

UHPLC

作者

Njies Pedjie
PerkinElmer, Inc.
Shelton, CT 06484 USA

利用配有PDA检测器的PerkinElmer Flexar FX-15系统同时测定九种食品添加剂

简介

食品添加剂是天然或人工合成的添加进食品、饮料和医药制品中的一类物质，该类物质是为了杀菌、防腐和调味。在这些常用的添加剂中，苯甲酸及其盐类物质被广泛的用作饮料和食物的防腐剂。在热量意识很强的现在社会，人工合成的甜味剂被广泛的用作代糖物质，它们的摄入不会产生热量，且可以帮助抵制肥胖及相关疾病。

在许多国家，添加剂的使用是被监管的。在美国，虽然FDA已经建立了各添加剂的最大摄入量（ADI），绝大多数的添加剂仍然是一般公认安全（GRAS）的组成部分。为了有助于消费者做出饮食选择和控制食物过敏，食品企业生产的各种产品的标签被要求标明其中每个组份的种类及含量，这都需要分析技术来鉴定和定量分析添加剂。

本应用文献提供了一种快速、耐用的高效液相色谱仪同时测定九种广泛使用添加剂的方法。测定的九种添加剂为：防腐剂（苯甲酸，山梨酸，脱氢乙酸，对羟基苯甲酸甲酯），人工合成甜味剂（醋磺内酯钾，糖精，阿巴斯甜），调味剂（奎宁）和一种兴奋剂（咖啡因）。本应用文献提供了方法条件和性能参数包括精密度、准确度和线性关系，该方法可应用于漱口水和苏打水中添加剂类型和含量的确定。

试验

用水稀释后,经过1min涡旋,5min超声,制备得到浓度为1mg/mL的九种添加剂的储备溶液。移取九种添加剂储备溶液各1mL于10mL的容量瓶中,用水稀释至刻度,充分混匀后制备得到0.1mg/mL的工作标准溶液。

精密度试验根据运行5次工作溶液的结果计算得到,线性测定范围为2.5-100mg/mL,通过在纯水中加入工作标准溶液,使各添加剂的浓度为0.005 mg/mL,进行加标回收试验计算方法准确度。用水作为稀释剂,制备浓度约为0.25g/mL的大众的漱口水和0.5g/mL的苏打水作为试验的样品。样品在进样之前经过充分混匀,0.2 μ m尼龙膜过滤。

该实验使用配有Flexar FX PDA(二极管阵列检测器)的PerkinElmer® Flexar™ FX-15 UHPLC系统进行分析。使用50 x 2.1 mm, 2.7 μ m(表面多孔颗粒)的PerkinElmer Brownlee SPP C-18色谱柱进行分离。

表1 UHPLC系统及色谱条件

自动进样器	Flexar FX UHPLC												
设置	50 μ L定量环和15 μ L进样针,部分定量环 350 μ L混合器 进样体积: 2 μ L; 进样针清洗: 水												
PDA检测器	扫描范围190-700nm,记录214nm												
UHPLC色谱柱	PE Brownlee SPP C18, 50 x 2.1mm, 2.7 μ m (表面多孔颗粒) 部件号: N9308402 柱温45 ° C												
流动相	A: 20mM的醋酸钠的水溶液,醋酸调节 PH4.57 B: 乙腈												
<table border="1"><thead><tr><th>时间 (min)</th><th>流速 (mL/min)</th><th>B%</th><th>曲线</th></tr></thead><tbody><tr><td>6</td><td>0.4</td><td>5-30</td><td>1</td></tr><tr><td>1</td><td>0.4</td><td>40</td><td>1</td></tr></tbody></table>		时间 (min)	流速 (mL/min)	B%	曲线	6	0.4	5-30	1	1	0.4	40	1
时间 (min)	流速 (mL/min)	B%	曲线										
6	0.4	5-30	1										
1	0.4	40	1										
每次运行完成后平衡3min HPLC级试剂和ACS级试剂													
采样率:	5pt/s												
software:	Chromera® Version 3.0												

结果和讨论

优化的流动相流速为0.4mL/min,柱温为45 ° C,平衡压力为5500PSI,所有的化合物在7min之内全部流出色谱柱。在运行样品之前,先进一针工作标准溶液,以确定各个峰的最大测定波长和波长优化设置(见图1,2)。大众的漱口水样品测定色谱图见图3所示。获得了优越的方法性能:每一种添加剂测定的线性关系 r^2 不小于0.997,精密度的相对标准偏差(%RSD)测定范围为:0.47%至1.37%,平均值是0.84%。纯水加标回收率的范围是91.3%至108.7%,平均值是97.1%。详细的方法性能测定结果及样品测定结果见表2所示。

虽然高效液相色谱常规是通过保留时间来鉴定色谱峰,但是Chromera软件具有收集和储存光谱的功能(图4),该软件通过将色谱峰的光谱与数据库中储存的光谱进行匹配来鉴定化合物。Chromera软件的该功能另外增加了分析的信心水平,因为相同的相对保留时间,其成分并不一定相同。确认苏打水样品中含有阿巴斯甜和奎宁见图5所示,在该谱图中,色谱峰顶端的光谱与储存在数据库中的光谱进行匹配,当匹配完成后,相应陪陪的化合物名称就出现在色谱峰的上,以进行化合物的鉴定确认。

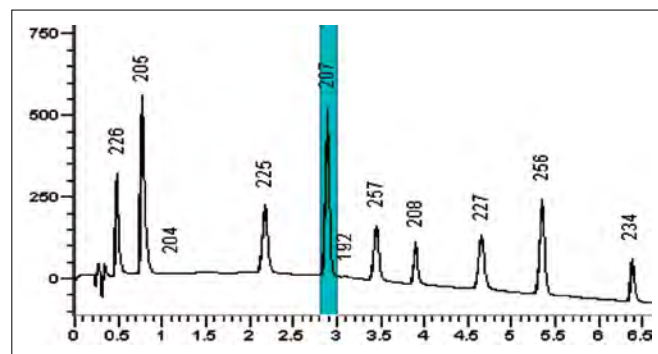


图1 标准溶液的分析色谱图中每个峰的最大吸收值

表2 精密性, 线性, 准确度和样品测定含量

化合物	%RSD	r ²	范围 (µg/mL)	漱口水(mg/12 oz)	苏打水(mg/12 oz)	加标回收率%
醋磺内酯钾	1.33	0.9997	2.5 -100	ND	ND	108.7
糖精	0.88	0.9999	2.5 -100	151	ND	94.1
苯甲酸	1.12	1	2.5-100	177	ND	93.1
咖啡因	0.57	0.9994	2.5-100	ND	ND	97.0
山梨酸	0.80	0.9991	2.5-100	ND	ND	94.6
阿巴斯甜	1.14	0.9965	2.5-100	ND	117	94.9
脱氢乙酸	0.76	0.9994	2.5-100	ND	ND	99.5
对羟基苯甲酸甲酯	0.54	0.9999	2.5-100	ND	ND	100.3
奎宁	0.47	0.9967	2.5-100	ND	69	91.3
平均值	0.85	0.9990	NA	NA	NA	97.1

ND=没有检测 NA=不适用

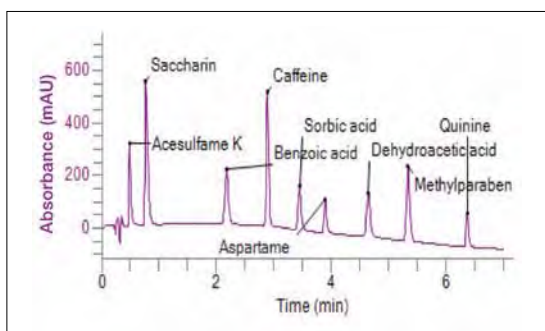


图2 标准溶液的分析色谱图

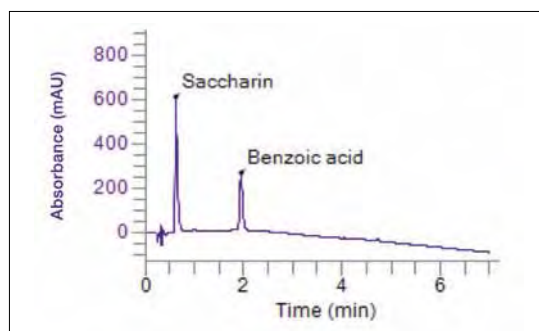


图3 大众的漱口水样品的分析色谱图

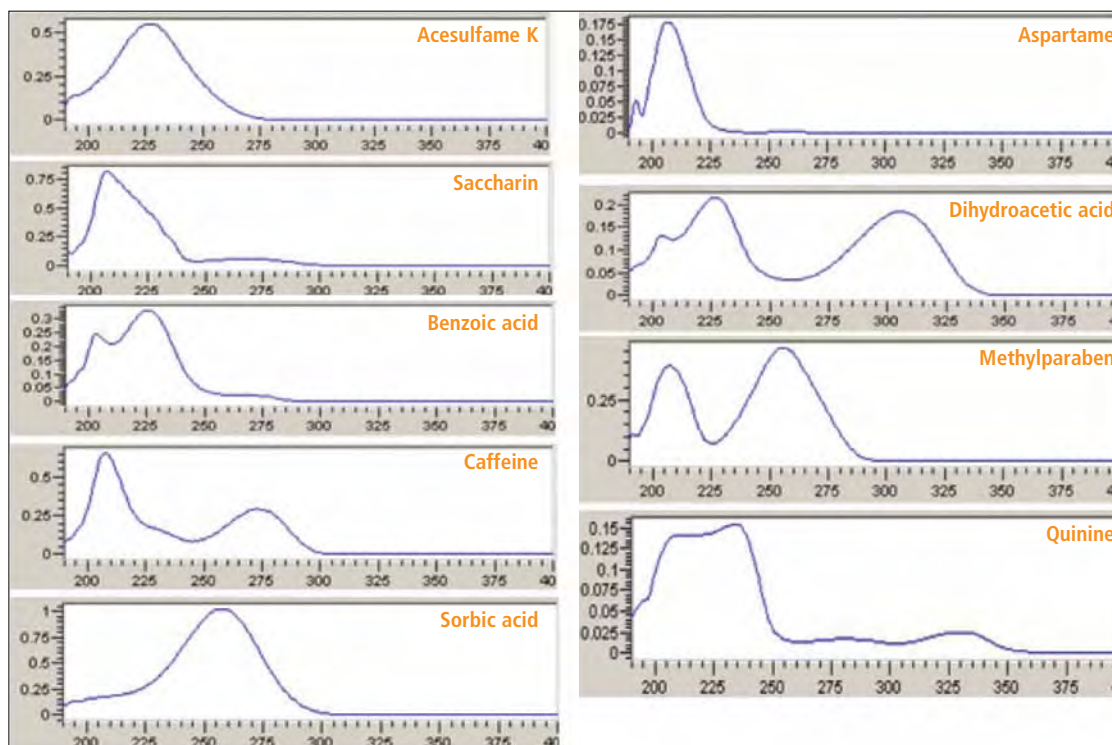


图4 标准添加剂溶液的光谱图

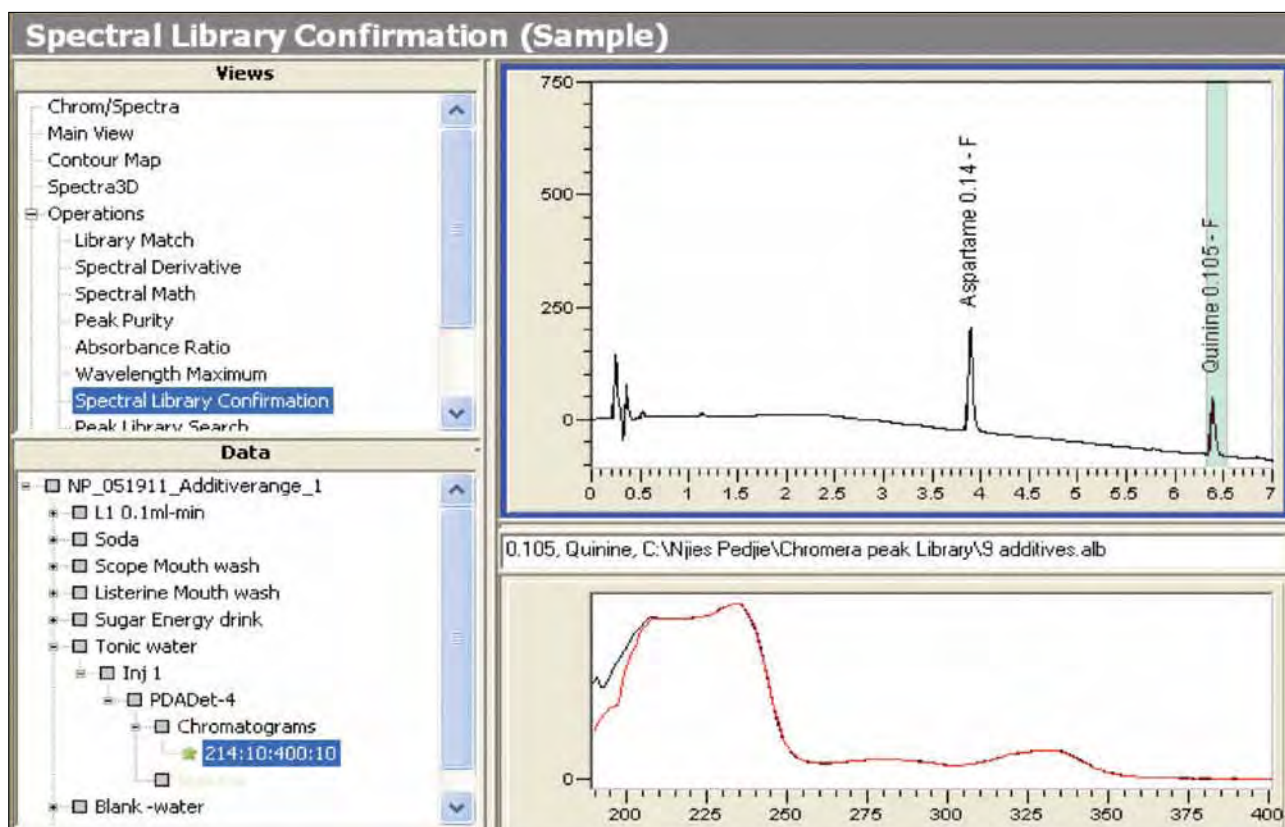


图5 利用Chromera软件光谱数据库进行苏打水样品的峰鉴定

结论

应用UHPLC分析九种添加剂, 在7min之内解决了其分离。该方法的线性关系 $r^2 \geq 0.997$, 精密度 $\%RSD \leq 1.33$, 准确度的加标回收率平均值为97.1%。漱口水样品测定结果是甜味剂糖精的含量为151mg/12 oz, 苯甲酸的含量为178mg/12 oz。苏打水样品中含有甜味剂阿巴斯甜117 mg/12 oz和苯甲酸69 mg/12 oz。

PerkinElmer的Flexar FX PDA 检测器能够准确的测定波长范围为190nm至700nm, 包括紫外和可见的波长。PerkinElmer的Chromera软件提供了多种数据采集和处理的功能, 包括创建谱库, 峰纯度, 三维谱图和等高线图, 该软件是一款解析三维光电二级管阵列色谱信息强有力的工具。谱库搜索功能允许储存标准色谱峰, 以用于后续实际样品中峰的鉴定、确认。

PerkinElmer, Inc.

珀金埃尔默仪器(上海)有限公司
地址: 上海张江高科园区李冰路67弄4号
邮编: 201203
电话: 800 820 5046 或 021-38769510
传真: 021-50791316
www.perkinelmer.com.cn

参考文献

1. American Diabetes Association, 2007 National Diabetes Facts; Standards of Medical Care in Diabetes, 2008; Diabetes Care. 2009; 32:S13-S61, 2009.
2. FDA, Generally Recognized As Safe (GRAS) 21 CFR 170.30(b), 170.30(c) and 170.3(f).
3. Food Ingredient and Colors IFIC and FDA, November 2004, revised 2010.
4. Leo M.L. Nollet. Food Analysis by HPLC. Marcel Dekker, NY, 2000, pp. 99, 546.

注: 本应用文献如有更改, 恕不另行通知。



要获取全球办事处的完整列表, 请访问<http://www.perkinelmer.com.cn/AboutUs/ContactUs/ContactUs>

版权所有 ©2012, PerkinElmer, Inc. 保留所有权利。PerkinElmer® 是PerkinElmer, Inc. 的注册商标。其它所有商标均为其各自持有者或所有者的财产。