

DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/006—2013

食品安全地方标准
乳制品及含乳饮料中环己基氨基磺酸钠的测定
液相色谱-质谱/质谱法

2013-10-08 发布

2013-10-08 实施

吉林省卫生厅 发布

前 言

附录A、附录B为资料性附录。

本标准起草单位：吉林省产品质量监督检验院。

本标准起草人：李宁、邴炜、华蕾、董巧红、李刚、刘斌、石金娥、刘智、王庆峰、张庆波、郎乐、李滢倩、刘桂华、王岩。

食品安全地方标准

乳制品及含乳饮料中环己基氨基磺酸钠的测定

液相色谱-质谱/质谱法

1 范围

标准规定了乳制品及含乳饮料中环己基氨基磺酸钠含量的液相色谱-质谱/质谱测定方法。

本标准适用于巴氏杀菌乳、灭菌乳、调制乳、发酵乳及含乳饮料中环己基氨基磺酸钠含量的液相色谱-质谱/质谱测定。

本方法中环己基氨基磺酸钠的检出限为 0.01 mg/kg。

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

试样经亚铁氰化钾溶液及乙酸锌溶液除蛋白，阴离子交换固相萃取柱净化，离心后过滤，液相色谱-质谱/质谱仪测定，外标法定量。

4 试剂与材料

除另有规定外，所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

- 4.1 甲醇（CH₃OH）。
- 4.2 甲酸（HCOOH）。
- 4.3 乙腈（C₂H₃N）：色谱纯。
- 4.4 亚铁氰化钾（K₄Fe(CN)₆·3H₂O）。
- 4.5 乙酸锌（Zn(CH₃COO)₂·2H₂O）。
- 4.6 甲酸洗脱液（甲酸+水=20+80，体积比）：取 20 mL 甲酸（4.2）加入 80 mL 水，混匀后备用。
- 4.7 106 g/L 亚铁氰化钾溶液：称取亚铁氰化钾（4.4）53 g，用水溶解后稀释至 500 mL，混匀后备用。
- 4.8 220 g/L 乙酸锌溶液：称取乙酸锌（4.5）110 g，用水溶解后稀释至 500 mL，混匀后备用。
- 4.9 0.2 %甲酸溶液：准确吸取 2 mL 甲酸（4.2），用水定容至 1000 mL，混匀后备用。
- 4.10 环己基氨基磺酸钠标准物质（CAS 号：139-05-9，分子式 C₆H₁₁NHNaO₃S）：纯度≥98 %。
- 4.11 1 mg/mL 环己基氨基磺酸钠标准储备液：称取 100 mg 环己基氨基磺酸钠标准物质（4.10），加水溶解并定容至 100 mL，4 ℃以下冷藏贮存，有效期 6 个月。

4.12 基质标准工作溶液：取环己基氨基磺酸钠标准储备液（4.11），分别用空白样品滤液稀释成浓度为 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.05 mg/L、0.10 mg/L 和 0.50 mg/L 的基质标准工作溶液。基质标准工作溶液在 4℃ 保存。

4.13 阴离子交换固相萃取柱：500 mg/6 mL 或等效柱。使用前依次用 5 mL 甲醇、5 mL 水活化。

4.14 微孔滤膜：0.22 μm，有机系。

5 仪器和设备

5.1 液相色谱-质谱/质谱仪，配有电喷雾（ESI）离子源。

5.2 电子天平，感量 0.01 mg 和 0.01 g。

5.3 超声波清洗仪，功率 250 W。

5.4 高速离心机，10000 r/min。

5.5 涡旋混合器。

6 分析步骤

6.1 提取

称取 5 g（精确至 0.01 g）混匀试料于 50 mL 具塞比色管中，加入 15 mL 水，混匀后加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液（4.7）和 5 mL 乙酸锌溶液（4.8），充分振摇后于超声波清洗仪中超声提取 30 min，取出静置 2 min，滤出上清液于 25 mL 容量瓶中，残渣依次用 10 mL、5 mL 水清洗后过滤，合并 3 次滤液于同一容量瓶，用水定容至刻度。移取 1 mL 滤液，混匀后做待净化液。

6.2 净化

将 6.1 中的待净化液移至固相萃取柱（4.13）中。用 5 mL 水洗涤，弃去淋洗液，用 5 mL 甲酸洗脱液（4.6）洗脱，收集全部洗脱液，用流动相定容至 5 mL，涡旋混合 1 min，以 10000 r/min 离心分离 3 min，取 1 mL 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后，供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

6.3 空白基质溶液的制备

取阴性样品 5 g，按 6.1 和 6.2 操作。

6.4 测定

6.4.1 色谱参考条件

a) 色谱柱：C₁₈ 柱，2.1 mm×150 mm，5.0 μm 或等效柱；

b) 流动相：0.2% 甲酸溶液（4.9）+ 乙腈（4.3）= 95+5；

c) 流速：0.4 mL/min；

d) 进样量：5 μL；

e) 柱温：30℃。

6.4.2 质谱参考条件

a) 离子源：电喷雾离子源；

b) 扫描方式：负离子扫描；

c) 监测方式：多反应监测（MRM）；

d) 脱溶剂气、锥孔气为氮气，碰撞气为高纯氮气；使用前应调节各气体流量使质谱灵敏度达到检测

要求；锥孔电压、碰撞能量等电压值应优化至最优灵敏度；

e)仪器应优化至最优灵敏度，参考条件和定性离子对、定量离子对参见第 A.1章。

6.4.3 液相色谱-质谱/质谱测定

6.4.3.1 定性测定

若样液与标准工作液的选择离子色谱图中，在相同保留时间有色谱峰出现，可用正、负离子模式同时扫描(正离子模式监测离子 m/z 202/122；负离子模式监测离子 m/z 178/80)。根据产生的两组离子对之间的丰度比，进行确证。

在相同试验条件下，试料中待测物与同时检测的标准物质的保留时间之差在 $\pm 2\%$ 之内，且各组分定性离子相对丰度与标准工作溶液中定性离子的相对丰度，其允许偏差符合表1要求，可判定为试料中存在对应待测物。

表 1 定性离子丰度比与标准物质离子丰度比的允许偏差范围

相对离子丰度 (%)	允许的相对偏差 (%)
> 50	± 20
$> 20 \sim 50$	± 25
$> 10 \sim 20$	± 30
≤ 10	± 50

6.4.3.2 定量测定

以峰面积为纵坐标，以基质校准溶液浓度为横坐标绘制标准工作曲线，用标准工作曲线对试料进行定量，试料溶液中待测物的响应值均应在仪器测定的线性范围内。上述色谱和质谱条件下，标准物质多反应监测质量色谱图参见附录B。

6.5 空白试验

除不称取样品外，均按上述步骤进行。

7 结果计算

试样中环己基氨基磺酸钠的含量按式 (1) 计算：

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

式中：

X —试样中环己基氨基磺酸钠含量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

ρ —从标准工作曲线上得到的环己基氨基磺酸钠溶液浓度，单位为毫克每毫升 (mg/mL)；

V —样液最终定容体积，单位为毫升 (mL)；

m —试样溶液所代表试样的质量，单位为克 (g)。

计算结果应扣除空白值；结果保留小数点后两位数字。

8 重复性

在重复性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 %。

附 录 A
(资料性附录)

负离子模式和正离子模式下的液相色谱-质谱/质谱参考条件

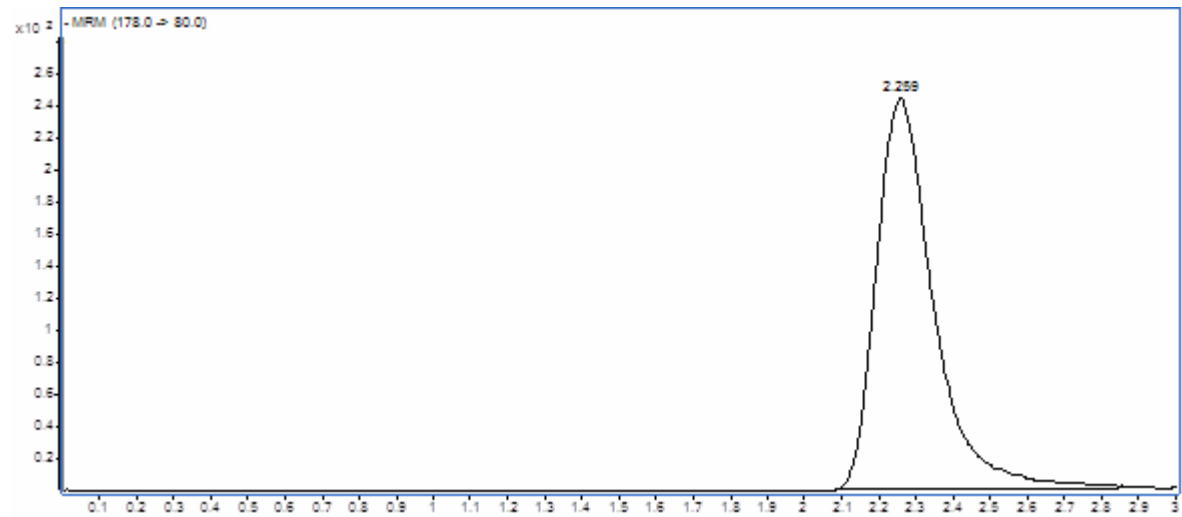
A.1 负离子模式下液相色谱-质谱/质谱参考条件

- a)离子源 (ESI) 温度: 230 °C;
- b)离子喷雾电压: 4 kV;
- c)雾化气: 氮气, 30 psi;
- d)干燥气: 氮气, 流速10 L/min, 温度325 °C;
- e)扫描方式: 负离子模式;
- f)监测方式: 多反应监测方式 (MRM), 母离子m/z178, 定量离子m/z80。

A.2 正离子模式下液相色谱-质谱/质谱参考条件

- a)离子源 (ESI) 温度: 230 °C;
- b)离子喷雾电压: 5 kV;
- c)雾化气: 氮气, 40 psi;
- d)干燥气: 氮气, 流速20 L/min, 温度325 °C;
- e)扫描方式: 正离子模式;
- f)监测方式: 多反应监测方式 (MRM), 母离子m/z202, 定性离子m/z122。

附 录 B
(资料性附录)
环己基氨基磺酸钠多反应监测质量色谱图



(浓度为1mg/L)