

GC-MS 法测定葡萄酒中环己基氨基磺酸钠

林超, 段建发, 陆奕娜

(汕头出入境检验检疫局, 广东汕头 515031)

摘要: 利用气相色谱-质谱联用技术的定性定量优势, 对葡萄酒中环己基氨基磺酸钠的检测方法进行了探讨, 改进了样品处理方法, 建立了 GC-MS 测定葡萄酒中甜蜜素的方法。经方法验证, 甜蜜素在 0.5 mg/kg~200 mg/kg 范围内呈良好线性, 方法回收率在 93.0%~107.6% 范围内, 相对标准偏差小于 4%。该方法样品处理简单, 定性准确, 精密度高, 适合葡萄酒中甜蜜素的定量定性分析测试。

关键字: 气相色谱-质谱; 环己基氨基磺酸钠; 葡萄酒

文章编号: 1673-9078(2012)6-722-724

Determination of Sodium Cyclamate in Wine by GC-MS

LIN Chao, DUAN Jian-fa, LU Yi-na

(Shantou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Shantou 515031, China)

Abstract: The method for determination of sodium cyclamate in wines was improved by investigating the sample treatment procedure and adopting GC method. Sodium cyclamate showed good linear relations in the range from 1.0 mg/kg to 400 mg/kg, the recovery of the method was between 93.0% and 107.6%. The precision (RSD) was less than 4%. This method was suitable for determination of sodium cyclamate in wines with simple treatment procedure, high precision and accuracy.

Key words: GC-MS; wine; sodium cyclamate; determination

甜蜜素化学名为环己基氨基磺酸钠, 是一种低热量合成甜味剂, 是食品生产中常用的人工合成非营养型甜味剂, 其甜度是蔗糖的 30~40 倍^[1]。由于发酵工艺不过关, 或者采用调配而非发酵的方法, 部分企业生产的葡萄酒缺少自然甜味, 于是人工向产品中加入甜蜜素以提高其甜度及口感。

然而甜蜜素过量食用, 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。GB 2760-2011《食品添加剂使用卫生标准》中对作出明确的规定, 严禁甜蜜素在葡萄酒中添加^[2]。近几年, 国家有关部门在进行葡萄酒抽检时, 甜蜜素的违规使用是造成葡萄酒不合格的主要原因^[3]。因此, 需加强对葡萄酒中甜蜜素含量的检测。

现有的国家标准方法是气相色谱法, 其检验依据是 GB/T 5009.97-2003《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》^[4]。但由于涉及添加甜蜜素的食物种类繁多, 不同食品的基质成分差别很大, 样品处理措施也不尽相同^[5]。同时, 葡萄酒中的甜蜜素检测存在检测结果受乙醇的影响大, 易出现乳化现象影响操作, 基质及生化副产物复杂易造成假阳性等问题。本法利用气相色谱-质谱法测定葡萄酒中的甜蜜素, 改进了样品称取

及去酒精步骤, 利用消泡剂解决样品处理后易出现的乳化问题, 并利用质谱进行选择离子监测 (SIM) 通过特征离子丰度比进行准确定性。相比国标气相方法, 本法在灵敏度、稳定性, 特别是在阳性样品确证方面均具有优势。精密度及回收率试验结果表明, 本法准确可靠, 定性能力强, 具有一定的应用推广价值。

1 材料与方法

1.1 仪器

美国 Agilent 气-质联用仪: 7890A-5975C; HP-5 MS (30 m×0.25 mm (i.d.)×0.25 μm); 水浴锅; 离心机; 强力涡旋混匀器。

1.2 试剂

正己烷(色谱纯); 氯化钠; 50 g/L 亚硝酸钠溶液; 100 g/L 硫酸溶液; 甜蜜素标准储备液: 准确称取甜蜜素标准品 (C 11830800, 纯度 99.0%) 100 mg (精确到 0.1 mg) 标准品于 10 mL 容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 配制成浓度为 10 mg/mL 的标准储备液, 并稀释成 1 mg/mL 以及 0.1 mg/mL 储备液, 于 4 °C 保存。

1.3 色谱及质谱条件

流速: 1.0 mL/min; 程序升温: 40 °C 保持 10 min, 以 25 °C/min 的速率升温至 270 °C, 保持 5 min; 传输线温度: 280 °C; 进样口温度: 250 °C; 进样方式: 不

收稿日期: 2012-03-18

分流进样；进样量：1 μL ；电离方式：电子轰击电离（EI）；电离能量：70 eV；离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ ；四级杆温度：150 $^{\circ}\text{C}$ ；扫描模式：选择离子扫描，定性离子 m/z 55、81、83，定量离子 m/z 55。

1.4 样品处理

准确称取 20.0 g 葡萄酒样品于 100 mL 具塞聚乙烯离心管，滴加 40 g/L 氢氧化钠溶液调至碱性，沸水浴加热至样品剩三分之二左右，冷却后置冰浴中，加入 5 mL 50 g/L 亚硝酸钠溶液，5 mL 100 g/L 硫酸溶液，摇匀，在冰浴中放置 30 min，经常摇动，然后准确加入 5 g 氯化钠，10 mL 正己烷，振荡，加入 2 滴磷酸三丁酯，4000 r/min 离心 5 min，取出上层正己烷上气相色谱-质谱联用仪分析。

1.5 标准曲线的制作

取塞聚乙烯离心管，加水至 20 mL，分别加入 0.1 mL \times 0.1 mg/mL、0.2 mL \times 0.1 mg/mL、0.1 mL \times 1 mg/mL、0.2 mL \times 1 mg/mL、0.5 mL \times 1 mg/mL、0.1 mL \times 10 mg/mL、0.2 mL \times 10 mg/mL 的甜蜜素标准品，置冰浴中，然后按 1.4 自“加入 5 mL 50 g/L 亚硝酸钠溶液”起操作。当葡萄酒取样量为 20.0 g 时，分别相当于 0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg、25 mg/kg、50 mg/kg、100 mg/kg、200 mg/kg 的标准浓度。以甜蜜素的浓度为横坐标（x），相对应的峰面积为纵坐标（Y）做标准曲线。

2 结果与讨论

2.1 酒精去除

国标法规定，含酒精样品先加 40 g/L NaOH 溶液调至碱性，在沸水浴中去除酒精后取 20 g 样品进行测定（国标）。由于国标沸水浴很可能导致样品蒸发浓缩而使得实际称取量大于 20 g，同时国标法对水浴时间无做说明，对于样品中酒精是否完全去除无判定依据。本法将称取步骤提前，提高了计算精度以及检测数据的重现性。同时，由于葡萄酒的酒精含量一般在 16% 以下，将酒精去除的判断标准定为样品剩一半左右更易于判断。

2.2 磷酸三丁酯消泡

在实际测定中，由于葡萄酒中成分比较复杂，当加入正己烷和氯化钠后，容易产生大量的泡沫，静置后易形成乳化，无法分层，很难吸出上层正己烷，即使离心也不能分离。在这种情况下，利用磷酸三丁酯表面张力低，难溶于水的物性，可使已形成的泡沫的膜处于不稳定的状态而迅速消泡，加入 2 滴磷酸三丁酯能使溶液迅速分层。在标准品中做添加/不添加消泡剂对照实验，结果证明加入消泡剂对检测结果无影响。

2.3 衍生化过程温度控制

由于甜蜜素在衍生化过程中，pH 值、亚硝酸钠、反应时间以及温度因素都对衍生化产物的生成有直接影响^[6]。因此，在衍生化过程中，除了控制好硫酸、亚硝酸钠的加入量外，也要使反应时间、摇动次数尽可能一致。另外，还应先将样品放入冰浴并确保温度趋于零度再开始加入亚硝酸钠。

2.4 谱图分析，质谱定性

将衍生化处理后甜蜜素标准品按上述色谱质谱条件进样测试，如图 1，可见其主要衍生化产物出峰时间在 9.812 min。

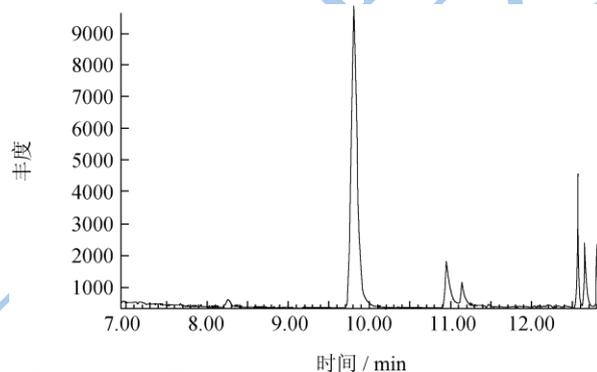


图 1 标准品衍生物总离子流色谱图

Fig.1 TIC chromatogram of the derivatization product of sodium cyclamate standard

对其进行监测离子扫描（定性离子： m/z 55、81、83），可见其特征离子比例如图 2 所示。当试样待测液和标准品的选择离子色谱峰在相同保留时间处（ $\pm 0.5\%$ ）出现，并且对应质谱碎片离子的质荷比与标准品一致，其丰度比与标准品相比应符合：相对丰度 $> 50\%$ 时，允许 $\pm 10\%$ 偏差；相对丰度 $20\% \sim 50\%$ 时，允许 $\pm 15\%$ 偏差；相对丰度 $10\% \sim 20\%$ 时，允许 $\pm 20\%$ 偏差；相对丰度 $< 10\%$ 时，允许 $\pm 50\%$ 偏差，此时可定性确证目标分析物。

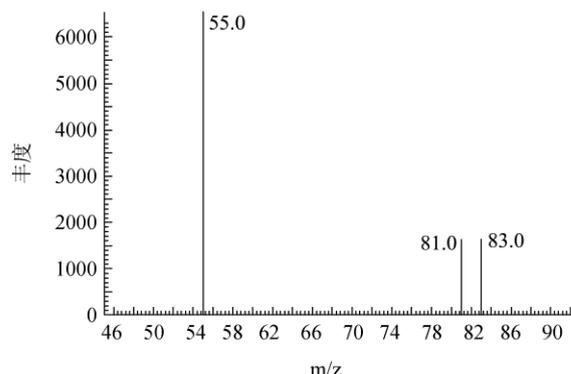


图 2 甜蜜素衍生物 GC-MS 选择离子色谱图 (SIM)

Fig.2 Mass spectrum (SIM) of derivatization product of sodium cyclamate standard

2.5 标准曲线及方法检出限

在上述仪器条件下, 甜蜜素在 1.0 mg/kg~400 mg/kg 浓度范围内呈良好的线性关系, 见图 3。甜蜜素的仪器检出限为 1 mg/mL, 方法最低检出限为 0.5 mg/kg。

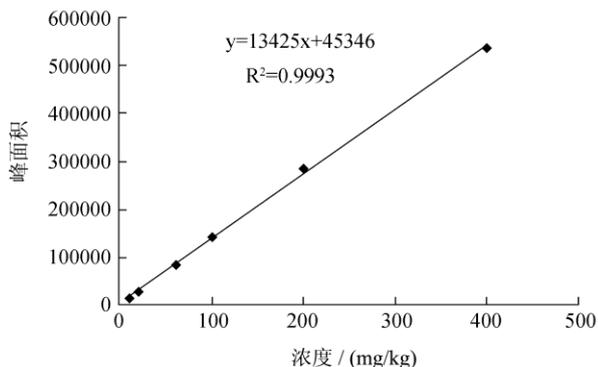


图 3 线性回归标准曲线

Fig.3 Linear regression standard curve of sodium cyclamate

2.6 精密度实验

对两个阳性样品进行 8 个平行样的进行重复性测试, 计算相对标准偏差 RSD (%)。如表 1 所示, 两个样品的相对标准偏差均 < 5%, 符合 GB/T 27404-2008《实验室质量控制规范 理化检测》对重复性测定的要求。

表 1 方法精密度试验结果 (n=8)

Table 1 Results of precision test for the method (n=8)

样品	测定结果								平均值 (mg/kg)	RSD (%)
	/(mg/kg)									
样品 1	123	120	123	124	121	118	115	117	122	1.69
样品 2	216	211	222	231	231	226	218	217	223	3.33

2.7 回收率试验

用本法对 3 个不同样品 (1 个空白样、2 个阳性样品) 进行 3 个水平的加标回收测试, 如表 2 所示, 回收率在 93.0%~107.6% 之间。

3 结论

与国标 GB/T 5009.97-2003《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》中填充柱气相色谱法相比, 本法充分利用了气相色谱串联质谱技术在灵敏度、稳定性以及阳性样品确证方面的技术优势, 测定在测定葡萄酒中的甜蜜素具有操作简便、快速和定量准确, 检出限低等优点, 在假阳性样品排除方面表现突出。适应更为精密准确测定葡萄酒中甜蜜素的定性定量需要。

表 2 方法回收试验结果

Table 2 Results of recovery test for the method

加标量/(mg/kg)	本底值/(mg/kg)	测定值/(mg/kg)	回收率/%
	0	9.38	93.8
10	122	131.3	93.0
	223	232.5	95.0
50	0	477.2	95.4
	122	171.1	98.2
	223	276.8	107.6
100	0	105.8	105.8
	122	223.1	101.1
	223	325.1	102.1

参考文献

- [1] 蔡丹丹, 李道荣, 肖凯军. 甜蜜素合成工艺优化的研究[J]. 现代食品科技, 2010, 26(5): 476-478
- [2] GB 2760-2011. 《食品添加剂使用卫生标准》[S].
- [3] 杨爱琴, 张勇, 张爱红. 如东县葡萄酒市场质量的现状及分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2006, 12(12): 1488
- [4] GB/T 5009.97-2003《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》[S].
- [5] 孔祥建, 冯亮. 毛细管柱气相色谱法测定乳制品中的甜蜜素[J]. 现代食品科技, 2011, 27(6): 723-726
- [6] 王贵双, 高丽华, 赵俊平, 等. 气相色谱法测定食品中甜蜜素定量方法的探讨[J]. 中国酿造, 2010, 12: 159-161