

液相色谱法测定风味饮料中甜蜜素含量

苏建国

淮安市产品质量监督检验所 (淮安223001)

摘要 建立了高效液相色谱法测定风味饮料中甜蜜素检测技术。实验采用次氯酸衍生, AQ-C18色谱柱(250mm×4.6mm, Ultimate)分离, 以0.02 mol/L的乙酸铵和甲醇(90:10)为流动相, 流速为1.0 mL/min, 柱温25℃, 二极管阵列检测器在波长314 nm进行检测。整个分离过程在7 min内完成。甜蜜素的回收率为99.6%~100.4%, 相对标准偏差小于0.73%。方法快速准确。

关键词 液相色谱法; 甜蜜素; 风味饮料

Determination of Sodium Cyclamate in Flavored-Beverage by HPLC

Su Jian-guo

Huai An Institute of Supervision and Inspection on Product Quality (Huai'an 223001)

Abstract A HPLC method is proposed for the determination of flavored-beverage, use hypochlorous acid derivative. The separation was achieved within 7 min by using a AQ-C18 column (250mm×4.6mm, Ultimate) with 0.02 mol/L NH₄Ac-methanol (90:10) as mobile phase and column temperature was 25℃, lastly detected at 314nm through a photo-diode array detector. The average recoveries for real samples ranged from 99.6%~100.4%. The relative standard deviation is less than 0.73%. The method is rapid and accurate.

Keywords HPLC; sodium cyclamate; flavored-beverage

一些风味饮料(即果味饮料)存在超量或滥用食品添加剂的现象, 甜蜜素超标现象在一些劣质的风味饮料中屡见不鲜。甜蜜素^[1]是一种常用甜味剂, 化学名称为环己基氨基磺酸钠。风味较自然, 后苦不明显, 热稳定性高, 是不被人体吸收的低热能甜味剂。目前, 检测甜蜜素的方法普遍采用气相色谱法, 亚硝酸衍生法^[2], 前处理时间较长, 至少需要30 min, 而

本实验方法研究次氯酸衍生, 液相色谱测定风味饮料, 前处理时间只需要10 min, 大大节约分析时间, 且结果准确。

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

VARIAN ProStar 335 液相色谱仪: 美国瓦里安公司; 检测器: 二极管阵列检测器(DAD); 色谱柱:

茶等茶叶中儿茶素类物质简便、实用, 可以推广运用在各种茶叶中儿茶素的测定。同时通过测定发现, 没食子儿茶素(EGC)和表儿茶素(EC)可以在茶汤中被检测出来, 而表儿茶素没食子酸酯(ECG)和表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)则检测不到可能是因为试验中直接用茶汤检测, 待测物浓度太低, 可考虑在前处理中浓缩被测样品来达到检测限。尽管如此, 从没食子儿茶素(EGC)和表儿茶素(EC)在茶叶中的含量可以看出绿茶都普遍含量高于红茶和半发酵茶。所以绿茶在对这些物质的开发利用上更有积极意义。不同品种的茶叶香气特征各不相同, 可以被电子鼻区分出来, 此法不仅可用于品种判别, 还能在保质期研究以及品种优化等方向发挥作用。

参考文献

- [1]袁自春, 戴海燕. 茶的发展及其功用研究进展浅探[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2006(1): 31-33.
[2]刘清新, 王小艺. 茶皂素含量的分析[J]. 茶叶, 2000, 26(2):

81-88.

[3]刘晶晶, 高荫榆. 茶皂素提取与纯化的工艺探讨[J]. 食品科技, 2005(3): 59-61.

[4]谢笔钧. 绿茶乌龙茶红茶中的主要组分和酚类化合物抑制脂肪氧合酶活性和抗油脂自动氧化特性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1994, 12(4):19-26.

[5]Hivoshi Hovita. Proceedings of tea polyphenol[J]. International Symposium on Tea Science, 1991, (8):26-29.

[6]Alaa S. Amin. Utilization of Tetrazolium Blue for the Colorimetric Assay of Tannins in Tea. Mikrochim. Acta, 1997, 126:105-108.

[7]李运涛, 赵艳娜. 茶皂素提取工艺的研究[J]. 陕西科技大学学报, 2005, Vol23(4): 41-43.

[8]汪小钢. 超临界CO₂提取茶叶中咖啡碱[J]. 茶叶科学, 1998, 18(1):65-69.

[9]谭新东, 肖纯. 茶树各部分茶皂素含量的测定和比较分析[J]. 茶业通报, 2001, 23(1). 25-27.

C18 4.6×250 mm; 甲醇为色谱纯, 其余试剂均为分析纯, 试验用水电导率 $\leq 5 \mu\text{s}/\text{cm}$ 。

1.2 色谱条件

流动相为0.02 mol/L的乙酸铵-甲醇(90:10), 流速1.0 mL/min; 柱温25℃; 进样量为20 μL ; 紫外波长扫描范围190 nm~400 nm。以保留时间和紫外吸收谱图定性, 峰面积定量。

1.3 标准曲线的绘制

1.3.1 甜蜜素储备溶液

称取10.0000 g甜蜜素(含量 $\geq 99.0\%$), 加水溶解并定容至1 000 mL, 此溶液浓度为10.00 mg/mL, 为储备液。置于4℃的冰箱中。本次试验溶液浓度为: 10.0 mg/mL。

1.3.2 甜蜜素标准曲线配置

取1.3.1储备液10 mL, 加水定容至100 mL, 混匀, 为使用液, 浓度为1.000 0 mg/mL。分别吸取1.000 0 mg/mL标准溶液1 mL、3 mL、5 mL、10 mL、20 mL、50 mL于6支125 mL分液漏斗中, 分别吸取10 mL各浓度点至125 mL分液漏斗中, 加入2 mL 1:1硫酸和10 mL正己烷, 再加入1 mL 1:1次氯酸钠溶液, 剧烈摇动1 min, 静置分层, 弃下层水层。再于正己烷层中加入5%碳酸氢钠溶液25 mL, 摇动1 min, 弃下层水层。上层正己烷供高效液相色谱测定。

1.4 试样制备

准确称取20 g~50 g样品于100 mL烧杯中, 再转移至125 mL分液漏斗中, 样品处理过程同1.3.2 标样衍生化处理方法。

2 结果与讨论

2.1 波长选择

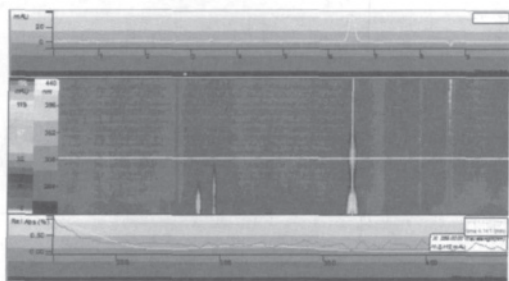


图1 甜蜜素衍生物N, N二氯环己胺光谱扫描图

通过对甜蜜素衍生物N, N二氯环己胺波长扫描, 其最大吸收波长为314 nm。光谱图见图1。

2.2 流动相的选择

通过试验比较甲醇和水作为流动相与甲醇和乙酸铵水溶液作为流动相比比例为95:5、90:10和80:20时, 其分离情况是基本相同的, 考虑到实验室中甲醇和乙酸铵水溶液作为流动相是经常用的, 比如检测糖精钠、安赛蜜、苯甲酸、山梨酸等, 故本实验选择甲醇和乙酸铵水溶液作为流动相。从实验可以看出, 甲醇:乙酸铵水溶液为95:5时, 虽然时间较短, 但基

线噪声较大且倒峰离甜蜜素较近, 影响积分。甲醇:水溶液为80:20时, 时间较长, 达不到快速测定的效果, 故选择甲醇:乙酸铵水溶液为90:10。

甜蜜素HPLC标准谱图见图2。

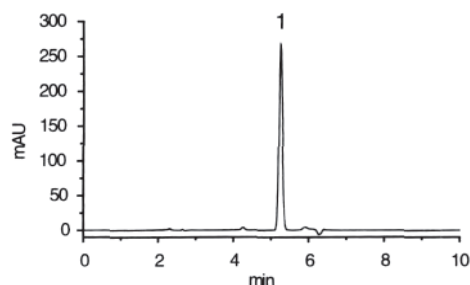


图2 甜蜜素HPLC图谱

1-N, N二氯环己胺(甜蜜素衍生物)

2.3 线性范围

按所选择的色谱条件进样不同质量浓度的标准溶液20 μL , 获得不同质量浓度下各组分的峰面积, 以质量浓度和峰面积绘制标准曲线。标准曲线见图3。

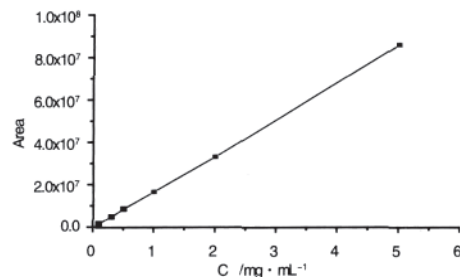


图3 甜蜜素标准曲线

通过实验, 甜蜜素线性范围为0.1 mg/mL~5.0 mg/mL, 相关系数 $r=0.999\ 57$, 方程: $\text{Area}=0.07 \times \text{amt}+1.728\ 9e$ 。

2.3.2 分析方法的准确度的测定

实验室配置一定数量不含甜蜜素的风味饮料, 作为加标回收试验的试样。称取5份一定量的试样, 用移液管分别加入1.000 0 mg/mL标准溶液1、3、5、10、20 mL, 按上述样品前处理和液相色谱操作条件测定甜蜜素回收率, 结果都在99.6%~100.4%之间。准确度试验数据见表1。

表1 甜蜜素的加标回收测定值

样品质量/g	20.06	20.12	20.98	20.57	20.66
甜蜜素加入量/mg	1.0000	3.0000	5.0000	10.0000	20.0000
实际测得量/mg	1.0015	2.9869	5.0213	10.0017	19.9543

2.3.3 分析方法的精密度的测定

选取经过测定含有甜蜜素的风味饮料, 从同一产品中称取五个试样。按样品衍生方法进行处理后, 按上述液相色谱操作条件测定甜蜜素含量, 得到标准偏差为0.0033, 变异系数(RSD)为0.7339%。精密度试验数据见表2。

多重PCR法检测食品中的榛子致敏原

王守法¹, 巢强国^{2*}, 葛宇², 柯燕娜¹

1. 华东理工大学(上海 200237); 2. 上海市质量监督检验技术研究院(上海 200233)

摘要 建立一种多重PCR法同时检测榛子磷酸葡萄糖异构酶、榛子致敏蛋白Cor a 1和Cor a 8三种蛋白的方法。通过琼脂糖凝胶电泳和凝胶成像系统对多重PCR的扩增结果进行分析。结果表明此方法具有良好的特异性, 检出限可达10 ng/μL, 且反应体系各组分未出现交叉干扰。经测序结果证实, 三种扩增产物的序列与目的基因的序列高度一致, 而且此方法的实样检测结果也比较理想, 适合于检测食品中的榛子成分及榛子的主要致敏原。

关键词 榛子; 磷酸葡萄糖异构酶; Cor a 1; Cor a 8; 多重PCR

Using Multiple PCR to Detect Hazelnut Allergens in Food

Wang Shou-fa¹, Chao Qiang-guo^{2*}, Ge Yu², Ke Yan-na¹

1. East China University of Science and Technology (Shanghai 200237); 2. Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research (Shanghai 200233)

Abstract A suitable multiple PCR method was developed for the detection of hazelnut cytosolic phosphoglucose isomerase, hazelnut major allergen Cor a 1 and Cor a 8. The results of multiple PCR were analyzed by agarose gel electrophoresis and Gel Doc XR system. With this method, the specific turned out to be very good and the detection limit could reach 10 ng/μL, besides this, the components of reaction system didn't show cross interference. Confirmed by the results of sequencing, the three PCR products showed high consistent with the target gene, and the result of real samples detection were also very good. This method is suitable for detection of the component of hazelnut and the main allergens of hazelnut.

Keywords hazelnut; corylus heterophylla; cytosolic phosphoglucose isomerase; Cor a 1; Cor a 8; multiple PCR

通常人们把对食物产生的不良免疫反应称为食物过敏^[1]。据统计, 在西方国家有大约3%~4%的成人和5%的儿童会对食物产生不良免疫反应^[2]。由食物引起的过敏反应是导致各种不良免疫反应的主要因素, 这些不良反应包括IgE介导和非IgE介导(细胞水平的)的机制, 如皮肤、肠胃和呼吸道的不适症状和疾病^[3]。观察发现, 食物过敏是难以诊断的, 即食物特异性的IgE(敏感检测)并不一定在临床上显示过敏。目前, 对食物过敏的控制主要是提醒病人避免摄入相关的致敏原, 及在误食致敏原后进行紧急治疗(如注射肾上腺素)。正在研究或改进的治疗方法包括口服免疫疗法、中草药疗法、抗IgE抗体研制和疫苗改造^[4]。

最近的流行病学研究表明, 近4%的美国人都患

有食物过敏症, 其严重程度远高于过去所认为的水平。此外, 5岁以下儿童对花生过敏的发病率在过去的5年里翻了一番^[5]。尽管科学家们一直在尝试, 却始终没有找到能够彻底治愈或者避免这类过敏反应的有效方法。当前, 阻止过敏症患者接触致敏原并建立有效的致敏原检测方法是目前控制食物过敏的良好方法^[6]。

1 实验部分

1.1 材料与仪器

材料: 榛子、腰果、松子、山核桃、澳洲坚果、香榧、西瓜子、葵花籽、大麦、核桃、黑芝麻、白芝麻、燕麦、玉米等十几种样品及四种深加工标注含有榛子的市场样品。所有样品均购自当地超市及大卖

表2 甜蜜素的含量测定值

样品质量/g	20.19	20.81	20.22	20.20	20.43
样品中甜蜜素含量/g·kg ⁻¹	0.4523	0.4500	0.4549	0.4487	0.4463

2.3.4 分析方法检测限的测定

把甜蜜素标准系列的最小浓度溶液逐步稀释, 衍生处理后进样分析, 以检测结果中色谱峰高为噪声高

3倍(S/N=3)相对应的浓度为检出限, 方法检测限为0.2 mg/kg。

3 结论

本法可准确、快速地测定风味饮料中甜蜜素含量, 精密度和准确度高, 方法能够满足实际工作的需要。

参考文献

- [1]GB2760-2007食品添加剂使用卫生标准[S].
[2]GB/T5009.97-2003食品中环己基氨基磺酸钠的测定[S].

*通讯作者