

酒中甜蜜素检测技术分析

陈文东

象州县食品药品检验检测中心 广西象州 545800

【摘要】随着国家科学技术的不断创新,对酒中甜蜜素进行检测的相关技术也得到了大幅度的提升与发展。目前对酒中甜蜜素进行检测的技术多种多样,但是经过改良的气相色谱技术、高效液相色谱技术以及气质联用技术最低的检测只能达到 1 毫克每升,离子色谱技术的最低检测限大约为 0.03 毫克每升,其他技术具备的灵敏度相对更低,都不能达到国外的检测标准。液质联用技术在对酒中甜蜜素进行检测的过程中,具有较高的灵敏度,能够达到 0.01 毫克每升,可以高效地迅速地对酒中的甜蜜素成分进行检测,具有较好的研究价值和推广价值。

【关键词】酒中;甜蜜素;检测技术;分析

【中图分类号】TS262.6 【文献标识码】A 【文章编号】2095-7165(2020)06-090-02

在酒中添加大量的甜蜜素会导致人体出现癌变,所以必须要对酒中含有的甜蜜素量进行严格的检测。随着我国科学技术不断的发展,对酒中的甜蜜素含量进行检测的技术也在不断的进步。目前市面上运用的检测技术主要有气相色谱技术、离子色谱技术、气质联用技术以及高效液相色谱技术等。本文将详细的对上述四项技术进行探究。

一、酒中甜蜜素检测的原因

甜蜜素(Sodium Eyclamate)被称之为环己氨基磺酸钠,在二十世纪三四十年代被发现,隶属于人工合成的甜味剂。甜蜜素主要是由氨基黄与环己胺等各类物质经过化学反应形成的,经过氢氧化钠处理之后重新结晶,从而得到的白色结晶粉末。甜蜜素产生的甜味相对比较纯正,风味较为自然,其具备的甜度大约是蔗糖具备甜度的 40 倍到 50 倍左右,美国已经将甜蜜素当做安全的调味剂进行广泛的运用。但是到二十世纪 70 年代左右,甜蜜素已经被科学的实验证实其中存在致癌物质,导致英国、美国以及日本在内的众多国家都明令禁止在食品中添加甜蜜素。Abbott 科学实验室与能量控制中心经过 10 余年的实验证实,甜蜜素具有较强的安全性能,可以被运用到食品中。虽然有实践证实甜蜜素的安全性,但是大部分的国家还是禁止在食品中添加甜蜜素。我国食品添加剂准则中明确指出,酒中的甜蜜素的占有量不得超过 0.65%。但是还是有很多不法的商家为了获取利益,在酒中大量的添加甜蜜素,所以相关质量监督人员必须要运用科学的甜蜜素检测技术对酒中含有的甜蜜素量进行检测。

二、酒中甜蜜素检测技术

(一)气相色谱技术

气相色谱技术作为测量酒中甜蜜素含量最普遍的技术,该项技术的原理主要是环己氨基磺酸钠在硫酸的介质中和亚硝酸产生化学反应,生成环己醇亚硝酸酯,再向其中加入环己烷与氯化钠进行混合萃取^[1]。而后将混合物质进行离心,再运用气相色谱技术对混合物质进行定量与定性。但是,白酒中的生产原料与生产工艺相对较为复杂且具有多样性,导致在对白酒中甜蜜素含量进行检测的过程中,受到严重的限制。主要原因是由于白酒中的物质自身就能进行反应生成环己醇亚硝酸酯,导致测量的甜蜜素含量不准。所以相关检测技术人员对技术进行了升级,将酒加热其中具有的环己醇物质全部挥发,从而保障检测甜蜜素含量的精准性。

(二)离子色谱技术

离子色谱技术是运用电导检测仪器对酒中富含的阴离子与阳离子的混合物,进行痕量与常量的分析测量^[2]。该项项目技术具有灵敏度高,选择性能好的优点。值得一提的是,相关检测人员建立了可以免用化学试剂进行检测的离子色谱技术——抑制电导检测酒中甜蜜素含量的技术,应用专门的分离柱,较好的优化电解水过程中产生的氢氧化钾淋洗液梯度淋洗的工序。检测之后的样品,不需要再衍生化,可以运用滤膜与离子色谱直接检验,运用外标法进行定量。其中要求甜蜜素的含量限制在每升 0.072 毫克。相关检测人员创新出固相萃

取的离子色谱技术,来测定酒中具有甜蜜素含量,运用 IonPacAS 17-C 分析柱,将酒进行稀释,在用滤膜与 C18 针头型小柱进行处理,将滤液进行检测,其中的检出限在 0.03 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与 3mg/kg 中,升级后的离子射谱技术具有无干扰、灵敏度高、简单易行、选择性能好、误差因素较少以及分析结果精准的特征,可以被广泛地运用到白酒甜蜜素含量的检测中,检测的结果准确,适用于白酒中甜蜜素的检测。

(三)气质联用技术

气质联用技术,具有较高的分辨率与较高的灵敏度,现阶段在对酒中甜蜜素含量进行检测的时候,被广泛地运用到对复杂物质鉴定与分离的过程中^[3]。相关检测技术人员运用 GC-MS 能够直接在对酒中的反应物质进行特定的检测,针对 GB/T 5009.97-2003 的气相色谱法技术进行深入的探究,经过实验得出的结果是:不管在什么样的条件之下,运用气质联用技术检测酒中甜蜜素含量的时候都没有产生环己醇亚硝酸酯,该物质中具有的特征性离子有: m/z 57、 m/z 82 以及 m/z 98,在反应的过程中生成的物质相对较为复杂,其中具有未知物质、环己烯、环己醇以及各类的氯代环己烷,上述反应的关键就是脂肪伯胺物质的重氮化反应^[4]。还有一些对酒中甜蜜素含量进行检测人员,在硫酸条件下,运用次氯酸钠溶液将酒溶液中具有甜蜜素转变成含有环己氨基的化合物 N 以及 N-二氯环己胺物质,再运用正己烷对其进行萃取之后,通过气质联用技术对其进行测定,选择基峰为 m/z 132[C₆H₁₁N]⁺、 m/z 97[CH₂N]⁺ 分别当作定量的离子,与定性离子,不但能够较为显著的规避,测量过程中出现假阳性的状况还能够规避国际标准中气象技术测定原理存在的问题,从而保障测量具有较高的灵敏度以及精准度,将检测的最低限达到一升每毫克^[5]。

(四)高效液相色谱技术

高效液相色谱技术主要就是运用液体具有流动性的原理,采取高压输液系统,从而实现对酒的分析与分离检测,其具有高分辨率、高灵敏度、高分离速率以及高效率的特征。被较为广泛地运用到农业、医学、工业化学等检测领域中,是较为关键的分离分析技术。就现阶段来讲,相关的检测人员已经运用二极管阵列仪器设备、紫外线吸收仪器设备以及蒸发散射仪器设备对酒中的甜蜜素含量进行检测。运用次氯酸钠,将酒中含有的甜蜜素进行转化,转化成为含有 N-二氯环己胺物质的化合物,将正己烷萃取之后运用高效液相普技术进行检测。运用该技术进行检测的过程中会产生环己氨基磺酸钠, N-二氯环己胺物质在反应的过程中不会被破坏与丢失。所以在检测的过程中不会出现假阳性的状况。其中检测限为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -1.50 $\mu\text{g}/\text{mL}$,定量限在 2.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ -5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ^[6]。

三、结束语

在对酒中甜蜜素含量进行检测的时候,需要针对性的运用相关的检测技术,其中关键技术有:气相色谱技术、离子色谱技术、气质联用技术以及高效液相色谱技术等。从而,精准地检测到酒中的甜蜜

(下转第 92 页)

由表 2 可见,与空白组相比,模型对照组肝脏脂肪变性的程度升高,差异有显著性 ($P < 0.05$);与模型对照组相比,高剂量组肝脏脂肪变性的程度明显降低,差异有显著性 ($P < 0.05$)。

表 2: 黄芪枳椇子胶囊内各物对小鼠肝脏组织病理学检查结果
($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量组 (g/kg, BW)	脂肪染色评分 (分)
空白对照	0	0.20 ± 0.42
模型对照	0	3.20 ± 0.53 ^{△△}
低剂量	0.2	3.00 ± 0.56
中剂量	0.4	2.30 ± 0.52
高剂量	1.2	2.00 ± 0.41*

注: △△表示与阴性对照组比较 $P < 0.01$; *表示与模型对照组比较 $P < 0.05$

4 讨论

摄入酒精过量,积累于体内,会诱导大量活性氧生成,这些活性氧会诱导肝细胞膜发生脂质过氧化反应,进而改变其流动性和通透性,细胞内生物活性物质的结构和功能也将因此受到破坏,最终导致肝细胞损伤,脂质过氧化作用是酒精性肝损伤(ALD)的发病机制之一^[1]。

谷胱甘肽(GSH)是肝细胞内存在的内源性抗氧化反应物质,具有清除异常自由基的作用,从而使肝细胞免于受到损害。研究表明,GSH能根据机体的需要,调节细胞内氧化还原反应,且具有解毒功能。^{[2][3]}长期饮酒者肝细胞内GSH含量明显降低,线粒体严重受损,氧自由基增多,由于抗氧化物质活性和含量降低,来不及消耗多余的氧自由基,从而加剧氧化应激反应^[4]。肝组织中GSH含量和活性,能一定程度上反映肝脏健康情况。

丙二醛(MDA)是自由基脂质过氧化反应的最终产物之一。^[5]肝脏MDA的含量可以反映肝脏脂质过氧化的程度,也是常用的了解肝脏健康的指标。

本研究结果显示,与空白组相比,模型组小鼠肝脏组织中GSH活性和含量明显降低,MDA明显升高。实验结果与前期查询到的文献论述相符,说明本次实验造模成功。与模型组相比,葛根护肝胶囊高剂量组能显著提高小鼠肝组织GSH含量和活性、显著降低肝组织中MDA含量。说明葛根护肝胶囊可以缓解氧化应激对酒精性肝损伤小鼠肝脏的损伤。

甘油三酯(TG)是存在于血液和肝脏中重要的内源性脂类物质,其合成、分解、代谢都依赖于肝脏,分解产物能提供维持生理运转的能量,研究表明^[6],摄入大量酒精可导致TG的代谢途径遭到破坏,使得过多的TG堆积于肝脏中,造成脂质代谢异常,引起肝脏中TG含量的显著上升。

本研究结果显示,模型组肝组织中TG含量与空白组相比显著升高,说明乙醇灌胃对肝脏造成了损害,导致TG在肝脏内沉积,符合文献报道,造模成功。与模型组比较,葛根护肝胶囊高剂量组肝组织中TG含量显著降低,表明本品对酒精性肝损伤小鼠肝脏具有保护作用。其原因可能是该方减少肝脏摄取游离脂肪酸、促进线粒体氧化、加速TG转运效率等。

生理状态下,机体内的脂质代谢保持一种稳定的平衡状态,当脂质代谢的重要器官受到损害时,平衡状态被打破,就会出现脂质异常代谢。当长期大剂量饮酒时,肝脏不断受到酒精的刺激,可造成肝细胞线粒体功能受损,肝组织内脂肪大量堆积,最终引起肝脂肪变性^[7]。

本实验采用50%乙醇灌胃,染色结果显示模型组出现脂肪沉积,表明成功建立模型。与模型组相比,葛根护肝胶囊高剂量组小鼠肝组织脂肪

变性评分降低,葛根护肝胶囊具有减轻酒精性肝损伤脂肪变程度的作用。

本配方是以葛根、黄芪、枳椇子、五味子、蜂胶、绿茶提取物为原料制成的保健食品,中医理论认为,酒为湿邪,配方中,枳椇子、葛根为中医常用的解酒毒药物,枳椇子利尿,葛根升阳;黄芪则兼具升阳利尿的作用,且能补气扶正,缓解了酒邪对人体正气的损耗,三原料联合使用,在解酒毒的同时,兼顾了湿易困脾的特点,升发脾之清气,促使湿热下行,兼可扶正,酒毒可解,此外,酒为阳邪,饮酒过量伤阴津,五味子在配方中的作用有二:1、五味子的生津作用,可有效缓解酒对阴津的伤耗,2、五味子的收敛作用,防止因黄芪、枳椇子利水太过对机体津液的伤耗,配伍增强功效的同时,在配方中对其他原料也起到制衡的作用。葛根、黄芪、枳椇子、五味子配伍使用,符合中医对酒邪的处理原则即“从脾论治”为主,扶正、解毒、化湿为补。

现代研究表明,蜂胶可通过增强肝组织清除氧自由基的能力,降低肝组织脂质过氧化反应而对慢性酒精性肝损伤产生保护作用^[8],绿茶对CYP450酶家族中诱导酒精性肝损伤发生的酶CYP2E1具有明显抑制作用,其主要成分多酚类物质具有较好的清除自由基的作用^[9],故能缓解酒精性肝损伤。可见两原料对酒精性肝损伤均具有保护作用,作用相对缓和,并富含多糖、多酚等对人体有益的营养物质,适用于保健食品,可长期服用。

5 小结

本品组方前进行了大量的文献查阅,组方综合考虑传统中医和现代科学对酒精性肝损伤的认识,并结合保健食品注册申报相关法律法规,最终确定了本品配方和用量,组方无配伍禁忌,前期配方论证工作和本实验研究结果均支持葛根护肝胶囊各原料配伍及其日用量具有辅助保护化学性肝损伤的作用。

[参考文献]

- [1] 厉有名,范建高,王炳元,等.酒精性肝病诊疗指南[J].临床肝胆病杂志,2010,26(03):229-232.
- [2] Ceriello A. Hyperglycaemia: the bridge between non-enzymatic glycation and oxidative stress in the pathogenesis of diabetic complications. Diabetes, Nutrition & Metabolism, 1999, 12(1):42-6.
- [3] Penninckx M. A short review on the role of glutathione in the response of yeasts to nutritional, environmental, and oxidative stresses[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2000, 26(9-10): 737-742.
- [4] Parola M, Robino G. Oxidative stress-related molecules and liver fibrosis[J]. Journal of hepatology, 2001, 35(2): 297-306.
- [5] Hartley D P, Kroll D J, Petersen D R. Prooxidant-initiated lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes: detection of 4-hydroxynonenal and malondialdehyde-protein adducts[J]. Chemical Research of Toxicology, 1997, 10(8):895-905.
- [6] 曾民德. 脂肪肝. 中华消化杂志, 1999, 19(3):120.
- [7] 郑纪宁, 郑淑芳, 李玉红, 等. 酒精性肝病的大鼠肝细胞超微结构的电镜学研究[J]. 承德医学院学报, 2000(04):115-118.
- [8] 陈小困. 蜂胶对慢性酒精性肝损伤的保护作用及其机制研究[J]. 健康研究, 2009, 29(02):89-91.
- [9] Kuo-Hsin CHEN, Ping-Chia LI, Wei-Hsiang LIN, et al. Depression by a Green Tea Extract of Alcohol-Induced Oxidative Stress and Lipogenesis in Rat Liver. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2011, 75(9):1668-1676.

(上接第 90 页)

素含量,保障国民饮酒健康。

[参考文献]

- [1] 闫吉昌, 马长海, 于明明, 辛若竹. 三种国标方法测定酒中甜蜜素的比较与方法改进[J]. 酿酒科技, 2019(12):54-59.
- [2] 张子臣, 朱爱国, 徐薇, 刘建洋. 食品中甜蜜素的应用及检测方法的比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(05):1261-1267.
- [3] 邵彪, 周小兰, 王琳琳, 刘飞, 陈刚. 甜蜜素的电喷雾串联

质谱行为及其在酒类分析检测中的应用研究[J]. 中国食品添加剂, 2018(06):166-172.

- [4] 李颖. 气相色谱技术检测食品中甜蜜素的实验条件改进和优化[J]. 食品安全导刊, 2017(36):60.
- [5] 罗凯. 气相色谱技术检测食品中甜蜜素成分的方法[J]. 广东化工, 2017, 44(02):121-122.
- [6] 廖劲松, 巫景铭, 洪瑞泽. 酒中甜蜜素检测方法研究进展[J]. 酿酒, 2011, 38(02):11-14.