

DB52

贵 州 省 地 方 标 准

DBS52/ 007—2014

食品安全地方标准
白酒中甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖
四种甜味剂的测定方法
液相色谱-串联质谱法

Local food safety standards—Determination of sodium cyclamate, saccharin sodium, acesulfame K and sucralose in Chinese spirits—LC-MS/MS method

2015 - 02 - 12 发布

2015 - 04 - 01 实施

贵州省卫生和计划生育委员会

发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 原理	1
4 试剂和材料	1
5 仪器	2
6 试样的制备与保存	2
7 测定步骤	2
8 结果计算	3
9 方法检出限和回收率	4
附录 A (资料性附录) 标准物质总离子流图	5
附录 B (资料性附录) 甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖保留时间表	6
附录 C (资料性附录) 添加回收数据	7

前 言

本标准按照GB/T 1.1—2009《标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写》给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准附录A、附录B和附录C为资料性附录。

本标准由贵州省产品质量监督检验院提出。

本标准由贵州省卫生和计划生育委员会归口。

本标准起草单位：贵州省产品质量监督检验院、贵州茅台酒厂（集团）习酒有限责任公司。

本标准主要起草人：孙棣、冯永渝、钟方达、胡峰、赵贵斌、梁桂娟、李凯、龙四红、胡建锋、张琼、陈明学、车驰、谈晓君、何洪、张世美。

食品安全地方标准 白酒中甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖四种甜味剂的测定方法 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了白酒中甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖四种甜味剂的液相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于各种白酒中甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

白酒用水稀释定容后过膜，供液相色谱-串联质谱法测定，外标法定量。

4 试剂和材料

4.1 甲醇，色谱纯。

4.2 乙酸铵，色谱纯。

4.3 乙酸铵溶液（10 mmol/L）

0.77 g乙酸铵（4.2）加水超声溶解定容至1000 mL。

4.4 甜蜜素、糖精钠、安赛蜜标准物质（纯度 $\geq 99.0\%$ ），三氯蔗糖标准物质（纯度 $\geq 98.5\%$ ）。

4.5 标准储备溶液（1.0 mg/mL）

准确称取每种标准物质（4.4）10.0 mg分别放入10 mL容量瓶中，用水溶解并定容至刻度，混匀。

4.6 标准中间溶液（10.0 $\mu\text{g/mL}$ ）

分别吸取1.0 mL各标准储备溶液（4.5）于100 mL容量瓶中，用水定容至刻度。

4.7 标准工作溶液

由于四种甜味剂在质谱上响应有差异，分别配制各种物质的标准工作溶液。准确移取一定体积的标准中间溶液，根据需要用水稀释成甜蜜素（ng/mL）浓度为5.0、10.0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0、200.0系列标准工作溶液；糖精钠浓度（ng/mL）为10.0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0系列标准工

作溶液：安赛蜜浓度(ng/mL)为5.0、10.0、20.0、40.0、60.0、80.0系列标准工作溶液；三氯蔗糖浓度(ng/mL)为20.0、40.0、60.0、80.0、100.0、200.0、400.0系列标准工作溶液。用前配制。

4.8 0.22 μm 滤膜（水相）。

5 仪器

5.1 液相色谱-串联质谱仪，配有电喷雾（ESI）离子源。

5.2 分析天平，感量 0.1 mg 和 0.01 g。

5.3 超声波提取器。

6 试样的制备与保存

将样品充分振摇混匀，分装置洁净容器内作为试样，标明标记；常温下保存。

7 测定步骤

7.1 提取

称取样品5 g(精确至0.01 g)置于50 mL容量瓶中，用水混匀后定容至刻度，过0.22 μm滤膜，供液相色谱-串联质谱仪测定。

7.2 测定

7.2.1 液相色谱条件

- 色谱柱为C18柱，4.6 mm（内径）×150 mm，粒径 5 μm，或同等效能色谱柱；
- 进样量为 10 μL；
- 流速为 800 μL/min；
- 柱温为 30 °C
- 流动相为 A: 10 mmol/L 乙酸铵溶液，B: 甲醇。梯度洗脱条件见表 1。

表1 梯度洗脱条件

时间/min	流速/（μL/min）	流动相 A/(%)	流动相 B/(%)
0.0	800	90	10
1.0	800	90	10
1.2	800	10	90
4.5	800	10	90
5.0	800	90	10
10.0	800	90	10

7.2.2 质谱条件

- 离子源为电喷雾离子源；
- 扫描方式为负离子扫描；

- c) 检测方式为多反应监测;
- d) 电喷雾电压 (IS) 为-4500 V;
- e) 雾化器压力 (GS1) 为 55 Psi;
- f) 气帘气压力 (CUR) 为 25 Psi;
- g) 辅助气压力 (GS2) 为 55 Psi;
- h) 离子源温度 (TEM) 为 600℃;
- i) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量 (CE) 和去簇电压 (DP) 见表 2。

表2 四种甜味剂定性离子对、定量离子对、碰撞能量和去簇电压

被测物名称	定性离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	碰撞能量/V	去簇电压/V
甜蜜素	178.1/80.1	178.1/80.1	-65	-36
糖精钠	181.9/106.0	181.9/106.0	-41	-27
	181.9/42.1		-41	-46
安赛蜜	161.8/81.9	161.8/81.9	-43	-20
	161.8/78.0		-43	-43
三氯蔗糖	395.0/359.0	395.0/359.0	-81	-14
	397.0/361.0		-81	-14

7.2.3 液相色谱-串联质谱测定

在仪器最佳工作条件下,用甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖混合标准工作溶液分别进样,以峰面积为纵坐标,混合标准工作溶液浓度为横坐标绘制标准曲线,用标准工作曲线对样品进行定量,应使样品溶液中四种甜味剂的响应值在仪器测定的线性范围内。若样品待测溶液中均出现所选择的两个离子对时,同时与标准品的相对丰度允许偏差不超过表3的范围,则可判断样品中存在被测物。甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖标准物质总离子流图参见附录A。在上述色谱条件和质谱条件下,甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖的参考保留时间参见附录B。

表3 液相色谱-质谱/质谱定性时相对离子丰度最大允许误差

相对丰度/%	相对离子丰度最大允许误差/%
>50	±20
>20~50	±25
>10~20	±30
≤10	±50

7.3 空白试验

除不称取试样外,均按上述步骤同时完成空白试验。

8 结果计算

结果按下式计算:

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X—试样中被测组分残留量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c—从标准工作曲线得到的被测组分溶液浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V—样品溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m—样品溶液所代表最终试样的质量，单位为克（g）。

注：试样中组分含量 ≥ 1 mg/kg时，保留三位有效数字；试样中组分含量 < 1 mg/kg时，保留两位有效数字。

9 方法检出限和回收率

9.1 检出限

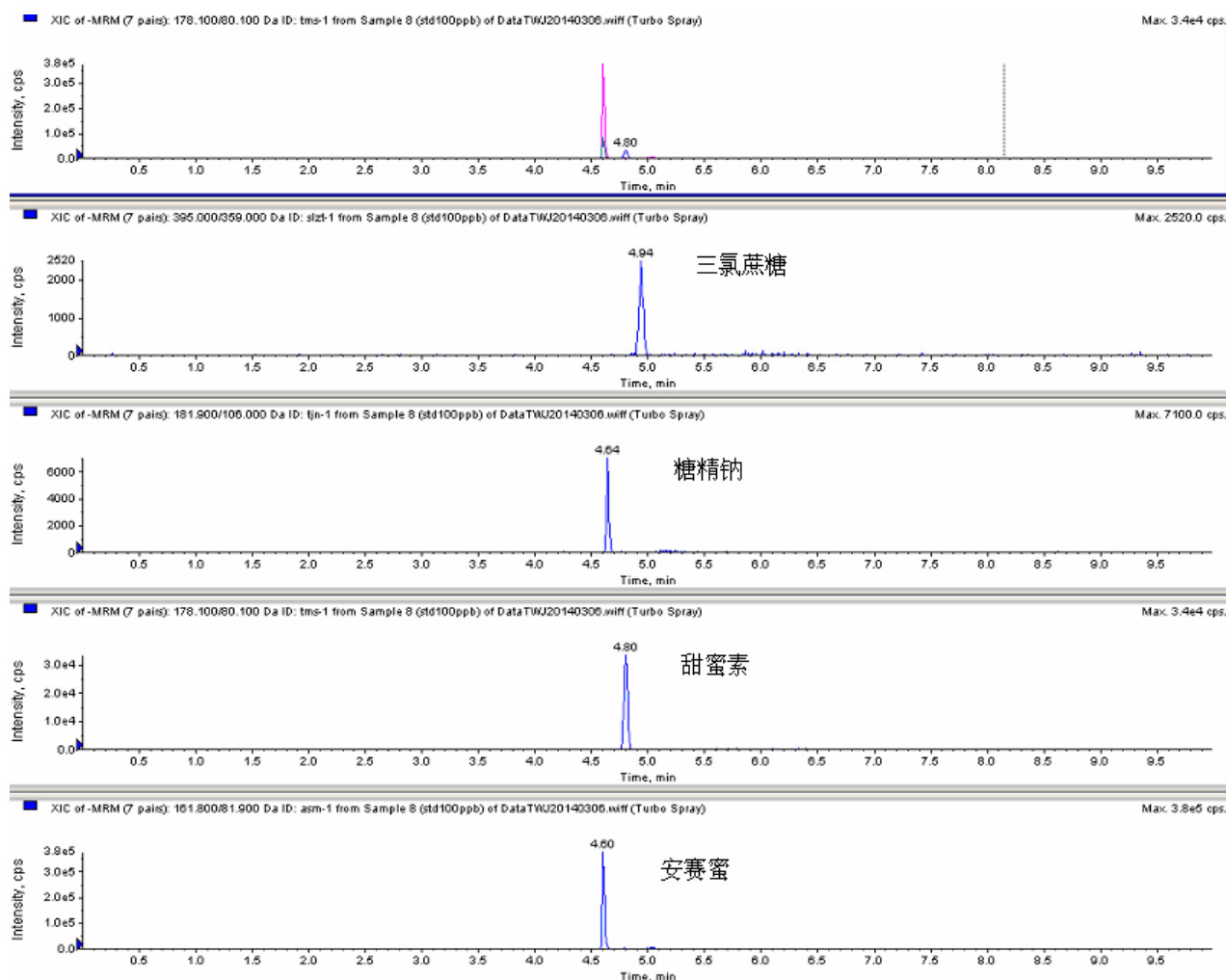
以信噪比不小于3（ $S/N \geq 3$ ）确定甜蜜素检出限为0.02 mg/kg；糖精钠检出限为0.05 mg/kg；安赛蜜检出限为0.02 mg/kg；三氯蔗糖检出限为0.2 mg/kg。

9.2 回收率

甜蜜素、糖精钠和安赛蜜添加浓度范围为0.1 mg/kg~0.8 mg/kg，三氯蔗糖添加浓度范围为0.4 mg/kg~2.0 mg/kg，回收率为81.1%~115.8%。回收率参见附录C。

附录 A
(资料性附录)
标准物质总离子流图

甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖标准物质总离子流图，见图A.1。



图A.1 四种化合物标准物质的提取离子质谱图

附 录 B
(资料性附录)

甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖保留时间表

表B.1 甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖保留时间

被测物名称	保留时间/min
甜蜜素	4.81
糖精钠	4.64
安赛蜜	4.60
三氯蔗糖	4.94

附 录 C
(资料性附录)
添加回收数据

本方法中甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖添加浓度及其平均回收率的试验数据，见表C.1。

表C.1 四种甜味剂甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖的添加回收率 (n=6)

白酒类型	化合物	添加浓度/ (mg/kg)	回收率范围/%	最大相对标准偏差/%
酱香型白酒	甜蜜素	0.1	92.00~99.00	2.4
		0.4	89.25~99.50	3.8
		0.8	92.25~103.88	3.9
	糖精钠	0.1	94.00~109.00	5.7
		0.4	94.00~106.00	4.0
		0.8	82.63~94.25	3.8
	安赛蜜	0.1	101.00~110.00	3.4
		0.4	96.50~108.25	5.6
		0.8	85.25~91.38	2.4
	三氯蔗糖	0.4	86.75~108.00	7.4
		0.8	83.88~106.25	7.8
		2.0	91.00~104.00	4.7
浓香型白酒	甜蜜素	0.1	99.00~110.00	3.8
		0.4	97.25~106.50	3.7
		0.8	88.13~94.38	2.2
	糖精钠	0.1	96.00~106.00	4.2
		0.4	98.25~107.50	4.0
		0.8	85.88~105.75	7.2
	安赛蜜	0.1	100.00~108.00	3.6
		0.4	94.25~109.25	5.2
		0.8	81.13~93.88	5.9
	三氯蔗糖	0.4	100.00~112.00	4.6
		0.8	89.88~108.63	6.7
		2.0	83.50~88.50	1.8

表C.1(续) 四种甜味剂甜蜜素、糖精钠、安赛蜜和三氯蔗糖的添加回收率 (n=6)

白酒类型	化合物	添加浓度/ (mg/kg)	回收率范围/%	最大相对标准偏差/%
兼香型白酒	甜蜜素	0.1	95.00~108.00	5.5
		0.4	99.25~109.25	3.6
		0.8	98.63~103.13	2.0
	糖精钠	0.1	95.00~107.00	4.3
		0.4	97.50~109.00	4.4
		0.8	92.25~102.63	3.7
	安赛蜜	0.1	87.50~107.00	7.2
		0.4	100.75~111.75	4.4
		0.8	100.88~104.38	1.3
	三氯蔗糖	0.4	85.50~93.00	2.9
		0.8	84.63~102.50	4.4
		2.0	81.50~90.00	3.3
清香型白酒	甜蜜素	0.1	96.00~110.00	6.2
		0.4	90.50~96.00	2.0
		0.8	88.13~95.00	2.9
	糖精钠	0.1	84.50~102.00	6.0
		0.4	84.25~106.00	8.0
		0.8	88.75~98.50	3.4
	安赛蜜	0.1	93.50~106.00	4.8
		0.4	97.00~102.75	2.1
		0.8	90.63~99.50	3.8
	三氯蔗糖	0.4	83.00~95.25	5.1
		0.8	91.50~115.75	8.6
		2.0	96.00~102.00	2.2
普通白酒	甜蜜素	0.1	89.00~107.00	6.4
		0.4	101.25~111.75	3.7
		0.8	87.50~99.00	4.2
	糖精钠	0.1	86.90~105.00	6.3
		0.4	93.75~103.75	4.2
		0.8	86.88~97.38	4.3
	安赛蜜	0.1	81.10~94.10	4.9
		0.4	97.25~106.75	3.7
		0.8	82.50~98.75	5.4
	三氯蔗糖	0.4	87.00~106.00	8.9
		0.8	85.63~106.25	8.1
		2.0	92.50~106.50	5.2

