

## 实验技术与方法

## 高效液相色谱-质谱法测定酒中甜蜜素含量的研究

肖晶,方从容,杨大进,王紫菲,刘玉洁

(国家食品安全风险评估中心,北京 100022)

**摘要:**目的 本文采用 UPLC-MS/MS 法对市售 30 种酒中甜蜜素进行测定。方法 采用 Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) 色谱柱分离, 甲醇-0.1% 乙酸(90+10) 作为流动相洗脱, 运用三重四极杆质量分析器定性定量分析。结果 该方法测定酒中甜蜜素具有良好的线性关系, 测定方法检出限为 0.010 μg/ml, 定量限为 0.021 μg/ml, 加标回收率为 75.0%~105%, 精密度 RSD 值为 10.5%~12.1%。30 种酒样品中, 有 13 个样品检测出甜蜜素, 含量水平为 0.027~891 μg/ml。结论 该方法测定酒中甜蜜素, 具有较高的灵敏度和选择性, 样品测定结果表明存在乱用甜蜜素现象。

**关键词:** 甜蜜素; 酒; 高效液相色谱-质谱; 食品添加剂

中图分类号: TS202.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-8456(2013)03-0254-03

## Determination of sodium cyclamate in wine by UPLC-MS/MS

Xiao Jing, Fang Congrong, Yang Dajin, Wang Zifei, Liu Yujie

(China National Center for Food Safety Risk Assessment, Beijing 100022)

**Abstract: Objective** A comprehensive analytical method based on UPLC-MS/MS was established for determination of sodium cyclamate in 30 wine samples from markets. **Methods** UPLC separation was performed on an Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> column (2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm) with methanol-0.1% acetic acid (90 + 10) as mobile phase. Triple-quadrupole mass spectrometry analyzer was used for the qualitative and quantitative analysis. **Results** The limit of detection of sodium cyclamate was 10 μg/L. The recoveries of Sodium cyclamate were 75.0% - 105%, and the RSD was 10.5% - 12.1%. Among 30 wine samples, 13 samples were found to contain sodium cyclamate, whose level was 0.027 - 891 μg/ml. **Conclusion** The method is simple with high sensitivity and selectivity and suitable for the determination of sodium cyclamate in wine. The results indicated the presence of abuse of sodium cyclamate.

**Key words:** Sodium cyclamate; wine; UPLC-MS/MS; food additive

甜蜜素(sodium cyclamate, molasses), 化学名为环己基氨基磺酸钠, 是食品生产中常用的合成甜味剂, 被广泛应用于各类食品。GB 2760—2011《食品添加剂使用标准》明确规定, 在蒸馏酒和发酵酒中不得使用甜蜜素, 在冷冻饮品、水果罐头、腌渍的蔬菜、腐乳类、面包、糕点、饼干、复合调味料、饮料类、配制酒、果冻中最大使用量为 0.65 g/kg; 在果酱、蜜饯凉果中最大使用量为 1.0 g/kg; 在凉果类、话化类、果丹(饼)类食品中最大使用量为 8.0 g/kg。甜蜜素滥用现象时有发生, 如果长期过度食用甜味剂超标的食品, 就会因摄入过量而对人体造成危害。因此监测和评估甜蜜素的风险十分重要。目前测定甜蜜素的方法, 主要有气相色谱法<sup>[1-2]</sup>、气相-质谱联用法<sup>[3-4]</sup>、液相色谱法<sup>[5-7]</sup>、液相-质谱联用法<sup>[8-9]</sup>、离子色谱法<sup>[10-11]</sup>、

光谱法<sup>[12-14]</sup>和薄层扫描法<sup>[15]</sup>。本试验采用超高压液相-质谱联用技术测定市售 30 种酒(白酒、黄酒和葡萄酒)中甜蜜素的含量。使用该检测方法测定酒中甜蜜素的含量更为灵敏、高效、准确。

## 1 材料与方法

## 1.1 仪器与试剂

Acquity™ Ultra Performance LC 超高压液相色谱仪, Quattro Ultima™ Pt Micromass 质谱仪, Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> 色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.7 μm); 分析天平, 超声波清洗器, 高纯水蒸馏器。

甜蜜素(纯度 > 99.0%, 迪马公司), 甲醇(色谱纯), 乙酸(优级纯); 实验室一级用水, 电导率(25 °C) 为 0.01 mS/m。

标准品溶液的制备: 精密称取甜蜜素标准品, 加水溶解, 定容, 制成浓度为 1 mg/ml 甜蜜素标准溶液。

## 1.2 色谱条件

色谱柱: Acquity UPLC™ BEH C<sub>18</sub> (2.1 mm ×

100 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ); 流动相: 甲醇-0.1% 乙酸 (90 + 10); 流速 0.25 ml/min; 柱温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 样品室温 30  $^{\circ}\text{C}$ ; 总分析时间 4 min。

### 1.3 质谱条件

负离子电喷雾电离源 (ES<sup>-</sup>); 毛细管电压 3.0 kV; 锥孔电压 30 V; RF Lens1 和 RF Lens2 分别为 13.5 和 0.5 V; 源温度 120  $^{\circ}\text{C}$ , 脱溶剂温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ; 脱溶剂气流量 500 L/h。监测离子: 母离子  $m/z$  178.0, 子离子  $m/z$  79.9、 $m/z$  95.9; 定量离子:  $m/z$  78.0。

## 2 结果与讨论

### 2.1 液相色谱条件的优化

本试验采用色谱柱分离, 考察不同比例甲醇-水、乙腈-水、甲醇-酸水作为流动相梯度洗脱的效果。结果表明, 甲醇-0.1% 乙酸 (90 + 10) 作为流动相的分离效果较好, 样品分析时间仅需 4 min。

### 2.2 质谱条件的优化

对质谱参数进行优化, 通过流动注射将标准溶液直接注射进入质谱仪, 在正离子和负离子模式下进行全扫描, 结果表明, 负离子 (ESI<sup>-</sup>) 模式下, 各化合物的  $[\text{M}-\text{Na}]^{-}$  为最高强度峰。在选择母离子后, 通过碰撞诱导解离 (CID) 获得各化合物的碎片信息, 并对碰撞能量等进行优化, 当  $m/z$  178.0 在碰撞能量为 28 eV 时,  $m/z$  79.9 和  $m/z$  95.9 碎片离子

的响应较高。  $m/z$  178.0 > 79.9 灵敏度高于  $m/z$  178 > 95.9, 故选择  $m/z$  178.0 > 79.9 作为定量离子,  $m/z$  178 > 95.9 作为定性离子。

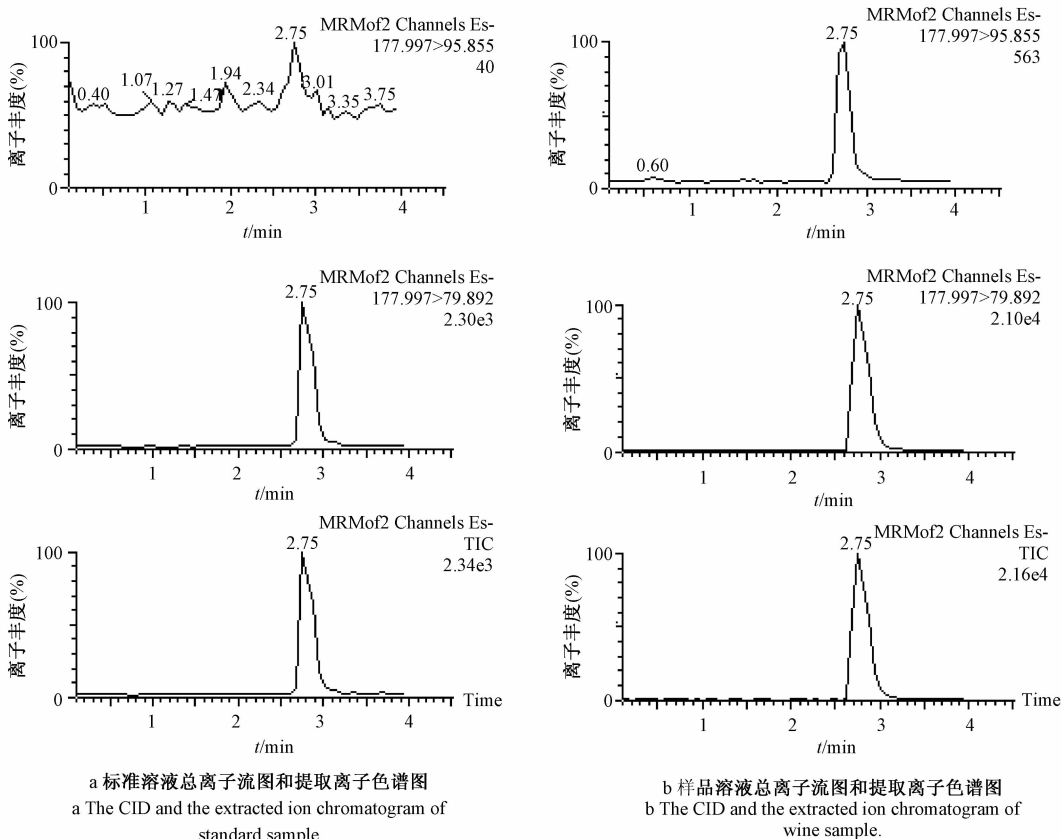
对其他质谱参数如毛细管电压、锥孔电压、源温度、脱溶剂气温度、脱溶剂气流量、RF Lens1 和 RF Lens2、碰撞梯度等条件进行优化, 结果如下: 毛细管电压 3.0 kV, 锥孔电压 30 V, RF Lens1 和 RF Lens2 分别为 13.5 和 0.5 V, 源温度 120  $^{\circ}\text{C}$ , 脱溶剂温度 350  $^{\circ}\text{C}$ ; 脱溶剂气流量 500 L/h。

### 2.3 方法参数考察

甜蜜素在 0.021 ~ 103  $\mu\text{g}/\text{ml}$  范围内具有良好线性关系, 回归方程分别为  $y = -1294.38x - 8.2402$  ( $r = 0.9991$ )。准确率试验添加了高、中、低不同水平, 测得回收率为 75.0% ~ 105%, 精密度为 10.5% ~ 12.1%。方法检出限为 0.010  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 定量限为 0.021  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

### 2.4 酒中甜蜜素的测定

采集市售 30 种酒 (白酒、黄酒、葡萄酒各 10 种) 进行检测。吸取样品适量, 加水稀释并定容 (稀释倍数可根据实际样品的浓度调整), 混匀, 经滤膜过滤, 进行仪器分析。在被测 30 个样品中, 13 个样品检出甜蜜素, 浓度水平为 0.027 ~ 891  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。测定结果见表 1, 标准溶液和样品溶液总离子流图和提取离子色谱图见图 1。



a 标准溶液总离子流图和提取离子色谱图

a The CID and the extracted ion chromatogram of standard sample.

b 样品溶液总离子流图和提取离子色谱图

b The CID and the extracted ion chromatogram of wine sample.

图 1 标准溶液和样品溶液总离子流图和提取离子色谱图

Figure 1 The CID and the extracted ion chromatogram of standard sample and wine sample