

## 使用配备ACQUITY UPLC示差折光检测器的ACQUITY™ UPLC™ H-Class PLUS分析饮料中的三氯蔗糖

---

Kim Van Tran, Euan Ross, Peter Hancock

Waters Corporation

---

### 摘要

三氯蔗糖是一种非营养性甜味剂，存在于各种食品和软饮料中。三氯蔗糖源自蔗糖，通过用三个氯原子选择性取代三个羟基而生成。一种常用的甜味剂检测方法是使用高效液相色谱(HPLC)与紫外/可见光(UV/Vis)检测结合，但三氯蔗糖缺乏发色团，因此需要通过其他方法进行检测。适用于分析三氯蔗糖的替代检测器包括示差折光(RI)检测器、蒸发光散射(ELS)检测器或质谱(MS)检测器。本应用纪要重点介绍了一种使用配备ACQUITY示差折光检测器的ACQUITY UPLC H-Class PLUS分析三氯蔗糖的方法。本研究使用的设置还包括CORTECS™ T3分析柱和Empower™ 3色谱数据系统，为测定饮料（例如软饮料和能量饮料）中的三氯蔗糖提供了一种简单的等度方法。

### 优势

- 简单的等度LC方法，方法设置轻松，适用于常规的产品质量控制检测
  - ACQUITY RI检测器的内部体积小，可提供低扩散性和稳定的基线性能，从而获得可靠的定量结果
  - ACQUITY RI检测器的隔热式光学实验台以及流入洗脱液的高效温度平衡，可大幅减小基线漂移
  - 出色的方法重现性、准确度和精密度
-

---

## 简介

三氯蔗糖是一种高甜度甜味剂，在各种食品和饮料产品中用作糖替代品。三氯蔗糖源自蔗糖，通过用三个氯原子选择性取代三个羟基而生成。三氯蔗糖在摄入后不会产生热量，因此广泛应用于无糖产品中。结合使用HPLC和UV/Vis检测是分析甜味剂（例如阿斯巴甜和乙酰磺胺酸钾(Ace-K)）的一种常用方法<sup>1</sup>。三氯蔗糖不含发色团，因此需要使用RI、ELS或MS等替代检测器来测定其在食品和饮料产品中的含量。

本应用纪要重点介绍了一种用于定量各种能量饮料中的三氯蔗糖的分析方法示例。虽然使用示差折光检测将方法限制为流动相等度，但这也使得方法变得更简单，因为在两次进样之间无需再平衡步骤。使用CORTECS T3色谱柱保留三氯蔗糖，在检测的产品中观察到三氯蔗糖与其他成分之间获得了可接受的分离。

---

## 实验

### 材料与试剂

三氯蔗糖标准品购自Sigma Aldrich，纯度 $\geq 98.0\%$  (HPLC)。

### 试剂

甲醇（HPLC级）购自Honeywell Research Chemicals。

水使用PureLab flex ELGA系统（美国LabWater）制得。

包含三氯蔗糖的产品购自当地（美国马萨诸塞州）。

### 制备

#### 标样制备

用800  $\mu\text{L}$ 水和200  $\mu\text{L}$ 甲醇制备浓度为500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的三氯蔗糖标准品，然后储存于4  $^{\circ}\text{C}$ 下。然后用80:20水:甲醇连续稀释，制得浓度范围为7.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的校准标准品。

### 样品

样品G1和P2：取800  $\mu\text{L}$ 样品，向其中加入200  $\mu\text{L}$ 甲醇（稀释1.25倍）。

样品5H：取10 µL样品，向其中加入790 µL水和200 µL甲醇（稀释100倍）。  
稀释后，将样品涡旋混合，并用0.2 µm PTFE（部件号：[WAT200556 < https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/wat200556-acrodisc-minispikesyringe-filter-ptfe-13-mm-02--m-non-polar-100.html>](https://www.waters.com/nextgen/global/shop/sample-preparation--filtration/wat200556-acrodisc-minispikesyringe-filter-ptfe-13-mm-02--m-non-polar-100.html)）过滤，然后取10 µL G1、P2或5 µL 5H样品进样。样品重复制备六份。

## 液相色谱条件

液相色谱系统：	ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统（四元溶剂管理器）
检测条件：	ACQUITY UPLC RI检测器：采样速率20 pt/s
样品瓶：	通过LCGC认证的透明玻璃最大回收样品瓶，配有盖子和预切割PTFE/硅胶隔垫，容积1.5 mL（部件号：186000327C）
过滤器：	0.2 µm PTFE针式过滤器（部件号：WAT200556）
色谱柱：	CORTECS T3色谱柱, 120 Å, 2.7 µm, 3 mm x 100 mm（部件号：186008489）
柱温：	50 °C
样品温度：	25 °C
检测器温度：	50 °C
进样体积：	5 µL或10 µL
流速：	1 mL/min
流动相：	80:20水:甲醇

样品稀释剂： 80:20水:甲醇

密封清洗液： 80:20水:甲醇

洗针液： 80:20水:甲醇

清除溶剂： 80:20水:甲醇

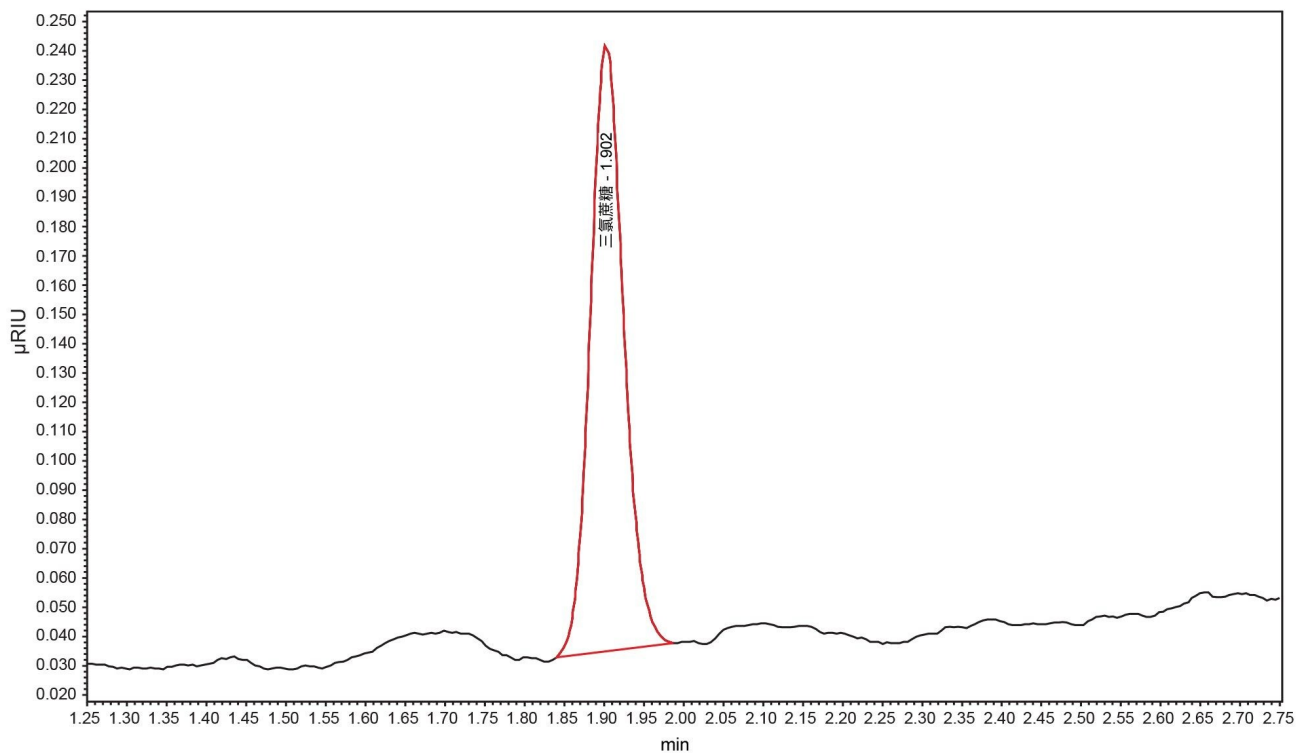
## 数据管理

色谱软件： Empower 3色谱数据软件(CDS)

---

## 结果与讨论

使用配备ACQUITY UPLC RI检测器的ACQUITY UPLC H-Class PLUS分析三氯蔗糖。将CORTECS T3色谱柱与等度流动相（80:20，水:甲醇）配合使用。这些流动相条件提供了可接受的保留、峰形以及与能量饮料中其他成分的分。在50 °C的温度下获得了优异的RI检测器响应。为减小任何基线波动，将柱温和RI检测器温度均设置为50 °C。使用Empower CDS软件确定最低浓度校准标准品(7.8 µg/mL)的信噪比。图1显示了最低浓度校准标准品的色谱图以及在Empower中计算出的信噪比和峰拖尾因子。



标准品	保留时间	USP s/n	USP拖尾因子	基线处的峰宽
三氯蔗糖	1.90	37.30	1.10	0.15

图1.使用CORTECS T3色谱柱得到的三氯蔗糖标准品(7.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )的色谱图。

通过用80:20的水:甲醇连续稀释，重复制备六份校准标准品，绘制三氯蔗糖的多点校准曲线。在本研究的校准范围7.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ~500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内，本方法表现出良好的线性( $R^2 > 0.999$ )，如图2所示。

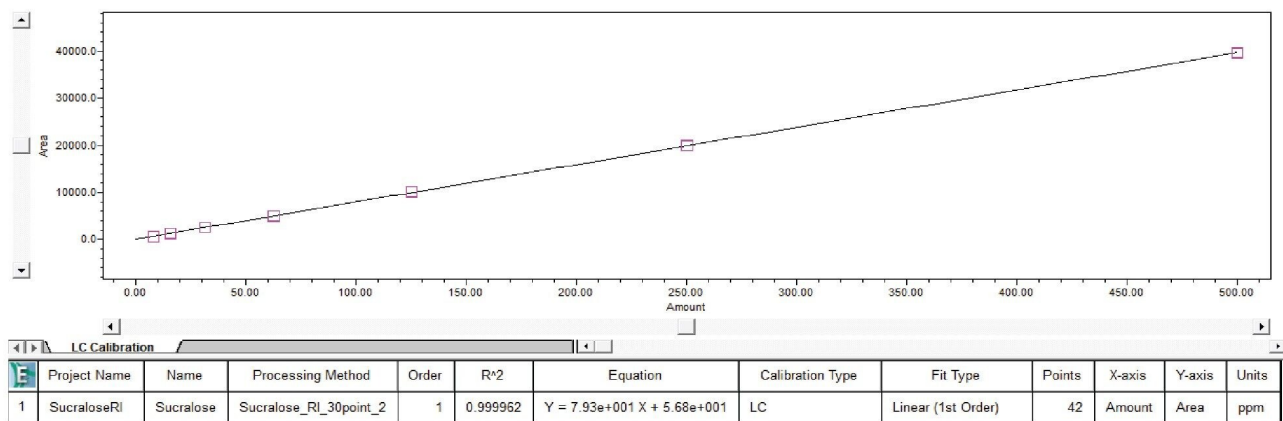


图2.使用ACQUITY RI检测器得到的浓度范围为7.8~500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的三氯蔗糖的校准曲线。

## 方法稳定性

### 色谱柱性能和压力迹线

在标准品和样品进样100次的过程中监测色谱柱的压力迹线。整个压力迹线无显著变化（差异约为23 *psi*）。叠加100次进样从第一次进样500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品到最后一次进样500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品的色谱图（中间穿插基质样品），监测色谱柱的保留时间重现性（图3a和3b）。

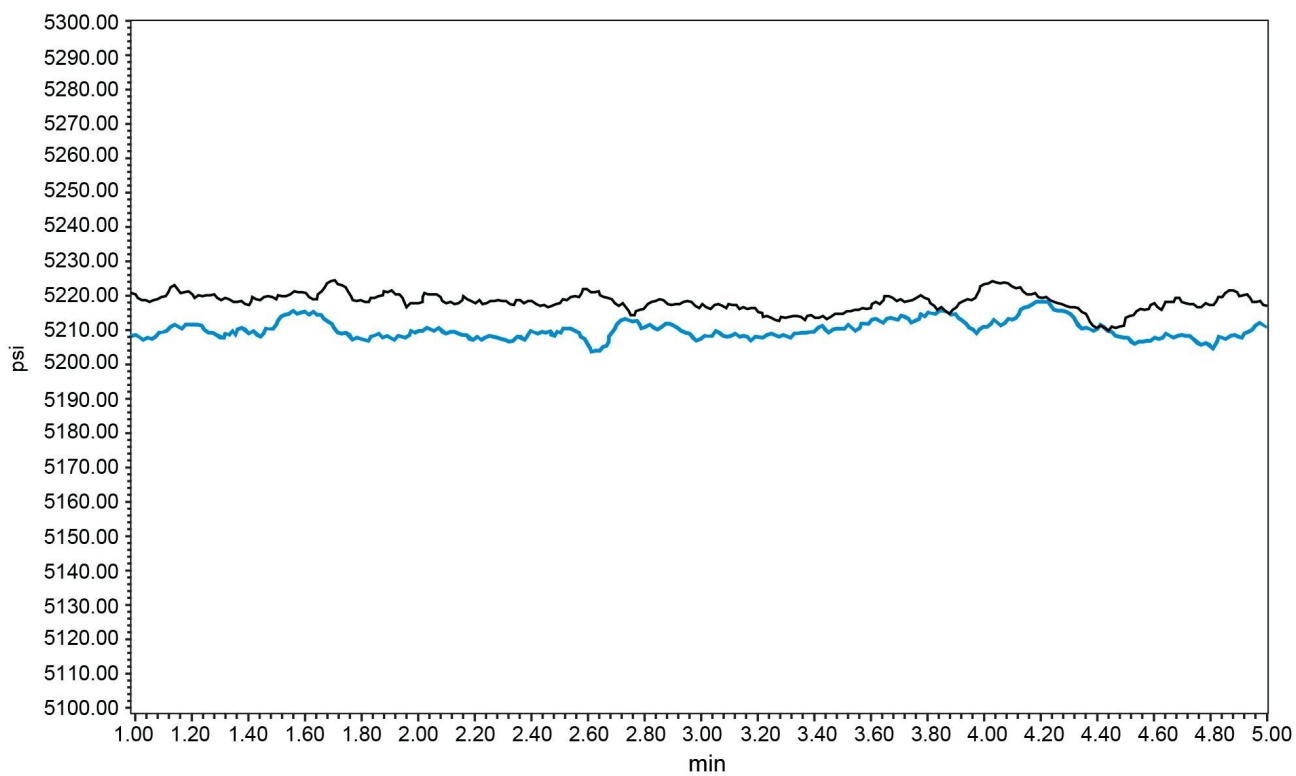


图3a.100次进样的压力迹线。

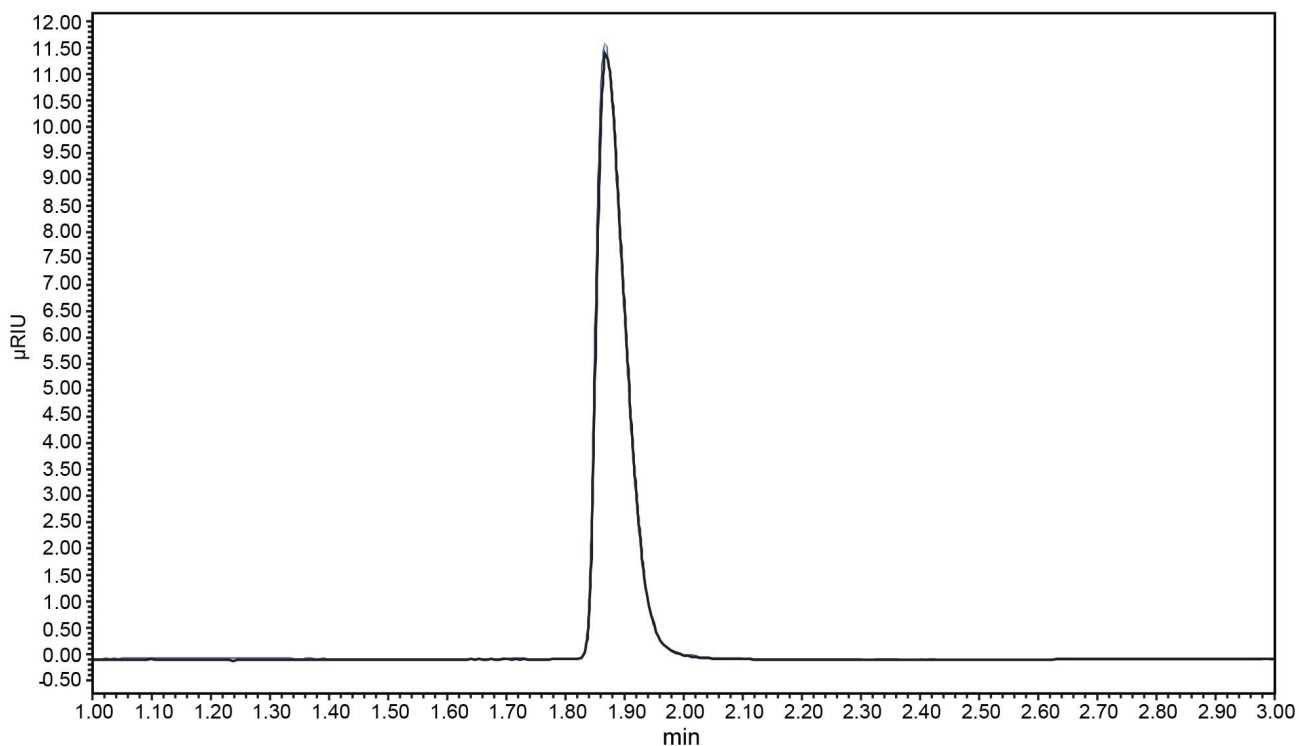


图3b.500  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品在100次进样中的重现性。

## 饮料中三氯蔗糖的分析

不同三氯蔗糖饮料重复分析六次所得到的定量结果如图4所示。本研究对样品进行了稀释以使其浓度适应校准范围。结果表明，三氯蔗糖与其他成分分离良好，且结果重现性出色。



样品	保留时间	含量(ppm)
	n=6 (%RSD)	n=6 (%RSD)
样品G1	1.90 (0.1)	57.3 (1.1)
样品P2	1.90 (0.1)	73.0 (0.6)
样品5H	1.89 (0.1)	1423 (1.6)

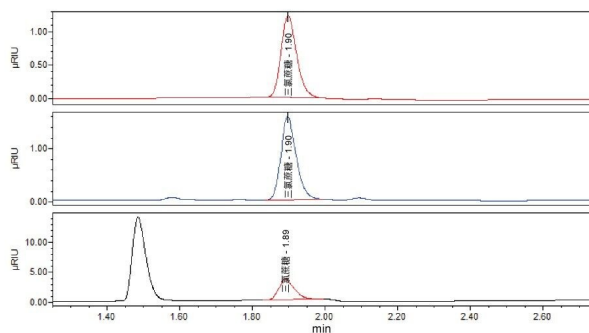


图4.三氯蔗糖饮料的定量分析结果和代表性色谱图。

## 结论

- 在配备ACQUITY RI检测器的ACQUITY UPLC H-Class PLUS上使用CORTECS T3色谱柱时，可以通过简单的等度方法对三氯蔗糖进行高效定量。
- ACQUITY RI检测器具有低扩散性，有助于保持出色的温度稳定性、较低的基线噪音和较宽的线性动态范围。
- CORTECS T3色谱柱表现出优异的保留时间和反压重现性。
- 本方法表现出优异的线性、精密度和准确度。
- 该分析方法有望支持制造商实现饮料中三氯蔗糖分析的标准化。

## 参考资料

1. Jinchuan Yang, Paul D. Rainville. 采用配备PDA检测器的Arc HPLC系统在不受阿斯巴甜降解物干扰的条件下分析软饮料添加剂. 沃特世应用纪要, [720007219ZH](#), 2021.

## 特色产品

[ACQUITY UPLC H-Class PLUS系统 <https://www.waters.com/10138533>](https://www.waters.com/10138533)

[ACQUITY UPLC 示差折光检测器 <https://www.waters.com/134726507>](https://www.waters.com/134726507)

[Empower色谱数据系统 <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

720007622ZH, 2022年5月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)