

## 甜菊糖苷的反相液相色谱分析方法 - 利用MaxPeak™高性能表面分析样品的优势

---

Jinchua Yang, Paul D. Rainville, Stephanie Harden

Waters Corporation

---

### 摘要

甜菊糖苷通常作为一种天然的无热量甜味剂用于食品和饮料。这类化合物具有相同的甜菊糖苷配基结构，但糖苷单元的数量和类型不同（例如葡萄糖、鼠李糖或木糖）。FAO/WHO JECFA专论26 (2021)中收录了有关甜菊糖苷的新国际标准，其中推荐使用反相液相色谱法(RPLC)测定主要和次要甜菊糖苷。最近，我们通过优化梯度洗脱条件对JECFA RPLC方法进行了改进，使甜菊糖苷实现了更高的分离度。除对洗脱程序的微调外，使用MaxPeak高性能表面(HPS)也有助于提高分离度。本应用简报重点介绍了采用MaxPeak HPS技术的XSelect™ Premier HSS T3色谱柱在分离度和柱效方面的性能提升。

### 优势

- 与XSelect HSS T3色谱柱相比，XSelect Premier HSS T3色谱柱实现了更高的色谱分离度和色谱柱效
  - MaxPeak HPS技术有助于在甜菊糖苷的测定中获得更好的色谱结果
- 

### 简介

甜菊糖苷(SG)是*Stevia rebaudiana* Bertoni（甜叶菊）这种植物叶片中的成分，其甜味是蔗糖的100至300倍。它

---

们通常作为一种无热量甜味剂用于食品和饮料。目前已经鉴定出的甜菊糖苷有40多种<sup>1</sup>。联合国粮农组织和世界卫生组织(FAO/WHO)下的食品添加剂联合专家委员会(JECFA)自2006年以来发布了一系列有关SG的专论。通过FAO/WHO JECFA专论26 (2021)发表的新专论推荐了分析主要SG和次要SG的RPLC方法<sup>1</sup>。但是,这些JECFA方法的色谱分离度不足。我们最近通过优化梯度洗脱条件和采用MaxPeak高性能表面(HPS)改进了JECFA方法<sup>2</sup>。MaxPeak HPS是沃特世为减少LC分析中的分析物吸附而开发的技术<sup>3</sup>。有研究表明,使用MaxPeak HPS可以显著改善各种化合物的分析性能<sup>4-7</sup>。本次研究是我们在方法开发过程中首次发现,MaxPeak HPS对SG的RPLC分析也很有帮助。本文重点介绍了MaxPeak HPS用于SG RPLC的主要优势。

## 结果与讨论

与常规色谱柱(XSelect HSS T3色谱柱)相比,采用MaxPeak HPS的色谱柱(XSelect Premier HSS T3色谱柱)在样品LC条件下获得了更高的色谱分离度和分离效率(表现理论塔板数)。LC条件详情见其他文章<sup>2</sup>。图1显示了XSelect Premier HSS T3色谱柱与XSelect HSS T3色谱柱在相同实验条件下获得的色谱图比较。在XSelect Premier HSS T3色谱柱上获得了更高的分离度,尤其是对于关键分析物对(莱苞迪甙A/甜菊苷)。

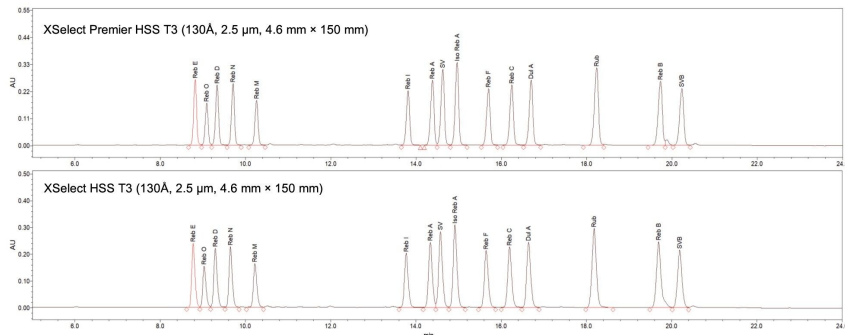


图1.XSelect Premier HSS T3色谱柱和相同尺寸、相同粒径的XSelect HSS T3色谱柱在相同LC条件下获得的色谱图比较。峰ID: Reb E, 莱苞迪甙E; Reb O, 莱苞迪甙O; Reb D, 莱苞迪甙D; Reb N, 莱苞迪甙N; Reb M, 莱苞迪甙M; Reb I, 莱苞迪甙I; Reb A, 莱苞迪甙A; SV, 甜菊苷; Iso Reb A, 异莱苞迪甙A; Reb F, 莱苞迪甙F; Reb C, 莱苞迪甙C; Dul A, 杜克甙A; Rub, 甜茶甙; Reb B, 莱苞迪甙B; SVB, 甜菊双糖苷。

表1汇总了比较研究中的分离度结果。采用MaxPeak HPS的色谱柱的分离度值比常规色谱柱更高（高2%~14%）。图2显示了在这两种色谱柱上获得的表观理论塔板数的比较图。XSelect Premier HSS T3色谱柱的分离效率明显更高。本研究还比较了峰面积，但在两种色谱柱之间未见显著差异（结果未显示）。

色谱柱	Reb E	Reb O	Reb D	Reb N	Reb M	Reb I	Reb A	SV	ISO Reb A	Reb F	Reb C	Dul A	Rub	Reb B	SVB
XSelect Premier HSS T3色谱柱(2.5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 150 mm)															
分离度(USP HH)															
平均值(n=5)	-	2.17	1.94	2.93	4.26	25.77	3.89	1.63	2.28	4.94	3.56	2.91	9.24	8.53	*
RSD (%)	-	0.21	0.05	0.2	0.09	0.15	0.15	0.18	0.16	0.13	0.15	0.16	0.1	0.11	*
XSelect HSS T3色谱柱(2.5 $\mu$ m, 4.6 $\times$ 150 mm)															
分离度(USP HH)															
平均值(n=5)	-	1.90	1.89	2.56	4.10	23.81	3.65	1.51	2.18	4.64	3.39	2.71	8.83	8.35	2.70
RSD (%)	-	0.44	0.51	0.32	0.37	0.2	0.07	0.18	0.16	0.1	0.19	0.09	0.1	0.08	0.23
相对分离度*		114%	103%	114%	104%	108%	107%	108%	104%	106%	105%	107%	105%	102%	

\*: Reb B和SVB之间的分离度大于2.7。分离度未显示，因为原始值计算不正确（由于Reb B和SVB之间存在一个小峰）。  
 \*: XSelect Premier HSS T3色谱柱与XSelect HSS T3色谱柱的相对分离度值。

表1.XSelect Premier HSS T3色谱柱和XSelect HSS T3色谱柱在相同条件下分析15种甜菊糖苷获得的色谱分离度汇总。峰ID与图1所示相同。

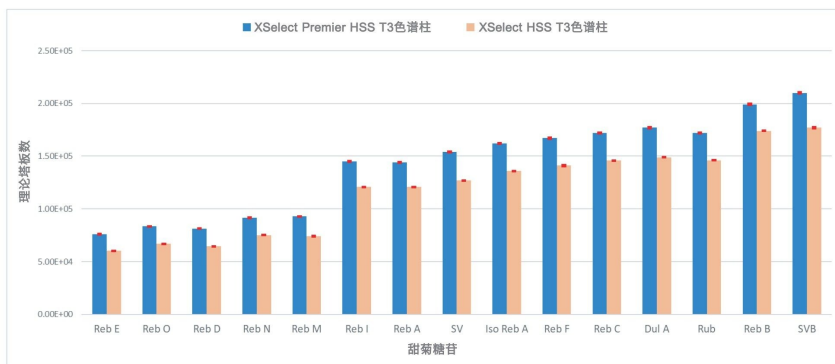


图2.XSelect Premier HSS T3色谱柱与XSelect HSS T3色谱柱在相同实验条件下对甜菊糖苷的分离效率（表观理论塔板数）比较。结果通过重复进样(n=5)获得。标准偏差用误差棒( $\pm$ SD)表示。

## 结论

在甜菊糖苷的RPLC-UV分析中，采用MaxPeak HPS的色谱柱获得了更高的色谱分离度和分离效率。将采用MaxPeak HPS技术的Arc™ Premier系统和XSelect Premier HSS T3色谱柱组合使用，这款Premier LC系统和色谱柱为甜菊糖苷的测定提供了优于常规LC系统和色谱柱的解决方案。

---

## 参考资料

1. FAO and WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 91st Meeting–Virtual meeting, 1–12 February 2021. FAO JECFA Monographs No.26. Rome. *Compendium of Food Additive Specifications 2021* <https://doi.org/10.4060/cb4737en> <<https://doi.org/10.4060/cb4737en>>
2. Yang, J; Rainville, P.; Harden, S. 提高JECFA甜菊糖苷分析方法的色谱分离度. 沃特世应用纪要, 720008236 ZH, 2024.
3. Lauber, M.; Walter, T. H.; DeLano, M.; Gilar, M.; Boissel, C.; Smith, K.; Birdsall, R.; Rainville, P.; Belanger, J.; Wyndham, K. Low Adsorption HPLC Columns Based on MaxPeak High Performance Surfaces. Waters White Paper, 720006930 <<https://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720006930en.pdf>> , 2020.
4. Birdsall, R. E.; Kellet J.; Ippoliti, S.; Ranbaduge, N.; Shion, H.; Yu, Y. Q. 采用MaxPeak HPS技术的ACQUITY Premier可提高RPLC-MS方法分析酸性肽的色谱性能. 沃特世应用纪要, 720007003ZH, 2020年.
5. Boissel, C.; Walter, T. H. 使用ACQUITY Premier色谱柱改善峰形并扩大选择性范围. 沃特世应用纪要, 720007014ZH, 2020年.
6. Smith, K. M.和Rainville, P. 利用MaxPeak高性能表面提高三羧酸循环相关分析物的分离效果和回收率. 沃特世应用纪要, 720006727ZH <<https://www.waters.com/content/dam/waters/en/app-notes/2020/720006727/720006727-en.pdf>> , 2020年.
7. Brennan, K.; Lame, M. L.; Donegan, M.; Rainville, P. D. 使用MaxPeak高性能表面技术改善寡核苷酸的SPE-LC-MS分析性能. 沃特世应用纪要, 720007019ZH, 2020年.

---

## 特色产品

Arc Premier系统 <<https://www.waters.com/waters/nav.htm?cid=135083359>>

720008234ZH, 2024年2月



© 2025 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私策略](#) [商标](#) [招聘](#) [法律和隐私声明](#) [危险化学品生产经营许可证](#) [Cookie Cookie 设置](#)

沪ICP备06003546号-2 京公网安备 31011502007476号