

# 高效液相色谱法测定现制奶茶饮料中五种食品添加剂

罗文雅\*

(徐州市疾病预防控制中心检验中心, 徐州 221000)

**摘要:** **目的** 研究徐州地区市售现制奶茶中山梨酸、苯甲酸、糖精钠、阿斯巴甜和阿力甜的含量, 为研究食品添加剂暴露水平与人群健康之间的关系提供数据支持。 **方法** 抽取 39 份现制奶茶样品, 经前处理后使用高效液相色谱法测定。 **结果** 现制奶茶中均有山梨酸、苯甲酸、阿斯巴甜和阿力甜, 其中苯甲酸检出率 18%, 山梨酸检出率 18%, 阿斯巴甜检出率 5%, 阿力甜检出率 8%, 糖精钠未检出。 **结论** 徐州市市售现制奶茶中 5 种添加剂总体使用情况良好, 但作为防腐剂使用的山梨酸、苯甲酸检出率偏高, 且易受人为因素影响, 有较高的超量使用风险。监管部门应定期抽查, 加强监管。

**关键词:** 现制奶茶; 食品添加剂; 高效液相色谱仪

## 0 引言

近年来, 现制奶茶深受年轻人喜爱。作为防腐剂使用的苯甲酸和山梨酸, 以及甜味剂糖精钠、阿斯巴甜、阿力甜由于甜度高而且热量低, 被广泛应用于各种现制奶茶饮品中, 但是过量添加会对人体健康产生不利影响<sup>[1-3]</sup>。近期有文章表明, 部分代糖虽不会促进胰岛素的分泌, 但其可能造成肠道菌群的失调<sup>[4]</sup>。过多的摄入可导致非酒精性脂肪性肝病的患病率提高, 以及代谢性疾病的发展或恶化<sup>[5-6]</sup>。因此, 应加强对代糖和防腐剂含量的监测。

当前我国对食品添加剂的检测方法主要有离子色谱法、气相色谱法、气相色谱串联质谱法、液相色谱法<sup>[7-8]</sup>及液相色谱串联质谱法等方法。离子色谱法前处理较复杂, 容易出现假阳性结果<sup>[9]</sup>。气相色谱法和气相色谱串联质谱法的前处理过程非常复杂、需要衍生化、检测周期长<sup>[10-12]</sup>。液相色谱串联质谱法的食品添加剂中有些小分子化合物不利于分析测定<sup>[13-14]</sup>。高效液相色谱法能够快速进行目标物质的分析, 可以高效检测食品添加剂<sup>[15]</sup>。当前多数研究都集中在高效液相色谱法测定饮品、烘焙食品等样品, 而对于现制奶茶中添加剂的测定则少有报道。考虑日常检测工作中需要低成本、快速、高效且准确的测定结果, 本文采用高效液相色谱法, 检测分析徐州市市售现制奶茶中的苯甲酸、山梨酸、糖精钠、阿斯巴甜及阿力甜这五种食品添加剂含量水平, 以期能为监管部门监测相关风险提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器

高效液相色谱仪(1290 Infinity II, 安捷伦), Multi REAX 振

荡器(海道夫公司), 密理博超纯水仪(密理博公司), XS-225A 万分之一天平(梅特勒托利多公司), 涡旋振荡器 MS3 Basic(德国 IKA), 台式离心机 ST16(赛默飞公司)。

### 1.2 试剂与耗材

甲醇(色谱纯, 美国 Merck 公司); 乙腈(色谱纯, 美国 Merck 公司); 乙酸铵(优级纯, 国药集团化学试剂有限公司)。苯甲酸标准品( $C_6H_5COOH$ , 2102540), 浓度 1 mg/mL, 购置于上海安普公司; 山梨酸 [ $C_6H_8O_2$ , GBW(E) 100007(20001)], 浓度 1 mg/mL, 购置于中国计量科学研究院; 糖精钠 [ $C_6H_4CONNaSO_2$ , GBW(E) 100008(19001)], 浓度 1 mg/mL, 购置于中国计量科学研究院; 阿力甜标准品 [ $C_{14}H_{25}N_3O_4S$ , 91307JL(1692006)], 浓度 1 mg/mL, 购置于 TM standard 公司; 阿斯巴甜标准品 [ $C_{14}H_{18}N_2O_5$ , BW900007-1000-L(A2004335)], 浓度 1mg/mL, 购置于北京坛墨质检科技有限公司。本实验采用 HPLC 级有机试剂(Merck 公司)。实验采用超纯水为密理博超纯水仪制备。色谱柱为 Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$  4.6 mm $\times$ 150 mm 柱。39 份奶茶样品自徐州市奶茶店随机采购。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 色谱条件

山梨酸、苯甲酸和糖精钠的色谱条件: 色谱柱(Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$  4.6 mm $\times$ 150 mm); 流动相 A 为 0.02 mol/L 乙酸铵; 流动相 B 为甲醇, A : B = 91 : 9(V : V); 流速 1.0 mL/min; 柱温 35 $^{\circ}C$ ; 进样量 10  $\mu$ L; 检测波长 230 nm。

阿斯巴甜、阿力甜的色谱条件: 色谱柱(Agilent ZORBAX Eclipse Plus  $C_{18}$  4.6 mm $\times$ 150 mm); 流速 0.9 mL/min; 柱温

\* 通信作者: 罗文雅, 硕士, 主管检验师、理化检验师, 研究方向为基于 GC-MS/MS 和 LC-MS/MS 在环境监测分析中的应用研究。E-mail: zzyjkg@126.com

35°C；进样量 20 μL；检测波长 200 nm；流动相 A 为水，流动相 B 为乙腈，A : B=82 : 18(V : V)。

1.3.2 标准溶液的配制

分别取适量山梨酸、苯甲酸、糖精钠和阿斯巴甜、阿力甜标准品，各 20、50、100、200、400、500 μL 放至 10 mL 容量瓶中。两组标准品分别用流动相逐级稀释成混合标准系列溶液，浓度为 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、50.0 μg/mL。横坐标为混合标准溶液浓度；纵坐标为对应的峰面积。

1.3.3 样品的前处理

分别准确称取约 2 g 山梨酸、苯甲酸和糖精钠的试样(精确到 0.001 g)，置于 50 mL 具塞离心管中并加水约 25 mL，混匀，水浴超声(50°C，20 min)，放置冷却至室温，添加亚铁氰化钾溶液和乙酸锌溶液各 2 mL，并混合均匀，离心(8000 r/min，5 min)，水相移至 50 mL 容量瓶中，于残渣中加水 20 mL，混匀，超声 5 min，离心(8000 r/min，5 min)，水相继续移至同一容量瓶中，并用水定容至刻度，混匀。取适量上清液过 0.22 μm 滤膜，待液相色谱测定。

对于做阿斯巴甜和阿力甜的样品：分别称取约 5 g 试样(精确到 0.001 g)于 50 mL 离心管，加入 10 mL 乙醇，加亚铁氰化钾溶液 2 mL 和乙酸锌溶液 2 mL，盖上盖子；先轻轻上下颠倒离心管 5 次(不能振摇)，然后静置 1 min，4000 r/min 离心 5 min，上清液滤入 25 mL 容量瓶，沉淀用 8 mL 乙醇-水(2+1)洗涤，离心后上清液转移入同一 25 mL 容量瓶，用乙醇-水(2+1)定容，经 0.45 μm 有机系滤膜过滤后用于色谱分析。

2 结果与分析

2.1 提取溶液及沉淀方法的选择

在液相色谱法中常用提取阿斯巴甜与阿力甜的试剂是乙醇，但在样品提取过程中加入 10 mL 乙醇并不能很好地沉淀现制奶茶样品中的蛋白质，故而在后续的实验过程中蛋白质不能很好地分离。乙酸锌和亚铁氰化钾溶液可以很好地沉淀样品中的蛋白质，可有效降低测定过程中的基质干扰，是常用的蛋白沉淀试剂<sup>[16]</sup>。在实验中发现现在现制奶茶样本中加入乙酸锌和亚铁氰化钾溶液后，再经高速离心处理，可以有效沉淀样品中的蛋白质并去除现制奶茶中的其他杂质，并保证阿斯巴甜和阿力甜的提取回收率在 90% 以上。

将添加剂储备液用流动相逐级稀释成 2.0、5.0、10.0、20.0、40.0、50.0 μg/mL 的系列混合标准溶液，以 5 种添加剂的浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。结果表明(表 1) 5 种食品添加剂在 2.0~50.0 μg/mL 的浓度范围内具有良好的线性关系，相关系数均大于 0.9998。不断稀释低浓度混合标准品，以信噪比(S/N=3)计算糖精钠苯甲酸、山梨酸、阿斯巴甜和阿力甜的检出限，检出限均为 1.0 mg/kg，信噪比(S/N=10)计算 5 种添加剂的定量限均为 3.0 mg/kg。色谱图如图 1~2 所示。

2.2 样品的测定

对 39 份市售现制奶茶进行测定，分别测定苯甲酸、山梨酸、糖精钠、阿斯巴甜和阿力甜，计算其检出范围和检出率，其中苯甲酸、山梨酸检出率最高，糖精钠未检出，结果见表 2。

表 1 5 种添加剂线性方程、线性相关系数、线性范围、检出限、定量限

化合物	线性方程	线性相关系数 $r^2$	线性范围 (μg/mL)	检出限	定量限
苯甲酸	$y=33.6x-6.44$	0.9999	2.0~50.0	1.0	3.0
山梨酸	$y=60.5x-9.58$	0.9999	2.0~50.0	1.0	3.0
糖精钠	$y=25.2x-4.33$	0.9999	2.0~50.0	1.0	3.0
阿斯巴甜	$y=62.5x+1.93$	0.9999	2.0~50.0	1.0	3.0
阿力甜	$y=53.6x+1.39$	0.9998	2.0~50.0	1.0	3.0

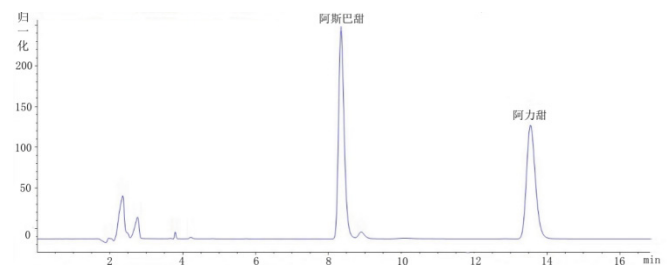


图 1 在 20 μg/mL 浓度下山梨酸、苯甲酸、糖精钠的色谱图

2.3 回收率和精密度实验

在空白样品上作 2、5、10 mg/kg 添加水平下进行加标回收率实验，每个测定重复 3 次，测定的平均回收率及精密度见表 3。在 2~10 mg/kg 添加量范围内回收率，苯甲酸、山梨酸、糖精钠、阿斯巴甜和阿力甜的回收率均在 99.2%~107.2% 之间，三水平的精密度测试的相对偏差在 1.4~9.1 之间，重复性稳定，能够满足日常现制奶茶制品中物种食品添加剂的分析。

表 2 样品中食品添加剂的检测结果

检测项目	检出数量	检出率	检出范围(g/kg)	$\bar{x} \pm s$
苯甲酸	7	18%	0.0318~0.120	0.057±0.033
山梨酸	7	18%	0.0102~0.0620	0.042±0.028
糖精钠	0	0%	0	0
阿斯巴甜	2	5%	0.00234~0.0238	0.013±0.015
阿力甜	3	8%	0.00900~0.0116	0.008±0.0049

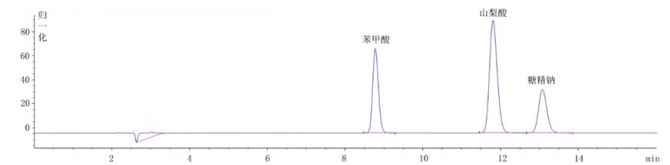


图 2 在 40 μg/mL 浓度下阿斯巴甜阿力甜的色谱图

2.4 检测结果

对现制奶茶的检测发现，苯甲酸和山梨酸的阳性率和检出浓度高于其他种类，检出范围 0.0102~0.120 g/kg，山梨酸与其他各食品添加剂进行 t 检验，差异均有统计学意义(P < 0.05)，其余各组添加剂虽然检出范围和平均值均有不同，但进行统计

学比较后, 发现其均无统计学差异( $P > 0.05$ )。

表3 苯甲酸和山梨酸的加标回收率和相对标准偏差( $n=3$ )

组分	加标量 (mg/kg)	测定值(mg/kg)			回收率 (%)	RSD (%)
苯甲酸	2	2.35	2.12	1.96	107.2	9.1
	5	5.42	4.79	5.15	102.4	6.2
	10	10.56	10.15	9.23	99.8	6.8
山梨酸	2	1.95	2.29	2.06	105.0	8.3
	5	5.08	4.87	5.17	100.8	3.1
	10	10.25	9.87	9.82	99.8	2.4
糖精钠	2	2.18	1.93	2.15	104.3	6.5
	5	4.75	5.14	4.84	98.2	4.2
	10	10.39	10.17	9.9	101.5	2.4
阿斯巴甜	2	2.09	1.96	2.21	104.3	6.0
	5	5.31	4.96	4.93	101.3	4.2
	10	10.16	9.75	9.86	99.2	2.1
阿力甜	2	1.92	2.01	2.23	102.7	7.8
	5	5.04	4.99	5.13	101.1	1.4
	10	9.67	10.09	10.17	99.8	2.7

### 3 讨论与结论

本研究采用高效液相色谱法同时测定徐州地区随机采买的39份现制奶茶。根据结果来看, 现制奶茶样本中甜味剂阿力甜、阿斯巴甜均有检出, 且未超限, 糖精钠在本次样品中未检出, 符合食品添加剂使用标准中饮料禁止添加糖精钠的要求。糖精钠作为食品工业中常用人工合成甜味剂, 其甜度是蔗糖的300~500倍, 为降低成本, 常被用来替代蔗糖在食品中添加, 长期食用会危害人体健康, 干扰人的正常膳食营养。苯甲酸、山梨酸作为防腐剂添加在现制奶茶中比较常见, 本次检测检出率也最高, 均达到18%, 进行统计学分析与其他各类型食品添加剂有统计学差异( $P < 0.05$ ), 说明其在现制奶茶制品中暴露风险较高。其原因可能是由于其他辅料中含有山梨酸、苯甲酸, 或是在奶茶加工制作过程中添加。据研究报道我国乳制品, 蜂蜜制品中有山梨酸、苯甲酸检出<sup>[17]</sup>, 奶茶中乳制品也是主要添加成分, 因此山梨酸和苯甲酸添加剂在食品安全中需要加以重视。本次调查研究结果显示, 5种添加剂在现制奶茶中使用总体情况良好, 虽然检出含量均未超标, 但是由于其产品特性受人为因素影响较大, 仍需防范添加剂叠加使用造成的消费者过量摄入风险, 因此需对现制奶茶应定期抽查, 加强监管力度。随着世界范围内食品添加剂的广泛使用, 加之随着人们生活节奏加快, 对于加工食品的消费更为频繁, 有可能在不知不觉中摄入大剂量的食品添加剂, 应当更加重视对环境中对人体内食品添加剂的监测, 以避免食品添加剂摄入过量。特别是对于高危人群应该重点检测, 如孕妇、正处于生长发育期的青少年和代谢综合征患者<sup>[18-19]</sup>。近年来, 现制奶茶风靡我国大街小巷, 深受消费者喜爱, 但近期鲜有关于现制奶茶产品的相关调查研究, 也并不清楚其中食品添加剂的添加含量, 因此应当继续密切监测现制奶茶等新兴食品中食品添加剂的含量, 进一步研究现制奶茶中食品添加剂暴露水平与人群健康的关系。

### 参考文献

- [1] 肖春玲. 樱桃番茄果脯加工工艺技术研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2007.
- [2] 周红霞, 张红琳. 高效液相色谱法同时检测液体食品中苯甲酸、山梨酸、安赛蜜、糖精钠含量的研究[D]. 南京: 南京晓庄学院生物化工与环境工程学, 2014.
- [3] 樊可可, 欧阳平凯. 健康甜味之源—阿斯巴甜[J]. 精细与专用化学品, 1999, (11): 3.
- [4] MORA MR, DANDO R. The sensory properties and metabolic impact of natural and synthetic sweeteners [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2021, 20(02): 1554-1583.
- [5] EMAMAT H. Artificial sweeteners are related to non-alcoholic fatty liver disease: microbiota dysbiosis as a novel potential mechanism [J]. EXCLI J, 2020, 19: 620-626.
- [6] WALBOL T, KOH JY. Non-nutritive sweeteners and their associations with obesity and type 2 Diabetes [J]. J Obes Metab Syndr, 2020, 9(02): 114-123.
- [7] 解楠. 高效液相色谱法同时测定饮料和果冻中9种食品添加剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(04): 1524-1530.
- [8] 徐家胜, 张杰, 孙啸虎, 等. 固相萃取-高效液相色谱法测定饮料中的罗丹明B[J]. 化学研究与应用, 2014, 26(05): 741-743
- [9] 沈燕飞, 朱仙娜, 姚澄, 等. 阀切换离子色谱技术同时检测饮料中的糖类、甜味剂和防腐剂[J]. 食品科学, 2018, 39(16): 311-316.
- [10] 周家萍, 李典, 李治东, 等. 气相色谱法同时测定食品中8种防腐剂[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(14): 161-163.
- [11] 彭飞进, 徐幸, 舒平, 等. GC和GC-MS法测定饮料中香兰素和乙基香兰素含量[J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 303-306.
- [12] LIU T, WANG YJ, WANG XJ, et al. Simultaneous determination of nine flavor compounds in pasteurized milk by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry [J]. Chin J Chem, 2019, 37(11): 1215-1220.
- [13] 王素娟, 段海波, 秦云华, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定食用香精香料中的1种甜味剂和6种防腐剂[J]. 化学研究与应用, 2018, 30(03): 415-420.
- [14] 钟茂生, 陈舒奕, 梁剑, 等. 液相色谱-串联质谱法测定食品中的4种添加剂[J]. 广州化学, 2018, 46(02): 104-106.
- [15] 金博艳. 超高效液相色谱测定饮料中的阿斯巴甜和阿力甜[J]. 分析仪器, 2020, (04): 30-33.
- [16] 张飞, 杨涛, 刘长勇, 等. 高效液相色谱法测定奶制品中5种食品添加剂[J]. 化学研究与应用, 2022, 34(11): 2778-2782.
- [17] 黄京平, 李熠, 周金慧, 等. 超高效液相色谱测定蜂蜜及其制品中的苯甲酸、山梨酸[J]. 食品科学, 2010, 31(20): 417-420.
- [18] 雷金萍. 食品添加剂对食品安全及人体健康的影响[J]. 健康大视野, 2018, (03): 77-78.
- [19] 袁文柱. 食品添加剂和食品安全与人体健康[J]. 科技视界, 2016, (12): 184, 135.