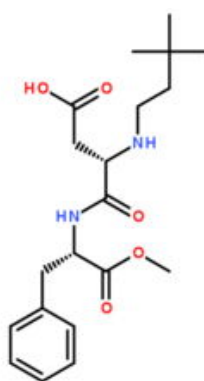


# 果汁和酸奶中纽甜的检测

## 背景

纽甜是一种新型功能性甜味剂，系阿斯巴甜的衍生物，甜度约为蔗糖的 8 000 倍~13 000 倍，蔗糖的 40 倍以上，是一种强力甜味剂，甜味纯正，甜味协和，稳定性好，价格低廉，纽甜作为甜味调节剂广泛应用于乳饮料、糕点、调味品等各类食品中。研究表明，过量食用甜味剂会对人体健康造成危害，因此国家食品添加剂使用标准也对其作出了严格规定。而由于绝大多数食品基质复杂，前处理过程去除不充分，不但会影响色谱分离度，而且极易堵塞色谱柱，缩短色谱柱的寿命。因此国标方法 GB 5009.247-2016 食品中纽甜的测定规定了固相萃取-高效液相色谱法测定食品中的纽甜含量。



纽甜结构式

## 适用范围

本方法（参考 GB 5009.247-2016），适用于食品中纽甜含量的测定。

## 实验步骤

### 试剂准备

混合提取液：分别吸取 0.8 mL 的甲酸和 2.5 mL 的三乙胺，加水定容至 1000 mL 的容量瓶中，pH 约 4.5；

0.1%磷酸水溶液：吸取 1 mL 的磷酸，加水定容到 1000 mL 的容量瓶中。

### 液相色谱仪器条件

Column: ChromCore C18, 5  $\mu$ m

Dimension: 4.6  $\times$  250 mm

Mobile Phase: A)ACN

B)H<sub>2</sub>O:H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>=999:1 (v/v)

Gradient:

t(min)	A	B
0	32	68
13	32	68
14	90	10
17	90	10
17.5	32	68
21	32	68

Flow Rate: 1.0 mL/min

Temperature: 30 °C

Injection: 20 µL

Detection: UV 218 nm

## 果汁样品处理

### 果汁提取

称取 10 mL 试样于 50 mL 容量瓶中，加入 30 mL 混合提取液，超声 15 min 后再用混合提取液定容至刻度线，若溶液浑浊，以不低于 4000 r/min 离心 10 min 后，过滤后待净化。

### 果汁净化

SPE 柱：SelectCore C18 固相萃取柱（500 mg/6mL）

活化：依次用 5 mL 的甲醇和水活化；

上样：加入 10 mL 上清液；

淋洗：用 5 mL 的混合提取溶液进行淋洗；

洗脱：用 5 mL 甲醇溶液进行洗脱，收集洗脱液，在 40 °C 下用氮气吹干，用 2 mL 混合提取溶液复溶后，上机检测。

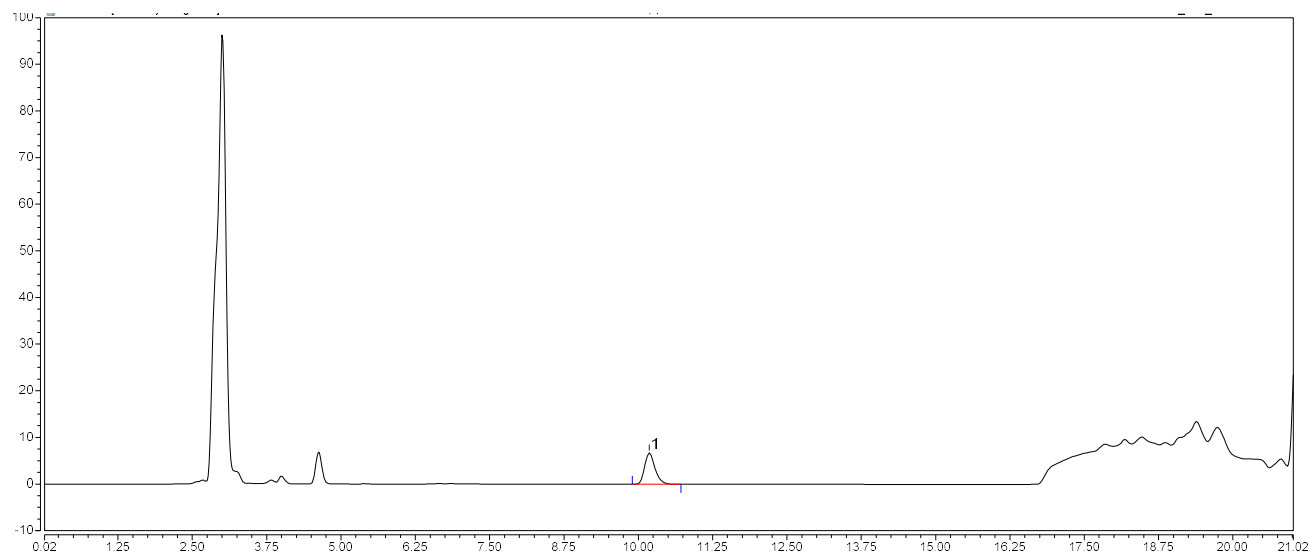


图 1: 5 ug/mL 纽甜对照品溶液色谱图

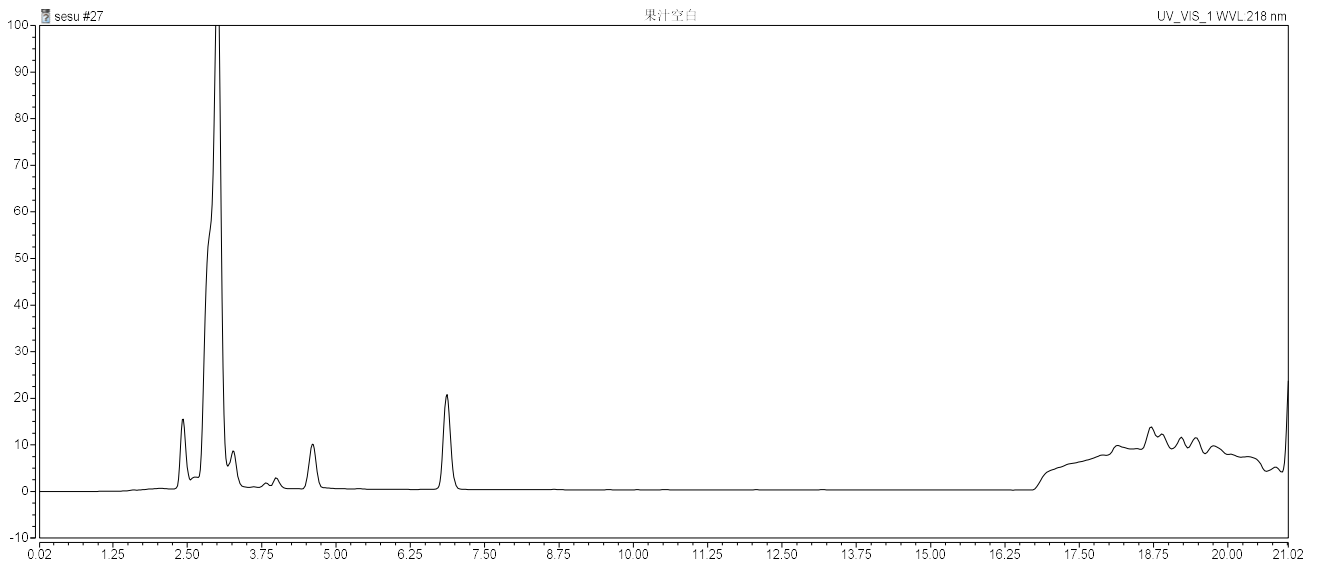


图 2: 果汁空白基质色谱图

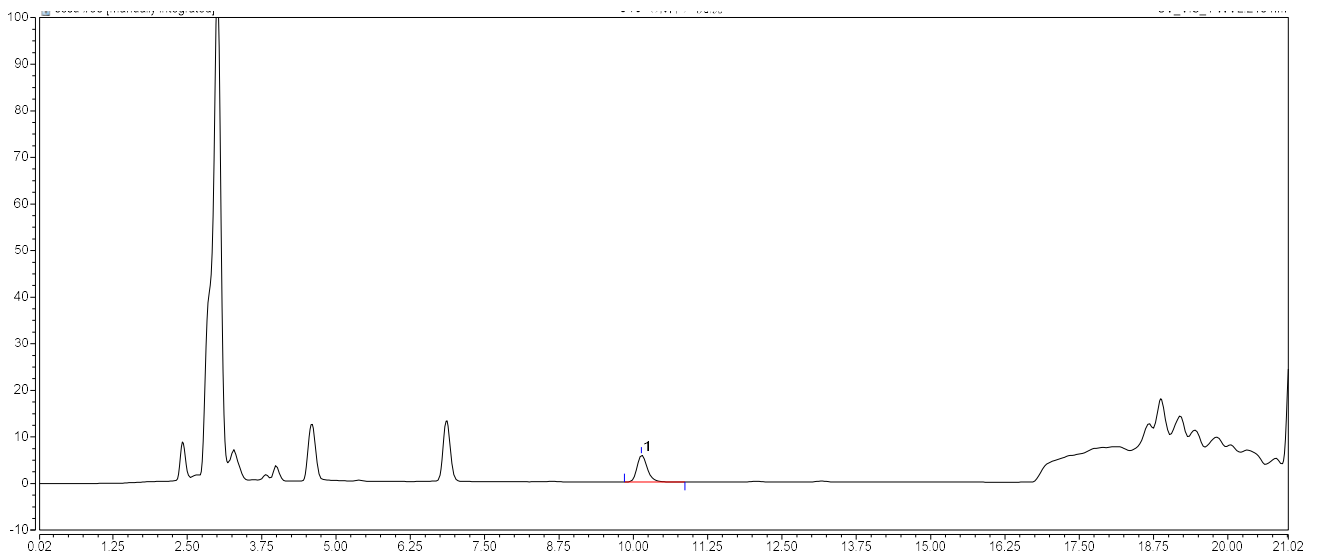


图 3: 添加水平 1 mg/kg 的果汁基质色谱图

## 酸奶样品处理

### 酸奶提取

称取 10 g 试样于 50 mL 容量瓶中, 加入 30 mL 混合提取液, 涡旋震荡 10 min, 超声 30 min 后再用混合提取液定容至刻度线, 若溶液浑浊, 以不低于 4000 r/min 离心 10 min 后, 过滤后待净化。

### 酸奶净化

SPE 柱: SelectCore HLB 固相萃取柱 (150 mg/6mL)

活化: 依次用 5 mL 的甲醇和水活化;

上样: 加入 10 mL 上清液;

淋洗：用 5 mL 的混合提取溶液进行淋洗；

洗脱：用 5 mL 甲醇溶液进行洗脱，收集洗脱液，在 40 °C 下用氮气吹干，用 2 mL 混合提取溶液复溶后，上机检测。

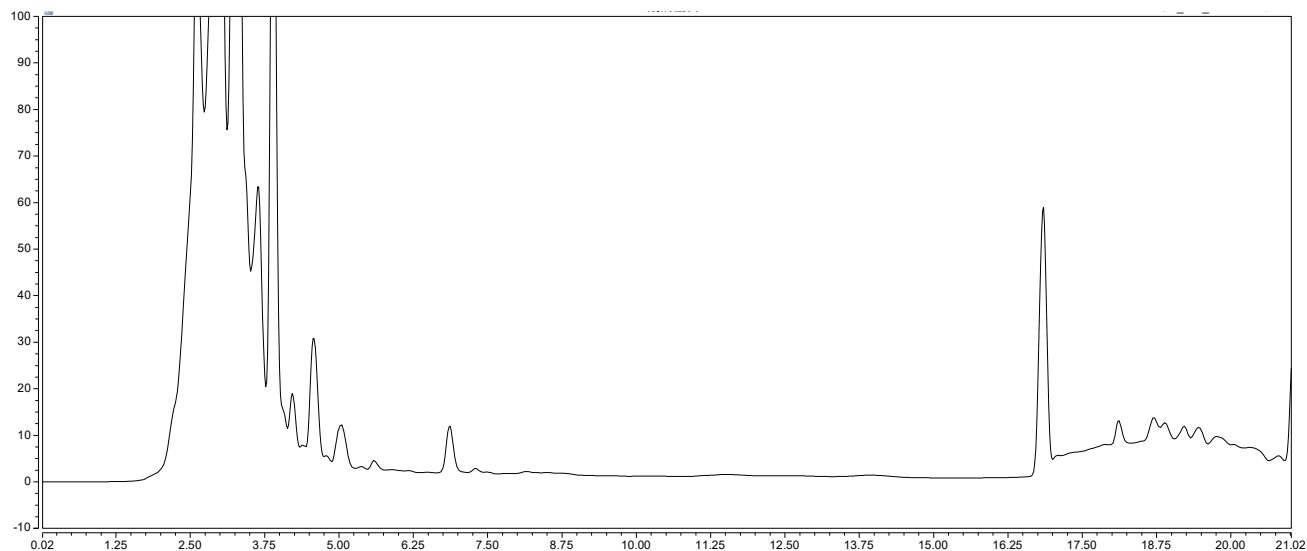


图 4：酸奶空白基质色谱图

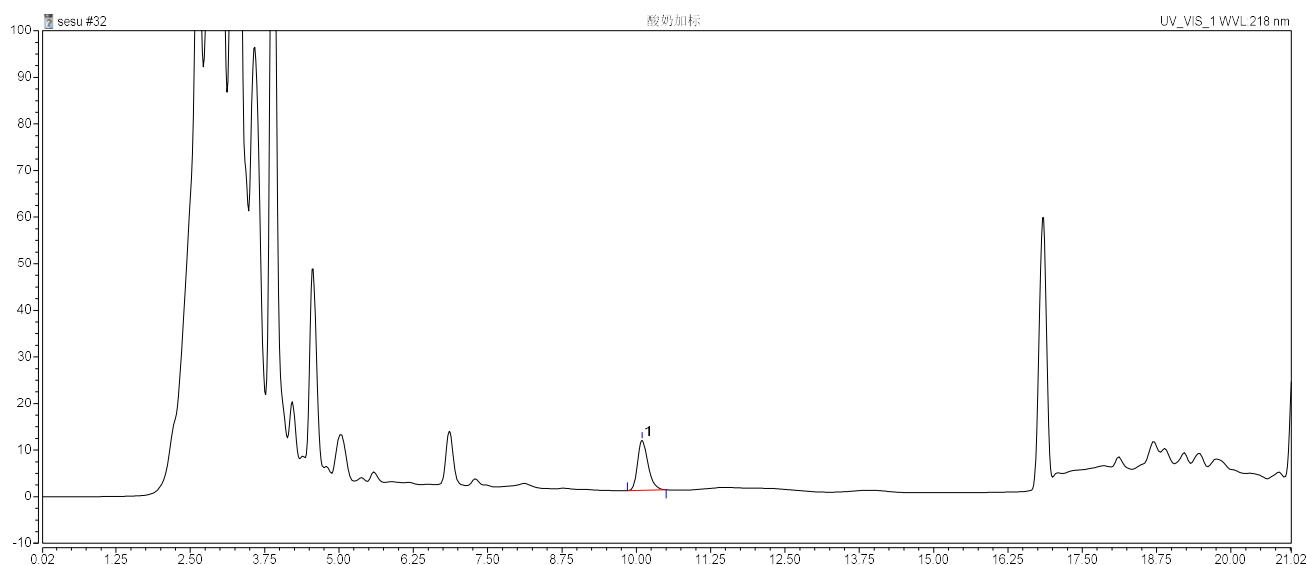


图 5：添加水平 1 mg/kg 的酸奶基质色谱图

#### 样品加标回收率实验结果

样品名称	化合物（中文）	加标量 (mg/kg)	平均回收率%
果汁	纽甜	1	90.79%
酸奶	纽甜	1	92.64%

#### 实验讨论

- 我们在做酸奶基质样品的时候，发现过 C18 小柱特别慢，考虑到都是疏水反相保留模式，因此我们改用 HLB 小柱，不仅回收率良好，而且滴速要比 C18 小柱快 3~5 倍（见视频），因此，推荐复杂基质样品纽甜测定的时候，选择我们公司单分散 HLB 固相萃取柱。

- b. 国标规定液相色谱的流动相应选择辛烷磺酸钠的离子对试剂，我们在实际分析过程中发现离子对试剂的确增加了纽甜的保留，但是时间久了柱压容易升高，而且每天配制辛烷磺酸钠的浓度微小差异导致保留时间有差异，因此我们降低了有机相比比例，并且改成 0.1%磷酸水溶液，纽甜的保留时间也和之前用离子对试剂的保留时间一样，峰型良好，分离度符合要求，日内和日间的保留时间和峰面积的精密度和重复性 RSD 也在 1%以内，特别是柱压较平稳，没有明显升高。因此我们将流动相的水相改成 0.1%磷酸水溶液。

## 实验结论

由实验数据可得，果汁样品的前处理可以选择纳谱分析的 SelectCore C18 500mg/6mL 固相萃取柱，酸奶样品的前处理可以选择纳谱分析的 SelectCore HLB 150mg/6mL 固相萃取柱。分析柱选择纳谱分析的 ChromCore C18 5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 250 mm，峰型良好，分离度符合要求，符合检测标准。