

GCMS 检测食品中的甜蜜素

徐嘉 王学连 杨晓燕 郑建明 周立

(江苏天瑞仪器股份有限公司, 江苏 昆山 215300)

中图分类号: 0657.63 文献标志码: B

摘要: 甜蜜素是食品生产中常用的添加剂,是一种常用甜味剂,其甜度是蔗糖的 30~40 倍,控制限量对人们的身体健康有重要意义。气相色谱质谱联用为主要检测方法,本方法对食品中环己基氨基磺酸钠经超声提取后,在冰浴条件下,与亚硝酸钠发生重氮化反应生成衍生物环己醇亚硝酸酯,衍生物进入气相色谱质谱联用仪进行分离检测。结果表明最低检测限为 800ug/kg,即 0.8mg/kg,远低于限量要求。

关键词: 甜蜜素, 超声提取, 重氮反应, 气相色谱质谱联用

GCMS detection of sodium cyclamate in food

XU jia , WANG xue-lian, YANG xiao-yan, Zheng jian-ming, ZHOU li

(Jiangsu Skyray Instrument Co.,LTD.,Kunshan Jiangsu 215300)

Abstract : Sodium cyclamate is used in the production of food additives. It is a commonly used sweetener, the sweetness of sucrose 30 to 40 times, the control limits on people's health is very important. GCMS as the main detection method, this method generates derivative cyclohexanol nitrites in food cyclohexylamino sodium after ultrasonic extraction, under ice-cooling, the reaction with sodium nitrite occurs diazo derivatives were separated into the GCMS for testing. The results showed that the lowest detection limit of 800ug/kg that is, 0.8mg/kg, well below the limit requirements.

Keywords: Cyclamate ,Ultrasonic extraction ,Diazo reaction,GCMS

甜蜜素也叫环己基氨基磺酸钠,是食品生产中常用的添加剂。甜蜜素式最常见的一种甜味剂,其甜度是蔗糖的 30~40 倍^[1]。毒性较小^[2]。消费者如果经常食用甜蜜素含量超标的饮料或其他食品,就会因摄入过量对人体的肝脏和神经系统造成危害,特别是对代谢排毒的能力较弱的老人、孕妇、小孩危害更明显。目前甜蜜素的成品检验及食品中甜蜜素含量测定缺乏简便快速的分析方法。

本文采用超声提取,在酸性介质中甜蜜素与亚硝酸钠反应进行衍生化,通过气相色谱质谱联用法对食品中甜蜜素进行定性和定量分析,甜蜜素方法主要参照国家标准GB/T5009.97-2003^[3],相应的检测方法还有高效液相色谱法^[4]和液质联用等方法^[5]等。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

江苏天瑞仪器股份有限公司气相色谱质谱联用仪: GCMS6800

作者简介: 徐嘉(1990-),男,助理工程师,主要从事化学检测及应用

甜蜜素标准储备溶液：称取一定量的甜蜜素标准品（纯度为 99.0%）于干燥容量瓶中，用水配成 1000mg/kg 标准储备溶液。

试剂均为优级纯，试验用水为二次蒸馏水。

1.2 仪器工作条件

1.2.1 气相色谱条件

DB-5 毛细管色谱 (30m × 0.25mm, 0.25μm); 载气: 氦气 (纯度为 99.999%), 载气流量 1.0mL/min; 进样口温度 250℃, 进样量 1.0μL, 进样方式为分流进样, 分流比 10:1; 程序升温: 初始温度为 40℃, 保持时间 10min, 以 25℃/min 速率升至 270℃, 保持时间 5min。

1.2.2 质谱条件

电子轰击离子源 (EI), 四级杆温度 150℃, 接口温度 280℃; 采集方式为选择离子监测扫描 (SIM), 溶剂延迟时间 6min, 选择 3 个监测离子质荷比 (m/z) 为 55, 81, 83。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

将样品用高速粉碎机粉碎均质或用剪刀剪碎, 称取 5g (精确至 0.01g) 样品于 50ml 具塞离心管, 加入 20ml 水, 先涡旋振荡 1min, 然后水浴超声 15min, 最后摇床震荡 10min, 以 6000r/min 旋转离心 10min, 移取 10mL 上清液于 50mL 离心管中, 冰浴待衍生化。

1.3.2 标准样品前处理

直接移取 20mL 超纯水于 50mL 离心管中, 准确吸取一定浓度的甜蜜素标准溶液 1mL, 按照上述样品衍生步骤进行衍生化反应。以 6000r/min 旋转离心 10min, 移取 10mL 上清液于 50mL 离心管中, 冰浴待衍生化。

1.3.3 衍生化和测定

在冰浴好的上清液中加入 2.5mL 的 100g/L 硫酸溶液和 2.5mL 的 50g/L 亚硝酸钠溶液, 混匀, 冰浴 30min, 期间摇匀数次。加入正己烷 5mL, 氯化钠 3g, 涡旋震荡 1min, 6000r/min 旋转离心 10min, 移取 1.0mL 上清液通过 0.45μm 过滤膜后气相色谱-质谱条件下测定。

2 结果与讨论

2.1 特征和离子的选择

甜蜜素的主要衍生物环己醇亚硝酸酯作为定性和定量, 如图 1。保留时间 8.511min。定性离子 (m/z) 为 55, 81, 83。定量离子为 55。质谱图见图 2。

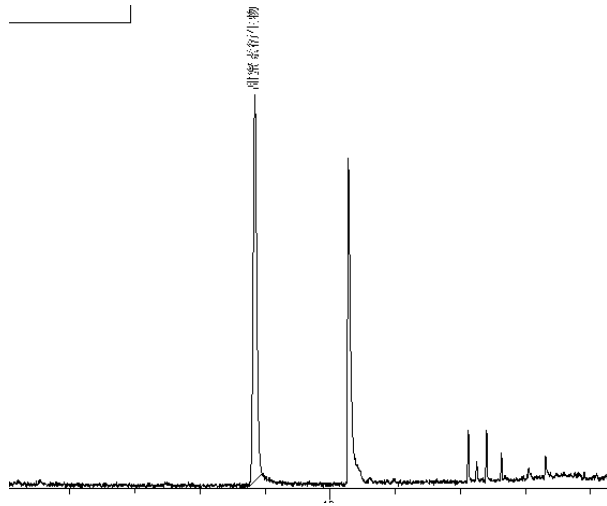


图 1、甜蜜素衍生物在总离子流色谱图
Figure 1, Cyclamate derivatives total ion chromatogram

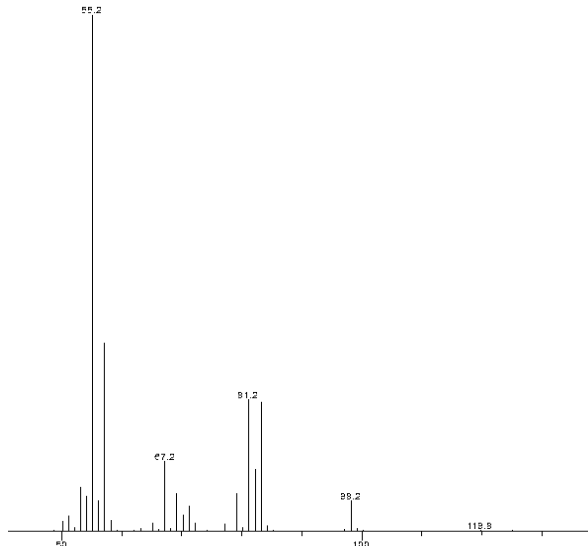


图 2、甜蜜素衍生物的质谱图
Figure 2, Cyclamate derivative spectrum

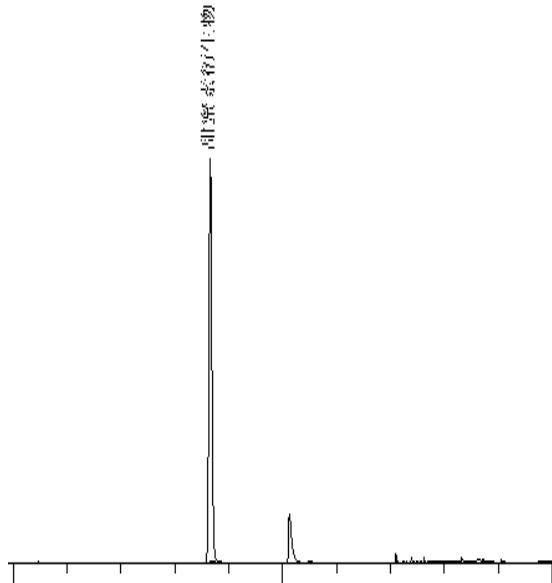


图 3、甜蜜素衍生物在 SIM 扫描下的离子流色谱图

Figure 3, Cyclamate derivative SIM under scanning ion chromatogram

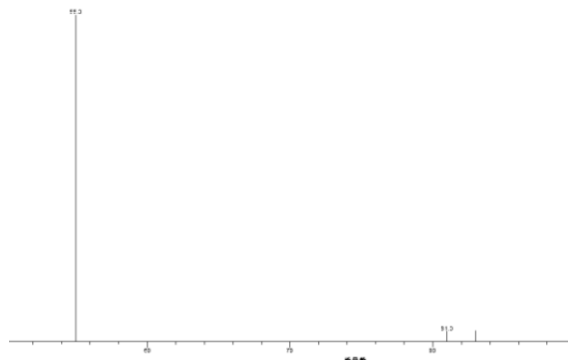


图 4、甜蜜素衍生物在 SIM 扫描下的质谱图

Figure 4, Cyclamate derivative SIM under scanning spectrum

2.2 前处理条件选择

2.2.1 衍生时间选择

准确吸取的 1ml 甜蜜素储备液溶液按照上述衍生步骤进行衍生化，甜蜜素衍生物浓度为 200ug/mL，衍生反应时间分别设置为 10min、20min、30min、40min、50min，考察反应时间对反应的影响。结果表明，随着时间从 10min 升至 30min，衍生物信号响应值逐渐增加，随着反应时间的延长，响应值反而出现降低，因此，衍生反应温度 30min 最佳。

2.2.2 硫酸浓度的选择

准确吸取的 1mL 甜蜜素储备液溶液按照上述衍生步骤进行衍生化，甜蜜素衍生物浓度为 200ug/mL，冰浴反应条件下，加入 50g/L 的亚硝酸钠和分别为 50g/L，75g/L，100g/L，125g/L，150g/L。结果表明，酸度从 50g/L 至 100g/L，反应衍生物信号响应值明显增加，浓度升高时，响应值出现减少，因此，最终衍生反应酸度为 100g/L。

2.2.3 亚硝酸钠浓度对衍生反应的影响

准确吸取的 1ml 甜蜜素储备液溶液按照上述衍生步骤进行衍生化衍生化，甜蜜素衍生物浓度为 200ug/mL，冰浴反应条件下，加入 100g/L 的硫酸，和分别为 30g/L，50g/L，70g/L，90g/L 亚硝酸钠。结果表明，酸度从 30g/L 至 50g/L，反应衍生物信号响应值明显增加，浓度升高时，响应值出现减少，因此，最终亚硝酸钠衍生反应为 50g/L。

3 实验数据

3.1 精密度和重复性实验

准确移取储备液 500uL 于离心管中，用水定容 20mL 按照上述标样衍生步骤进行衍生化，衍生物浓度为 100ug/mL，平行制备反应液 6 次，用 GC-MS 测定。考察衍生方法的重现性以及组分保留时间和峰面积的相对标准偏差，6 个平行样的谱。结果表明，保留时间 RSD 为 0.98%，峰面积 RSD 为 6.00%，具体实验数据如下表 1 所示。

样品名称	保留时间	保留时间 RSD%	峰面积	峰面积 RSD%
1	8.611	0.98%	96798	6.00%
2	8.518		99549	
3	8.406		105518	
4	8.431		99798	
5	8.411		87708	
6	8.410		96500	

表 1、重复性测试结果

Table 1, repeatable test results

3.2 线性关系和检测限

准确吸取浓度为 10ug/mL 的甜蜜素标准溶液 10ul 于 50ml 离心管中对应衍生物浓度分别为 2ug/mL、10ug/mL、20ug/mL、100ug/mL、200ug/mL，按照上述标样衍生化步骤进行衍生化，进行线性测试。实验所得线性方程为： $y=940.43x-3525.57$ ，线性相关系数为 0.9984，如图 5 所示。以 3 倍信噪比计算，最低检测限为 0.8mg/kg 该方法的最低检测限远低于国标中的限量要求。我国《食品添加剂使用标准》明确规定，在糕点、面包、饮料、雪糕、酱菜、调料、配制酒等中甜蜜素的最大使用量为 0.65g/kg；在凉果，话梅等中甜蜜素的最大使用量为 8.0g/kg。

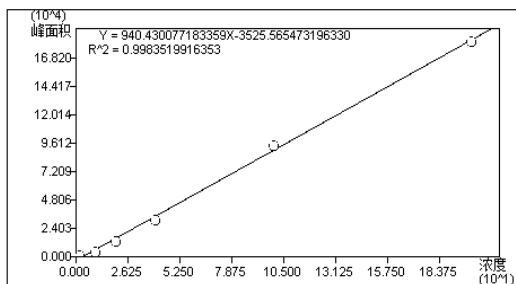


图 5. 线性关系图

Figure 5, Linear

3.3 回收率测试

选择 2mg/kg、50mg/kg、200mg/kg 的标样添加浓度，对某品牌橙汁进行回收率实验，每个浓度分别做三次平行样，按处理样品的方法处理加标后的样品并测试，采用外标法定量，测试结果如下表 2 所示。

浓度/mg/kg	回收率 1/%	回收率 2/%	回收率 3/%	平均回收率/%
2	109.6	104.7	107.7	107.3
50	99.84	113.7	103.5	105.7
200	108.3	114.9	116.7	113.3

表 2、回收率测试结果

Table 2, the recovery test results

3.4 实际样品测试

按照上述样品处理方法对酱油，橙汁，杏仁，杏仁壳样品进行前处理和衍生化，使用 GC-MS6800 进行测试，测试结果如下表 3 所示：

样品	甜蜜素含量/mg/kg
橙汁	N.D.
酱油	N.D.
面包	N.D.
杏仁	17.833
杏仁皮	266.816

注：“N.D”表示“未检出”

表 3、食品中甜蜜素含量测试结果

Table 3., cyclamate in food content of the test results

4 结论

作者简介：徐嘉(1990-),男，助理工程师，主要从事化学检测及应用

食品中的甜蜜素经过亚硝酸钠重氮化反应，生成的衍生物通过 GCMS 进行测定分析，该方法重现性好，保留时间 RSD 为 0.98%，峰面积 RSD 为 6.00%。同时具有良好的线性范围，线性相关系数为 0.9984，方法最低检测限为 0.8mg/kg。

三种标样添加浓度的回收率在 105.7%-113.3%之间，结果偏高，原因可能为标样当中的衍生物浓度较高分解为环己醇比较多，导致标样浓度降低，回收率也偏高。

本实验采用 GCMS-6800，在 SIM 扫描模式下对食品中的甜蜜素进行测试和分析，方法稳定可靠，线性范围好，灵敏度高，受杂质峰的干扰小，能够有效地对食品中的甜蜜素进行定性定量分析。

参考文献

- [1] 闫福安. 国内外合成甜味剂的发展现状及趋[J]. 广州食品工业科技, 2003, 19(1): 46-47.
- [2] 丰达明, 陈诚之. 离子缔合型离子选择电极的研究 XII. 环己烷氨基磺酸根(甜蜜素)电极的研制[J]. 分析化学, 1988, 16(8): 738-739, 737>.
- [3] GB/T 5009.97-2003 食品中环己基氨基磺酸钠的测定[S].
- [4] 黄卫国; 杨小满; 黄建东; 陈圆. 液质联用快速测定果冻中的甜蜜素[J]. 广州化工, 2013, (16): 135-136.
- [5] 段淑娥; 张常虎; 屈颖娟; 王静. 高效液相色谱法测定食品中的甜蜜素[J]. 广州化工, 2012, (07): 136-138.