

基于SCIEX QTRAP®质谱对白酒中7种甜味剂的快速检测

SCIEX QTRAP® Mass Spectrometry for Rapid Detection of Seven Sweeteners in Liquor

程龙¹, 黄立², 赵祥龙¹, 刘冰洁¹, 郭立海¹

Cheng Long¹, Huang Li², Zhao Xianglong¹, Liu Bingjie¹, Guo Lihai¹

¹ SCIEX应用支持中心; ² 昆明市食品药品检验所 云南省昆明市

¹ SCIEX China; ² Kunming Food and Drug Inspection Institute, Yunnan Province

关键词: QTRAP; 甜味剂; 非法添加

Key words: QTRAP; Sweeteners; illegal added

引言

中国的酒文化有着几千年的历史, 广大消费者盛爱白酒。在白酒等酒类生产过程中, 保持适度的甜味可以遮盖酒类发酵过程中的苦涩等杂味, 而且能使酒醇厚, 绵软。品质优良的白酒由于其复杂特殊的酿造工艺, 在发酵过程中就能产生一些醇甜物质, 但这一切的实现都需要一定时间加上精良的技术以及优良的原料。部分不良商家为了提高酒的风味, 在白酒制造过程中会添加一些甜味剂和其他物质来赋予酒类良好的口感。经常食用合成甜味剂超标的食品会对人体的肝脏和神经系统造成危害, 特别是对老人、孕妇、小孩危害更为严重。所以我国《产品质量监督抽查实施规范 白酒CCGF103.1-2010》明确规定: 甜味剂为白酒强制检测项目, 依据《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准 GB2760-2011》规定甜味剂非白酒酿造过程中自身发酵物质, 为不得检出项目。

SCIEX基于QTRAP®质谱系统建立的甜味剂检测方法, 针对白酒中甜味剂快速鉴定和定量检测, 为消费者的安全饮酒提供强大的后盾和保障。

该方法针对市面上常见的甜味剂, 结合QTRAP®质谱系统的复合扫描功能建立了7种甜味剂的快速筛查和定量方法。

SCIEX QTRAP® 质谱系统是将三重四极杆质谱技术与线性加速离子阱技术相结合; 不仅具有这两类质谱的所有扫描模式, 还提供多种独特的复合功能。其质量分析器可在两类质谱的工作模式之间进行瞬时切换, 故可智能化的实现一针进样, 同时获得不同

扫描模式下的数据。本实验应用QTRAP®质谱系统的MRM-IDA-EPI的扫描模式(见图1), 实现一针进样, 同时进行定性或定量分析。

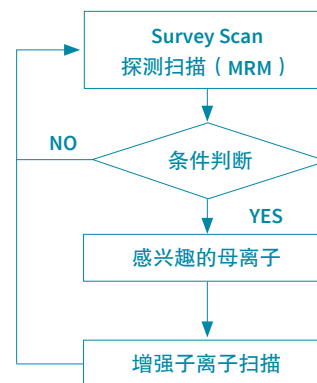


图1. MRM-IDA-EPI的扫描模式

- 步骤1: 探测扫描; (可有多种方式: MRM、中性丢失扫描、母离子扫描等)
- 步骤2: 系统自动判断: 探测扫描采集到的信号强度超过预设值(即“出现色谱峰”)
- 步骤3: 当步骤2的条件满足时, 系统自动切换(<1 ms)为线性离子阱模式, 进行增强子离子扫描(EPI), 获得探测扫描所得之母离子的高质量MS²谱图; 返回步骤1。

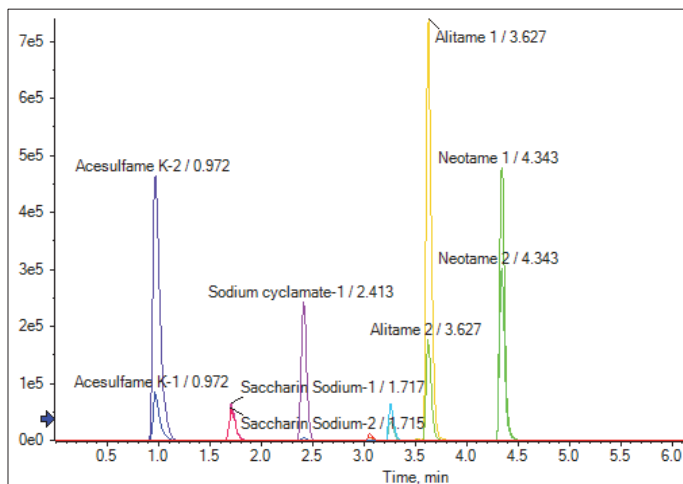


图2. MRM扫描模式下的7种甜味剂化合物色谱图

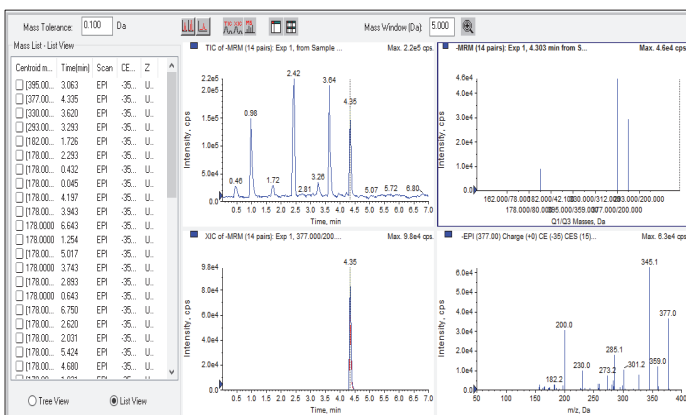


图3. 7种甜味剂的二级EPI质谱图

实验方法特点：

1. 前处理简便快速，操作简单，省时省力，可以快速筛查并定量白酒中甜味剂。
2. 化合物种类涵盖了常见的甜蜜素、安赛蜜、糖精钠、三氯蔗糖、纽甜等7种甜味剂。
3. 检测方法简单高效，一针进样，应用QTRAP®质谱的MRM-IDA-EPI复合扫描模式同时获得MRM数据以及高灵敏度的二级碎片全谱数据（EPI）（见图3）。
4. 强大的定性功能：QTRAP®质谱的EPI模式，即增强型离子扫描模式，可得到灵敏度更高（与三重四极杆相比可提高两个数量级以上），且不同能量碎裂的全质量范围的二级碎片谱。软件通过与标准品的谱库自动比对，帮助更准确的筛查和定性。

5. 卓越的定量功能：QTRAP®质谱具有与三重四极杆质谱完全一致的定量性能，同时，拥有出色的系统重现性和稳定性。线性各浓度点准确度均在80-120%之间，且r均大于0.995，线性相关性良好，定量准确。

液质检测平台：SCIEX Exion LC™ 液相 + SCIEX QTRAP® 4500系统



实验方法

1. 色谱条件

- a) 色谱柱：Phenomenex Kinetex C18 (50 × 3.0 mm, 1.7 μm)，或性能相当者。
- b) 流动相：A为2mM NH₄AC，B为MeOH，梯度洗脱程序见表1。
- c) 流速：300 μL/min。
- d) 柱温：35°C。
- e) 进样量：10 μL。

表1. 梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相A/%	流动相B/%
0	95	5
3.5	5	95
5.0	5	95
5.1	95	5
7.0	95	5

2. 质谱方法

扫描方式：MRM-IDA-EPI

离子源：ESI源

离子源参数：

电压 IS : 4500 V (-) 源温度 TEM : 550°C
 气帘气 CUR : 30 psi 碰撞气 CAD : Medium
 雾化气 GS1 : 55 psi 辅助气 GS2 : 55 psi

7 种甜味剂化合物的MRM参数

序号	化合物	母离子 Q1	子离子 Q3	去簇电压 (V)	碰撞能量 (V)	保留时间 (min)
1	Acesulfame K	162	78	-20	-40	0.97
		162	82	-20	-20	
2	Sodium Cyclamate	178	80	-40	-40	2.40
		178	178	-40	-5	
3	Saccharin Sodium	182	42	-40	-46	1.70
		182	106	-40	-25	
4	Sucralose	395	359	-80	-17	3.06
		397	361	-80	-17	
5	Alitame	330	312	-80	-18	3.63
		330	295	-80	-26	
6	Neotame	377	200	-80	-24	4.34
		377	345	-80	-19	
7	Aspartame	293	200	-80	-22	3.27
		293	261	-80	-15	

3. 样品前处理

移取5 mL待测白酒于比色管中，用氮吹仪进行处理，去除待测白酒中的醇类物质，直至待测白酒剩余 1~2 mL，用超纯水定容至5 mL，经 0.22 μm 水系滤膜过滤后，待LC-MS/MS上机测定。

结果与讨论

1. 定性实验结果

1.1 甜味剂标准谱库建立

QTRAP®质谱的EPI扫描模式，利用碰撞池的多能量碎裂功能以及离子阱质量分析器的阱集功能，可得到更全质量范围的二级碎片谱，根据其二级碎片全谱信息，建立甜味剂标准谱库，可用于日常白酒样品中甜味剂的快速筛查以及定性确证。

1.2 定性结果

Analyst软件提供先进的仪器控制、数据分析和结果报告功能。搭配SCIEX OS软件，其强大的数据处理功能，可以自动根据化合物的保留时间和二级碎片谱图进行目标化合物筛查和定性。如图4，根据软件结果显示，在某品牌白酒样本中检测出纽甜，其保留时间和二级碎片离子比率满足要求，且实测二级谱图与数据库匹配Purity得分为96.8分，体现QTRAP®质谱的EPI优势，即使在复杂基质中的低浓度化合物仍可得到高灵敏度的二级碎片全谱。样本实测二级全谱与标准品谱库的自动比对，可帮助更好的排判别假阳性和假阴性，保证定性结果的准确无误。

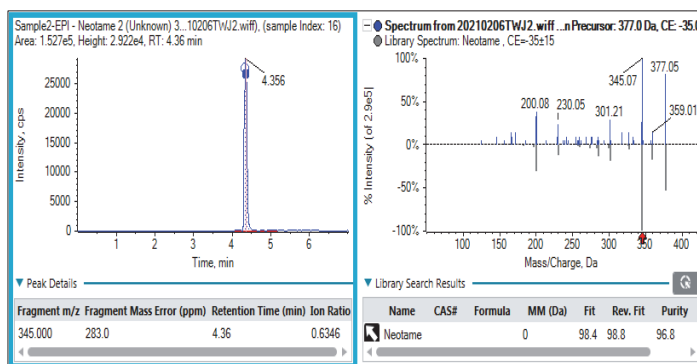


图4. 样本阳性检出的纽甜色谱图及实测二级谱图与数据库匹配情况。

2. 定量实验结果

将空白样品经过前处理提取，得到空白基质，应用空白基质配标。用空白基质配置各物质在1-100 ng/ml 的标准曲线，结果表明，线性关系良好，r值均大于0.995，（见图5），且各浓度点准确度均在80-120%间，可保证不同浓度水平样品的准确定量。

- Calibration for Acesulfame K-1: $y = 7196.1899...x$, $r = 0.99996$, $r^2 = 0.99992$ (weighting: None)
- Calibration for Sodium cyclamate-1: $y = 17437.91...x$ ($r = 0.99994$, $r^2 = 0.99989$) (weighting: None)
- Calibration for Saccharin Sodium-1: $y = 4710.5333...x$ ($r = 0.99945$, $r^2 = 0.99889$) (weighting: None)
- Calibration for sucralose-1: $y = 635.09146x + 78...91$ ($r = 0.99899$, $r^2 = 0.99799$) (weighting: None)
- Calibration for Alitame 1: $y = 5.11433e4x + 8081...27$ ($r = 0.99999$, $r^2 = 0.99998$) (weighting: None)
- Calibration for Neotame 1: $y = 29023.23788x + 1...2$ ($r = 0.99676$, $r^2 = 0.99353$) (weighting: None)
- Calibration for Aspartame 1: $y = 1747.89483x + 2...7$ ($r = 0.99886$, $r^2 = 0.99773$) (weighting: None)

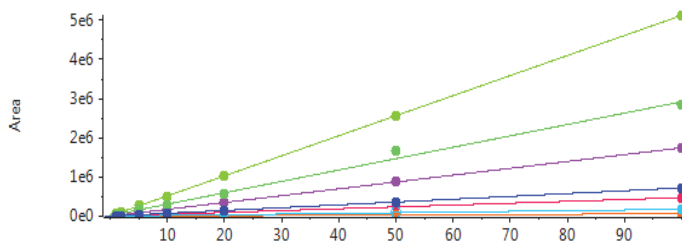
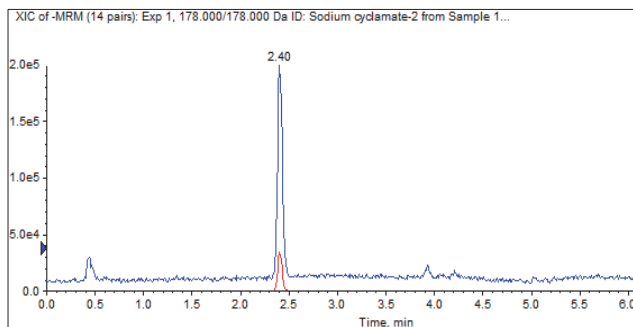


图5. 7种甜味剂在基质样本中的线性关系

实际样品的检测:

某食品药品检验所对某地区内白酒进行抽查检测，在某白酒中检测出甜味剂甜蜜素。其色谱图见图6。经测试含量8.7 ng/ml。同时，运用QTRAP进行定性确证，二级谱库搜库对比评分为96.9分，进一步阳性确证。



Name	Formula	Molecular weight (Da)	Fit	RevFit	Purity	CE
Sodium Cyclamate	C6H12NNaO3S	201.0000	96.964	100.000	96.964	-35.000

图6. 某品牌白酒样本中甜蜜素为阳性

总结

1. 该方法基于SCIEX QTRAP® 4500系统的MRM-IDA-EPI复合扫描模式建立了白酒中7种甜味剂的定量和定性筛查方法。一针进样，同时得到准确高质量的MRM数据和EPI数据，使得定量和定性筛查可以一针完成，省时省力。

2. SCIEX的Turbo V™离子源，最高可达750°C的离子源温度设计和主动排废的功能带来高离子化效率和卓越的抗污染能力。在日常工作中，大批量样本检测过程，仍可以保证稳定的高灵敏度和重现性。
3. QTRAP®质谱的EPI扫描模式，利用碰撞池的多能量碎裂功能以及离子阱质量分析器的富集功能，可得到更全质量范围的二级碎片谱，根据其二级碎片全谱信息，建立甜味剂类非法添加物质标准谱库，可用于日常快速筛查以及定性确证。EPI扫描模式下的二级碎片谱具有与三重四极杆质谱离子扫描模式相比大于两个数量级以上的灵敏度，即便对复杂基质中的低浓度目标化合物仍能得到高质量的二级碎片谱，通过与标准谱库的匹配使定性结果更可靠。
4. 该方法能快速准确的对白酒样本中7种甜味剂进行定性和定量分析，化合物种类全，灵敏度高；同时，此方法和实验思路同样适用于SCIEX其它型号QTRAP®系统，为白酒非法添加监管提供一种有效的方法；

参考文献

1. SN/T 2360.20-2009中华人民共和国出入境检验检疫行业标准。
2. SN/T 3538-2013中华人民共和国出入境检验检疫行业标准。
3. DBS52/007-2014 贵州省地方标准。
4. DB34/T 2498-2015 安徽省地方标准。

SCIEX临床诊断产品线仅用于体外诊断。仅凭处方销售。这些产品并非在所有国家地区都提供销售。获取有关具体可用信息，请联系当地销售代表或查阅<https://sciex.com.cn/diagnostics>。所有其他产品仅用于研究。不用于临床诊断。本文提及的商标和/或注册商标，也包括相关的标识、标志的所有权，归属于AB Sciex Pte. Ltd. 或在美国和/或某些其他国家地区的各权利所有人。

© 2021 DH Tech. Dev. Pte. Ltd. RUO-MTK-02-13073-ZH-A



SCIEX中国

北京分公司
北京市朝阳区酒仙桥中路24号院
1号楼5层
电话: 010-5808-1388
传真: 010-5808-1390
全国咨询电话: 800-820-3488, 400-821-3897

上海公司及中国区应用支持中心
上海市长宁区福泉北路518号
1座502室
电话: 021-2419-7200
传真: 021-2419-7333
官网: sciex.com.cn

广州分公司
广州市天河区珠江西路15号
珠江城1907室
电话: 020-8510-0200
传真: 020-3876-0835
官方微信: SCIEX-China