

UPLC-PDA测定电子烟烟液中4种人工甜味剂

杨文彬*, 王迪#, 丁诚, 蒲小琼, 林桂凤, 莫东妮

深圳昱朋科技有限公司分析检测中心, 广东 深圳

收稿日期: 2024年7月7日; 录用日期: 2024年7月28日; 发布日期: 2024年8月8日

摘要

目的: 建立了一种采用超高效液相色谱(UPLC)和二极阵列检测器(PDA)同时检测电子烟烟液中4种人工高倍甜味剂(糖精钠、阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜)的方法。方法: 采用Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)为分析柱, 以乙腈-0.02 mol/L醋酸铵水溶液(pH为4.5)为流动相, 梯度洗脱, 流速为0.4 mL/min, 温度为35°C, 外标法定量。结果: 4种人工甜味剂在5~100 μg/mL浓度范围内线性良好, 相关系数均>0.9990。方法定量限为26.8~212.7 mg/kg, 平均加样回收率为93.6%~108.3%。运用此方法对10种不同风味的电子烟液进行检测。除烟草味外, 多数电子烟液中都含有人工甜味剂, 纽甜出现频率最高。结论: 该方法具有灵敏、准确、有效、方便等优点, 适用于电子烟烟液中人工甜味剂的检测。

关键词

UPLC, 人工甜味剂, 电子烟烟液

Determination of Four Types of Artificial Sweeteners in Electronic Cigarette Liquids by UPLC-PDA

Wenbin Yang*, Di Wang#, Cheng Ding, Xiaoqiong Pu, Guifeng Lin, Dongni Mo

Analysis and Testing Center of Shenzhen Yupeng Technology Co., Ltd., Shenzhen Guangdong

Received: Jul. 7th, 2024; accepted: Jul. 28th, 2024; published: Aug. 8th, 2024

Abstract

Objective: A method of ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) and photo-diode array

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 杨文彬, 王迪, 丁诚, 蒲小琼, 林桂凤, 莫东妮. UPLC-PDA 测定电子烟烟液中 4 种人工甜味剂[J]. 分析化学进展, 2024, 14(3): 148-154. DOI: 10.12677/aac.2024.143018

(PDA) was established for the simultaneous determination of four types of artificial high-frequency sweeteners (saccharin sodium, aspartame, advantame, and neotame) in electronic cigarette liquids. **Methods:** Waters ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm) was used as the analytical column, with acetonitrile-0.02 mol/L ammonium acetate aqueous solution (pH 4.5) as the mobile phase in a gradient elution at a flow rate of 0.4 mL/min and temperature of 35°C, and quantified by external standard method. **Results:** The linearity of the four types of artificial sweeteners was good in the concentration range of 5~100 mg/L, and correlation coefficients were all higher than 0.999. The quantitative limit of the method was 26.8~212.7 mg/kg, and the average sample recovery rate was 93.6%~108.3%. This method was used to detect 10 different flavors of electronic cigarette liquids. Except for the tobacco flavor, most electronic liquids contained artificial sweeteners, and neotame was the most frequent. **Conclusion:** This method is sensitive, accurate, efficient, and convenient, and is suitable for the detection of artificial sweeteners in electronic cigarette liquids.

Keywords

UPLC, Artificial Sweeteners, Electronic Cigarette Liquids

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

电子烟是国际烟草关注的焦点和发展的热点，也是我国烟草行业新型烟草制品发展的主要方向[1]。电子烟由电子烟杆和烟弹组成。烟弹的核心是烟液，主要成分是甘油、丙二醇、烟碱等[2]，为了满足吸烟者对电子烟口感和风味多样化的需求，会在电子烟烟液里添加各种食品添加剂[3]。烟液里的食品添加剂含量很低，却是决定电子烟口感的重要因素[4]。

人工甜味剂是一种可以提升甜味和口感的食品添加剂，具有甜度高、热量低、价格低廉等特点[5]，在电子烟烟液中广泛应用[6]。人工甜味剂种类繁多[7]，其因甜度[8]、稳定性[9]及口感等因素在电子烟中的应用程度会有不同，像纽甜因口感纯正、甜度高[10]在电子烟中应用最广泛。爱德万甜甜度高于纽甜[11]，但因价格昂贵，在电子烟中应用较少。合理使用人工甜味剂是安全的，对人体健康不会产生风险。但如果超限量、超范围、使用劣质人工甜味剂，则会对消费者的健康造成一定影响[12][13]。根据法国电子烟标准，安赛蜜、阿斯巴甜、糖精钠、甜叶菊等甜味剂列为禁用物质。因此，研究电子烟烟液中人工甜味剂的组成及其含量进行监控是非常有必要的。

目前，对于人工甜味剂的检测方法主要集中在乳制品、饮料、白酒等领域，在电子烟烟液方面很少。检测方法主要有液相色谱法、液相色谱-质谱法、离子色谱法、毛细管电泳法等[14]-[18]。这些方法存在检测时间长、消耗试剂多、检测种类单一等缺点，又因为电子烟烟液中对于人工甜味剂的使用都以复配的形式添加，因此，本文建立了一种采用超高效液相法同时对电子烟烟液中的糖精钠、阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜进行检测的方法。该方法操作简单、灵敏度高、稳定性好，适合电子烟烟液中人工甜味剂的检测与监控。

2. 材料与方法

2.1. 材料、试剂

试剂：乙腈(HPLC级)、乙酸(色谱纯)、乙酸铵(色谱纯)、氢氧化钠(分析纯)均购于上海阿拉丁生化科

技有限公司, 实验室用水为超纯水。

材料: 10 种电子烟烟液(6 种水果风味, 2 种薄荷风味, 2 种烟草风味)各 5 mL, 均由深圳昱朋科技有限公司应用技术部提供。

标准品: 糖精钠、阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜, 纯度均 $\geq 98\%$, 购置于上海安谱实验科技股份有限公司。

2.2. 仪器及设备

仪器: Waters Acquity 超高效液相色谱仪, 配备 DPA 检测器; 电子天平(感量: 0.0001 g, 赛多利斯公司); 超声波清洗仪(宁波新芝)。

2.3. 实验方法

2.3.1. 样品前处理

称取 0.1 g 电子烟烟液(精确至 0.0001 g)并置于 10 mL 容量瓶中。用 30% 乙腈水溶液(V:V)稀释至刻度, 涡旋振荡 2 min, 经 0.22 μm 有机相滤膜过滤。取大约 1 mL 滤液进 UPLC-PDA 分析。

2.3.2. 标准工作溶液配制

准确称取 10 mg 4 种甜味剂标准品于 10 mL 容量瓶中, 用 30% 乙腈水溶液(V:V)定容, 得到 4 种甜味剂浓度均为 1000 mg/L 的混合标准溶液。

分别移取混合标准溶液 50、100、200、500、1000 μL 至 5 个 10 mL 容量瓶中, 用 30% 乙腈水溶液(V:V)定容, 得到混合标准工作溶液, 4 种甜味剂的浓度分别为 5、10、20、50、100 mg/L。

2.3.3. 色谱条件

色谱柱: ACQUITY UPLC HSS T3 柱(100 mm \times 2.1 mm, 1.8 μm); 柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 10 μL ; 流速: 0.4 mL/min; 流动相: A 相为乙腈, B 相为 0.02 mol/L 乙酸铵水溶液(乙酸调节 pH 至 4.5); 梯度洗脱程序: 0~4.5 min 为 2% A, 4.5~9.5 min 为 2% A~20% A, 9.5~13.4 min 为 20% A~50% A, 13.4~13.5 min 为 2% A, 13.5~17 min 为 2% A; 检测器波长: 210 nm。

2.4. 数据分析

数据采集采用 Empower 软件。平均值、回收率和相对标准偏差的计算采用 WPS Office 软件。

3. 结果与讨论

3.1. 色谱条件的优化

液相选择 UPLC 常用的甲醇 - 水系统和乙腈 - 水系统进行梯度洗脱, 结果表明, 上述两种流动相体系都能对 4 种人工甜味剂进行很好的分离, 但是糖精钠峰形较差, 因此选择 0.02 mol/L 乙酸铵代替水进行试验。结果表明, 都能实现分离, 且峰形良好。因此, 选择乙腈 - 乙酸铵水溶液做流动相。4 种甜味剂的色谱图如图 1 所示。电子烟烟液常见的添加物质包括烟碱、苯甲酸、WS-23 (N,2,3-三甲基-2-异丙基丁酰胺)、丙二醇、丙三醇, 为了防止干扰, 配制 1 个上述添加物浓度均为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合溶液, 其色谱图如图 2 所示。

3.2. 检出限及定量限

以 4 种人工甜味剂的色谱峰面积(Y)为纵坐标, 标准工作溶液中的浓度(X)的横坐标, 制作标准工作曲线。选择较低浓度点, 连续进样 12 次, 算出其标准偏差, 以 3.14 倍的标准偏差确定各人工甜味剂的

LOD, 以 10 倍的标准偏差确定各人工甜味剂的 LOQ, 结果(表 1)表明: 各人工甜味剂浓度范围内线性关系良好, 相关系数均 ≥ 0.999 , 满足定量分析要求。

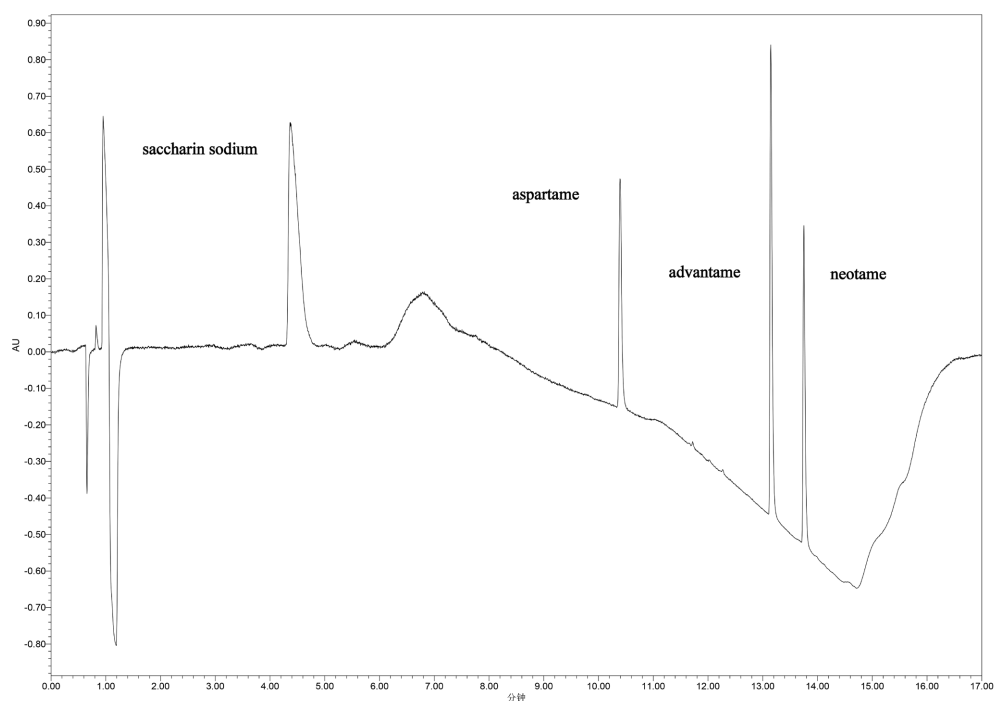


Figure 1. Chromatogram of four types of artificial sweeteners
图 1. 4 种人工甜味剂色谱图

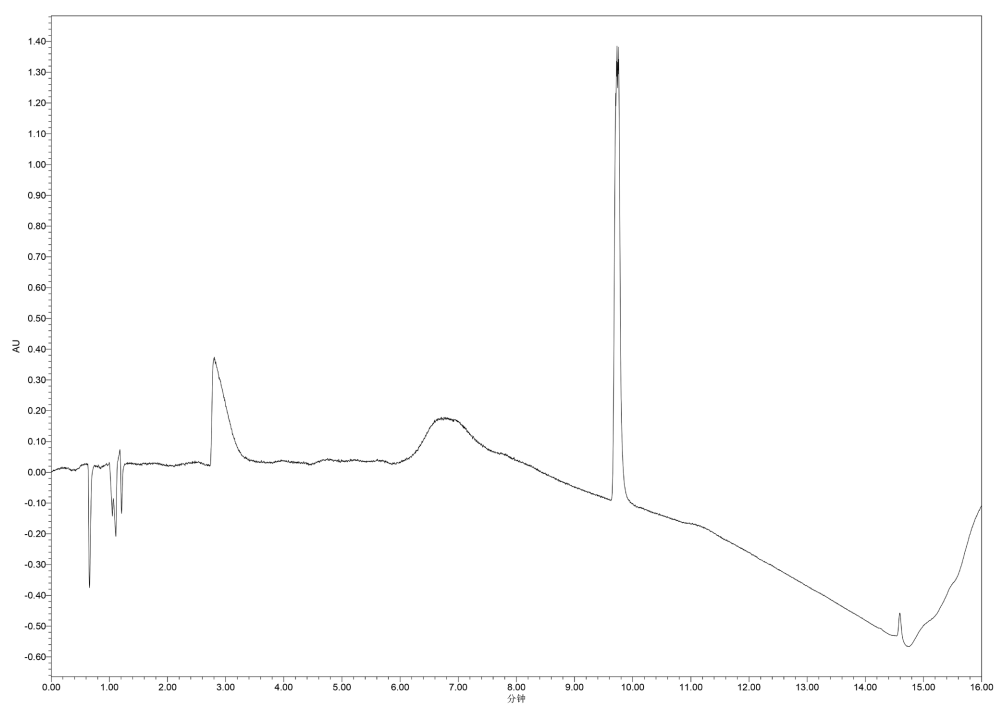


Figure 2. Chromatogram of common additives in electronic cigarette liquids
图 2. 电子烟液常见添加物色谱图

Table 1. Standard working curve, correlation coefficient, detection limit and quantitative limit of four types of artificial sweeteners**表 1.** 4 种人工甜味剂标准工作曲线、相关系数、检出限和定量限

化合物	标准工作曲线	相关系数(R ²)	检出限(mg/kg)	定量限(mg/kg)
糖精钠	$Y = 48387X - 183325$	0.9994	63.8	212.7
阿斯巴甜	$Y = 21887 + 79533$	0.9992	49.8	165.9
爱德万甜	$Y = 38024X + 97160$	0.9994	25.8	85.9
纽甜	$Y = 23990X + 46671$	0.9991	8.1	26.8

3.3. 回收率与精密度

采用在空白样品中添加标准溶液的方法, 从低、中、高三个质量浓度水平对糖精钠、阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜进行加标回收率实验。其中, 糖精钠三个质量浓度添加水平为 800 mg/kg、1500 mg/kg、4500 mg/kg; 阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜三个质量浓度添加水平均为 800 mg/kg、2000 mg/kg、5000 mg/kg。每个浓度水平进行 6 次重复实验, 计算平均回收率和精密度。结果(表 2)显示, 4 种人工甜味剂的回收率在 93.6%~108.3%之间, RSD 值均小于 5%。

Table 2. Recovery rate and relative standard deviation of four types of artificial sweeteners**表 2.** 4 种人工甜味剂回收率及相对标准偏差

化合物	添加水平(mg/kg)	回收率(%)	RSD (%)
糖精钠	800	106.2	3.16
	1500	100.3	1.14
	4500	99.7	0.49
阿斯巴甜	800	97.5	2.23
	2000	104.8	1.04
	5000	102.2	0.99
爱德万甜	800	93.6	2.46
	2000	108.3	0.96
	5000	100.7	1.14
纽甜	800	94.2	2.39
	2000	103.9	1.67
	5000	101.2	0.55

3.4. 样品测试

采用本方法对市场上已售的 10 款电子烟烟液样品进行了 3 次平行测定, 结果(表 3)显示: 水果风味样品中均检出有纽甜, 且含量均在 0.1% 以上; 有 2 款电子烟烟液不含有这 4 种人工甜味剂, 其风味分别是薄荷和烟草, 说明人工甜味剂的使用与电子烟烟液的风味有较大关系; 5 款电子烟烟油含有至少 2 种甜味剂, 且全部是水果风味, 说明人工甜味剂以复配的形式应用到电子烟烟油中是比较常见的。

Table 3. Determination of 10 types of electronic cigarette liquid samples
表 3. 10 款电子烟烟液样品的测定

甜味剂	电子烟烟液									
	水果					薄荷				
	1#	2#	3#	4#	5#	6#	7#	8#	9#	10#
糖精钠	0.01%	ND	ND	ND	0.03%	ND	ND	ND	ND	ND
阿斯巴甜	ND	0.02%	ND	ND	ND	0.02%	ND	ND	ND	ND
爱德万甜	ND	ND	ND	0.01%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
纽甜	0.13%	0.13%	0.24%	0.19%	0.22%	0.18%	0.24%	ND	0.37%	ND

注: ND: Not Detected。

4. 结论

本研究建立了 UPLC-PDA 同时测定电子烟烟液中糖精钠、阿斯巴甜、爱德万甜、纽甜 4 种人工甜味剂的方法。该方法回收率在 93.6%~108.3% 之间, 相对标准偏差均小于 5%, 操作简单、准确率高, 为电子烟烟液的安全质量监管提供了技术支撑, 同时为多种甜味剂同时检测的标准方法开发提供了理论依据。

参考文献

- [1] 杨文武, 况利平, 皇晓燕, 等. 电子烟中有毒有害物质研究进展[J]. 云南化工, 2023, 50(9): 27-32.
- [2] 杨文武, 况利平, 韦慧静. 密度、黏度、折光指数对电子烟质量的影响[J]. 云南化工, 2023, 50(3): 70-73.
- [3] 杜瑞轩, 陈学国, 田露, 等. 电子烟液化学成分检验技术研究进展[J]. 福建分析测试, 2023, 32(3): 26-32.
- [4] 杨洋, 徐建, 刘金莉, 等. 电子烟液中烟碱稳定性及其释放行为分析[J]. 中国烟草学报, 2017, 23(6): 16-21, 30.
- [5] Bergamo, A.B., Fracassi da Silva, J.A. and de Jesus, D.P. (2011) Simultaneous Determination of Aspartame, Cyclamate, Saccharin and Acesulfame-K in Soft Drinks and Tabletop Sweetener Formulations by Capillary Electrophoresis with Capacitively Coupled Contactless Conductivity Detection. *Food Chemistry*, **124**, 1714-1717. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.107>
- [6] 廖惠云, 袁益来, 吴洋, 等. SPE-HPLC-MS/MS 法同时测定电子烟烟液中 9 种甜味剂[J]. 烟草科技, 2020, 53(5): 33-40.
- [7] 胡国华, 马正智. 我国功能性高倍甜味剂的发展现状与前景[J]. 中国食品添加剂, 2008(z1): 68-71, 130.
- [8] Kroyer, G. (2010) Stevioside and Stevia-Sweetener in Food: Application, Stability and Interaction with Food Ingredients. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, **5**, 225-229. <https://doi.org/10.1007/s00003-010-0557-3>
- [9] Duell, A.K., McWhirter, K.J., Korzun, T., Strongin, R.M. and Peyton, D.H. (2019) Sucralose-Enhanced Degradation of Electronic Cigarette Liquids during Vaping. *Chemical Research in Toxicology*, **32**, 1241-1249. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00047>
- [10] 曹中. 新型功能甜味剂——纽甜[J]. 中国食品添加剂, 2006(6): 153-156.
- [11] More, T.A., Shaikh, Z. and Ali, A. (2021) Artificial Sweeteners and Their Health Implications: A Review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, **18**, 227-237. <https://doi.org/10.13005/bbra/2910>
- [12] Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U. and Chakraborty, R. (2011) Artificial Sweeteners—A Review. *Journal of Food Science and Technology*, **51**, 611-621. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0571-1>
- [13] Larsen, J.C. (2012) Artificial Sweeteners. *Nutrafoods*, **11**, 3-9. <https://doi.org/10.1007/s13749-012-0003-5>
- [14] Horie, M., Ishikawa, F., Oishi, M., Shindo, T., Yasui, A. and Ito, K. (2007) Rapid Determination of Cyclamate in Foods by Solid-Phase Extraction and Capillary Electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, **1154**, 423-428. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.03.094>
- [15] Chang, C. and Yeh, T.S. (2014) Detection of 10 Sweeteners in Various Foods by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, **22**, 318-328. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.024>

- [16] Kubica, P., Namieśnik, J. and Wasik, A. (2014) Determination of Eight Artificial Sweeteners and Common Stevia Rebaudiana Glycosides in Non-Alcoholic and Alcoholic Beverages by Reversed-Phase Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **407**, 1505-1512. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-8355-x>
- [17] 牛之瑞, 王秀君, 于毅涛, 等. 液相色谱-质谱联用同时测定白酒中 8 种甜味剂[J]. 食品科学, 2016, 37(2): 178-181.
- [18] Chang, C. and Yeh, T.S. (2014) Detection of 10 Sweeteners in Various Foods by Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Food and Drug Analysis*, **22**, 318-328. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2014.01.024>