

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定白酒中的甜味剂

LCMSMS-085

摘要：本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱仪联用测定白酒中甜味剂的方法。样品经处理后，用超高效液相色谱 LC-30A 快速分离 6 种甜味剂，三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行定量分析。使用外标法绘制 7 种甜味剂的校准曲线，线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 50 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.37 % 和 4.73 % 以下，系统精密度良好。

关键词：三重四极杆质谱 白酒 甜味剂

白酒是我国人民喜爱喝的中国特产酒，根据国家标准的规定是以粮谷为主要原料，以大曲、小曲或麸曲及酒母等为糖化发酵剂，经蒸煮、糖化、发酵、蒸馏而制成的蒸馏酒。品质优良的白酒由于其复杂特殊的酿造工艺，在发酵过程中就能产生一些醇甜物质。一些小酒厂既希望降低酒的酿造成本，又要增强风味，就依靠在生产过程中添加一些甜味剂和其他物质来赋予酒类良好的口感。依据《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准

GB2760—2011》规定，甜味剂非白酒酿造过程中自身发酵物质，是不得检出项目。

高效液相色谱 - 串联质谱联用技术具有很高的选择性和灵敏度，适合于复杂基体中的有机物痕量分析，且准确度高。本文建立了使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定白酒中甜味剂的方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用系统。具体配置为 LC-30AD×2 输液泵，DGU-20A5 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30AC 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8040 三重四极杆质谱仪，LabSolutions Ver. 5.50 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

流动相：A 相—0.1% 甲酸水溶液；B 相—甲醇

总流速：0.5 mL/min

色谱柱：Shim-pack XR-ODSIII (2.0 mm I.D. × 50 mm L., 1.6 μm)

进样体积：10 μL

柱温：45℃

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 35%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc.	40
1.10	Pumps	Pump B Conc.	50
2.50	Pumps	Pump B Conc.	90
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
3.01	Pumps	Pump B Conc.	35
3.50	Controller	Stop	

质谱条件

分析仪器: LCMS-8040
离子源: ESI, 负离子模式
加热模块温度: 450°C
DL 温度: 250°C
雾化气流速: 3.0 L/min

干燥气流速: 20 L/min
离子源电压: 4.0 kV
扫描模式: 多反应监测 (MRM)
驻留时间: 40 ms
MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
纽甜	377.3	200.2*	28	20	19
		359.2	28	15	23
糖精钠	182.0	106.0*	10	19	18
		42.1	10	31	13
甜蜜素	178.1	80.0*	10	32	15
		96.0	15	22	17
三氯蔗糖	441.0	359.0*	17	16	23
		161.1	17	19	14
安赛蜜	162.1	82.1*	18	16	29
		78.0	18	32	27
阿斯巴甜	293.1	261.1*	21	10	26
		200.1	21	15	20

注: *表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制

标准物质: 共 6 种, 分别为纽甜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、安赛蜜和阿斯巴甜。

标准工作溶液配制: 用纯水配制 1.0 mg/L 的混合标准中间溶液, 用甲醇水溶液 (V/V, 20:80) 稀释成 1 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、200 μg/L 和 500 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

1.4 样品前处理方法

将白酒样品用 0.22 μm 微孔滤膜过滤后直接进样分析。

结果与讨论

2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

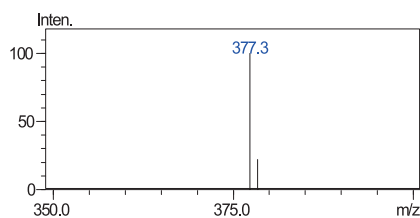


图1 纽甜的一级质谱图

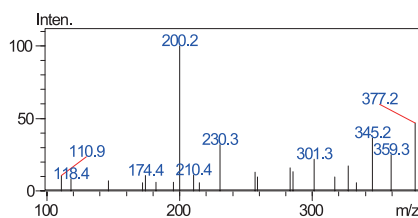


图2 纽甜的产物离子扫描图(CE值20V)

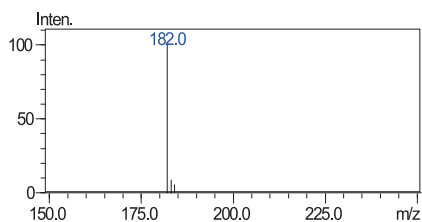


图3 糖精钠的一级质谱图

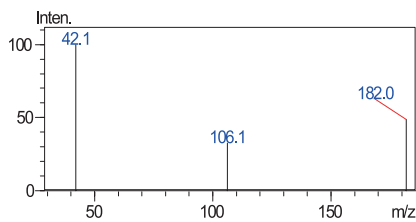


图4糖精钠的产物离子扫描图(CE值28V)

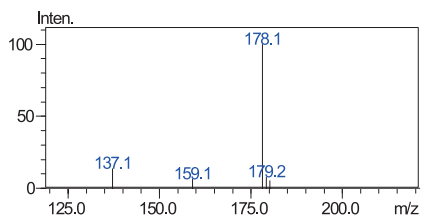


图5 甜蜜素的一级质谱图

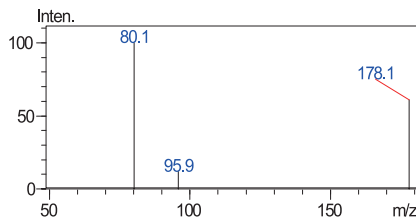


图6 甜蜜素的产物离子扫描图(CE值25V)

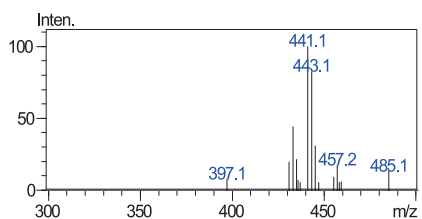


图7 三氯蔗糖的一级质谱图

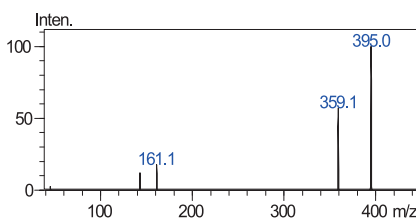


图8 三氯蔗糖的产物离子扫描图(CE值22V)

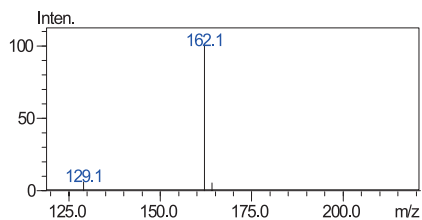


图9 安赛蜜的一级质谱图

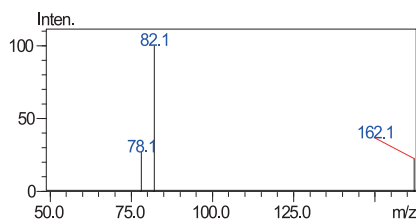


图10 安赛蜜的产物离子扫描图(CE值20V)

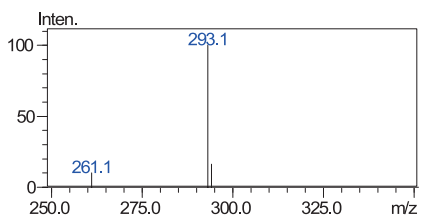


图11 阿斯巴甜的一级质谱图

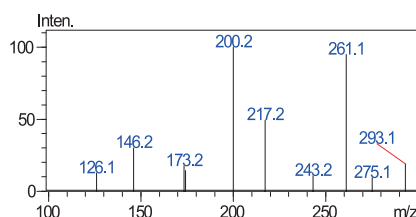


图12 阿斯巴甜的产物离子扫描图(CE值15V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

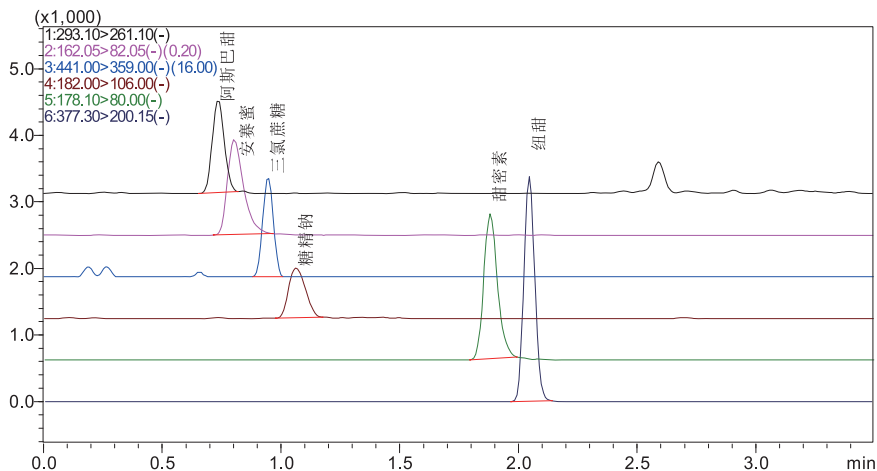


图 13 甜味剂标准样品的 MRM 色谱图(10 µg/L)

2.3 线性范围

将 1 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、50 µg/L、100 µg/L、200 µg/L 和 500 µg/L 不同浓度的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如图 14~ 图 19 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程及相关系数见表 3。

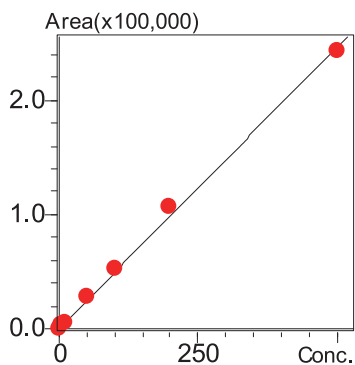


图 14 阿斯巴甜校准曲线

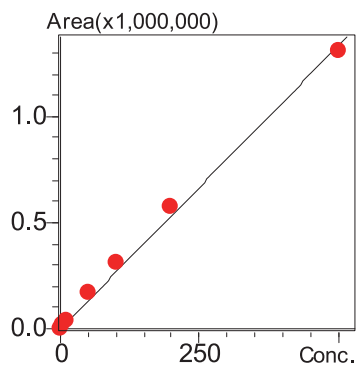


图 15 安赛蜜校准曲线

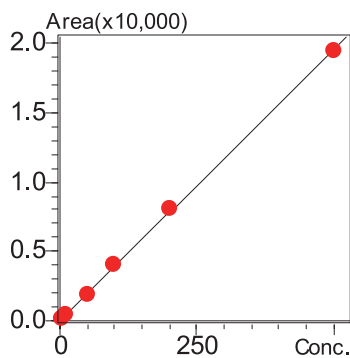


图 16 三氯蔗糖校准曲线

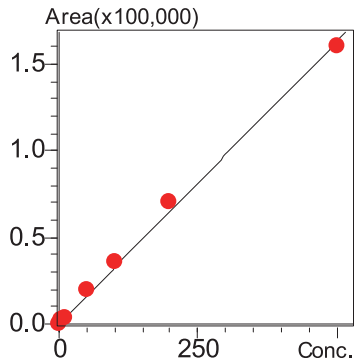


图 17 糖精钠校准曲线

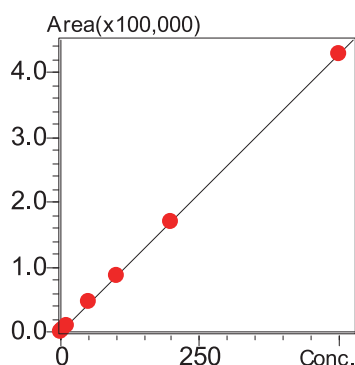


图 18 甜蜜素校准曲线

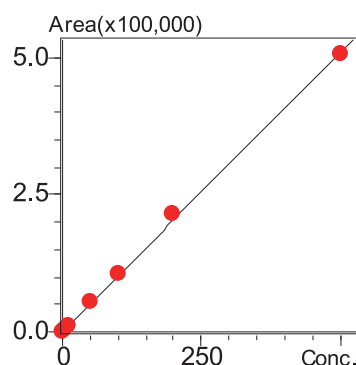


图 19 纽甜校准曲线

表 3 校准曲线参数

No.	名称	校准曲线	线性范围 ($\mu\text{g/L}$)	相关系数 r	检出限 ($\mu\text{g/L}$)	定量限 ($\mu\text{g/L}$)
1	阿斯巴甜	$Y = (493.644)X$	1~500	0.9993	0.33	1.00
2	安赛蜜	$Y = (2666.27)X$	1~500	0.9989	0.31	0.93
3	三氯蔗糖	$Y = (39.9960)X$	5~500	0.9999	1.32	4.01
4	糖精钠	$Y = (325.954)X$	1~500	0.9992	0.33	1.00
5	甜蜜素	$Y = (853.497)X$	1~500	0.9999	0.20	0.61
6	纽甜	$Y = (1021.27)X$	1~500	0.9997	0.07	0.21

2.4 精密度实验

对不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04% ~ 0.37% 和 0.97% ~ 4.73% 之间，仪器精密度良好。

表 4 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

样品名称	RSD% (50 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$)		RSD% (200 $\mu\text{g/L}$)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
阿斯巴甜	0.26	2.15	0.19	1.59	0.27	1.29
安赛蜜	0.17	1.97	0.12	1.27	0.19	0.97
三氯蔗糖	0.36	4.73	0.25	3.58	0.37	3.59
糖精钠	0.20	2.29	0.18	3.18	0.28	2.73
甜蜜素	0.16	1.64	0.07	1.99	0.13	1.97
纽甜	0.09	4.49	0.04	4.37	0.09	4.38

2.6 回收率实验

取白酒样品各 5 g，加入少量甜味剂标准溶液，使加标浓度均为 100 $\mu\text{g/kg}$ ，按照按 1.2 中的分析条件进行测定塑化剂的加标回收率。白酒样品加标回收率结果见表 5。

表 5 回收率实验结果

No.	名称	基质浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	加标浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	实测浓度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率(%)
1	阿斯巴甜	ND	100	74.09	74.09
2	安赛蜜	2.72	100	122.55	119.83
3	三氯蔗糖	ND	100	97.85	97.85
4	糖精钠	ND	100	113.60	113.60
5	甜蜜素	ND	100	102.96	102.96
6	纽甜	ND	100	97.82	97.82

注: ND 表示未检出

2.7 实际样品检测结果

以 3 种市售白酒作为检测样品, 检测其中的纽甜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、安赛蜜和阿斯巴甜, 检测结果如表 6 所示。

表 6 市售白酒样品的检测结果

No.	名称	白酒样品 1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	白酒样品 2 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	白酒样品 3 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	阿斯巴甜	ND	ND	ND
2	安赛蜜	2.72	0.74	0.63
3	三氯蔗糖	ND	ND	ND
4	糖精钠	ND	ND	ND
5	甜蜜素	ND	ND	ND
6	纽甜	ND	0.43	4.19

注: ND 表示未检出

结论

本文建立了一种使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 联用测定白酒中纽甜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、安赛蜜和阿斯巴甜的方法。该方法在 3.5 min 之内完成 6 种甜味剂目标化合物的分离分析, 且线性范围宽, 校准曲线的相关系数良好。对 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 、100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{L}$ 混合标准溶液进行精密度实验, 连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.04% ~ 0.37% 和 0.97% ~ 4.73% 之间, 系统精密度良好。该方法具有分析速度快、灵敏高、重复性好的特点, 适合白酒中纽甜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、安赛蜜和阿斯巴甜非法添加的检测。