

【综述】

防腐剂、甜味剂、着色剂 LC-MS 测定方法研究进展

赵凯 杨大进*

(中国疾病预防控制中心营养与食品安全所, 北京 100021)

[关键词] 防腐剂; 甜味剂; 着色剂; 液相色谱-质谱联用

[中图分类号] O657.63

[文献标识码] A

[文章编号] 1004-8685(2011)05-1310-03

食品添加剂(food additives)在现代食品工业中被广泛应用,它在改善和提高食品的感官指标,保护食品营养价值、延长食品保质期中起着非常重要的作用。其中,防腐剂、甜味剂、着色剂是食品生产中最常用的三类食品添加剂。食品防腐剂(preservative)是指用于防止食品因微生物引起的变质,提高食品保存性能,延长食品保质期而使用的食品添加剂。目前我国应用最广泛的是化学类防腐剂。我国批准允许使用的防腐剂有 32 种,其中最常用的有苯甲酸、山梨酸及其盐类和脱氢乙酸。甜味剂(sweetener)是指赋予食品以甜味的食品添加剂,目前世界上允许使用的甜味剂约有 20 种。其中最常用的甜味剂包括糖精钠、甜味素、甜蜜素、安赛蜜、阿力甜和三氯蔗糖。着色剂(coloring reagent, colorant)是以给食品着色、增加对食品的嗜好及刺激食欲为主要目的的食品添加剂,也称食用色素。我国常用的化学合成色素有:苋菜红、胭脂红、赤藓红、新红、柠檬黄、日落黄、靛黄、亮蓝。防腐剂、甜味剂、着色剂的检测在食品检验和食品污染物监测中具有重要的作用。一系列基于不同原理的分析方法被用于防腐剂、甜味剂、着色剂的测定中,防腐剂常用的测定方法有分光光度法^[1]、气相色谱法^[2,3]、液相色谱法^[4-7],以及气相色谱-质谱联用^[8,9]、液相色谱-质谱联用等方法。甜味剂的检测方法主要有光谱法^[10]、气相色谱法^[11]、液相色谱法^[12,13]等。着色剂常用的测定方法有高效液相色谱法^[14,15]、气相色谱-质谱联用^[16]等方法。其中高效液相色谱法在防腐剂、甜味剂和着色剂的测定中使用广泛,通过选用不同类型的色谱柱和检测器可实现对多种化合物的测定。目前,不同类型多组分同时测定是食品添加剂分析发展的趋势,但由于各品种理化性质存在差异,单凭高效液相色谱法无法完全满足防腐剂、甜味剂和着色剂的测定需要。质谱作为一种检测器,具有灵敏度高、专属性好的特点。高效液相色谱-质谱联用方法将液相色谱优越的分离能力和质谱定性能力相结合,自上世纪七十年代开始应用以来,高效液相色谱-质谱联用方法已广泛的应用于各个研究领域,成为强有力的分析工具。

1 LC-MS 测定方法

1.1 防腐剂测定

Xiu Qin Li 等^[17]用液相色谱-飞行时间质谱联用(HPLC/TOF-MS)对饮料中的苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸等防腐剂进

行定性和定量研究。前者测定中,样品经甲醇溶液提取后过固相萃取柱。提取液经反相柱进行分离,电喷雾电离(electrospray ionization, ESI),飞行时间质谱进行测定(具体仪器条件见表 1,下同)。该方法分别使用两种流动相在正离子模式和负离子模式下对各待测组分进行研究。通过对质子化或非质子化分子离子和分子片段信息的研究,提高了分析的灵敏度,苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸等防腐剂的加标回收率在 81%~106% 之间,其检出限(LOD)在 0.0005 mg/kg~0.05 mg/kg 之间。Aiko Ujiie 等^[18]用乙腈或乙腈溶液提取后进样,液相色谱-质谱联用同时测定食品中的 7 种防腐剂,提取液经梯度洗脱后由四极杆质谱测定。该方法检出限为 10 μg/g,样品加标回收率在 78%~120% 之间。许秀敏等^[19]建立高效液相-质谱联用同时测定各类食品中苯甲酸、山梨酸的方法。苯甲酸、山梨酸、糖精钠分别选择性荷质比(m/z) 121、111、182 进行测定,回收率在 92%~105% 之间,该方法可对食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠进行准确定性和定量检测。

1.2 甜味剂测定

食品中常用的人工合成的甜味剂有乙酰磺胺酸钾(acesulfame-K,又名安赛蜜)、环己氨基磺酸钠(cyclamate,又名甜蜜素)、阿斯巴甜(aspartame)、糖精钠(saccharin)、三氯蔗糖(sucralose)、阿力甜(alitame)、纽甜(neotame)等。甜味剂在食品中可单独使用或联合使用^[20],食品中甜味剂的 LC-MS 分析方法主要分别单一甜味剂的测定方法和多种甜味剂的同时测定两类。

1.2.1 单一甜味剂测定 王骏^[21]和张晓燕等^[22]分别建立了反相 HPLC-MS 测定食品中微量甜蜜素的液相色谱-质谱测定方法。前者样品中的甜蜜素用水提取,ESI 负离子模式检测。方法的检出限为 0.01 μg/g,样品加标回收率在 92.0%~102.0% 之间。后者用乙酸乙酯和乙腈的混合溶液提取,样品加标回收率范围在 70.5%~88.2% 之间。Ziqiang Huang 等^[23]和郑屏等^[24]用高效液相色谱电喷雾质谱联用分别测定果脯、水果罐头、饮料等食品中的甜蜜素的含量。前者用水超声提取,硫普罗宁做内标,通过选择离子监测(selected ion recording, SIM)定量,定量离子为 m/z = 178。该方法检出限为 5 ng/ml,样品加标回收率在 94%~104.9% 之间。后者将食品样品用水提取,再用阴离子交换固相萃取柱净化后经乙腈溶液洗脱,电喷雾电离在负离子模式测定,甜蜜素在 0.01 mg/L~50.0 mg/L 范围内呈线性关系,其检出限为 20 pg,测得方法的回收率在 94.1%~99.1% 之间。

K Hatano 等^[25]用液相色谱-电喷雾质谱联用法对各种食品中的三氯蔗糖进行定性定量的研究。样品用水或甲醇提取

[作者简介] 赵凯(1983-),男,硕士,实习研究员,主要从事食品卫生工作。

* 通讯联系人 E-mail: ydq66513@sina.com

样品中的三氯蔗糖,提取液经固相萃取柱净化后进样测定。样品的加标回收率在 88.1% ~ 98.5% 之间,定量限在 0.5 μg/g ~ 2.5 μg/g 之间。而 Margot Heinz 等^[26] 则用同位素液相色谱 - 质谱联用法对 29 种食品中的三氯蔗糖进行测定。样品加入三氯蔗糖 - D6 内标经沉淀和净化后进样,三氯蔗糖的检出限为 2.5 μg/L。

1.2.2 多种甜味剂同时测定 在同一类食品中,多种甜味剂常常同时存在,高效液相色谱 - 质谱法可实现对多种常用的甜味剂的同时测定,如 Da - jin Yang^[27] 等建立了以内华法林作内标,高效液相色谱 - 电喷雾质谱联用同时测定多种食品中的 8 种非营养性甜味剂的方法,样品经甲醇溶液提取后进样。八种甜味剂经反相 HPLC 分离后进入质谱进行测定。该方法检出限 < 0.1 μg/ml,加标回收率在 95.4% ~ 104.3% 之间。与其类似的有 M. Koyama 等^[28] 用液相色谱 - 质谱联用实现了对九种甜味剂的同时测定。样品经磷酸盐缓冲液与甲醇组成的提取液提取、固相萃取柱进行净化。使用该方法测定的样品加标回收率在 75.7% ~ 109.2% 之间。

甜味剂中的糖精钠、甜蜜素和安赛蜜等属于磺胺类人工合成甜味剂,此类甜味剂在许多国家被禁止或限制使用于食品中。盛旋等^[29] 采用固相萃取 - 液相色谱/质谱法对食品中磺胺类人工合成甜味剂进行了测定。样品经超声波提取,阴离子交换固相萃取柱净化后经 C18 柱分离后,在负离子模式下对糖精钠 (m/z = 182.2)、安赛蜜 (m/z = 162.2)、甜蜜素 (m/z = 178.2) 进行测定。该方法对 3 种甜味剂的检出限均小于 10pg,平均加标回收率在 88% 以上,适用于食品中磺胺类甜味剂的快速测定。

1.3 着色剂测定

李帮锐等^[30] 用高效液相色谱 - 质谱联用同时测定葡萄酒

中的 8 种人工合成色素的方法。样品直接进样经反相 HPLC 分离后进入质谱进行测定。该方法检出限为 0.4 g/L ~ 13 g/L,样品加标回收率在 98.2% ~ 101.6% 之间,适用于饮料中人工合成色素的确认和定量分析。陈晓红等^[31] 建立了饮料中日落黄、柠檬黄、胭脂红、苋菜红和亮蓝等 5 种人工合成色素的高效液相色谱/质谱检测方法。饮料样品经吸附解吸净化后进样。该方法平均回收率 88.2%,适用于饮料和其他食品中色素的检测。Ming Ma 等^[32] 建立了以二甲基亚砜作提取溶剂,亮蓝作内标,高效液相色谱 - 二极管阵列检测器 - 质谱同时测定食品中着色剂的方法。通过对正离子和负离子模式的比较表明,酒石黄、苋菜红、日落黄、胭脂红在负离子模式下响应较高,该方法检出限为 0.01 ng ~ 4 ng,以四种不同基质的样品测定加标回收率在 93.2% ~ 108.3% 之间 (RSD < 8.2%)。应用此方法对 40 多种样品进行测定表明该法适用于食品中低含量的合成色素的测定,加标回收率在 78% ~ 120% 之间。

1.4 多种组分同时测定

一种食品中往往添加多种食品添加剂,如防腐剂和(或)甜味剂和(或)色素,一般方法分别对防腐剂、甜味剂或着色剂进行单独测定,一次同时测定限于常用食品添加剂,如苯甲酸、山梨酸、糖精钠同时测定。多组分同时测定的方法^[33] 近年来成为研究的热点。液相色谱 - 质谱联用由于具有优越的分离和定性,可实现对同一食品中多种添加剂的同时测定。如前述 Aiko Ujiie 等^[4] 对两种防腐剂(苯甲酸、山梨酸)、一种甜味剂(糖精钠)进行了同时测定。在负离子模式下经串联四极杆进行定性和定量测定。许秀敏等^[19] 对食品中的七种防腐剂、一种甜味剂(糖精钠)进行测定,应用液相色谱法进行定量,然后用液质联用进行定性,以避免杂质干扰。

表 1 部分样品 LC-MS 分析条件

样品类别	待测物种类	液相色谱条件		质谱条件	参考文献
		色谱柱	流动相		
饮料	防腐剂	Zorbax Eclipse XDB - C18 35°C	水和 20 mmol/L 乙酸铵:0.1% 甲酸	ESI 电离,飞行时间(TOF) 正负离子模式	[17]
肉制品饮料	甜味剂防腐剂	TSK gel ODS 80Ts 柱和 CAPC - ELL PAK C18 AQ 柱	2 mmol/L 乙酸二丁胺:乙腈 梯度洗脱	ESI 四极杆	[18]
固体食品、饮料	甜味剂防腐剂	Agilent C18 柱	甲醇:20 mmol/L 乙酸铵 = 5:95	ESI 离子阱,负离子模式,	[19]
水果罐头	甜味剂	C8 柱 30°C	5 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷	ESI 四极杆,负离子模式,SRM	[24]
酒类、裙带菜	甜味剂	Zorbax SB - C18 柱 35°C	乙腈:20 mmol/L 乙酸铵 = 10:90	ESI 四极杆	[25]
饮料、巧克力等	甜味剂	YMC - Pack Pro C18 柱 35°C	乙腈:2 mmol/L 乙酸铵 梯度洗脱	ESI 四极杆,负离子模式,SRM	[26]
饮料、水果罐头等	甜味剂	C8 柱 30°C	甲醇:丙酮:三乙胺 梯度洗脱	ESI 四极杆	[28]
饮料、糕点等	甜味剂	Zorbax Eclipse XDB - C18 35°C	乙腈:2 mmol/L 乙酸二丁胺	ESI 四极杆,负离子模式	[29]
蜜饯、酒、饮料	甜味剂	Zorbax SB - C18 柱	乙腈:20 mmol/L 乙酸铵 = 10:90	ESI 负离子模式 四极杆	[30]
饮料	着色剂	Kromasil 100 C18 柱 30°C	甲醇:20 mmol/L 乙酸铵 梯度洗脱	ESI 三重四极杆 正离子模式,SRM	[31]
饮料	着色剂	Zorbax SB - C18 柱	乙腈:2 mmol/L 乙酸铵 梯度洗脱	ESI 正离子模式	[32]
饮料等	着色剂	C8 柱 30°C	乙酸盐缓冲液:甲醇	ESI 正负离子模式	[33]

2 展望

食品中的防腐剂、甜味剂、着色剂种类多样,理化性质各不相同,现有的方法一般是针对其中的一种或性质相似的几种进行测定。由于色谱非常强的分离能力和质谱的强定性能

力,从而简化了食品样品的前处理步骤,食品样品经简单提取或经固相萃取等手段进行净化、浓缩后即可进样测定。对于日常的食品检验和食品污染物监测,需要更稳定、可靠且简便的液相色谱 - 质谱联用测定防腐剂、甜味剂、着色剂的方法。

[参考文献]

- [1] 叶珊. 偏最小二乘法-紫外光度法同时测定防腐剂尼泊金乙酸钠、山梨酸钾和苯甲酸[J]. 钠化学分析计量, 2009, 18(5): 27-29.
- [2] Gryn H, Gruszczynska Z. Use of gas chromatography for determining benzoic and sorbic acid levels in orange beverage and tomato concentrate[J]. Rocznik Panstw Zakl Hig, 1990, 41(5-6): 217-222.
- [3] Wang L, Zhang X, Wang Y *et al.* Simultaneous determination of preservatives in soft drinks, yogurts and sauces by a novel solid-phase extraction element and thermal desorption-gas chromatography[J]. Anal Chim Acta, 2006, 577(1): 62-67.
- [4] Aiko UJIIE, Hiroshi HASEBE, Yoshiko CHIBA *et al.* Simultaneous determination of nine kinds of preservatives in foods by HPLC[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2007, 48(3): 58-63.
- [5] E Mikami, T Goto, T Ohno. Simultaneous analysis of dehydroacetic acid, benzoic acid, sorbic acid and salicylic acid in cosmetic products by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography[J]. J Pharm Biomed Anal, 2002, 28(2): 261-267.
- [6] Saad B, Bari MF, Saleh MI *et al.* Simultaneous determination of preservatives in foodstuffs using high-performance liquid chromatography[J]. J Chromatogr A, 2005, 1073(1-2): 393-397.
- [7] Lin YH, Chou SS, Sheu F *et al.* Simultaneous determination of sweeteners and preservatives in preserved fruits by micellar electrokinetic capillary chromatography[J]. J Chromatogr Sci, 2000, 38(8): 345-352.
- [8] C de Luca, S Passi, E Quattrucci. Simultaneous determination of sorbic acid, benzoic acid and parabens in foods: a new gas chromatography-mass spectrometry technique adopted in a survey on Italian foods and beverages[J]. Food Addit Contam, 1995, 12(1): 1-7.
- [9] Ochiai N, Sasamoto K, Takino M *et al.* Simultaneous determination of preservatives in beverages, vinegar, aqueous sauces, and quasi-drug drinks by stir-bar sorptive extraction (SBSE) and thermal desorption GC-MS[J]. Anal Bioanal Chem, 2002, 373(1-2): 56-63.
- [10] Sergio Armenta, Salvador Garrigues, Miguel de la Guardia. Sweeteners determination in table top formulations using FT-Raman spectrometry and chemometric analysis[J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 521(2): 149-155.
- [11] 辛若竹, 丁梅, 郝贤光. 气相色谱法测定面包、糕点、酱等食品中复合防腐剂及甜蜜素[J]. 卫生研究, 2008, 37(4): 498-501.
- [12] MJ Scotter, L Castle, DP Roberts *et al.* Development and single-laboratory validation of an HPLC method for the determination of cyclamate sweetener in foodstuffs[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2009, 26(5): 614-622.
- [13] A Wasik, J McCourt, M Buchgraber. Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection development and single-laboratory validation[J]. J Chromatogr A, 2007, 1157(1-2): 187-196.
- [14] Mónica González, Mercedes Gallego, Miguel Valcárcel. Liquid Chromatographic Determination of Natural and Synthetic Colorants in Lyophilized Foods Using an Automatic Solid-Phase Extraction System[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(8): 2121-2129.
- [15] Qing-chuan Chen, Shi-fen Mou, Xiao-ping Hou. Determination of eight synthetic food colorants in drinks by high-performance ion chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 1998, 827(1): 73-81.
- [16] Xiang Wang, Guoxin Song, Weiping Wu *et al.* Determination of the Food Colorant, Chrysoidine, in Fish by GC-MS[J]. Chromatographia, 2008, 68: 659-662.
- [17] Xiu Qin Li, Feng Zhang, Yan Yan Sun *et al.* Accurate screening for synthetic preservatives in beverage using high performance liquid chromatography with time-of-flight mass spectrometry[J]. Analytica chimica acta, 2008, 608: 165-177.
- [18] Aiko Ujiie, Hiroshi Hasebe, Yoshiko Chiba *et al.* Simultaneous Determination of 7 Kinds of Preservatives and Saccharin in Foods with HPLC and Identification with LC/MS/MS[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2007, 48(6): 163-169.
- [19] 许秀敏, 吴西梅, 梁春穗. 液相色谱/质谱联用检测食品中苯甲酸、山梨酸、糖精钠[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(9): 1057-1059.
- [20] Liqiang Zhao, Beverly J. Tepper. Perception and acceptance of selected high-intensity sweeteners and blends in model soft drinks by propylthiouracil (PROP) non-tasters and super-tasters[J]. Food Quality and Preference, 2007, 18(3): 531-540.
- [21] 王骏. 液相色谱-质谱联用测定食品中的微量甜蜜素[J]. 食品科技, 2008, 33(9): 220-222.
- [22] 张晓燕, 刘艳, 徐锦忠. 液相色谱-串联质谱法测定食品中的甜蜜素[J]. 食品科技, 2008, 33(3): 220-222.
- [23] Ziqiang Huang, Jinyu Ma, Bo Chen *et al.* Determination of cyclamate in foods by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. Analytica Chimica Acta, 2006, 555: 233-237.
- [24] 郑屏, 陈昌骏, 盛旋. 液相色谱-质谱法测定食品中甜蜜素[J]. 理化检验化学分册, 2007, 43: 567-568.
- [25] K Hatano, A Nakao. Determination of sucralose in foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2002, 43(5): 267-272.
- [26] Margot Heinz, Pat Schreiter, Markus Baumann. Determination of Sucralose by Isotope-dilution Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry[J]. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 2008, 104(4): 166-170.
- [27] Da-jin Yang, Bo Chen. Simultaneous Determination of Nonnutritive Sweeteners in foods by HPLC/ESI-MS[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57: 3022-3027.
- [28] M. Koyama, K. Yoshida, N. Uchibori *et al.* Sasaki Analysis of nine kinds of sweeteners in foods by LC/MS[J]. Shokuhin Eiseigaku Zasshi, 2005, 46: 72-78.
- [29] 盛旋, 陈昌骏, 丁振华. 固相萃取-液相色谱/质谱法同时测定食品中磺胺类人工合成甜味剂[J]. 分析实验室, 2006, 25(7): 75-78.
- [30] 李帮锐, 冯家力, 潘振球. 高效液相色谱-质谱/质谱联用法测定饮料中的人工合成色素[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(4): 579-585.
- [31] 陈晓红, 李小平, 姚浚平. 高效液相色谱-质谱联用法测定饮料中人工合成色素的研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2005, 15(8): 941-942.
- [32] Ming Ma, Xubiao Luo, Bo Chen *et al.* Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography A, 2006, 1103(1): 170-176.
- [33] 杨大进, 方从容, 陈波. 甜味剂和防腐剂液相色谱多组分同时测定[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(7): 891-892.

(收稿日期: 2011-01-17)