

## 毛细管区带电泳法测定低卡路里食品中甜菊苷

邵寒娟<sup>1</sup> 胡涌刚<sup>\*2</sup> 沈明山<sup>1</sup> 陈睦传<sup>1</sup>

(厦门大学生物系<sup>1</sup>, 化学系<sup>2</sup>, 厦门 361005)

### 1 引言

当前,食用传统糖源已是造成肥胖、糖尿病以及心血管等疾病的重要原因之一。甜菊糖苷(主要成分为 stevioside (St) 和 rebaudioside A (RA)) 作为高甜度低热能的理想甜味剂,广泛用于食品和医药行业。本文通过对甜菊苷标样中两种主要成分 St 和 RA 的分离分析,探讨了进样量、电压、柱温、缓冲液浓度以及 pH 值等条件对其分离效果的影响,建立用毛细管电泳定量测定低卡路里食品中甜菊糖苷含量的快速、灵敏、高效的新方法。

### 2 实验部分

**2.1 仪器和试剂** CE3000 型毛细管电泳仪 (Bio-Rad, USA); 毛细管 (Bio-Rad, USA): 有效长度 45.4 cm, 总长 50 cm, 内径 50  $\mu\text{m}$  的熔硅石英管; 甜菊苷 (Sigma 公司), 甲醇 (A. R., 上海吴泾化工总厂), Tris (A. R., 上海吴泾化工总厂), 硼酸 (A. R., 上海吴泾化工总厂), 蒸馏水, 川谷绿豆百合羹 (上海川崎食品公司)。

### 2.2 样品处理

标准样品 St 和实际样品经甲醇 60 mmol/L Tris-硼酸 (1:1, V/V) 溶解配制成所需要的浓度, 实际样品浸泡过夜。

### 3 结果与讨论

**3.1 进样量的影响** 在 1~6  $\mu\text{s}$  进样量范围内, 标样中两种主要成分 St 和 RA 都能达到完全分离, 且峰型对称性都较好。随着进样量的增加, St 和 RA 的信号强度逐渐增强。选择最佳进样量 2  $\mu\text{s}$ 。

**3.2 柱温的影响** 随着柱温的升高, St 的出峰时间逐渐变短。在 15~40 的温度范围内, 标样中两种主要成分 St 和 RA 均能达到完全分离。柱温从 15~30, St 的信号强度逐渐增强。在柱温 30~40 的条件下, St 的信号强度基本保持不变。选择实验柱温为 30。

**3.3 工作电压的影响** 随着电压的增大, St 的出峰时间逐渐变短; St 的信号逐渐增强, 但在电压为 30 kV 的条件下略有下降。本实验选择工作电压为 25 kV, 因为此条件下 St 和 RA 具有较短出峰时间, 且具有最高的理论塔板数。

**3.4 缓冲液浓度的影响** 随着缓冲液浓度的增加, St 的出峰时间逐渐延长, 在 10~90 mmol/L 的浓度范围内, 标样中的两种主要成分都能达到完全分离。在 10~90 mmol/L 的浓度范围内, St 的信号强度逐渐增强, 且 St 和 RA 之间的分离度也逐渐增大, 之后随缓冲液浓度的增加, St 的信号强度及 St 和 RA 之间的分离度都逐渐下降。浓度为 60 mmol/L 的条件下信号强度较强, 具有较佳分离度。

**3.5 缓冲液 pH 值的影响** St 的出峰时间随着缓冲液 pH 值的增加而缩短。在 pH 值为 7.0 的条件下, RA 基本无信号。在 pH 7.0~8.0 范围内, 标样中两种主要成分的分离度逐渐增大, St 的信号强度也逐渐增强。在 pH 8.5~10.0 的范围内, St 和 RA 之间的分离度逐渐下降, St 的信号强度略有下降。在缓冲液 pH 7.0~10.0 范围内, St 和 RA 均能得到完全分离。缓冲液 pH 值为 8.0 的条件下, St 和 RA 之间的分离度最佳, 信号强度较强, 而出峰时间较短。

### 3.6 线性范围

优化条件下, 标样中两种主要成分 St 和 RA 的出峰时间较短, 在 4 min 内均实现各成分的分离, 分离速度比现有的 CE 法提高了 4 倍。St 的理论塔板数可高达  $1.1 \sim 10^4/\text{m}$ , 分离度比其他 CE 法至少提高 10 倍。在此条件下我们对同一样品在 3 d 内共进行 15 次实验 (每天 5 次), 发现 St 出峰时间 RSD < 0.45%。SS 在  $7.45 \times 10^{-5} \sim 1.74 \times 10^{-2}$  mol/L 的浓度范围内存在良好的线性关系。峰面积 (A) 与浓度 (C) 之间的线性回归方程为:  $A = 36339C + 4541.6$ , 相关系数为 0.9994。

**3.7 实际样品的分离测定** 在优化条件下, 我们测定了甜菊糖食品川谷绿豆百合羹的甜菊糖苷含量, 可能是由于该食品中甜菊糖含量较低缘故, 在电泳图谱中我们没有发现 RA 峰的存在。实际样品与甜菊苷标样两者 St 出峰时间稍有差异, 主要是因为实际样品中除甜菊糖苷外还存在较多的其他成分, 直接影响了 St 的出峰时间。由标准工作曲线得其中 St 的含量为 0.11%。