

阿斯巴甜的热稳定性研究

陈刚,于淑娟

(华南理工大学轻工与食品学院,广东广州 510641)

摘要: 研究分析了加热时间、温度和 pH 对于阿斯巴甜热稳定性的影响以及产物苯丙氨酸的产生与阿斯巴甜减少之间的对应关系。方法:通过单因素实验(包括反应时间、温度和 pH)在高压反应釜中进行反应来制备样品;HPLC 在 210nm 波长处进行检测。结果表明:阿斯巴甜和苯丙氨酸受反应温度、pH 和反应时间的影响,其中温度和 pH 影响较大。
关键词: 阿斯巴甜 热效应 高效液相色谱(HPLC)

Study on the thermal stability of aspartame

CHEN Gang, YU Shu-juan

(College of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: Effects of high temperature on the content of aspartame and phenylalanine were examined through analyzing pH, reactive time and temperature. Method: through single-factor experiment including pH, reactive time and temperature, sample were produced in the high-pressure reactor. Then using the HPLC to detect the sample at 210nm. The results indicated that aspartame and phenylalanine were influenced by pH, reactive time and temperature, especially by pH and temperature.

Key words: aspartame; thermal effect; HPLC

中图分类号: TS202.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)07-0358-03

阿斯巴甜是一种人工二肽类甜味剂,由 L-苯丙氨酸和天门冬氨酸合成,学名为 L-天冬氨酸-L-苯丙氨酸甲酯(见图 1),白色结晶性粉末,在体内可以被水解。其甜度为蔗糖的 200 倍,热量仅为蔗糖的 1/200,常食不产生龋齿,不影响血糖,不引起肥胖、高血压、冠心病。尽管如此,在人工甜味剂广泛应用的同时,对其进行安全性评价的争论也在不断进行^[1-2]。目前得到美国 FDA 承认的人工甜味剂-阿斯巴甜,从其应用至今一直遭到了国外众多科学工作者和研究机构的质疑。有报道提出阿斯巴甜的过度使用会对脑癌、偏头痛、脑瘤等疾病有影响,但是至今也还没有得出确实的论证。阿斯巴甜自批准使用以来,主要应用于饮料、口香糖及低温焙烤食品中。由于其在体内分解会产生苯丙氨酸,因此不适用于苯丙酮尿症患者食用。目前对于阿斯巴甜的研究主要集中在食品中甜味剂的检测^[3-4]、甜味剂的合成^[5-6]、复配甜味剂等,但是还没有对于阿斯巴甜的热反应进行详细的研究^[7]。因此,本文对阿斯巴甜的热反应进行深入的研究。

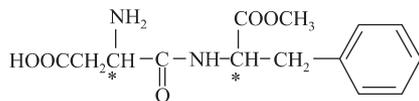


图 1 阿斯巴甜结构式

1 材料与仪器

收稿日期: 2010-06-17

作者简介: 陈刚(1985-) 男,硕士研究生,研究方向: 功能碳水化合物绿色加工。

1.1 材料与仪器

阿斯巴甜 美国纽特,纯度 $\geq 99\%$; L-苯丙氨酸 上海伯奥生物科技有限公司; 水 屈臣氏双蒸水; 甲醇; 阿斯巴甜标准储备液的制备 称取 0.100g 阿斯巴甜置于 100mL 容量瓶中,用蒸馏水溶解并定容至刻度,置于冰箱备用; 阿斯巴甜标准溶液的配制 配制 0.25、50、125、250、500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液备用; 苯丙氨酸标准溶液的配制 配制 25、50、100、150、200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液备用。

高效液相色谱仪 美国 Waters 公司; 高压反应釜 美国 Parr 公司; 酸度计 瑞士梅特勒托利多公司; 分析天平 瑞士梅特勒托利多公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品制备 准确称取阿斯巴甜 0.500g 于三角瓶中,用蒸馏水溶解,后移入 500mL 容量瓶中并定容,即浓度为 1mg/mL。分别取 25mL 阿斯巴甜溶液,按表 1 所示的单因素在高压反应釜中反应,即固定 pH 为 6 和温度 140 $^{\circ}\text{C}$,做时间因素研究; 固定 pH 为 6 和时间 20min,做反应温度的研究; 同样固定温度 140 $^{\circ}\text{C}$ 和时间 20min,做 pH 的研究。

表 1 单因素实验表

因素	水平							
pH	3	4	5	6	7	8	9	10
反应温度 ($^{\circ}\text{C}$)	120	130	140	150	160	170		
反应时间 (min)	10	15	20	25				

1.2.2 色谱分析前处理及色谱条件

1.2.2.1 前处理 将制得的样品用 0.45 μm 滤膜进行

过滤, 备液相色谱分析。

1.2.2.2 色谱条件 色谱柱: Atlantic C₁₈ 柱; 柱温: 25℃; 进样量: 20μL; 流速: 0.5mL/min; 梯度洗脱条件: 0min, 100% 水; 20min, 100% 甲醇; 40min, 100% 甲醇洗脱。

1.2.3 标准曲线的绘制 取阿斯巴甜标准溶液, 在上述色谱条件下进行 HPLC 测定, 作阿斯巴甜浓度和峰面积的标准曲线, 求回归方程; 同样求出苯丙氨酸的回归方程。

1.2.4 测量 在相同的液相色谱条件下, 分别将标准溶液和样品溶液注入色谱仪中, 以保留时间定性, 结合峰面积与标准曲线定量。

2 结果与讨论

2.1 阿斯巴甜与苯丙氨酸标准曲线的绘制

阿斯巴甜的标准曲线如图 2, 曲线方程为 $y = 6E + 07x - 711412$, $R^2 = 0.9957$; 苯丙氨酸标准曲线如图 3, 曲线方程为 $y = 8E + 07x + 2E + 06$, $R^2 = 0.9969$ 。

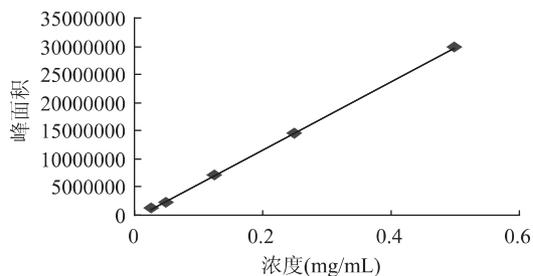


图 2 阿斯巴甜标准曲线

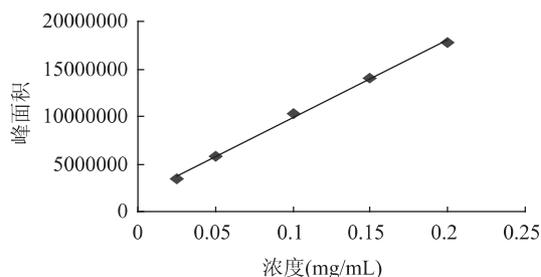


图 3 苯丙氨酸标准曲线

2.2 HPLC 色谱检测结果

图 4 为 HPLC 检测阿斯巴甜和苯丙氨酸标准物质及样品的色谱图(条件为 pH 为 6、反应时间 15min 及温度 150℃), (a) 苯丙氨酸纯品, 保留时间 18.05min; (b) 阿斯巴甜纯品, 保留时间 24.05min; (c) 前峰保留时间 18.10min, 后峰保留时间 23.98min, 因此可以判断样品前峰为苯丙氨酸, 后峰为阿斯巴甜。

2.3 反应温度、pH 和加热时间对阿斯巴甜稳定性及苯丙氨酸产出的影响

2.3.1 反应温度对阿斯巴甜稳定性及苯丙氨酸产出的影响 如图 5 所示, 随着温度的升高, 阿斯巴甜的含量逐渐减少, 在温度为 130~150℃ 时, 阿斯巴甜的含量急剧减少。可能是由于温度的升高, 阿斯巴甜发生分解或聚合度增加, 导致含量减少。同时, 苯丙氨酸含量逐渐增加, 二者体现良好的线性关系。

2.3.2 溶液 pH 对阿斯巴甜稳定性的影响 如图 6 所示, 随着 pH 的增加, 阿斯巴甜在弱酸环境中稳定

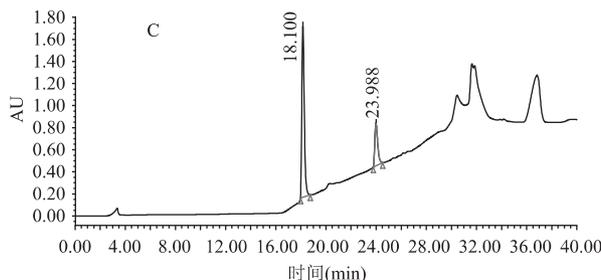
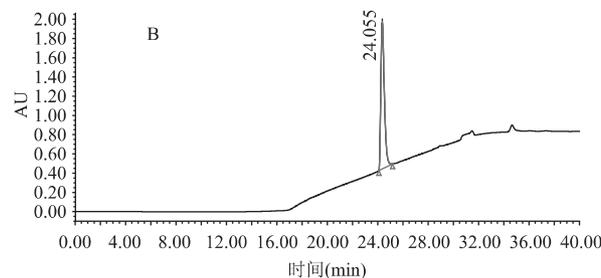
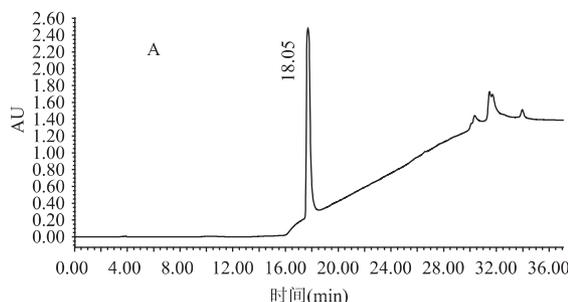


图 4 阿斯巴甜(a)、苯丙氨酸(b)及样品(c)的色谱图

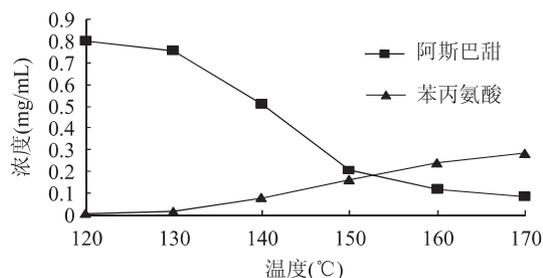


图 5 温度对阿斯巴甜和苯丙氨酸含量的影响

性良好, pH5 时稳定性最好, 在强酸强碱条件下, 稳定性差。当 pH 增加到 7, 体系开始处于碱性环境时, 阿斯巴甜不稳定性加强, 其浓度由 0.47mg/mL 减少为 0.15mg/mL, pH 增加到 10, 阿斯巴甜剩余不到 1%。由于苯丙氨酸是中性氨基酸, 因此在 pH 为 6 的时候生成量最大, 酸性或者碱性都会使其含量发生变化。

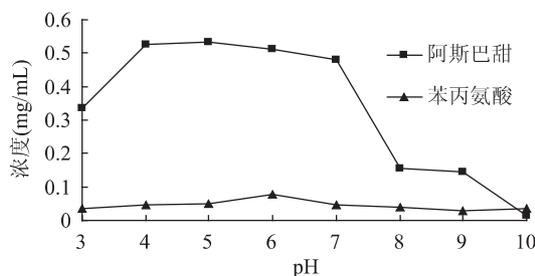


图 6 pH 对阿斯巴甜和苯丙氨酸含量的影响

2.3.3 反应时间对阿斯巴甜稳定性的影响 如图 7 所示, 阿斯巴甜的浓度随着反应时间的增长逐渐降

(下转第 391 页)

射 OCT 之后, OB 组、MW 组、OR 组小鼠 BG 与注射 NS 相比均显著下降, 差别有统计学意义 ($p < 0.05$)。

3 讨论

Bernd 等^[5]报道, 分泌性肽类激素如促黄体生成素释放激素、脑啡肽、血管紧张素、催产素可以清除过氧化氢自由基, 预防低密度脂蛋白的过氧化, 抑制脑细胞膜的脂质过氧化, 它们可能是组成机体抗氧化防御体系重要的一部分。SS 对消化功能的生理性调节主要是作为抑制因子, 表现出对胃的运动以及胃、胰腺内、外分泌功能的明显的抑制作用^[6-7]。经过 5w 的高脂饲料喂养后, HFD 小鼠体重出现了不同的变化, 其中 OR 组与正常组小鼠相比体重显著降低, 但其腹脂重及腹脂率显著升高, 说明 OR 组出现了营养过剩, 能量均以脂肪的形式储存起来, 供给机体其他组织器官的能量较少, 影响了机体的生长。OB 组小鼠在出现腹部脂肪堆积同时机体的生长并未受到影响, 只是腹部脂肪堆积的速度较生长的速度快, 可以看出在 OR 组和 OB 组之间存在着不同的脂肪代谢途径。

饲喂 5w 的高脂饲料后, 小鼠血 ROS 出现升高, 其中 OR 组小鼠血 ROS 显著升高, 说明在 OR 组小鼠出现了严重的氧化应激, OB、MW、OR 组小鼠 BG 显著升高, 出现了糖代谢紊乱, 而注射 OCT 之后, 以上各组小鼠血糖均出现显著下降, 说明 OCT 通过降低

血 ROS 水平而显著降低高脂饲养组小鼠 BG, 改善高脂饲养小鼠的糖代谢紊乱。

参考文献

- [1] 沈秀华, 蔡威, 汤庆娅, 等. 营养性肥胖大鼠氧应激水平的改变[J]. 卫生研究, 2007, 36(4): 440-442.
- [2] Goodarzi MT, Varmaziarl, Navidi A A, et al. Study of oxidative stress in type 2 diabetic patients and its relationship with glycated hemoglobin[J]. Saudi Med J 2008, 29: 503-506.
- [3] Esfandiari N. Utility of the nitroblue tetrazolium reduction test for assessment of free radical production by seminal leukocytes and spermatozoa[J]. Andrology 2003, 24: 862-869.
- [4] Li Y, Zhu H, Michael A. Detection of mitochondria-derived free radical production by the chemiluminescent probes lucigenin and luminol [J]. Biochim Biophys Acta, 1999, 1428: 1-12.
- [5] Bernd Moosmann, Christian Behl. Secretory Peptide Hormones Are Biochemical Antioxidants: Structure - Activity Relationship [J]. Mol Pharmacol 2002, 61(2): 260-268.
- [6] Patel Yc. Somatostatin and its receptor family [J]. Frontiers in Neuroendocrinology, 1999, 20: 157-198.
- [7] Van Op Den Bosch J, Adriaensen D, Van Nassauw L, et al. The role(s) of somatostatin, structurally related peptides and somatostatin receptors in the gastrointestinal tract: a review [J]. Regulatory Peptides 2009, 156: 1-8.

(上接第 359 页)

低, 但是降低速度相对比较缓慢, 因此可见反应时间对阿斯巴甜的影响比较小。图中反应 10min 时的浓度为 0.57mg/mL, 这主要是由于 140℃ 的反应温度产生的降低。与此同时, 苯丙氨酸的含量在 20min 时达到最大值, 随后减少, 这可能是由于反应时间延长, 增加了苯丙氨酸分子之间的羧基反应而聚合, 形成二聚体或多聚体。

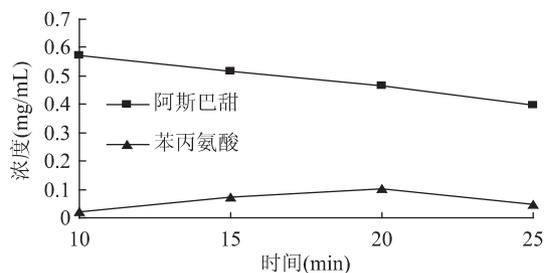


图 7 反应时间对阿斯巴甜和苯丙氨酸含量的影响

3 结论

3.1 阿斯巴甜的稳定性随温度的升高而降低, 当温度为 130℃, 阿斯巴甜损失 15%; 到 170℃, 损失达到 99.2%; 苯丙氨酸随阿斯巴甜的减少逐渐增加, 170℃ 达到 0.28mg/mL。

3.2 pH 对阿斯巴甜稳定性也有较大影响, 强酸强碱都不利于其稳定, pH 为 5 时最稳定; 苯丙氨酸在 pH 为 6 时含量最高, 为 0.07mg/mL, 酸碱都会使其减少,

因为苯丙氨酸是中性氨基酸, 因此中性条件下含量最多。

3.3 反应时间对阿斯巴甜稳定性影响较小; 但苯丙氨酸的含量在 20min 达到最大值, 然后减少, 可能是由于反应时间的增加导致苯丙氨酸分子间的聚合。

参考文献

- [1] 宋雁, 樊永祥, 李宁. 阿斯巴甜的安全性评价进展情况 [J]. 中国食品卫生杂志, 2010(1): 84-87.
- [2] BUTCHKO H H, STARGEL W W. Aspartame: scientific evaluation in the postmarketing period [J]. Regul Toxicol Pharmacol 2001, 34(3): 221-233.
- [3] 杨柳桦, 王林, 孙成均. 高效液相色谱法测定保健食品和饮料中的阿斯巴甜 [J]. 分析实验室, 2007, 26(7): 79-82.
- [4] 李皓, 陈长武, 张培刚, 等. HPLC 法测定果冻食品中阿斯巴甜含量的研究 [J]. 食品科学, 2008(8): 520-522.
- [5] Tai D F, Lin Sh. Bromelain catalyzed synthesis of peptides in organic solvent [J]. J Chin Chem Soc 2003, 50: 179-183.
- [6] 吴璞强, 赵桂霞, 张亚楠, 等. 阿斯巴甜的合成和应用研究进展 [J]. 中国调味品, 2010(1).
- [7] Keller S E, Nash T C, Neuberg S. S. The degradation of aspartame in chocolate milk related to processing and subsequent microbial load [M]. Journal of Dairy Science, 1991, 74: 1214-1217.