

LC-MS/MS 分析食品中的三氯蔗糖含量

LCMSMS-866

摘要： 本文采用岛津三重四极杆液质联用仪，建立了食品中三氯蔗糖的定量方法。结果显示该方法在 0.1~1.5 mg/L 范围内，线性良好，相关系数 $R>0.996$ ；三个浓度的三氯蔗糖标液连续分析，保留时间 RSD 在 0.03%~0.13% 之间，峰面积 RSD 在 0.47%~1.39% 之间；三氯蔗糖的检出限、定量限分别为 0.001 mg/L、0.005 mg/L。三氯蔗糖在婴幼儿配方奶粉和蒸馏酒中的回收率在 82.7%~108.5% 之间。该方法分析速度快，灵敏度高，适用于食品中三氯蔗糖含量测定。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 婴幼儿配方奶粉 蒸馏酒 三氯蔗糖

技术特点：

- ❖ 满足 GB5009.298-2023 标准要求。
- ❖ 该方法仅需 3.5 min，优于标准检测效率。

三氯蔗糖俗称蔗糖素，是一种人造食品甜味剂。它的甜度约为食糖的 600 倍。三氯蔗糖没有怪异的后味，在口感和质地方面很受欢迎。因此，三氯蔗糖在食品工业中作为甜味剂被广泛使用。

欧盟 (EU) 1333/2008 食品添加剂法规及我国标准 GB 2760-2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》都规定了食品中三氯蔗糖 (蔗糖素) 的使用范围、限量要求。其中我国规定调制乳粉中最

大使用量为 1.0 g/kg，饮料类最大使用量为 0.25 g/kg。

目前，三氯蔗糖的检测方法以液相色谱法为主。2023 版的食品安全国家标准《GB 5009.298-2023 食品中三氯蔗糖 (蔗糖素) 的测定》第二法中新增了液相色谱 - 串联质谱测定方法。本实验使用岛津 LCMS-8050 建立了三重四极杆液质联用仪测定食品中三氯蔗糖含量的方法，可供相关从业人员参考。

■ 实验部分

1.1 试剂、耗材与标准品信息

流动相溶剂为 HPLC 级别，前处理试剂为分析纯级别。

乙酸锌、亚铁氰化钾和冰醋酸均购自于国药。

三氯蔗糖，CAS 号：56038-13-2，标准品购置于 CNW。

SPE 小柱型号为 SHIMEN Styra HLB 500 mg/6 mL，P/N 380-00855-07，岛津 (上海) 实验器材有限公司。

1.2 仪器配置

岛津超高效液相色谱 LC-40 与三重四极杆质谱仪联用系统 LCMS-8050。具体配置为：

输 液 泵：LC-40B X3

系 统 控 制 器：SCL-40

自动进样器：SIL-40C X3

三重四极杆质谱仪：LCMS-8050

柱 温 箱：CTO-40C

色 谱 工 作 站：LabSolutions Ver. 5.99

1.3 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱：Shim-pack GIST C18 (75 mm×3.1 mm I.D., 2.0 μm
P/N: 227-30002-03, 岛津 (上海) 实验器材有限公司)

流 动 相：A 相 - 水；B 相 - 甲醇

流 速：0.2 mL/min

进 样 量：1 μL

柱 温：40°C

洗 针 液：水：甲醇 (2: 1)

洗 脱 方 式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 30%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
0.50	Pumps	Pump B Conc.	30
1.50	Pumps	Pump B Conc.	90
2.00	Pumps	Pump B Conc.	90
2.20	Pumps	Pump B Conc.	30
3.50	Controller	Stop	

质谱条件

质 谱 仪 :	LCMS-8050	脱溶剂管温度 :	250°C
离 子 源 :	ESI-	加热模块温度 :	400°C
雾 化 气 :	氮气 2 L/min	接 口 温 度 :	300°C
干 燥 气 :	氮气 10 L/min	扫 描 模 式 :	MRM
加 热 气 :	空气 10 L/min	离 子 源 位 置 :	+1 mm
MRM 参 数 :	见表 2		

表 2 MRM 参数

序号	中文名	前体离子 (m/z)	产物离子 (m/z)	Q1 Pre Bias (V)	CE (V)	Q3 Pre Bias (V)
1	三氯蔗糖	395.0	359.0* **	20	12	18
		397.2	361.1**	12	11	13

* 定量离子, ** 定性离子

1.4 试剂配置

乙酸锌溶液: 称取 21.9 g 乙酸锌, 加入 3 mL 乙酸, 加水定容至 100 mL。

亚铁氰化钾溶液: 称取 10.6 g 亚铁氰化钾, 加水定容至 100 mL。

标准系列工作液的配制: 取三氯蔗糖标品适量, 配置浓度为 10 mg/mL 的储备液和 10 mg/L 的中间溶液。临用前用中间溶液逐级稀释成浓度为 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 和 1.5 mg/L 的标准工作溶液, 待上机分析。

1.5 样品前处理

前处理流程参照《GB 5009.298-2023 食品中三氯蔗糖(蔗糖素)的测定》第二法, 并做了适当改进。

婴幼儿配方奶粉及蒸馏酒为市场采购。

① 婴幼儿配方奶粉样品:

图 1 展示了样品前处理流程, 其主要包括: 试样制备、蛋白沉淀、除脂肪和 SPE 净化。试样制备过程中注意样品充分混合均匀, 可使用温水(约 40°C ~ 50°C)加速溶解。加入亚铁氰化钾和乙酸锌是为了沉淀样品中的蛋白质, 加入正己烷是为了除去样品中的脂肪。注意样品充分涡旋起来, 可采用较大涡旋转数如 2500 rpm 及以上, 以保证萃取充分。

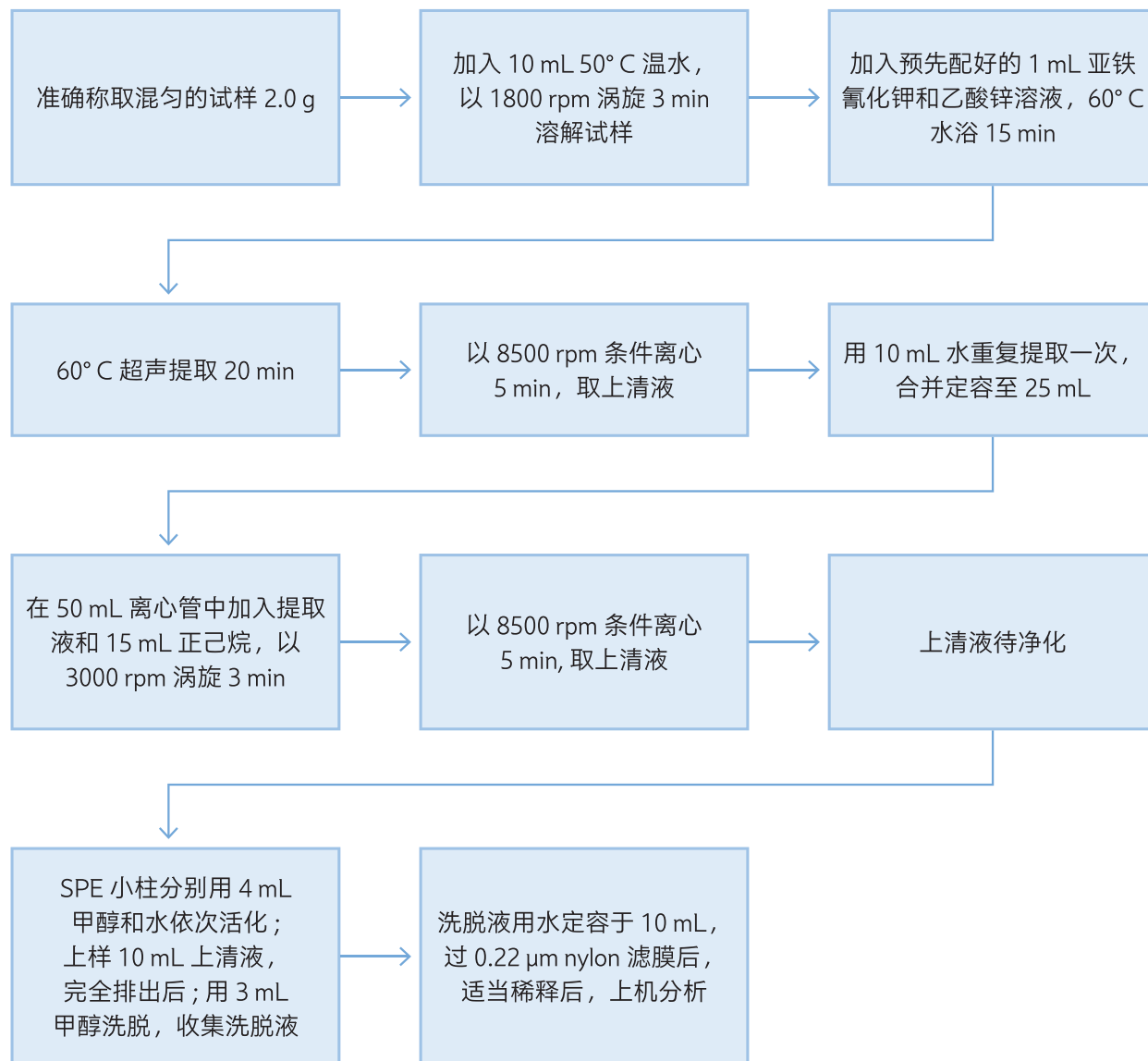


图 1 婴幼儿配方奶粉前处理流程

②蒸馏酒样品：

准确称取混匀后的蒸馏酒试样 2 g 用水定容至 10 mL，试样经 0.22 μm nylon 滤膜后，待测。

■ 结果与讨论

2.1 系统适用性

溶剂试剂通道干净，无干扰，0.1 mg/L 三氯蔗糖标准溶液注入液质联用仪，分离良好，信噪比 S/N=203.19，如下图所示。

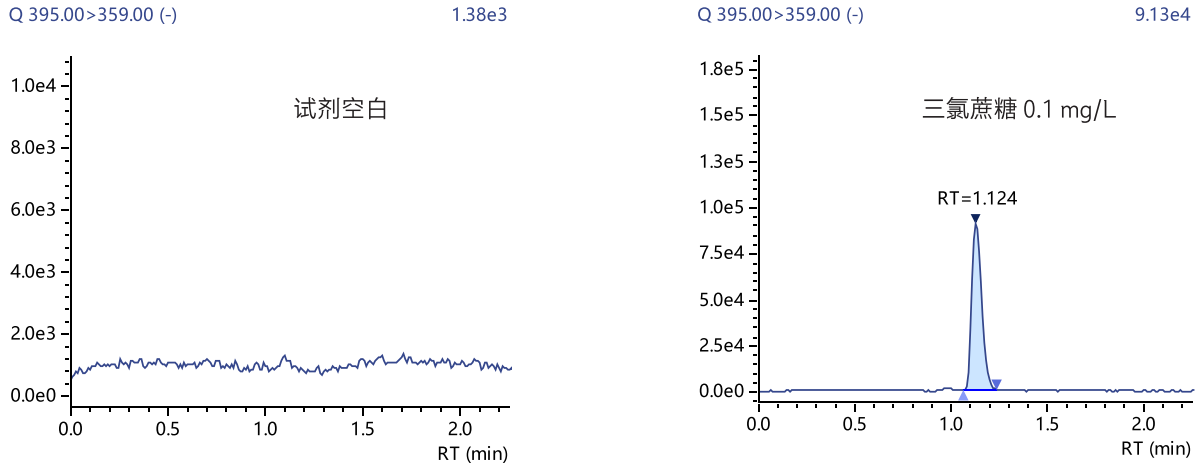


图 2 空白及标准样品色谱图

对于定性离子，要求标样和试样中的监测的两个定性离子相对丰度比值 (k) 差异在 $\pm 25\%$ 范围内，且保留时间变化范围在 $\pm 2.5\%$ 之内，则认为试样中存在三氯蔗糖。本方法实测样品平均 k 值差异为 -4.72% ，平均保留时间差异为 0.09% ，满足标准要求。下图列举了部分标品和样品的定性离子特征。

定量结果视图 ID# 1 三氯蔗糖定量

Data#	数据文件名	样品类型	Ref. 1 测定%	保留时间
1	20231207_标1_002.lcd	标准(校准点)	54.85	1.124
2	20231207_标3_004.lcd	标准(校准点)	53.35	1.126
3	20231207_标6_007.lcd	标准(校准点)	51.37	1.126
4	20231207_奶粉_加标2-3_040.lcd	未知	52.05	1.126
5	20231207_蒸馏酒_加标2-3_048.lcd	未知	50.62	1.127

图 3 标准品和样品的定性离子特征

2.2 线性及灵敏度

按照 1.4 方法配制标准系列溶液，上机分析得出三氯蔗糖线性范围和线性关系。结果表明，三氯蔗糖在 $0.1 \sim 1.5$ mg/L 范围内，线性良好，相关系数 $R > 0.996$ ，准确度在 $94.3\% - 111.0\%$ 之间。三氯蔗糖校准曲线见图 4。根据信噪比，计算其检出限 ($S/N=3$) 和定量限 ($S/N=10$) 分别为 0.001 mg/L 和 0.005 mg/L。

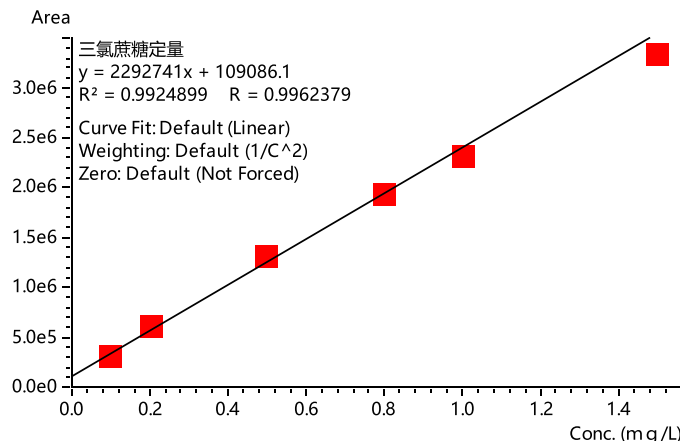


图 4 三氯蔗糖校准曲线

2.3 重复性

低、中、高三个浓度的三氯蔗糖标准品溶液（0.1、0.5、1.0 mg/L）分别连续分析 6 次，计算保留时间、峰面积的 RSD，结果如表 3 所示，保留时间 RSD 在 0.03%~0.13% 之间，峰面积 RSD 在 0.47%~1.39% 之间，仪器性能良好。其中 0.1 mg/L 的连续分析 6 次的重现性色谱图见图 5。

表 3 三氯蔗糖校准曲线的线性关系

化合物名称	浓度 (mg/L)	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
三氯蔗糖	0.1	0.13	1.39
	0.5	0.03	0.47
	1.0	0.04	0.93

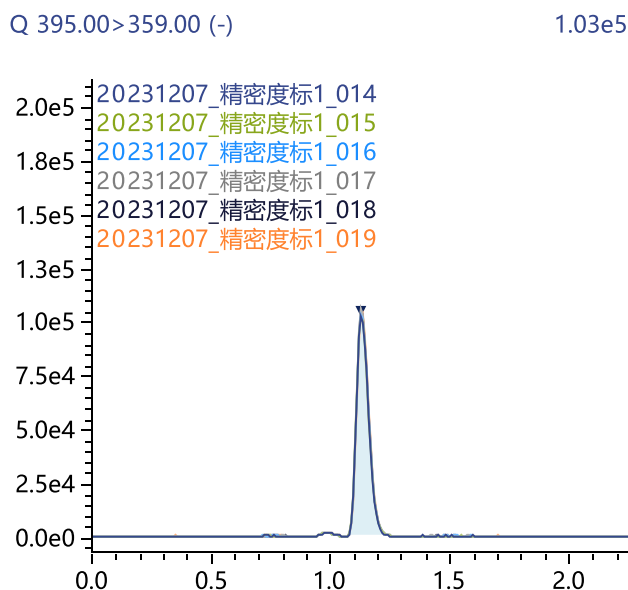


图 5 三氯蔗糖连续分析色谱图（浓度为 0.1 mg/L）

2.4 加标回收率

准确称取经质谱确认不含三氯蔗糖的婴幼儿配方奶粉和蒸馏酒样品，加入低和高两个浓度的三氯蔗糖的标准中间溶液，按照“1.5 样品前处理”处理后上机分析，加标回收率结果见表 4。结果显示：不同基质，低和高两个加标浓度下，三氯蔗糖的加标回收率在 82.7%~108.5% 之间。

表 4 加标回收率结果 (n=3)

目标物	基质类别	添加浓度 (mg/kg)	实测浓度 (mg/kg)	平均回收率 (%)	RSD (%)
三氯蔗糖	婴幼儿配方奶粉	75.0	68.6	91.6	1.86
		1000.0	946.1	94.6	1.58
	蒸馏酒	75.0	62.0	82.7	0.45
		250.0	271.3	108.5	1.59

■ 结论

本应用使用岛津 LCMS-8050 液质联用系统，参照《GB 5009.298-2023 食品中三氯蔗糖（蔗糖素）的测定》建立了多种食品基质（婴幼儿配方奶粉及蒸馏酒）中甜味剂三氯蔗糖的检测方法。本方法灵敏度较高、重现性较好，可为食品行业相关人员提供参考。

岛津应用云

