

高效液相色谱法测定茶饮料中的阿斯巴甜含量

刘郁^{1,2}, 刘连新², 燕传勇², 李德峰²

(1.中国矿业大学化工学院, 江苏徐州 221008) (2.徐州工业职业技术学院, 江苏徐州 221140)

摘要: 本文建立了 HPLC 测定茶饮料中阿斯巴甜含量的方法, 采用色谱柱: THERMO C₁₈ (4.6×250 mm, 5 μm), 检测波长: 210nm, 流量: 1.0 mL/min, 进样量: 20 μL, 流动相: 0.01 mol/L 磷酸二氢钾-乙腈为 85:15。结果表明: 阿斯巴甜在 0~50 μg/mL 范围内呈现良好的线性关系, $Y=52139X$ (0~50 μg/mL) ($R=0.9994$)。平均回收率 100.3%, $RSD=0.33\%$ 。本方法简单, 快速、准确、重现性好, 可以用作茶饮料中阿斯巴甜的含量测定。

关键词: 阿斯巴甜; 高效液相色谱; 含量测定

文章编号: 1673-9078(2012)12-1810-1812

Determination of Content of Aspartame in Tea Beverages by High Performance Liquid Chromatography

LIU Yu^{1,2}, LIU Lian-xin², YAN Chuan-yong², LI De-feng²

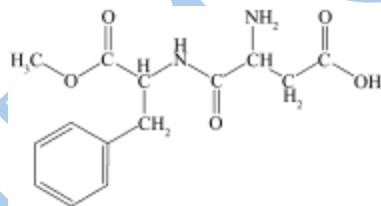
(1.School of Chemical Engineering and Technology, China University of Mining and Technology, Xuzhou 221008, China)

(2.Xuzhou College of Industrial Technology, Xuzhou, 221140, China)

Abstract: To establish a high performance liquid chromatography (HPLC) method for determination content of Aspartame in tea beverages, 20 μL samples were tested on a thermo C₁₈ column using 0.01 mol·L⁻¹ potassium dihydrogen phosphate and acetonitrile (40:60) as mobile phase with flow rate of 1.0 mL/min at 210nm. The results showed that Aspartame concentration had good liner relationship within the range of 0~50 μg/mL ($Y=52139X$ (0~50 μg/mL), $R=0.9994$). The average recovery was 100.3% with RSD of 0.33%. The method was simple, fast, accurate, and precise, which could be used to determine content of aspartame in tea beverages.

Key words: aspartame, HPLC, determination of content

阿斯巴甜(Aspartame), 别名阿司帕坦、阿斯巴坦, 食品添加剂国际编码: E951, 化学名称为 L-天冬氨酸-L-苯丙氨酸甲酯 (APM=L-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester), 是一种非碳水化合物类的人造甜味剂。



1981 年经美国 FDA 批准用于干撒食品、1983 年允许配制软饮料后在全球 100 余个国家和地区被批准使用, 甜度为蔗糖的 200 倍。

阿斯巴甜在体内可降解, 在降解的过程中还生成了甲醇, 阿斯巴甜会被小肠内的胰凝乳蛋白酶分解产生甲醇、苯丙氨酸和天冬氨酸, 继续代谢则得到甲醛、甲酸和一种二酮哌嗪类物质。1000 mL 的阿斯巴甜饮料, 可产生约 56 mg 的甲醇, 而 1 罐罐装的阿斯巴甜

收稿日期: 2012-07-09

作者简介: 刘郁, 博士研究生, 副教授

饮料, 可产生约 22.4 mg 的甲醇。甲醇是一种有毒物质, 而且它是容易被吸收, 但难以排出体外, 环境保护局建议每日不可摄取超过 7.8 mg。而且阿斯巴甜的产品因不当储存或被加热, 被加热到 30 °C, 都会导致更多的甲醇产生。因此它的安全性受到了很多人的质疑。从二十世纪 70 年代, 人们就开始研究它的毒副作用并有不良反应的报告。可以引起腹痛、焦虑、关节炎、哮喘、气喘反应、浮肿 (液体积聚)、血糖控制问题 (低血糖或高血糖)、脑癌 (在动物上有预先的研究)、呼吸困难、灼热的眼睛或喉咙、排尿有灼热感、胸痛、腹泻、头昏、极度口渴或饥饿、疲劳、头发脱落、听觉损失、心悸、荨麻疹、高血压、偏头痛和严重头疼 (长期吸收会触法或引起此问题)、肌肉痉挛、恶心或呕吐、麻木、其他的过敏反应等。

国家规定 (GB2760-96) 阿斯巴甜可以用于除罐头食品外的各类食品并规定应用阿斯巴甜的食品应标明“添加阿斯巴甜”, 但现在食品标注比较混乱, 或者基本不标注, 尤其是饮料, 本研究抽取了市场上销售的一些茶饮料, 测定茶饮料中阿斯巴甜的含量。

1 仪器与药品

赛多利斯电子天平 220S (北京赛多利斯仪器系统有限公司), 超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司, 型号 KQ-100B), 高效液相色谱仪(日本日立), 包括 HITACHI Pump L-2130, HITACHI Autosampler L-2200, Organizer, HITACHI UV-VIS Detector L-2420; 阿斯巴甜对照品(常州市牛塘化工厂有限公司 20090512), 乙腈为色谱纯 (fish), 磷酸二氢钾为分析纯。

表 1 来自于市场的茶饮料样品

Table 1 The samples of tea beverages from markets

样品	产地	生产日期	主要成分表 (商标标注)
1	浙江杭州	20101026	水、白砂糖、绿茶粉、精制盐、食品添加剂 (柠檬酸、食用香精、维生素 C 等)
2	浙江杭州	20101201	水、白砂糖、绿茶、果葡糖浆、浓缩苹果汁、食品添加剂 (苹果酸、柠檬酸、维生素 C、柠檬酸钠、阿斯巴甜 (含苯丙氨酸)、等)
3	江苏苏州	20101013	水、有机绿茶叶、食品添加剂 (维生素 C)
4	江苏扬州	20100923	水、白砂糖、绿茶茶叶、蜂蜜、绿茶浓缩液、食品添加剂 (食用香精、维生素 C、柠檬酸钠等)
5	福建泉州	20100308	纯净水、白砂糖、绿茶浓缩液、蜂蜜、食品添加剂 (维生素 C、柠檬酸钠等)、食用香料
6	浙江杭州	20101005	水、白砂糖、绿茶茶叶、蜂蜜、绿茶浓缩液、食品添加剂 (食用香精、维生素 C、柠檬酸钠等)
7	江苏南京	20100415	水、白砂糖、龙井绿茶、食品添加剂 (维生素 C、柠檬酸钠等)
8	浙江杭州	20101127	水、白砂糖、绿茶、果葡糖浆、浓缩苹果汁、食品添加剂 (苹果酸、柠檬酸、维生素 C、柠檬酸钠、阿斯巴甜等)、食用香精
9	江苏扬州	20101227	水、白砂糖、绿茶茶叶、蜂蜜、绿茶浓缩液、食品添加剂 (食用香精、维生素 C、柠檬酸钠等)

2 方法与结果

2.1 色谱分析条件^[1,2,3,4]

色谱柱: THERMO ODS-2 C18 (4.6×250 mm, 5

μm); 紫外检测的波长: 210 nm; 流速: 1.0 mL/min, 进样量: 20 μL; 流动相: 0.01 mol·L⁻¹ 磷酸二氢钾:乙腈=85:15。柱温: 室温。阿斯巴甜对照品色谱见图 1 (A)。

2.2 对照品溶液的制备

精密称取阿斯巴甜对照品 0.0025 g, 置于 25 mL 容量瓶中, 先用部分纯净水溶解, 超声 10 分钟, 定容, 超声。得 100 μg/mL 的对照品溶液。

2.3 进样精度

按照对照品溶液制备方法 (2.2), 配制溶液, 按照 2.1 项下的方法测定, 见表 2。

表 2 精密度实验 (n=6)

Table 2 Precision experiment (n=6)		
浓度/(μg/mL)	面积	RSD/%
10	539233	1.233
10	540274	
10	554016	
10	533852	
10	540409	
10	541250	

2.4 标准曲线的绘制

表 3 浓度与面积关系

Table 3 Relationship of concentration and peak area

浓度/(μg/mL)	面积
0	0
10	540409
20	1091570
30	1588480
40	2109320
50	2550040

分别精密移取对照品溶液 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50 mL, 分别置于 5 mL 的棕色容量瓶中用纯净水稀释, 超声定容。按照 2.1 项下的方法测定, 见表 3。

由面积和浓度进行线性回归, 得回归方程为 Y=52139X (0~50 μg·mL⁻¹) (R=0.9994, n=3)。

2.5 样品溶液的配制

取茶饮料样品 1 mL, 用纯净水稀释在 5 mL 的容量瓶中, 超声 10 分钟, 定容。过滤, 得样品溶液。

2.6 加样回收率^[5]

按照 2.2 的方法, 配制含有 20 mg/L 的溶液 1 L, 分别精密称取 7.00, 10.00, 13.00 mg 对照品, 混匀后超声。按照 2.1 项下的方法测定。并根据回归方程计算平均回收率。结果见表 4。

2.7 稳定性实验

取浓度为 20 μg/mL 的对照品溶液, 放置于室温

阴暗处 1、2、4、8、12、24 h, 按照 2.1 项下的方法测定。结果表明样品在 24 h 内稳定, 见表 5。

表 4 加样回收率实验结果 (n=9)

Table 4 Results of recovery ratio

加入量/mg/L	测得量/mg/L	回收率/%	平均回收率/%	RSD/%
7.00	6.98	99.7		
7.00	7.02	100.3		
7.00	7.04	100.6		
10.00	10.01	100.1		
10.00	10.05	100.5	100.3	0.33
10.00	10.04	100.4		
13.00	12.99	99.9		
13.00	13.05	100.4		
13.00	13.10	100.8		

表 5 稳定性实验

Table 5 Stability experiments

浓度/($\mu\text{g/mL}$)	面积	RSD/%
20	1091570	
20	1089980	
20	1093875	0.395
20	1100250	
20	1089800	

2.8 样品含量测定

取样品, 按照 2.1 项下的方法测定。按照回归的方程进行计算阿斯巴甜的含量, 见表 6。色谱图见图 1b。

表 6 阿斯巴甜含量

Table 6 The content of Aspartame

样品	实际测定的含量/($\mu\text{g/mL}$)	真实含量/(mg/L)
1	10.95	54.78
2	8.42	42.09
3	10.58	52.94
4	21.05	105.26
5	25.63	128.17
6	19.35	96.74
7	24.89	124.43
8	9.28	46.42
9	17.43	87.17

3 结论

本方法快速灵敏, 与 GB/T 22254-2008 阿斯巴甜含量的测定方法^[6]相比, 本研究采用的是紫外检测器, 而标准中采用的是二极管 (DAD) 检测器, 相对降低了设备投资。通过对样品的检测来看, 基本上添加了

一定量的阿斯巴甜, 但是只有一个样品在商标中标注了阿斯巴甜, 建议应加强对标注的管理, 同时应标注阿斯巴甜的含量, 同时国家标准中应给出一个阿斯巴甜合理的含量范围。

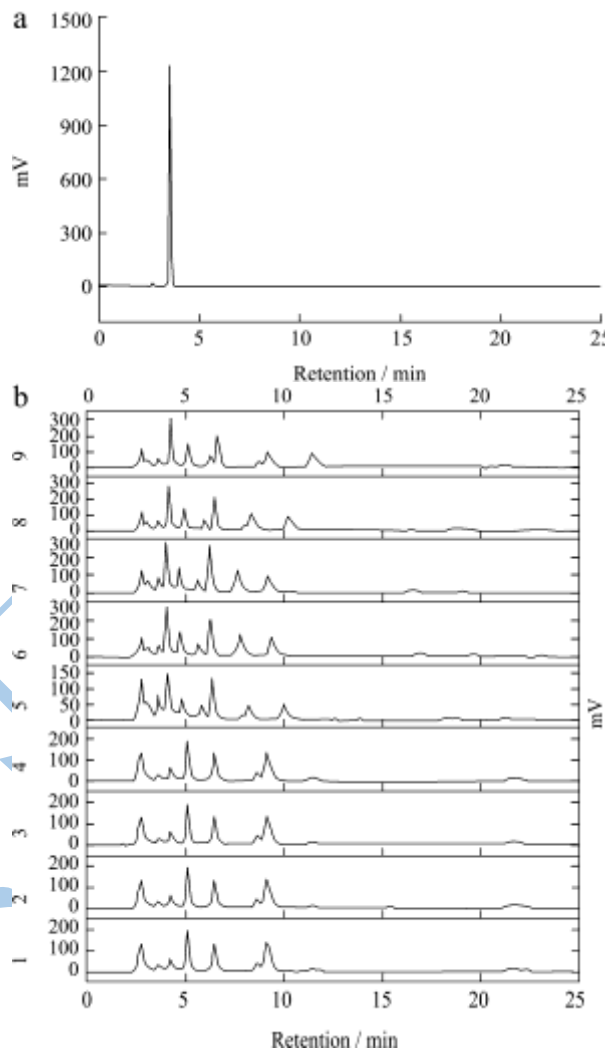


图 1 色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram

注: (a) 标准品, (b) 样品 (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9)。

参考文献

- [1] 赵亚华, 查玉立. 高效液相色谱法同时测定饮料中八种添加剂的实验研究[J]. 安徽预防医学杂志, 2000, 6(2): 104-106
- [2] 张晓燕, 杨宜婷, 刘硕. 复合多糖胶囊中原花青素含量测定方法的研究[J]. 现代食品科技, 2011, 27(10): 1288-1290
- [3] 李绮丽, 吴卫国, 彭芳刚, 毛海峰. 莲子皮原花青素测定方法的研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(2): 241-245
- [4] 钟少枢. HPLC 法同时测定红油豆瓣酱中的 7 种非食用色素[J]. 现代食品科技, 2011, 27(8): 1047-1048
- [5] 刘郁, 张念洁, 刘连新, 等. 采用 HPLC 方法测定氟伐他汀钠分散片的含量[J]. 吉林化工学院学报, 2011, 28(1): 23-25
- [6] GB/T 22254-2008 《食品中阿斯巴甜的测定》

现代食品科技