C₁₈ 色谱柱（4.6mm×250mm, 5 μm），或性能相当色谱柱。

b) 色谱柱柱温：35 ℃。

c) 检测器：荧光检测器，激发波长：230nm，发射波长：320nm。

d) 流动相：(A) 乙腈；(B) 水；洗脱梯度参考条件见表 4。

e) 流速：1.0 mL/min。

f) 进样体积：20 μL。

表 4 色谱洗脱梯度参考条件

时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0.00	20.0	80.0
5.00	20.0	80.0
10.0	40.0	60.0
17.00	60.0	40.0
20.00	80.0	20.0
20.10	20.0	80.0
24.00	20.0	80.0

12.4 定量测定

12.4.1 校准曲线的制作

准确移取适量爱德万甜标准使用溶液，用乙腈-水溶液（3+7）溶液稀释配制成 0.05 μg/mL、0.10 μg/mL、0.50 μg/mL、1.00 μg/mL、5.00 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL 标准系列工作溶液。临用前配制，供液相色谱测定。

将标准系列工作溶液分别注入液相色谱仪中，测定相应的峰面积，以标准工作液的浓度为横坐标，以爱德万甜峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。爱德万甜标准溶液及典型样品的液相色谱图参见附录B。

12.4.2 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中，得到爱德万甜峰面积，根据校准曲线得到待测溶液中爱德万甜的浓度。

待测样液中待测化合物的响应值应在标准曲线线性范围内，浓度超过线性范围的样品则应稀释后重新进样分析。

12.4.3 空白试验

不称取试样，按照12.2 的步骤做空白试验。应确认不含有干扰待测组分的物质。

13 分析结果的表述

试样中爱德万甜的含量按公式（2）：

$$X = \frac{\rho \times V \times f \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中待测组分的含量，单位为克每千克（g/kg）；

ρ ——试液中待测组分的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）；

V ——试液定容体积，单位为毫升（mL）；

f —— 试液稀释因子；

m ——试样的称样量，单位为克（g）；

1000——换算系数；

计算结果保留三位有效数字。

14 精密度

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 10%。

15 其他

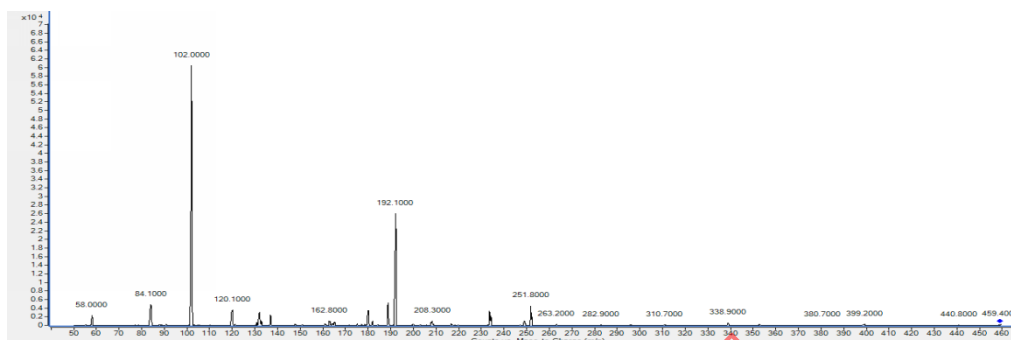
当样品取样量为2 g，定容20 mL时，爱德万甜检出限为0.5 mg/kg，定量限为1.5 mg/kg

食品安全国家标准公开征求意见

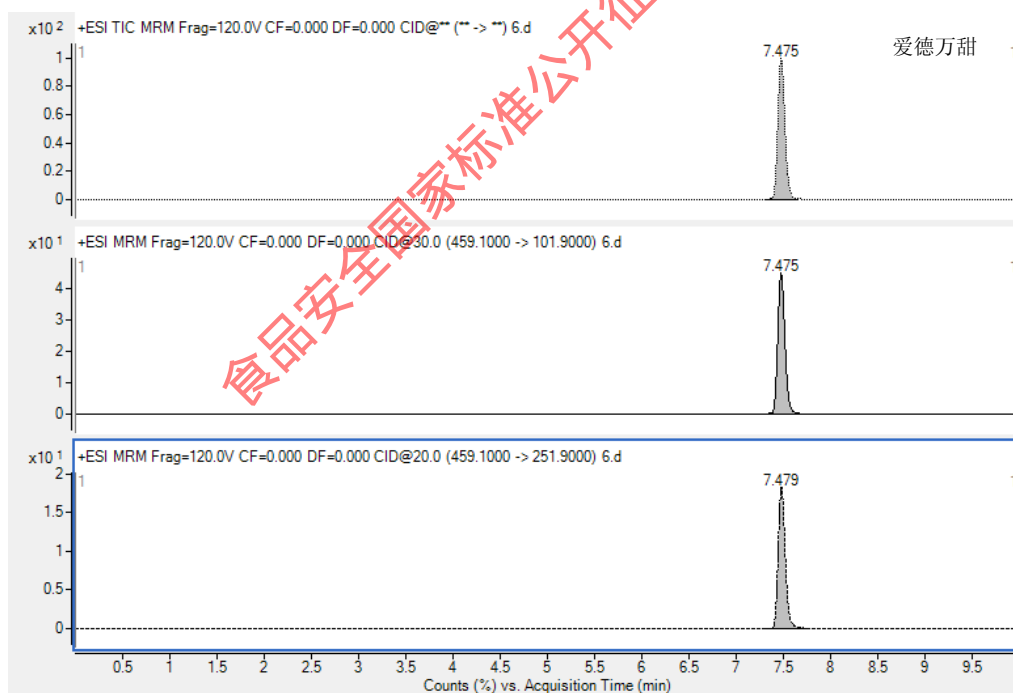
附录 A

爱德万甜标准溶液液相色谱-质谱图

爱德万甜离子扫描图见图A.1，爱德万甜多反应监测（MRM）色谱图见图A.2；爱德万甜液相色谱图见A.3，样品基质加标液相色谱图见A.4~ A.5。



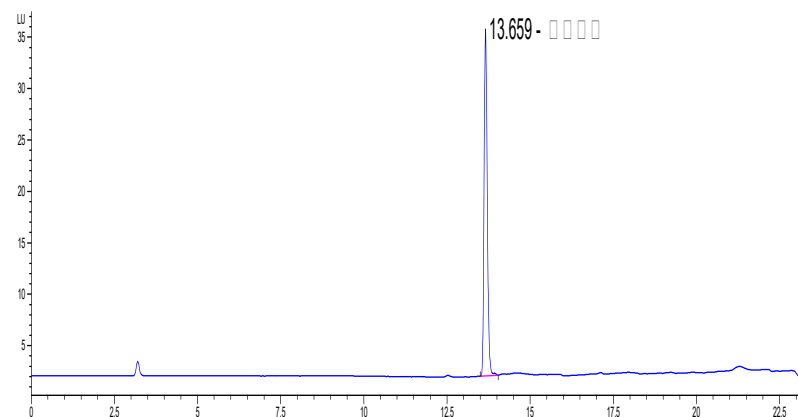
图A.1 爱德万甜离子扫描图



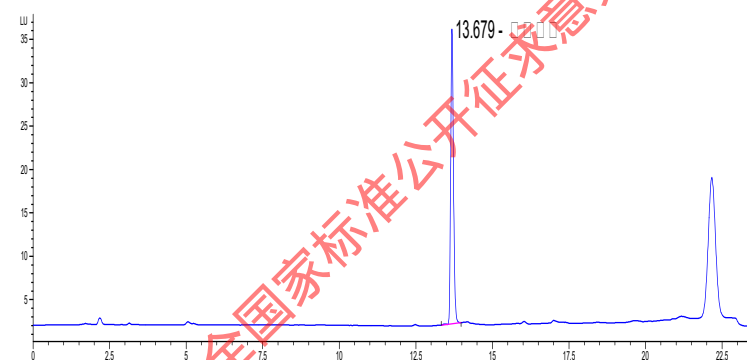
图A.2 爱德万甜的多反应监测（MRM）色谱图（10 ng/mL）

附录 B

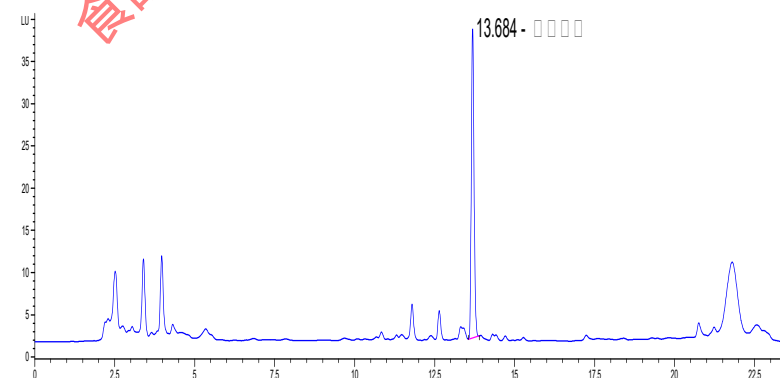
爱德万甜标准溶液相色谱图



图B.1 爱德万甜标准溶液相色谱图 (5.0 µg/ml)



图B.2 可乐加标样品中爱德万甜的色谱图 (加标浓度5.0 µg/ml)



图B.3 果酱加标样品中爱德万甜的色谱图 (加标浓度5.0 µg/ml)