

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定白酒中环己基氨基磺酸钠的含量

LCMSMS-306

摘要：本文建立了一种使用岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定白酒中环己基氨基磺酸钠含量的方法。根据最新国标 GB 5009.97-2016, 严格遵循国标测试条件, 采用外标法定量, 所得校准曲线线性良好, 线性相关系数为 0.9998, 对低、中、高不同浓度的标样平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.17~0.26% 和 1.01~2.26% 之间, 且方法定量限和检出限分别为 4.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 完全满足 GB 5009.97-2016 中关于白酒中环己基氨基磺酸钠测试标准中定量限 (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 和检出限 (30 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 的要求。该方法能满足最新国标要求, 可用于白酒中环己基氨基磺酸钠含量的检测。

关键词：三重四极杆质谱 白酒 甜蜜素 环己基氨基磺酸钠

甜蜜素的化学名称为环己基氨基磺酸钠, 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、薄层层析法、气相色谱 - 质谱法、液相色谱 - 质谱法。

本文遵循《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定第三法液相色谱 - 质谱 / 质谱法》对白酒中的环己基氨基磺酸钠进行快速的分离和检测。建立了一种满足国标要求的检测办法, 可供相关检测人员用于日常检测。

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 \times 2 输液泵, DGU-20A₅ 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-8050 三重四极杆质谱仪, LabSolutions Ver.5.86 色谱工作站。

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱: Shim-pack XR-ODS III 2.0 mm I.D.
 \times 75 mm L, 1.6 μm

流速: 0.4 mL/min

柱温: 35 $^{\circ}\text{C}$

进样量: 10 μL

流动相 A: 10 mmol/L 乙酸铵水溶液

流动相 B: 甲醇溶液

洗脱方式: 梯度洗脱, B 相初始浓度 15% 时间程序见表 1

表1 梯度洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.5	Pumps	Pump B Conc.	15
3.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.00	Pumps	Pump B Conc.	90
4.10	Pumps	Pump B Conc.	15
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子源：ESI，正负离子同时
雾化气流速：3.0 L/min
D L 温度：250°C
加热模块温度：425°C
干燥气流速：10.0 L/min
喷雾针距离：+3.0 mm

加热气流速：10.0 L/min
扫描模式：多反应监测
驻留时间：(-)100 ms(+)400 ms
接口温度：160°C
MRM 参数：见表 3
接口电压：1.0 kV

表2 化合物信息表

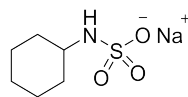
化合物名称	英文名	CAS No.	分子式	结构式
环己氨基磺酸钠	Sodium N-cyclohexylsulfamate	139-05-9	C ₆ H ₁₁ NHSO ₃ Na	

表3 环己氨基磺酸钠MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q ₁ Pre Bias(V)	CE (V)	Q ₃ Pre Bias(V)
环己氨基磺酸钠	178.20*(-)	79.90*	19.0	30.0	29.0
	202.20(+)	122.20	-13.0	-8.0	-23.0

“*” 定量离子

1.3 样品制备

1.3.1 提取

称取酒样 10.0 g，置于 50 mL 烧杯中，于 60°C 水浴上加热 30 min，残渣全部转移至 100 mL 容量瓶中，用水定容并摇匀，经 0.22 μm 水相微孔滤膜过滤后备用。

1.4 标准曲线溶液制备

1.4.1 标准品溶液配制

用水配制 10000 mg/L 环己氨基磺酸钠储备液，用水逐级稀释分别得到 5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、500 μg/L、1000 μg/L 和 2000 μg/L 的标准溶液。

结果与讨论

2.1 质谱扫描图

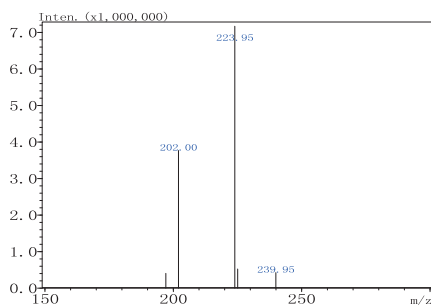


图1 正模式一级质谱扫描图

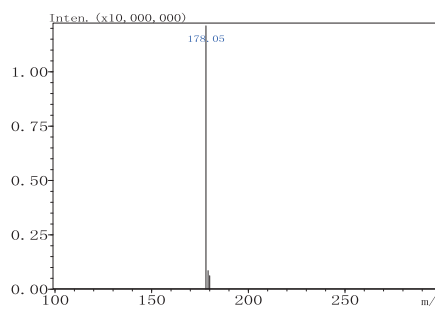


图2 负模式一级质谱扫描图

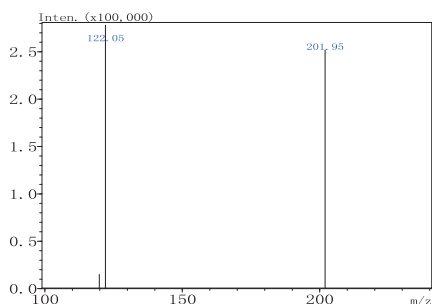


图3 正模式二级质谱扫描图 (CE值-10V)

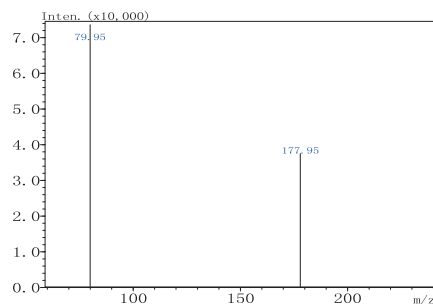


图4 负模式二级质谱扫描图 (CE值25V)

2.2 标准样品溶液 MRM 色谱图

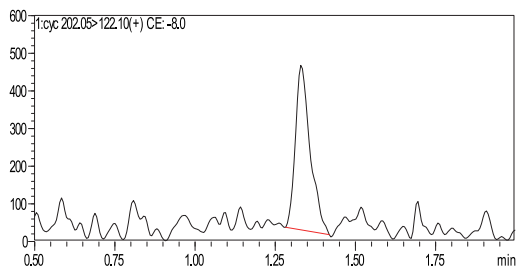


图5 5 μg/L定性离子对通道色谱图

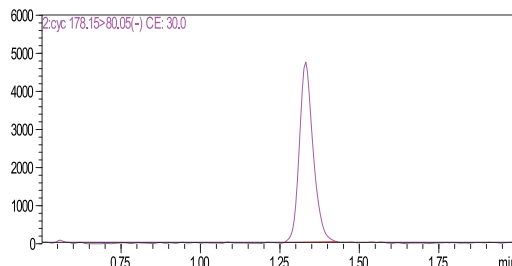


图6 5 μg/L定量离子对通道色谱图

2.3 线性范围

将浓度为 5 μg/L、10 μg/L、50 μg/L、100 μg/L、500 μg/L、1000 μg/L 和 2000 μg/L 的标准曲线，按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度比为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 7 所示，曲线准确度和丰度比见表 4。

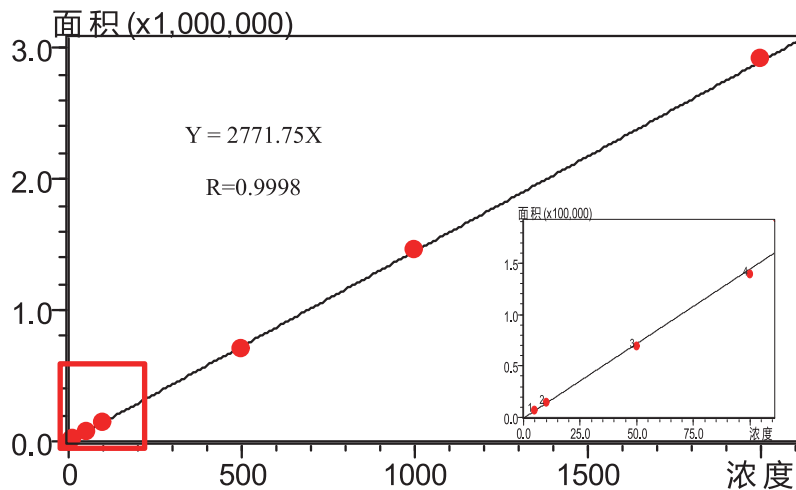


图7 环己基氨基磺酸钠标准曲线 (5~2000 μg/L)

表4 环己基氨基磺酸钠准确度和丰度比

曲线浓度点(μg/L)	准确度%	丰度比%
5	103.7	8.98
10	102.3	8.69
50	97.7	9.20
100	97.9	9.04
500	96.6	8.66
1000	100.6	8.06
2000	100.7	7.99

2.4 精密度实验

将浓度分别为 5 μg/L、100 μg/L 和 1000 μg/L 的标准溶液，各平行测定 6 次，考察仪器的重复性，保留时间、峰面积重复性，结果如表 5 所示。

表5 环己基氨基磺酸钠保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

Name	5 μg/L RSD	10 μg/L RSD	100 μg/L RSD
R.T.	0.17	0.20	0.26
Area	2.26	1.43	1.01

2.5 灵敏度实验

取浓度为 5 μg/L 标准溶液进样分析，由信噪比计算环己基氨基磺酸钠检出限 (LOD, S/N=3) 和定量限 (LOQ, S/N=10)，结果如表 6 所示。

表6 定量限和检出限

名称	定量限(μg/L)	检出限(μg/L)
环己基氨基磺酸钠	0.47	0.16

2.6 定性离子相对丰度考察

依据 GB 5009.97-2016 的规定当正负离子扫描离子对丰度比 <10，最大允许偏差 ±50%。考察三个不同浓度样品的混合标准溶液，重复分析 6 次。结果表明：定性离子和定量离子比例均值为 8.66，偏差范围在 ±50%。

表7 定性离子相对丰度 (n=6)

浓度 (μg/L)	定性离子相对丰度均值 (%)
5	9.98
100	9.20
1000	8.50

2.7 基质加标实验

称取 3 个不同品牌的白酒样品，每个称取 4 个（样品 2 个、加标样品 2 个），分别称量 10 g，精确至 0.0001 g，添加环己基氨基磺酸钠标准品溶液，制备成浓度为 10 μg/L(100 μg/kg) 的加标样品，均按照 1.3 对样品进行前处理，通过分析计算加标回收率，3 个样品平行测试结果如表 7 所示，2# 样品和 2# 样品加标的色谱图，分别见下图 8 和 9。

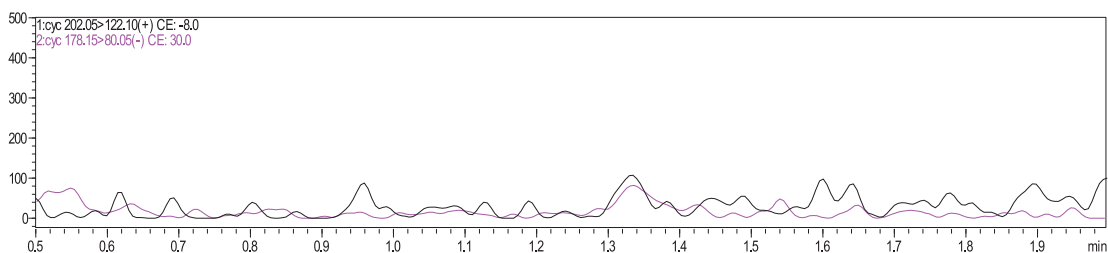


图8 1#样品色谱图

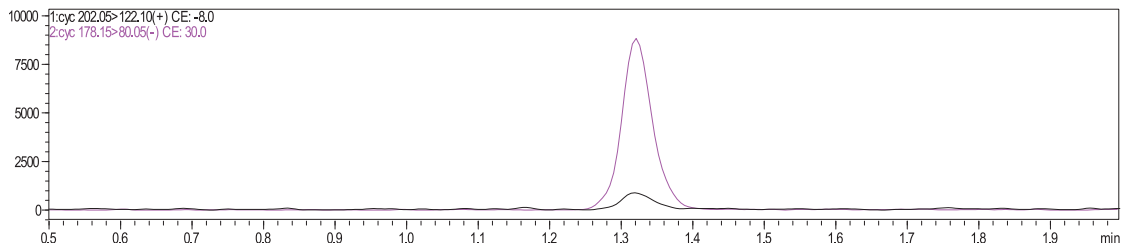


图9 1#样品加标色谱图(100 µg/kg)

表8 样品加标10 µg/L(100 µg/kg)回收率结果和丰度比

样品号	样品浓度(µg/L)	加标浓度(µg/L)	加标回收率(%)	丰度比(%)
1#	0	10.53	105.3	9.20
2#	0	9.87	98.7	11.10
3#	0	10.43	104.3	8.89

结论

本文建立了岛津三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 测定白酒中环己基氨基磺酸钠含量的方法。严格遵循国标《GB 5009.97-2016 食品中环己基氨基磺酸钠的测定第三法液相色谱 - 质谱 / 质谱法》测试条件, 采用外标定量法, 校准曲线线性良好, 线性相关系数 0.9998, 对低、中、高不同浓度的标样平行测试 6 次, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.17~0.26% 和 1.01~2.26% 之间。制备浓度为 100 µg/kg 加标白酒样品, 3 种基质样品其加标回收率分别为 105.3%、98.7%、104.3%。方法定量限和检出限分别为 4.7 µg/kg 和 1.6 µg/kg, 完全满足 GB 5009.97-2016 中食品中环己基氨基磺酸钠的测试标准要求, 可用于白酒中环己基氨基磺酸钠含量的检测。