



# 中华人民共和国国家标准

GB 8270—2014

---

## 食品安全国家标准 食品添加剂 甜菊糖苷

2015-01-28 发布

2015-07-28 实施

---

中华人民共和国  
国家卫生和计划生育委员会 发布

## 前 言

本标准代替 GB 8270—1999《食品添加剂 甜菊糖甙》。

本标准与 GB 8270—1999 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品添加剂 甜菊糖苷”;
- 修改了标准结构;
- 修改了结构式、分子式和相对分子质量等相关内容;
- 取消了理化指标中的等级要求,统一指标;
- 修改了鉴别试验;
- 修改了理化指标中甜菊糖苷含量、灼烧残渣和干燥减量指标;
- 删除了理化指标中甜度、比旋光度、比吸光度和重金属指标;
- 增加了铅、甲醇和乙醇指标。

# 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)干叶为原料,经提取、精制而得的食物添加剂甜菊糖苷。主要糖苷为甜菊苷和瑞鲍迪苷 A,其他已知糖苷包括瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷及甜菊双糖苷。

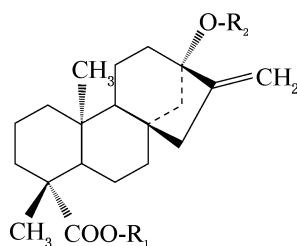
### 2 分子式、结构式和相对分子质量

#### 2.1 主要糖苷的分子式

甜菊苷:  $C_{38}H_{60}O_{18}$

瑞鲍迪苷 A:  $C_{44}H_{70}O_{23}$

#### 2.2 9种糖苷的结构式



9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。

表1 9种糖苷的化合物名称、 $R_1$ 位取代基和 $R_2$ 位取代基

化合物名称		$R_1$ 位取代基	$R_2$ 位取代基
中文名称	英文名称		
甜菊苷	stevioside	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)
瑞鲍迪苷 A	rebaudioside A	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 B	rebaudioside B	H	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 C	rebaudioside C	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\alpha$ -Rha(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 D	rebaudioside D	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)
瑞鲍迪苷 F	rebaudioside F	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Xyl(2→1)   $\beta$ -Glc(3→1)

表 1 (续)

化合物名称		R <sub>1</sub> 位取代基	R <sub>2</sub> 位取代基
中文名称	英文名称		
杜克昔 A	dulcoside A	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc- $\alpha$ -Rha(2→1)
甜茶昔	rubusoside	$\beta$ -Glc	$\beta$ -Glc
甜菊双糖昔	steviolbioside	H	$\beta$ -Glc- $\beta$ -Glc(2→1)

### 2.3 主要糖昔的相对分子质量

甜菊昔:804.88(按 2007 年国际相对原子质量)

瑞鲍迪昔 A:967.03(按 2007 年国际相对原子质量)

## 3 技术要求

### 3.1 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	粉末或晶体	

### 3.2 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
甜菊糖昔含量(以干基计, $w$ )/%	$\geq$ 85	附录 A 中 A.3
灼烧残渣( $w$ )/%	$\leq$ 1	GB 5009.4
干燥减量( $w$ )/%	$\leq$ 6	GB 5009.3 直接干燥法 <sup>a</sup>
铅(Pb)/(mg/kg)	$\leq$ 1	GB 5009.12
总砷(以 As 计)/(mg/kg)	$\leq$ 1	GB 5009.11
甲醇/(mg/kg)	$\leq$ 200	附录 A 中 A.4
乙醇/(mg/kg)	$\leq$ 5 000	
注:商品化的甜菊糖昔产品应以符合本标准的甜菊糖昔为原料,可添加用于标准化目的的淀粉等食品原料。		
<sup>a</sup> 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,在没有注明其他要求时,均指分析纯试剂和 GB/T 6682 中规定的三级水。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,在没有注明其他要求时,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 甜菊苷和瑞鲍迪苷 A 试验

在甜菊糖苷含量试验中,试样溶液的液相色谱图中甜菊苷和瑞鲍迪苷 A 两个主峰应与混合标准溶液的色谱图相对应。

## A.2.2 试样溶液的 pH

称取 1 g 试样,溶于 100 mL 水中,用酸度计测定试样溶液的 pH 在 4.5~7.0。

## A.3 甜菊糖苷含量的测定

## A.3.1 方法一

## A.3.1.1 试剂和材料

A.3.1.1.1 乙腈:色谱纯。

A.3.1.1.2 磷酸二氢钠:色谱纯。

A.3.1.1.3 磷酸:色谱纯。

A.3.1.1.4 水:GB/T 6682—2008 中规定的一级水。

A.3.1.1.5 乙腈水溶液:乙腈和水的体积比为 30 : 70。

A.3.1.1.6 磷酸钠缓冲液(pH 2.6):称取 1.20 g 磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ),溶于 800 mL 水中,用磷酸调节 pH 至 2.6。

A.3.1.1.7 甜菊苷标准品:甜菊苷含量(质量分数,以干基计) $\geq 99.0\%$ 。

A.3.1.1.8 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.3.1.1.9 其他 7 种糖苷标准品:瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷和甜菊双糖苷。

## A.3.1.2 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.3.1.3 参考色谱条件

A.3.1.3.1 色谱柱: C<sub>18</sub>反相色谱柱, 250 mm×4.6 mm, 粒径 5 μm; 或其他等效的色谱柱。

A.3.1.3.2 流动相: 乙腈: 磷酸钠缓冲液=32: 68。

A.3.1.3.3 流动相流速: 1.0 mL/min。

A.3.1.3.4 检测波长: 210 nm。

A.3.1.3.5 进样量: 2 μL~10 μL。

A.3.1.3.6 柱温: 40 ℃。

### A.3.1.4 分析步骤

#### A.3.1.4.1 混合标准品溶液的制备

分别称取适量甜菊苷、瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷标准品, 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 9 种糖苷的相对保留时间。

#### A.3.1.4.2 标准溶液的制备

分别称取 0.05 g 甜菊苷标准品和瑞鲍迪苷 A 标准品, 精确至 0.001 g, 分别置于 50 mL 的容量瓶中, 用乙腈水溶液溶解后稀释至刻度, 得到甜菊苷标准溶液和瑞鲍迪苷 A 标准溶液。

#### A.3.1.4.3 试样溶液的制备

称取 0.05 g~0.1 g 试样, 精确至 0.001 g, 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.3.1.5 测定

在 A.3.1.3 参考色谱条件下, 分别对混合标准品溶液、标准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 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷的峰面积及标准溶液色谱图中甜菊苷和瑞鲍迪苷 A 的峰面积。

### A.3.1.6 结果计算

瑞鲍迪苷 A 含量(以干基计)的质量分数  $w_a$  按式(A.1)计算:

$$w_a = \frac{m_R}{m} \times \frac{A_a}{A_R} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

$m_R$  ——瑞鲍迪苷 A 标准溶液中瑞鲍迪苷 A 的质量(以干基计), 单位为毫克(mg);

$m$  ——试样溶液中试样的质量(以干基计), 单位为毫克(mg);

$A_a$  ——试样溶液色谱图中瑞鲍迪苷 A 的峰面积值;

$A_R$  ——瑞鲍迪苷 A 标准溶液色谱图中瑞鲍迪苷 A 的峰面积值。

其他 8 种糖苷含量(以干基计)的质量分数  $w_i$  按式(A.2)计算:

$$w_i = \frac{m_S}{m} \times \frac{f_i \times A_i}{A_S} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.2)$$

式中:

$i$  ——s、b、c、d、f、da、ru、sb, 分别对应甜菊苷、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、

杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷；

$m_s$  ——甜菊苷标准溶液中甜菊苷的质量(以干基计),单位为毫克(mg)；

$m$  ——试样溶液中试样的质量(以干基计),单位为毫克(mg)；

$f_i$  —— $i$  组分与甜菊苷的式量比值: 1.00(甜菊苷)、1.00(瑞鲍迪苷 B)、1.18(瑞鲍迪苷 C)、1.40(瑞鲍迪苷 D)、1.16(瑞鲍迪苷 F)、0.98(杜克苷 A)、0.80(甜茶苷)、0.80(甜菊双糖苷)；

$A_i$  ——试样溶液色谱图中  $i$  组分的峰面积值；

$A_s$  ——甜菊苷标准溶液色谱图中甜菊苷的峰面积值。

由式(A.1)和式(A.2)计算得到 9 种组分的含量  $w_a$ 、 $w_s$ 、 $w_b$ 、 $w_c$ 、 $w_d$ 、 $w_f$ 、 $w_{da}$ 、 $w_{ru}$  和  $w_{sb}$ , 取各组分含量之和即为试样中甜菊糖苷含量。

## A.3.2 方法二

### A.3.2.1 试剂和材料

A.3.2.1.1 乙腈:色谱纯。

A.3.2.1.2 磷酸二氢钠:色谱纯。

A.3.2.1.3 磷酸:色谱纯。

A.3.2.1.4 水:GB/T 6682—2008 中规定的一级水。

A.3.2.1.5 乙腈水溶液:乙腈和水的体积比为 30 : 70。

A.3.2.1.6 磷酸钠缓冲液(pH 2.6):称取 1.20 g 磷酸二氢钠( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ),溶于 800 mL 水中,用磷酸调节 pH 至 2.6,用水稀释至 1 000 mL。

A.3.2.1.7 甜菊苷标准品:甜菊苷含量(质量分数,以干基计) $\geq 99.0\%$ 。

A.3.2.1.8 其他 8 种糖苷标准品:瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷和甜菊双糖苷。

### A.3.2.2 仪器和设备

同 A.3.1.2。

### A.3.2.3 参考色谱条件

同 A.3.1.3。

### A.3.2.4 分析步骤

#### A.3.2.4.1 混合标准品溶液的制备

分别称取适量甜菊苷、瑞鲍迪苷 A、瑞鲍迪苷 B、瑞鲍迪苷 C、瑞鲍迪苷 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷标准品,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 9 种糖苷的相对保留时间。

#### A.3.2.4.2 标准溶液的制备

称取 0.05 g 甜菊苷标准品,精确至 0.001 g,置于 50 mL 的容量瓶中,用乙腈水溶液溶解后稀释至刻度,得到甜菊苷标准溶液。

#### A.3.2.4.3 试样溶液的制备

称取 0.05 g~0.1 g 试样,精确至 0.001 g,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.3.2.5 测定

在 A.3.2.3 参考色谱条件下,分别对混合标准品溶液、标准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 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷的峰面积及标准溶液色谱图中甜菊苷的峰面积。

### A.3.2.6 结果计算

9 种糖苷含量(以干基计)的质量分数  $w_i$  按式(A.3)计算:

$$w_i = \frac{m_s}{m} \times \frac{f_i \times A_i}{A_s} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.3)$$

式中:

$i$  ——s、a、b、c、d、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 D、瑞鲍迪苷 F、杜克苷 A、甜茶苷、甜菊双糖苷;

$m_s$  ——甜菊苷标准溶液中甜菊苷的质量(以干基计),单位为毫克(mg);

$m$  ——试样溶液中试样的质量(以干基计),单位为毫克(mg);

$f_i$  —— $i$  组分与甜菊苷的式量比值: 1.00(甜菊苷)、1.20(瑞鲍迪苷 A)、1.00(瑞鲍迪苷 B)、1.18(瑞鲍迪苷 C)、1.40(瑞鲍迪苷 D)、1.16(瑞鲍迪苷 F)、0.98(杜克苷 A)、0.80(甜茶苷)、0.80(甜菊双糖苷);

$A_i$  ——试样溶液色谱图中  $i$  组分的峰面积值;

$A_s$  ——甜菊苷标准溶液色谱图中甜菊苷的峰面积值。

由式(A.3)计算得到 9 种组分的含量  $w_s$ 、 $w_a$ 、 $w_b$ 、 $w_c$ 、 $w_d$ 、 $w_f$ 、 $w_{da}$ 、 $w_{ru}$  和  $w_{sb}$ ,取各组分含量之和即为试样中甜菊糖苷含量。

## A.4 甲醇和乙醇的测定

### A.4.1 试剂和材料

A.4.1.1 甲醇:色谱纯。

A.4.1.2 乙醇:色谱纯。

A.4.1.3 水:一级水。

### A.4.2 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.4.3 参考色谱条件

A.4.3.1 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  $\mu$ m),或其他等效的色谱柱。

A.4.3.2 载气:氮气(纯度 $\geq$ 99.99%)。

A.4.3.3 载气流量:5.0 mL/min。

A.4.3.4 柱温:40  $^{\circ}$ C 保持 5 min,以 10  $^{\circ}$ C/min 升温至 120  $^{\circ}$ C,保持 2 min,最后以 16  $^{\circ}$ C/min 升温至 200  $^{\circ}$ C,保持 5 min。

A.4.3.5 进样口温度:200  $^{\circ}$ C。

A.4.3.6 检测器温度:250  $^{\circ}$ C。



A.4.3.7 进样体积:1 mL。

A.4.3.8 分流比:1:50。

#### A.4.4 参考顶空条件

A.4.4.1 顶空瓶温度:80 ℃。

A.4.4.2 顶空瓶平衡时间:30 min。

#### A.4.5 分析步骤

##### A.4.5.1 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.4.5.2 标准溶液的制备

###### A.4.5.2.1 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 50 mg/L、20 mg/L、10 mg/L、5 mg/L 和 2.5 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.4.5.2.2 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 750 mg/L、500 mg/L、200 mg/L、100 mg/L 和 50 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.4.5.3 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.4.6 测定

在参考操作条件(A.4.3 和 A.4.4)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.4.7 结果计算

甲醇或乙醇含量  $w$  以毫克每千克(mg/kg)计,按式(A.4)计算:

$$w = \frac{c \times V}{m} \dots\dots\dots (A.4)$$

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);

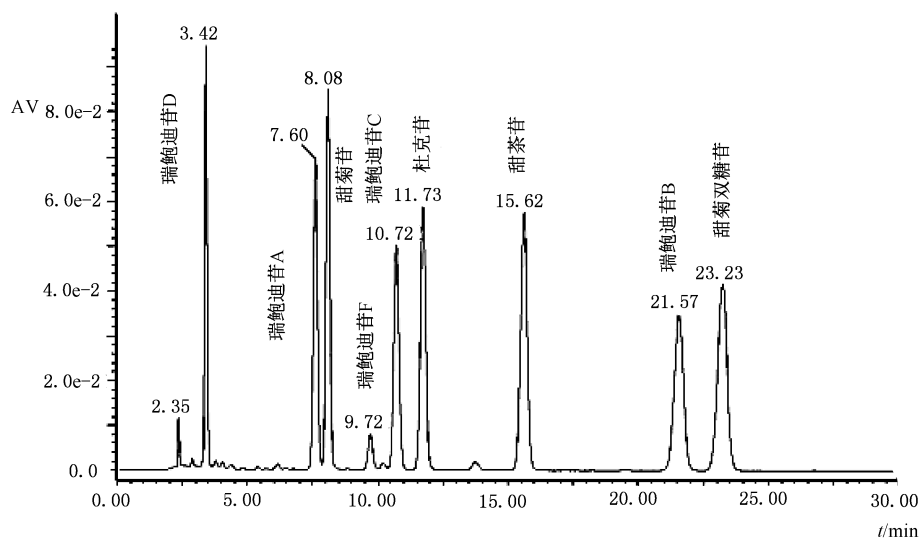
$V$  ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);

$m$  ——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。



注：所测混合标准品溶液中，瑞鲍迪苷 F 的浓度约为 0.1 mg/mL，其余组分的浓度为 0.5 mg/mL。

图 B.1 混合标准品溶液参考色谱示意图