

# 高效液相色谱-质谱法测定输韩泡菜中的甜蜜素

徐琴<sup>1,2</sup>, 牟志春<sup>2</sup>, 郝杰<sup>3</sup>, 刘琳<sup>2</sup>, 蔡雪<sup>2</sup>, 林洪<sup>1</sup>

(1. 中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东 青岛 266003;

2. 山东出入境检验检疫局食品农产品检测中心, 山东 青岛 266002; 3. 青岛出入境检验检疫局, 山东 青岛 266002)

**摘要:** 建立输韩泡菜中禁用甜味剂甜蜜素的高效液相色谱-质谱测定方法。泡菜样品用水提取, 离心后采用液相色谱柱分离, 质谱检测器检测, 外标法定量。色谱条件: Agilent ZORBAX SB-C<sub>18</sub> 柱(4.6mm × 250mm, 5 μm), 流动相: 乙腈-体积分数 0.1% 甲酸溶液(25:75, V/V), 流速 0.6mL/min。采用负离子模式的电喷雾质谱检测, 以特征离子峰[M-Na]<sup>+</sup> *m/z* 178.1 进行选择离子分析检测, 对实验条件进行优化, 线性范围为 0.1~5.0mg/kg, 相关系数 *R*<sup>2</sup> 为 0.99987, 定量检测限为 0.1mg/kg。添加标准回收实验表明: 本方法在添加水平分别为 0.10、0.15mg/kg 和 0.20mg/kg 时样品平均回收率在 82.0%~97.3% 之间, 相对标准偏差在 2.59%~4.82% 之间(*n* = 6), 说明本方法准确可靠。

**关键词:** 泡菜; 甜蜜素; 液相色谱-质谱法; 测定

## Determination of Sodium Cyclamate in Pickles by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry

XU Qin<sup>1,2</sup>, MU Zhi-chun<sup>2</sup>, HAO Jie<sup>3</sup>, LIU Lin<sup>2</sup>, CAI Xue<sup>2</sup>, LIN Hong<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Food and Agricultural Products Testing Agency, Shandong Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China; 3. Qingdao Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Qingdao 266002, China)

**Abstract:** A liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) method was developed for determining sodium cyclamate in pickles. Pickle samples were extracted directly by water and the separation was performed on a ZORBAX SB-C<sub>18</sub> column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm) in an isocratic elution mode using a mobile phase consisting of acetonitrile and 0.1% formic acid (25:75, V/V) at a flow rate of 0.6 mL/min. Sodium cyclamate was monitored by ESI MS in the SIM negative ion mode on the basis of [M-Na]<sup>+</sup> ion *m/z* 178.1 and quantified using the external standard method. Key experimental conditions were optimized. The calibration curve of the method revealed an excellent linear relationship in the concentration range of 0.1–5.0 mg/kg (*R*<sup>2</sup> = 0.99987), and the limit of quantification (LOQ) was 0.1 mg/kg. The recovery rates across three spike levels were higher than 82.0% with RSD of 2.59%–4.82% (*n* = 6). The method was simple, accurate and suitable for the determination of sodium cyclamate in pickles.

**Key words:** pickles; sodium cyclamate; liquid chromatography-mass spectrometry; determination

中图分类号: O657.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)04-0186-03

泡菜是指以白菜等蔬菜为主要原料, 经过整理、切除、腌制、调味混合和发酵过程的白菜泡菜及其他泡菜或经过相同程序加工的食品。甜蜜素, 化学名为环己基氨基磺酸钠, 是食品生产中常用的添加剂。代谢研究表明, 甜蜜素很少被胃肠道吸收, 吸收以后基本上以原型排出, 但肠内细菌等微生物可使之降解为环己胺, 而环己胺是致癌物质<sup>[1]</sup>。因此, 韩国、日本、美国等国家明确禁止在食品中使用甜蜜素<sup>[2]</sup>。韩国、日本是我国泡菜产品的主要出口国。自 2007 年 7 月起, 韩国明确提出进行泡菜中甜蜜素的检测, 并且不断降低检测限值。我国常因泡菜甜蜜素遭遇技术壁垒。为

此国家质检总局曾紧急发布文件要求对甜蜜素进行严格检测。

甜蜜素检测法有分光光度法、气相色谱法、离子色谱法、高效液相色谱法<sup>[3-8]</sup>等, 也有气相色谱-质谱法<sup>[9]</sup>和高效液相色谱-串联质谱法<sup>[10]</sup>检测甜蜜素的报道。但仍以采用气相色谱法及高效液相色谱法为主, 二者均需要进行复杂的衍生化操作, 前处理步骤繁琐, 要用到大量的有机试剂, 同时检测周期较长。目前国内检测标准有 GB/T 5009.97—2003《食品中环己基氨基磺酸钠的测定》<sup>[11]</sup>, 采用气相色谱法, 需衍生化; SN/T 1948—2007《进出口食品中环己基氨基磺酸钠的检测方法: 液

收稿日期: 2011-03-02

作者简介: 徐琴(1978—), 女, 工程师, 博士研究生, 研究方向为食品安全。E-mail: aqh.xuq@gmail.com

相色谱-质谱/质谱法》<sup>[12]</sup>,采用液相色谱-串联质谱检测法,仪器设备价格昂贵,不适宜推广。目前尚未见文献中有关于泡菜基质的检测方法报道。本实验采用水提取,直接进行高效液相色谱-质谱联用仪(liquid chromatography-mass spectrometry, HPLC-MS)检测,拟建立泡菜中甜蜜素的快速检测方法,为出口日韩泡菜产品食品安全监督提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

青岛口岸出口韩国的泡菜样品。

甜蜜素( $\geq 99\%$ )标准品 美国 Fluka 公司;乙腈(色谱纯)、甲酸(分析纯),水为去离子水。

1100-1946D 高效液相色谱-质谱联用仪及化学工作站 美国 Agilent 公司;溶剂过滤器 天津津腾公司;3-18K 高速冷冻离心机 美国 Sigma 公司;MS 3 basic 涡旋混合器 德国 IK 公司;Eppendorf 移液器、AE260 型分析天平(感量 0.0001g) 上海梅特勒-托利多公司;Milli-Q 超纯水机;0.45  $\mu\text{m}$  滤膜。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标准品配制

精密称取甜蜜素标准品 100mg 置于 100mL 容量瓶中,用水溶解并准确定容至刻度,摇匀,配成质量浓度 1.0mg/mL 的储备液,使用前再用水稀释成相应的质量浓度。

#### 1.2.2 色谱质谱分析条件

色谱柱: ZORBAX SB-C<sub>18</sub>, (4.6mm  $\times$  250mm, 5 $\mu\text{m}$ );流动相: 乙腈-0.1% 甲酸(体积分数)溶液(25:75, V/V),等度洗脱;流速 0.6mL/min、柱温 35 $^{\circ}\text{C}$ 、进样量 20  $\mu\text{L}$ 。

质谱条件: 电喷雾电离源(electrospray ionization, ESI), 负离子模式全扫描与选择离子分析(selected ions monitoring, SIM)条件, 碎裂电压 70V、干燥气体流速 12L/min、干燥气温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 、雾化器压力 0.207MPa、毛细管电压 3000V、采集时间为 0~15min。

#### 1.2.3 样品制备

取代表性泡菜样品经组织捣碎机捣碎并充分混匀,称取 1.0g(精确至 0.01g)试样于 15mL 刻度离心管中,先加少量水,混匀后,用水定容至 10mL, 60 $^{\circ}\text{C}$  水浴 20min, 然后在离心机上 6000r/min 离心 5min, 取上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜, 用液相色谱-质谱联用仪测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 高效液相色谱-质谱条件的选择

#### 2.1.1 色谱条件的优化

色谱柱采用 C<sub>18</sub> 柱, 流动相选择乙腈和 0.1% 甲酸溶

液以一定比例进行等度分析实验, 流动相配比分别选择乙腈和 0.1% 甲酸溶液以不同体积比 50:50、80:20、20:80、30:70、25:75 进行考察, 流速分别选择 1.0、0.8、0.6mL/min, 结果显示当流动相体积比为 25:75, 流速为 0.6mL/min 时目标峰与基质中干扰峰完全分离效果最佳。图 1 为 SIM 扫描模式下甜蜜素标准品的典型质谱图。

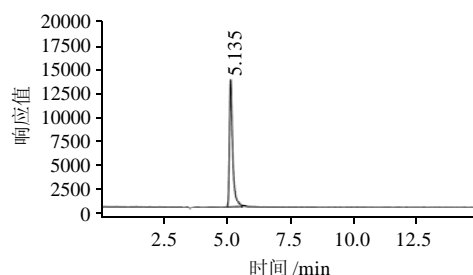


图 1 甜蜜素标准品的选择离子色谱图(0.01mg/L)  
Fig.1 SIM ion current chromatogram of sodium cyclamate standard solution

#### 2.1.2 质谱条件的优化

液相色谱-质谱联用仪的质谱采用软电离方式, 即 ESI 和大气压化学电离(atmospheric pressure chemical ionization, APCI)<sup>[13]</sup>, 由于甜蜜素是钠盐, 所以选用电喷雾电离的负离子扫描模式, 1.0mg/L 的甜蜜素标准溶液不经液相色谱柱分离, 用注射泵直接进样, 得到特征离子峰[M-Na]<sup>-</sup>, 选择特征离子峰(即定量离子)见表 1。同时在选定色谱条件下采用流动注射(flow injection analysis, FIA)进行质谱条件优化, 确定质谱参数为干燥气体流速 12L/min、干燥气温度 350 $^{\circ}\text{C}$ 、雾化器压力 0.207MPa、毛细管电压 3000V。根据色谱峰保留时间和 SIM 离子定性, 同时与标准物质保留时间一致而定性确证。

表 1 甜蜜素定量信息

Table 1 Quantification information of sodium cyclamate

化合物	相对分子质量	定量离子( $m/z$ )	碎裂电压/V
甜蜜素	201.2	178.1	70

### 2.2 线性与检出限

一般 HPLC-MS 检测会存在基质效应, 结果表明甜蜜素在泡菜基质中存在明显的抑制效应, 鉴于基质效应的存在, 采用基质标准定量。用泡菜阴性样品提取液将甜蜜素标准储备液稀释成基质标准工作溶液, 其线性范围为 0.1~5.0mg/kg, 在 1.2.2 节仪器条件进行测定, 以峰面积为纵坐标, 质量浓度为横坐标, 绘制基质标准工作曲线, 回归方程式为  $Y = 1924.5X - 127.1$ , 其相关系数  $R^2$  为 0.99987。

以不含甜蜜素的阴性样品为检测对象,添加标准溶液,测得产生色谱峰高大于10倍噪音比(即 $R_{SN} \geq 10$ )时的甜蜜素的标准物含量,确定本方法对泡菜中甜蜜素的定量检测限为0.1mg/kg。

### 2.3 方法回收率与精密度

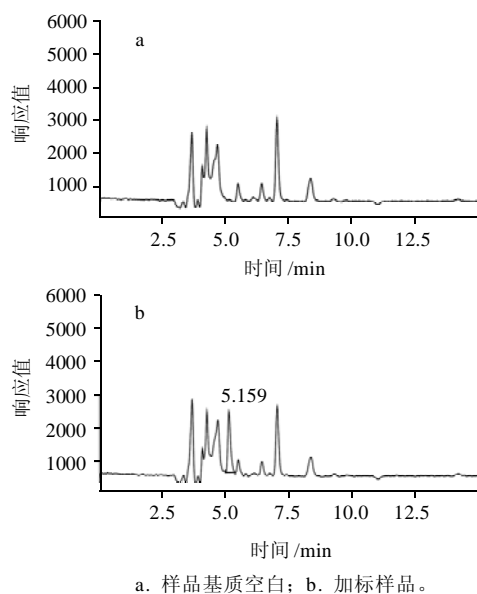
在泡菜基质中进行添加回收实验,所用泡菜样品为不含被测甜蜜素的阴性样品,添加水平分别为0.10、0.15mg/kg和0.20mg/kg,按照样品处理方法进行提取净化,测定甜蜜素含量,计算回收率,每个水平进行6次重复实验,结果见表2。样品平均回收率在82.0%~97.3%之间,相对标准偏差(RSD)在2.59%~4.82%之间( $n=6$ ),说明本方法准确可靠。

表2 方法回收率实验及精密度结果( $n=6$ )

Table 2 Results of recovery rate and precision tests ( $n=6$ )

样品 基质	背景值/ (mg/kg)	添加量/ (mg/kg)	检测值/ (mg/kg)	平均回 收率/%	RSD/%
泡菜	< 0.1	0.10	0.082	82.0	4.03
		0.15	0.146	97.3	2.59
		0.20	0.189	94.5	4.82

### 2.4 实际样品测定



a. 样品基质空白; b. 加标样品。

图2 实际泡菜样品测定选择离子流色谱图

Fig.2 SIM ion current chromatograms of blank and spiked pickle samples

采用本方法对输韩泡菜样品进行检测,未发现阳性样品。方法稳定可靠,快捷方便。图2所示为实际样品测定色谱图。

### 3 结 论

甜蜜素的检测无论是采用气相色谱法还是液相色谱法,都需要繁的衍生化操作。本方法建立的高效液相色谱-质谱法用于测定泡菜中的甜蜜素,泡菜样品直接用水提取,离心后采用液相色谱柱分离,负离子模式的电喷雾质谱检测,操作步骤简单而快速,大大缩短了样品前处理时间,提高了检测效率,灵敏度高、重现性好,有较高的实用价值。

### 参考文献:

- [1] 刘波. 甜蜜素检测方法研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2007(2): 218-222.
- [2] 凌关庭. 食品添加剂监管热点和甜蜜素安全性探讨[J]. 粮食与油脂, 2009(3): 41-44.
- [3] 金岚. 气相色谱法测定甜蜜素方法改进试验[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(1): 74-74.
- [4] 张秀尧. 反相高效液相色谱法测定食品中甜蜜素[J]. 理化检验: 化学分册, 2000, 36(10): 451-454.
- [5] 郑玲, 李丽华, 郭蔚, 等. 高效液相色谱法测定食品中的甜蜜素[J]. 化学分析计量, 2005, 14(3): 50-51.
- [6] 陈少波, 潘超华. 食品中甜蜜素的紫外分光光度法测定[J]. 分析测试学报, 2000, 19(3): 82-83.
- [7] 邓永利, 周光明, 罗振亚, 等. 离子色谱法直接测定牛奶中的甜蜜素[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(7): 79-82.
- [8] 李秀勇, 刘惠涛, 胡之德. 气相色谱法测定水果罐头中甜蜜素[J]. 理化检验: 化学分册, 2005, 41(9): 32-34.
- [9] 沈伟健, 黄娟, 沈崇钰, 等. 气质联用法测定蛋白食品中的甜蜜素[J]. 分析试验室, 2007, 26(6): 93-95.
- [10] 嵇超, 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(8): 749-753.
- [11] 国家质量技术监督检测检疫局. GB/T 5009.97—2003 食品中环己基氨基磺酸钠的测定[S].
- [12] 国家质量技术监督检测检疫局. SN/T1948—2007 进出口食品中环己基氨基磺酸钠的检测方法: 液相色谱-质谱/质谱法[S].
- [13] 秦昉, 王林祥, 陶冠军. 液质联用法同时测定黄酒中糖精钠和甜蜜素[J]. 酿酒科技, 2005(9): 84-86.