

液质联用法同时测定黄酒中糖精钠和甜蜜素

秦 昉,王林祥,陶冠军

(江南大学分析测试中心,江苏 无锡 214036)

摘 要: 采用液质联用同时测定黄酒中的糖精钠和甜蜜素,该方法排除了液相色谱检测时糖精钠的假阳性。分析柱为 Lichrospher C-18 柱 2.1×250 mm,流动相为甲醇-乙酸铵水溶液,质谱作为检测器,选择离子采集方式。糖精钠在 0.0196~0.392 μg 范围内线性相关系数为 0.9995,相对标准偏差为 1.62 %,回收率在 97.1 %~101.2 %之间;甜蜜素在 0.0139~0.973 μg 范围内线性相关系数为 0.9996,相对标准偏差为 1.41 %,回收率在 98.6 %~101.6 %之间。本方法简便、快速、准确。

关键词: 黄酒; 液质联用; 糖精钠; 甜蜜素

中图分类号: TS262.4 ;TS261.7 ;O657.63 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-9286(2005)09-0084-03

Determination of Saccharin Sodium and Cyclamate in Yellow Rice Wine by LC/MS

QIN Fang, WANG Ling-xiang and TAO Guan-jun

(Analysis Center, Southern Yangtze University, Wuxi, Jiangsu 214036, China)

Abstract: LC/MS was used to determine saccharin sodium and cyclamate in yellow rice wine and such method could eliminate the false peak of Saccharin sodium in HPLC chromatogram. The separation was performed on a Lichrospher 2.1×250 mm C18 column with methanol-0.02 M ammonium acetate as mobile phase at a flow-rate of 0.3 mL/min and the column temperature at 30°C. Mass spectrometry was used as detector in its SIR mode. To saccharin sodium the calibration curve was linear in the range of 0.0196~0.392 μg with r^2 as 0.9995 and RSD as 1.62 % and recovery rate between 97.1 %~101.2 %; To cyclamate the calibration curve was linear in the range of 0.0139~0.973 μg with r^2 as 0.9996 and RSD as 1.41 % and recovery rate between 98.6 %~101.6 %. This method was simple and rapid with high accuracy. (Tran. by YUE Yang)

Key word: yellow rice wine; LC-MS; saccharin sodium; cyclamate

黄酒是以糯米为原料,酒曲为糖化发酵剂,经酿造而成。黄酒的酒体丰满,酒味醇厚,酒体柔顺,营养丰富,是我国的传统特色发酵产品。长期以来,人们把黄酒主要作为调料和药酒使用。炒菜时加入一点黄酒,可增加菜的鲜味和香气,还可除去鱼、肉类的腥、臭味;黄酒的药用价值很高,可以用来浸泡、煎熬、冲饮中药,而且效果极好。在黄酒的勾兑中有时会添加糖精钠、甜蜜素,组成所谓的“复合蛋白糖”调节口味。但它们都是限量使用的添加剂,许多国家禁止使用甜蜜素或对其使用范围进行限制,我国 GB2760-1996 对其使用范围及最大使用量均有规定,因此对其含量测定就显得尤为重要。

糖精钠常用的测定方法为薄层层析法、紫外分光光度法和高效液相色谱法^[1,2],采用紫外检测器分析甜蜜素

的方法有:气相色谱法^[3]、吸光光度法、薄层层析法和高效液相色谱法^[4],采用示差检测器。但在分析黄酒样品时存在检测灵敏度不够、机体干扰大出现伪峰、无法同时检测等现象。采用液质联用法,以质谱为检测器,排除了液相色谱中伪峰的干扰,提高了检测灵敏度,并可同时检测糖精钠和甜蜜素。

1 材料与方法

1.1 试剂

甲醇(色谱纯),乙酸铵(AR),水(二次蒸馏以后,经 0.45 μm 膜过滤)。标准溶液:精密称取甜蜜素(SUPELCO, 100 %纯度)4.37 mg,置 25 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度;精密称取糖精钠(市售,99.9 %纯度)9.8 mg,置于

收稿日期 2005-03-30

作者简介:秦昉(1964-),女,高级工程师,理学学士。

25 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,使用时再稀释 10 倍,即 0.98 mg/25 mL。

1.2 仪器

美国 Waters Platform ZMD 4000 液-质联用仪,配 2690 泵,996 二极管阵列(PDA)紫外检测器,自动进样器,micromass 四极杆质谱仪,MassLynx 3.1 工作平台。

1.3 实验方法

1.3.1 色谱分析条件

色谱柱为 Lichrospher C-18 柱 2.1×250 mm,流动相为 10 % 甲醇-90 % 乙酸铵溶液(0.02 M),柱温 30 ℃,流速 0.3 mL/min。

1.3.2 质谱分析条件

离子源温度 120 ℃,脱溶剂温度 300 ℃,毛细管电压 3.7 kV,锥孔电压 20 V,选择离子(SIR)和全扫描两种采集方式,负离子采集,选定的质量为 182.3 ($M_{\text{糖精钠}}-1$), 178.0 ($M_{\text{甜蜜素}}-1$)。

1.3.3 样品处理

准确取 5.00 mL 黄酒样品置 25 mL 容量瓶中,加甲醇至刻度,混匀,静置 10 min 后,用 0.45 μm 膜过滤,滤液用于测定。

2 结果与讨论

2.1 色谱条件选择

由于糖精钠和甜蜜素都是极性较强的物质,故采用反相 C-18 柱分离,且流动相的洗脱能力不宜过强;又由于流动相要进入质谱仪,所以考虑甲醇-水、甲醇-乙酸铵两种体系。通过实验,甲醇-乙酸铵作流动相时,色谱峰形较好,通过比较甲醇含量从 5 %~30 % 的出峰时间和分离度,确定流动相采用 10 % 甲醇-90 % 0.02 M 乙酸铵溶液。

2.2 质谱条件选择

液-质联用仪的质谱采用软电离方式,即电喷雾电离(ESI)和大气压化学电离(APCI),在它的总离子流质量色谱图(简称质谱图)上能得到较强的分子离子峰($M+1$ 或 $M-1$, M 代表分子量);由于糖精钠和甜蜜素都是钠盐,所以选用电喷雾电离的负离子方式,用注射泵分别对糖精钠和甜蜜素的标准溶液直接进样,调节各参数得到较强的分子离子峰。实验发现在同样的质谱条件即毛细管电压 3.7 kV,锥孔电压 20 V 时,两者均能得到较强的质谱信号,这是由于两者分子量相近,又都是钠盐的缘故。为了提高检测灵敏度,加设选择离子采集(SIR)方式,即选择 182.3 ($M_{\text{糖精钠}}-1$)和 178.0 ($M_{\text{甜蜜素}}-1$)。

2.3 糖精钠伪峰的鉴别

由于黄酒为发酵产物,组成较为复杂,样品预处理

仅能除去蛋白质等大分子物质,流动相洗脱力较弱,故在液相色谱图中与糖精钠保留时间相同的位置可能会有其他小分子极性物质流出,如图 1 中 A,B 均在糖精钠的保留时间 5.3 min 附近有峰,仅凭液相色谱图会得出 1#,2# 样品都含糖精钠的结论;但在相应的质谱图中,C 在 5.3 min 附近有糖精钠的分子离子峰,而 D 中没有,说明 B 中 5.38 min 是伪峰,即 1# 样含糖精钠,2# 样不含糖精钠。

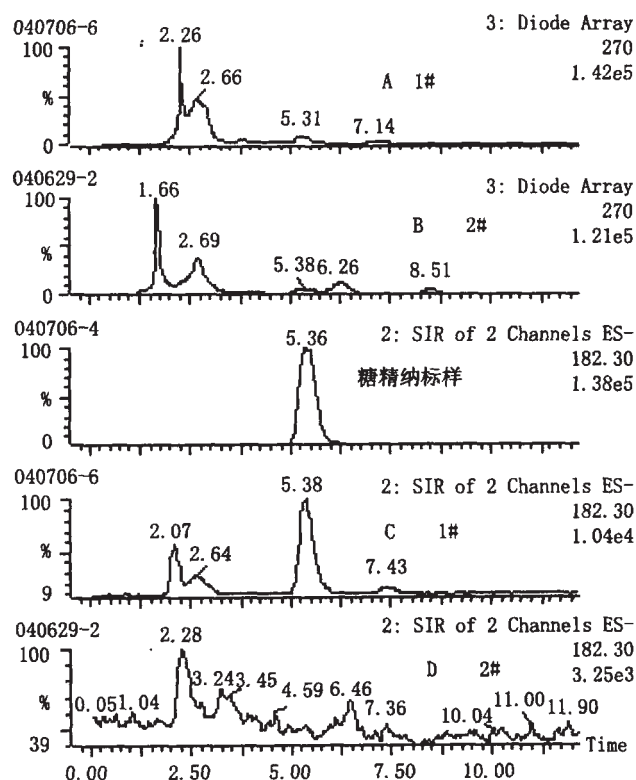


图 1 糖精钠的色谱和质谱图

2.4 甜蜜素的检测

甜蜜素由于无特征紫外吸收故不宜用紫外检测器,而折光检测器的灵敏度不高,对于样品中的低含量甜蜜素无法检测。采用质谱仪,检测样品中甜蜜素的分子离子峰 178.0,不仅提高了灵敏度,而且避免了伪峰的干扰。如图 2 中 E,F,虽然采用 205 nm 检测波长,仍测不到 10.2 min 附近的甜蜜素峰;但在相应的质谱图中,G 在 10.2 min 附近有甜蜜素的分子离子峰,而 H 中没有,说明 3# 样含甜蜜素,2# 样不含甜蜜素。

2.5 定量

由于液相色谱图中糖精钠有伪峰,甜蜜素不出峰,故用质谱信号定量。

2.5.1 工作曲线的绘制

分别取糖精钠标准溶液 0.5 μL , 1.0 μL , 3.0 μL , 5.0 μL , 7.0 μL , 10.0 μL ,按上述色谱、质谱条件进样测定,以质谱峰面积对含量作直线回归分析,回归方程 $y_{\text{糖精钠}} =$

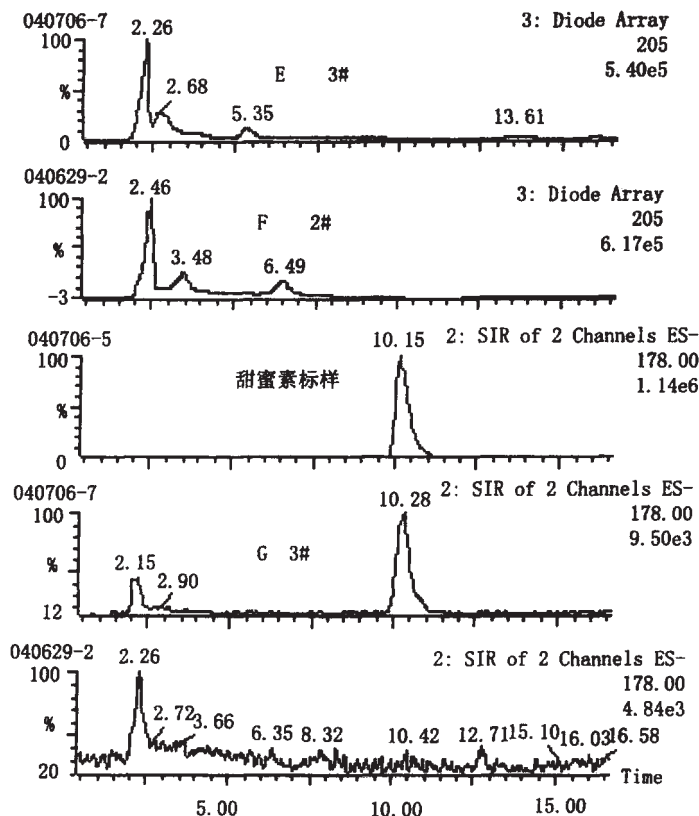


图 2 甜蜜素的色谱和质谱图

396656x-5088.5, $r=0.9995$, 线性范围 0.0196~0.392 μg ; 分别取甜蜜素标准溶液 0.1 μL , 0.5 μL , 1.0 μL , 3.0 μL , 5.0 μL , 7.0 μL , 按上述色谱、质谱条件进样测定, 以质谱峰面积对含量作直线回归分析, 回归方程 $y_{\text{甜蜜素}} = 835679x - 11058$, $r=0.9996$, 线性范围 0.0139~0.973 μg ; 两种工作曲线均符合要求。

2.5.2 精密度和回收率试验

分别用糖精钠和甜蜜素标准液, 按工作曲线条件测定 6 次, 测得相对标准偏差甜蜜素为 1.41%, 糖精钠为 1.62%。

取市售黄酒 9 份, 3 份加糖精钠 10 μg , 甜蜜素 30 μg , 3 份加糖精钠 20 μg , 甜蜜素 60 μg , 3 份作对照, 按 1.3.3 样品处理, 测定糖精钠和甜蜜素的含量, 计算回收率, 结果糖精钠为 97.1%~101.2%, 甜蜜素在 98.6%~101.6% 之间。

3 结论

采用 LC-MS 方法, 即将质谱仪作为检测器, 排除了液相色谱中糖精钠伪峰的干扰, 克服了甜蜜素由于无特征紫外吸收难于检测的困难, 发挥其灵敏度高、精密度与准确性好的优点, 而 SIR 采集方式更使灵敏度又提高 2~3 个数量级, 对于微量糖精钠和甜蜜素的准确分析不失为一种好方法, 并可推广到其他食品的检测中。

参考文献:

- [1] 潘智慧. HPLC 法测定瓜子中糖精钠的样品前处理方法探讨[J]. 中国卫生检验杂志, 2003, 13(3): 352-352..
- [2] 李芸瑛, 黄丽华. 高效液相色谱法同时快速测定饮料中的 3 种食品添加剂[J]. 肇庆学院学报, 2003, 24(2): 31-35.
- [3] 符展明, 张极星. 顶空气相色谱法测定饮料中的甜蜜素[J]. 中华预防医学杂志, 1994, 28(6): 365-366.
- [4] 祁广建, 沈国英. 双检测器 HPLC 同时测定食品中甜蜜素、苯甲酸、糖精和山梨酸的含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2002, 12(1): 82-83.

山东省泰安市夏张泰山酿酒设备厂 产 品 简 介

我厂是生产酿酒设备的专业厂家, 产品畅销全国各地, 以注册商标(望海)生产的 JFB 封闭冷却器、套管冷却器, 是肖家世代传人在祖传工艺的基础上自 1984 年研制的新型节能产品, 1987 年通过省级酿酒专家鉴定, 产品质量达国内先进水平, 属国内首创, 是一种理想的酿酒冷却设备。主要产品还有移动打茬机、灌装机、灌装线、移动式酒尾提酒器、双层节能保温甑锅、压轴流通风机、酿酒原料对辊锤式粉碎机、压纹封盖机、酒篓、酒罐等。我厂以优质的服务、可靠的质量、最低廉的价格, 愿为各酿酒厂家提供理想的酿酒设备。

联系人: 肖立水, 肖立国

电 话: (0538) 8311090 8311292

手 机: (0) 13605383629

