

赛默飞元素分析 - 稳定同位素质谱仪联用 (EA-IRMS) 对天然椰子水中总糖同位素的分析

马潇

赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司

关键词: 椰子水; 总糖; 稳定同位素; $\delta^{13}\text{C}$; 真实性鉴别; EA-IRMS

摘要

针对非浓缩还原 (NFC) 椰子水中可能存在的外源糖掺假问题, 本研究建立了一种基于元素分析 - 稳定同位素比值质谱 (EA-IRMS) 的总糖 $\delta^{13}\text{C}$ 测定方法。通过对天然椰子水样品进行总糖分离纯化, 并测定其碳同位素组成, 探究椰子水总糖的同位素特征及其与外源 C_4 植物糖的差异。结果表明, 该方法前处理过程中无明显同位素分馏, 重复性良好 (标准偏差 $\leq 0.1\%$)。天然椰子水总糖 $\delta^{13}\text{C}$ 呈现典型 C_3 植物特征, 而外源甘蔗糖 (C_4 植物) 与其存在显著差异, 可用于椰子水中外源糖的鉴别。本方法为椰子水真实性检测提供了可靠的技术手段。

1 引言

椰子水是一种天然植物饮料, 富含电解质及少量天然糖分, 近年来市场需求持续增长。然而, 高价值的 NFC 椰子水容易受到掺假行为的影响, 如添加蔗糖、高果糖浆等外源糖以降低成本^[1]。

稳定碳同位素技术已被广泛应用于食品真实性鉴别。不同光合作途径的植物 (C_3 与 C_4) 在 $\delta^{13}\text{C}$ 值上具有显著差异, 其中 C_3 植物 (如椰子) 通常为 -20% 至 -35% , 而 C_4 植物 (如甘蔗) 为 -9% 至 -18% 。因此, 通过测定样品中总糖的 $\delta^{13}\text{C}$ 值, 可有效判断是否存在外源糖添加。

已有研究表明, 通过 EA-IRMS 测定果汁中总糖 $\delta^{13}\text{C}$ 具有高精度和良好重复性, 并可用于掺假鉴别。本研究在此基础上, 建立椰子水中总糖 $\delta^{13}\text{C}$ 测定方法, 并评估其在真实性鉴别中的应用潜力。

2 实验

2.1 仪器

Thermo Fisher EA isoLink 元素分析仪

Thermo Fisher Delta Q 稳定同位素比值质谱仪 (IRMS)

离心机

百万分之一分析天平

2.2 试剂与材料

2.2.1 试剂：氢氧化钙（分析纯），硫酸（分析纯）。

2.2.2 标准物质：IAEA-CH-6、USGS 40.

2.2.3 样品：椰子水样品（不同产区），蔗糖（C₄植物来源，用于模拟掺假），市售椰子水饮料。

2.3 样品采集与保存

采集新鲜椰子水样品，过滤后分装于离心管中，-18℃冷冻保存，待测前解冻。

2.4 样品前处理

本实验样品前处理参考标准：QB/T 4854-2015 橙汁中总糖和果肉的稳定碳同位素比值（¹³C/¹²C）测定方法 稳定同位素比值质谱法^[2]。

取 30mL 椰子水于离心管中，在 3500r/min 条件下离心 10min，收集上清液。向上清液中加入 1.4g 氢氧化钙，搅拌均匀后，置于 90℃水浴中加热 3 分钟，室温下再以 3500r/min 条件下离心 3min，去除沉淀，留上清液；用 0.1mol/L 稀硫酸调节上清液至 pH5.0 左右，在 4℃静置过夜。保存待用。

2.5 样品测定

取 1μL 处理后的样品于锡纸杯中，包样待测。或者将样品用冷冻干燥机进行冷冻干燥处理后取 0.1mg 包样检测。

2.6 仪器条件

载气流速 :180ml/min

进样口吹扫气流速 :70ml/min

氦气节约模式 HeM 开：从反应管分流的载气以 130ml/min 返回并吹扫进样口，约 2 分钟后终止该部分气流的吹扫。

氧气流速：200ml/min

喷氧时间：3 秒

进样延迟：10 秒

燃烧炉温度：980℃

GC 温度：55℃

TCD 极性：Negative

参比气信号：CO₂：8V；

样品碳稀释百分比：0%

起止峰检测（Start/End Slope）：CO₂：0.2/0.4 mv/s

背景值：BGD 44：2mv

背景值扣除法：Calc Mean BGD，即取出峰之前 5 秒的 BGD 信号的平均值

2.6 数据处理

C 同位素组成采用相对于国际标准物质（RST，如 VPDB）的千分差 ‰，用 δ 符号表示：

$$\delta^{mX}(\text{‰}) = \left(\frac{R_{\text{spl}}}{R_{\text{st}}} - 1 \right) \times 1000 \quad \dots\dots \text{式 1}$$

通过 EA-IRMS 联机系统分析时，样品 C 同位素组成采用相对于工作标气（WG，如 CO₂）进行测定，统一溯源到相对于国际标准（ST）：

$$\delta_{\text{Spl}}^{\text{T}} = \delta_{\text{Spl}}^{\text{M}} + \delta_{\text{WG}}^{\text{T}} + \frac{\delta_{\text{Spl}}^{\text{M}} \delta_{\text{WG}}^{\text{T}}}{1000} \quad \dots\dots \text{式 2}$$

为了消除 EA-IRMS 联机系统在时间上漂移引起的测量误差，在样品分析序列中插入已知同位素组成的标准物质（Std）进行进一步校准。在本实验中使用了 USGS40、IAEA6 两种国际通用标准物质，对样品进行两点线性校正。

$$\delta_{\text{Spl}}^{\text{T}} = \frac{\delta_{\text{Std1}}^{\text{T}} - \delta_{\text{Std2}}^{\text{T}}}{\delta_{\text{Std1}}^{\text{M}} - \delta_{\text{Std2}}^{\text{M}}} \times (\delta_{\text{Spl}}^{\text{M}} - \delta_{\text{Std2}}^{\text{M}}) + \delta_{\text{Std2}}^{\text{T}} \quad \dots\dots \text{式 3}$$

3 结果与分析

3.1 天然椰子水与商品椰子水总糖 δ¹³C 特征

将不同产地的天然椰子水及商品椰子水处理后测定其总糖的 δ¹³C 值，结果示于表 1。

样品	总糖的δ ¹³ C(‰)	SD (‰)(n=3)
海南椰青	-25.162	0.07
泰国椰子1	-25.103	0.06
泰国椰子2	-25.339	0.10
印尼椰子	-25.635	0.08
越南椰子	-25.555	0.07
商品椰汁1	-17.830	0.06
商品椰汁2	-18.104	0.10
商品椰汁3	-17.397	0.05
商品椰汁4	-25.275	0.08

表1：天然椰子水及商品椰子水总糖的δ¹³C

表中结果表明，不同来源椰子水样品的总糖 δ¹³C 值呈现出显著分组特征。天然来源样品（海南、泰国、印尼及越南）的 δ¹³C 值范围为 -25.103‰ 至 -25.635‰，平均值为 -25.359‰，符合典型 C₃ 植物碳同位素分布区间。各样品重复测定的标准偏差（SD）均 ≤0.10‰（n=3），表明方法具有良好的精密度和重复性。

相比之下，部分商品椰子水样品（商品 1-3）的 δ¹³C 值显著偏正，分布在 -18.104‰ 至 -17.397‰ 之间，平均值为 -17.777‰，与天然椰子水存在明显差异。该范围接近 C₄ 植物来源糖（如甘蔗糖）的 δ¹³C 特征区间，表明这些样品中可能存在外源 C₄ 糖的添加。天然样品与商品 1-3 之间的 δ¹³C 差异超过 7‰，远高于方法误差范围，具有统计学显著性（p < 0.01，）。

此外，商品 4 样品的 δ¹³C 值为 -25.275‰，落在天然椰子水分布范围内，表明其未检测到明显的 C₄ 糖掺入，或掺假比例低于检测限。

3.2 天然椰子水掺糖模拟实验

向椰子水中加入不同比例蔗糖（C₄ 植物），如表 2 所示，测定总糖 δ¹³C 变化趋势。

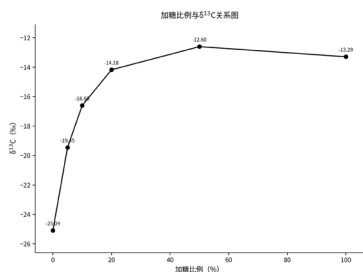


图1: 椰子水中δ¹³C与外源添加甘蔗糖含量的相关性分析

加糖比例 (%)	δ ¹³ C (‰)
0	-25.095
5	-19.449
10	-16.603
20	-14.175
50	-12.604
100	-11.291

表2: 椰子水中加入甘蔗糖比例

本研究考察了不同加糖比例对椰子水 δ¹³C 值的影响。结果表明，随着加糖比例由 0% 增加至 100%，样品的 δ¹³C 值由 -25.095‰ 逐渐升高至 -11.291‰，呈现明显的单调递增趋势。这一变化表明外源糖的加入显著改变了体系的碳同位素组成。由于椰子水来源于 C₃ 植物，其 δ¹³C 值通常较低，而外加蔗糖多来源于 C₄ 植物（如甘蔗或玉米），具有相对较高的 δ¹³C 值，因此随着加糖比例增加，混合体系的 δ¹³C 值逐渐向 C₄ 来源特征偏移。

进一步分析发现，δ¹³C 值在低加糖区间（0-20%）变化较为显著，而在高加糖区间（50-100%）变化趋于平缓，说明该关系具有一定的非线性特征。这种现象可能与不同来源碳的混合行为及同位素质量平衡有关。总体来看，δ¹³C 值与加糖比例之间具有良好的相关性，且在低掺假水平下具有较高的灵敏度，表明该指标可用于椰子水中外源糖添加的定性识别及定量评估。

4 结论

本实验建立了基于元素分析 - 稳定同位素比值质谱（EA-IRMS）的椰子水中总糖 δ¹³C 测定方法。实验结果表明，该方法前处理过程中未引入明显同位素分馏，方法重复性良好（SD≤0.1‰），满足精密度要求。天然椰子水样品的总糖 δ¹³C 值稳定分布于 C₃ 植物特征区间，而添加外源 C₄ 植物糖（如蔗糖）的样品 δ¹³C 值显著偏正，二者差异明显且远高于方法误差范围。通过模拟掺假实验发现，δ¹³C 值随外源糖添加比例增加呈规律性变化，可实现对椰子水中 C₄ 来源糖的有效识别。

综上，该方法具有良好的准确性、重复性及应用可行性，可作为椰子水掺入 C₄ 糖真实性鉴别的重要技术手段，为食品质量控制及监管提供可靠的科学依据。

5 参考文献

- [1] Use of stable isotopes of carbon to detect coconut water adulteration. Scientia Agricola.
- [2] QB/T 4854-2015 橙汁中总糖和果肉的稳定碳同位素比值（¹³C/¹²C）测定方法 稳定同位素比值质谱法。



赛默飞
官方微信

热线 800 810 5118
电话 400 650 5118
www.thermofisher.com

thermo scientific