

T B

团体标准

T/ NAIA×××-××××

葡萄酒中7种甜味剂的测定
液相色谱-串联质谱法

××××-××-××××发布

××××-××-××××实施

宁夏化学分析测试协会 发布

前言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏回族自治区标准化研究院、宁夏化学分析测试协会、宁夏农产品质量标准与检测技术研究所。

本文件主要起草人：马桂娟、王紫昕、马雪梅、范英、杨春霞、汤丽华、高琳、吴明、吕毅、陈盼盼、王晶蕾、葛谦、张小飞。本文件为首次发布。

葡萄酒中7种甜味剂的测定 液相色谱-串联质谱法

1 范围

本文件规定了葡萄酒中7种甜味剂含量的液相色谱串联质谱测定方法。

本文件适用葡萄酒中安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜含量的测定和确证。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用本文件；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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样经水浴加热除去乙醇以后以水定容，用液相色谱串联质谱仪测定其中的安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜，外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇 (CH₃OH)：色谱纯。

5.1.2 甲酸 (HCOOH)：优级纯。

5.1.3 甲酸铵 (HCOONH₄)：优级纯

5.1.4 1%甲酸-5mmol/L甲酸铵溶液：1mL甲酸、0.315g甲酸铵，用水稀释并定容到1000mL。

5.2 标准品

安赛蜜 (CAS号1646-88-4, C₄H₄KNO₄S)、糖精钠 (CAS号128-44-9, C₇H₄O₃NSNa)、甜蜜素 (CAS号68476-78-8, C₆H₁₁NHSO₃Na)、三氯蔗糖 (CAS号56038-13-2, CHCl₃O₈)、阿斯巴甜 (CAS号22839-47-0, C₁₄H₁₈N₂O₅)、阿力甜 (CAS号80863-62-3, C₁₄H₂₅N₃O₄S)、纽甜 (CAS号165450-17-9, C₂₀H₃₀N₂O₅)，纯度均≥98%。

5.3 标准溶液制备

5.3.1 标准储备液 (1mg/mL)：称取安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜对照品10mg，精密称定，用水稀释定容至10mL容量瓶中，配制成浓度为1mg/mL的标准储备溶液，2-8℃保存，有效期三个月。

5.3.2 标准工作液：根据需要，用空白样品基质溶液配制适当浓度的标准工作液，临用现配。

5.4 材料

0.22水相微孔滤膜

6 仪器与设备

- 6.1 超高效液相色谱-串联质谱仪：配备电喷雾离子源(ESI)。
- 6.2 分析天平：感量0.1mg和0.01g。
- 6.3 涡旋混合器。
- 6.4 恒温水浴锅。

7 分析步骤

7.1 试样制备

将所取原始样品1kg在瓷混样桶内充分混匀，将混匀样品置于洁净容器内密封，作为试样。

7.2 试样的提取

称取试样10.0 g（精确到0.01g），置于50mL烧杯中，于60℃水浴上加热30min，残渣全部转移至100mL容量瓶中，用水定容并摇匀，经0.22μm微孔滤膜过滤后供上机测定。

7.3 仪器参考条件

7.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C18，2.1 mm × 150 mm，粒径1.7 μm或性能相当者。
- b) 柱温：35℃。
- c) 流动相：A：0.1%甲酸-5mmol/L甲酸铵溶液，B：甲醇；梯度洗脱见表1。
- d) 流速：0.30mL/min。
- e) 进样量：10μL。

表1 流动相及梯度洗脱条件

时间/min	流速/(mL/min)	流动相A/%	流动相B/%
0.00	0.30	85	15
8.00	0.30	10	90
8.10	0.30	85	15
15.00	0.30	85	15

7.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI）。
- b) 扫描方式：负离子扫描。
- c) 检测方式：多反应监测（MRM）。
- d) 离子源温度：325℃。
- e) 气体流速：6L/min。
- f) 雾化器压力：45psi。
- g) 鞘气温度：350℃。
- h) 鞘气流速：11L/min。
- i) 毛细管电压：4500V。
- j) 喷嘴电压：500V。
- k) 定性离子对、定量离子对、碰撞能量等参数参见附录 A。

7.4 定量测定

根据样液中被测物含量情况，选定浓度相近的基质混合标准工作溶液，基质混合标准工作溶液和待测样液中5种非食用着色剂的响应值均应在仪器检测的线性范围内。基质混合标准工作溶液与样液等体积进样测定。标准溶液及样液均按7.3.1和7.3.2规定的条件进行测定，如果样液中与标准溶液相同的保留时间有峰出现，则对其进行确证，安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜的参考保留时间见表2。安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、三氯蔗糖、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜标准品的多反应监测（MRM）色谱图参见附录B，采用基质溶液标准曲线外标法定量。

表2 参考保留时间

被测物名称	保留时间/(min)
安赛蜜	1.929
糖精钠	2.619
甜蜜素	3.574
三氯蔗糖	4.502
阿斯巴甜	4.832
阿力甜	5.865
纽甜	7.838

7.5 定性测定

经确证分析被测物质量色谱峰保留时间与标准物质相一致，并且在扣除背景后的样品谱图中，所选择的离子均出现。同时所选择离子的丰度比与标准样物质相关离子的相对丰度一致，相似度在允许偏差之内（见表3），则可判定样品中存在对应的被测物。

表3 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对丰度(基峰)	>50%	20%~50%(含)	10%~20%(含)	<10%
允许的相对偏差	±10%	±15%	±20%	±50%

7.6 空白试验

除不加试样外，均按上述步骤进行。

8 分析结果的表述

试样中7种甜味剂含量按式（1）进行计算：

$$X = \frac{(C - C_0) \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

X —样本中各种非食用着色剂含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

C —测定溶液浓度，单位为微克每毫升（ng/mL）；

C_0 —空白基质溶液浓度，单位为微克每毫升（ng/mL）；

V —样本溶液提取溶液体积，单位为毫升（mL）；

m —试样质量，单位为克（g）。

9 精密度

在重复性测定条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的10%。

10 定量限

本方法的安赛蜜、糖精钠、甜蜜素、阿斯巴甜、阿力甜、纽甜检出限为0.05mg/kg，定量限为0.10mg/kg。三氯蔗糖检出限为0.10mg/kg，定量限为0.20mg/kg。

附录 A
(资料性附录)

7种甜味剂的母离子、子离子、碎裂电压和碰撞能量参考值

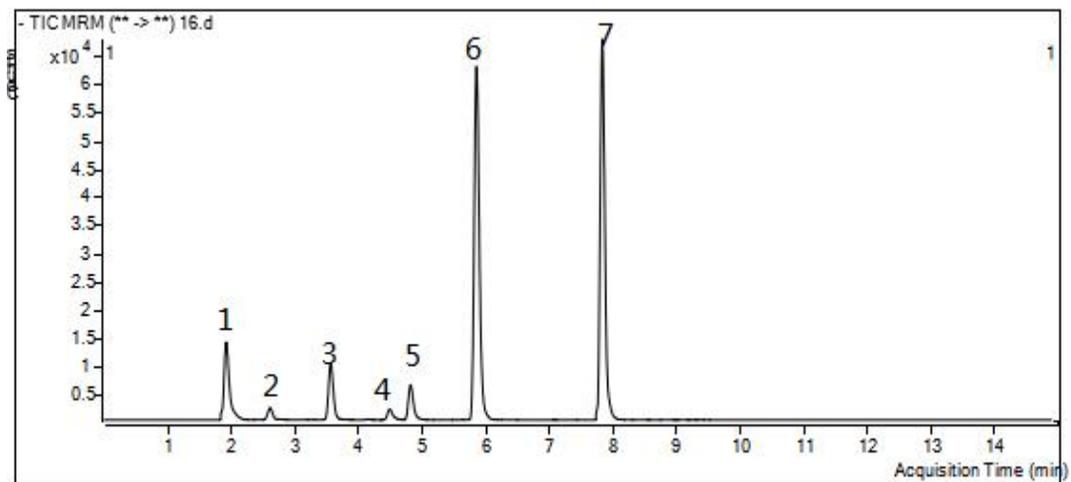
7种甜味剂的母离子、子离子、碎裂电压和碰撞能量参考值 见表A.1。

表A.1 7种甜味剂的母离子、子离子、碎裂电压和碰撞能量参考值 见

被测物名称	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	碰撞能量 (eV)
安赛蜜	162.2	82.1	65	10
		78.2	65	34
糖精钠	182.2	61.8	100	16
		42.0	100	28
甜蜜素	178.2	96.0	110	24
		80.0	110	24
三氯蔗糖	395.5	359.0	120	5
阿斯巴甜	293.3	260.8	75	2
		199.8	75	8
阿力甜	330.3	312.0	85	8
		166.8	85	20
纽甜	377.4	345.0	110	8
		200.0	110	14

附录 B
(资料性附录)
甜味剂标准溶液测定总离子流色谱图

7种甜味剂标准溶液测定总离子流色谱图见图B.1。



标引序号说明:

- 1 --- 安赛蜜;
- 2 --- 糖精钠;
- 3 --- 甜蜜素;
- 4 --- 三氯蔗糖;
- 5 --- 阿斯巴甜;
- 6 --- 阿力甜;
- 7 --- 纽甜。

图 B.1 7种甜味剂标准溶液测定总离子流色谱图
