

食品中纽甜的测定 液相色谱—串联质谱法

GB 5009.247-2025

1. 适用范围

本标准适用于食品中纽甜的测定。

参考标准：《GB 5009.247-2025 食品中纽甜的测定 液相色谱—串联质谱法》

2. 溶液的配制

- 1) 甲酸-三乙胺缓冲液：分别吸取 0.8 mL 甲酸和 2.5 mL 三乙胺，加水定容至 1L，pH 约为 4.5。
- 2) 混合提取液：量取甲醇 400 mL 至 1 L 烧杯，加 500 mL 甲酸-三乙胺缓冲液，用甲酸调 pH 到 4.5，转移至 1 L 容量瓶，用甲酸-三乙胺缓冲液定容至刻度。
- 3) 混合洗脱液：量取甲醇 700 mL 至 1 L 容量瓶，用甲酸-三乙胺缓冲液定容至刻度。
- 4) 乙酸铵溶液(5 mmol/L)：称取 0.385 g 乙酸铵，用 500 mL 水溶解，加入 1.0 mL 冰乙酸，加水定容至 1 L。
- 5) 亚铁氰化钾溶液(92 g/L)：称取 106 g 亚铁氰化钾，加入适量水溶解，用水定容至 1 L。
- 6) 乙酸锌溶液(183 g/L)：称取 220 g 乙酸锌，加入适量水溶解，加入 30 mL 冰乙酸，用水定容至 1 L。
- 7) 氨水溶液(20%)：量取 200 mL 氨水至 1 L 容量瓶，用水定容至刻度。
- 8) 标准储备液(1 mg/mL)：准确称取 1 mg(精确至 0.0001 g)标准品,甲酸-三乙胺缓冲液溶解并定容至 1 mL。4 °C 下避光保存，有效期 3 个月。

3. 提取步骤

3.1. 含胶基的糖果、果冻及鸡精等试样(果冻)

准确称取 5 g 果冻试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 混合提取液, 于 60 °C 水浴振荡 30 min。冷却至室温, 用甲酸或氨水溶液(20%)调 pH 至 4.5, 超声 30 min。加入 1 mL 亚铁氰化钾溶液(92 g/L)和 1 mL 乙酸锌溶液(183 g/L), 涡旋混匀, 4000 r/min 离心 5 min。上清液经滤纸过滤并转移至 50 mL 容量瓶。残渣加入 20 mL 混合提取液, 振荡 5 min, 4000 r/min 离心 5 min, 上清液经滤纸过滤合并, 用混合提取液定容至刻度, 作为试样提取液待净化。

3.2. 油脂类调味料、巧克力及奶油等试样(巧克力)

准确称取 5 g 巧克力试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 混合提取液, 于 60 °C 水浴振荡 30 min。加 5 mL 正己烷, 振荡 5 min, 4000 r/min 离心 5 min, 弃去正己烷层。用甲酸或氨水溶液(20%)调 pH 至 4.5, 超声 30 min。加入 1 mL 亚铁氰化钾溶液(92 g/L)和 1 mL 乙酸锌溶液(183 g/L), 涡旋混匀, 4000 r/min 离心 5 min。上清液经滤纸过滤并转移至 50 mL 容量瓶。残渣加入 20 mL 混合提取液, 振荡 5 min, 4000 r/min 离心 5 min, 上清液经滤纸过滤合并, 用混合提取液定容至刻度, 作为试样提取液待净化。

3.3. 其余试样(面包、杨梅)

准确称取 5 g 试样(精确到 0.01 g)于 50 mL 离心管中, 加入 25 mL 混合提取液, 涡旋 5 min。用甲酸或氨水溶液(20%)调 pH 至 4.5, 超声 30 min。加入 1 mL 亚铁氰化钾溶液(92 g/L)和 1 mL 乙酸锌溶液(183 g/L), 涡旋混匀, 4000 r/min 离心 5 min。上清液经滤纸过滤并转移至 50 mL 容量瓶。残渣加入 20 mL 混合提取液, 振荡 5 min, 4000 r/min 离心 5 min, 上清液经滤纸过滤合并, 用混合提取液定容至刻度, 作为试样提取液待净化。

4. 净化步骤

SPE: HLB, 规格: 500 mg/6mL

- 1) 活化: 6 mL 甲醇、6 mL 水。
- 2) 上样: 10 mL 试样提取液, 弃去。
- 3) 淋洗: 5 mL 甲酸-三乙胺缓冲液淋洗, 弃去。
- 4) 洗脱: 8 mL 混合洗脱液, 收集。
- 5) 上机: 将收集的洗脱液用甲酸-三乙胺缓冲液定容到 10 mL, 过 0.22 μm 滤膜, 液相色谱仪-串联质谱检测。

5. 色谱条件

5.1 UPLC 条件

色谱柱: Ultimate XB-C18, 3 μm , 3.0 $\times$ 150 mm

流动相: A: 乙酸铵溶液(5 mmol/L), B: 甲醇

柱温: 30 $^{\circ}\text{C}$;

流速: 0.3 mL/min;

进样体积: 2 μL ;

梯度洗脱程序: 见表 1

表 1 梯度洗脱程序

时间/min	A 相/%	B 相/%
0.00	90	10
2.00	20	80
11.00	20	80
11.01	90	10
18.00	90	10

5.2 质谱条件

离子源：电喷雾离子源(ESI)；

扫描方式：负离子扫描；

检测方式：多反应监测(MRM)模式；

离子喷雾电压：-4500 V；

离子源温度：500℃；

气帘气(CUR): 10 psi；雾化气(GS1): 55 psi；辅助气(GS2): 50 psi。

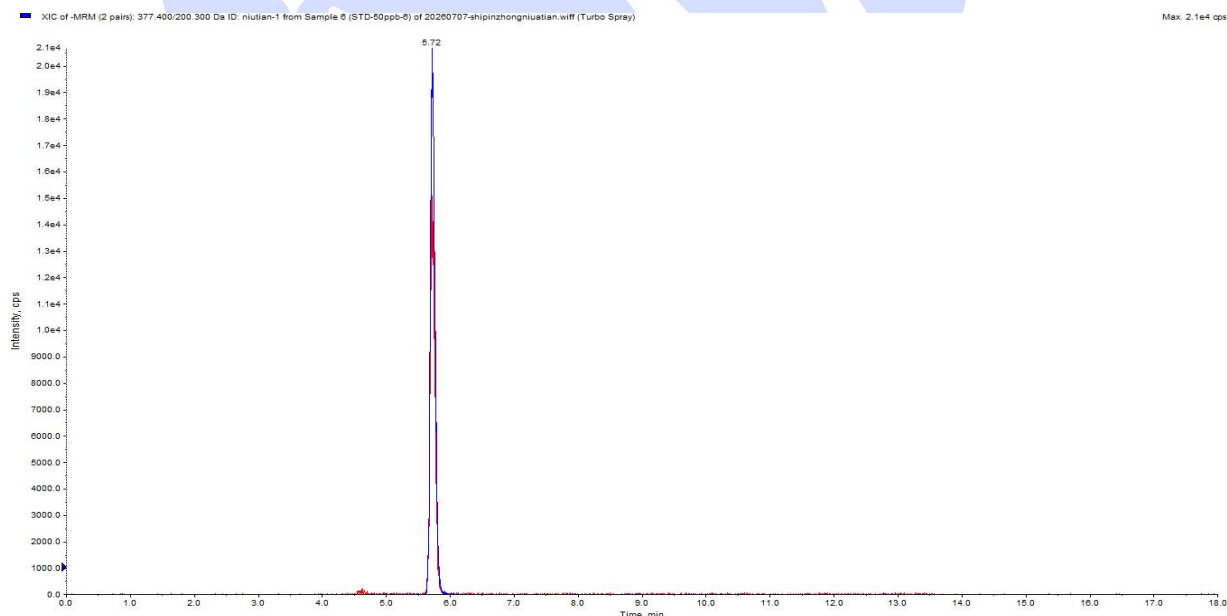
其他质谱参数见表 2

液质仪器型号：AB Sciex TRIPLE QUAD 4500

表 2 多反应监测模式(MRM)参数

化合物	母离子(m/z)	子离子(m/z)	去簇电压 DP/V	碰撞能 CE/V
纽甜	377.4	200.3*	-65	-26
		345.3		-19

6. 色谱图或者加标回收率结果



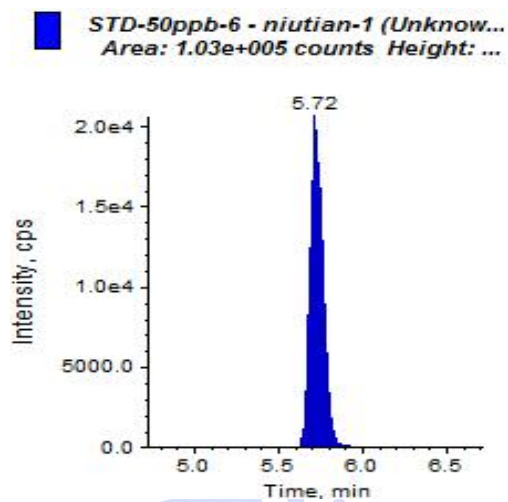


图 1. 纽甜 50 ng/mL 图谱

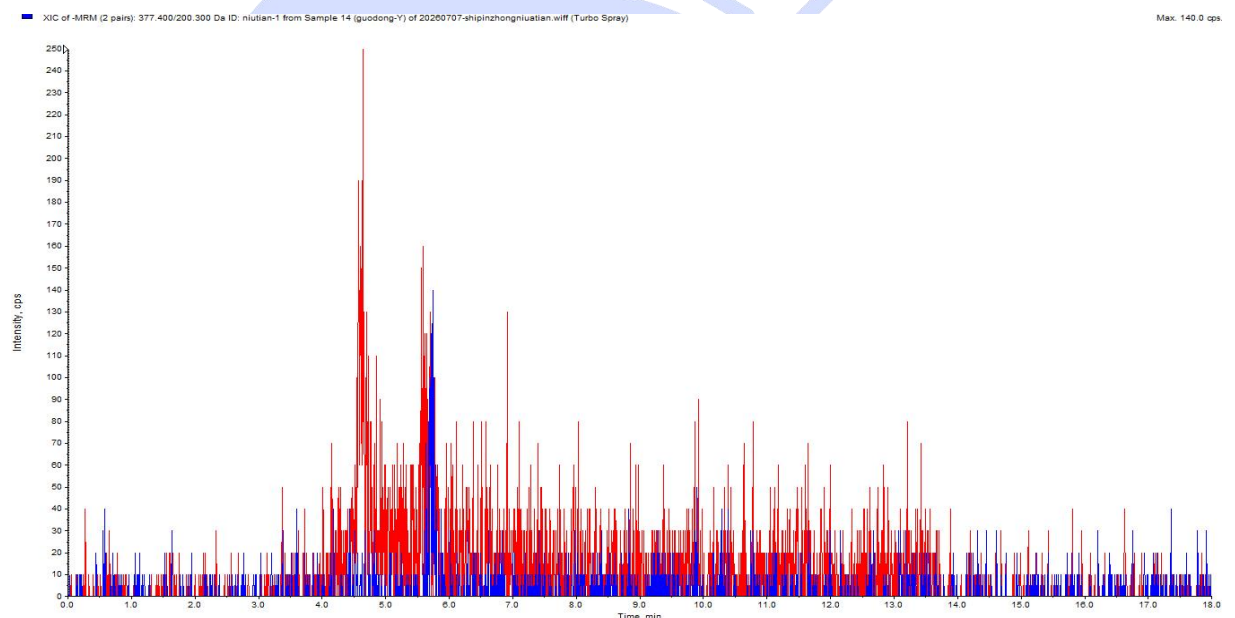


图 2. 果冻样品空白图谱

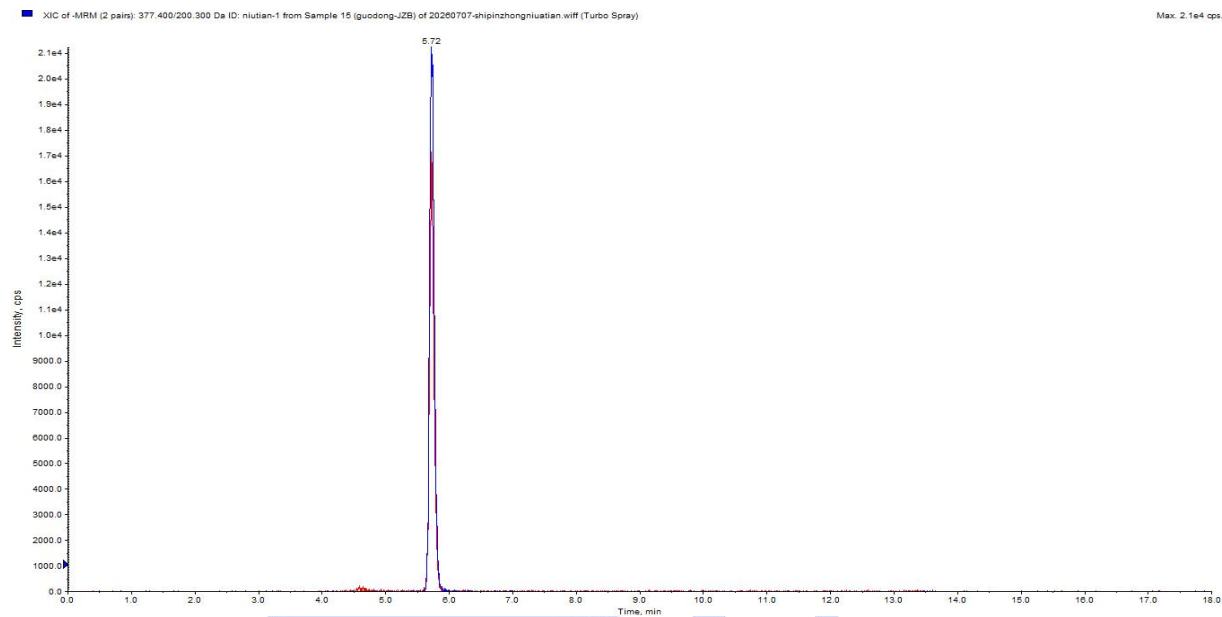


图 3. 果冻样品基质标图谱

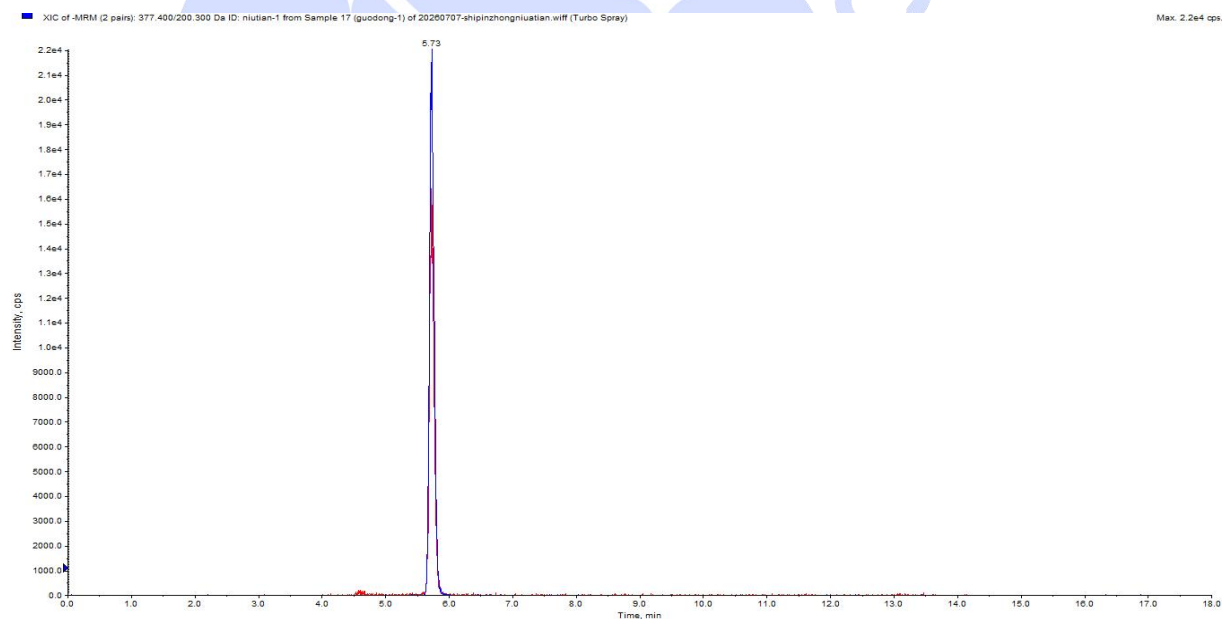


图 4. 果冻样品样加标图谱

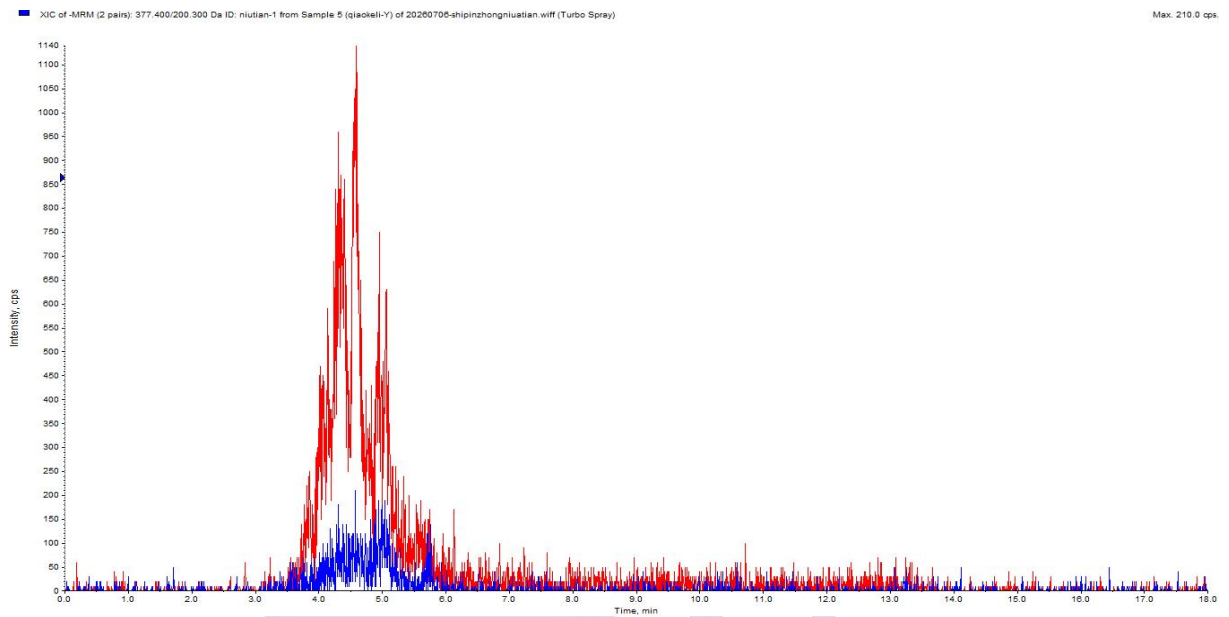


图 5. 巧克力样品空白图谱

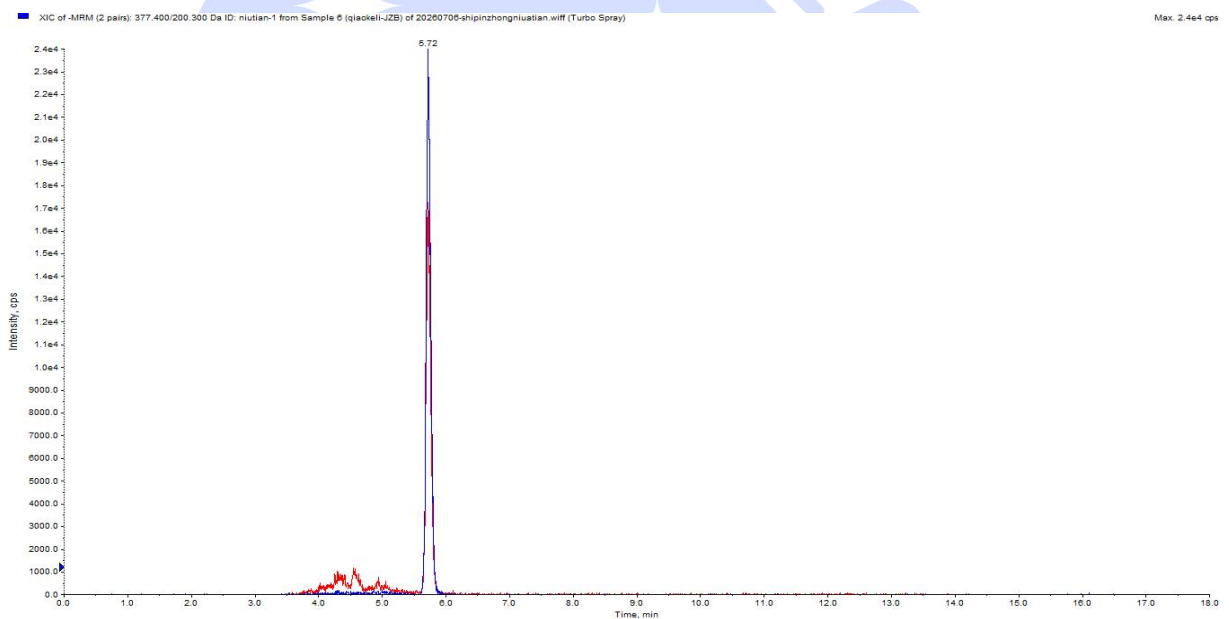


图 6. 巧克力样品基质标图谱

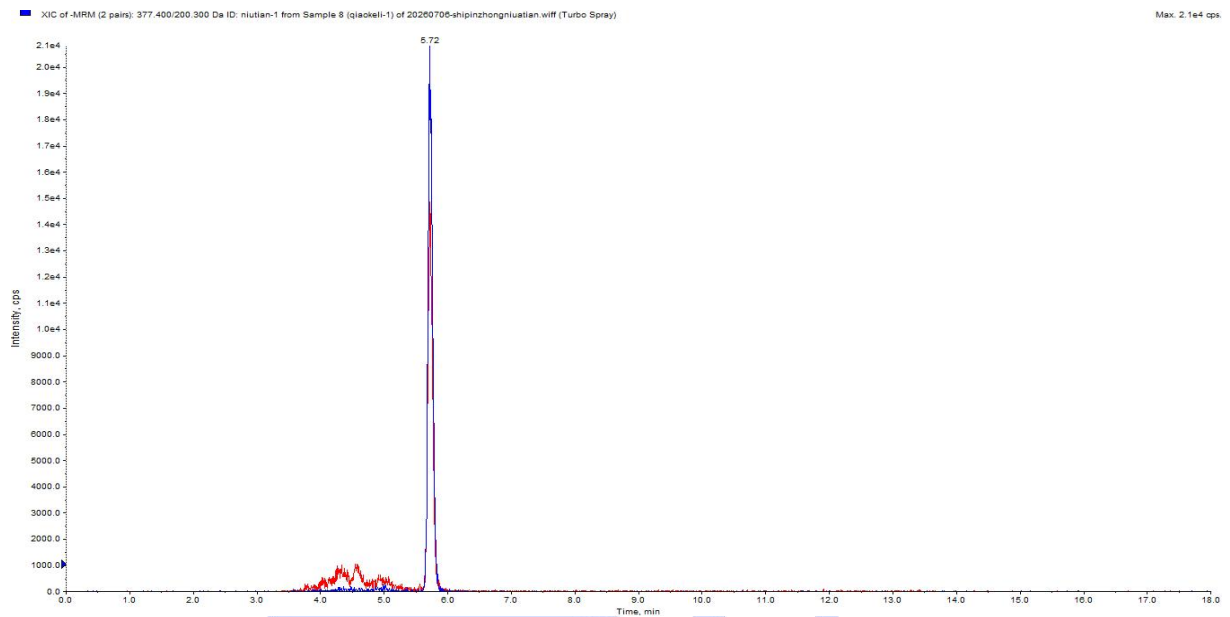


图 7. 巧克力样品样加标标图谱

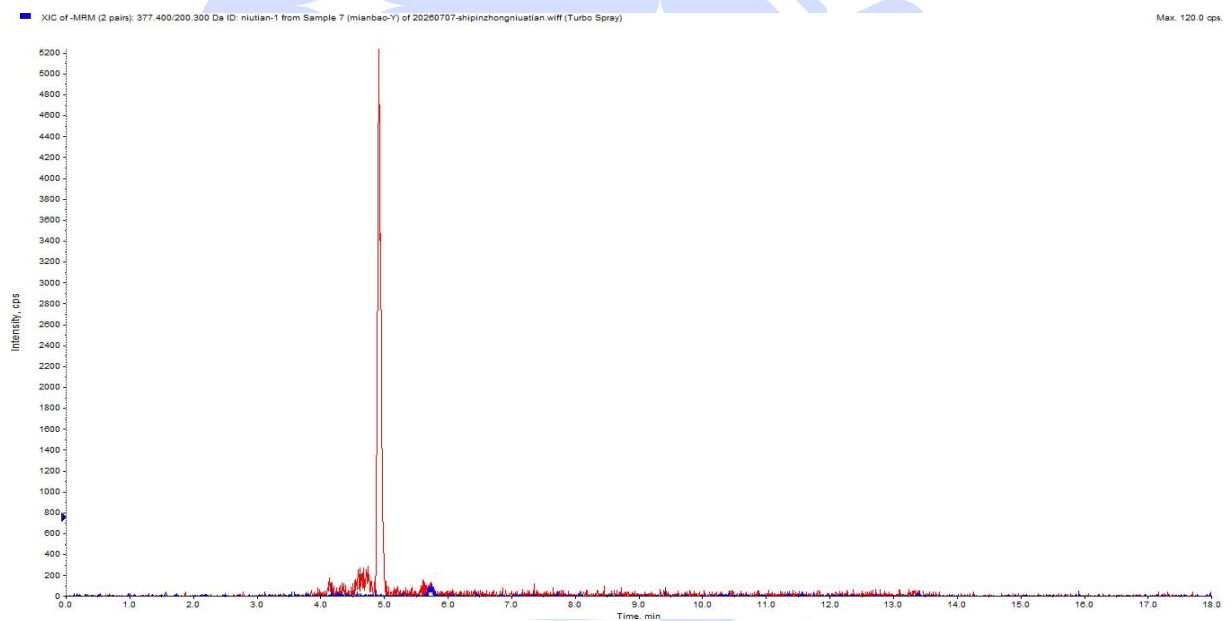


图 8. 面包样品空白图谱

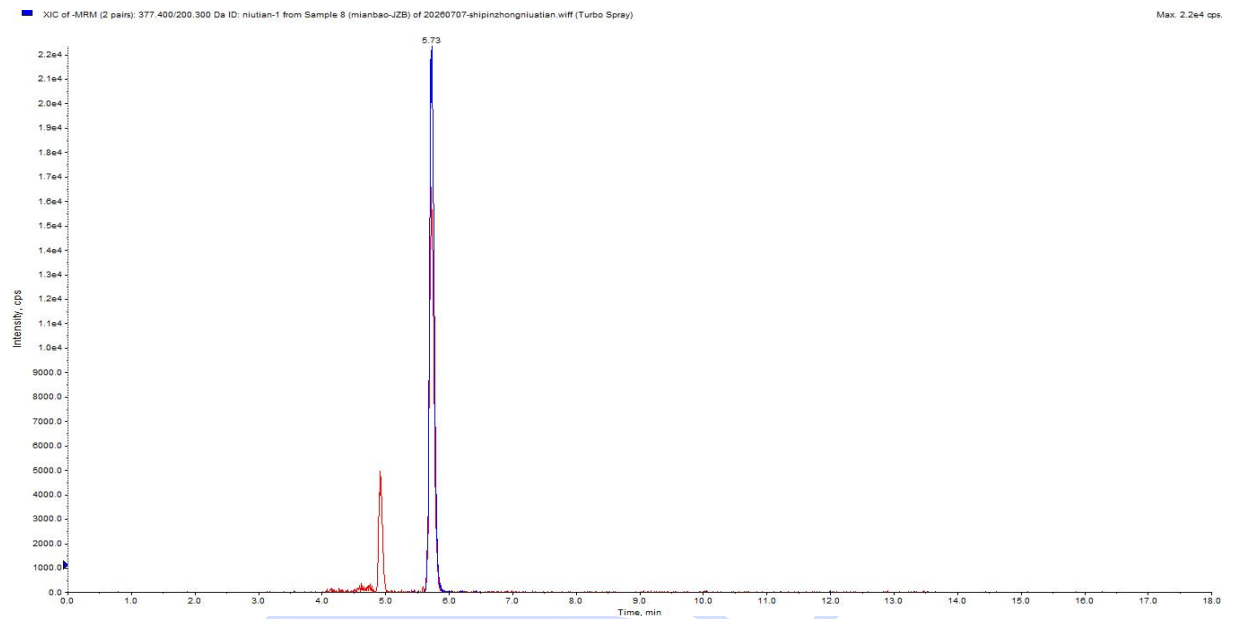


图 9. 面包样品基质标图谱

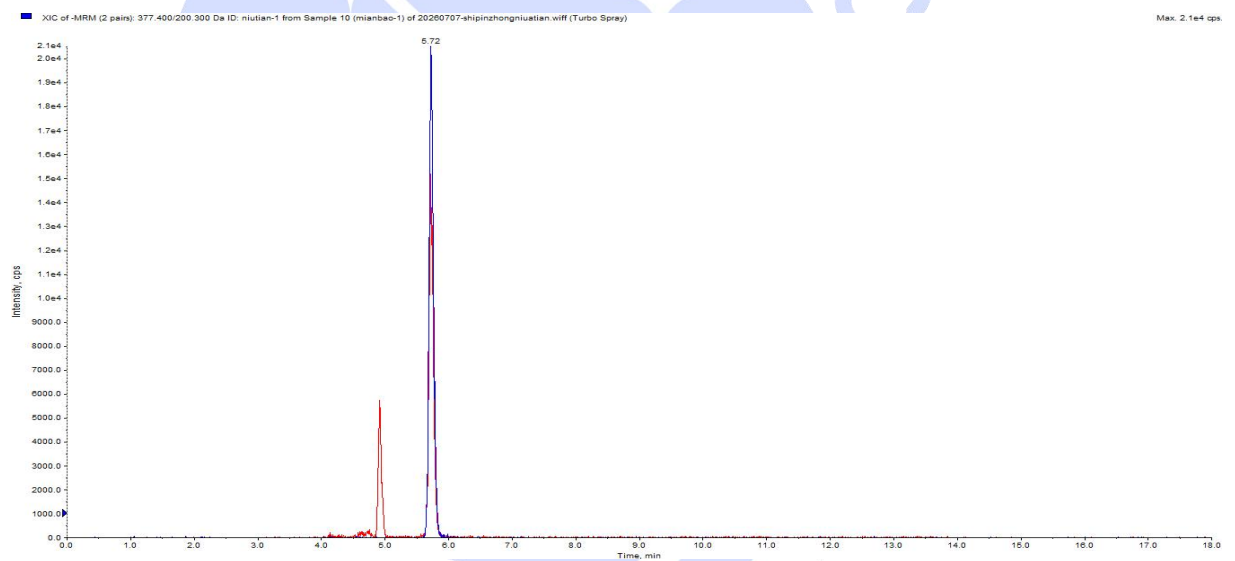


图 10. 面包样品样加标图谱

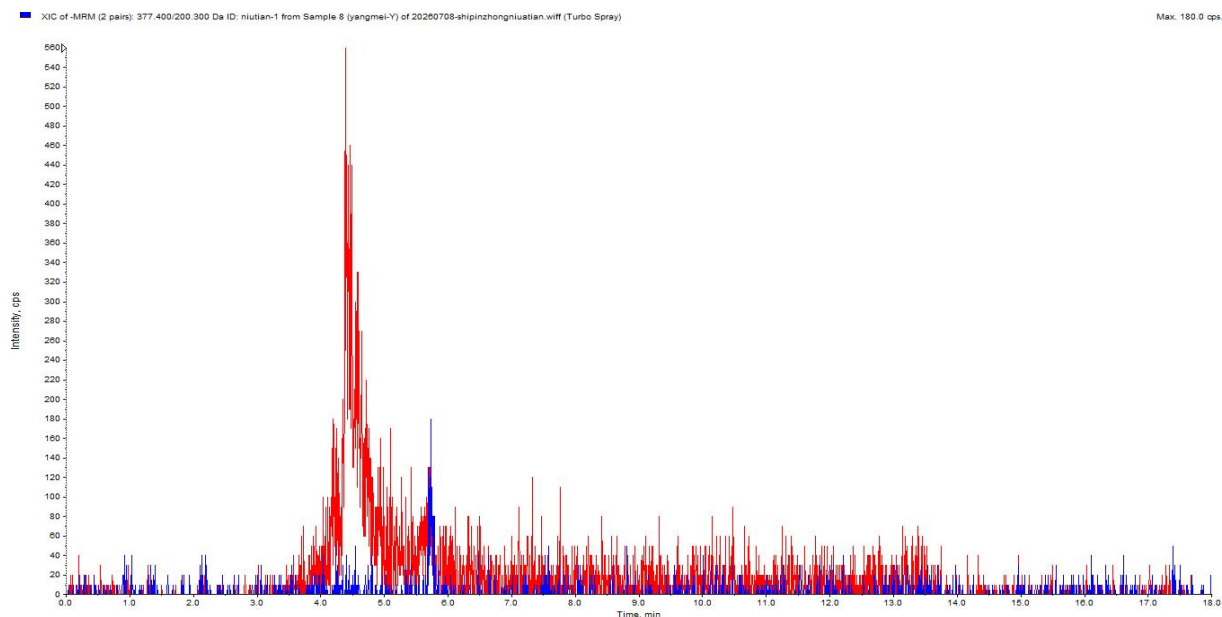


图 11. 杨梅样品空白图谱

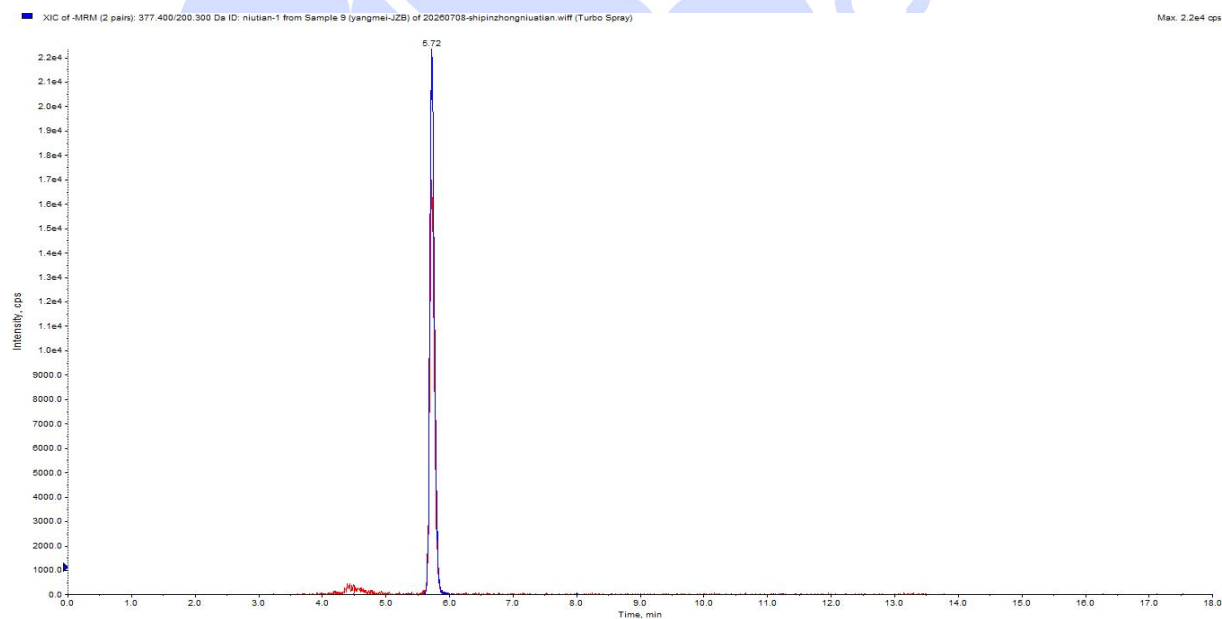


图 12. 杨梅样品基质标图谱

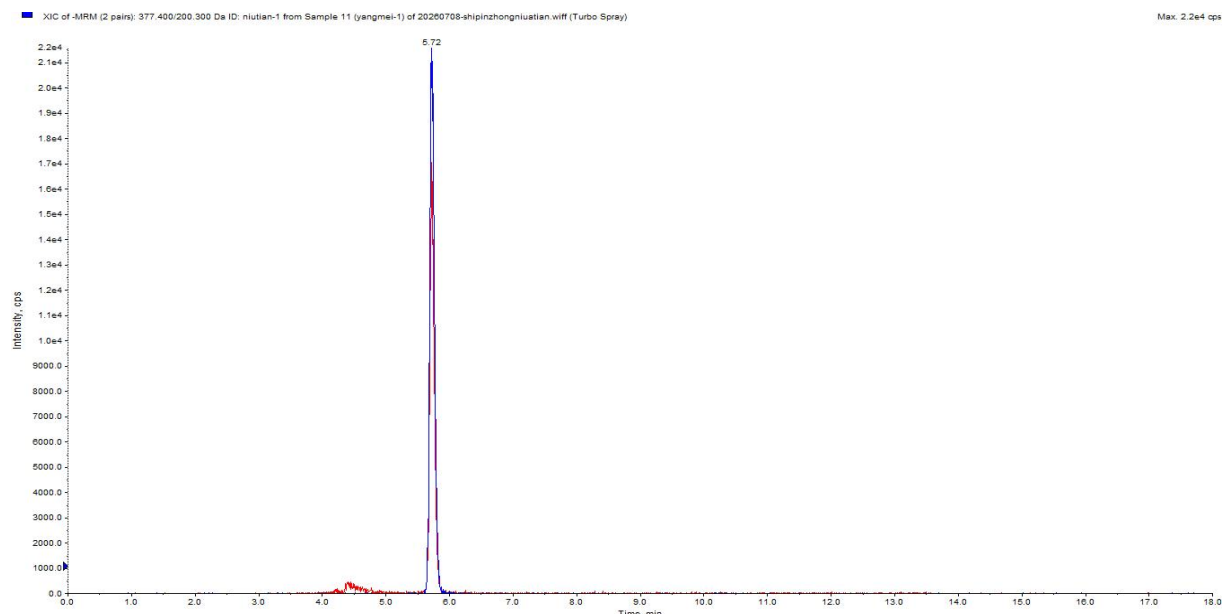


图 13. 杨梅样品样加标图谱

表 3. 不同基质样加标回收率表（加标水平为 500 $\mu\text{g/kg}$ ）

样品基质	平均回收率	RSD ($N \geq 3$)
果冻	97.02%	0.87%
巧克力	86.81%	3.09%
面包	87.08%	0.54%
杨梅	95.65%	1.48%

7. 相关产品信息

货号	名称	规格
DP1618-1	离心管	50mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
DP1639-1	离心管	15mL 尖底离心管，配橙色实心盖，未灭菌，25 个/包
00821-39191	盖子+垫片	白色特氟龙/红色硅胶隔垫，9mm 蓝色短螺纹开口盖 中心孔 6mm，100/pk

00821-40927	样品瓶	2ml 透明短螺纹广口进样瓶 带书写处 9-425 11.6*32mm 新包装 一级水解玻璃, 100/pk
00201-21023	分析柱	Ultimate XB-C18, 3 μ m, 3.0 $\times$ 150mm
00589-20006	Welchrom SPE 柱	HLB, 500mg/6ml, 30/pk

