

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 C₁₈ (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 C₁₈ 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^[1-2]、气相-质谱联用法^[3-4]、液相色谱法^[5-7]、液相-质谱联用法^[8-9]、离子色谱法^[10-11]、

光谱法^[12-14]和薄层扫描法^[15]。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 C₁₈ 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 C₁₈ (2.1 mm ×

100 mm, 1.7 μm); 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⁻); 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⁻) 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。

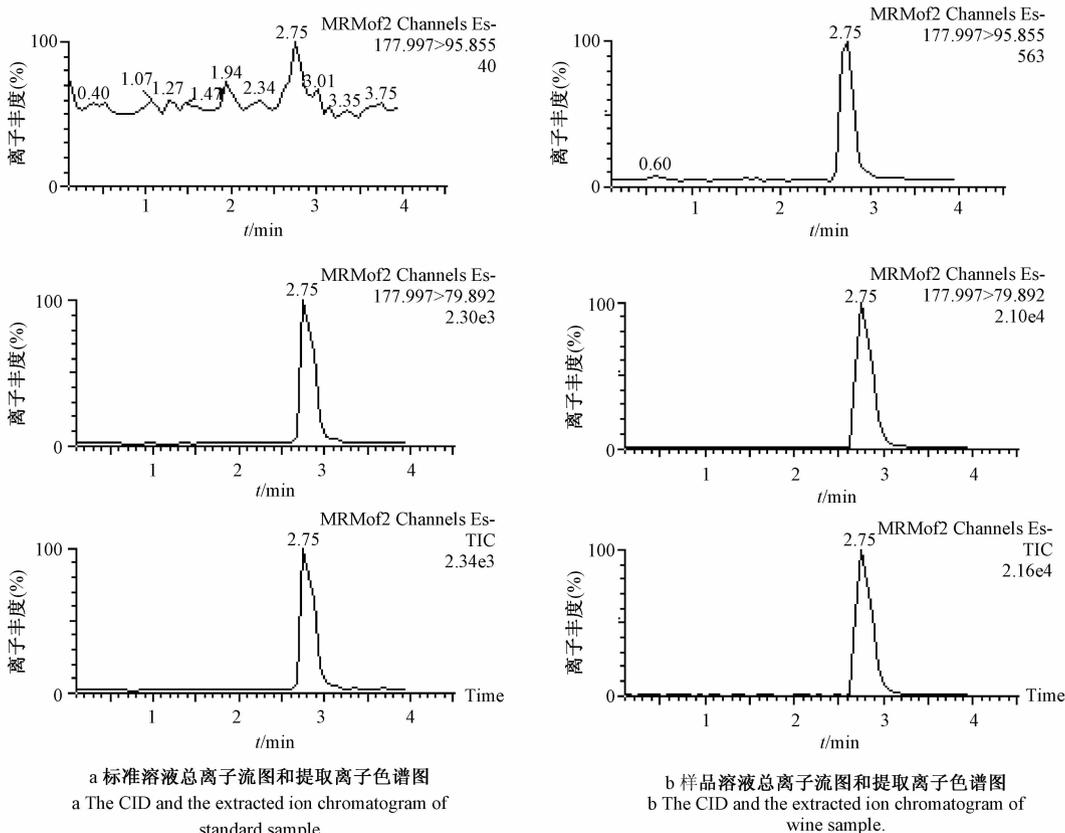


图 1 标准溶液和样品溶液总离子流图和提取离子色谱图

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