

高效液相色谱法快速筛查与测定葡萄酒中纽甜

王 齐¹, 朱伟伟^{2,*}, 杨 俊¹

(1.昆明理工大学分析测试研究中心, 云南 昆明 650093; 2.河池学院化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

摘 要: 建立一种高效液相色谱法快速定性筛查与准确定量检测葡萄酒中人工合成甜味剂纽甜的方法。采用Waters Nova-Pak C₁₈反相色谱柱, 以离子对试剂缓冲液:乙腈=60:40(V/V)为流动相, 在218nm波长处, 对样品进行筛查, 纽甜出峰时间约在13.4min; 疑似阳性样品在梯度洗脱条件下进行定量检测, 纽甜出峰时间约在15.9min, 检出限为0.37μg/mL, 平均回收率在99%~101%之间, 相对标准偏差均小于1.0%(n=5)。本方法简便、准确、实用, 在批量样品检测时可节省50%的分析时间。

关键词: 葡萄酒; 纽甜; 高效液相色谱; 定性筛查; 定量测定

Fast Qualitative Analysis and Accurate Quantitative Determination of Neotame in Wine by High Performance Liquid Chromatography

WANG Qi¹, ZHU Wei-wei^{2,*}, YANG Jun¹

(1. Research Center for Analysis and Measurement, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650093, China;
2. Department of Chemistry and Life Science, Hechi University, Yizhou 546300, China)

Abstract: A high performance liquid chromatography (HPLC) method for fast qualitative analysis and accurately quantitative determination of artificial sweetener neotame in wine was developed. Neotame was qualitatively analyzed on a Waters Nova-Pak C₁₈ column with an ultraviolet detector at 218 nm using acetonitrile: ion-pair reagent = 40:60 (V/V) as the mobile phase, and the retention time of neotame was approximately 13.4 min. The contents of neotame in the suspected samples were determined under gradient elution condition, and the retention time of neotame was approximately 15.9 min. The detection limit of the developed method was 0.37 μg/mL, and the mean recovery rate for neotame in blank wine samples with spiked standard was 99%–101% with a relative standard deviation less than 1.0% (n = 5). This method is simple, accurate and practical, and can save 50% time during the analysis of large number of samples.

Key words: wine; neotame; high performance liquid chromatography; fast qualitative analysis; accurately quantitative determination

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)04-0154-03

纽甜(neotame), 化学名称为N-[N-(3,3-二甲基丁基)-L-α-天门冬氨酰]-L-苯丙氨酸-1-甲酯, 分子式为C₂₀H₃₀N₂O₅, 是一种新型功能性甜味剂。纽甜的甜度约为蔗糖的8000~12000倍, 为阿巴斯甜的40倍以上, 甜味纯正, 无其他甜味剂常带的苦味和金属味, 稳定性高, 且价格相对低廉, 故纽甜作为甜味调节剂广泛用于各类食品、饮料和制造业中^[1-2]。

葡萄酒是以鲜葡萄或葡萄汁为原料, 经全部或部分发酵酿制而成的, 含有一定酒精度的发酵酒, 按其含糖量可分为干葡萄酒、半干葡萄酒、半甜葡萄酒和甜葡萄酒。近年来, 大量研究发现葡萄酒因含有丰富的生物酚^[3-4], 而具

有抗氧化、清除自由基等功效^[5-9], 从而受到消费者的青睐。葡萄酒因其产地、原料、工艺及环境的不同, 使得各地出产的葡萄酒中的组成成分与口感截然不同^[10-12]。葡萄酒生产商可能会添加某些甜味剂如纽甜、阿巴斯甜、安赛蜜、糖精钠等, 调节葡萄酒的甜度, 达到各类葡萄酒应有的口感。然而根据GB 15037—2006《葡萄酒》中的规定^[13], 所有葡萄酒中均不得添加甜味剂, 因此对葡萄酒中纽甜等甜味剂进行检测意义重大。食品和饮料中纽甜的测定方法有高效液相色谱法、液相色谱-质谱联用法等^[14-16], 其中高效液相色谱法是最常用的测定方法。GB/T 23378—2009《食品中纽甜的测定方法》^[17]中运用

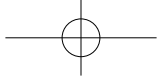
收稿日期: 2012-02-06

基金项目: 云南省科技平台项目(2010DH025); 昆明理工大学分析测试中心主任基金项目(2008001);

河池学院2008年“引进人才科研启动费”项目(2008QS-N012)

作者简介: 王齐(1981—), 男, 工程师, 硕士, 研究方向为天然产物。E-mail: kmuac@163.com

*通信作者: 朱伟伟(1981—), 女, 讲师, 硕士, 研究方向为药物分析。E-mail: zhuww1230@yahoo.com.cn



梯度洗脱的方法能够较好地对复杂样品体系中组甜组分与干扰组分进行分离测定,但是此方法分析时间过长。因此在日常风险监测等大样品量检测中,急需建立一种高效、简便、可靠的分析方法以填补葡萄酒中组甜的测定方法空白。

本实验拟建立一种先用等度比例色谱条件对样品进行定性筛查,然后再用梯度比例色谱条件对阳性疑似葡萄酒样品中组甜含量进行测定的方法。此方法对样品定性筛查的假阳性率小于5%,稳定性好,检出限低,回收率高,能够用于日常大样品量检测,以提高食品安全监测的工作效率。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

组甜标准品 美国USP公司; 辛烷磺酸钠(色谱纯) 美国Tedia天地试剂公司; 磷酸、甲酸(均为分析纯) 天津风船化学试剂有限公司; 三乙胺(分析纯) 天津瑞金特化学试剂有限公司; 乙腈(色谱纯) 江苏汉邦科技有限公司。

1.2 仪器与设备

600四元泵、717plus自动进样器、2487双波长紫外检测器、M32色谱数据处理工作站 美国Waters公司; PHS-3D型精密pH计 上海雷磁仪器厂。

1.3 方法

1.3.1 缓冲液的配制

吸取2.5mL三乙胺溶液,溶解于1000mL蒸馏水中,用稀甲酸调节pH值至4.5。

1.3.2 离子对试剂缓冲液的配制

称取2.00g辛烷磺酸钠,用200mL蒸馏水溶解后,加入1.0mL磷酸溶液,定容至1000mL。

1.3.3 色谱条件

色谱柱: Waters Nova-Pak C₁₈柱(150mm×3.9mm, 5μm); 定性筛选色谱流动相I(isocratic): 离子对试剂缓冲液:乙腈=60:40(V/V); 定量分析流动相G(gradient)梯度比例变化见表1; 流速1.0mL/min; 色谱柱温度30℃; 紫外检测器波长218nm。

表1 梯度洗脱条件
Table 1 Gradient elution conditions

时间/min	初始	8	20	22	24	25	35
离子对试剂缓冲液	65	65	50	0	0	65	65
乙腈	35	35	50	100	100	35	35

1.3.4 标准溶液的配制

分别准确称取0.50、1.25、2.50、5.00mg组甜标准品于小烧杯中,溶解后转移至50mL容量瓶中,用pH4.5缓冲液定容至刻度,其质量浓度分别为10、25、50、100μg/mL。

1.3.5 样品处理

准确吸取5.0mL样液于10mL容量瓶中,加pH4.5缓冲液定容至刻度。

1.3.6 样品的采集

市场随机抽取50份不同产地、不同品牌半甜葡萄酒样,按以上实验方法进行实验。选取3个具有代表性样品: 不含组甜阴性样品标记为A葡萄酒样; 经定性色谱条件分析判定为疑似阳性,定量色谱条件未检出的假阳性样品标记为B葡萄酒样; 经定量色谱条件检出含有组甜的阳性样品标记为C葡萄酒样。

2 结果与分析

2.1 定性筛查等度比例I色谱条件对样品的筛查

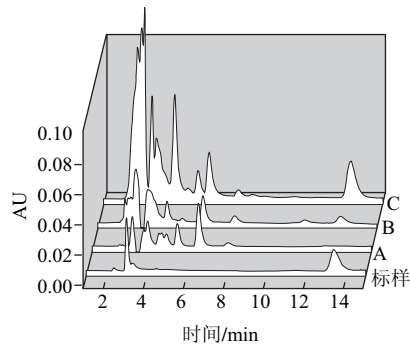


图1 等度比例I色谱条件下组甜色谱图

Fig.1 HPLC spectrum of neotame by mobile phase I

图1为组甜标样、不含组甜葡萄酒阴性样(A)、不含组甜葡萄酒假阳性样(B)与含组甜葡萄酒阳性样(C)在等度比例I色谱条件下获得的色谱图。从图1可见,组甜标样在等度比例I色谱条件下的保留时间为13.4min,与阳性样(C)中组甜组分保留时间一致;而葡萄酒假阳性样(B)中干扰组分峰与组甜标样峰保留时间相近为13.2min,在不加标或其他方法验证情况下极易判定为组甜组分。

2.2 定量测定梯度比例G色谱条件对组甜含量的测定

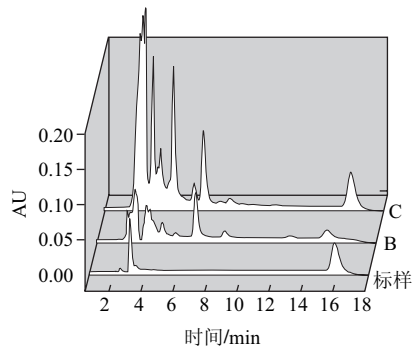


图2 梯度比例G色谱条件下组甜色谱图

Fig.2 HPLC spectrum of neotame by mobile phase G



2013-2-22 11:28:06