

超高效液相色谱 – 三重四极杆质谱仪高灵敏度直接进样测定果汁饮料和白酒中的环己基氨基磺酸钠

LCMSMS-300

摘要：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-8050 联用测定果汁饮料和白酒中的环己基氨基磺酸钠的方法。样品直接进样，无需复杂前处理，可在 5.0 min 内完成分析。正离子模式定性，负离子模式定量。方法线性范围为 2~1000 ng/mL，相关系数大于 0.999。各浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差分别为 0.07~0.09% 和 0.74~1.38%。负离子模式检出限为 0.013 ng/mL，定量限为 0.044 ng/mL。果汁饮料和白酒样品三个不同浓度基质加标回收率分别在 97.6%~99.2% 和 99.5%~106% 之间。正离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平的基质效应因子分别为 87.3%~92.1% 和 85.1%~91.0%；负离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平的基质效应因子分别为 97.8%~100% 和 101%~105%。三个不同浓度下定性离子相对丰度的平均值在 32.5%~34.7% 之间，相对标准偏差在 1.06%~3.56% 之间。高浓度样品 (1000 ng/mL) 分析完成后，进行空白样品分析，环己基氨基磺酸钠正离子和负离子通道中均没有明显的目标化合物干扰。

关键词：环己基氨基磺酸钠 甜蜜素 白酒 果汁 超高效液相色谱 三重四极杆质谱

环己基氨基磺酸钠 (Sodium Cyclamate)，又称甜蜜素，是一种常用的甜味剂。目前世界上对于环己基氨基磺酸钠的安全性仍然存在较大的争议。世界上有包括美国、日本等在内的 40 多个国家规定禁止使用环己基氨基磺酸钠作为食品甜味剂。但另有包括中国、欧盟、澳大利亚、新西兰等 80 多个国家均允许在食品中添加环己基氨基磺酸钠。欧盟、澳大利亚和新西兰环己基氨基磺酸钠限量指标规定果汁饮料中含量不得超过 400 mg/kg，我国《GB 2760-2014 食品添加剂使用卫生标准》规定环己基氨基磺酸钠在果汁饮料和配制酒中的含量不得超过 650 mg/kg。白酒属于蒸馏酒，故按照 GB 2760-

2014 规定，白酒中不允许使用环己基氨基磺酸钠。我国国家标准《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定》中规定使用液相色谱 – 串联质谱法检测酒类样品中环己基氨基磺酸钠的方法检出限为 0.03 mg/kg，方法定量限为 0.1 mg/kg。方法中要求酒类样品需先水浴 30 分钟，挥掉乙醇后，再以水定容，过滤后上机测定。本文采用岛津公司 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用，建立了一种直接进样、快速测定果汁和白酒中环己基氨基磺酸钠的分析方法，无需复杂前处理，5 分钟内完成测定，快速、简单、灵敏、准确，可用于果汁饮料及白酒中环己基氨基磺酸钠的定量检测。

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-8050 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-20A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8050 三重四极杆质谱仪，LabSolutions 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相色谱条件

色谱柱：Shim-pack GISS

(2.1 mm I.D.×50 mm L., 1.9 μm)

流动相：A 相 -0.1% 甲酸水；B 相 - 甲醇

流速：0.20 mL/min

样品体积：5 μL

柱温：40°C

混合器体积：180 μL

洗针液：甲醇 / 水 = 1:1(v:v)

洗针模式：进样前后洗针，External only(进样针外壁清洗)，Rinse Port

洗脱方式：采用梯度洗脱，B 相初始浓度为 10%
时间程序见表 1

表1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.30	Pumps	Pump B Conc.	10
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
2.01	Pumps	Pump B Conc.	10
5.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式: ESI, 正负离子模式同时分析

加热模块温度: 250°C

加热气: 空气 10.0 L/min

接口电压: 1.0 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

干燥气: 氮气 10.0 L/min

驻留时间: 150 ms

碰撞气: 氩气 270 kPa

延迟时间: 3 ms

接口温度: 200°C

MRM 参数: 见表 2

DL 温度: 150°C

喷雾针距离: +3 mm

表2 MRM参数

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	模式	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	环己基氨	Sodium	139-05-9	ESI (-)	178.1*	79.95	12.0	15.0**	10.0
	基磺酸钠	Cyclamate		ESI (+)	202.0	122.05	-10.0	-9.0	-13.0

* 代表定量离子对, 负离子模式用于定量, 正离子模式用于定性。

** 此处碰撞能量并非最佳强度时的值, 最佳强度时碰撞能量为 25 V, 为提高定性离子相对丰度值, 将碰撞能量值降低。

1.3 标准品溶液的配制

用超纯水配制标准储备液, 浓度为 1 mg/mL(以环己基氨基磺酸计)。以超纯水将标准储备液逐级稀释成浓度为 2 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL、100 ng/mL、200 ng/mL、500 ng/mL、1000 ng/mL 的标准工作溶液, 备用。

1.4 样品处理方法

1.4.1 果汁饮料

取果汁饮料超纯水稀释 10 倍后, 4000 r/min 离心 5 min, 0.22 μm 滤膜过滤后上机分析。

1.4.2 白酒

取白酒适量, 用超纯水稀释 10 倍后, 0.22 μm 滤膜过滤后上机分析。

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

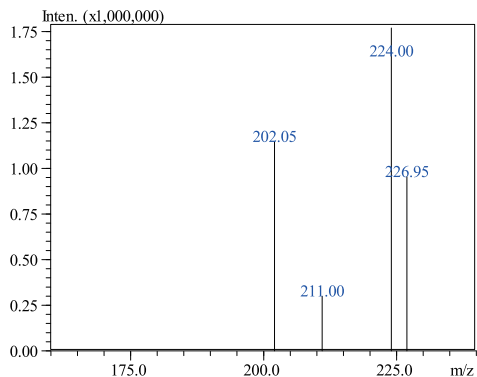


图1 环己氨基磺酸钠一级质谱图 (ESI+)

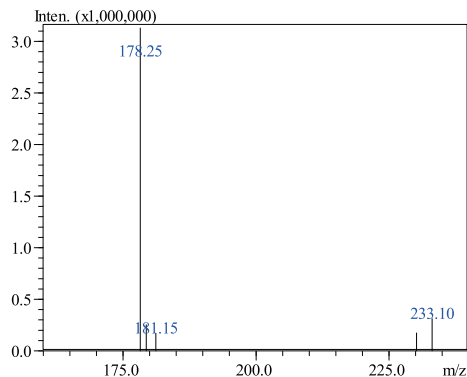


图2 环己氨基磺酸钠一级质谱图 (ESI-)

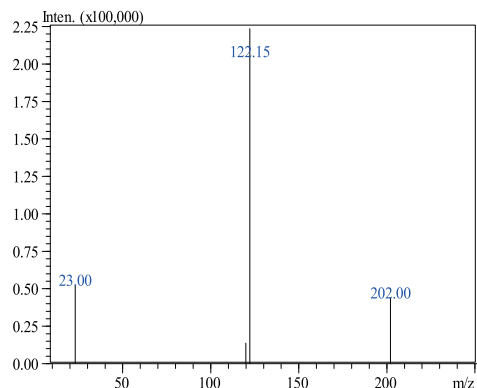


图3 环己氨基磺酸钠产物离子扫描质谱图 (ESI+)

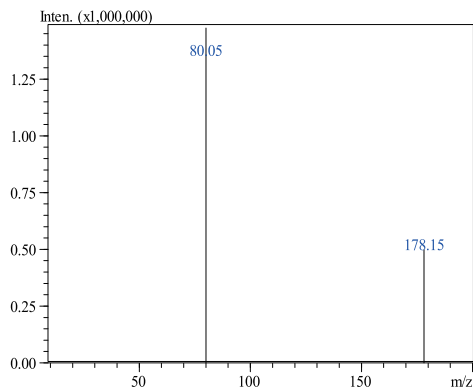


图4 环己氨基磺酸钠产物离子扫描质谱图 (ESI-)

2.2 标准样品的 MRM 谱图

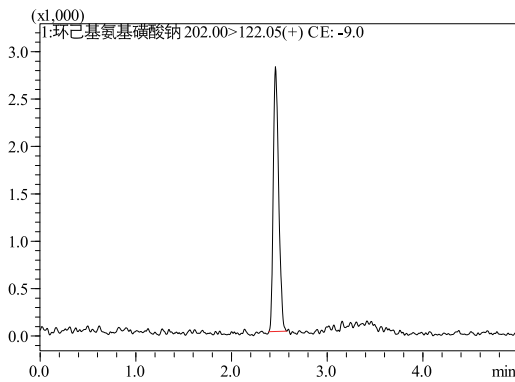


图5 标准品MRM谱图 (ESI+, 2 ng/mL)

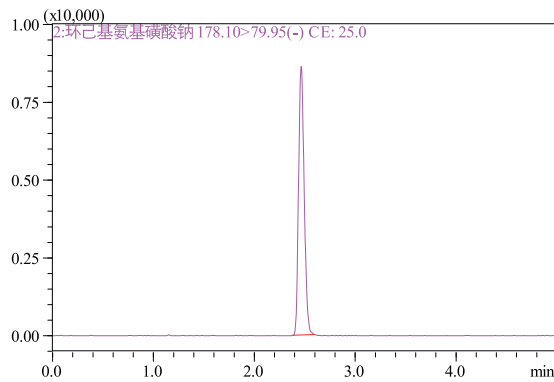


图6 标准品MRM谱图 (ESI-, 2 ng/mL)

2.3 线性关系、检出限和定量限

按照 1.3 配制 9 个不同浓度的标准系列溶液，按照 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，外标法绘制标准曲线。在 2~1000 ng/mL 范围内线性良好，相关系数大于 0.999。校准曲线如图 7 所示，线性方程、相关系数、检出限 (S/N=3, ASTM 方式) 和定量限 (S/N=10, ASTM 方式) 见表 3。

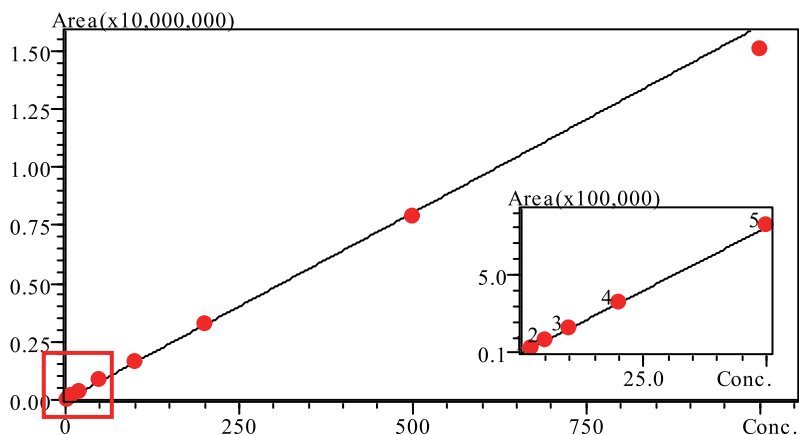


图7 环己氨基磺酸钠校准曲线 (2~1000ng/mL)

表3 校准曲线参数 (线性回归, 权重为1/C²)

名称	校准曲线	线性范围 (ng/mL)	准确度(%)	相关系数 r	检出限(ng/mL)		定量限(ng/mL)	
					ESI-	ESI+	ESI-	ESI+
环己氨基磺酸钠	$Y=16076.8 X + 837.606$	2~1000	93.7~102.1	0.9995	0.013	0.137	0.044	0.458

2.4 精密度实验

对三个浓度的混合标准溶液连续 6 次进样, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的精密度结果如表 4 所示。三个浓度标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.11% 和 0.68~1.62% 之间, 仪器重复性良好。

表4 方法精密度结果(n=6)

名称	RSD% (5 μg/L)		RSD% (50 μg/L)		RSD% (500 μg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
环己氨基磺酸钠 (-)	0.07	1.38	0.09	1.12	0.08	0.74
环己氨基磺酸钠(+)	0.06	1.60	0.11	1.62	0.08	0.68

2.5 基质加标实验

将果汁饮料和白酒样品按照 1.4 进行处理, 在后处理溶液中添加标准溶液, 配制为三个不同浓度的加标样品, 按照 1.2 中的分析条件分析, 考察基质加标回收率。结果如表 5 所示。果汁饮料样品三个不同浓度加标回收率在 97.6%~99.2% 之间, 白酒样品三个不同浓度加标回收率在 99.5%~106% 之间。

表5 基质加标回收率

样品名称	理论加标浓度 (ng/mL)	样品浓度 (ng/mL)	实际加标浓度 (ng/mL)	基质加标回收率 (%)
果汁饮料	5.00		4.88	97.6
	50.0	N.D.*	49.9	99.8
	500		496	99.2
白酒	5.00		5.88	106
	50.0	0.555	50.9	101
	500		498	99.5

*:N.D. 表示未检出。

2.6 基质效应

考察三个不同浓度样品的基质效应，以基质加标溶液峰面积与溶剂标液峰面积之比来评价基质效应，结果如表 6 所示。结果表明，正离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平环己基氨基磺酸钠的基质效应因子分别为 87.3%~92.1% 和 85.1%~91.0%；负离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平环己基氨基磺酸钠的基质效应因子分别为 97.8%~100% 和 101%~105%。可见，无论是用于定性的正离子检测通道，还是用于定量的负离子检测通道，基质效应都在可接受的范围内。

表6 基质效应

样品名称	浓度 (ng/mL)	基质效应因子 (ESI+,%)	基质效应因子 (ESI-,%)
果汁饮料	5.00	87.3	97.8
	50.0	90.6	97.9
	500	92.1	100
白酒	5.00	91.0	105
	50.0	85.1	102
	500	85.4	101

2.7 定性离子相对丰度考察

对三个不同浓度样品的混合标准溶液，重复分析 6 次，定性离子相对丰度平均值和相对标准偏差 (RSD) 结果如表 7 所示。结果表明，三个不同浓度下定性离子相对丰度的平均值在 32.5%~34.7% 之间，相对标准偏差在 1.06%~3.56% 之间，重复性良好。

表7 定性离子相对丰度(n=6)

浓度 (ng/mL)	定性离子相对丰度均值 (%)	定性离子相对丰度 RSD (%)
5.00	32.5	3.56
50.0	34.7	2.29
500	32.7	1.06

2.8 残留

高浓度样品 (1000 ng/mL) 分析完成后，进样分析空白样品，考察环己基氨基磺酸钠的残留情况。结果如图 8、图 9 所示。

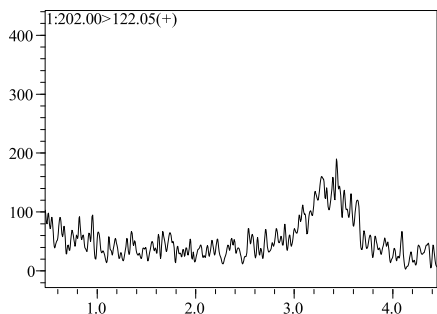


图8 残留考察 (ESI+)

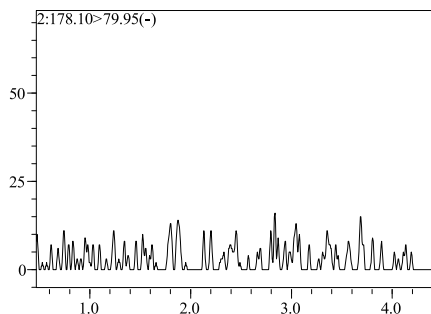


图9 残留考察 (ESI-)

结果表明，在高浓度样品进样分析后分析空白样品，环己基氨基磺酸钠正负离子检测通道中均无明显目标化合物干扰。

■ 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-8050 联用测定果汁和白酒中的环己基氨基磺酸钠的方法。样品直接进样，无需复杂前处理，可在 5.0 min 内完成测定。方法线性范围为 2~1000 ng/mL，相关系数大于 0.999。不同浓度下保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06~0.11% 和 0.68~1.62% 之间。果汁饮料和白酒样品三个不同浓度基质加标回收率分别为 97.6%~99.2% 和 99.5%~106%。正离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平的基质效应因子分别为 87.3%~92.1% 和 85.1%~91.0%；负离子模式下，果汁饮料和白酒样品各浓度水平的基质效应因子分别为 97.8%~100% 和 101%~105%。三个不同浓度下定性离子相对丰度比的平均值在 32.5%~34.7% 之间，相对标准偏差在 1.06%~3.56% 之间，重复性良好。高浓度样品 (1000 ng/mL) 分析完成后，进行空白样品分析，环己基氨基磺酸钠正离子和负离子通道中均没有明显的目标化合物干扰。

该方法快速、简单、灵敏、稳定，优于《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定》规定的检出限、定量限的要求。可以用于果汁饮料和白酒中的环己基氨基磺酸钠的定量测定。