

配制酒中三氯蔗糖检测方法的改进

龙飞¹, 丁怡¹, 龙焰君²

(1. 广州市酒类检测中心, 广东广州 510160) (2. 广州市药品检验所, 广东广州 510160)

摘要: 本文应用 HPLC-DAD 和 HPLC-RID 两种方法对配制酒中的三氯蔗糖进行检测研究, 分别从重复性、准确性和检出限方面与国标 HPLC-ELSD 方法进行比较, 发现两种方法均可替代国标方法, 检出限分别为 6.0 mg/L 和 1.7 mg/L, 从而为以后的检测工作提供不同的方法。

关键词: 三氯蔗糖; 二极管阵列检测器; 示差折光检测器

文章编号: 1673-9078(2012)4-480-482

Study of methods for Sucralose Determination in Wine

LONG Fei¹, DING Yi¹, LONG Yan-jun²

(1. Guangzhou Wine Analytical Centre, Guangzhou 510160, China)

(2. Guangzhou Institute for Drug Control, Guangzhou 510160, China)

Abstract: In this paper, two methods based on HPLC-DAD and HPLC-RID was tested for detection of sucralose in wine. The repeatability, accuracy and detection limits of the two method were compared with HPLC-ELSD in national standard. It was found that the two methods can be used as alternative to national standard. The detection limits of the two methods were 6.0 mg/L and 1.7 mg/L, respectively.

Key word: sucralose; DAD; RID

三氯蔗糖 (sucralose) 是一种安全的, 无热量的甜味剂, 其甜度约为蔗糖的 600 倍^[1-3]。它是一种新型非营养性甜味剂^[4,5], 它不参与人体新陈代谢, 不会引起肥胖及血糖波动^[6]。在高温条件下 (121 °C), 其甜度可保持不变; 在水溶液中, 常温下, 可以贮藏一年以上而不发生任何变化^[7]。

由于具有多种优势, 三氯蔗糖作为一种甜味剂已经被广泛应用在食品范围内, 各类配制酒也开始采用三氯蔗糖作为甜味添加剂。但三氯蔗糖毕竟不是天然成分, 就目前的安全性评价来看, 在规定的剂量范围内使用可能对人无害, 但若超量使用, 仍可能引起各种形式的毒性表现。因此为了避免非法添加和超量添加, 必须加强对三氯蔗糖的含量控制。

对于三氯蔗糖的检测, 国标 GB/T 22255-2008 采用 HPLC-ELSD 的方法, 在取样 5 g, 定容体积为 5 mL, 进样 20 μ L 时, 其检出限为 4 mg/kg, 定量限为 14 mg/kg, 而线性范围为 0.100~0.8 mg/mL^[8]; 赵海凉等用 HPLC-DAD 法测定食品中的三氯蔗糖, 取样 5 g, 定容体积为 5 mL, 进样 20 μ L 时, 其检出限为 15 mg/kg^[9]; 周维义等、张莉与马思娜等分别用不同品牌的 HPLC-RID 对食品中的三氯蔗糖进行测定, 其检出限均低于 HPLC-DAD 和 HPLC-ELSD^[10-13]; 而美国药典 (USP) 也采用 HPLC-RID 的方法^[14]。鉴于不同的

实验室所配备的检测仪器不同, 故考虑用 HPLC-DAD 和 HPLC-RID 两种方法与国标方法比较, 希望使用不同检测器也可以达到同样的检测效果。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂

市售配制酒模拟样品, 市售酒+少量三氯蔗糖。

乙腈, 色谱纯, 美国 Honeywell 公司; 三氯蔗糖标准品 ($\geq 98\%$), Aladdin 公司; 蒸馏水, 经 Millipore 纯水器过滤。

1.2 仪器与设备

Waters 液相色谱仪, 美国 Waters 公司; DAD 检测器, 美国 Waters 公司; RID 检测器, 美国 Waters 公司; Luna C18 色谱柱 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m), 美国 Phenomenex 公司; Elix, Milli-Q 纯水机, 美国 Millipore 公司; 天平; 水浴锅。

1.3 色谱条件

1.3.1 HPLC-DAD

Luna C18 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流动相: 乙腈+水=12+88 (V/V); 流速: 1.0 mL/min; 柱温: 35 °C; 进样体积: 20 μ L; Waters2998 DAD 检测器。

1.3.2 HPLC-RID

Luna C18 (4.6 mm \times 150 mm, 5 μ m) 色谱柱; 流

收稿日期: 2011-12-19

动相: 乙腈+水=20+80 (V/V); 流速: 1.0 mL/min;
柱温: 35 °C; 进样体积: 20 μL; Waters2414 RID 检测器, 检测池温度 35 °C, 敏感度: 64。

1.4 方法

1.4.1 标准溶液的配制

精密称取三氯蔗糖标准品约 52.10 mg, 用 20%乙腈溶解, 转移至 25 mL 容量瓶中, 用 20%乙腈定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 2.084 mg/mL 的标准溶液。

1.4.2 回收率标准溶液的配制

精密称取三氯蔗糖标准品 12.54 mg, 用 20%乙腈溶解, 转移至 25 mL 容量瓶中, 用 20%乙腈定容至刻度, 摇匀, 即得浓度为 0.5016 mg/mL 的回收率标准溶液。

1.4.3 样品处理

精密吸取青梅酒样品 10 mL, 沸水浴加热至干, 精密加入 20%乙腈 1 mL, 充分溶解残渣, 取上清液进样。

1.4.4 测定

在上述色谱条件下, 待仪器基线稳定后, 分别注入标准溶液和样品溶液 20 μL 于液相色谱仪中, 记录峰面积, 根据标准品的保留时间定性, 外标法定量。

标样在两种方法下的色谱图见图 1 至图 2。

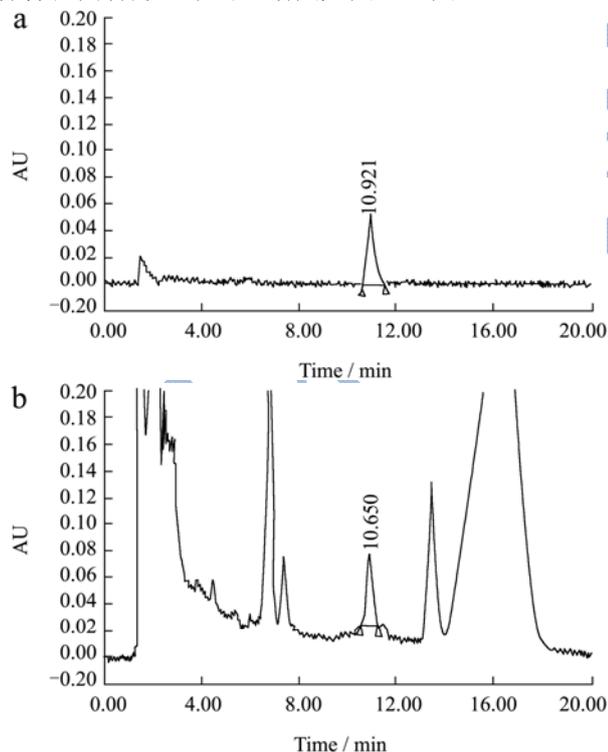


图1 三氯蔗糖色谱图 (DAD 检测器)

Fig.1 HPLC Chromatogram of sucralose (with DAD detector)

注: a-进样 10 μg 三氯蔗糖标准品图谱; b-添加标准品的样品图谱。

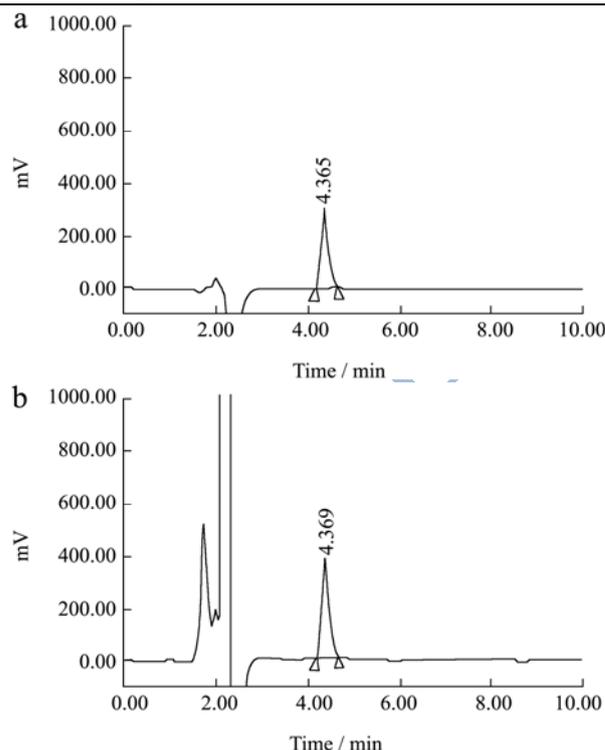


图2 三氯蔗糖色谱图 (RID 检测器)

Fig.2 HPLC Chromatogram of sucralose (with RID detector)

注: a-进样 10 μg 三氯蔗糖标准品图谱; b-添加标准品的样品图谱。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件的选择

HPLC-RID: 按照 USP 检测三氯蔗糖的方法, 其流动相的组成是乙腈:水=15:85, 但实验中发现峰形不好, 提高流动相中乙腈的比例到 20%, 出峰时间提前到 4.5 min 左右, 峰形较好, 且没有其他物质干扰, 故 RID 检测器的流动相比例确定为乙腈:水=20:80。

HPLC-DAD: 由于三氯蔗糖在 190~300 nm 下光谱吸收递减, 没有明显的特征光谱, 所以 DAD 检测器只能以 190 nm 的最大吸收来检测。当用 20%乙腈进行分离时, 三氯蔗糖很快出峰, 不能很好的分离, 调整为 10%乙腈时, 虽然分离度达到要求, 但峰宽较大, 灵敏度较低, 于是调整乙腈的比例为 12%, 此时出峰较好, 故 DAD 检测器的流动相比比例确定为乙腈:水=12:88。

2.2 线性范围的确定:

分别吸取 1.4.1 下的标准溶液 1、2、3、4、6、8、10 mL 至 10 mL 容量瓶中, 用 20%乙腈定容至刻度。然后分别进样 20 μL, 测定峰面积, 用进样量和峰面积进行回归分析。

经测定和计算, DAD 和 RID 两种检测方法在进样 1~10 μg 范围内峰面积和进样量呈线性, 回归方程

分别为： $y=242825x+13383$ ， $R=0.9998$ （ $n=7$ ）； $y=733453x-45929$ ， $R=1$ （ $n=7$ ）。

2.3 方法的重复性

平行取样品 6 份，按前述方法处理，测定含量，计算相对标准偏差。

经测定和计算，DAD 和 RID 两种方法检测出同一样品中三氯蔗糖的含量分别为：0.17 mg/mL 和 0.18 mg/mL，进样 6 次的 RSD 分别为 0.22% 和 0.35%，说明两种方法的重复性均较好。

2.4 方法的回收率

精密吸取 5 mL 样品溶液 9 份，然后分别加入 1.4.2 回收率标准品 1、2、3 mL，按前述方法处理，测定峰面积，并计算回收率。

经检测和计算，DAD 检测结果低中高浓度三氯蔗糖的回收率分别是 96.2%、102.1%、100.0%，平均 99.5%， $RSD=2.92\%$ ；RID 检测结果低中高浓度三氯蔗糖的回收率分别是 100.3%、103.6%、98.1%，平均 100.6%， $RSD=2.39\%$ ，表明两种方法的准确性均较好。

2.5 方法的检出限

取空白样品 10 mL，然后精密加入 1.4.1 三氯蔗糖标准溶液稀释 10 倍后的稀释液 0.25、0.5、1、2、3 mL、4、5、6、8 mL，按前述方法处理后，测定峰面积，用进样量和峰面积进行回归分析。得到 HPLC-DAD 和 HPLC-RID 的加标样品曲线分别为 $y=8739.3x-1017.8$ ， $R=0.9997$ （ $n=7$ ）； $y=23091x-2176.5$ ， $R=0.9998$ （ $n=7$ ）。

通过不断稀释，DAD 检测条件下进样的最低响应值为 10865，而 RID 检测条件下进样的最低响应值为 7568。根据方法检出限的计算方法，用最低响应值比上加标样品标准曲线的斜率，就得到两种方法的最低检出限为：1.2 μg 和 0.33 μg 。即在取样 10 mL，最后定容体积为 1 mL，进样 20 μL 时，最低检出浓度为：6.0 mg/L 和 1.7 mg/L。

3 结论

通过采用 HPLC-DAD 和 HPLC-RID 两种方法对青梅酒中三氯蔗糖的检测方法与国标规定的 HPLC-ELSD 方法比较发现，两种方法均可代替国标

方法对三氯蔗糖进行检测，其检出限均能达到国标要求。对于食品检验实验室，液相色谱上检测器的拥有比例：DAD>RID>ELSD，因此，根据各自的实验条件，可以选择不同的检测器对三氯蔗糖进行分析，均能得到满意的结果。而对于一些较复杂的样品，可能在 190 nm 处存在干扰，可以进一步用 RID 或者 ELSD 来相互进行方法确认。

参考文献

- [1] Staff Report. Future Ingredients~Focus of oviYr Meeting: Properties and applications of Sucralose, Isomah, Crystalline maltitol, and cyclodextrins discussed by company spokesmen. Food Technology, 1998, 10: 60-64
- [2] Richard L B, et al. Stability of sucralose in Baked Goods. Food Technology, 1990, 1: 62-65
- [3] Riaz A, Khan, et al. Process for the preparation of 4,1',6'-trichloro-4,1',6'-trideoxygalactosucrose (TGS). GB2, 079, 749, 1982
- [4] 凌关庭,唐述朝,陶民强.食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,1997
- [5] 陈维钧,卫岩峰.新型甜味剂-1',4,6'-三氯-1',4,6'-三脱氧半乳型蔗糖的研制[J].食品与发酵工业,1991,3:66-68
- [6] Hargreaves J A, Grenby T H. Food frequency and dental caries in Canadian children [J]. Caries Res, 1981, 15: 205-208
- [7] 康维民.三氯蔗糖的特性及在食品加工中的应用[J].中国食品添加剂,2002,2:78-80
- [8] GB/T 22255-2008,食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定
- [9] 甘宾宾,汤艳荣,梁川.HPLC 法测定食品中的三氯蔗糖[J].化工技术与开发,2008,8:31-32
- [10] 赵海凉,战东江,史新斌.HPLC-DAD 法测定食品中的三氯蔗糖[J].广州化工,2009,37(8):172-173
- [11] 周维义,邓小娟.高效液相色谱法分析三氯蔗糖的含量[J].食品科学,2007,28(7):362-361
- [12] 张莉.高效液相色谱法测定饮料中三氯蔗糖的含量[J].中国卫生检验杂志,2007,7(10):1784-1786
- [13] 马思娜,邓垦.高效液相色谱法测定酱油、耗油中三氯蔗糖的含量[J].现代食品科技,2009,25(8):982-984
- [14] 美国药典 USP30-NF25 Page 1229