

超高效液相色谱三重四极杆质谱联用法 测定蜂蜜中的甜蜜素

LCMSMS-091

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蜂蜜中甜蜜素的方法。蜂蜜样品经弱阴离子固相萃取小柱净化后，使用超高效液相色谱 LC-30A 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8040 进行检测。使用外标法绘制甜蜜素的校准曲线，线性范围宽，校准曲线的相关系数均在 0.999 以上。对 10 μg/L、20 μg/L 和 50 μg/L 低中高不同浓度混合标准工作液连续测定 6 次，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.06% ~ 0.18% 和 0.85% ~ 2.63% 之间，仪器精密度良好。

关键词：三重四极杆质谱 蜂蜜 甜蜜素

甜蜜素 (Sodium N-cyclohexylsulfamate) 的化学名为环己烷氨基磺酸钠，是一种人工合成的水溶性、高甜度且价格低廉的甜味剂。过量摄入甜蜜素有致癌、致畸、损害肾功能等副作用，目前日本、美国、英国等 40 多个国家禁止将甜蜜素作为食品甜味剂。蜂蜜作为一种天然的甜味剂已被广泛应用于糕点、饮料、酿造等食品加工行业。为了保障国内外消费者的权益，建立蜂蜜中甜

蜜素准确、可靠的分析方法有着重要意义。

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 联用测定蜂蜜中甜蜜素的方法。该方法无需衍生，且灵敏度高，适合蜂蜜中甜蜜素的快速检测。

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 × 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—5 mM 醋酸铵水溶液；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：20 μL

柱温：40°C

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
0.20	Pumps	Pump B Conc.	10
1.20	Pumps	Pump B Conc.	90
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
1.51	Pumps	Pump B Conc.	10
2.50	Controller	Stop	

质谱条件		干燥气流速:	15 L/min
分析仪器:	LCMS-8040	离子源电压:	3.5 kV
离子源:	ESI, 负离子模式	扫描模式:	多反应监测 (MRM)
加热模块温度:	450°C	驻留时间:	100 ms
DL 温度:	250°C	MRM 参数:	见表 2
雾化气流速:	3.0 L/min		

表 2 MRM 优化参数

中文名 称	英文名 称	CAS号	前体 离子	产物离 子	Q ₁ Pre Bias(V)	CE(V)	Q ₃ Pre Bias(V)
甜蜜素	molasses	68476-78-8	178.0	80.2*	30	25	29
				95.0	20	38	10

注: *表示定量离子

1.3 标准品溶液的配制

称取甜蜜素标准物质, 用甲醇配制 1.0 mg/L 的储备液, 用甲醇水溶液 (30:70, V/V) 稀释成 2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 和 200 μg/L 不同浓度的混合标准工作液。

1.4 样品前处理方法

参见国标《GB/T 23405—2009 蜂产品中环己烷氨基磺酸钠的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》。

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

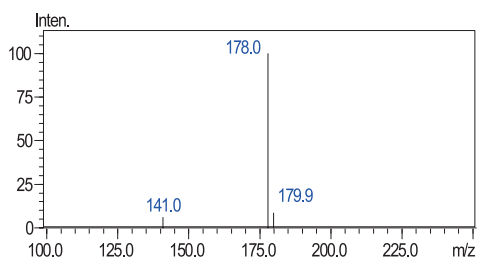


图1 甜蜜素的一级质谱图

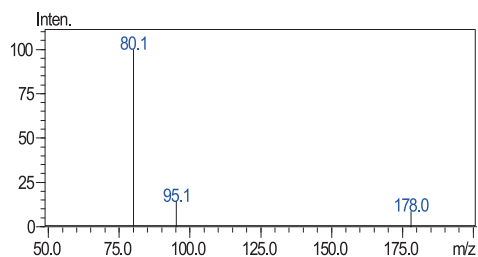


图2 甜蜜素的产物离子扫描质谱图(CE值38V)

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

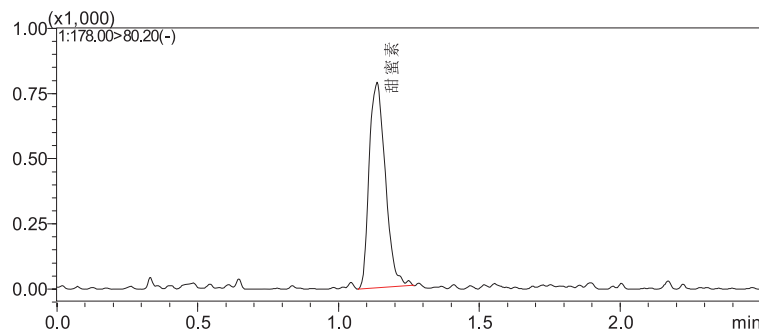


图3 甜蜜素标准样品的 MRM 色谱图(2 μg/L)

2.3 线性范围

将 2 μg/L、5 μg/L、10 μg/L、20 μg/L、50 μg/L、100 μg/L 和 200 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 4 所示；所得校准曲线线性关系良好，线性方程为 $Y = (1823.05)X$ ；相关系数 $R = 0.9996$ 。

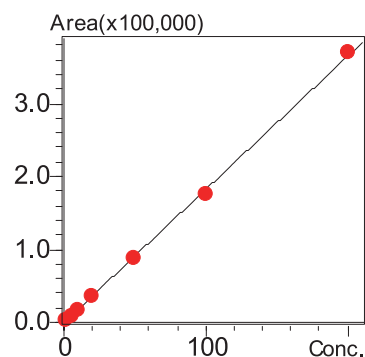


图 4 校准曲线参数

2.4 精密度实验

对 10 μg/L、20 μg/L 和 50 μg/L 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 3 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 0.06% ~ 0.18% 和 0.85% ~ 2.63% 之间，仪器精密度良好。

表 3 保留时间和峰面积重复性结果(n=6)

Conc.(μg/L)	RSD % (R.T.)	RSD % (Area)
10	0.18	2.63
20	0.17	1.29
50	0.06	0.85

2.5 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，配制浓度为 2.0 μg/L 测试样品 7 份，平行进样 7 次分析结果。由 7 次进样测定的标准偏差 (S) 计算出检测限和最低定量浓度，此时检出限 $MDL = 3.14 \times S$ ，定量下限 $LOQ = 4 \times MDL$ 。测定结果如表 4 所示。

表 4 甜蜜素的检出限和定量下限

名称	标准偏差 (S)	检出限 (μg/L)	定量下限 (μg/L)
甜蜜素	0.11	0.35	1.38

2.6 回收率实验

取蜂蜜样品各 5 g，加入少量甜蜜素标准溶液，使加标浓度均为 10 μg/kg，经弱阴离子固相萃取小柱净化后，按照按 1.2 中的分析条件进行测定甜蜜素的加标回收率。空白蜂蜜样品 MRM 色谱图如 5 所示，加标样品 MRM 色谱图如 6 所示，回收率为 81.5%。

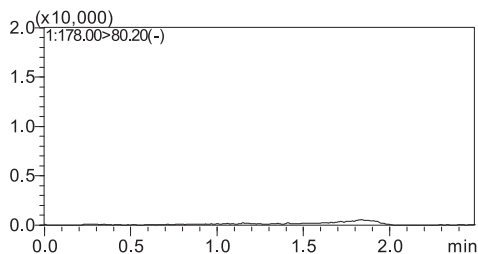


图 5 空白蜂蜜样品 MRM 色谱图

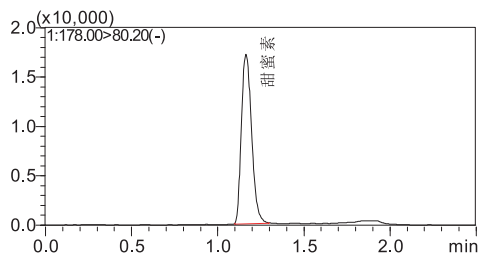


图 6 10 μg/kg 加标样品 MRM 色谱图

■ 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 联用测定蜂蜜中甜蜜素的方法。该方法在 2.5 min 之内完成甜蜜素分析，且线性范围宽，校准曲线的相关系数良好。10 $\mu\text{g/L}$ 、20 $\mu\text{g/L}$ 和 50 $\mu\text{g/L}$ 不同浓度标准品保留时间和峰面积的相对标准偏差分别小于 0.18% 和 2.63%，仪器精密度良好。该方法无需衍生，且灵敏度高，适合蜂蜜中甜蜜素的快速检测。