

氨基酸分析仪测定含乳饮料中 游离甘氨酸的方法研究

冯志强¹, 周兴起¹, 庄俊钰²

(1. 广东省食品质量监督检验站, 广东 广州 510308) (2. 广东省食品工业公共实验室, 广东 广州 510308)

摘要: 本文用氨基酸分析仪测定含乳饮料中游离甘氨酸含量, 研究了样品预处理方法和仪器色谱分离条件。测得含乳饮料中游离甘氨酸的含量, 从而对含乳饮料中是否添加甘氨酸进行分析, 此方法具有较好的重现性, 添加标准的回收率为 98.8%~101.7%, 方法精密密度为 0.53%。

关键词: 甘氨酸; 氨基酸分析仪; 含乳饮料

中图分类号: TS252.7; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)07-0089-03

Study on the Amino Acids Analysis Direct System for Determining the Content of Free-Glycin in Dairy Drinks

FENG Zhi-qiang¹, ZHOU Xing-qi¹, ZHUANG Jun-yu²

(1. Guangdong Food Quality Supervision and Inspection Station, Guangzhou 510308, China)

(2. Guangdong Provincial Public Laboratory of Food Industry, Guangzhou 510308, China)

Abstract: The amino acid analysis direct system was used to test the free-glycin in dairy drinks, and the methods for sample pretreatment and chromatographic parameters were studied in this paper. The test results were to analysis whether the dairy drinks had free-glycin added. The method is convenient, accurate and practical, the recovery rate was 98.8%~101.7%, RSD was 0.53%.

Key words: free-glycin; amino-acid analyzer; dairy drinks

甘氨酸 (Glycin, Gly) 又名氨基乙酸, 分子式为 $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$, 是结构最简单的氨基酸, 外观为白色结晶或结晶性粉末, 相对密度 1.1607, 熔点 232~236 °C (产生气体并分解), 易溶于水, 极难溶于乙醇, 不溶于丙酮、乙醚等有机溶剂^[1,2]。在食品加工中甘氨酸可用作食品的防腐剂, 延长其保质期; 在含酒精饮料和动植物食品的加工中, 则可作为调味剂、甜味剂、增香剂、营养增补剂。此外, 在甜酱、酱油、醋、果汁中添加甘氨酸, 可达到改善食品的风味和增加食品营养的目的^[3]。

目前测定氨基酸的方法主要有纸色谱法、离子交换色谱法、反相高效液相色谱法、毛细管电泳法、薄层色谱法、气相色谱法等^[4]。由于含乳饮料中所添加的甘氨酸是以游离状态存在, 因此判断含乳饮料中是否添加了甘氨酸, 不宜将蛋白质水解后测定甘氨酸的含量^[5]。根据美国 FDA 关于食品添加剂使用范围及限量的有关规定^[6], 甘氨酸作为特殊膳食和营养添加剂

可添加在所有食品中, 但添加后食品中最终的甘氨酸总量 (以游离甘氨酸计) 应小于或等于总蛋白质质量的 3.5%。本文采用氨基酸分析仪法, 样品前处理简单, 可对氨基酸直接进行分析。作者利用日立 835-50 型氨基酸自动分析仪, 研究了含乳饮料中的游离甘氨酸含量的测定分析, 并对方法进行了验证, 获得了满意的分析结果。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

氨基酸分析仪: 日立 835-50 型高效氨基酸自动分析仪, 连有自动数据处理机和记录仪、自动进样装置、梯度洗脱系统等。

高速离心机: TGL-16C 型高速台式离心机 (上海安亭科学仪器厂)。

甘氨酸标准溶液: 准确称取 100 mg 甘氨酸标准品于 100 mL 容量瓶中, 用 0.02 mol/L 的盐酸溶解, 定容到刻度。

8% (m/v) 磺基水杨酸溶液: 准确称取 8 g 磺基

收稿日期: 2007-05-24

作者简介: 冯志强 (1967-), 工程师, 研究方向为食品检验

水杨酸于 100 mL 容量瓶中,加水溶解,定容。

茚三酮显色剂:将 26.67 g 茚三酮溶于 1000 mL 乙二醇甲醚中,加入 333.33 mL 醋酸缓冲液,再加入 2.3 mL 三氯化钛,低温保存。

1.2 色谱条件

分离柱:26 mm i.d×150 mm 不锈钢柱;交换树脂型号:No.2619(日本公司生产的氨基酸分析专用树脂);柱温:53℃;泵流速:0.225 mL/min;泵压力:8.8 MPa;进样体积:50 μL。

1.3 样品的处理

准确称取 2 g 含乳饮料于 100 mL 容量瓶中,加入等量的 8%磺基水杨酸溶液,摇匀使蛋白质沉淀后用 0.02 mol/L 的 HCl 溶液定容到刻度,高速离心(1000 r/min) 2 min,取 1 mL 上清液,用 0.02 mol/L 的 HCl 溶液稀释定容到 10 mL,用 0.65 μm 滤膜超滤,上机分析。

2 结果与讨论

2.1 试样的前处理和色谱条件的选择

样品的前处理方法在氨基酸分析中具有重要的地位,由于甘氨酸是一种非蛋白的游离氨基酸,故可采用测游离氨基酸的样品预处理方法—蛋白质沉淀法。在几种处理方法中由于磺基水杨酸与茚三酮不反应,处理时不必除去而可直接上机。与其它方法相比,此法操作简便,因而应用最广泛。用 8%的磺基水杨酸溶液沉淀样品中的蛋白质,酸度适中,可完全沉淀样品中蛋白质,过滤后,取滤液直接上机测定^[7]。经氨基酸分析仪色谱柱的分离证明,用磺基水杨酸溶液沉淀蛋白后的含乳饮料滤液,已基本消除了蛋白质大分子的干扰。甘氨酸在仪器分离的色谱条件下很好地与其它氨基酸分开,达到色谱分析的最佳分离状态。

甘氨酸与大多数蛋白质氨基酸一样,具有与茚三酮发生显色反应,生成蓝紫色化合物的化学特性。因此,采用与分析蛋白质氨基酸相似的色谱条件,对甘氨酸进行分离,并通过反复的条件实验建立了适合于单独分析甘氨酸的色谱条件。

2.2 标准曲线绘制

精确吸取甘氨酸标准溶液 0 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 分别加入到 100 mL 容量瓶中,用水稀释到刻度,进氨基酸分析仪分析,以峰面积和浓度绘制标准曲线如图 1。由图 1 可知:线性回归方程 $y=477.1x-20.939$; 相关系数: $R^2=0.9998$ 。甘氨酸标准液进行氨基酸分析仪分析,其在所测范围内呈很好的线性关系,并根据信噪比 $S/N=3$,计算出最

低检测浓度为 0.1 mg/L,可以作为定量分析的标准曲线。

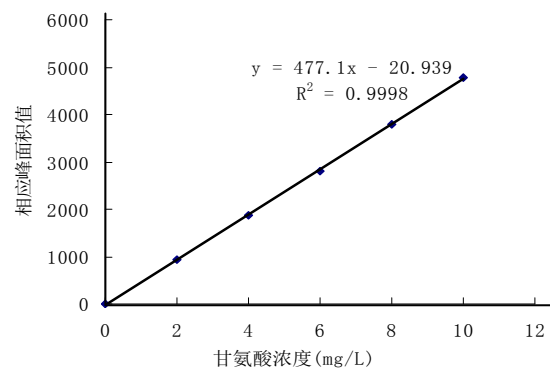


图 1 甘氨酸标准曲线

Fig.1 The standard curve of Glycine

2.3 加标回收率

采用加标法测定回收率。分别精确称取已知甘氨酸含量的乳饮料样品 2.215 g,分成三组,每组 2 份,各组分别精密加入甘氨酸标准 200 mg、400 mg、600 mg,按样品前处理和测定方法测得甘氨酸含量,并计算回收率,实验结果见表 1。由表 1 可以看出,回收率为 98.8%~101.7%,平均回收率为 100.3%。

表 1 回收率测定结果

Table 1 Results of recovery

编号	加入量/mg	检测值/mg	回收率/%	平均回收率/%
1	200	201.29	100.6	100.3
2	200	198.71	99.4	
3	400	395.29	98.8	
4	400	400.21	100.0	
5	600	606.90	101.2	
6	600	610.18	101.7	

2.4 精密度试验

为了考察方法的重复性,对同一样品进行 6 次平行独立测定,由表 2 可知,RSD 为 0.53%。

表 2 精密度实验

Table 2 The results of the precision test

编号	测定值(mg/L)	RSD/%
1	4899	0.53
2	4923	
3	4935	
4	4966	
5	4966	
6	4946	

2.5 样品的检测与分析

分别取 15 份市售不同的含乳饮料,按上述样品处理方法进行处理后进样,测定不同样品中游离甘氨酸的含量。同时按照 GB/T 5009.5-2003^[8]的方法测定每份样品中蛋白质的含量,对两者的含量进行比较,结果见表 3。

表 3 样品测试分析结果
Table 3 Results of analysis of sample

样品编号	蛋白质含量 (g/100 mL)	游离甘氨酸含 量/(g/100 mL)	游离甘氨酸与蛋 白质的比值/%
1	1.18	$<1 \times 10^{-5}$	0
2	1.10	0.0018	0.16
3	1.16	0.0021	0.18
4	1.10	0.12	10.9
5	1.02	$<1 \times 10^{-5}$	0
6	1.00	$<1 \times 10^{-5}$	0
7	1.05	$<1 \times 10^{-5}$	0
8	1.00	$<1 \times 10^{-5}$	0
9	1.14	$<1 \times 10^{-5}$	0
10	1.05	$<1 \times 10^{-5}$	0
11	1.13	0.33	29.2
12	1.04	$<1 \times 10^{-5}$	0
13	1.08	$<1 \times 10^{-5}$	0
14	1.09	$<1 \times 10^{-5}$	0
15	1.12	0.0046	0.41

结果表明,4号(色谱图见图2、图3)、11号游离甘氨酸含量与蛋白质含量的比值,均大于FDA规定的3.5%的标准,可以判定为阳性样品,2号、3号和15号样品中的游离甘氨酸含量与蛋白质含量的比值很低,可能是使用的原料牛乳或乳粉中带入了少量的游离甘氨酸。

3 结论

利用氨基酸分析仪法能准确地测定含乳饮料中游离甘氨酸的含量,该方法样品处理简便易操作,可以对甘氨酸直接进行分析,避免了衍生产物的多样性,而且无需判断降解物的来源,也不涉及样品中氨基酸衍生不彻底等问题,能快速、准确地判断含乳饮料中是否添加了游离甘氨酸。

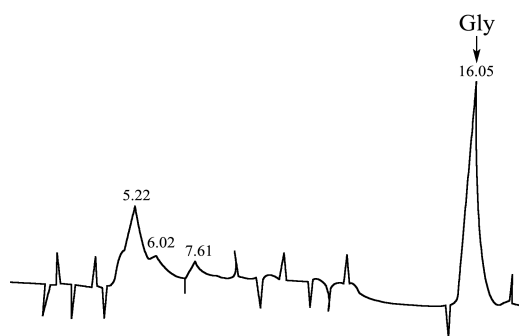


图2 甘氨酸标准品色谱图

Fig.2 Chromatogram of glycine standard

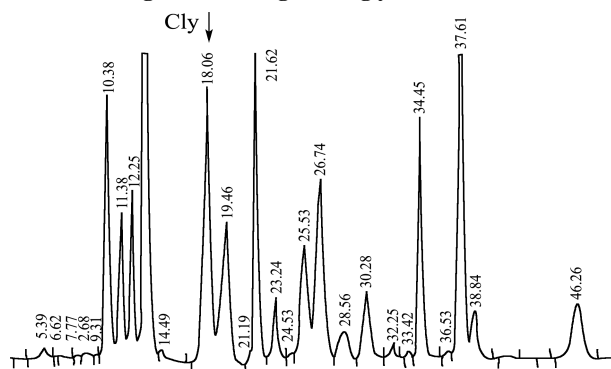


图3 甘氨酸标准品与样品4的色谱图

Fig.3 Chromatogram of sample 4

参考文献

- [1] 杨华,王光裕.甘氨酸应用、生产发展概况[J].化工生产技术,1996,(3):38-40
- [2] 凌关庭,唐述潮,陶民强.食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,2003
- [3] 宋秀梅,尹秋响,王静康.甘氨酸的应用及生产技术[J].氨基酸与生物资源,2003,25(2):55-60
- [4] 戴红,张宗才,张新申.氨基酸分析的检测方法评述[J].皮革科学与工程,2004,14(3):39-43
- [5] 宁啸骏,张燕琴.高效液相色谱法测定含乳饮料中游离甘氨酸的方法研究[J].食品与发酵工业,2006,32(11):136-138
- [6] 丁汉东.主要贸易国家和地区食品添加剂法规标准汇编[M].广州:广东科技出版社,2006
- [7] 吴显荣,邱开义,李建凡,等.氨基酸分析技术(上)[M].北京:北京理化分析测试技术学会,1984
- [8] 中华人民共和国国家标准.食品卫生检验方法:理化部分(一)GB/T 5009.5-2003,食品中蛋白质的测定