

高效液相色谱法测定食品中阿斯巴甜的含量

LC-128

摘要：本文使用岛津 LC-15C 高效液相色谱仪，建立了饮料中阿斯巴甜含量测定的方法。本方法采用 C18 色谱柱进行分离，紫外检测器进行检测。阿斯巴甜在 2~200 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内具有良好的线性相关性，相关系数为 0.9999。对阿斯巴甜浓度为 2 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准品进行六次平行分析，重复性结果 (RSD% 表示)：阿斯巴甜在三个不同浓度下的保留时间 RSD% 范围为 0.04%~0.11%，峰面积 RSD% 范围为 0.34%~3.21%，仪器精密度良好。实际样品加标浓度 10 mg/kg 和 100 mg/kg，回收率范围为 85.5%~113.1%，方法检出限为 1.3 mg/kg，定量限为 4.3 mg/kg，结果表明方法准确可靠。

关键词：饮料阿斯巴甜高效液相色谱紫外检测

在人们日常所食用的食品中，甜味剂是常用食品添加剂之一。阿斯巴甜 (Aspartame) 又名甜味素、天冬甜母、天冬甜精，化学名称为天门冬酰苯丙氨酸甲酯 (分子式为 $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$ ，分子量为 294.31)。于 1965 年由美国 Searle 公司在合成四肽的研究时偶然发现，其甜味特征几乎与蔗糖相同，甜度是蔗糖的 200 倍，甜味纯正。目前已有 80 个国家批准使用，我国规定除罐头食品外可用于各类食品，其用量按生产需要适量使用。20 世纪 80 年代以来，全球阿斯巴甜的年消费增长率超过 20%，远远超过其他人工合成甜味剂平均增长率 5% 的速度。

但是目前国际上对阿斯巴甜的安全性存在很大的争

议，2005 年 7 月，意大利科学家公布的一份研究结果称，动物实验证明，阿斯巴甜可导致大鼠肿瘤。因此严格控制食品中阿斯巴甜的含量并要对其进行检测是很有必要的。

本文结合国家标准 GB/T 22254-2008《食品中阿斯巴甜的测定》，采用纯水超声提取饮料样品，微孔滤膜过滤后直接进样测定，简化了操作步骤，建立一种超高效液相色谱紫外检测法测定饮料中阿斯巴甜的分析方法，该方法具有简便、快速，适合食品中阿斯巴甜含量的日常检测。

实验部分

1.1 试剂与仪器

1.1.1 试剂：

甲醇：HPLC 级；水：超纯水；

阿斯巴甜储备液：精密称取阿斯巴甜 10.0 mg，置于 10mL 容量瓶中，超纯水 (用甲醇调节 pH 6.3) 稀释至刻度，作为储备液。

1.1.2 仪器：

岛津 LC-15C 高效液相色谱仪：包括 CBM-20Alite 系统控制器，LC-15C \times 2 高压输液泵，SIL-10AF 自动进样器，CTO-15C 柱温箱，SPD-15C 紫外检测器，LCsolution 15C 软件包。

1.2 分析条件

色谱柱：Inertsustain ODS(4.6 mmI.D. \times 150 mmL., 5 μm)

流动相：A- 水 (含 0.1% 甲酸)，B- 甲醇，A/B=60/40(v/v)；

流速：1.0 mL/min；

洗脱方式：等度洗脱；柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ ；紫外检测波长：208 nm；进样量：20 μL

1.3 样品处理

1.3.1 阿斯巴甜标准溶液的配制

取不同量的阿斯巴甜储备液，用超纯水稀释，配制浓度为 2、5、10、50、100 及 200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准系列，储存在棕色小瓶中，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中存放。

1.3.2 试样的制备

浓缩果汁类：称取 5.0 g 试样 (精确到 0.01 g)，用纯水定容到 25 mL，超声提取 10 min，10000 r/min 离心 5 min，上清液经 0.45 μm 水系滤膜过滤，滤液直接过滤到液相专用样品瓶中用于 HPLC 分析。

酸乳饮料类：称取 5.0g 试样 (精确到 0.01 g)，加入 10 mL 乙腈进行沉淀蛋白，用纯水定容至 25 mL，超声提取 10 min，10000 r/min 离心 5 min，上清液经 0.45 μm 水系滤膜过滤，滤液直接过滤到液相专用样品瓶中用于 HPLC 分析。

结果讨论

2.1 阿斯巴甜标准谱图及标准曲线

阿斯巴甜标准溶液色谱图如图 1 所示, 由图 2 可以看出在 2~200 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内, 阿斯巴甜线性相关性良好, 相关系数为 0.9999, 线性方程为 $Y = (33763.1)X + (20615.0)$ 。

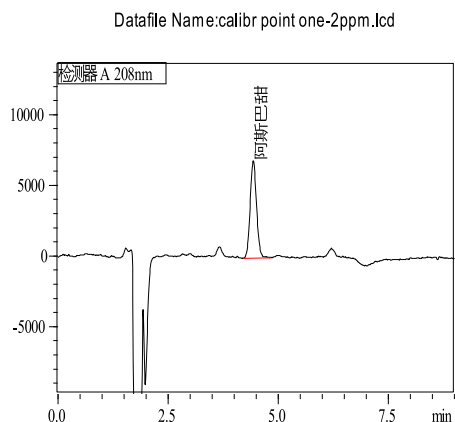


图1 阿斯巴甜标准溶液2 $\mu\text{g/mL}$ 的色谱图

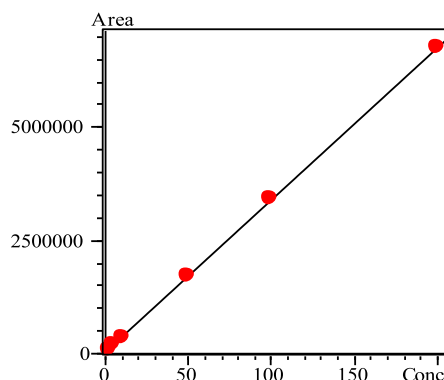


图2 阿斯巴甜的校准曲线

2.2 精密度实验

为了进一步考察仪器的重复性, 本文分别对阿斯巴甜浓度为 2、50、200 $\mu\text{g/mL}$ 标准样品进行了六次重复实验, 重复性结果用 RSD % 表示。实验结果表明阿斯巴甜在不同浓度下保留时间 RSD % 范围为 0.04 %~0.11 %, 峰面积 RSD % 范围为 0.34 %~3.21 %, 结果汇总如表 1 所示。

表 1 阿斯巴甜在不同浓度下保留时间和峰面积的重复性

NO.	2 $\mu\text{g/mL}$		50 $\mu\text{g/mL}$		200 $\mu\text{g/mL}$	
	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积	保留时间	峰面积
1	4.458	60484	4.389	1593009	4.230	6598686
2	4.462	60053	4.387	1596930	4.222	6633582
3	4.456	58882	4.391	1600454	4.229	6630663
4	4.464	56895	4.392	1578470	4.225	6581878
5	4.467	55946	4.392	1587452	4.227	6593899
6	4.469	60065	4.390	1593649	4.226	6586866
RSD (%)	0.11	3.21	0.04	0.49	0.07	0.34

2.3 基质加标实验

按照 1.3.2 所述步骤处理饮料, 检测某品牌饮料中的阿斯巴甜含量。图 3 为某品牌饮料样品空白色谱图, 可以看出该样品并未检出阿斯巴甜; 图 4 为空白样品加标 10 mg/kg 的色谱图, 可见基质并未干扰到目标峰, 目标物具有较好的信号响应。实际样品加标不同浓度标样计算样品回收率结果见表 2。由三倍信噪比和十倍信噪比分别计算方法检出限和定量限, 检出限为 1.3 mg/kg , 定量限为 4.3 mg/kg 。

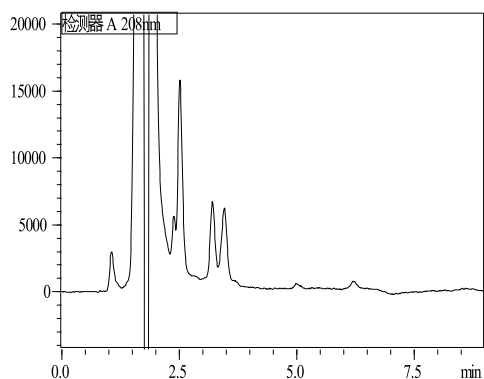


图3 空白样品色谱图

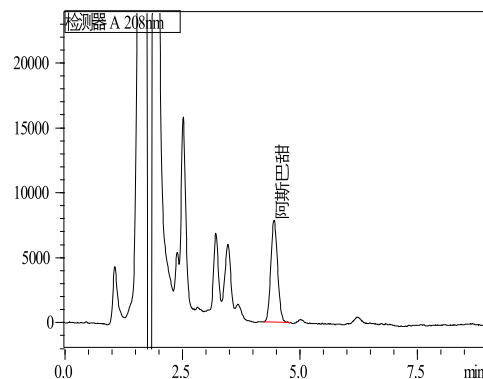


图4 空白样品加标10 mg/kg色谱图

表2 实际样品加标不同浓度回收率结果 (n=3)

样品编号	检出浓度	回收率 (%)	
	mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
1	N.D.	85.5	113.1
2	N.D.	91.0	104.5
3	N.D.	89.1	107.0

(N.D.: Not Detected)

2.4 实际样品分析

随机购买 A、B 两种品牌的饮料食品，将本方法应用于实际饮料食品中阿斯巴甜检测，实验结果并未检测出阿斯巴甜（见图 5 和图 6）。

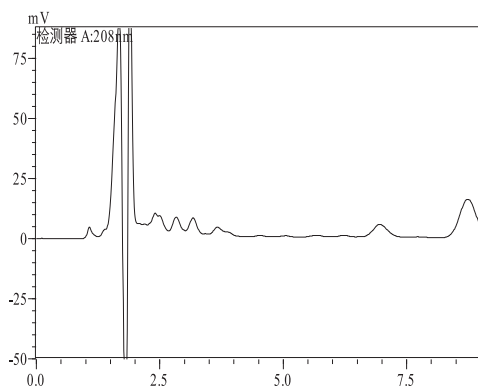


图5 品牌A样品色谱图

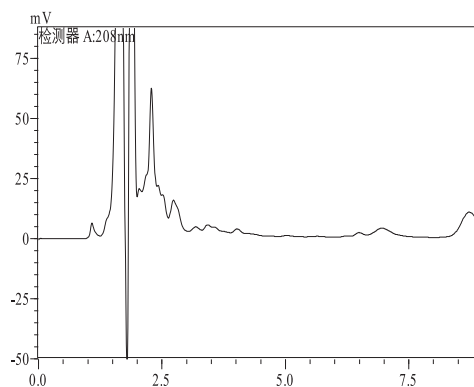


图6 品牌B样品色谱图

结论

本实验中使用岛津高效液相色谱仪 LC-15C，建立了饮料中阿斯巴甜含量测定的方法。阿斯巴甜在 2~200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的浓度范围内具有良好的线性相关性，相关系数为 0.9999，方法检出限为 1.3 mg/kg，定量限为 4.3 mg/kg。实际样品加标浓度 10 mg/kg 和 100 mg/kg，回收率范围为 85.5%~113.1%。本方法具有简便、快速、灵敏度高和重复性好等优点，方法检出限低于 GB/T 22254-2008 《食品中阿斯巴甜的测定》，适合于食品中阿斯巴甜含量的常规检测。