

# 高效液相色谱法测定保健食品中三氯蔗糖的含量

陈晓霞\*, 游景水, 杨祖伟

(汤臣倍健股份有限公司, 珠海 519040)

**摘要:** **目的** 建立一种保健食品中三氯蔗糖含量测定的高效液相色谱检测法。**方法** 样品采用 Rad pak C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm)进行分离, 以 1.0 mL/min 乙腈:水(V:V=15:85)为流动相, 最后用高效液相色谱法(HPLC)-示差折光仪为检测器进行测定, 外标法定量分析。**结果** 高效液相色谱法在 0.482~2.892 mg/mL 浓度范围, 三氯蔗糖的浓度和峰面积的线性良好, 相关系数为 0.999( $r > 0.99$ ), 该方法的检出限和定量限分别为 19.58 mg/g 和 65.27 mg/g, 在不同的添加水平下, 该方法的回收率范围为 95.0%~95.6%, 相对标准偏差为 0.3% ( $n=9$ )。**结论** 高效液相色谱法灵敏度、准确度均较高, 适用于保健食品中三氯蔗糖的含量测定。

**关键词:** 高效液相色谱法; 三氯蔗糖; 保健食品; 含量测定

## Determination of sucralose content in health food by high performance liquid chromatography

CHEN Xiao-Xia\*, YOU Jing-Shui, YANG Zu-Wei

(By-Health Co., Ltd., Zhuhai 519040, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish an efficient solution for determination of sucralose content in health food by high performance liquid chromatography (HPLC). **Methods** The sample was separated on a Rad Pak C<sub>18</sub> chromatographic column (4.6 mm×250 mm, 5 μm), using 1 mL/min acetonitrile:water (V:V=15:85) as the mobile phase. Then, the analyte was detected by HPLC with different refractometer detector and external standard method for quantitative analysis. **Results** The method showed a good linearity in the range of 0.482~2.892 mg/mL with  $r=0.999(>0.99)$ , and the detection limit and quantification limit were 19.58 and 65.27 mg/g respectively. Under different additive levels, the recovery rate of this method was ranged from 95.0% to 95.6%, the relative standard deviation (RSD) was 0.3% ( $n=9$ ). **Conclusion** This method is suitable for sensitive and accurate determination of sucralose in health food.

**KEY WORDS:** high performance liquid chromatography; sucralose; health food; content determination

## 1 引言

三氯蔗糖(sucralose), 相对分子量 397.64, 为白色至近白色结晶性粉末, 实际无臭, 不吸湿, 有甜味, 能溶于水、甲醇、乙醇, 微溶于乙酸, 是一种无营养的甜味剂, 在人体内不参与代谢, 不产生龋齿, 口感

与蔗糖相似, 在水中溶解度高, 工业加工稳定并与食品中的其他成分无相互作用, 使其成为应用很广的高甜度、无热值甜味剂<sup>[1-4]</sup>。1990年6月, FAO/WHO组织食品添加剂联合专家委员会批准了三氯蔗糖的永久性ADI值为15 mg/kg<sup>[5,6]</sup>。第16次全国食品添加剂标准化技术委员会讨论通过, 允许三氯蔗糖在

\*通讯作者: 陈晓霞, 西药师, 主要研究方向为保健食品。E-mail:164498366@qq.com.

\*Corresponding author: CHEN Xiao-Xia, Western Medicine. By-Health Co., Ltd., No.19, Xinghan Road, Sanzao Science and Technology Industrial Park, Jinwan District, Zhuhai 519040, China. E-mail: 164498366@qq.com.

饮料、酱菜、复合调味剂、配制酒、糕点、饼干、面包、冰棍、冰淇淋等食品中的最大使用限量为 0.25 g/kg, 口香糖、蜜饯的最大使用限量为 1.5 g/kg, 餐桌甜味剂的最大使用量为 0.05 g/包, 罐头水果为 0.25 g/kg, 三氯蔗糖在食品中得到广泛地应用<sup>[7,8]</sup>。但目前关于食品中三氯蔗糖的含量测定方法, 只有 GB/T 22255-2008《食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》<sup>[9]</sup>可以参考, 其他有关文献报导较少, 本研究参照 GB 25531-2010《食品安全国家标准 食品添加剂 三氯蔗糖》的方法<sup>[10]</sup>, 采用 Waters 高效液相色谱仪<sup>[11-13]</sup>, 选用 Rad pak C<sub>18</sub> 色谱柱, 以乙腈和水作为流动相, 使用外标法进行定量分析, 建立三氯蔗糖的含量测定方法, 本方法简便、高效, 适用于工厂中三氯蔗糖和保健食品中三氯蔗糖的含量检测。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱仪(带示差折光检测器, 沃特世科技上海有限公司); KQ-500E 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司); XW-80A 型旋转混合仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); XP-205 型分析天平(瑞士 METTLER TOLEDO 公司)。

乙腈(色谱纯, 安谱科技有限公司); 三氯蔗糖对照品(98.5%, 德国 Dr.Ehrenstorfer, 批号: 80722); 三氯蔗糖原料样品(1 kg/件, 英国泰莱)。

### 2.2 实验方法

#### 2.2.1 色谱条件

C<sub>18</sub>反相色谱柱(4.6 mm×250 mm, 5 μm); 流速: 1.0 mL/min, 柱温: 40 °C, 进样量: 10 μL; 检测器: 示差检测器, 池温度: 50 °C; 流动相: 水:乙腈=85:15

#### 2.2.2 标准溶液配制

标准储备液: 精确称取三氯蔗糖对照品 250 mg 于 25 mL 棕色容量瓶中, 用 15%乙腈水溶液溶解, 室温超声 5 min 使完全溶解, 冷却, 用 15%乙腈水溶液定容至刻度, 摇匀, 浓度约为 10 mg/mL, 放入 2~8 °C 的冰箱中储存备用。

#### 2.2.3 标准工作曲线绘制

分别精密移取三氯蔗糖标准贮备液稀释成以下系列浓度: 0.482、0.771、1.157、1.928、2.892 mg/mL; 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 进样量为 10 μL。以浓度 X(mg/mL)为横坐标, 峰面积(Y)为纵坐标, 绘制标

准工作曲线。

#### 2.2.4 供试品溶液的制备

精密称取 25 mg 研磨均匀的样品, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 加入适量 15%乙腈水溶液, 室温超声 5 min 使溶解, 冷却, 用 15%乙腈水溶液定容至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 即为供试品溶液, 取滤液进样 10 μL。

#### 2.2.5 精密度试验

取本品粉末精密称定, 制备 6 份样品溶液, 测定其含量, 计算其 RSD(%)。

#### 2.2.6 加标回收试验

精密称取约 25 mg 样品 9 份, 置于 25 mL 棕色容量瓶中, 分成 3 组, 每组 3 份, 于每一组中分别精密加入三氯蔗糖标准品 19.840、24.520、29.680 mg, 加入适量的 15%乙腈水溶液, 室温超声 5 min 使溶解并定容至刻度, 摇匀, 经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤, 作为加标溶液; 取该样品溶液和加标溶液各 10 μL 进样, 做加标回收试验。

测得对照品投入量=加标样品测得量 - 样品测得量

回收率(%)=测得对照品投入量/投入量

## 3 结果与讨论

### 3.1 国家标准《食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》

(GB/T 22255-2008)中的样品处理方法复杂, 消耗时间长, 试剂使用量大, 造成检测成本高; 本方法的样品处理快捷简单、高效, 能节省试剂的使用量, 消耗时间短, 更能提高工作效率, 节约检验成本。

### 3.2 流速对分离效果的影响

如图 1、2 所示, 分别采用 0.5、1.0 mL/min 的流速进行对比试验, 两者的出峰时间相差约 9 min, 1.0 mL/min 的出峰时间为 8 min 左右, 柱压合适, 分离度好, 峰形尖锐, 灵敏度高。故选择 1.0 mL/min 的流速。

### 3.3 标准工作曲线

线性实验结果如表 1 所示, 相关系数  $r$  为 0.999, 所以该方法测定三氯蔗糖的含量, 在浓度为 0.5~3.0 mg/mL 之间呈现良好的线性关系。

### 3.4 检出限和定量限

分析方法的检出限 DL 和定量限 QL 由信噪比 ( $S/N$ )计算。DL 定义为  $S/N=3$  时对应的待分析浓度, QL 定义为  $S/N=10$  时对应的待分析浓度。

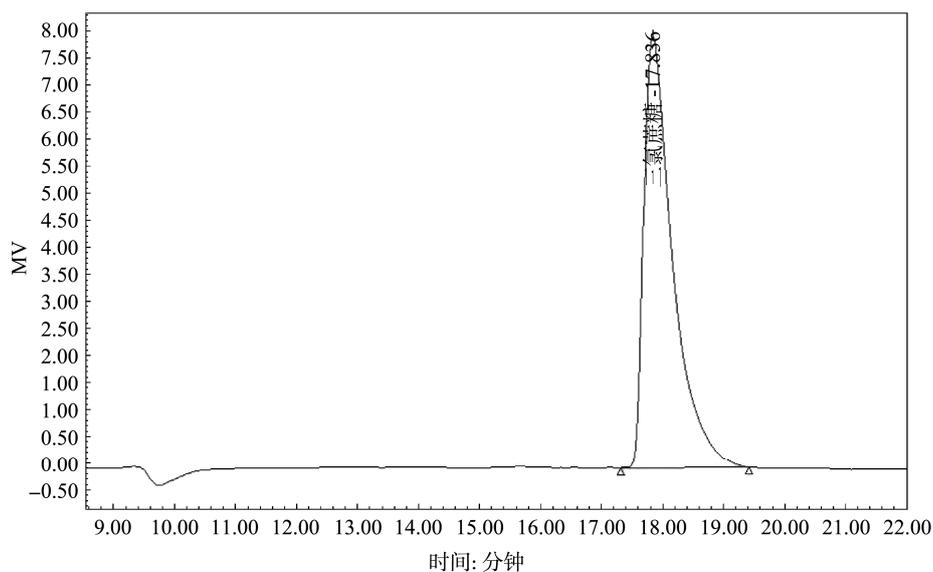


图 1 流速为 0.5 mL/min 的色谱图谱

Fig. 1 Chromatogram of the flow rate at 0.5 mL/min

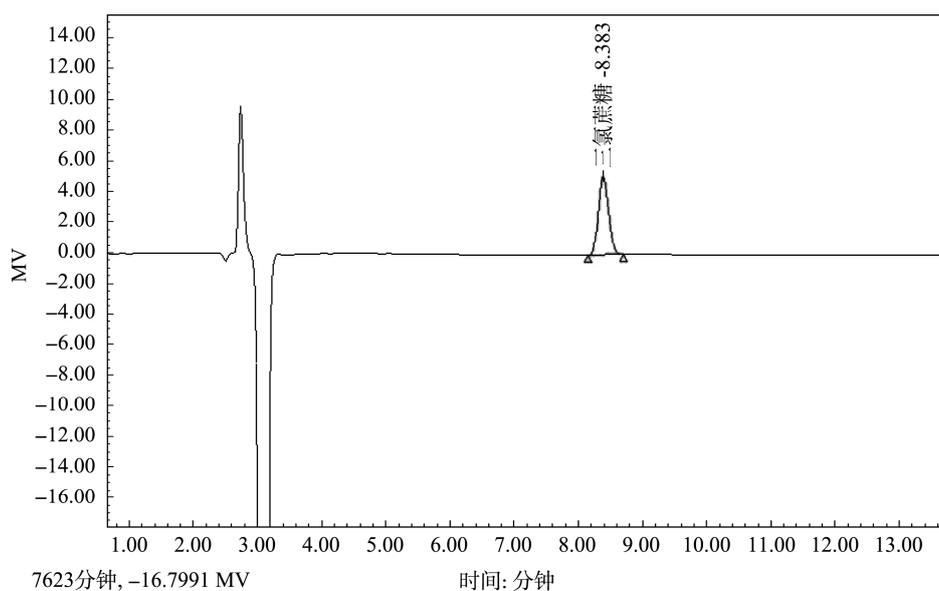


图 2 流速为 1.0 mL/min 的色谱图谱

Fig. 2 Chromatogram of the flow rate at 1.0 mL/min

#### 3.4.1 检出限

浓度为 0.9788 mg/mL 的三氯蔗糖标准品溶液, 进样量为 1  $\mu$ L 时, 测得信噪比为 14.74, 样品的进样量为 10  $\mu$ L, 即取信噪比为(3:1)测定方法的检测浓度为: DL(三氯蔗糖)=0.01958 mg/mL, 按实际样品的处理过程计算, 方法的检出限为 19.58 mg/g。

#### 3.4.2 定量限

取信噪比为(10:1)测定方法的检测浓度为: QL(三氯蔗糖)=0.06527 mg/mL, 按实际样品处理过程计算, 方法的定量限为 65.27 mg/g。

#### 3.5 精密度实验

从表 2 中可以看出, 6 个三氯蔗糖样品的含量范

表1 线性实验结果  
Table 1 Results of linearity experiment

标准序号	浓度 X(mg/mL)	三氯蔗糖峰面积(Y)
STD1	0.482	28862.125949
STD2	0.771	46504.252563
STD3	1.157	69543.400134
STD4	1.928	116913.610092
STD5	2.892	175276.798123
线性方程	Y=60782.43X+0	
相关系数(r)	0.999	

围为 98.678%~99.879%，平均含量为 99.200%，相对标准偏差(RSD)为 0.500%，具有良好的精密度。精密度实验结果见表 2。

### 3.6 加标回收实验

从表 3 可以看出加标实验的平均回收率为

95.310%，RSD 为 0.300%，加标回收率较高。说明本方法对三氯蔗糖和保健食品中三氯蔗糖的含量能起到质量控制的目的。能为三氯蔗糖原料和保健食品中三氯蔗糖的含量测定提供检测标准依据。

### 3.7 实际样品的测定

采用 2.2 试验方法对三氯蔗糖标准品和实际样品进行测定，结果如图 3、4 所示。

## 4 结论

本文通过高效液相色谱法，采用 1.0 mL/min 流速，乙腈:水(V:V=15:85)为流动相，能够快速分离三氯蔗糖并进行定量检测。通过测定其线性范围、检出限、定量限、精密度、和回收率实验，得到满意结果。表明该方法适用于保健食品中三氯蔗糖的含量检测。

表2 精密度实验结果 (n=2)  
Table 2 The precision of the experimental results (n=2)

样品名称	序号	称样量(mg)	浓度(mg/mL)	含量(%)	平均含量(%)	RSD(%)
三氯蔗糖	1	25.060	0.993	99.152	99.200	0.500
	2	25.010	0.989	98.919		
	3	24.410	0.974	99.879		
	4	24.350	0.965	99.207		
	5	24.410	0.969	99.350		
	6	24.310	0.959	98.678		

表3 回收率试验结果表 (n=3)  
Table 3 Recoveries and relative standard deviations of sucralose (n=3)

序号	样品称样量(mg)	样品含量(%)	测得对照品量(mg)	加标量(mg)	回收率(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
1	24.840	175.431	18.909	19.840	95.311	95.310	0.300
2	24.720	176.103	18.984	19.840	95.688		
3	24.530	176.298	18.886	19.840	95.192		
4	24.220	195.909	23.394	24.520	95.409		
5	24.080	196.183	23.325	24.520	95.128		
6	24.170	195.836	23.328	24.520	95.141		
7	24.130	216.470	28.266	29.680	95.235		
8	24.160	216.138	28.221	29.680	95.084		
9	24.410	215.882	28.450	29.680	95.857		

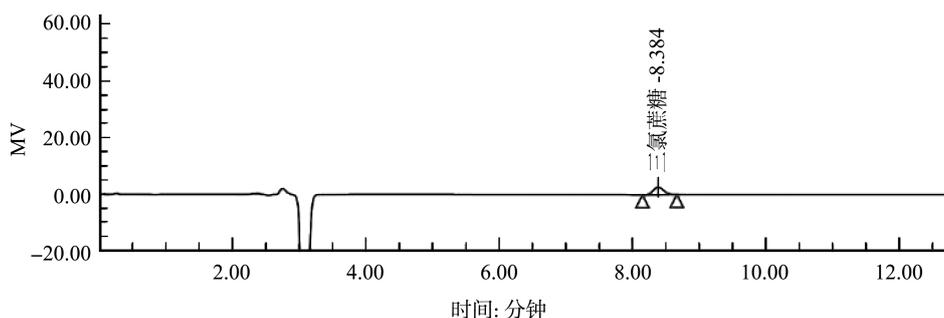


图 3 标准品色谱图

Fig. 3 Chromatogram of standard sample

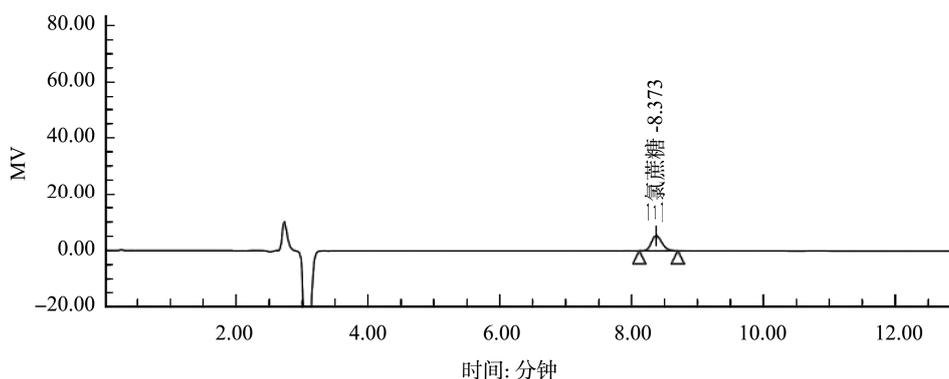


图 4 样品色谱图

Fig. 4 Chromatogram of samples

## 参考文献

- [1] 凌关庭. 食品添加剂手册(第 3 版) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2003.  
Ling GT. Handbook of food additives (3th edit) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2003.
- [2] 李炎. 食品添加剂制备工艺[M]. 广州: 广东科技出版社, 2001.  
Li Y. Food additive preparation technology [M]. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press, 2001.
- [3] 孟慧琴, 晏日安, 杨伟, 等. 三氯蔗糖及其合成中间体的制备分离与结构表征[J]. 食品科技, 2008, 33(7): 145-147.  
Meng HQ, Yan RA, Yang W, *et al.* Synthesis, isolation and characterization of sucralose and the intermediate [J]. Food Sci Technol, 2008, 33(7): 145-147.
- [4] 冷一欣, 张兆, 黄春香, 等. 甜味剂三氯蔗糖的合成及结构表征[J]. 化学研究与应用, 2011, 23(12): 1666-1670.  
Leng YX, Zhang Z, Huang CX, *et al.* Synthesis and characterization of sweetener sucralose [J]. Chem Res Appl, 2011, 23(12): 1666-1670.
- [5] 孟慧琴, 宫萍, 等. 红外光谱和质谱法鉴定三氯蔗糖及其合成中间体的结构[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(12): 3808-3817.  
Meng HQ, Gong P, *et al.* Identification of molecular structure of sucralose and its intermediates by infrared spectrometry and mass spectrometry [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(12): 3808-3817.
- [6] 黄少虹, 吴小平. 食品添加剂三氯蔗糖的含量测定[J]. 中国食品添加剂, 2003, 2: 112-113.  
Huang SH, Wu XP. Determination of contents of sucralose in food additive [J]. China Food Add, 2003, 2: 112-113.
- [7] 郑建仙. 功能性食品甜味剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2001.  
Zheng JX. Functional food sweetene [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2001.
- [8] 中国食品添加剂生产应用工业学会. 中国食品添加剂分析检验手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996.  
Chinese food additive production and Application Industry Association of China. Chinese inspection manual analysis of food additives [M]. Beijing: Chinese Light Industry Press, 1996.

- [9] GB/T 22255-2008 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定[S].  
GB/T 22255-2008 Sucralose (Splenda) determination in food [S].
- [10] GB 25531-2010 食品安全国家标准 食品添加剂 三氯蔗糖 [S].  
GB 25531-2010 The national food safety standards, food additives, sucralose [S].
- [11] 鲁玉侠. 高效液相色谱法检测橄榄果酒中的 Vc 和糖类物质 [J]. 现代食品科技, 2011, 27(7): 861-862, 872.  
LU YX. Simultaneous determination of Vc and saccharides in olives wine by HPLC [J]. Mod Food Sci Technol, 2011, 27(7): 861-862, 872.
- [12] 刘敏. 高效液相色谱法测定食品中的添加剂和非法添加物[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.  
Liu M. Determination of food additives and illegal additives by HPLC in food [D]. Taian: Shandong Agriculture University, 2012.
- [13] 林春晓, 曾红惠, 付斌, 等. 高效液相色谱检测熟食肉制品中人工合成色素的研究[J]. 中国热带医学, 2005, 5(3): 556-557.  
Lin CX, Zeng HH, Fu B, *et al.* Determination of artificial pigment from meat products by using high performance liquid chromatography [J]. Chin Trop Med, 2005, 5(3): 556-557.
- [14] 牛晋阳, 郭文萍, 赵榕. 高效液相色谱法测定肉制品中的着色剂[J]. 肉类工业, 2007, 312(4): 23-26.  
Niu JY, Guo WP, Zhao R. Determination of 26 colorant in meat product by HPLC [J]. Meat Ind, 2007, 312(4): 23

(责任编辑: 李振飞)

### 作者简介



陈晓霞, 西药师, 主要研究方向为保健食品的质量检测。  
E-mail: 164498366@qq.com