



中华人民共和国国家标准

GB 1886.355—2022

食品安全国家标准 食品添加剂 甜菊糖苷

2022-06-30 发布

2022-12-30 实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局 发布

前 言

本标准代替 GB 8270—2014《食品安全国家标准 食品添加剂 甜菊糖苷》。

本标准与 GB 8270—2014 相比,主要变化如下:

- 修改了标准范围;
- 修改了分子式、结构式和相对分子质量等相关内容;
- 修改了甜菊糖苷含量(以干基计)的指标要求和检验方法;
- 修改了“灼烧残渣”指标名称为“灰分”;
- 修改了“总砷(以 As 计)”指标名称为“砷(As)”;
- 增加了铅(Pb)、砷(As)的检验方法;
- 将鉴别试验中 pH 的要求放入理化指标。

食品安全国家标准

食品添加剂 甜菊糖苷

1 范围

本标准适用于以甜叶菊(*Stevia Rebaudiana* Bertoni)叶为原料,经提取、精制而得食品添加剂甜菊糖苷。已知糖苷包括甜菊苷、瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 E、瑞鲍迪苷 F、瑞鲍迪苷 M、瑞鲍迪苷 N、瑞鲍迪苷 O、杜克苷 A、甜茶苷及甜菊双糖苷。

2 分子式、结构式和相对分子质量

2.1 13 种糖苷的分子式

甜菊苷: $C_{38}H_{60}O_{18}$

瑞鲍迪苷 A: $C_{44}H_{70}O_{23}$

瑞鲍迪苷 B: $C_{38}H_{60}O_{18}$

瑞鲍迪苷 C: $C_{44}H_{70}O_{22}$

瑞鲍迪苷 D: $C_{50}H_{80}O_{28}$

瑞鲍迪苷 E: $C_{44}H_{70}O_{23}$

瑞鲍迪苷 F: $C_{43}H_{68}O_{22}$

瑞鲍迪苷 M: $C_{56}H_{90}O_{33}$

瑞鲍迪苷 N: $C_{56}H_{90}O_{32}$

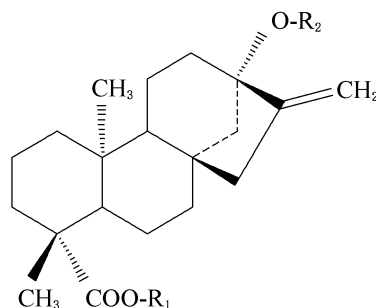
瑞鲍迪苷 O: $C_{62}H_{100}O_{37}$

杜克苷 A: $C_{38}H_{60}O_{17}$

甜茶苷: $C_{32}H_{50}O_{13}$

甜菊双糖苷: $C_{32}H_{50}O_{13}$

2.2 13 种糖苷的结构式



13 种糖苷的化合物名称、 R_1 位取代基和 R_2 位取代基见表 1。甜菊醇($R_1 = R_2 = H$)为甜菊糖苷配基。

表 1 13 种糖苷的化合物名称、R₁ 位取代基和 R₂ 位取代基

化合物名称		R ₁ 位取代基	R ₂ 位取代基
中文	英文		
甜菊苷	Stevioside	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2→1)
瑞鲍迪苷 A	Rebaudioside A	β -Glc	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 B	Rebaudioside B	H	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 C	Rebaudioside C	β -Glc	β -Glc- α -Rha(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 D	Rebaudioside D	β -Glc- β -Glc(2→1)	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 E	Rebaudioside E	β -Glc- β -Glc(2→1)	β -Glc- β -Glc(2→1)
瑞鲍迪苷 F	Rebaudioside F	β -Glc	β -Glc- β -Xyl(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 M	Rebaudioside M	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 N	Rebaudioside N	β -Glc- α -Rha(2→1) β -Glc(3→1)	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 O	Rebaudioside O	β -Glc- β -Glc(3→1)- α -Rha(2→1) β -Glc(3→1)	β -Glc- β -Glc(2→1) β -Glc(3→1)
杜克苷 A	Dulcoside A	β -Glc	β -Glc- α -Rha(2→1)
甜茶苷	Rubusoside	β -Glc	β -Glc
甜菊双糖苷	Steviolbioside	H	β -Glc- β -Glc(2→1)

注：Glc、Rha、Xyl 分别代表葡萄糖、鼠李糖、木糖。

2.3 13 种糖苷的相对分子质量

甜菊苷：804.87(按 2018 年国际相对原子质量)
瑞鲍迪苷 A：967.01(按 2018 年国际相对原子质量)
瑞鲍迪苷 B：804.87(按 2018 年国际相对原子质量)
瑞鲍迪苷 C：951.01(按 2018 年国际相对原子质量)
瑞鲍迪苷 D：1 129.15(按 2018 年国际相对原子质量)
瑞鲍迪苷 E：967.01(按 2018 年国际相对原子质量)

瑞鲍迪苷 F:936.99(按 2018 年国际相对原子质量)
 瑞鲍迪苷 M:1 291.29(按 2018 年国际相对原子质量)
 瑞鲍迪苷 N:1 275.29(按 2018 年国际相对原子质量)
 瑞鲍迪苷 O:1 437.44(按 2018 年国际相对原子质量)
 杜克苷 A:788.87(按 2018 年国际相对原子质量)
 甜茶苷:642.73(按 2018 年国际相对原子质量)
 甜菊双糖苷:642.73(按 2018 年国际相对原子质量)

3 技术要求

3.1 感官要求

感官要求应符合表 2 的规定。

表 2 感官要求

项目	要求	检验方法
色泽	白色至浅黄色	取适量试样置于清洁、干燥的白瓷盘中,在自然光线下观察其色泽和状态
状态	粉末、晶体、颗粒或片状	

3.2 理化指标

理化指标应符合表 3 的规定。

表 3 理化指标

项 目	指 标	检验方法
甜菊糖苷含量(以干基计) ^a , $w/\%$	\geq 90.0	附录 A 中 A.3
灰分, $w/\%$	\leq 1.0	GB 5009.4
干燥减量, $w/\%$	\leq 6.0	GB 5009.3 直接干燥法 ^b
pH	4.5~7.0	附录 A 中 A.4
铅(Pb)/(mg/kg)	\leq 1.0	GB 5009.75 或 GB 5009.12
砷(As)/(mg/kg)	\leq 1.0	GB 5009.76 或 GB 5009.11
甲醇/(mg/kg)	\leq 200	附录 A 中 A.5
乙醇/(mg/kg)	\leq 5 000	
注:商品化的甜菊糖苷产品应以符合本标准的甜菊糖苷为原料,可添加用于标准化目的的淀粉等食品原料。		
^a 商品化的甜菊糖苷产品应符合标识值。		
^b 干燥温度和时间分别为 105 °C \pm 2 °C 和 2 h。		

附录 A 检验方法

A.1 一般规定

本标准所用试剂和水在未注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 规定的三级水。试验中所用标准滴定溶液、杂质测定用标准溶液、制剂及制品在未注明其他要求时,均按 GB/T 601、GB/T 602、GB/T 603 的规定制备。试验中所用溶液在未注明用何种溶剂配制时,均指水溶液。

A.2 鉴别试验

A.2.1 甜菊糖苷色谱试验

在甜菊糖苷含量试验中,试样溶液色谱图中 13 种糖苷的色谱峰应与混合标准品溶液相对应。

A.3 甜菊糖苷含量(以干基计)的测定

A.3.1 试剂和材料

A.3.1.1 乙腈:色谱纯。

A.3.1.2 磷酸二氢钠:色谱纯。

A.3.1.3 磷酸:色谱纯。

A.3.1.4 水:GB/T 6682 规定的一级水。

A.3.1.5 乙腈水溶液:乙腈和水的体积比为 30 : 70。

A.3.1.6 磷酸钠缓冲液(pH 2.6):称取 1.20 g 磷酸二氢钠(NaH_2PO_4),溶于 800 mL 水中,用磷酸调节 pH 至 2.6。

A.3.1.7 瑞鲍迪苷 A 标准品:瑞鲍迪苷 A 含量(质量分数,以干基计) $\geq 99.0\%$ 。

A.3.1.8 瑞鲍迪苷 D 标准品:瑞鲍迪苷 D 含量(质量分数,以干基计) $\geq 95.0\%$ 。

A.3.1.9 其他 11 种糖苷标准品:甜菊苷、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 E、瑞鲍迪苷 F、瑞鲍迪苷 M、瑞鲍迪苷 N、瑞鲍迪苷 O、杜克苷 A、甜茶苷和甜菊双糖苷,或使用 13 种糖苷混合标准品。

A.3.2 仪器和设备

高效液相色谱仪:配备紫外检测器,或其他等效的检测器。

A.3.3 参考色谱条件

A.3.3.1 色谱柱: C_{18} 反相色谱柱,250 mm \times 4.6 mm,粒径 5 μm ;或其他等效的色谱柱。

A.3.3.2 流动相梯度洗脱条件(比例可根据实际情况调节):见表 A.1。

表 A.1 流动相梯度洗脱条件(比例可根据实际情况调节)

时间/min	磷酸钠缓冲液/%	乙腈/%
0	75	25
13	75	25
15	68	32
40	68	32
42	75	25
45	75	25

A.3.3.3 流动相流速:0.8 mL/min。

A.3.3.4 检测波长:210 nm。

A.3.3.5 进样量:2 μ L~10 μ L。

A.3.3.6 柱温:40 $^{\circ}$ C。

A.3.4 分析步骤

A.3.4.1 混合标准品溶液的制备

分别称取适量瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 D、甜菊苷、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 E、瑞鲍迪苷 F、瑞鲍迪苷 M、瑞鲍迪苷 N、瑞鲍迪苷 O、杜克苷 A、甜茶苷和甜菊双糖苷标准品(或 13 种糖苷混合标准品),置于同一个容量瓶中,用乙腈水溶液完全溶解后定容,得到混合标准品溶液。混合标准品溶液用于确定 13 种糖苷的相对保留时间。

A.3.4.2 标准溶液的制备

分别称取 5.0 mg、10.0 mg、20.0 mg、25.0 mg 的瑞鲍迪苷 A 标准品和 2.5 mg、5.0 mg、10.0 mg、12.5 mg 的瑞鲍迪苷 D 标准品,精确至 0.1 mg,分别置于 25 mL 的容量瓶中,用乙腈水溶液溶解后稀释至刻度,分别得到浓度为 200 mg/L、400 mg/L、800 mg/L、1 000 mg/L 的瑞鲍迪苷 A 标准溶液和 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L、500 mg/L 的瑞鲍迪苷 D 标准溶液。

A.3.4.3 试样溶液的制备

称取 25.0 mg \pm 5.0 mg 试样(干基),精确至 0.1 mg,置于 50 mL 的容量瓶中,用乙腈水溶液溶解后稀释至刻度,得到试样溶液。

A.3.5 测定

A.3.5.1 标准曲线的绘制

在 A.3.3 参考色谱条件下,分别对 200 mg/L、400 mg/L、800 mg/L、1 000 mg/L 的瑞鲍迪苷 A 标准溶液和 100 mg/L、200 mg/L、400 mg/L、500 mg/L 的瑞鲍迪苷 D 标准溶液进行色谱分析,记录各浓度标准溶液对应的峰面积值。以标准溶液色谱图中瑞鲍迪苷 A 或瑞鲍迪苷 D 的峰面积值为 Y 轴,以对应溶液浓度(mg/L)为 X 轴,绘制标准曲线,分别得到瑞鲍迪苷 A 标准曲线和瑞鲍迪苷 D 标准曲线(强制过原点),从标准曲线上分别获得瑞鲍迪苷 A 线性函数斜率(K_a)和瑞鲍迪苷 D 线性函数斜率(K_d)。

A.3.5.2 含量测定

在 A.3.3 参考色谱条件下,分别对混合标准品溶液和试样溶液进行色谱分析。将试样溶液的色谱图与混合标准品溶液的色谱图(见附录 B)相比较,以确定试样溶液色谱图中各组分对应的峰。记录试样溶液色谱图中瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 D、甜菊苷、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 E、瑞鲍迪苷 F、瑞鲍迪苷 M、瑞鲍迪苷 N、瑞鲍迪苷 O、杜克苷 A、甜茶苷和甜菊双糖苷的峰面积。

A.3.6 结果计算

8 种糖苷含量(以干基计)的质量分数 w_i 按式(A.1)计算。

$$w_i = \frac{f_i \times A_i}{K_a \times c} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

i ——s、a、b、c、f、da、ru、sb,分别对应甜菊苷、瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷;

f_i —— i 组分与瑞鲍迪苷 A 的式量比值:1.00(瑞鲍迪苷 A)、0.83(甜菊苷)、0.83(瑞鲍迪苷 B)、0.98(瑞鲍迪苷 C)、0.97(瑞鲍迪苷 F)、0.82(杜克苷 A)、0.66(甜茶苷)、0.66(甜菊双糖苷);

A_i ——试样溶液色谱图中 i 组分的峰面积值;

K_a ——A.3.5.1 中瑞鲍迪苷 A 线性函数斜率;

c ——试样溶液的浓度,单位为毫克每升(mg/L)。

5 种糖苷含量(以干基计)的质量分数 w_i 按式(A.2)计算。

$$w_i = \frac{f_i \times A_i}{K_d \times c} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

i ——d、e、m、n、o,分别对应瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 E、瑞鲍迪苷 M、瑞鲍迪苷 N、瑞鲍迪苷 O;

f_i —— i 组分与瑞鲍迪苷 D 的式量比值:1.00(瑞鲍迪苷 D)、0.86(瑞鲍迪苷 E)、1.14(瑞鲍迪苷 M)、1.13(瑞鲍迪苷 N)、1.27(瑞鲍迪苷 O);

A_i ——试样溶液色谱图中 i 组分的峰面积值;

K_d ——A.3.5.1 中瑞鲍迪苷 D 线性函数斜率;

c ——试样溶液的浓度,单位为毫克每升(mg/L)。

由式(A.1)和式(A.2)计算得到 13 种组分的含量 w_s 、 w_a 、 w_b 、 w_c 、 w_f 、 w_{da} 、 w_{ru} 、 w_{sb} 、 w_d 、 w_e 、 w_m 、 w_n 和 w_o ,取各组分含量之和即为试样中甜菊糖苷含量。

A.4 pH 的测定

A.4.1 仪器和设备

酸度计。

A.4.2 试剂和材料

称取 1 g 试样,溶于 100 mL 除去二氧化碳的水中,用酸度计测定试样溶液的 pH。

A.5 甲醇和乙醇的测定

A.5.1 试剂和材料

A.5.1.1 甲醇:色谱纯。

A.5.1.2 乙醇:色谱纯。

A.5.1.3 水:GB/T 6682 规定的一级水。

A.5.2 仪器和设备

气相色谱仪,配有氢火焰离子化检测器(FID)和顶空进样器。

A.5.3 参考色谱条件

A.5.3.1 色谱柱:键合聚乙二醇熔融石英毛细管柱(柱长为 30 m,柱内径为 0.25 mm,膜厚度为 0.25 μm),或其他等效的色谱柱。

A.5.3.2 载气:氮气(纯度 $\geq 99.99\%$)。

A.5.3.3 载气流量:5.0 mL/min。

A.5.3.4 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 5 min,以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 120 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min,最后以 16 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min。

A.5.3.5 进样口温度:200 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.5.3.6 检测器温度:250 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.5.3.7 进样体积:1 mL。

A.5.3.8 分流比:1:50。

A.5.4 参考顶空条件

A.5.4.1 顶空瓶温度:80 $^{\circ}\text{C}$ 。

A.5.4.2 顶空瓶平衡时间:30 min。

A.5.5 分析步骤

A.5.5.1 空白溶液的制备

移取 2 mL 水,置于顶空瓶中,迅速压紧瓶盖,备用。

A.5.5.2 标准溶液的制备

A.5.5.2.1 甲醇标准溶液的制备

称取 0.1 g 甲醇,精确至 0.001 g,用水稀释后转移至一个 1 000 mL 的容量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得 100 mg/L 的甲醇标准储备溶液。将该溶液配制成一系列浓度为 2.5 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L 和 50 mg/L 的甲醇标准溶液。移取上述系列浓度溶液各 2 mL,分别置于顶空瓶中,迅速压紧瓶盖,备用。

A.5.5.2.2 乙醇标准溶液的制备

称取 0.1 g 乙醇,精确至 0.001 g,用水稀释后转移至一个 100 mL 的容量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得 1 000 mg/L 的乙醇标准储备溶液。将该溶液配制成一系列浓度为 50 mg/L、100 mg/L、200 mg/L、500 mg/L 和 750 mg/L 的乙醇标准溶液。移取上述系列浓度溶液各 2 mL,分别置于顶空瓶中,迅速压紧瓶盖,备用。

A.5.5.3 试样溶液的制备

称取 1.0 g 试样,精确至 0.001 g,用水溶解后转移至一个 10 mL 的容量瓶中,在室温下超声处理约 3 min,加水稀释至刻度,摇匀。移取该溶液 2 mL 置于顶空瓶中,迅速压紧瓶盖,备用。

A.5.6 测定

在参考操作条件 A.5.3 和 A.5.4 下,分别对空白溶液、标准系列溶液和试样溶液进行测定,记录甲醇或乙醇的峰面积值。以标准系列溶液色谱图中甲醇或乙醇的峰面积值为 Y 轴,以对应溶剂浓度(mg/L)为 X 轴,绘制标准曲线,得到甲醇标准曲线或乙醇标准曲线。根据试样溶液色谱图中甲醇或乙醇的峰面积值,从标准曲线求得试样溶液中甲醇或乙醇的浓度(mg/L)。

A.5.7 结果计算

试样中甲醇或乙醇的含量 w ,单位为毫克每千克(mg/kg),按式(A.3)计算。

$$w = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

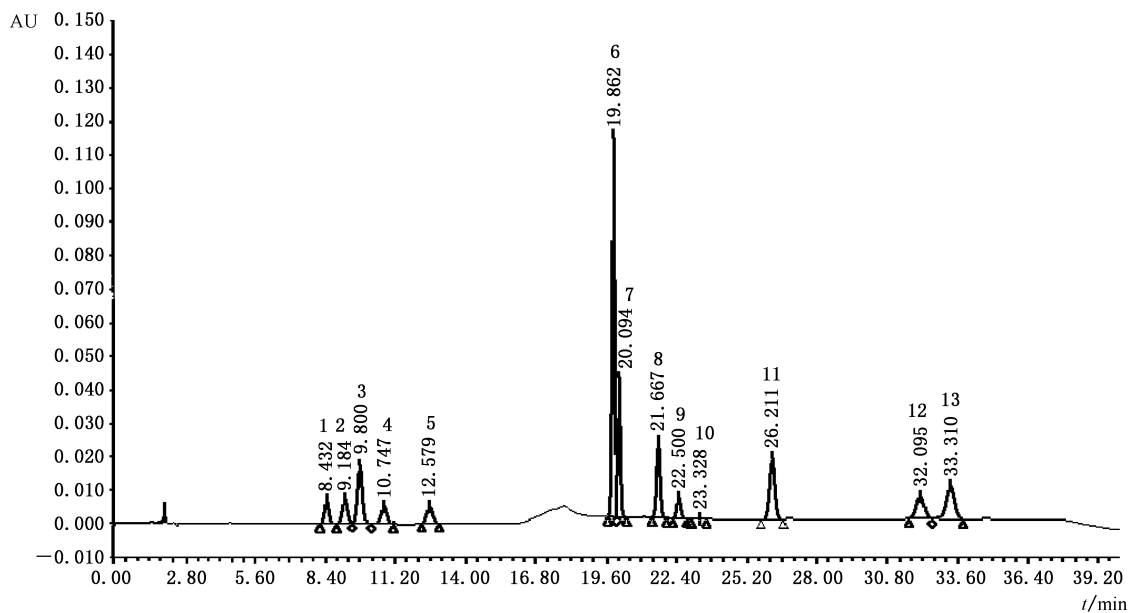
c ——从标准曲线求得的试样溶液中甲醇或乙醇的浓度,单位为毫克每升(mg/L);

V ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);

m ——试样的质量,单位为克(g)。

附录 B
混合标准品溶液的参考色谱图

混合标准品溶液的参考色谱图见图 B.1。



说明：

- 1 —— 瑞鲍迪昔 E;
- 2 —— 瑞鲍迪昔 O;
- 3 —— 瑞鲍迪昔 D;
- 4 —— 瑞鲍迪昔 N;
- 5 —— 瑞鲍迪昔 M;
- 6 —— 瑞鲍迪昔 A;
- 7 —— 甜菊苷;
- 8 —— 瑞鲍迪昔 F;
- 9 —— 瑞鲍迪昔 C;
- 10 —— 杜克昔 A;
- 11 —— 甜茶苷;
- 12 —— 瑞鲍迪昔 B;
- 13 —— 甜菊双糖苷。

图 B.1 混合标准品溶液参考色谱示意图