

文章编号: 1673-1689(2010)03-0326-05

毛细管电泳在食品添加剂检测中的应用

高文惠, 裴红, 杨桂君

(河北科技大学生物科学与工程学院, 河北石家庄 050018)

摘要: 作者对毛细管电泳仪的工作原理、分离模式等内容进行了简要的介绍, 综述了近年来毛细管电泳在食品添加剂检测中的应用, 主要包括防腐剂、甜味剂、酸味剂、色素以及营养强化剂等的测定, 展望了毛细管电泳技术在食品研究、开发中的应用前景。

关键词: 毛细管电泳; 食品添加剂; 检测; 应用

中图分类号: TS 202.3

文献标识码: A

The Application of Capillary Electrophoresis in Food Additive Detection

GAO Wen-hui, PEI Hong, YANG Gui-jun

(College of Biological Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China)

Abstract: The review manuscript firstly introduced the working principle and the separation mode of the capillary electrophoresis technology, then the application in the food additive analysis was extensive reviewed, including determination of preservatives, sweeteners, pigments and nutrition enhancer. Furthermore, the potential application in food research and development of capillary electrophoresis technology was proposed.

Key words: capillary electrophoresis, food additives, determination, application

随着全球农业和食品生产能力的提高, 消费者对食品的安全性提出了越来越高的要求。毛细管电泳(CE)是 20 世纪 80 年代后期迅速发展起来的一项液相微分离分析新技术, 作为年轻的分离分析技术, 越来越引起广大学者的关注。CE 兼有电泳和色谱技术的双重优点, 而且拥有众多的高效分离模式, 可以满足基体复杂的食品分析要求, 再加上其与样品前处理技术兼容性好, CE 在食品安全分析方面的应用日趋广泛。

食品添加剂是用于改善食品的品质、延长食品保存期、便于食品加工和增强食品营养成分的一类

化学合成或天然物质。它在食品的制造加工、包装处理及感官评定等方面起了很大的作用。由于部分食品添加剂本身具有某些毒性, 其使用量受到了严格的限制。因而, 食品添加剂的定量、定性分析变得尤为重要。作者主要介绍近几年来毛细管电泳技术在食品添加剂检测中的应用。

1 毛细管电泳分离分析技术

对 HPCE 最具启发性的工作首推 Hierten 于 1967 年发表的一篇讨论仪器的论文^[1]。对 CE 的发展做出了决定性的贡献的是 1981 年 Jorgenson

收稿日期: 2009-09-15

基金项目: 河北省自然科学基金项目(B2008000669); 河北科技大学杰出青年基金项目(2006JC-14)。

作者简介: 高文惠(1963-), 女, 北京人, 理学博士, 教授, 主要从事食品安全与分离科学研究。

Email: wenhuigao@126.com

和 Lukacs 发表的研究论文,他们用内径 75 μm 的毛细管对荧光标识氨基酸化合物进行 CE 分离测定,获得理论塔板数高达 40 万的高分离性能,并且深入地阐明了一些基本性能和分离的理论依据。国内的研究首先由竺安教授于 1980 年开始,他先后在中国科学院化学研究所和浙江大学建立了两个研究组,并从 1986 年开始陆续在有关会议和杂志上发表研究结果,其中关于红细胞 CGE,扁毛细管区带电泳、低背景毛细管凝胶电泳和毛细管梯度凝胶电泳等具有理论和实际意义。国际毛细管电泳大会自 1989 年来每年召开一次,而我国毛细管电泳报告会从 1993 年起每两年召开一次,CE 技术在各个领域发展迅猛。

CE 的工作原理是毛细管柱内的不同带电粒子在高压电场作用下,以不同的速度在电泳介质中定向迁移,从而进行分离。毛细管中荷电粒子的迁移行为取决于电泳(Electrophoresis)和电渗(Electro-osmosis, EOF) 2 个因素。在不考虑相互作用的前提下,粒子在毛细管中的实际流速是电泳速度和电渗速度的矢量和。正离子由于运动方向和 EOF 一致,最先流出;中性粒子的泳流速度为“零”,随 EOF 而行;负离子运动方向和 EOF 相反,在中性粒子之后流出;由此实现了分离。

毛细管电泳技术根据样品组分在电泳介质中所受作用力的不同,可分为多种分离模式,毛细管区带电泳(capillary zone electrophoresis, CZE)亦称毛细管自由溶液区带电泳,是毛细管电泳中最基本也是应用最广的一种操作模式。此外,还包括毛细管凝胶电泳(capillary gel electrophoresis, CGE)、毛细管等速电泳(capillary isotachopheresis, CITP)、毛细管等电聚焦电泳(capillary isoelectric focusing, CIEF)毛细管电色谱(capillary electrochromatography, CEC)以及亲和毛细管电泳(affinity capillary electrophoresis, ACE)等分离模式。

与传统电泳技术及色谱技术相比,HPCE 具有以下突出特点:仪器简单,操作方便,容易实现自动化;分离效率高,分析速度快;操作模式多,分析方法开发容易;试验成本低,消耗少;应用范围广。

2 毛细管电泳在食品添加剂检测中的应用

2.1 食品防腐剂的检测

防腐剂就是能够杀灭微生物或抑制其繁殖作用,减轻食品在生产、运输、销售等过程中因微生物

而引起腐败的食品添加剂。应用能使食物长期保存而不变质,无色、无味、无刺激性,与食物成分无作用,具有水溶性、耐热性等,常用的食品防腐剂有苯甲酸、山梨酸及其相应的钠盐和钾盐。

迄今为止,国内外已有许多学者在防腐剂检测方面作了研究。宋广磊采用 HPCE 技术探索了山梨酸、苯甲酸含量的测定方法,对 5 种饮料和 1 种小食品进行了分析,方法快速简便,取得了良好的分离效果。胡美珍等采用 CE-UV 技术分析了汽水、番茄沙司、蜜饯中的山梨酸、苯甲酸,在 12 min 内实现了分离,且线性关系良好,回收率高。王洪杰等采用 HPCE 技术,以焦性没食子酸为内标物,对市售的 5 种饮料和 1 种小食品分别进行咖啡因、苯甲酸、山梨酸含量的测定。测定样品的回收率为 97.35%~101.65%,精密度为 2.89%~3.21%。王咏梅等建立了 CZE 测定食品中山梨酸、苯甲酸含量的方法,样品的加标回收率在 95.0%~98.4%之间,相对标准偏差均小于 4%。该方法简便、快速、准确。

Nevin Oztekin 等^[2]采用 CE 技术,以硫酸氢酯为内标物,分析了 4 种肉类样品和 4 种蔬菜样品中的防腐剂亚硝酸盐含量,取得了良好的回收率和较低检测限。为了减少离子对缓冲液的消耗, Fang Han 等^[3]开发了电渗流分析-离子对固相萃取-毛细管区带电泳结合的方法,以溴化四丁胺作为离子对试剂,增加了 C₈键和硅胶柱的分离能力,并将此方法用于 3 种食品中安息香酸和山梨酸的含量的分析,分析结果的 RSD 小于 3.1%($n=5$),检测限为 10~20 ng/mL($K=3$, $n=11$),分离的灵敏度、选择性大大提高。

2.2 食品抗氧化剂的检测

能防止或延缓食品成分氧化变质的食品添加剂称为抗氧化剂,我国已列入 GB2760 的抗氧化剂共有 17 种^[4]。抗氧化剂按溶解性可分为脂溶性与水溶性两类,按来源可分为天然的与人工合成的两类。抗氧化剂能够防止或延缓食品氧化反应的进行,但不能在食品发生氧化后使之复原。常用的抗氧化剂有水杨酸(BHA)、2,6-二叔丁基对苯甲酚(BHT)、没食子酸丙酯(PG)、特丁基对苯二酚(TBHQ)。

Paula Jane Vickers 等^[5]探索了可可粉、果酱、柠檬汁、蛋糕、饼干中的抗氧化剂酒石酸含量的测定方法,优化了分离条件,在高离子强度缓冲液、反相电渗流条件下,各种形式的酒石酸盐 12 min 实现了基线分离,检测限为 10 $\mu\text{g/mL}$ 。M. M. Delgado

Zamarreno 等建立了毛细管胶束电动色谱(MEKC)分离分析食用油样品中的 BHA、BHT 和 PG 3 种抗氧化剂的分离分析方法。并对固相萃取和液液萃取两种样品前处理方法进行了比较,结果显示:正己烷稀释-乙腈提取的液液萃取明显具有优势。向前采用 CE 技术对食品中 PG 和 BHA 2 种酚类抗氧化剂进行了分离分析,建立可以满足食品中 PG 和 BHA 的检测需求的方法。J. Hernandez-Borges 等在 125 mmol/L 的硼酸、49 mmol/L 的磷酸盐缓冲液中添加 2.5 mmol/L 的 α -环糊精作为运行缓冲液对经超声裂解的玉米、小麦、大麦和豌豆样品进行了检测分析。结果显示 3.5 min 完成了 8 种抗氧化剂分离,该方法简便、快速。

2.3 食品着色剂的检测

着色剂是使食品着色和改善食品色泽的食品添加剂,通常包括合成色素和食用天然色素两大类。食用合成色素主要是指化学方法所制得的有机色素。合成着色剂的着色能力强、色泽鲜艳、不易褪色、稳定性好、易溶解、易调色、成本低,但安全性较差。在我国允许使用的合成色素有苋菜红、胭脂红、赤鲜红、新红、诱惑红、柠檬黄、日落黄、亮蓝、靛蓝和它们各自的铝色淀,以及合成的叶绿素铜纳、 β -胡萝卜素和二氧化钛。

赵新颖等建立了 CE 法测定糖果中柠檬黄、苋菜红、日落黄、胭脂红、亮蓝等 5 种人工合成色素的分析方法。该方法用于测定市售样品取得满意的结果:在质量浓度范围 1.9~52.1 g/mL 之间,线性关系良好,回收率在 98.5%~102.6% 之间。Huang 等^[6]采用 CZE-UV 检测,在运行缓冲液中加入环糊精,9 min 内实现了 8 种色素(胭脂红、柠檬黄、坚牢绿、亮蓝、诱惑红、日落黄、靛蓝、新红)的分离。Eric Mejia 等^[7]将十二烷基硫酸钠(SDS)添加到硼酸缓冲液中,20 min 内实现了 4 种偶氮染料分离,并利用此方法对辣椒中苏丹红 I、II、III 进行了分析检测,取得了满意的结果。Toshiro Watanabe 等^[8]利用固相萃取与 CE 结合技术分析了果汁、果冻、糖果中的胭脂红等 6 种天然色素,并与气相色谱、高效液相色谱进行了比较,分析结果表明此方法具有更大的优越性。

Nicolo Dossi 等^[9]将通道结构的安培计安装在毛细管电泳上使其呈现出影印图谱的微构造芯片,成排排列的电极结构的应用比常规的毛细管电泳具有更高的灵敏度。将其应用于检测软饮料和糖果中的蓝色和绿色 2 种着色剂,两者的检测限分别为 10 μ mol/L 和 17 μ mol/L。Marketa Ryvolova

等^[10]开发了毛细管区带电泳-激光诱导荧光检测器(CZE-LIF)分析了苋菜红、赤鲜红、新红等 6 种红色着色剂的方法。结果显示此技术比毛细管区带电泳-紫外检测器(CZE-UV)灵敏度更高、分离效果更好。

为了获得更好的分离分析效果,在运行缓冲液中加入表面活性剂以及对检测器进行优化将成为今后 CE 研究的一个发展趋势。

2.4 食品酸味剂的检测

酸味剂是以赋予食品酸味为主要目的的食品添加剂,它还有调节食品 pH 值的作用。酸味剂分为有机酸和无机酸。食品中天然存在的主要有机酸包括柠檬酸、酒石酸、苹果酸和乳酸等。

Apichai Santalad 等^[11]利用硝基苯胍作为衍生剂对白酒、啤酒、水果和蔬菜汁等样品进行衍生后,采用 CZE 技术,以硼酸-乙腈作为运行缓冲液,12 min 内实现了柠檬酸、酒石酸、苹果酸等 11 种有机酸的分离。由于只需简单的稀释和过滤等样品的处理,CE 对酒类和饮料中的有机酸的测定比其它色谱方法更快速、经济。R. G. Peres 等^[12]采用 CZE-UV 检测技术,在 10 mmol/L 3,5-二硝基苯甲酸中添加 0.2 mmol/L 的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)作为运行缓冲液,对 23 种巴西酒中的 6 种有机酸进行了分离测定。结果表明方法可靠良好。Ines Mato 等^[13]采用 CZE 技术,仅以磷酸盐作为缓冲液,3.5 min 内分析了软饮料中的 16 种有机酸,而前期报道的 CZE 方法的分析时间是该方法的 2~6 倍。

2.5 食品甜味剂的检测

食品甜味剂是指赋予食品甜味的食品添加剂。按来源可分为天然甜味剂和人工合成甜味剂;按其营养价值可分为营养型和非营养型甜味剂。我国经卫生部批准使用的甜味剂有糖精钠、甜蜜素、甜味素、甜菊糖苷、甘草、安赛蜜、阿力甜、异麦芽酮糖醇、麦芽糖醇、山梨糖醇、木糖醇、乳糖醇及三氯蔗糖等共 15 种。

胡美珍等采用 CE 紫外检测技术分析了汽水、番茄沙司、蜜饯中的糖精。间接紫外检测是目前毛细管电泳检测技术发展的一个趋势,Stroka 等^[14]采用 CZE 间接紫外检测法测定一种高质量甜味剂——三氯蔗糖,检测限为 28 mg/L,线性范围为 42~1000 mg/L,线性相关系数为 0.9991,峰面积及迁移时间的 RSD 分别为 4.2% 和 3.6%。Cort-cero-Ramírez 等^[15]则利用 CZE 柱前衍生紫外检测的方法对软饮料中的葡萄糖、麦芽糖及麦芽三糖

进行了分离测定,在12 min内对3种物质实现了分离,3种化合物的检测限范围在3.82~4.14 mg/L之间。

邵寒娟等建立了CE定量测定低卡路里食品中甜菊糖苷含量的方法。4 min内可实现甜菊糖苷中两种主要成分瑞鲍迪苷A和甜菊糖苷的分离,但该方法在用于实际样品测定时结果不理想。刘露露等将HPCE法成功地运用到低热量食品中斯替维苷(St)和莱鲍迪苷(RA)含量的检测,RA和St在15 min内得到了很好的分离。线性关系良好,检测限分别为0.01 mg/mL和0.02 mg/mL。为了减少基体干扰,Masao Horie等^[16]在检测之前用固相萃取柱(SPE)对样品进行前处理,之后采用CZE技术对糖果、果酱、泡菜中的一种有害的糖精进行了测定,测定样品的检测限为5~10 µg/g,回收率为93.4%~108.3%。

CE与样品前处理技术兼容性好,为了获得更低的检测限,固相萃取技术作为主要的前处理技术被广泛应用。相对于其它色谱分离模式而言,CE对基体复杂的食品分离分析,具有更大的优越性。

2.6 食品营养强化剂的检测

营养强化剂是指为增强营养成分而加入食品中的天然的或人工合成的属于天然营养素范围的食品添加剂。

Prokorátová等^[17]采用CZE直接或间接紫外检测的方法分析不同食品中的L-肉碱,检测限为2.4~4.7 mg/L,回收率在91%~113%之间,结果与HPLC相同,而CZE具有更短的分析时间和更低的运行成本。由于过多的生物胺的摄入会导致神经中毒,采用CE检测食品中的生物胺受到广泛重视。Frantisek Kvasnicka等^[18]采用毛细管电泳-热导检测器成功地对所选样品中7种生物胺进行了分离分析。毛细管电泳-质谱(CE-MS)联用技术大大提高了CE检测的灵敏度,缩短了分析时间。Carolina Simo等^[19]采用毛细管区带电泳-离子阱质

谱(CE-IT-MS)与毛细管电泳-飞行时间质谱(CE-TOF-MS)两种结合技术对市售的3种白酒和1种红酒进行了分析测定,结果显示所含的5种生物胺在8 min内实现了分离,而HPLC检测时间为40 min。

王茜等^[20]建立了CE法快速测定保健食品中免疫球蛋白G(IgG)含量的方法,成功测定了不同剂型(片剂、粉剂及胶囊)牛初乳保健品中IgG的含量。样品只需简单处理,6 min内即可实现保健食品中IgG的分离与测定,方法简单快速。E. Bermudo等^[21]确立了CZE检测2-巯基苯甲酸衍生的丙烯酰胺的方法,并将其用于油炸食品、早餐饼干等样品的检测分析上。Elisabet Bermudo等^[22]建立了在线预富集-毛细管区带电泳技术分析检测薯片、小点心、麦片及咖啡中丙烯酰胺的方法,该方法比LG-MS/MS具有更低的检测限。Rodney Hau Fung Cheung等^[23]采用CZE技术,以烟酸作为内标物,8 mmol/L的磷酸-12 mmol/L硼酸为运行缓冲液,在214 nm处12 min内分析了方便面中维生素B的含量,并对方法的线性、精密度、准确性、重现性进行了考察,获得了满意的结果;为了消除基体干扰,样品使用之前用α-淀粉酶进行预处理。侯建霞等^[24]所在课题组自组装毛细管电泳-电化学检测系统(CE-ED),分析了苦荞麦芽中黄酮类物质,测定了表儿茶素、芦丁、槲皮素的含量,效果良好。

3 结 语

总之,CE以其样品处理简单、多组分同时测定、及越来越低的检出限,被广泛应用在食品添加剂的检测中。但是,其最大的弱点是灵敏度不高,因此,目前着力于CE与其他方法联用,如与质谱、生物传感器等联用。随着对CE方法研究的逐步深入,CE必将在食品分析领域得到更加广阔的应用。

参考文献(References):

- [1] 邓延倬,何金兰. 高效毛细管电泳[M]. 北京: 科学出版社,1996: 3-4.
 - [2] Nevin Oztekin, M. Said Nutku, F. Bedia Erim. Simultaneous determination of nitrite and nitrate in meat products and vegetables by capillary electrophoresis[J]. **Food Chemistry**, 2002, 76: 103-106.
 - [3] Fang Han, You-Zhao He, Lian Li, et al. Determination of benzoic acid and sorbic acid in food products using electrokinetic flow analysis-ion pair solid phase extraction-capillary zone electrophoresis[J]. **Analytica Chimica Acta**, 2008, 618: 79-85.
 - [4] 尤新. 食品抗氧化剂与人体健康[J]. 食品与生物技术学报,2006, 25(2): 1-7.
- YOU Xin. Food antioxidants and their influence to human health[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25

(2):1-7(in Chinese)

- [5] Paula Jane Vickers, Julian Braybrook, Paul Lawrence, et al. Detecting tartrate additives in foods: Evaluating the use of capillary electrophoresis[J]. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2007, 20:252-256.
- [6] Huang H Y, Shih Y C, Chen Y C. Determining eight colorants in milk beverages by capillary electrophoresis [J]. **Journal of Chromatography A**, 2002,959(1-2):317-325.
- [7] Eric Mejia, Yongsheng Ding, Maria F. Mora, et al. Determination of banned sudan dyes in chili powder by capillary electrophoresis[J]. **Food Chemistry**, 2007, 102: 1027-1033.
- [8] Toshiro Watanabe, Shigru Terabe. Analysis of natural food pigments by capillary electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2000,880:311-322.
- [9] Nicolo Dossi, Rosanna Toniolo, Andrea Pizzariello, et al. A capillary electrophoresis microsystem for the rapid in-channel amperometric detection of synthetic dyes in food[J]. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, 2007, 601:1-7.
- [10] Marketa Ryvolova, Petr Taborsky, Patrik Vrabec, et al. Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection[J]. **Journal of Chromatography A**, 2007, 1141:206-211.
- [11] Apichai Santalad, Pattana Teerapornchaisit, Rodjana Burakham, et al. Capillary zone electrophoresis of organic acids in beverages[J]. **LWT**, 2007,40:1741-1746.
- [12] Peres R G, Moraes E P, Micke G A, et al. Rapid method for the determination of organic acids in wine by capillary electrophoresis with indirect UV detection[J]. **Food Control**, 2009, 20:548-552.
- [13] Ines Mato, Jose F. Huidobro, Jesus Simal-Lozano, et al. Simultaneous determination of organic acids in beverages by capillary zone electrophoresis[J]. **Analytica Chimica Acta**, 2006, 565:190-197.
- [14] Stroka J, Dossi N, Anklam E. Determination of the artificial sweetener Sucralose by capillary electrophoresis[J]. **Food Addit Contam**, 2003, 20(6):524-531.
- [15] Cortacero Ram, Segura Carretero A, Cruces Blanco C, et al. Analysis of carbohydrates in beverages by capillary electrophoresis with precolumn derivatization and UV detection [J]. **Food Chemistry**, 2004, 87(3):471-476.
- [16] Masao Horie, Fusako Ishikawa, Mitsuo Oishi, et al. Rapid determination of cyclamate in foods by solid-phase extraction and capillary electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2007, 1154:423-428.
- [17] Prokhorov V, Kvasnicka F, Sevk R, et al. Capillary electrophoresis determination of carnitine in food supplements[J]. **Journal of Chromatography A**, 2005, 1081(1):60-64.
- [18] Frantisek Kvasnicka, Michal Voldrich. Determination of biogenic amines by capillary zone electrophoresis with conductometric detection[J]. **Journal of Chromatography A**, 2006, 1103:145-149.
- [19] Carolina Simo, Victoria Moreno M, Alejandro Cifuentes. Ion trap versus time of flight mass spectrometry coupled to capillary electrophoresis to analyze biogenic amines in wine[J]. **Journal of Chromatography A**, 2008, 1195:150-156.
- [20] 王茜, 丁晓静, 王心宇, 等. 毛细管电泳法快速测定保健食品中免疫球蛋白 G[J]. 分析化学, 2006, 34(7):1161-1164.
WANG Qian, ZHOU Xiao-jing, WANG Xin-yu, et al. Determination of immunoglobulin G in health food by capillary electrophoresis[J]. **Journal of Analytical Chemistry**, 2006, 34(7):1161-1164(in Chinese)
- [21] Bermudo E, Nunez O, Puignou L, et al. Analysis of acrylamide in food samples by capillary zone electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2006, 1120:199-204.
- [22] Elisabet Bermudo, Oscar Nunez, Luis Puigno, et al. Analysis of acrylamide in food products by in-line preconcentration capillary zone electrophoresis[J]. **Journal of Chromatography A**, 2006, 1129:129-134.
- [23] Rodney Hau Fung Cheung, Jeff G, Philip J, et al. Investigation of folic acid stability in fortified instant Asian noodles by use of capillary electrophoresis[J]. **Food Chemistry**, 2009, 112:507-514.
- [24] 侯建霞, 汪云, 程宏英, 等. 毛细管电泳检测苦荞芽中的黄酮类化合物[J]. 食品与生物技术学报, 2007, 26(2):12-15.
HOU Jian-xia, WANG Yun, CHEN Hong-ying, et al. Detection of buckwheat flavonoids in the bud by capillary electrophoresis[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**, 2006, 25(2):1-7(in Chinese)

(责任编辑:朱明)