

食品中三氯蔗糖（蔗糖素）的测定（GB 22255-2014）

1、 适用范围

食品中（含蛋白脂肪试样，酱及酱制品、醋、酱油，含酒精的试样，饮料，风味发酵乳、奶茶）三氯蔗糖的测定方法。（本实验选用酱油、可乐和酸奶）

2. 标准溶液的配制

称取 0.05g（精确至 0.0001g）三氯蔗糖标准品于 25mL 容量瓶中，用水定容至刻度，混匀，得到质量浓度为 2.0mg/mL 的三氯蔗糖标准贮备液。置于 4℃冰箱保存

3. 试剂

乙腈水溶液（11+89）：量取 11mL 乙腈，加入 89mL 水，混匀

甲醇水溶液（75+25）：量取 75mL 甲醇，加入 25mL 水，混匀

乙酸锌溶液（219g/L）：称取 21.9g 乙酸锌，加入 3mL 乙酸，加水溶解至 100mL。

亚铁氰化钾溶液（106g/L）：称取 10.6g 亚铁氰化钾，加水溶解至 100mL。

4、提取步骤

（1）酱油

称取 2g 均匀试样，置于 50mL 离心管中，加入 1.0g 中性氧化铝，加入 3mL 水，振荡 3min 振荡 3min 后加入 15mL 甲醇，振荡 30s，超声 20min，离心（3000r/min）10min，转移上清液至 50mL 离心管中，沉淀物中加入 5.0mL 甲醇水 75%，振荡 30s，离心（3000r/min）10min，取上清液，重复提取沉淀物 2 次，上清液合并于 150mL 分液漏斗中。

在分液漏斗中加入 30mL 正己烷，振摇 2min，静置 20min，下层水相移置 50mL 蒸发皿。蒸发皿沸水浴上蒸发，蒸干至 1mL 左右，用 9mL 水分三次冲洗蒸发皿，将冲洗液合并至 15mL 离心管中，超声 5min，离心（3000r/min）10min。待净化。

（2）可乐

称取均匀试样 5g, 置于 15mL 离心管中, 加入 5mL 水, 振荡 30s, 离心(3000r/min) 10min, 待净化。

(3) 酸奶

称取均匀试样 5g 置于 50mL 离心管中, 加入 5mL 水, 涡旋 3min, 加入 15mL 甲醇、0.50mL 乙酸锌溶液、0.50mL 亚铁氰化钾溶液, 振荡 30s, 超声 20min, 离心(3000r/min) 10min, 转移上清液至 50mL 离心管中, 沉淀物中加入 5.0mL 甲醇水 75%, 振荡 30s, 离心(3000r/min) 10min, 取上清液, 重复提取沉淀物 2 次, 上清液合并于 150ml 分液漏斗中。

在分液漏斗中加入 30mL 正己烷, 振摇 2min, 静置 20min, 下层水相移置 50mL 蒸发皿。蒸发皿沸水浴上蒸发, 蒸干至 1mL 左右, 用 9mL 水分三次冲洗蒸发皿, 将冲洗液合并至 15mL 离心管中, 超声 5min, 离心(3000r/min) 10min。待净化。

5. SPE 净化步骤

SPE 柱: BRP 200mg/6mL

活化: 4mL 甲醇, 4mL 水

上样: 待净化液

淋洗: 1mL 水(上样液在柱上液面还剩 2mm 时加入, 弃去), 抽干

洗脱: 3mL 甲醇(收集), 抽干

浓缩: 将洗脱液置于 50mL 蒸发皿内, 沸水浴上蒸干, 用乙腈水溶液(11+89)溶解, 并定容到 1mL, 过 0.22 μ m 滤膜, 滤液待上机检测。

6. 注意事项

加标过程: 精确移取 0.5mL 2mg/mL 标样, 加入到 5 g 可乐样品中, 加标浓度即为 200mg/kg。

精确移取 0.5mL 2mg/mL 标样, 加入到 2 g 酱油样品中, 加标浓度即为 500mg/kg。

精确移取 1mL 2mg/mL 标样, 加入到 5 g 酸奶样品中, 加标浓度即为 400mg/kg。

7. 仪器参考条件

色谱柱：月旭 Ultimate® XB-C18 4.6×150mm, 5 μm

流动相：水+乙腈=89+11

流速：1.0mL/min

柱温：35℃

进样量：20.0 μL

示差检测器条件：温度 35℃

8. 色谱图及加标回收结果

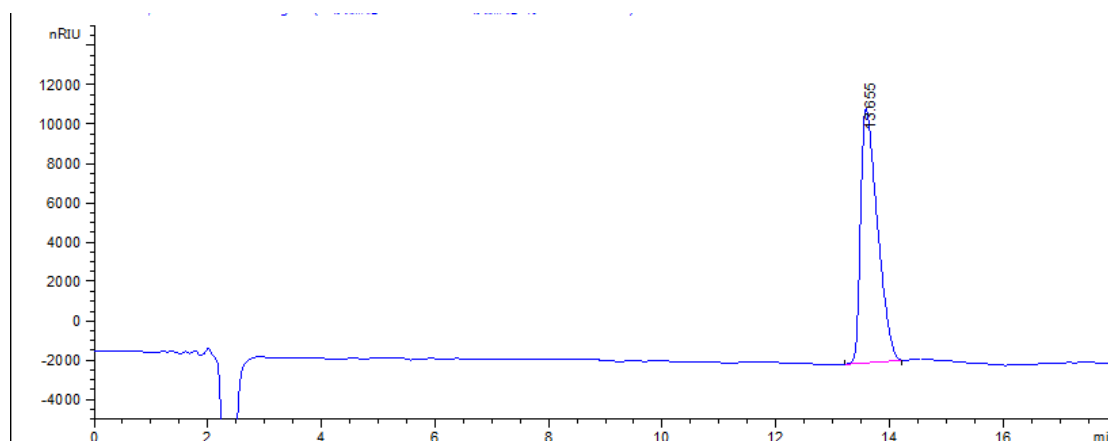


图 1、三氯蔗糖对照品 2mg/mL

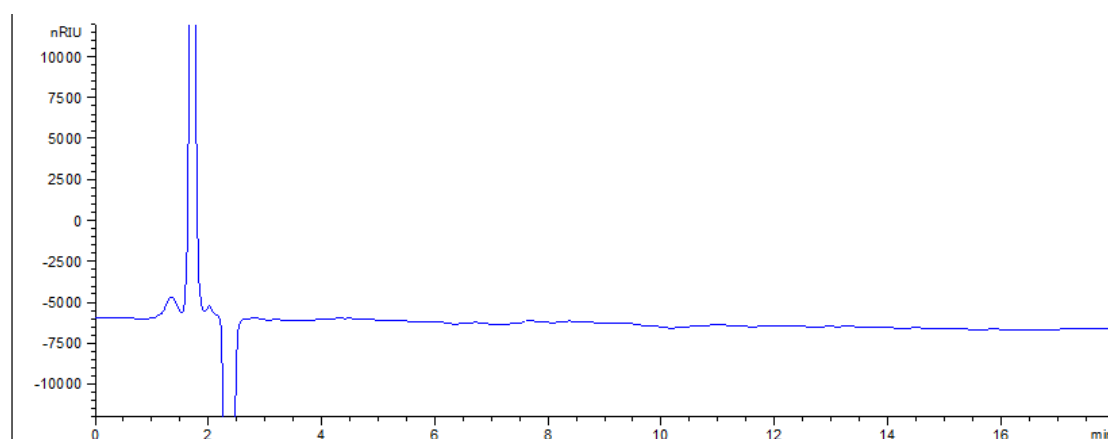


图 2、酸奶样品

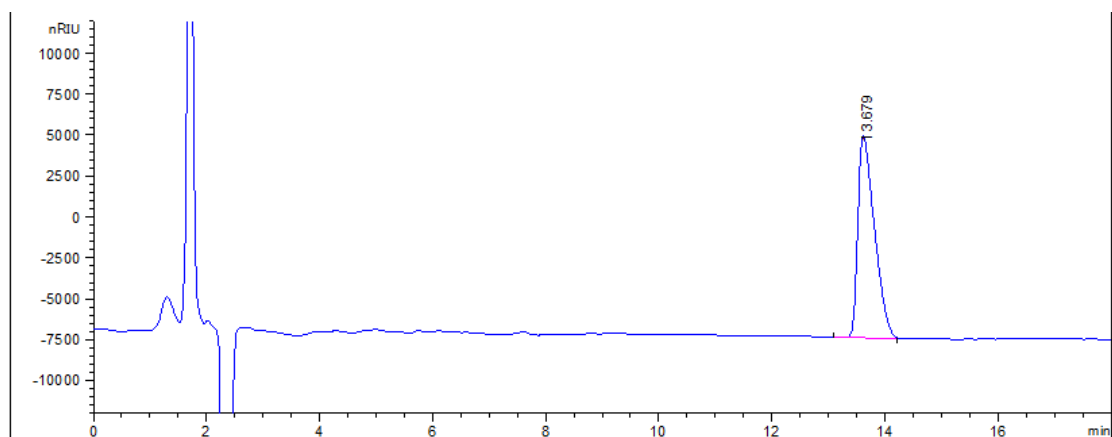


图 3、酸奶样品加标 400mg/kg

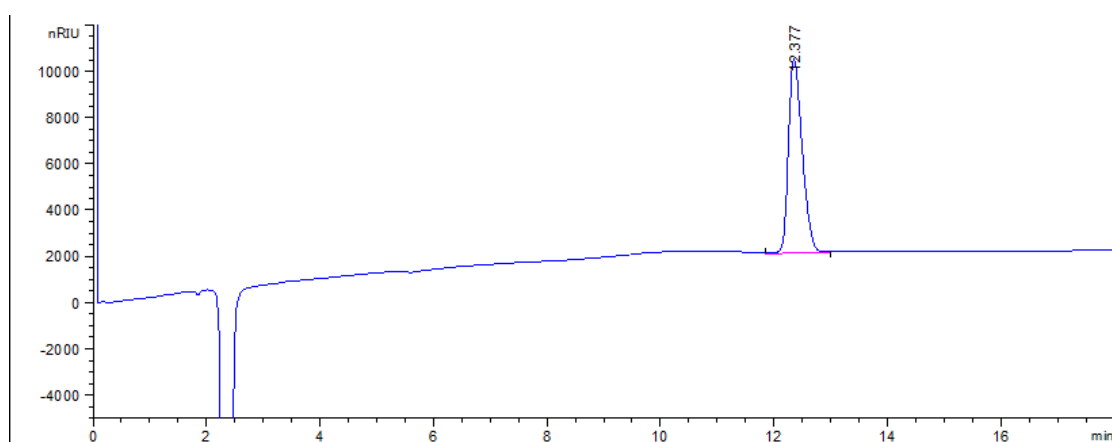


图 4、三氯蔗糖对照品 1mg/mL

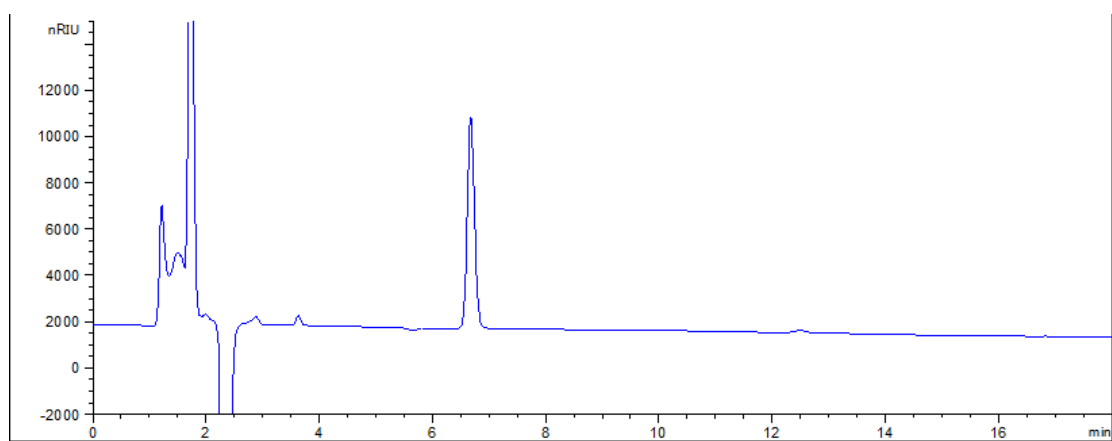


图 5、可乐样品图

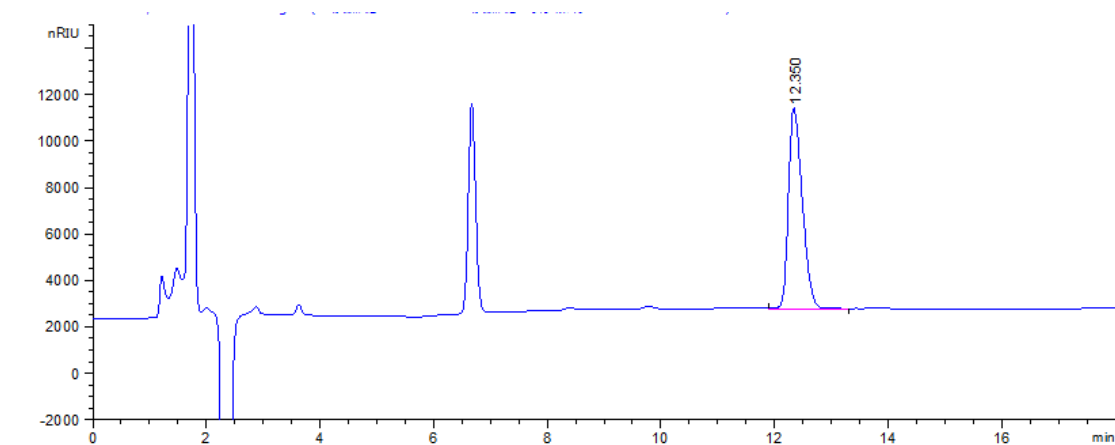


图 6、可乐样品加标 200mg/kg

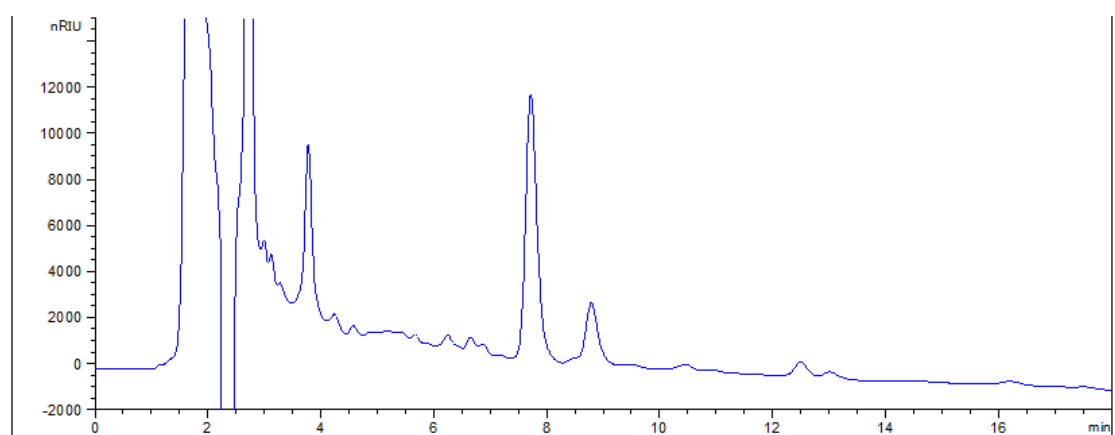


图 7、酱油样品

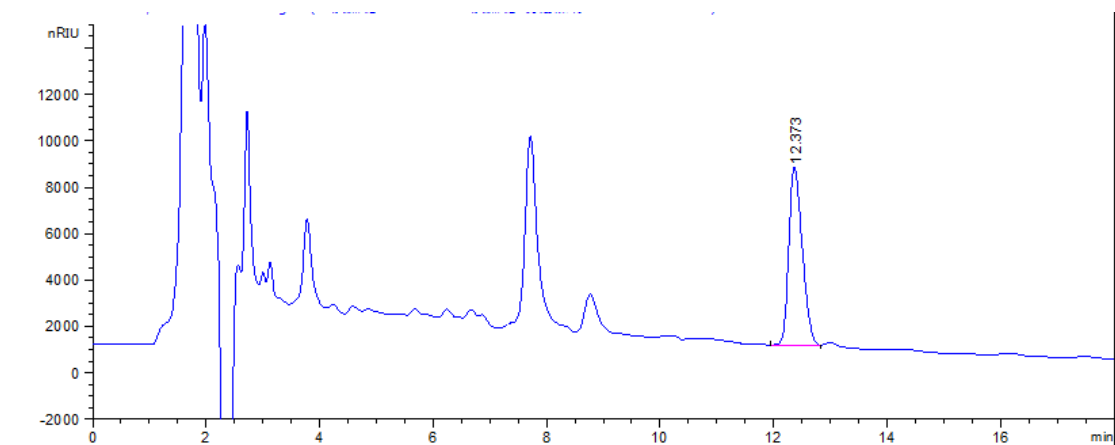


图 8、酱油样品加标 500mg/kg

表 1、加标回收率表

名称	样品	加标水平（mg/kg）	回收率（%）	RSD（%）
三氯蔗糖	可乐	200	102	3.55%
			97	
	酱油	500	99	2.80%
			103	
	酸奶	400	95	1.47%
			97	