

# 高效液相色谱法检测乳品中3种甜味剂

赵 贞, 万 鹏, 刘春霞, 岳 虹, 李素琴, 李翠枝\*

(内蒙古伊利实业集团股份有限公司, 内蒙古 呼和浩特 010010)

**摘 要:**建立了乳制品中安赛蜜、阿斯巴甜和纽甜的高效液相色谱分析方法。样品用沉淀剂沉淀过滤后,以乙腈-磷酸二氢钠溶液为流动相, C<sub>18</sub>反相色谱柱分离, 紫外检测器210nm检测。结果表明:3种甜味剂可在25min之内实现完全分离。安赛蜜和阿斯巴甜在1~100mg/kg, 纽甜在0.5~100mg/kg范围内呈良好的线性关系, 回收率为84.3%~102.6%。该方法用于乳制品中3种甜味剂的测定, 灵敏度高, 定量准确, 节省时间和成本。

**关键词:**液相色谱法; 安赛蜜; 阿斯巴甜; 纽甜; 乳制品

中图分类号: TS252.7

文献标志码: A

文章编号: 0254-5071(2014)01-0147-03

doi:10.3969/j.issn.0254-5071.2014.01.034

## Detection of 3 kinds of sweetener in dairy products by HPLC

ZHAO Zhen, WAN Peng, LIU Chunxia, YUE Hong, LI Suqin, LI Cuizhi\*

(Inner Mongolia Yili Industrial Group Co., Ltd., Hohhot 010010, China)

**Abstract:** A method for detecting acesulfame-k, aspartame and neotame in dairy products by HPLC was described. The samples were precipitated and filtered, then separated on a C<sub>18</sub> column with the mobile phase (acetonitrile-sodium dihydrogen phosphate solution), detected with UV detector at 210nm. The result showed that three kinds of sweeteners were completely separated within 25min, when the acesulfame-k and aspartame was in the range of 1-100mg/kg, neotame was in the range of 0.5-100mg/kg, they both showed good linearity relationship and the recovery rate was 84.3%-102.6%. This method was sensitive, accurate, costless and time saving for detecting 3 kinds of sweetener in dairy products.

**Key words:** HPLC; acesulfame-k; aspartame; neotame; dairy products

安赛蜜、阿斯巴甜和纽甜均属于人工合成的甜味剂, 由于其甜度高, 热量低, 所以被广泛用于糕点、饮料、乳制品、调味品等食品中。研究表明, 食用过量的甜味剂会对人体造成危害<sup>[1-9]</sup>, 因此我国食品添加剂使用标准中对甜味剂的最大使用量有严格的规定<sup>[10]</sup>。这3种甜味剂在乳制品中较为常用, 而且经常混合使用以发挥甜味剂的最佳效果<sup>[11-14]</sup>, 目前国标方法只能单一检测, 样品处理和上机条件复杂<sup>[15-17]</sup>, 文献方法不完全适用于乳制品, 为了方便监测乳制品中3种甜味剂的含量, 本实验建立了同时检测乳制品中以上3种甜味剂的方法, 该方法准确、成本低, 操作简便, 重复性好。

### 1 材料与试剂

#### 1.1 材料与试剂

乙酸铅、草酸钾、磷酸氢二钠(分析纯) 天津化学试剂三厂; 甲酸、三乙胺(分析纯) 天津光复化学试剂公司; 标准品为安赛蜜: 美国Supelco公司; 阿斯巴甜: 德国Dr.Ehrenstorfer GmbH公司; 纽甜: 美国Usp rockville.MD公司。

200g/L的乙酸铅溶液: 称取200g乙酸铅加水溶解定容至1L容量瓶中。

草酸钾-磷酸氢二钠溶液: 称取60g草酸钾和140g磷酸

氢二钠加水溶解定容至1L容量瓶中。

pH为4.3的水溶液: 用乙酸调节水pH为4.3。

甲酸-三乙胺水溶液: 分别吸取0.8mL甲酸和2.5mL三乙胺加水定容至1L, pH值为4.5。

#### 1.2 仪器设备

1260型液相色谱仪(带紫外检测器): 美国Agilent公司; AB265-S型分析天平: 瑞士METTLER-DOLEDO公司; KQ-600DB型超声波仪: 昆山市超声仪器有限公司。

#### 1.3 色谱条件

测定波长: 210nm; 色谱柱: Welch AQ-C<sub>18</sub>(250mm×4.6mm, 5μm); 流速: 1.0mL/min; 进样量: 20μL; 柱温: 25℃; 流动相为A: 20mmol/L磷酸二氢钠溶液; B: 乙腈, A在0~10min体积分数由90%变为80%, 15min变为65%, 15~26min保持65%。

##### 1.3.1 标准溶液配制

安赛蜜储备液: 准确称取0.050 0g的安赛蜜, 用水溶解并定容至50mL, 配制成质量浓度为1mg/mL的溶液。

阿斯巴甜储备液: 准确称取0.050 0g的阿斯巴甜, 用pH为4.3的水溶解并定容至50mL, 配制成阿斯巴甜质量浓度为1mg/mL的溶液。

收稿日期: 2013-11-22

作者简介: 赵 贞(1983-), 女, 工程师, 硕士, 研究方向为乳制品检测。

\*通讯作者: 李翠枝(1969-), 女, 高级工程师, 硕士, 研究方向为乳制品品质安全监控、产品研发方面的工作。

纽甜储备液 准确称取0.050 0g的纽甜 ,用甲酸-三乙胺水溶液溶解并定容至50mL ,配制成纽甜质量浓度为1mg/mL的溶液。

作标准工作曲线时 ,将以上储备液用水稀释成相应的标准工作溶液即可。

### 1.4 样品处理

称取约30g样品加入10mL 200g/L的乙酸铅溶液和2mL乙腈摇匀 ,再加入5mL 草酸钾-磷酸氢二钠溶液 ,用水定容至50mL。超声20min 静置30min 滤纸过滤 ,再用0.45μm滤膜过滤后 ,准备上机。

### 1.5 结果计算

$$X = \frac{C \times V}{m}$$

式中 X 为试样中甜味剂的质量分数 ,μg/g ;C 为由标准曲线得到样品溶液中甜味剂的质量浓度 ,μg/mL ;V 为样品溶液定容体积 ,mL ;m 为称取样品的质量 ,g。

## 2 结果与分析

### 2.1 色谱条件选择

图1为3种甜味剂的紫外吸收光谱图。由图1可知 ,3种甜味剂在紫外区均有吸收 ,安赛蜜的最大吸收波长在230nm处 ,阿斯巴甜和纽甜最大吸收波长在200~210nm之间。综合考虑3种物质的检测灵敏度 ,选择210nm作为检测波长。

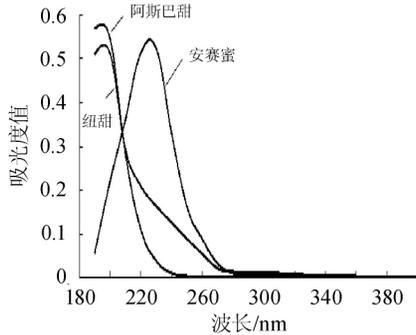


图1 3种甜味剂紫外光谱图

Fig. 1 Ultraviolet spectrogram of 3 kinds of sweetener

选择并比较乙酸铵-甲醇<sup>[18-19]</sup>和磷酸二氢钾-甲醇两种流动相 ,3种甜味剂在磷酸二氢钾-甲醇流动相中峰形更加对称、尖锐 ,所以选用磷酸二氢钾-甲醇作为流动相。如果进行等度洗脱 ,流动相中甲醇比例高时安赛蜜出峰在5min之前 ,无法与溶剂峰分开 ;甲醇比例中等时3种甜味剂分离效果差 ;甲醇比例低时纽甜出峰在50min ,检测时间过长。为保证分离度提高分析效率 ,选择梯度洗脱 ,经优化得出甲醇在0~10min质量分数由90%变为80% ,15min变为65% ,15~26min保持65% ,保证3种甜味剂与杂质峰有足够的分离度。

### 2.2 样品前处理优化

由于所检测的大多为乳饮料和酸奶样品 ,样品中添加

了稳定剂 ,一般的沉淀剂沉淀效果都不佳(如有机溶剂、重金属沉淀剂等) ,所以选用复合沉淀 ,首先采用三氯乙酸和乙腈作沉淀剂 ,沉淀效果可以 ,但是上机时在8~10min出现三氯乙酸的峰与标样峰重叠 ,不能检测 ,然后又采用乙酸铅和乙腈沉淀 ,再加草酸钾-磷酸氢二钠沉淀过量的乙酸铅 ,沉淀效果较好 ,而且没有干扰峰 ,最终确定用乙酸铅和乙腈作为沉淀剂。

### 2.3 标准曲线、线性范围和检出限

将3种甜味剂标准溶液系列 ,在上述色谱条件下测定 ,作质量浓度和峰面积标准曲线 ,得出线性方程和相关系数见表1 ,从表1可以看出 ,3种甜味剂质量浓度和峰面积呈线性关系 ,相关系数均大于0.999 7。

表1 3种甜味剂线性关系

Table 1 linear relationship of 3 kinds of sweetener

添加剂	线性回归方程	相关系数(r <sup>2</sup> )
安赛蜜	y=36.41x-35.19	0.999 8
阿斯巴甜	y=34.87x-32.18	0.999 7
纽甜	y=28.56x-2.600	0.999 7

3种甜味剂混合标准品的色谱图见图2 ,由图1可以看出 ,3种甜味剂完全分离 ,安赛蜜、阿斯巴甜和纽甜的保留时间分别为6.240min、14.130min、24.184min。添加3种甜味剂的乳饮料色谱图见图3。安赛蜜、阿斯巴甜和纽甜的保留时间分别为6.315min、14.185min、24.224min。图2可以看出 ,3种甜味剂无杂质峰干扰 ,可准确定量检测。

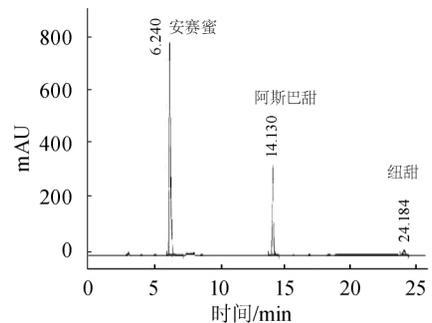


图2 3种甜味剂标准溶液HPLC色谱图

Fig. 2 HPLC chromatograms of standard solution of 3 kinds of sweetener

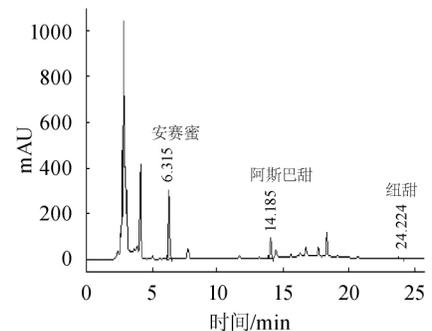


图3 乳饮料的HPLC色谱图

Fig. 3 HPLC chromatograms of milk beverage

本方法安赛蜜和阿斯巴甜定量检出限为1mg/kg,线性范围1~100mg/kg,纽甜定量检出限为0.5mg/kg,线性范围0.5~100mg/kg。

#### 2.4 回收率和精密度实验

在乳饮料、酸奶和冷饮的空白样品中加入不同质量分数的3种甜味剂,平行测定5次,得出平均回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)结果如表2所示。

表2 乳饮料、酸奶和冷饮中添加量与回收率结果

Table 2 Milk beverage, yogurt and cold drink addition and recovery results

添加剂	添加量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	乳饮料		酸奶		冰淇淋	
		回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%	回收率/%	RSD/%
安赛蜜	1	101.8	3.42	99.4	4.59	95.0	4.57
	5	97.8	3.39	98	4.52	89.4	3.00
	10	99.7	3.16	95.1	5.03	96.5	6.11
阿斯巴甜	1	94.3	4.97	99.1	3.77	102.6	5.29
	5	92.1	3.57	87.6	3.25	93.1	5.59
	10	98.4	6.18	93.0	4.23	99.3	6.70
纽甜	0.5	84.3	3.54	85.7	4.77	85.1	5.45
	2.0	95.1	3.61	95.8	5.19	96.5	3.35
	5.0	96.7	4.62	98.5	5.26	87.3	5.85

从表2可知,本方法测定不同乳制品中安赛蜜、阿斯巴甜和纽甜的平均回收率为84.3%~102.6%,变异系数为3.00%~6.70%。对加标的牛奶样品样品平行测定6次见表3,得出各甜味剂的RSD值分别为1.92%、2.38%、3.00%,3种甜味剂均可满足定量分析要求。

表3 方法精密度实验结果

Table 3 Precision of the experiment result

项目	测定值/(mg·kg <sup>-1</sup> )						RSD/%
安赛蜜	5.214	5.039	4.987	4.975	5.137	4.991	1.92
阿斯巴甜	4.869	4.792	5.052	5.024	4.959	5.105	2.38
纽甜	5.126	5.043	4.921	4.863	5.276	4.962	3.00

### 3 结论

实验结果表明,建立的乳制品中3种甜味剂的HPLC检测方法,采用C<sub>18</sub>色谱柱,以乙腈-磷酸二氢钠溶液为流动相,梯度洗脱分离,紫外检测器210nm检测,安赛蜜和阿斯巴甜线性范围1~100mg/kg和纽甜线性范围0.5~100mg/kg内,有良好的线性关系,相关系数大于0.999 7,平均回收率为

84.3%~102.6%,方法精密度RSD值为1.92%~3.00%。该方法定量准确,前处理简单,成本低,回收率稳定,结果可靠,为监测乳制品中3种甜味剂提供了实用、有效的分析方法。

#### 参考文献:

- [1] 吴璞强,赵桂霞,张亚楠,等.阿斯巴甜的合成和应用研究[J].中国调味品,2010,35(1):30-32.
- [2] 魏志勇,刘颖秋,余志刚,等.纽甜的应用及研究进展[J].食品工业科技,2008,29(12):252-255.
- [3] 曹中.新型功能甜味剂-纽甜[J].中国食品添加剂,2013,2(38):87-88.
- [4] 张金峰,沈寒晰,张存社.新型甜味剂纽甜研究进展[J].应用化工,2010,39(10):1574-1577.
- [5] 张晖,薛洪宝,杨俊松,等.HPLC测定食品中甜味剂的含量[J].光谱实验室,2013,30(4):1813-1817.
- [6] 梁莹,崔炳群,程航,等.高倍甜味剂在调味品中的应用[J].中国酿造,2009,28(12):75-78.
- [7] 闫福安.国内外合成甜味剂的发展现状及趋势[J].广州食品工业科技,2010,19(1):46-47.
- [8] ARMENTA S, GARRIGUES S, DELA GUARDI M. FTIR determination of aspartame and acesulfame-K in tabletop sweeteners[J]. J Agr Food Chem, 2004, 52 (26): 7798-7803.
- [9] 刘婷,吴道澄.食品中甜味剂的检测方法[J].中国调味品,2011,36(3):1-12.
- [10] 中国国家标准化管理委员会. GB 2760—2011 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S].北京:中国标准出版社,2011.
- [11] 罗香莲,李沛生,陈鹏,等.复合甜味剂的应用及其安全性研究[J].食品工业科技,2008,29(11):221-224.
- [12] 马治平,刘玲.复合甜味剂在植物蛋白饮料中的应用研究[J].食品科技,2012,37(1):235-238.
- [13] 胡国华.我国复合甜味剂发展现状与前景[J].食品工业科技,2007(4):11-16.
- [14] 李晔.阿斯巴甜与AK糖的混合应用[J].食品研究与开发,2003,24(5):12-13.
- [15] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.140—2003 饮料中乙酰磺胺酸钾的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [16] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 22254—2008 食品中阿斯巴甜的测定[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [17] 中国国家标准化管理委员会. GB/T 23378—2009 食品中纽甜的测定方法 高效液相色谱法[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [18] 李琳.液相色谱同测食品中防腐剂与甜味剂方法研究[J].食品研究与开发,2013,34(13):96-97.
- [19] 赵志磊,谢飞,贾克军,等.高效液相色谱法测定无糖乳制品中4种高倍甜味剂的含量[J].食品科技,2013,38(2):301-303.

欢迎订阅2014年《中国酿造》杂志