

实验技术与方法

高效液相色谱-串联质谱法同时测定调味品中8种人工合成甜味剂

阮丽萍,蔡梅,吉文亮,马永建

(江苏省疾病预防控制中心,江苏 南京 210009)

摘要:目的 建立一种高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS)同时测定调味品中8种人工合成甜味剂(安赛蜜、甜蜜素、糖精、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜、三氯蔗糖、新橘皮苷二氢查耳酮)。方法 样品用水提取,提取液用甲醇沉淀水溶性大分子化合物,离心后取上清液经过中性氧化铝固相萃取柱分离色素,采用 C_{18} 色谱分离柱,以10 mmol/L甲酸铵溶液-乙腈进行梯度洗脱,电喷雾负离子模式下多反应监测(MRM)模式检测。结果 线性范围分别为糖精于0.05~5 $\mu\text{g}/\text{ml}$,三氯蔗糖于0.1~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$,其它甜味剂于0.01~1 $\mu\text{g}/\text{ml}$,线性关系良好, $r^2 > 0.990$ 。在3个添加水平下,样品平均回收率为82.7%~117.9%,RSD为0.6%~10.6%。甜味剂于液体及半固体基质中的检出限均为0.01~0.1 mg/kg,于固体基质中的检出限为0.1~1 mg/kg。结论 本方法选择性强、灵敏度高、处理方法简单,可用于调味品中8种人工合成甜味剂的测定。

关键词:人工合成甜味剂;高效液相色谱-串联质谱法;调味品;食品添加剂

中图分类号:R155;O657.63;TS202.3 文献标识码:A 文章编号:1004-8456(2013)04-0331-05

Simultaneous determination of eight artificial sweeteners in flavorings by HPLC-MS/MS

RUAN Li-ping, CAI Mei, JI Wen-liang, MA Yong-jian

(Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Nanjing 210009, China)

Abstract: Objective To establish a HPLC-MS/MS method for simultaneous determination of eight artificial sweeteners in flavorings. **Methods** The artificial sweeteners, including acesulfame-K, cyclamate, saccharin, aspartame, alitame, neotame, sucralose and neohesperidine dihydrochalcone were extracted with water and the water-soluble macromolecular compounds in flavorings were precipitated with methanol. The supernatant was cleaned-up using aluminum-N cartridges and separated on a C_{18} column using 10 mmol/L ammonium formic acid/acetonitrile as mobile phase and then detected by HPLC-MS/MS using multiple reaction monitoring (MRM) in negative ionization mode. **Results** The calibration curves showed a good linearity with correlation coefficients > 0.990 . The linear range for saccharin was 0.05 - 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.1 - 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ for sucralose, and the other sweeteners was 0.01 - 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$. The average recoveries were from 82.7% to 117.9%, and the relative standard deviations (RSD) were from 0.6% to 10.6%. The detection limits for liquid and semi-solid sweeteners were from 0.01 to 0.1 mg/kg and 0.1 to 1 mg/kg for solid sweeteners. **Conclusion** The method was specific, sensitive, easy, fast and suitable for the confirmation and quantification of 8 artificial sweeteners in flavorings.

Key words: Artificial sweetener; HPLC-MS/MS; flavoring; food additive

调味品是指在饮食、烹饪和食品加工中用于调和滋味,并具有去腥、除膻、解腻、增香增鲜作用的产品^[1],分为液体、半固体及固体。人们的日常饮食离不开调味品,所有的加工食品也离不开调味品。在一些调味品中加入甜味剂,能使食物甜美可口,而人工合成甜味剂的甜度是蔗糖的几十至几千倍,且成本低,在甜味剂中所占比重日益增大,已越

来越多地应用于调味品中,其安全性也成为关注的焦点。我国目前批准使用的合成甜味剂主要有糖精、甜蜜素、阿斯巴甜、安赛蜜、三氯蔗糖、阿力甜、纽甜和新橘皮苷二氢查耳酮^[2],对它们的使用范围及使用剂量有明确规定。研究表明,摄入高剂量的甜味剂会导致皮肤病变、头痛、情绪变化、行为异常、呼吸困难、癫痫、过敏甚至癌症^[3],其合理使用至关重要。然而,实际生产中甜味剂的滥用现象屡禁不止,给人们的饮食安全带来隐患。因此,有必要建立一种专属性强、灵敏度高、定性定量准确、能同时检测多种甜味剂的分析方法,对调味品中甜味剂的使用情况进行监测。

目前已有多种分析技术用于食品中合成甜味

收稿日期:2013-04-23

基金项目:江苏省临床医学中心(高技术平台)(ZX201109)

作者简介:阮丽萍 女 主任技师 研究方向为食品理化检验

E-mail: ruan1964@sohu.com

通讯作者:蔡梅 女 副主任技师 研究方向为食品理化检验

E-mail: mei_mei3721@yahoo.com.cn

剂的检测,包括高效液相色谱法、高效离子色谱法、薄层色谱法、气相色谱法、毛细管电泳法、流动注射分析法、电化学方法、光谱分析方法等^[3-6],仅少数方法适合同时检测多种甜味剂。近年来建立高效液相色谱-质谱联用法(HPLC-MS)分析食品中的甜味剂成为一种趋势^[7-12]。但是这些方法涉及的品种还不够全面,研究对象多为酒类和饮料等较为简单的基质。本研究采用高效液相色谱-串联质谱法(HPLC-MS/MS),在多反应监测(MRM)模式下同时测定调味品中8种人工合成甜味剂,可有效排除假阳性,能满足目标化合物的定性定量要求,在实际工作中有很强的实用性。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

Accela 高效液相色谱仪、TSQ Quantum Access Max 三重四极杆质谱仪(配电喷雾离子源)(均购自美国 Thermo Fisher),超声波清洗机,离心机。

甲醇、乙腈、甲酸铵(均色谱纯),试验用水均为超纯水,中性氧化铝固相萃取柱(Bond Elut, 2 g 装),甜味剂标准品安赛蜜、糖精、阿斯巴甜、甜蜜素、三氯蔗糖(均购自德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH),新橘皮苷二氢查耳酮、阿力甜、纽甜(均购自美国 ChromaDex)。

1.2 方法

1.2.1 样品前处理

液体调味品:精密量取酱油等液体调味品 1 ml 于 15 ml 离心管中,加 4 ml 甲醇,涡旋 1 min,超声提取 20 min,3 500 r/min 离心 5 min。取上清液于 10 ml 量瓶中,加水至刻度。样品溶液通过中性氧化铝固相萃取柱,弃去最初滤液 5 ml,接收余下滤液 1.0 ml,12 000 r/min 离心 5 min,上清液进行 HPLC 分析。

半固体调味品:准确称取面酱等半固体调味品约 1 g 于 15 ml 离心管中,加入 1 ml 水及 4 ml 甲醇,涡旋 1 min,其它步骤同液体调味品。

固体调味品:准确称取固体样品约 1 g 于 10 ml 量瓶中,加水至刻度,超声 15 min,3 500 r/min 离心 5 min。精密量取上清液 1 ml 于 15 ml 离心管中,其它步骤同液体调味品。

1.2.2 对照品溶液的制备

分别精确称取一定量的 8 种固体标准品,以 50% 甲醇为溶剂,分别制备质量浓度为 1 mg/ml 的标准储备液。分别精密量取上述 8 种标准溶液适量,置 10 ml 容量瓶中,加水定容至刻度,得每 1 ml 含三氯蔗糖 100 μ g、糖精 50 μ g、其他 6 种对照品各 10 μ g 的混合对照品储备液。

1.2.3 仪器条件

色谱条件:采用 Agilent Eclipse Plus C₁₈ 色谱柱(100 mm × 2.1 mm, 3.5 μ m),流动相 A 为 10 mmol/L 甲酸铵溶液,流动相 B 为乙腈,梯度洗脱(0 ~ 2 min, 2% B; 2 ~ 4.5 min, 2% ~ 40% B; 4.5 ~ 7.5 min, 40% B; 7.5 ~ 8 min, 40% ~ 2% B; 8 ~ 12 min, 2% B),流速 0.3 ml/min,柱温 30 $^{\circ}$ C,进样体积 10 μ l。

质谱条件:电喷雾电离负离子模式(ESI-),多反应监测(MRM),喷雾电压 2.5 kV,辅助气(N₂)压力 3.0 L/min,鞘气(N₂)压力 12 L/min,碰撞气(Ar)压力 1.5 mTor,毛细管温度 350 $^{\circ}$ C,气化温度 400 $^{\circ}$ C,具体质谱参数见表 1。

表 1 8 种甜味剂在 MRM 模式下的质谱参数

Table 1 MS parameters for 8 sweeteners in MRM mode

甜味剂	保留时间/min	管透镜电压/V	MRM 发射离子/(m/z)	碰撞能量/eV
安赛蜜	2.41	56	162.0 > 82.2 *	15
			162.0 > 78.2	37
甜蜜素	4.74	79	178.0 > 80.1 *	37
			178.0 > 96.2	23
糖精	4.53	64	182.0 > 106.0 *	19
			182.0 > 61.9	21
阿斯巴甜	5.39	69	293.0 > 261.1 *	13
			293.0 > 200.1	18
阿力甜	5.68	75	330.0 > 312.1 *	16
			330.0 > 295.1	21
纽甜	6.58	76	377.1 > 200.0 *	21
			377.1 > 230.1	22
三氯蔗糖	5.48	72	395.0 > 359.0 *	13
			395.0 > 326.3	21
新橘皮苷二氢查耳酮	6.00	108	611.0 > 302.9 *	36
			611.0 > 125.0	42

注:* 表示定量离子。

2 结果与讨论

2.1 样品前处理

8 种甜味剂均为水溶性化合物,样品用水提取,去除水溶性大分子(如蛋白质)和水溶性色素等干扰物质的影响是本研究前处理的目标。比较了不同浓度的甲酸和甲醇的沉淀效果,结果表明 80% 左右的甲醇沉淀效果最好。使用 HLB 固相萃取柱,色素与甜味剂的保留行为一致,几乎无法将其分离。而中性氧化铝是一种强极性吸附相,对色素有较好的吸附作用,比较过柱前后甜味剂浓度的变化,过柱后的浓度为过柱前浓度的 80% ~ 120%,显示中性氧化铝对甜味剂的吸附作用比较弱,能较好地起到纯化作用。由于安赛蜜等甜味剂的极性很大,进样溶剂中甲醇浓度过高易出现分叉峰,可用氮气吹干甲醇,再加水定容。但是这一步骤比较费时,尤其样品数量较大时,保持甲醇浓度低于 40%,基本

可以避免这一问题。

2.2 仪器条件优化

首先利用流动注射的方式对各种待测化合物的管透镜电压和碰撞能量进行优化, 得到各物质的特征离子和碰撞能量(见表 1)。8 种化合物的母离子均为分子离子峰 $[M-H]^-$ 。为了获得良好的分离效果和离子化效率, 本研究对流动相进行了优化。分别比较了甲醇和乙腈作为有机相, 水、乙酸铵和

甲酸铵作为水相的分离效果。结果表明, 乙腈作为有机相的分离效果最好; 水相中加入缓冲盐, 多个化合物的拖尾峰型得到明显改善, 响应值增大; 甲酸铵与乙酸铵相比, 能使保留时间短的化合物出峰时间后延, 减少基质干扰。最终确定乙腈为有机相, 10 mmol/L 甲酸铵溶液为水相, 梯度分离。色谱图见图 1。

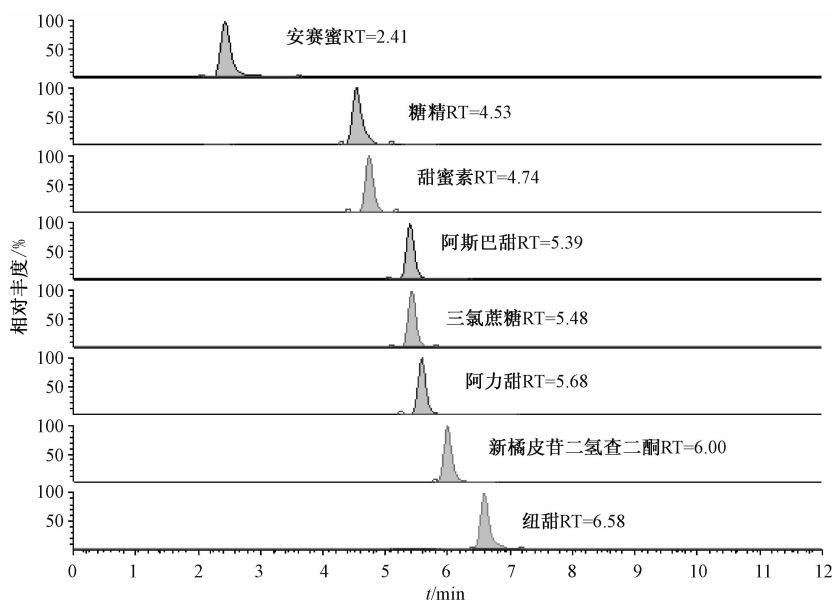


图 1 8 种甜味剂标准溶液的总离子流图

Figure 1 Ion chromatograms for the calibrator of 8 sweeteners

2.3 标准曲线和基质效应

为了比较样品基质对目标化合物质谱信号的影响, 分别以阴性液体调味品(酱油)、半固体调味品(面酱)和固体调味品(五香粉)制作空白基质, 添加相应浓度的标准品溶液制备与空白基质匹配的混合标准溶液, 制作工作曲线。以各分析物的峰面积(y)和对应的浓度(x , ng/ml)进行线性回归计算, 得到线性方程和相关系数(见表 2)。在线性范围内, 各分析物均有良好的线性关系, r^2 均 > 0.990 。将目标化合物在不同基质中工作曲线的斜率与标准曲线斜率进行比较, 斜率变化若在 $\pm 20\%$ 范围内则认为基质效应可以忽略^[13-14]。结果表明, 糖精和阿斯巴甜在 3 种基质中没有明显的基质效应; 三氯蔗糖在液体和半固体基质中表现出基质抑制效应; 安赛蜜、甜蜜素、纽甜在液体和半固体基质中表现出基质增强效应; 新橘皮苷二氢查耳酮在固体基质中有基质增强效应; 阿力甜则在 3 种基质中均有基质增强效应。由于不同基质对甜味剂质谱信号的影响是不同的, 本方法采用工作曲线定量以减少基质效应对测定结果的影响。

2.4 加标回收率和精密度

采用在空白样品中添加标准溶液的方法, 分别在 3 个浓度水平对液体、半固体及固体调味品进行加标回收率试验, 平行测定 6 次, 以评价该方法的准确度。所得到的平均加标回收率和相对标准偏差 (RSD) 见表 3。3 种基质中 8 种甜味剂的回收率在 82.7% ~ 117.9% 之间, RSD 在 0.6% ~ 10.6% 之间, 符合食品理化检测要求^[15]。

2.5 检测限与定量限

按加标回收率的方法制备样品溶液, 以信噪比 $S/N \approx 3$ 时各标准品溶液浓度为检出限, 以信噪比 $S/N \approx 10$ 时各标准品溶液浓度为定量限, 详见表 3。

2.6 样品测定

运用本研究建立的方法, 分别对液体、半固体及固体调味品各 10 余种进行检测, 8 种甜味剂均有检出, 浓度由 0.1 到 179 mg/kg 不等, 多数调味品中添加 1 种甜味剂, 也有 2 种甜味剂合用的。本单位曾对 200 多种酱油及酱中三氯蔗糖的含量进行调查, 大约 10% 的调味品中添加了三氯蔗糖。建立同时检测 8 种人工合成甜味剂的液质联用法, 对全面

表2 8种甜味剂的线性范围、线性方程、相关系数

Table 2 Linear ranges, calibration curves, correlation coefficients (r^2) of 8 sweeteners

甜味剂	线性范围/ (mg/L)	标准曲线及工作曲线(r^2)			
		标准溶液	液体调味品	半固体调味品	固体调味品
安赛蜜	0.01 ~ 1	$y = -227 + 1204x$ (0.993)	$y = -867 + 2197x$ (0.996)	$y = 35352 + 1993x$ (0.994)	$y = -1545 + 1335x$ (0.995)
甜蜜素	0.01 ~ 1	$y = -2961 + 420x$ (0.993)	$y = -3488 + 845x$ (0.993)	$y = -548 + 684x$ (0.995)	$y = -2423 + 393x$ (0.994)
糖精	0.05 ~ 5	$y = 3878 + 157x$ (0.994)	$y = -506 + 128x$ (0.995)	$y = 7011 + 152x$ (0.994)	$y = 15728 + 146x$ (0.992)
阿斯巴甜	0.01 ~ 1	$y = 1238 + 1088x$ (0.995)	$y = -2664 + 876x$ (0.997)	$y = 2018 + 901x$ (0.996)	$y = -1457 + 886x$ (0.997)
阿力甜	0.01 ~ 1	$y = 77029 + 6616x$ (0.996)	$y = 509242 + 12858x$ (0.992)	$y = 403126 + 25151x$ (0.987)	$y = 112132 + 11952x$ (0.989)
纽甜	0.01 ~ 1	$y = -1165 + 1416x$ (0.995)	$y = -10836 + 1792x$ (0.992)	$y = 4536 + 2577x$ (0.991)	$y = 3181 + 1409x$ (0.998)
三氯蔗糖	0.1 ~ 10	$y = 1247 + 33x$ (0.991)	$y = 24583 + 20x$ (0.991)	$y = 26781 + 22x$ (0.983)	$y = 2642 + 34x$ (0.986)
新橘皮苷二氢查耳酮	0.01 ~ 1	$y = -6929 + 3154x$ (0.992)	$y = -7849 + 3177x$ (0.998)	$y = 6338 + 3224x$ (0.996)	$y = -10471 + 4628x$ (0.998)

表3 8种化合物的检测限、定量限、加标回收率和精密度

Table 3 Limits of detection (LODs), limits of quantification (LOQs), recoveries and relative standard deviations (RSD) at three spiked levels of 8 sweeteners ($n = 6$)

甜味剂	LOD* (mg/kg)	LOQ* (mg/kg)	添加量/ (mg/kg)	(平均回收率 ± RSD) / %		
				液体调味品	半固体调味品	固体调味品*
安赛蜜	0.01	0.03	10	85.6 ± 7.7	90.7 ± 7.1	82.7 ± 2.5
			1	110.6 ± 3.9	99.4 ± 10.0	116.0 ± 5.1
			0.1	96.6 ± 1.4	96.7 ± 7.2	99.8 ± 1.0
甜蜜素	0.01	0.03	10	92.9 ± 8.3	103.7 ± 9.2	100.6 ± 7.5
			1	108.2 ± 5.2	101.1 ± 3.1	101.3 ± 8.3
			0.1	102.7 ± 6.4	97.0 ± 0.9	97.5 ± 5.1
糖精	0.05	0.15	50	80.6 ± 8.6	88.5 ± 7.4	105.3 ± 3.7
			5	116.0 ± 4.4	105.6 ± 6.8	107.6 ± 2.7
			0.5	98.1 ± 0.6	96.1 ± 1.7	95.4 ± 1.5
阿斯巴甜	0.01	0.03	10	108.1 ± 10.6	103.5 ± 5.0	85.7 ± 5.0
			1	113.0 ± 7.8	100.2 ± 7.8	100.8 ± 7.6
			0.1	104.0 ± 7.8	100.1 ± 3.1	98.6 ± 4.1
阿力甜	0.01	0.03	10	96.3 ± 10.5	80.9 ± 8.8	84.2 ± 3.3
			1	112.4 ± 5.0	109.6 ± 4.7	99.9 ± 8.4
			0.1	97.3 ± 3.4	91.5 ± 5.8	94.7 ± 4.1
纽甜	0.01	0.03	10	117.9 ± 7.9	98.2 ± 6.0	101.9 ± 8.4
			1	95.7 ± 6.7	98.3 ± 6.4	99.6 ± 9.1
			0.1	105.0 ± 3.2	101.3 ± 6.1	100.7 ± 2.7
三氯蔗糖	0.10	0.30	100	90.6 ± 8.8	97.3 ± 9.0	90.8 ± 5.8
			10	88.5 ± 10.6	90.4 ± 5.7	110.4 ± 4.4
			1	100.7 ± 5.4	94.9 ± 4.4	88.2 ± 2.8
新橘皮苷二氢查耳酮	0.01	0.03	10	108.0 ± 9.6	95.7 ± 6.1	95.2 ± 7.2
			1	95.3 ± 7.6	104.2 ± 6.6	98.2 ± 5.9
			0.1	101.3 ± 1.7	98.5 ± 7.3	100.5 ± 4.6

注：*表示固体基质中添加量为液体基质及半固体基质的10倍，相应的LOD和LOQ值亦为液体基质及半固体基质中的10倍。

了解调味品中甜味剂的使用情况更具有现实意义。

全面调查和了解调味品中甜味剂的使用情况提供了技术支持。

3 结论

本研究建立的HPLC-MS/MS法可同时检测调味品中8种人工合成甜味剂，从实际样品的检测结果来看，本方法选择性强、灵敏度高、样品处理方法简单，适合于各类调味品中甜味剂的日常检测，为

参考文献

- [1] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 20903—2007 调味品分类[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.
- [2] 中华人民共和国卫生部. GB 2760—2011 食品添加剂使用卫

- 生标准[S].北京:中国标准出版社,2011.
- [3] Zygler A, Wasik A, Namies'nik J. Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs [J]. Trends Anal. Chem, 2009, 28(9):1082-1102.
- [4] 刘婷, 吴道澄. 食品中甜味剂的检测方法[J]. 中国调味品, 2011, 36(3):1-13.
- [5] 肖立群, 张承聪, 张承明. 人工合成甜味剂的检测技术研究进展及应用[J]. 云南化工, 2010, 37(4):49-53.
- [6] 董桂贤, 王朝霞, 张桂芳, 等. 超高效液相色谱法同时测定酱腌菜中的7种防腐剂与2种甜味剂[J]. 中国食品卫生杂志, 2013, 25(2):155-158.
- [7] 夏于林, 李明春, 张莹, 等. 液相色谱串联质谱法同时测定白酒中4种甜味剂方法研究[J]. 中国酿造, 2011, 228(3):156-158.
- [8] 刘晓霞, 丁利, 刘锦霞, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定食品中6种人工合成甜味剂[J]. 色谱, 2010, 28(11):1020-1025.
- [9] 尹峰, 丁召伟, 曹雪, 等. 固相萃取-高效液相色谱/串联质谱法测定食醋中的3种甜味剂[J]. 色谱, 2011, 29(6):554-557.
- [10] 稽超, 冯峰, 陈正行, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定葡萄酒中的5种人工合成甜味剂[J]. 色谱, 2010, 28(6):749-753.
- [11] 吴世嘉, 王洪新, 陶冠军. 超高压液相色谱-质谱同时测定白酒中6种微量甜味剂的方法研究[J]. 食品与生物技术学报, 2012, 29(5):670-675.
- [12] YANG D J, CHEN B. Simultaneous determination of nonnutritive sweeteners in foods by HPLC/ESI-MS[J]. J Agric Food Chem, 2009, 57(8):3022-3027.
- [13] Greulich K, Alder L. Fast multiresidue screening of 300 pesticides in water for human consumption by LC-MS/MS[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 391(1):183-97.
- [14] Gilbert-López A, García-Reyes J F, Lozano A, et al. Large-scale pesticide testing in olives by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry using two sample preparation methods based on matrix solid-phase dispersion and QuEChERS[J]. J Chromatogr A, 2010, 1217:6022-6035.
- [15] 国家标准化管理委员会. GB/T 27404—2008 实验室质量控制规范 食品理化检测[S]. 北京:中国标准出版社, 2008.

实验技术与方法

碱解法测定动物水解蛋白中 *L*-羟脯氨酸的含量

杨清华, 史玉坤, 施逸岚

(南通市疾病预防控制中心, 江苏 南通 226000)

摘要:目的 建立了使用聚四氟乙烯带盖水解管, 以 NaOH 溶液为水解液的碱解法测定动物水解蛋白中 *L*-羟脯氨酸(*L*-Hydroxyproline, *L*-Hyp)含量。方法 将样品置于 10 ml 水解管中, 加入 6 ml 2.5 mol/L NaOH 溶液在 110 °C 烘箱中加热 2 h, 水解出的 *L*-Hyp 经氯胺 T 氧化后与对二甲氨基苯甲醛反应生成红色络合物, 在 (558 ± 2) nm 处测定其吸光度。结果 在优化实验条件下, 该方法的线性范围 0 ~ 10 μg/ml ($r = 0.9993$), 检出限 1.35 μg/g, 样品测定的 RSD 在 1.0% ~ 2.3%, 加标回收率为 88.7% ~ 96% (加标量为 30 mg/kg)。结论 相对酸解法, 碱解法的水解效率和酸解法基本一致, 样品前处理操作简单, 缩短了测定时间, 灵敏度、重复性和稳定性良好。

关键词:碱解法; *L*-羟脯氨酸; 乳与乳制品; 分光光度法; 违法添加物

中图分类号: R155.57 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2013)04-0335-04

Determination of *L*-hydroxyproline in hydrolyzed animal protein based on alkaline hydrolysis

YANG Qing-hua, SHI Yu-kun, SHI Yi-lan

(Nantong Center for Disease Control and Prevention Jiangsu Nantong 226000, China)

Abstract: Objective To establish a method based on alkaline hydrolysis for determination of *L*-hydroxyproline (*L*-Hyp) in hydrolyzed animal protein, in which NaOH solution and polytetrafluoroethylene (PTFE) hydrolysis tube with cover were used. **Method** The sample was hydrolysed by 6 ml 2.5 mol/L NaOH solution in 10 ml hydrolysis tube and heated in the oven at 110 °C for 2 h. The hydrolysate of *L*-Hyp was oxidized by chloramine-T and then reacted with paradime thylaminobenzaldehyde to generate red complex. The absorbency was determined at (558 ± 2) nm. **Results** Under the optimal conditions, the calibration curve was linear in the range of 0-10 μg/ml with detection limit of 1.35 μg/g,

收稿日期: 2013-06-04

基金项目: 南通市科技项目 (HS2011027)

作者简介: 杨清华 助理工程师 研究方向为食品卫生及环境理化检验 E-mail: qhyang0822@163.com