

毛细管电泳安培检测法 快速测定巧克力中的香兰素

邢晓平, 崔钢

(盐城工学院科技产业处, 江苏盐城 224003)

摘要 运用毛细管电泳安培检测法研究了巧克力中香兰素的快速测定方法,研究了电极电位、缓冲液的浓度和 pH、分离电压以及进样时间等因素对分离测定的影响。在 30 mmol/L 的硼砂 (pH 9.24) 运行缓冲液中,施加 15kV 的分离电压及 +0.65 V (vs.SCE) 的电极电位条件下,铜电极对香兰素有很好的响应。香兰素在 $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3}$ g/mL 范围内存在较好的线性关系,检测限为 3.87×10^{-7} g/mL (S/N=3)。对实际样品的测定,回收率为 96.5%~102.8%,结果令人满意。

关键词 毛细管电泳; 安培检测; 香兰素

Abstract: A capillary electrophoresis technique with electrochemical detection (CE-ED) for the determination of vanillin in chocolate was described in this article. Effects of several factors, such as pH value and the concentration of the running buffer, separation voltage, injection time and the potential applied to the working electrodes, were investigated to find the optimum conditions. Well-defined separation of vanillin was achieved with uncoated capillary, a 45cm length and 25 μ m diameter fused-silica capillary, 30mmol/L Na₂B₄O₇ (pH 9.24) as running buffer and separation voltage of 15 kV. The linear range was from $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3}$ g/mL and detection limits (S/N=3) was 3.87×10^{-7} g/mL. The average recovery of added standards were 96.5%~102.8%. This method was successfully used in the rapid analysis of vanillin and the experimental results were satisfactory.

Key words: capillary electrophoresis; electrochemical detection; vanillin

中图分类号: TS247 文献标识码: B
文章编号: 1002-0306(2006)10-0186-03

食品安全已成为世人所关注的热点,食品添加剂是食品卫生安全检测的重要部分。香兰素(3-甲氧基-4-羟基苯甲醛)是一种白至微黄色针状结晶粉,有

香荚兰豆特有的香味,易溶于乙醇、乙醚、冰醋酸,作为食品添加剂常用于巧克力、冷饮、麦片、豆奶、糖果等食品。欧盟专家委员会曾称,大剂量使用香兰素可以导致头痛、恶心、呕吐、呼吸困难,甚至能够损伤肝、肾,对人体有较大危害。他们因此决定重新制定香兰素使用标准,进一步降低允许剂量。我国香兰素的使用量很大,但是尚没有允许用量的统一标准。为了加强食品卫生监督,必须建立食品中香兰素的快速测定方法。目前主要有比色法^[1]、薄层法^[2]、紫外分光光度法^[3]、气相色谱法^[4]、液相色谱法^[5,6]等。比色法操作烦琐,测定结果容易偏高,气相、液相色谱预处理麻烦,且实验操作费用昂贵,不宜推广使用。毛细管电泳是较为新型的一种分离手段,与安培检测连用,检测的灵敏度高、检测限低。本文中首次提出用毛细管电泳安培检测法测定巧克力中香兰素的含量。此法分析检测不需要繁琐的预处理,仪器设备简单、易操作,实验结果令人满意,能够达到国家食品检测的标准。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

香兰素标准品、硼酸、硼砂、氢氧化钠等 购于上海试剂公司,香兰素的储备液 浓度为 1.00×10^{-3} g/mL; 实验用试剂 均为分析纯;水 为二次蒸馏水;四种巧克力 均为市售。所有试剂进样分析前均需用微孔滤膜过滤。

毛细管电泳-安培电化学检测系统 (CE-ED) 为自组装^[7],包括 30 kV 高压电源 (上海原子核研究所),BAS LC-3D 安培检测器 (Bioanalytical Systems, USA),HW-2000 色谱软件 (上海千谱软件有限公司),45cm 长熔融石英毛细管 (d_i 25 μ m,河北永年仪器厂);超级恒温槽 上海实验仪器厂;800 型离心机 上海鑫昌医疗器械厂;安培检测器 采用三电

收稿日期: 2005-09-19

作者简介: 邢晓平, (1975-),女,讲师,研究方向: 仪器分析。

极体系 328 μm 直径的铜圆盘电极为工作电极,饱和甘汞电极(SCE)为参比电极,铂丝为辅助电极。铜电极使用前先用细砂纸打磨再超声清洗 2min,通过三维定位调节器使之与毛细管出口在一条直线上,并尽可能靠近毛细管的末端。在 15kV 下电动进样 8s 进行电泳分析,检测池为阴极电泳槽。

1.2 样品处理

准确称取巧克力 0.50g 于烧杯中,加入 20mL 的蒸馏水,并在 50 $^{\circ}\text{C}$ 的水槽中恒温 10min,冷却 2000r/min 离心 5min,上层澄清液用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤。滤液直接电动进样分析。

2 结果与讨论

2.1 电泳条件的选择

2.1.1 电极电位的影响

据文献报道^[8],化学结构式中含有羟基官能团的化合物在铜电极上能够被氧化。在香兰素的结构中亦存在此官能团,因此实验中拟采用铜圆盘电极为工作电极。

工作电极上施加的电位大小直接影响检测灵敏度和检测限,实验研究了电极上施加的电极电位对峰电流的影响。如图 1 所示,电极电位超过 +0.55V (vs. SCE) 时,香兰素的氧化电流均随着电极电位的增加而迅速增加。电位大于 +0.70V (vs. SCE) 时,电流值达到最大并开始下降,此时由于基线噪音和背景电流的加大,从而影响了检测的稳定性和灵敏度。因此,本实验中采用 +0.65V (vs. SCE) 为最佳的检测电位,此时香兰素具有较好的氧化特性,基线噪音也不是太大。

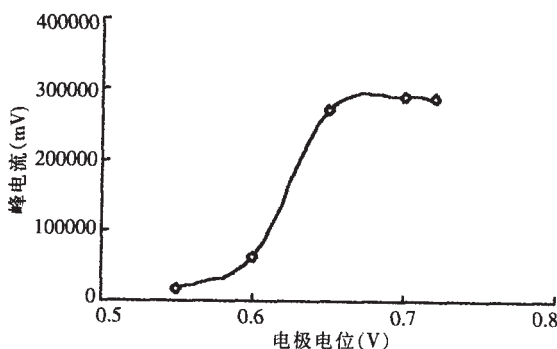


图 1 电极电位对峰电流的影响

测定条件:328 μm 铜圆盘电极为工作电极,30mmol/L (pH9.24) 硼砂缓冲液,香兰素标准浓度:1.00 $\times 10^{-3}\text{g/mL}$,分离电压:15kV,进样时间:8s。

2.1.2 运行缓冲液浓度和 pH 的影响 在毛细管电泳法分离分析物质时,运行缓冲液的浓度和 pH 是影响分离效果的一个重要因素。本实验中主要考虑样品基体中的物质对香兰素测定的干扰。因此,在考察缓冲液浓度和 pH 的影响时以含有香兰素样品的图谱为依据,找到最佳的检测条件。

实验中采用硼砂溶液为运行缓冲液,在 10~50mmol/L 不同浓度的运行体系中,考察了香兰素的

分离情况。在低于 20mmol/L 的缓冲液中,香兰素标样与巧克力基体物质不能完全分离,而浓度为高于 50mmol/L 时,分析时间变长,峰电流亦明显下降。同样,运行缓冲液的 pH 影响了分析物质的分离和检测。本实验中亦考察了其分离的影响。在 pH 低于 8.84 时,迁移时间短,分离不完全;而高于 9.5 时,峰电流下降,迁移时间变长,不利于实际操作。本实验中采用 30mmol/L、pH9.24 的硼砂溶液作为毛细管电泳分析的最佳运行缓冲液。

2.1.3 分离电压和进样时间的影响 分离电压直接影响了电渗流的速度和迁移时间。实验考察了分离电压对迁移时间的影响,结果表明,加大分离电压能缩短分离时间,但电压过大,易产生焦耳热等问题,基线噪音增大。当电压大于 15kV 时,香兰素和巧克力基体物质不能达到基线分离。实验中选择 15kV 为分离电压。

在分离电压 15kV 时,试验了进样时间对峰电流的影响。如图 2 所示,进样时间超过 8s,峰电流就不再明显增加,峰形反而展宽,因此选用 8s 为进样时间,此时峰形较好,分析灵敏度高。

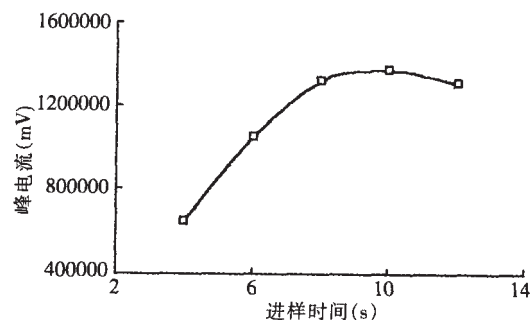


图 2 进样时间对峰电流的影响

测定条件:工作电极施加 0.65V(vs. SCE) 电极电位,其他条件如图 1。

2.1.4 重复性、线性及检测限 在优化的最佳实验条件下,将香兰素标样进样 7 次,重现性较好。峰高和保留时间的相对偏差分别为 1.38% 和 2.49%。

配置一系列不同浓度的香兰素标样,在优化条件下,进行了线性范围和线性回归方程实验。结果表明,香兰素在 $5.0 \times 10^{-6} \sim 1.0 \times 10^{-3}\text{g/mL}$ 范围内存在很好的线性关系,线性回归方程为 $y = 1.387 \times 10^{11}x - 8.909 \times 10^4$ ($r = 0.9995$),其中 y 代表峰面积 ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$), x 代表浓度 (g/mL), r 为相关系数。以噪音电流的 3 倍值对应的浓度估算香兰素的检测限为 $3.87 \times 10^{-7}\text{g/mL}$ 。

2.2 样品测定

在优化的最佳电泳操作条件下,分别进行了香兰素标样和典型样品加标前后的电泳图谱分析如图 3 所示。由图对比可见,加入标样后,样品图谱中的 1 号峰明显增加,用标准曲线可定量分析样品中香兰素的含量。此实验条件下,对市售的 4 种巧克力样品进行测定,结果如表 1 所示,只有 3 号样品在检测限

表 1 样品测定及回收率实验

样品	样品含量(g/mL)	加入量(g/mL)	检测量(g/mL)	回收率(%)	偏差(%)
1	3.64×10^{-6}	1.0×10^{-4}	1.02×10^{-4}	98.3	1.7
2	2.42×10^{-6}	1.0×10^{-4}	9.89×10^{-5}	96.5	2.1
3	--	1.0×10^{-4}	9.92×10^{-5}	99.2	1.6
4	5.27×10^{-5}	1.0×10^{-4}	1.56×10^{-4}	102.8	2.8

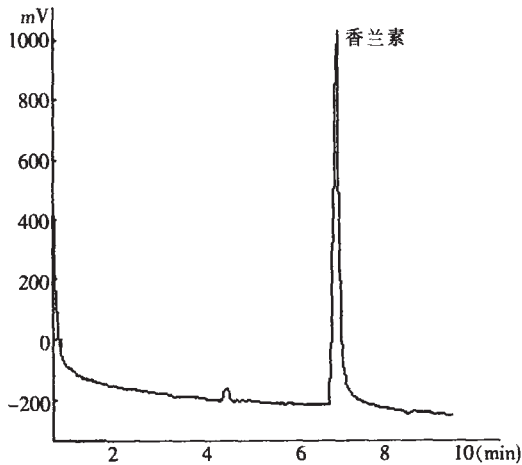


图 3-A 香兰素标样图

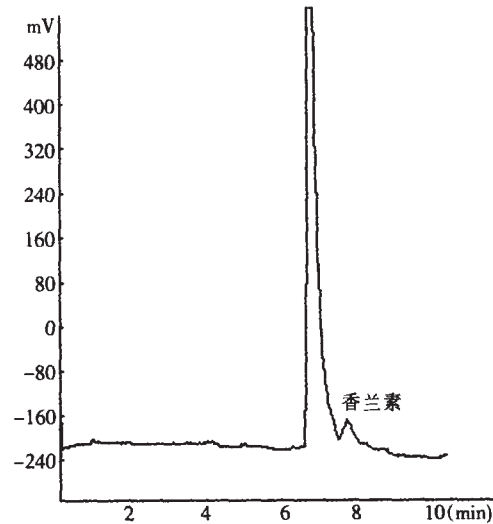


图 3-B 典型样品图

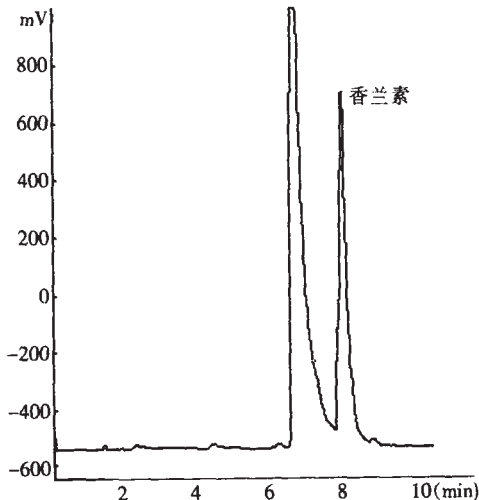


图 3-C 加标样品的样品图

内未测到香兰素的存在。

毛细管电泳安培检测法测定巧克力中的香兰素含量快速简便、成本低、容易操作。此法亦可以为其他食品中香兰素测定提供一种分析方法。

参考文献：

- [1] 姜子涛,李荣.比色法测定食品中香兰素的含量[J].广州食品工业科技,1995(11): 22~24.
- [2] 余达柱.食品中香兰素的薄层色谱法测定[J].广西预防医学,2001(2):119.
- [3] 姜子涛,李荣.树脂相紫外分光光度法测定食品中的香兰素[J].食品科学,1998(4):49~51.
- [4] 王建华,王亚丽.气相色谱法测定食品中的香兰素[J].中国卫生检验杂志,2000(2):178~179.
- [5] 周庆礼,黄艳凤,韩英素,王昌禄.高效液相色谱法测定发酵液中的香兰素[J].色谱,2004(3):295.
- [6] Don Farthing, et al. High-performance liquid chromatographic method for determination of vanillin and vanillic acid in human plasma, red blood cells and urine[J]. Journal of Chromatography B, 1999,726: 303~307.
- [7] Ye Jiannong, R P Baldwin. Amperometric detection in capillary electrophoresis with normal size electrode[J]. Anal Chem, 1993, 65: 3525.
- [8] Ye Jiannong, R P Baldwin. Determination of carbohydrates, sugar acids and alditols by capillary electrophoresis and electrochemical detection at a copper electrode[J]. J Chromatogr A, 1994a, 687: 141.

从本刊发行部订阅全年《食品工业科技》
免费获赠全年《食品企业采购指南》(采购工具书)