

酱油及酱制品中三氯蔗糖的测定

张伟清, 张玉婷, 曹 进, 张庆生

(中国食品药品检定研究院食品化妆品检定所, 北京 100050)

摘 要: 对酱油及酱制品中三氯蔗糖的含量测定方法进行研究, 在现行国标基础上, 针对酱油及酱制品样品特点, 优化了样品前处理方法及蒸发光散射检测条件, 并进行方法学验证。该方法工作曲线的线性范围: 0.08~0.8mg/mL, 相关系数为0.9994, 回收率为85.2%~108.8%, 精密度($n=6$)为1.77%~3.56%, 方法检出限为0.0006g/kg。利用该方法对从市场上随机采购的193份酱油及酱制品样本进行测定, 标识含有三氯蔗糖的样本均有检出, 未标识含有三氯蔗糖的样本均低于检出限, 按国标酱油及酱制品中最大用量0.25g/kg的限度要求, 无过量添加。

关键词: 三氯蔗糖; 高效液相色谱; 蒸发光散射检测器; 酱油及酱制品

Determination of Sucralose in Soy Sauce and Soybean Paste

ZHANG Wei-qing, ZHANG Yu-ting, CAO Jin, ZHANG Qing-sheng

(Institute for Food and Cosmetics Control, National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China)

Abstract: An optimized method was established for the quantitative determination of sucralose in soy sauce and soybean paste. The optimal conditions were established for sample pretreatment and evaporative light scattering detection. The method was experimental validated. The linear range was 0.08 to 0.8 mg/mL ($R^2 = 0.9994$). The recoveries of sucralose were in the range of 85.2%–108.8% with relative standard deviations ($n = 6$) of 1.77%–3.56%, and the limit of detection of 0.6 mg/kg. Among 193 samples of soy sauce and soybean paste randomly purchased from the market, sucralose was detected in all samples labeled as containing sucralose while those labeled as no sucralose were below the detection limit. In addition, all the 193 samples were below the maximum concentration limit stipulated in the national standard.

Key words: sucralose; high performance liquid chromatography; evaporative light scattering detector; soy sauce products

中图分类号: O657.72

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)20-0237-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-2013180050

三氯蔗糖又名三氯半乳糖, 俗称蔗糖素^[1], 是由英国泰来公司(Tate&Lyle)与伦敦大学共同研制并于1976年申请专利的一种新型甜味剂。由于其具有甜度高、甜味纯正(甜度为蔗糖的600倍)等特点, 被人们认为是目前最优秀的功能性甜味剂之一, 代表了目前强力甜味剂研究的最高水平^[2]。1991年, 加拿大率先批准三氯蔗糖在根啤、橙子糊和餐用甜味剂中使用, 随后美国、日本、欧盟、澳大利亚和新西兰等国家也确认了三氯蔗糖的安全性并批准其使用^[3]。不过虽然科学家们经过长期的毒理实验证明其具有较高的安全性^[4-5], 但也有三氯蔗糖可诱发偏头疼发作的报道^[6], 因此, 对其在食品中添加量值的限量是十分必要的。我国于1997年7月1日正式批准三氯蔗糖作为食品添加剂使用, 并在GB 2760—2007

《食品添加剂使用卫生标准》中对三氯蔗糖的使用范围和限量进行详细规定^[7], 酱油和酱制品中允许添加三氯蔗糖是在2011年GB 2760—2011替代GB 2760—2007之后才开始的, 其最大用量为0.25g/kg^[8]。

目前, 食品中三氯蔗糖的测定方法有很多, 有毛细管电泳法^[9]、滴定法^[10]、离子色谱法^[11-12]、高效液相色谱法^[13-16]、LC-MS法^[17-18]及GC-MS法^[19]等, 其中液相色谱法由于操作简便, 仪器普及率高, 准确性好等特点被广泛应用, 现行标准GB/T 22255—2008《食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》中采用液相色谱-蒸发光散射检测方法^[20]。

酱油及酱制品中三氯蔗糖的测定主要参照GB/T 22255—2008中方法进行, 但该标准中并未给出蒸发光散射检测器具体的检测条件。本实验采用高效液相色谱

收稿日期: 2012-06-14

作者简介: 张伟清(1984—), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向为食品、保健食品及化妆品质量控制。

E-mail: weiqing-zhang@hotmail.com

谱-蒸发光散射检测方法对市场上随机购买的酱油及酱制品中三氯蔗糖进行测定,结合酱油及酱制品的特点,参考相关文献^[21],对样品前处理及蒸发光散射检测条件进行优化,并进行了方法学验证,根据测定结果对市售酱油及酱制品中三氯蔗糖添加情况进行分析。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

甲醇为分析纯,乙腈为色谱纯。

e2695 高效液相色谱仪、2424 蒸发光散射检测器(ELSD) 美国 Waters 公司;三氯蔗糖对照品(纯度为 98.5%) 德国 Dr.Ehrenstorfer 公司。固相萃取小柱(中性氧化铝,1g 装)。

1.2 方法

1.2.1 标准溶液配制

精密称取适量三氯蔗糖标准品于容量瓶中,加水溶解,并定容至刻度,摇匀,即得质量浓度为 1mg/mL 的三氯蔗糖储备液,4℃ 储存备用。分别吸取三氯蔗糖储备液 0.8、1、3、5、8mL 于 10mL 容量瓶中,各加水至刻度,即得含三氯蔗糖 80、100、300、500、800μg/mL 的系列标准溶液。

1.2.2 样品的制备

准确称取均匀试样 2g,置于 50mL 离心管中,加入 5mL 蒸馏水,旋涡振荡器振荡 3min 后加入 15mL 甲醇,继续振荡 30s,超声提取 20min 后,酱油制品以 3500r/min 离心 5min,酱制品以 7000r/min 离心 5min,仔细将上清液移入 50mL 蒸发皿内。沉淀物加入 10mL 75% 甲醇,旋涡振荡器上混匀后,酱油制品以 3500r/min 离心 5min,酱制品以 7000r/min 离心 5min,上清液合并于蒸发皿中,置于水浴锅上,在沸水浴上蒸干,残渣用 5mL 水溶解,通过中性氧化铝固相萃取柱,弃去最初的 2mL 滤液,接收剩余滤液,定容至 3mL,再过 0.45μm 滤膜,滤液备用。

1.2.3 色谱条件

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution program

时间/min	流动相配比/%	
	A	B
0	89	11
13	89	11
14	10	90
21	10	90
22	89	11
25	89	11

色谱柱: C₁₈(4.6mm×150mm, 5μm), 流速: 1.0mL/min, 柱温: 35℃, 流动相 A 为超纯水, B 为乙腈, 梯度洗脱, 洗脱条件见表 1。蒸发光散射检测漂移

管温度 70℃, Heating 模式, 载气流量 50.0psi, 雾化气温度 36℃, 增益 500。

1.2.4 标准曲线的测定

分别取三氯蔗糖系列标准液各 10μL, 高效液相色谱分析, 以三氯蔗糖质量为横坐标, 峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 在方程两端取对数得双对数线性方程。

1.2.5 样品测定

取样品滤液 30μL 作高效液相色谱分析, 测定其峰面积, 从标准曲线查得测定液中三氯蔗糖的含量。

1.2.6 三氯蔗糖含量的计算

$$X = \frac{m_2 \times V_1}{m_1 \times V_2}$$

式中: X 为试样中三氯蔗糖的含量/(mg/g); m₂ 为进柱样液中三氯蔗糖的质量/μg; V₁ 为过中性氧化铝柱后接收的滤液体积/mL; m₁ 为样品称样量/mg; V₂ 为样品进样量/μL。

2 结果与分析

2.1 样品前处理方法的改进

GB/T 22255—2008《食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》中规定酱色类试样在样品制备过程中离心时, 其转速为 3000r/min, 然而在实际操作中发现, 由于酱油及酱制品本身的性质, 该转速下处理后的样品上清液经固相萃取小柱萃取时仍然比较困难, 经过对酱油和酱制品前处理条件的摸索, 最终确定酱油制品以 3500r/min 离心, 酱制品以 7000r/min 离心, 得到的结果本底较为干净, 获得了较好的纯化效果。

2.2 色谱条件的选择

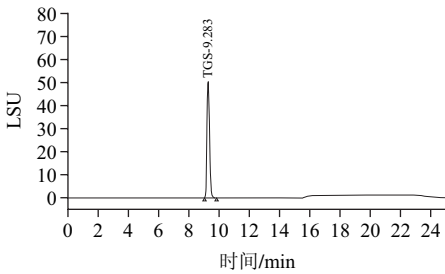


图 1 三氯蔗糖对照品液相色谱图

Fig.1 HPLC profile of sucralose standard

本实验高效液相色谱条件参照 GB/T 22255—2008 并未改动, 只对该标准未给出的蒸发光散射检测器条件进行了优化, 该实验中, 蒸发光散射检测器参数的选择对色谱峰峰形, 灵敏度等方面影响很大, 经过优化, 最终确定漂移管温度 70℃, Heating 模式, 载气流量 50.0psi, 雾化气温度 36℃, 增益 500, 此时灵敏度高, 噪声小。在此条件下, 三氯蔗糖对照品的液相色谱图以及样品中三氯蔗糖的液相色谱图分别见图 1、2。

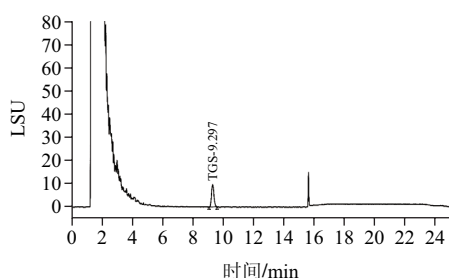


图2 酱样品液相色谱图

Fig.2 HPLC profile of soybean paste

2.3 标准曲线

分别配制80、100、300、500、800 $\mu\text{g/mL}$ 的三氯蔗糖标准溶液,液相色谱进样,以三氯蔗糖质量 x 为横坐标,峰面积 y 为纵坐标绘制标准曲线,在方程两端取对数得双对数线性方程: $\lg y = 4.107 + 1.852 \lg x$,相关系数为0.9994。线性范围为0.08~0.8 mg/mL 。

2.4 检出限

将按1.2.2节前处理的加标样品稀释至含三氯蔗糖0.167 mg/mL ,按1.2.3节色谱条件进行测定,以3倍信噪比(R_{SN})计算该方法的检出限为0.0006 g/kg ,比GB/T 22255—2008中方法检出限0.004 g/kg 提高6倍左右。

2.5 准确度

随机抽取样品中4份酱油及酱样品分高、中、低3个水平进行加标回收率实验,结果见表2,回收率范围为85.2%~108.8%,平均回收率为95.6%。

表2 方法的加标回收率

Table 2 Average recoveries of sucralose from spiked samples

样品名称	本底值/(g/kg)	加入标准量/mg	测量值/mg	回收率/%
酱油-1	低水平	0.000	0.295	97.3
	中水平	0.000	0.394	93.4
	高水平	0.000	0.492	85.2
酱油-2	低水平	0.000	0.295	100.3
	中水平	0.000	0.394	93.7
	高水平	0.000	0.492	91.0
酱-1	低水平	0.000	0.295	103.0
	中水平	0.000	0.394	101.0
	高水平	0.000	0.492	90.2
酱-2	低水平	0.000	0.295	108.8
	中水平	0.000	0.394	97.7
	高水平	0.000	0.492	85.8

2.6 精密度

按1.2.2节平行处理6份酱油样品及6份酱样品,进行重复性实验,结果见表3,酱油样品6次平行进样的RSD为1.77%,酱样品6次平行进样的RSD为3.56%。均达到并高于GB/T 22255—2008中精密度的要求(在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%)。

表3 方法的精密度($n=6$)Table 3 Precision of the method ($n=6$)

样品	含量/(mg/g)						RSD/%
	1	2	3	4	5	6	
酱油	0.196	0.189	0.196	0.196	0.193	0.189	1.77
酱	0.148	0.153	0.151	0.142	0.152	0.158	3.56

2.7 样品测定

本实验中的样品采购于A、B两省(市)的超市、饭店等场所,共计98份酱油制品和95份酱制品,基本覆盖了两省(市)居民日常食用的酱油和酱制品。从表4可以看出,在酱油制品中,被检出添加三氯蔗糖的样品占酱油制品抽样总数的21.43%;酱制品中,被检出添加三氯蔗糖的样品占酱制品抽样总数的5.26%。被测样本中,标识含有三氯蔗糖的样本均有检出,未标识含有三氯蔗糖的样本均低于检出限,按照现行GB 2760—2011最大用量为0.25 g/kg 的限度要求,无过量添加。

表4 样品测定结果

Table 4 Results of determination of sucralose in commercialized samples of soy sauce and soybean paste

样品	抽样量/个	检出量/个	检出率/%	超过最大加限量/个	合格率/%
A省(市)酱油	50	12	24.00	0	100.00
B省(市)酱油	48	9	18.75	0	100.00
酱油汇总	98	21	21.43	0	100.00
A省(市)酱	50	1	2.00	0	100.00
B省(市)酱	45	4	8.89	0	100.00
酱汇总	95	5	5.20	0	100.00

3 结论

本实验参照GB/T 22255—2008,针对酱油及酱制品的特点,优化了样品前处理方法及蒸发光散射检测条件,并进行了方法学验证实验。实验结果表明,优化后的方法线性关系良好、准确度高、在检出限,精密度等方面能够达到并高于现行标准。对酱油及酱制品中三氯蔗糖的测定更有针对性。

在对两个大中城市市售酱油及酱制品三氯蔗糖添加情况的抽样调查中,作为一种刚刚被允许添加在酱油及酱制品中的新兴甜味剂,三氯蔗糖的添加率还并不是很高,从测定结果看,抽样的产品没有过量添加三氯蔗糖的情况。随着研究的不断深入,食品中三氯蔗糖的检测方法必将更加准确,方便操作,以便更好的为企业在生产过程中的质量监控及监管部门日常监督检查检验工作服务。

参考文献:

- [1] 凌关庭. 食品添加剂手册[M]. 3版. 北京: 化学工业出版社, 2003: 160-161.

- [2] 周力. 三氯蔗糖的生产与应用[J]. 食品科学, 1997, 18(8): 38-41.
- [3] 张玉, 吴慧明, 徐丽红, 等. 三氯蔗糖的安全性进展[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11): 472-474.
- [4] KNIGHT I. The development and applications of sucralose: a new high-intensity sweetener[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 1994, 72(4): 435-439.
- [5] 高金燕, 陈红兵. 三氯蔗糖在无糖巧克力和口香糖中的应用[J]. 食品工业, 2004, 6(5): 5-6.
- [6] BIGAL M E, KRYMCHANTOWSKI A V. Migraine triggered by sucralose-a case report[J]. Headache, 2006, 46(3): 515-517.
- [7] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—2007 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [8] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—2011 食品添加剂使用卫生标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2011.
- [9] STROKA J, DOSSI N, ANKLAM E. Determination of the artificial sweetener sucralose by capillary electrophoresis[J]. Food Additives and Contaminants, 2003, 20(6): 524-527.
- [10] 陈玉宏, 陈炳灿. 滴定法测定食品添加剂中三氯蔗糖含量[J]. 预防医学论坛, 2007, 13(5): 445-446.
- [11] HANKO V P, ROHRER J S. Determination of sucralose in splenda and a sugar-free beverage using high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(14): 4375-4379.
- [12] 赵丹霞, 王力清, 黄秋研, 等. 果汁饮品中三氯蔗糖离子色谱脉冲安培检测法的测定[J]. 农业机械, 2013(3): 65-67.
- [13] 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): 360-361.
- [14] 熊丽蓓, 戴承兵, 何倩琼. 高效液相色谱法测定食品中三氯蔗糖含量研究[J]. 上海预防医学杂志, 2005, 17(4): 156-158.
- [15] 栗晖, 韦异, 张英, 等. 反相高效液相色谱法分离测定三氯蔗糖[J]. 食品工业科技, 2002, 23(6): 66-67.
- [16] NOJIRI S, NAKAZATO M, KASUYA Y, et al. Determination of sucralose in foods by HPLC using pre-column derivatization[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2002, 43(5): 289-294.
- [17] 周莉莉, 杨颖, 刘艳明, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品中的三氯蔗糖[J]. 分析测试学报, 2011, 30(10): 1175-1178.
- [18] KOYAMA M, YOSHIDA K, UCHIBORI N, et al. Analysis of nine kinds of sweeteners in foods by LC/MS[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2005, 46(3): 72-78.
- [19] QIU Wenlong, WANG Zhongfu, NIE Wanli, et al. GC-MS determination of sucralose in splenda[J]. Chromatographia, 2007, 66(12): 935-939.
- [20] 中华人民共和国卫生部. GB/T 22255—2008 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定[S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [21] 李键, 刘宁. HPLC法测定酱油中的甜味剂[J]. 食品科学, 2006, 27(3): 471-472.