

气质联用法监测三氯蔗糖的合成

庞永和, 李国俊, 何文革, 宫立红, 彭冬青, 赵亚强

(河北省体育科学研究所, 河北 石家庄 050011)

摘要:采用单酯化法合成三氯蔗糖, 并建立了气相色谱-质谱(GC/MS)检测合成过程中各重要组分的方法。采用 HP-5 毛细管气相色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm), 以电子轰击为电离方式, 选取最佳实验条件对蔗糖、蔗糖-6-乙酯、三氯蔗糖进行硅烷化衍生, 并对其进行定性、定量检测。该检测方法用于监测单酯化法合成三氯蔗糖的工艺过程, 取得了理想效果。

关键词:气质联用; 三氯蔗糖; 合成

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2007)02-92-04

Monitoring Synthesis of Sucralose by GC/MS

PANG Yong-he, LI Guo-jun, HE Wen-ge, GONG Li-hong,

PENG Dong-qing, ZHAO Ya-qiang

(Hebei Research Institute of Sports Science, Shijiazhuang 050011, China)

Abstract: Sucralose was synthesized by monoesterification method. A method was established of gas chromatography-mass spectrometry for determination of sucrose, sucrose-6-acetate and sucralose. The operating conditions were HP-5 column(30 m×0.25 mm×0.25 μm) and EI. It is used for monitoring and improving the steps of synthesis sucralose.

Key words: GC/MS; sucralose; synthesis

4,1,6-三氯-4,1,6-三脱氧半乳糖简称三氯蔗糖(Sucralose), 是一种甜度高、低热量、无毒、抗龋齿的新型甜味剂^[1]。目前三氯蔗糖的合成方法主要有单基团保护法^[2]、全基团保护法^[3]以及棉子糖水解法^[4]等。

文献^[5]中采用薄层色谱法对合成三氯蔗糖的中间体蔗糖-6-乙酯进行在线控制, 方便简单, 获得了较好的效果。张英等^[6]采用反相高效液

相色谱监测蔗糖-6-乙酸酯的合成, 对其合成工艺有良好的指导作用。本实验采用单酯化法合成三氯蔗糖, 以蔗糖为原料, 经酯化法将蔗糖的活泼 6 位羟基单独保护, 然后通过选择性氯化取代 4,1,6 位碳上的羟基, 最后脱去 C-6 位上的保护基团从而生成三氯蔗糖。然后采用气质联用法测定各个合成中间体、终产物三氯蔗糖, 从而指导三氯蔗糖合成工艺的优化。

1 实验部分

1.1 试剂及仪器

三氯蔗糖合成过程中所用的试剂包括:二丁基氧化锡、乙酸酐、*N,N*-二甲基甲酰胺(DMF)、氯化亚砷、吡啶、环己烷、1,2-二氯乙烷、甲醇等。溶剂均为分析纯。

标准品:蔗糖(分析纯)、三氯蔗糖(纯度>99%)、蔗糖-6-乙酯(本实验室合成,纯度>99%)。上述标准品均用甲醇配成质量浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的标准储备液。*N*-甲基-*N*-三甲基硅基三氯乙酰胺(MSTFA):美国 Sigma 公司产品;三甲基碘硅烷(TMIS):Aldrich 公司产品。

气质联用仪 Agilent6890/5973 N;美国安捷伦公司产品;HP-5 毛细管气相色谱柱($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$):美国安捷伦公司产品;氮吹仪等。

1.2 三氯蔗糖的合成

1.2.1 蔗糖-6-乙酸脂(S-6-a)的制备

1.2.1.1 二丁基氧化锡催化法合成 S-6-a:在带回流装置及分水器的三口烧瓶中加入 34.3 g 蔗糖和 123 mL DMF 将蔗糖全部溶解后,加入 50 mL 环己烷和 26.75 g 二丁基氧化锡。升温至 93°C 回流 4.5 h,降温至 5°C ,加入 10.3 mL 乙酸酐于冰水浴中反应 1 h, 20°C 下反应 1 h 后结束。用环己烷萃取有机锡,萃余液减压浓缩,制得 S-6-a 粗品 1。

1.2.1.2 将蔗糖溶于吡啶溶液中,在 -20°C 下,乙酸酐与蔗糖的摩尔比值为 1.1:1,反应 6 h 制备 S-6-a 粗品 2。

1.2.2 三氯蔗糖生成

首先将 300 mL *N,N*-二甲基甲酰胺投入四口烧瓶中,在搅拌下加入 30 g S-6-a 溶解;冷却至 10°C 以下,滴加 60 mL 氯化亚砷和 120 mL 1,2-二氯乙烷的混合液,控制温度在 20°C 以下,滴毕后保温 30 min;然后撤去冰水浴,自然升温再加热至回流反应 3 h;反应液冷却至 10°C ,于搅拌下慢慢加入 150 mL 左右 5% 的稀氨水,调节 pH 值为 7 左右,静置,分出有机相;用 1,2-二氯乙烷萃取水相三次,合并有机相,进行高真空下蒸馏分离接收产品和回收溶剂,得到 35 g 三氯蔗糖-6-乙酸酯,用甲醇钠(甲醇溶液)脱去三氯蔗糖-6-乙酸酯的乙酰基,反应时间约 2 h,抽

滤得到三氯蔗糖的粗品。粗品用甲醇结晶,用活性炭脱色,真空干燥得到白色(略带浅黄色)的三氯蔗糖。

1.3 工作曲线的绘制

配制含蔗糖、蔗糖-6-乙酯的一系列标准液,其质量浓度分别为 0、0.1、0.2、0.6、1.00 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$,另外配制三氯蔗糖的标准液,其质量浓度分别为 0、0.1、0.2、0.6、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

准确吸取 0.5 mL 质量浓度为 0.1、0.2、0.6、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的蔗糖、蔗糖-6-乙酯标准液和三氯蔗糖标准液于 10 mL 离心管内,分别在氮气流下缓慢吹干甲醇,加入 50 μL MSTFA+TMIS 衍生化试剂,漩涡混匀, 50°C 下衍生 30 min,进样 1 μL 进行气质分析,其绝对进样量分别为 1、2、6、10 ng。测量蔗糖、蔗糖-6-乙酯、三氯蔗糖的峰面积,以峰面积与相应的绝对进样量绘制标准曲线,建立回归方程。

1.4 样品处理及测定

将 1.2 中制备的 S-6-a 粗品 1、2 和三氯蔗糖粗品均配置成 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液,经 0.45 μm 滤膜过滤后,均取 0.5 mL 样品于 10 mL 离心管中,在氮气流下吹干,加入 50 μL MSTFA+TMIS 衍生化试剂, 50°C 下衍生 30 min,进样 1 μL 进行气质分析。根据样品峰面积,从各标准品的回归方程计算得到各物质的质量 m ,再按照公式 $W = m \times 50 / (1.0 \times 0.5 \times 1000)$,其中 m 的单位为 ng, W 为该物质在粗品中的质量百分含量。

2 结果与讨论

2.1 色谱分析条件的选择

色谱分离时,不仅载气流速影响分离度,而且升温程序的不同也会导致色谱峰分离度的变化,经过实验选择优化,最后确定了升温程序。进样口温度为 280°C ;载气为 He,流速为 $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$,不分流进样,0.75 min 后分流阀打开;进样量为 1 μL ;程序升温:起始温度 180°C ,保持 3 min,以 $20^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 230°C ,保持 20 min,然后以 $30^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 300°C ,保持 2 min。电子轰击离子源,离子源温度为 230°C ,四极杆温度为 150°C ,接口温度为 250°C ,电子能量为 70 eV。

2.2 线性及检出限

被测化合物经衍生化处理和气相分离后,进入离子源进行检测。按所建立的色谱分析条件

确定各物质的线性回归方程和线性范围。以 S/N=3 所对应的被测物作为方法的检出限。各标准的回归方程、线性范围、检出限列于表 1。

表 1 3 种标准品的回归方程、线性相关系数和检出限

Table 1 Regression equation, correlation coefficient and detection limit of three kinds of standard

标准品	回归方程	相关系数	检出限
Standard	Regression equation	Correlation coefficient	Detection limit/ $\times 10^{-3}$ ng
蔗糖	$Y=150.25X+315.14$	0.999 1	5.2
蔗糖-6-乙酯	$Y=165.53X+751.28$	0.999 6	3.4
三氯蔗糖	$Y=213.24X+254.15$	0.999 5	1.5

注:回归方程中 $Y=Y_A \times 10^{-5}$, Y_A 为峰面积。

2.3 蔗糖-6-乙酸酯的合成过程控制及分析

在三氯蔗糖的合成过程中,C-6 位羟基的单基团保护是核心步骤。降低温度是对蔗糖 C-6 位最活泼羟基进行单一选择性保护的有效方法。分别对 1.2.1 中两种合成蔗糖-6-乙酯的方法进行比较,它们的总离子流色谱图示于图 1。

表 2 蔗糖、蔗糖-6-乙酯在各粗品中的含量

Table 2 Contents of sucrose and sucrose-6-ester in samples

	蔗糖含量	蔗糖-6-乙酯含量
	Content of sucrose	Content of sucrose-6-ester
粗品 1	9.6%	79.8%
粗品 2	69.1%	17.2%

2.4 终产物三氯蔗糖的分析

实验中对 1.2.2 生成的三氯蔗糖粗品进行了测定。图 2 为其总离子流色谱图及其三氯蔗糖硅烷化衍生物的质谱图。根据三氯蔗糖的峰面积,代入它的线性回归方程中得到了粗品中三氯蔗糖的含量仅为 21%,为了保证终产品的纯度,对终产品进行了提纯重结晶,最后得到的三氯蔗糖的纯度>99%。使用气质联用能够很好的监测三氯蔗糖的提纯过程。

3 结 论

本实验采用单酯化法合成了三氯蔗糖,该方法反应过程较为复杂,目前尚无简便可靠的监测和控制方法。本实验模拟工业化生产的步骤,在彻底了解反应过程的基础上,利用气质联用技术监控各关键步骤的主产物及其它副产物的产率和比例,指导工艺条件的优化,提高三氯蔗糖的终产率和指导提纯工作,对于工业化合成有较好的参考作用。对于副产物的种类、结构验证及其对整个合成过程的影响正在进一步的研究中。

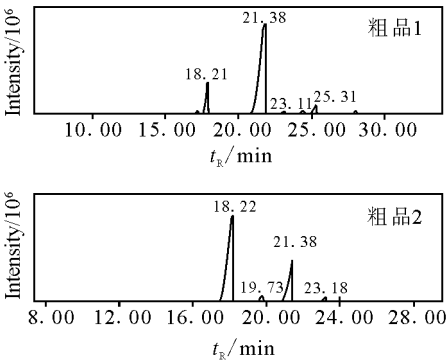


图 1 粗品 1、2 中蔗糖、蔗糖-6-乙酸酯的色谱图

Fig. 1 Chromatography of sucrose and sucrose-6-ester in samples

从蔗糖和蔗糖-6-乙酯标准品的保留时间及质谱图,可知 $t_R=18.21$ min 为未反应的蔗糖色谱峰, $t_R=21.38$ min 为生成的蔗糖-6-乙酸酯色谱峰。根据它们的峰面积,代入各自的线性回归方程中得到了蔗糖-6-乙酸酯粗品中各物质的含量,其含量列于表 2。从表中可见,采用 1.2.1.1 方法合成蔗糖-6-乙酯的产率高于 1.2.1.2 方法,按照 1.2.1.2 方法反应 6 h,还有大量的蔗糖未反应,所以最终确定采用 1.2.1.1 制备工艺。但是从图 1 中可以看出,无论哪种方法都存在着大量的副产物。

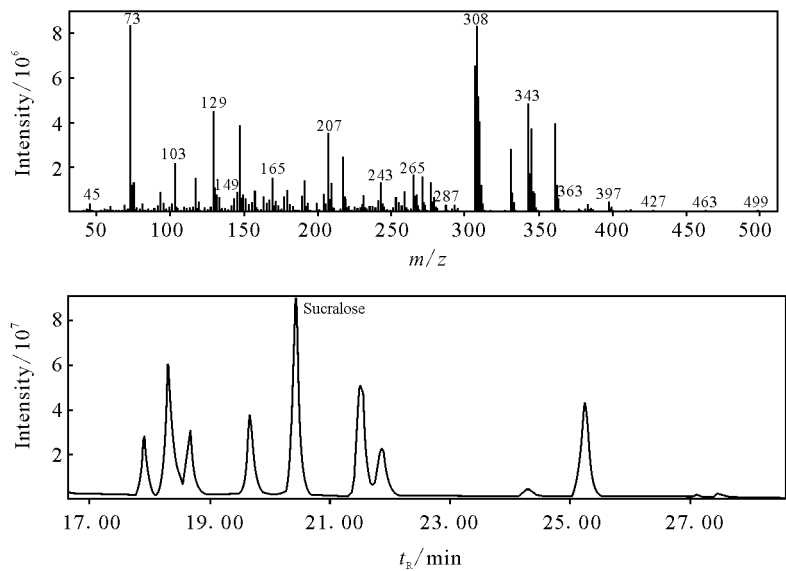


图 2 三氯蔗糖的质谱图和色谱图

Fig. 2 Chromatography and mass spectrometry of sucralose

参考文献:

[1] JENNER M R. Physicochemical properties of the sweetener sucralose[J]. J Food Sci, 1987, 52: 451.

[2] HOMER N J, JACKSON G, SANKEY G H. Process for the chlorination of sugars; US, 4977254 [P]. 1990-11-11.

[3] MICHAEL R, WAITE D, JACKSON G, et al. Process for the preparation of 4,1',6'-trichloro-4,1',6'-trideoxygalactosure; US, 4362869 [P]. 1982-11-07.

[4] JONES J D, HACKING A J, CHEETHAM P S. Biological method for protection of 6-position of sucrose and its use in synthesis of disaccharide high-intensity sweetener[J]. Biotechnol Bioeng, 1992, 39(2): 203-210.

[5] 沈 冬, 宋杰灵, 金时俊, 等. 薄层色谱法在三氯蔗糖合成控制中的应用[J]. 分析化学, 1994, 22(9): 902-904.

[6] ZHANG Y, SU H, WEI Y, et al. Study on the method of reversed-phase high performance liquid chromatography used for monitoring synthesis of sucrose-6-acetate[J]. Chem Research and Application, 2004, 16(2): 245-247.