

离子色谱法电化学检测复合甜味剂和饮料中的甜味素

齐竹华 屈 锋 刘克纳 牟世芬

(中国科学院生态环境研究中心, 北京, 100085)

摘 要

提出了一种以离子色谱法分离、积分安培法检测复合甜味剂和饮料中甜味素的新方法。以 Dionex AS4A-SC 柱为分离柱, $27.5\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}\text{NaOH}$ 为淋洗液等度淋洗, 积分安培电化学检测。方法检出限 ($S/N=3$) 为 $0.030\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 线性范围为 $0.1\sim 10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 。在实验条件下, 其它人工合成甜味剂及甜味素的分解产物均不产生干扰。方法用于复合甜味剂和饮料中甜味素的测定, 分析结果与紫外检测一致。

关键词: 离子色谱, 积分安培法, 甜味素, 复合甜味剂, 饮料。

甜味素 (化学名为天门冬酰苯丙氨酸甲酯) 是一种低热量的糖类替代物, 其甜度为蔗糖的 180 倍^[1], 测定甜味素的方法包括光谱法^[2], 酶法^[3], 气相色谱法^[4] 以及最常使用的高效液相色谱法^[5-9] 等。其中, 在高效液相色谱法中通常采用紫外检测^[5-8] 或荧光法检测^[9]。最近, 有文献报道^[10] 采用离子色谱法分离, 紫外和电导检测器串联进行检测, 同时分离和测定了四种人工合成甜味剂。但其采用梯度程序洗脱, 全部分析过程需 20min 才能完成, 并需较长的平衡时间。本文使用 NaOH 溶液进行等度淋洗, 全部分析过程可在 11min 完成, 方法简便、快速、灵敏。

电化学安培检测可用于测定糖类、脂肪胺以及含硫类分子^[11,12]。但目前除脉冲安培法用于检测糖类的文献报道外, 积分安培法检测在高效液相色谱和离子色谱中应用较少。本文首次采用积分安培法测定复合甜味剂和饮料中的甜味素, 分析结果与紫外检测一致。结果表明, 甜味素的分解产物 (天门冬氨酸和苯丙氨酸) 以及其它人工合成甜味剂如乙酰磺胺酸钾 (安赛蜜)、糖精钠均不干扰甜味素的测定。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

美国 Dionex 公司 DX-500 型离子色谱仪, IonPacAG4A-SC 保护柱, IonPacAS4A-SC 分离柱, AD20 型吸光度检测器, ED40 型电化学检测器 (积分安培检测方式, 金电极为工作电极, Ag/AgCl 为参比电极), PeakNet 色谱工作站。进样量 $25\mu\text{l}$ 。

乙酰磺胺酸钾为 Hoechst 公司产品, 其它甜味剂均为 Sigma 公司产品。天门冬氨酸和苯丙氨酸为上海康达氨基酸厂产品。试剂均为优级纯或分析纯, 水为二次去离子水。

标准储备液 ($1.000\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$): 准确称取甜味素、乙酰磺胺酸钾、糖精钠、天门冬氨酸

酸和苯丙氨酸各 0.1000g, 分别溶于 100ml 水中, 于 4℃ 冰箱中保存。

1.2 样品处理

所有样品均为市场采集样品, 其中包括 2 种粉末状复合甜味剂 (样品 A, B), 2 种果汁饮料 (样品 C, D) 和 3 种碳酸型饮料 (样品 E, F, G)。称取 50mg 复合甜味剂 (样品 A, B) 直接溶于水中, 定容至 25ml, 再从中移取 1.5ml 定容至 25ml 备用。果汁饮料直接用水稀释 100 倍备用。碳酸型饮料在室温下超声脱气 10min, 然后用水稀释。稀释倍数为: 样品 E 为 1:10, 样品 F, G 为 1:50。所有样品稀释液经 0.45 μ m 微孔滤膜后进样测定。

1.3 色谱条件

流动相: 27.5mmol $\cdot$ l $^{-1}$ NaOH 溶液, 等度洗脱, 流速 1.0ml $\cdot$ min $^{-1}$ 。紫外测定波长 214nm, 以保留时间定性, 峰面积定量。

2 结果与讨论

2.1 电化学检测

对于 N 原子上至少含有一对非成键电子的胺类, 在金电极上进行积分安培检测可以得到灵敏而重现性好的响应信号。检测过程涉及分析物在未氧化电极表面的吸附, 所测信号来源于金属电极表面氧化物的形成及其对待分析物的催化氧化^[12], 即是对电极表面氧化物的形成及其还原为初始状态的循环电位扫描过程中产生的电流积分。其优点在于有效地增强了分析物的检测信号和减小了基线噪音及漂移^[12]。同时, 通过高正负电位的交替使用保持了金属电极表面的稳定和活化状态。

甜味素 (天门冬酰苯丙氨酸甲酯) 及其分解产物天门冬氨酸和苯丙氨酸的分子结构中都含有一个 $-NH_2$ 基团, 因而可以用积分安培法进行检测。在本文实验条件下, 甜味素有灵敏的检测信号。为了提高检测的灵敏度, 我们在文献 [12] 的基础上对积分电位进行了优化, 所得最佳积分参数列于表 1。由表 1 可以看出, 积分过程 (0.20—0.70s) 包括从 -0.10 到 0.65V 的氧化阶段和从 0.65 回到 -0.1V 的还原阶段。每次积分循环后加 0.9V 的氧化电位和 -0.9V 的还原电位作为清洗电位。

表 1 最佳积分参数

Table 1 The optimum parameters for integrated amperometry detection

时间/s	电位/V	积分	时间/s	电位/V	积分
0.00	-0.30	开始	0.70	-0.30	结束
0.20	-0.30		0.71	0.90	
0.30	0.65		0.90	0.90	
0.40	0.65		0.91	-0.90	
0.50	-0.30		1.00	-0.90	

图 1 为积分安培法检测甜味素时所采用的最佳波形。

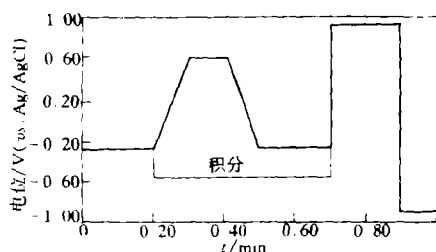


图 1 积分安培检测的波形

Fig. 1 Optimum waveform for integrated amperometry

2.2 分离体系的选择

溶液的 pH 值对电化学反应的影响很大, 如果反应过程中有 H^+ 或 OH^- 参与, 其氧化电位和检测灵敏度将随 pH 值的不同而变化. 所采用的淋洗液除保证对待测物有良好的分离度, 还需保证电化学检测所需的酸碱度. 我们根据文献 [10] 采用 $12.5\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Na_2CO_3 溶液作为淋洗液, 在 214nm 波长以紫外检测方式检测, 甜味素、乙酰磺胺酸钾、糖精钠都有较强吸收; 而在电化学检测方式中均未被检测到. 这可能是因 $12.5\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ Na_2CO_3 淋洗液不能为检测提供适当的 pH 范围, 降低了检测灵敏度, 造成无电化学信号检出. 为此, 改用不同浓度的 NaOH 溶液作为淋洗液, 经多次比较, 确定 $27.5\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaOH 为最佳淋洗液. 在该色谱条件下, 甜味素有灵敏的电化学信号, 乙酰磺胺酸钾和糖精钠没有电化学响应, 天门冬氨酸和苯丙氨酸虽有电信号, 但苯丙氨酸随水负峰流出, 天门冬氨酸也在甜味素前流出, 因而均不干扰其测定.

图 2 为标准溶液的色谱图 (分析物浓度均为 $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

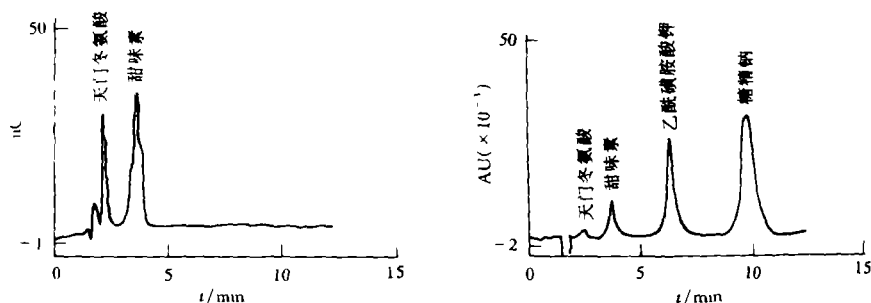


图 2 标准溶液的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of standard solution

2.3 紫外检测方式验证

天门冬氨酸、甜味素、乙酰磺胺酸钾和糖精钠的最大吸收波长分别为 214nm , 214nm , 214nm 和 230nm . 因在 214nm 下糖精钠也有较强的紫外吸收, 我们选择 214nm 作为检测波长而不采用波长切换技术^[12], 以避免基线有较大波动.

2.4 线性范围、精密度和检出限

在实验条件下, 甜味素的浓度与其电化学信号在 $0.1\text{--}10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系, 相关系数 0.9984. 采用 $5\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 标准溶液平行测定 7 次, 相对标准偏差 1.29%. 其电化学检测方式的检出限为 $0.030\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ (信噪比为 3).

2.5 实际样品的测定

在所选条件下测定七种样品, 四种样品检出甜味素, 与紫外检测方式对比的分析结果列于表 2. 两种检测方式所得结果基本一致. 对样品进行加标回收率实验, 加标浓度为 $2\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$, 回收率为 77.4—94.5%.

表 2 样品分析结果

Table 2 Analytical results of samples

样品	分析结果/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 或 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$		回收率/%
	紫外检测	电化学检测	
A	30.71	31.67	94.5
B	29.77	30.84	91.5
C	0.0238	0.0231	77.4
E	0.0103	0.0098	83.2

受储存时间、温度及样品 pH 等的影响, 甜味素会部分分解. 我们研究了于室温下保存两年的粉末状复合甜味剂 (样品 A 和 B) 的分解率. 与本实验室两年前的测定结果^[10]相比较, 样品 A 和 B 的分解率分别为 16.66% 和 13.11%. 图 3 为样品 A 的色谱图.

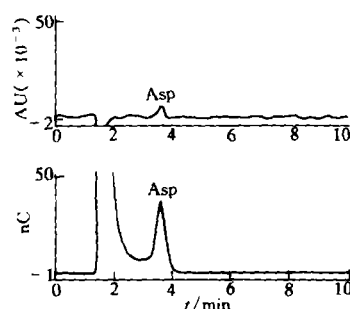


图 3 样品 A 的色谱图. Asp (甜味素)

Fig. 3 Chromatogram of sample A. Asp = Aspartame

参 考 文 献

- [1] Cloninger M R, Baldwin R E, L-Aspartyl-L-phenylalanine Methyl Ester (Aspartame) as a Sweetener. *J. Food Sci.*, 1994, 39:347—349
- [2] Nobrega J A, Fatibello-Filho O, Vieira I C, Flow Injection Spectrophotometric Determination of Aspartame in Dietary Products. *Analyst.*, 1994, 119:2101
- [3] Campanella L, Aturki Z, Sammartino M P, Aspartate Analysis in Formulations Using a New Enzyme Sensor *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1995, 13:439—447
- [4] Furda I, Malizia P D, Kolor M G et al., Decomposition Products of L-aspartyl-L-phenylalanine Methyl Ester and Their Identification by Gas-Liquid Chromatography. *J. Agric. Food. Chem.*, 1975, 23:340—343

- [5] Motellier S, Wainer I W, Direct Stereochemical Resolution of Aspartame Stereoisomers and their Degradation Products by High Performance Liquid Chromatography on a Chiral Crown Ether Based Stationary Phase. *J. Chromatogr.*, 1990, **516**: 365—373
- [6] Prodoliet J, Bruelhart M, Determination of Aspartame and Its Major Decomposition Products in Foods. *J. AOAC Int.*, 1993, **76**:275—282
- [7] Ladisch M R, Hendrickson R L, Firouztale E, Analytical and Preparative-scale Chromatographic Separation of Phenylalanine from Aspartame Using a New Polymeric Sorbent. *J. Chromatogr.*, 1991, **540**:85—101
- [8] Di Pietra A M, Cavrini V, Bonazzi D et al., HPLC Analysis of Aspartame and Saccharin in Pharmaceutical and Dietary Formulations. *Chromatographia.*, 1990, **30** (3/4):215
- [9] Sanchez F Garcia, Gallardo A Aguilar, Liquid Chromatographic and Spectrofluometric Determination of Aspartame and Glutamate in Foodstuffs Following Fluorescamine Fluorogenic Labelling. *Anal. Chim. Acta.*, 1992, **270**:45
- [10] Chen Q, Mou S, Liu K et al., Separation and Determination of Four Artificial Sweeteners and Citric Acid by High-Performance Anion-Exchange Chromatography. *J. Chromatogr. A*, 1997, **771**:135—143
- [11] LaCourse W R, Pulsed Electrochemical Determination at Noble Metal Electrodes in High-Performance Liquid Chromatography. *Analysis.*, 1993, **21**:181—195
- [12] Rocklin R D, Conductivity and Amperometry, Electrochemical Detection in Liquid and Ion Chromatography, Dionex Corporation, Sunnyvale, California, 1989

1999 年 2 月 3 日收到.

DETERMINATION OF ASPARTAME IN COMPOUND SWEETENERS AND DRINKS BY ION CHROMATOGRAPHY COUPLED WITH INTEGRATED AMPEROMETRY DETECTION

Qi Zhuhua Qu Feng Liu Kena Mou Shifen

(Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100085)

ABSTRACT

A new method for the determination of aspartame in compound sweeteners and drinks was proposed. The separation was performed by an isocratic elution and the determination by integrated amperometry detection. $27.5\text{mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaOH was used as the eluent. Aspartame show good linearity in the range $0.1\text{—}10\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ and the detection limit was $0.030\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Under the experimental conditions, other artificial sweeteners such as acesulfame-K, sodium cyclamate and the decomposition products of aspartame (aspartic acid and phenylalanine) did not interfere with the determination. The method was applied to the determination of aspartame in compound sweeteners and drinks, and the results obtained by integrated amperometry and UV detection show consistence.

Keywords: ion chromatography, integrated amperometry, aspartame, compound sweeteners, drinks.