

# 三重四极杆质谱法测定饮料中甜蜜素的残留

## LCMSMS-138

**摘要:** 本文建立了一种岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定饮料中甜蜜素的分析方法。超高效液相色谱 LC-30A 进行等度洗脱分离, 用串联质谱多反应监测进行定性分析。采用外标法进行定量分析, 甜蜜素具有良好的线性相关性, 相关系数在 0.9999 以上。对低中高不同浓度的混合标准溶液连续 6 次进样进行精密度实验, 甜蜜素的保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.48% 和 3.91% 以下, 系统精密度良好。饮料基质加标不同浓度标样, 甜蜜素的回收率范围为 95.2%~106.6%, 方法检出限为 0.07  $\mu\text{g/L}$ , 定量限为 0.23  $\mu\text{g/L}$ , 可以满足对食品饮料中甜蜜素的检测需求。

**关键词:** 饮料 甜蜜素 三重四极杆质谱

甜蜜素的化学名称为环己基胺基磺酸钠, 在食品添加剂中属于甜味剂, 其甜度为蔗糖的 30-80 倍, 具有水溶性好、甜味清爽、稳定性好、热量低等特性, 而且风味自然, 后苦不明显, 是一种在我国广泛使用的甜味剂。甜蜜素的安全性一直受到很大的争议, 美国曾大量使用甜蜜素, 但由于其会导致膀胱癌的报道, 美国自 1969 年起全面禁用, 至今世界上仍有包括美国、英国、日本等国在内的 40 多个国家禁止使用甜蜜素作为食品甜味剂, 但也有我国、欧盟、澳大利亚、新西兰在内的 80 多个国家允许在食品中添加甜蜜素。目前我国对食品中甜蜜素检验方法的主要是气相色谱法、分光比色法和薄层层析法, 国标采用气相色谱法, 其最低检测限为 400  $\text{mg/kg}$ , 难以达到日本等进口国对食品中甜蜜素不得检出的要求, 而且采用气相色谱法检测要使用冰浴进行温度控制, 很容易因为季节和环境温度的影响导致实验失败。采用液相色谱法检测比较简单, 但是甜蜜素对紫外吸收差, 在不衍生的情况下难以测定。

本文参考《SNT 1948-2007 进出口食品中环己基氨基磺酸钠的检测方法 液相色谱-质谱质谱法》, 采用高效液相色谱串联质谱法对饮料中的甜蜜素进行快速的分离和检测。

### 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 $\times$ 2 高压输液泵, DGU-20A<sub>5</sub> 在线脱气机, SIL-30AC 自动进样器, CTO-30A 柱温箱, CBM-

20A 系统控制器, LCMS-8040 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver. 5.53 色谱工作站。

#### 1.2 分析条件

##### 液相色谱条件

分析仪器: LC-30A 系统

色谱柱: Shimadzu Shim-pack XR-ODS II 2.0  
mmI.D.  $\times$  75 mmL., 2.2  $\mu\text{m}$

流动相: A - 0.1% 甲酸水, B - 甲醇, A/  
B=40%/60% (V/V)

洗脱方式: 等度洗脱

流速: 0.4 mL/min

进样体积: 10  $\mu\text{L}$

柱温: 40 $^{\circ}\text{C}$

##### 质谱条件

分析仪器: LCMS-8040

离子源: ESI, 负离子扫描

离子源接口电压: -3.5 kV

喷雾针位置: 1.0 mm

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 15 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度: 400 $^{\circ}\text{C}$

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

驻留时间: 100 ms

延迟时间: 3 ms

MRM 参数: 见表 1

表1 MRM参数

化合物名称	英文名	CAS 号	前体离子	产物离子	Q <sub>1</sub> Pre Bias (V)	CE (V)	Q <sub>3</sub> Pre Bias (V)
甜蜜素	Sodium	139-05-9	178.20	80.10*	22.0	25.0	30.0
	N-cyclohexylsulfamate		178.20	81.15	22.0	20.0	14.0

\*表示定量离子

### 1.3 样品制备

#### 1.3.1 标准溶液配制

用超纯水配制浓度为 1.0 mg/mL 的甜蜜素，将浓度为 1.0 mg/mL 的甜蜜素用超纯水稀释为 1000 µg/L 的标样。将 1000 µg/L 的甜蜜素标样加标于饮料中，超声提取 5 min，以 10000 r/min 的速度离心 5 min，取上层清液过 0.22 µm 滤膜，分别配制成饮料加标浓度为 1、2、5、10、20、50 µg/L 的基质加标液用于建立定量方法。

#### 1.3.2 样品前处理方法

准确量取饮料样品 2.0 mL 于 10 mL 离心管中，加入 6 mL 超纯水（奶制品饮料则选择加入 6 mL 乙腈以沉淀蛋白），超声提取 5 min，以 10000 r/min 的速度离心 5 min，取上层清液过 0.22 µm 滤膜，直接用于液质联用仪分析。

## 结果讨论

### 2.1 标准样品一级质谱图和产物离子扫描质谱图

分别选取甲醇和乙腈，10 mM 甲酸铵和 0.1% 甲酸水溶液作为流动相，按照两两组合的方式固定有机相和水相的体积比为 6:4，流速为 0.2 mL/min 进行等度洗脱，4 种组合所得的一级质谱扫描图结果显示相同条件下选用甲醇和 0.1% 甲酸作为流动相可以获得较高的灵敏度。在上述优化流动相体系组成的条件下，甜蜜素所得一级质谱图和产物离子扫描质谱图见图 1。

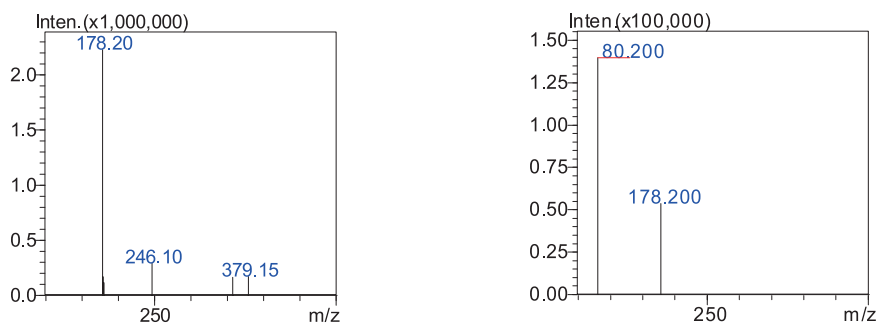


图1 甜蜜素的一级质谱图（左图）和产物离子扫描质谱图（右图，CE:25v）

### 2.2 标准样品的 MRM 色谱图

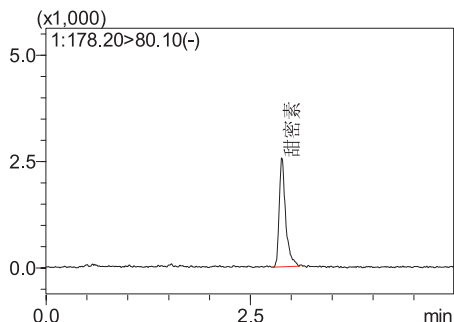


图2 甜蜜素标准溶液 1 µg/L 的 MRM 色谱图

### 2.3 基质校准曲线

按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，采用外标法建立校准曲线，如图 3 所示，甜蜜素在 1.0~50 μg/L 的浓度范围内线性相关性良好，相关系数为 0.9999，准确度在 97.8%~104.3% 之间，采用最低浓度点的加标液计算信噪比，平均值为 43，按照信噪比的 3 倍和 10 倍分别计算方法检出限和定量限，检出限和定量限结果分别为 0.07 和 0.23 μg/L。

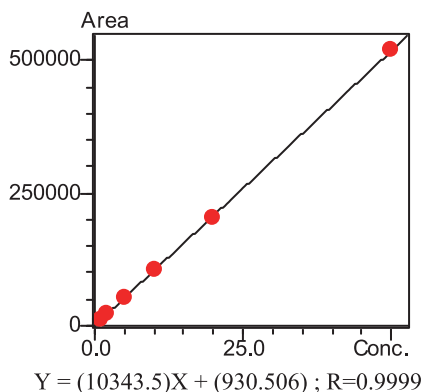


图3 甜蜜素在1.0~50 μg/L的浓度范围内的校准曲线

### 2.5 基质加标实验

图 4 为饮料基质按照 1.3 中样品制备方法所得 MRM 色谱图，由图 4 可知饮料基质并未检出甜蜜素。往饮料基质中添加甜蜜素标样的 MRM 色谱图如图 5 所示，从图 5 中可以看到，基质加标样品在定量限上均有很好的响应，饮料基质平行加标三份不同浓度水平的标准品进行前处理，所得回收率结果见表 3。

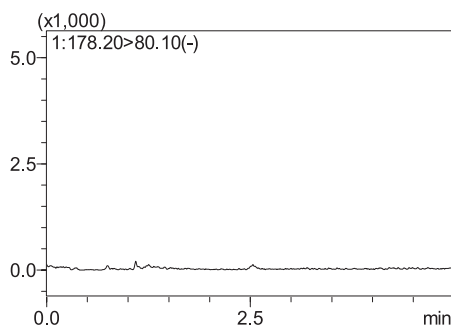


图4 饮料基质MRM色谱图

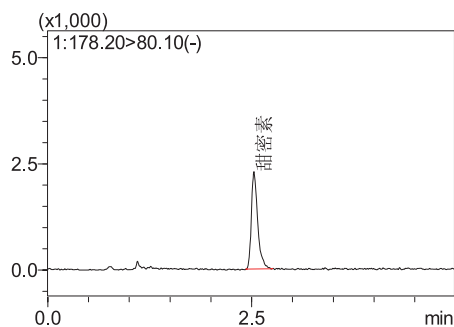


图5 饮料基质加标1 μg/L 的MRM色谱图

### 2.4 精密度实验

配制不同浓度的混合标样依次进样（浓度见表 2），平行测定 6 次，甜蜜素的保留时间相对标准偏差和峰面积的相对标准偏差分别在 0.20%~0.48% 和 2.44%~3.91% 之间，结果表明系统具有良好的精密度。

表2 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

NO.	(1.0 μg/L)		(50 μg/L)	
	RT	Area	RT	Area
1	2.560	11,217	2.578	1,187,455
2	2.551	11,489	2.580	1,164,806
3	2.548	11,926	2.583	1,103,665
4	2.524	12,280	2.587	1,151,845
5	2.538	12,385	2.591	1,149,264
6	2.546	12,160	2.589	1,167,211
RSD%	0.48	3.91	0.20	2.44

表3 饮料基质加标不同浓度标样回收率结果 (n=3)

NO.	(1.0 μg/L)		(10.0 μg/L)		(50.0 μg/L)	
	实测浓度	回收率	实测浓度	回收率	实测浓度	回收率
1	0.994	99.4%	10.559	105.6%	52.522	105.0%
2	1.021	102.1%	10.278	102.8%	51.428	102.9%
3	0.952	95.2%	10.142	101.4%	53.306	106.6%
RSD%	--	3.52%	--	2.08%	--	1.80%

## 2.6 实际样品分析

随机购买市场上不同牌子的 6 种饮料包括水果罐头、果汁饮料、乳制品饮料以及碳酸型饮料，将所建立的分析方法用于实际样品分析，6 份饮料均未检测到甜蜜素。

## ■ 结论

本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 测定饮料中甜蜜素含量的分析方法。甜蜜素在 1.0~50.0  $\mu\text{g/L}$  的浓度范围内具有良好的相关性，相关系数为 0.9999。对低中高不同浓度的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 0.48% 和 3.91% 以下，仪器精密度良好。饮料基质加标不同浓度的标准品，甜蜜素的回收率范围为 95.2%~106.6%，方法检出限为 0.07  $\mu\text{g/L}$ ，定量限为 0.23  $\mu\text{g/L}$ 。实验结果表明该方法灵敏度高，岛津超高效液相色谱和三重四极杆质谱联用仪可以满足饮料中甜蜜素的检测需求。