

# 稳定同位素比质谱法鉴别蔗糖和甜菜糖

张 遴, 蔡 砚, 乐爱山, 吴双民  
(陕西出入境检验检疫局, 陕西 西安 710068)

**摘 要:** 通过比较固体和液体进样技术, 采用液体进样技术, 进一步优化实验条件, 建立一种元素分析-稳定同位素比质谱联用技术测定蔗糖和甜菜糖的同位素比率  $\delta^{13}\text{C}$  的方法, 然后通过其  $\delta^{13}\text{C}$  数值的差异鉴别甜菜糖和蔗糖。结果表明, 甜菜糖  $\delta^{13}\text{C}$  值为  $-25.48\%\sim-24.05\%$ , 蔗糖  $\delta^{13}\text{C}$  值为  $-11.87\%$ 。该方法准确、操作简便, 鉴别结果令人满意。

**关键词:** 稳定同位素比率质谱法(EA-IRMS);  $\delta^{13}\text{C}$ ; 蔗糖; 甜菜糖

Element Analysis Stable Isotope Ratio Mass Spectrometric Differentiation of Cane Sugar and Beet Sugar

ZHANG Lin, CAI Yan, YUE Ai-shan, WU Shuang-min  
(Shaanxi Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xi'an 710068, China)

**Abstract:** An EA-IRMS method was developed for determination of element analysis stable isotope ratios of  $\delta^{13}\text{C}$  in cane sugar and beet sugar using liquid introduction. Results showed that this method was able to differentiate cane sugar from beet sugar according to their characteristic  $\delta^{13}\text{C}$  values. The  $\delta^{13}\text{C}$  values for beet sugar and cane sugar were between  $-25.48\%$  and  $-24.05\%$  and  $-11.87\%$ , respectively. The proposed method presented the benefits of accuracy and easy operation and the results were satisfactory.

**Key words:** element analysis stable isotope ratio mass spectrometry (EA-IRMS);  $\delta^{13}\text{C}$ ; cane sugar; beet sugar

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2010)02-0124-03

食糖作为一种甜味食料, 是人体所必需的三大营养成分之一, 食用后能供给人体较高的热量, 是人们日常生活的必需品, 同时也是饮料、糖果、制药等含糖食品中不可或缺的原料。食糖是由甘蔗和甜菜加工而成, 尽管原料不同, 甘蔗糖和甜菜糖在品质上并没有什么差别, 但在口感以及烹饪、烘烤、西点等制作中还是有很大区别。采用传统的化学方法无法进行鉴别该两种糖, 而本研究根据甘蔗和甜菜光合作用方式的不同, 碳同位素分馏机制也不同, 因而其碳同位素组成也有显著差异的原理对其进行鉴别。由于植物的遗传特性不同,  $\text{C}_3$  代谢植物(甜菜)的同位素比率  $\delta^{13}\text{C}$  值变化较大, 介于  $-35\%\sim-22\%$  之间, 平均为  $-27\%$ ;  $\text{C}_4$  代谢(甘蔗)的同位素比率  $\delta^{13}\text{C}$  值介于  $-14\%\sim-10\%$  之间, 平均为  $-13\%$ ; CAM(景天酸)代谢植物的碳同位素值本身具有一定的范围: 介于  $-30\%\sim-10\%$  之间, 但少数 CAM 植物  $\delta^{13}\text{C}$  的变化范围较大。

近年来随着同位素-质谱(EA-MS)联用技术的兴起和发展, 稳定碳同位素的分析方法也得到了长足、快速的发展<sup>[1-4]</sup>, 但还没有蔗糖和甜菜糖鉴别方面的报道。本

实验旨在建立一种同位素比质谱联用技术测定蔗糖和甜菜糖的同位素比率  $\delta^{13}\text{C}$  的方法, 通过其  $\delta^{13}\text{C}$  数值的差异来鉴别甜菜糖和蔗糖。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

橄榄油标准物质(碳含量  $54.00\%$ ;  $\delta^{13}\text{C}_{\text{PDB}}=(-28.51 \pm 0.16)\%$ ; 标准编号: Cat No.B 2172-Batch 3130)。Chromosorb W 吸附剂(30~60 目) SerCon 公司。

### 1.2 仪器构成及工作原理

如图 1 所示, 稳定同位素比质谱仪主要由两部分组成: EA-S1 固体和液体样品制备系统, 配有 66 位自动进样器; Hydra20-20 稳定同位素比率质谱仪(IRMS)。这两部分仪器装置均为英国 SerCon 公司生产。

EA-S1 主要由氧化柱、还原柱、吸水柱和吸  $\text{CO}_2$  柱等部分构成, 其主要功能是燃烧后将样品中的待测元素(C、N、S、H 等)转化为气体( $\text{CO}_2$ 、 $\text{N}_2$ 、 $\text{SO}_2$  或水蒸气), 是 EA-IRMS 的进样系统; IRMS 由离子源、质量分析器、离子流检测器、真空系统、供电系统和数据

收稿日期: 2009-03-05

基金项目: 国家质量监督检验检疫总局科研项目(127)

作者简介: 张遴(1963—), 女, 研究员, 主要从事进出口商品检验检测研究。E-mail: zhanglinder@163.com

处理系统等部件构成, 主要用以进行稳定性同位素的分析。

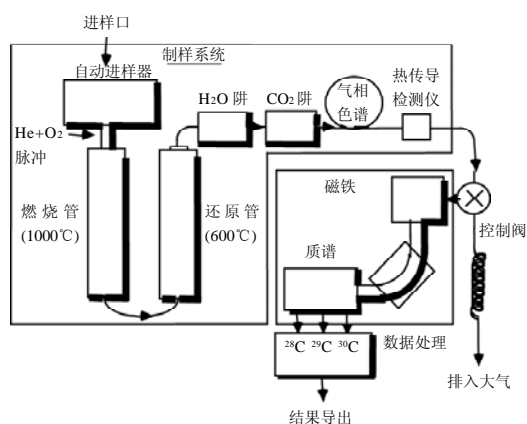


图1 稳定同位素质谱仪的构成  
Fig.1 Main structure of EA-IRMS system

实际测定中, 测定两种同位素的比值, 例如 $^{12}\text{C}/^{13}\text{C}$ 或 $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ 等, 用作稳定同位素分析的质谱仪是将样品和标准品的同位素比值作对比进行测量。

稳定同位素质谱仪的工作原理是: 首先将样品中待测元素转化成气体(如 $\text{CO}_2$ 、 $\text{N}_2$ 、 $\text{SO}_2$ 或水蒸气), 经离子源离子化(从每个分子中剥离一个电子, 使得每个分子带有一个正电荷)的气体分子在高压电场作用下加速, 随后打入弯曲的飞行管中。飞行管上方的磁铁使离子化的分子在洛伦兹力作用下, 依质量不同而分离开, 含有重同位素的分子弯曲程度小于含有轻同位素的分子。在飞行管的末端有一个法拉第收集器, 用以测量经过磁体分离之后, 具有特定质量的离子束强度。

### 1.3 样品前处理

制备液体样品: 称取20g的蔗糖或甜菜糖样品置于烧杯中, 加入20mL纯净水, 低温加热溶解, 摇匀后移入容量瓶中备用; 制备固体样品: 将蔗糖或甜菜糖样品用玛瑙研钵研磨至0.250mm(60目)以下, 常温干燥保存, 备用<sup>[2]</sup>。

### 1.4 称样

蔗糖和甜菜糖样品中含有丰富的碳元素, 因此称样量不宜过大。固体样品一般控制在1~2.5mg之间为宜; 液体样品采用柱塞式移液器(量程为1~5 $\mu\text{L}$ )移取, 移取量为1~3 $\mu\text{L}$ 。

### 1.5 制样

#### 1.5.1 固体样品的制备

由于植物样品称样量较小, 选用规格为5mm×8mm的锡杯。在将称取的样品以锡杯包裹时, 要特别注意锡杯包裹的紧密性。称样时, 在锡囊中称量好样品后, 用弯曲的镊子将锡囊置于洁净平磁板上, 并用镊子轻轻镊紧锡杯侧壁使之闭合; 以侧面平置锡杯, 用一只镊子

压住其底部, 以另一只镊子的扁平面对适当用力刮压锡杯使之侧壁完全闭合成扁平状; 然后将其叠成小方块或小圆球状, 并将其压紧。注意每折叠一次需用镊子扁平面对用力挤压其折叠面, 尽量将锡杯中的空气排挤干净, 否则空气中的 $\text{CO}_2$ 会影响到样品测定值的准确性。

#### 1.5.2 液体样品的制备

首先在锡杯中加少量吸附剂, 然后用柱塞式移液器吸取制好的液体样品2 $\mu\text{L}$ 注入锡杯中, 后面的包样过程与固体样品相同。

### 1.6 同位素质谱仪的预调

确认同位素质谱仪的工作环境、气密性、离子源的真空度均符合要求, 然后检验仪器的稳定性和峰形, 必要时调整离子源参数值。确认数据采集系统设置正确, 必要时进行调整。

### 1.7 试样测定

设定标准物质名称, 输入标准物质参数, 按照已设定检验顺序, 在自动进样器上摆放好待检测试样, 在计算机软件控制下, 运行检测批进行测定。测定完毕后, 试样的 $\delta^{13}\text{C}$ 值由计算机自动计算给出。

## 2 结果与分析

### 2.1 样品进样量的选择

样品的进样量与测定结果的准确性有着密切的关系。进样量过小, 波动较大会造成结果不稳定; 反之, 进样量过大, 燃烧不完全, 也会造成结果的偏差。对于Sercon20-20来说, 碳的线性范围为200~800 $\mu\text{g}$ , 最佳测定范围为400 $\mu\text{g}$ 左右。选择用上述方法制备的液体试样, 通过改变进样体积, 观察峰面积 $\delta^{13}\text{C}$ 的数值变化, 结果见表1。

表1 样品进样量实验结果  
Table 1 Effect of sample injection volume on detection

样品	进样体积/ $\mu\text{L}$	总峰面积( $\times 10^7$ )	碳质量分数/%	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$
蔗糖	1	1.344	9.398	-11.64
	2	2.921	18.278	-11.47
	3	4.434	27.767	-11.46
	4	6.223	39.014	-11.39
	5	7.719	48.446	-11.35
甜菜糖	1	1.219	7.659	-23.97
	2	2.928	18.412	-24.10
	3	4.566	28.746	-24.14
	4	6.177	38.931	-24.12
	5	7.716	48.682	-24.09

从表1可以看出, 当蔗糖和甜菜糖的进样体积为2 $\mu\text{L}$ 时, 相当于2mg进样, 分别乘以18.278%和18.412%, 其碳质量分别为366 $\mu\text{g}$ 和368 $\mu\text{g}$ , 与400 $\mu\text{g}$ 比较接近, 因此, 选择2 $\mu\text{L}$ 作为进样体积。

## 2.2 载气条件的选择

EA-IRMS 系统使用高纯氦气作为载气,其作用是将样品燃烧生成的气体输送到 EA 的气体净化系统,然后将样品气体或调谐用参考气体输送到质谱仪。载气的流量影响到样品产生的离子流强度、样品峰的峰形以及本底值的情况,因此要首先确定适量的载气条件。载气在一定程度上影响着测定灵敏度,而对测定精度影响极小。改变载气压力,等量进入 IRMS 的  $\text{CO}_2$  气体所产生的离子流强度随着载气压力的增大而逐渐衰减,而同位素比值基本没有变化。其灵敏度和精密度差别在质谱线性变化范围内。

在测定植物样品时,如果使用较大的载气压力,可能使样品反应产生的  $\text{CO}_2$  被大幅度稀释,降低了本底又稀释样品,同时离子流强度过小也可能达不到质谱要求的线性范围。对于碳质量分数较高的植物而言,所产生的离子流强度一般较大,对样品的稀释影响很小,加大载气流量降低本底干扰的方法是可行的;而过小的载气压力又往往使得样品峰加宽拖尾,造成样品气体的残留,同样影响测定准确度。考虑这两方面影响,为了保证足够的离子流强度,同时兼顾较好的峰形,载气压力选择 20kpsi 比较理想。

## 2.3 参考气条件的选择

对于 Sercon 公司 20-20 型仪器来说,参考气  $\text{CO}_2$  和样品进样量的大小是没有关系的。参考气主要用于系统调谐,系统调谐完毕后参考气就可以关闭。

## 2.4 EA 系统温度的选择

氧化温度的高低直接影响到样品是否充分被燃烧氧化,从而影响到结果的稳定性。对于蔗糖和甜菜糖这样的植物样品几乎都是有机态碳,在无碳矿物包裹体中比较容易氧化。以 2  $\mu\text{L}$  进样为例,氧化温度从 800~1000℃ 观察样品的燃烧情况,发现从 800℃ 起,样品即可完全燃烧氧化,无残留,测定结果基本上稳定<sup>[5]</sup>。对于 Sercon20-20 系统来说,设置氧化柱温度为 1000℃,还原柱温度为 600℃,分离柱温度为 100℃,达到仪器的最佳分离效果。

## 2.5 氧化炉氧化剂填料的选择

EA 氧化柱通常选用的氧化剂填料主要有两种:氧化铜-铜( $\text{CuO-Cu}$ )和氧化铬-氧化钴( $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{-Co}_3\text{O}_4$ ),根据

所测定样品的不同,选择其中之一作为填料,有研究<sup>[6]</sup>报道, $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{-Co}_3\text{O}_4$  的氧化能力优于  $\text{CuO-Cu}$ ,用  $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{-Co}_3\text{O}_4$  作为氧化柱填料能够更为真实地反映样品的同位素组成,而且相对于氧化铜柱, $\text{Cr}_2\text{O}_3\text{-Co}_3\text{O}_4$  柱在高温下不易破裂。本实验将其合二为一分段填充,具体的填充顺序为:石棉→银丝→石棉→ $\text{CuO}$ →石棉→ $\text{Cr}_2\text{O}_3$ →石棉→ $\text{Cr}_2\text{O}_3$ →石棉。实验表明:选用  $\text{CuO-Cr}_2\text{O}_3$  组合比单一使用  $\text{CuO}$  和  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  作为氧化剂填料更为有效。

## 2.6 样品测定结果

选用英国、韩国和中国产的甜菜糖以及甘蔗糖和鲜榨甘蔗汁按照本方法进行测定,结果见表 2。从表 2 可以看出,甜菜糖和蔗糖的  $\delta^{13}\text{C}$  值有很大的区别,这个数值的差别,可以很容易通过本方法加以鉴别。

采用该方法,为韩国某公司进行多次蔗糖和甜菜糖的鉴别实验,结果令其满意。

表 2 样品测定值( $n=9$ )  
Table 2  $\delta^{13}\text{C}$  values of various samples determined by the analytical method

样品	$\delta^{13}\text{C}/\text{‰}$	RSD/%
英国产甜菜糖	-25.48	0.003
韩国产甜菜糖	-24.05	0.003
中国产甜菜糖	-24.10	0.005
甘蔗糖	-11.87	0.007
鲜榨甘蔗汁	-11.82	0.008

## 参考文献:

- [1] 王慧文,杨曙明,吴伟.用稳定同位素质谱技术检测肉鸡色素的来源[J].分析测试学报,2007,26(5): 608-611.
- [2] 崔杰华,祁彪,王颜红.植物样品中稳定碳同位素的 EA-IRMS 系统分析方法[J].质谱学报,2008,29(1): 24-29.
- [3] FURQUHAR G D, EHRLINGER J R, HUICK K T. Carbon isotope discrimination and photo-synthesis[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mal Bial, 1989, 40: 503-537.
- [4] JARNINA E, GONZALEZA J, REMAUDA G C, et al. Improved detection of sugar addition to apple juices and concentrates using internal standard  $^{13}\text{C}$  IRMS[J]. Analytica Chimica Acta, 1997, 347: 359-368.
- [5] 曹蕴宁,刘卫国,宁有丰,等.氧化条件对样品有机碳同位素测定的影响因素讨论[J].地球学报,2005,26(S0): 55-56.
- [6] 王政,刘卫国,文启彬.土壤样品中氮同位素组成的元素分析仪-同位素质谱分析方法[J].质谱学报,2005,26(2): 71-75.