

HPLC 分析食品中的阿斯巴甜

阿斯巴甜是一种允许在食品中适量添加的甜味剂，其甜度是一般糖的 200 倍，而且热量很低，主要添加于饮料、维他命含片、口香糖中作为糖的代用品。但是阿斯巴甜的副作用一直存在一定的争议，因此，有必要对食品中阿斯巴甜的含量进行测定。

我们参考 GB/T 22254-2008, 采用 LC1620A 高效液相色谱仪对酸奶中的阿斯巴甜进行含量测定，获得良好的检出灵敏度和分离效果，并对方法重现性和回收率做了考察。

一、实验部分

1.1 仪器与试剂

LC1620A 液相色谱仪，配紫外检测器

FA2004 电子分析天平

甲醇，色谱纯

乙醇，分析纯

二次蒸馏水

阿斯巴甜标准品

1.2 色谱条件

色谱柱：Shodex 120-5-4E C18，4.6*250mm，5 μ m

流动相：甲醇：水=39：61

检测波长：208nm

流速：0.8ml/min

1.3 样品溶液准备

1.3.1 标准品储备配制：准确称取阿斯巴甜标准品 0.1g（精确至 0.0001g），置于 100ml 容量瓶中，用 pH4.3 的水溶解并定容至刻度，置于冰箱中保存，有效期为三个月。

1.3.2 标准使用液配制：将标准储备液用水逐级稀释为 125 μ g/ml、50.0 μ g/ml、25.0 μ g/ml、5.0 μ g/ml、2.5 μ g/ml 的标准使用液，临用前配制。

1.3.2 样品溶液制备：称取 1g 酸奶样品，于 10ml 离心管总，加入 2ml 乙醇，盖上盖子，轻轻上下颠倒数次，静置 1min，6000r/min 离心 5min，上清液滤入 5ml 容量瓶中，沉淀用 1ml 水洗涤，离心后合并上清液，用水定容至刻度，经 0.45um 有机系滤膜过滤，作为样品溶液。

1.4 样品测试

按色谱条件进样分析样品，进样量为 20ul。

二、结果与讨论

1、精密度实验

125ug/ml 标准品溶液连续 6 次进样，得到保留时间和峰面积，计算相对标准偏差，所得结果见表 1。

表 1 连续 6 次进样的重复性

No.	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD%
保留时间	10.085	10.137	10.047	10.092	10.147	9.965	10.0788	0.661%
峰面积	666371.3	671969.7	667943.7	656948.8	666236.3	664120.4	665598.4	0.748%

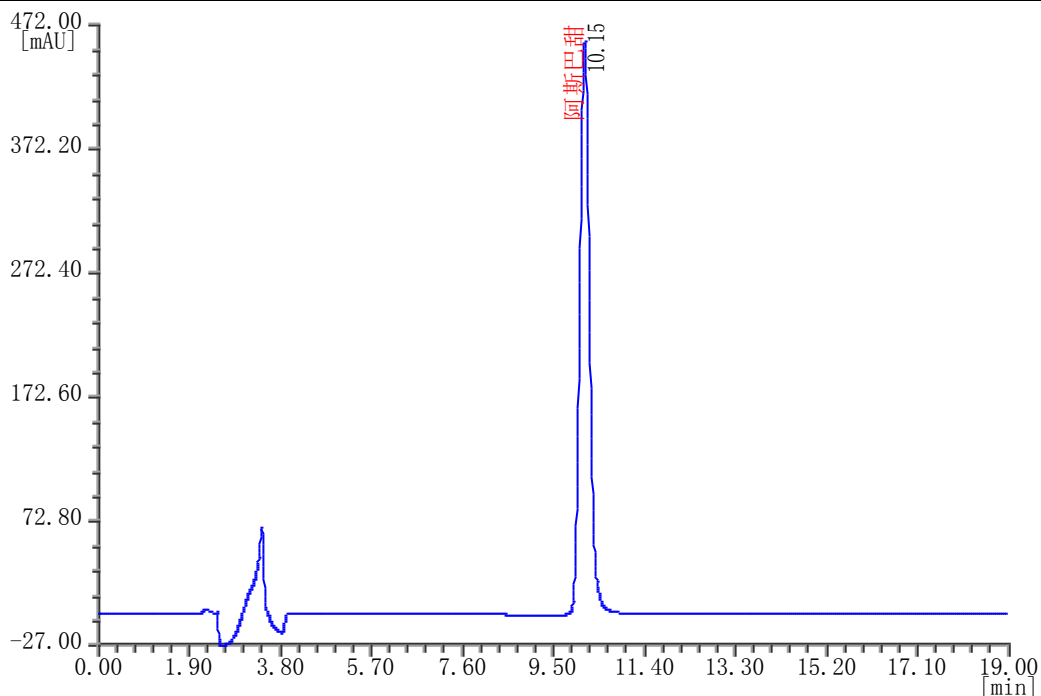


图 1 阿斯巴甜标准品谱图

2、按 GB/T 22254-2008 中对乳饮料的前处理方法处理酸奶样品，HPLC 分析结果如图 2，测定酸奶中阿斯巴甜的含量为 40.4mg/kg。

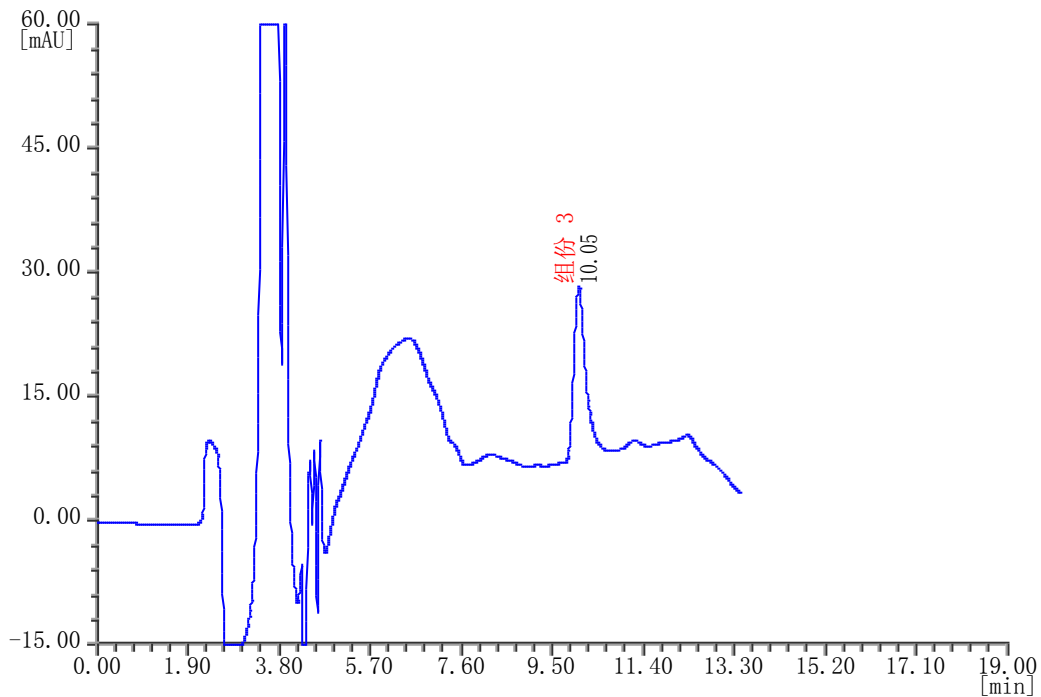


图 2 按 GB/T 22254-2008 方法前处理样品谱图

3、由于酸奶中阿斯巴甜的含量低于国标中规定的标准曲线最低点 25.0ug/ml，因此在本次实验中增加了 2.5ug/ml 和 5.0ug/ml 两个浓度点，去掉 500ug/ml、250ug/ml 两个浓度点，以 125ug/ml、50.0ug/ml、25.0ug/ml、5.0ug/ml、2.5ug/ml 五点制作标准曲线，所得结果如表 2 及图 4，结果表明线性关系良好。

表 2 不同浓度标准品峰面积

浓度	2.5	5	25	50	125
峰面积	14333.3	27731.6	141243.9	277481.7	664120.4

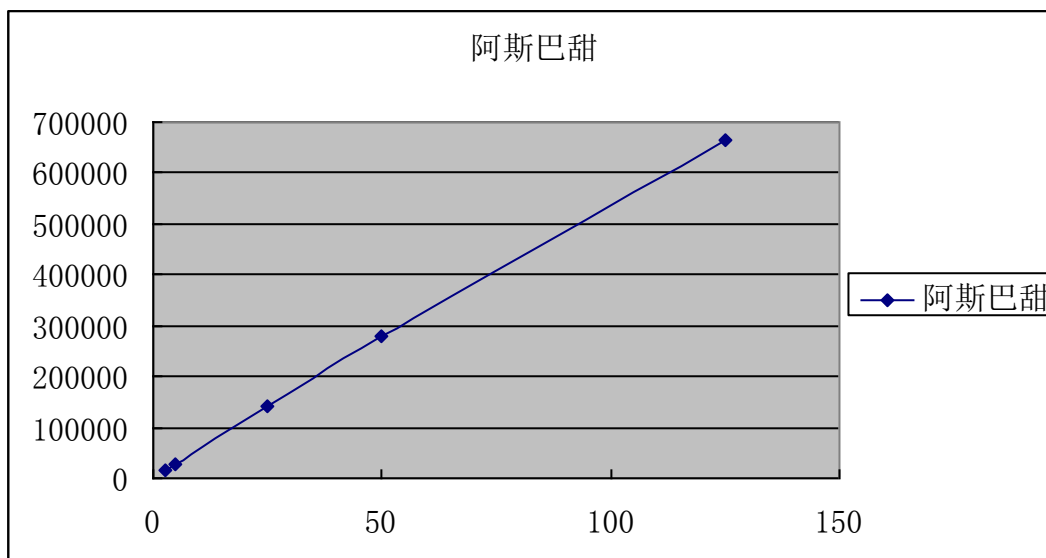


图 4 阿斯巴甜标准曲线图

$$y = 5301x + 4991.7 \quad R^2 = 0.9996$$

4、加样回收率实验。平行制备三份添加样品，添加量为 200mg/kg，计算其加样回收率，结果见表 3。回收率结果在 96.35%~100.33%之间，具有良好的可靠性。

表 3 加样回收率结果

No.	实测浓度 (mg/kg)	添加浓度 (mg/kg)	回收率%
1	241.05	200	100.33%
2	234.2	200	96.90%
3	233.1	200	96.35%

5、根据信噪比，按照 3 倍噪声值计算检出限为 0.35mg/kg，定量限为 1.16mg/kg，完全满足 GB/T 22254-2008 的规定。