

保健食品中吡啶甲酸铬的检测方法研究

杨大进 方从容 王竹天
(卫生部食品卫生监督检验所,北京 100021)

摘要:为建立保健食品中吡啶甲酸铬的高效液相色谱分析方法,研究了提取方法和色谱柱、流动相等液相色谱分析条件的选择,并对其稳定性进行了长期试验。加标回收率 > 93 %,相对标准偏差 3.1,最小检出量 10.0 mg/kg,结果符合保健食品分析的要求,可以用于片剂、胶囊等类型保健食品中吡啶甲酸铬的分析。2 年室温保存证明吡啶甲酸铬稳定性良好。

关键词:甲基吡啶类 营养保健品 食品分析 色谱法,高压液相

中图分类号:R15;TS218 **文献标识码:**A **文章编号:**1004 - 8456(2001)03 - 0008 - 03

添加吡啶甲酸铬的保健食品对糖尿病的治疗有重要的辅助作用,目前已有含有此物质的进口保健食品在我国销售。鉴于该物质与糖尿病人的健康有关,所以卫生部门必须对其添加物质的结构和添加量进行严格管理,为此,我们对保健食品中吡啶甲酸铬的高效液相色谱分析方法进行研究。

1 材料和方法

1.1 试剂

甲醇 优级纯。

磷酸氢二钾、磷酸二氢钾 分析纯。

吡啶甲酸铬(chromium picolinate)标准溶液 称取吡啶甲酸铬标准品 0.0100 g,加入甲醇:水 = 1:1 并定容至 100 mL,如有少量残渣,可使用超声波加速溶解。此溶液每毫升含 100 μ g 吡啶甲酸铬。

1.2 仪器设备

高效液相色谱仪 waters 510 型,附带紫外检测器(UV)。

超声波清洗器 KS-8000,宁波科生仪器厂。

离心机 LD4-2,北京医用离心机厂。

1.3 方法

1.3.1 试样处理 准确称取一定量片剂粉末或胶囊内容物于 25 mL 试管中,加入 20 mL 甲醇:水 = 1:1,超声提取 5 min 后以 3000 r/min 离心 3 min。经 0.45 μ m 滤膜过滤后待进样。

1.3.2 液相色谱参考条件

色谱柱 waters μ -BONDAPAK™ C18 4.6 mm $\times$ 250 mm。

柱温 室温。

紫外检测器 检测波长 254 nm。

流动相 0.125 M 磷酸盐缓冲溶液 乙腈 = 425:75。

流速 0.5 mL/min。

进样量 10 μ L。

色谱分析 量取 10 μ L 标准溶液及试样溶液注入色谱仪中,以保留时间定性,以试样峰高或峰面积与标准比较定量。标准溶液色谱图见图 1。

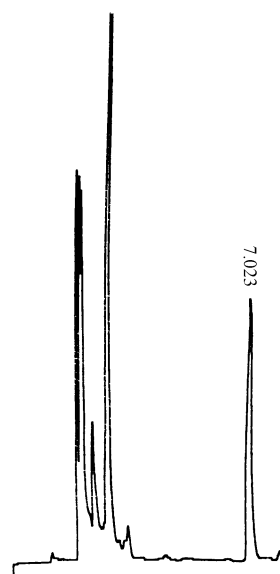


图1 标准溶液的色谱图
图中 7.023 为吡啶甲酸铬色谱峰的保留时间

2 结果与讨论

2.1 建立本方法的背景 随着近年来对铬元素研究的深入,认为三价铬是人体必需的微量营养元素,是葡萄糖耐量因子(GTF)的重要组成成分。人体在铬缺乏时会使糖代谢紊乱,血胰岛素升高,胰岛素亲

和力降低,B-细胞敏感型减弱,胰岛素受体数目减少,最终导致糖耐量异常和糖尿病发生。人体缺铬与长期精制食品、高糖饮食及年龄增长有关;此外,如剧烈的体育运动、身体创伤、怀孕等均会使铬缺乏。人体对有机铬的吸收比无机铬好,其中尤以吡啶甲酸铬的吸收最为理想。吡啶甲酸是人及哺乳动物肝脏、肾脏内产生的氨基酸代谢产物,并大量存在于牛奶等食物中,它能与三价铬紧密结合成吡啶甲酸铬。吡啶甲酸铬具有稳定性强,可顺利通过细胞膜直接作用于组织细胞,对糖尿病的治疗有重要辅助作用。有关此物质的功能试验文献报道较多,但未检索到近5年的检验方法文献报道。从物质结构上分析,吡啶甲酸铬的分析可以通过无机和有机分析两种途径进行。无机分析可以直接检测其中铬元素,但缺点是无法区分是人体所必需的三价铬还是对人体有害的六价铬,且无法了解与铬相连的是何种基团。有机分析可以通过特征响应波长对整个吡啶甲酸铬分子进行合理准确地分析,因此属于比较理想的检验方法。

2.2 前处理方法的选择 此类产品目前尚属于单一成分保健食品,组成比较简单,除吡啶甲酸铬作为功效成分外,其余均为淀粉等填充物,故可考虑采用比较简单的前处理方法进行检测。前处理中的关键问题是要保证试样中的吡啶甲酸铬能充分溶解在提取溶剂中。甲醇-水(1:1)对吡啶甲酸铬具有很好的溶解性,常温下100 mL可以溶解0.5 g以上,本方法选择了对被测物有较好提取效果、而对填充物不起任何作用的甲醇-水提取溶剂体系进行提取,提取净化过程一步完成,步骤简单且效果好。

2.3 液相色谱条件的选择 由于文献报道较少,在使用高压液相色谱对检测方法研究时,比较了岛津 Shim-pack C18、TSK C18、waters μ -Bondpak C18 等不同生产厂家、不同类型反相色谱柱。使用岛津 Shim-pack C18 和 TSK C18 分析时保留时间比较短,大约在2~4 min左右,故难以与杂质很好的分离;使用 waters μ -Bondpak C18 进行分析时保留时间在8 min,能与杂质很好的分离。在综合比较了出峰时间、分离效果等情况后认为 waters μ -Bondpak C18 对于该物质的分离效果相对理想。该色谱柱属于液相色谱分析中最常用色谱柱,这对于今后普及该方法非常有利。对该物质进行液相色谱分析时,如采用甲醇-水流动相体系液相色谱的分离效果明显不如使用缓冲溶液体系,且在缓冲溶液体系中使用乙腈的效果也比使用甲醇为好,故本法选择了磷酸盐-乙腈缓冲溶

液作为流动相。如果某些试样的杂质较多,与吡啶甲酸铬分离不好,还可通过减少流动相中乙腈的比例来提高分离效果。对吡啶甲酸铬标准溶液进行紫外光谱检测,发现其最大吸收波长为263 nm左右,为更好地推广本方法选择254 nm作为检测波长,可以有效地保证灵敏度。

2.4 方法的线性范围 分别配制浓度为0、2、5、10、50、100 μ g/mL 吡啶甲酸铬标准溶液,在给定的仪器条件下进行液相色谱分析,以峰高对浓度作校正曲线,得线性回归方程和线性相关系数分别为 $y = 25362.66x - 1025.42$, $r = 0.9999$ 。

2.5 方法的准确性 根据试样的测定步骤,作2个浓度加标回收实验,每个浓度作6个平行样,对于某一含量为2.14 mg/g 试样,低加标量(0.85 mg/g)平均回收率为93.4%,高加标量(4.25 mg/g)平均回收率95.3%,回收率结果符合保健食品分析要求。验证单位验证结果与此基本相符。

2.6 方法的精密度 为考察方法的精密度,准确取某一保健食品6份,经前处理后连续进样得结果见表1。相对标准偏差3.1%说明该方法的精密度较好。

表1 试样精密度测定结果

1	2	3	4	5	6	平均值	RSD %
4.3	4.6	4.6	4.4	4.3	4.5	4.4	3.1

2.7 实际试样测定和稳定性情况 采用本方法对大量试样进行检测发现此类保健食品存在有功效成分均匀性较差的问题,不仅批与批之间存在有较大差异,即使同一批试样之间也存在此问题,故应当提醒厂家在今后的生产工艺中加以改进。

2.8 吡啶甲酸铬的稳定性和检测结果确定性情况

对试样进行加速保存试验时,可以看出在规定的保存条件下,3个月内试样中吡啶甲酸铬含量没有显著变化。同一批试样在自然条件下放置2年后,试样含量也没有显著变化,我们所配制的标准溶液在普通冰箱冷藏室放置近4年,从色谱峰面积上未发现有显著变化。说明此物质比较稳定,具体结果见表2。这与文献报道是一致的,美国 All Lines 实验室早在1993年就对其稳定性进行了大量研究工作。该物质在有水的情况下可促进分解,但该物质不易溶于水,因此不易潮解,甲醇-水才是其最好的溶剂,但仍应避免潮湿。纯吡啶甲酸铬在110℃烘箱中放置2 h未发现分解现象。此外日常光线和空气均不会使其降解。其分解方式为2个分子吡啶甲

酸铬 $\text{Cr}[\text{C}_5\text{H}_4\text{NCO}]_3$ 可以水解为 2 个吡啶甲酸

和 1 个吡啶酸铬二聚体

$\left[\text{Cr}[\text{C}_5\text{H}_4\text{NCO}]_2\text{OH}\right]_2$ 。在 All Lines 实验室的实

验报告中除检测吡啶甲酸铬外,还特别检测了吡啶甲酸和二聚体含量。根据其实验结果,如果吡啶甲酸铬的保留时间在 7.65,则吡啶甲酸和二聚体的保留时间分别为 2.51 和 2.83,即使有分解现象,吡啶甲酸铬的含量也不会低于 99.80 %。由此可证明根

据文中的实验条件所检测的是吡啶甲酸铬,非分解产物。

表 2 试样中吡啶甲酸铬稳定性试验结果

试验次数	加速保存试验		自然状态保存	
	时间	含量	时间	含量
原始数据		4.6		4.6
第一次试验	一个月	4.8	半年	4.6
第二次试验	两个月	4.4	一年	4.3
第三次试验	三个月	4.4	两年	4.4

2.9 今后吡啶甲酸铬的检测发展方向 鉴于吡啶甲酸铬对糖尿病人有较好的保健作用,目前有生产厂家打算在糖尿病人专用降糖奶粉中添加该物质,故如何针对基质复杂试样进行检测将是今后研究的重点。

Study on the determination method of chromium picolinate in health food/Yang Dajin ,Fang Congrong ,Wang Zhutian//Chinese Journal of Food Hygiene. 2001 ,13(3) :8~10

Abstract: For developing the determination method of chromium picolinate in health food by HPLC,extraction method and HPLC operation conditions such as columns,mobile phase had been optimized.Long term stability test of chromium picolinate had been done. Recovery of the standard spiked > 93 % ,the RSD was 3.1 ,the lowest detection limit was 10.0 mg/kg,the result fits the demand of the analysis of health food. This method can be used in analysis of the content of chromium picolinate in types of tablet and capsule health food. 2 years store experiment in room temperature showed that chromium picolinate was stable.

Author's address: Yang Dajin ,Institute of Food Statety Control and Inspection ,Ministry of the Health ,Beijing 100021 PRC.

Key Words: Picolines Dietary Supplements food analysis Chromatography ,High Pressure Liquid

[上接第 2 页]

样之间也存在问题,故应当提醒厂家在今后的生产工艺中加以改进。生产经营保健食品不仅要守法,而且要讲科学,只有遵纪守法、讲科学,才能立于不败之地。

目前我国正在由点到面地实施学生饮用奶计划,这是增强学生体质的一个重要举措。但由于这一计划将涉及众多的奶生产经营厂家,涉及一个很大数量的消费群体,而这个群体又较少食品卫生知识和生活经验,所以学生集体饮奶重要的是防范食物中毒,尤其是在奶生产加工不够现代化的中小城市、城镇、农村,可以说奶的卫生问题是保障这一计划顺利进行的关键问题,应是今后食品卫生监督工作重点注意的问题。学生集体饮奶,在我国一些城市中、小学有先例,也积累了一些经验,希望这些同志能总结介绍这方面工作的经验,以期作为全国的借鉴。

从卫生部的文件中可以看到,食品造假花样叠出,出人意料,出于对于利润的追逐,这类问题还会发生,希望各地在发生此类问题后,能以学术文章的形式向我们投稿。