

液相色谱串联质谱法测定食品中甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇

马书民, 王明泰, 韩大川, 荣会, 胡婷婷, 康明芹, 周晓

(吉林出入境检验检疫局, 长春 130062)

摘要: 天然甜味剂是从天然植物中提取出来的, 在安全性和营养功能方面远好于人工合成的甜味剂。本文采用液相色谱串联质谱法测定了食品中甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的残留量, 并采用选择离子检测进行阳性确证。液体试样用水超声提取, 离心定容后, 固体和半固体样品采用水溶解定容, 再经固相萃取柱净化, 样液经洗脱定容后, 供液相色谱-质谱/质谱仪测定, 外标法定量。本方法的最低检出限、线性范围和方法回收率分别为: 0.10mg/kg、0.10 ~ 1000.0mg/kg 和 89.0 ~ 94.9%。本研究建立了食品中甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的检测方法, 可以快速、灵敏、一次同时测定多个、多类别天然甜味剂及其阳性确证。也为打破国外技术性贸易壁垒、增强我国出口产品在国际市场竞争力提供了有力的保障。

关键词: 食品; 甘露糖醇; 麦芽糖; 木糖醇; 山梨糖醇; 固相萃取; 液相色谱串联质谱法

中图分类号: TS207.3

文献标识码: A

文章编号: 1006-2513(2011)05-0206-05

Determination of mannitol, maltose, xylitol, sorbitol in foods by LC-MS/MS method

MA Shu-min, WANG Ming-tai, HAN Da-chuan, RONG Hui,
HU Ting-ting, KANG Ming-qin, ZHOU Xiao

(Jin Lin Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Changchun 130062)

Abstract: Natural sweeteners extracted from natural plants, in safety and nutrition function far better than synthetic sweeteners. In this paper, liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to determine mannitol, maltose, xylitol, sorbitol of the residues in food, using selected ion monitoring for positive confirmation. Liquid sample is extracted with water by the ultrasonic processor, After centrifugation and volume, Solid samples or hemi-solid samples were dissolved constant volume of water, and then by HLB solid phase extraction cartridges, eluted sample solution was determined later for the determination and confirmation by LC-MS/MS using external standard method. The detection limits, linear ranges, and recoveries of this method, for mannitol, maltose, xylitol, sorbitol, are 0.10mg/kg, 0.10 ~ 1000.0mg/kg and 89.0 ~ 94.9%. This study established a method for determination of mannitol, maltose, xylitol, sorbitol in foods, can quickly and sensitive, a simultaneous determination of many categories and natural sweeteners and its positive categories confirmation. Also is to break the foreign technical barriers to trade, enhance China's export products in the international market competition ability to provide strong guarantee.

Key words: foods; mannitol; maltose; xylitol; sorbitol; accelerated solvent extraction; solid phase extraction; LC-MS/MS

收稿日期: 2011-07-29

基金项目: 国家质检总局科研课题 (2007B143)。

作者简介: 马书民 (1978-), 男, 汉族, 工程师, 硕士, 研究方向为食品检测。

甜味剂是人们日常生活所必须的调味品之一，它不仅改进食品的可口性和使用性质，而且有的还能起到一定的预防及治疗疾病作用，此外，甜味剂还是使用最广泛的添加剂，是食品生产中最常用的配料之一。随着人们日常生活水平的日益提高，对甜味剂的数量和质量的要求也不断提高^[1]。

天然甜味剂是从天然植物中提取出来的，在安全性和营养功能方面远好于人工合成的甜味剂。当今的绿色食品必须以天然的添加剂为保证，天然甜味剂的开发应用显得十分重要。但是安全性是人们对甜味剂最担心的问题，亚洲部分国家对甜味剂的观点与欧美国家存在大方向上的分歧，就像西方国家难以接受中成药一样，他们认为在人为控制条件下生产的合成甜味剂比从天然植物中提取、包含许多功效不明确的混合物甜味剂要安全得多^[2-4]。

本文采用液相色谱串联质谱法测定了食品中甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的残留量，并采用选择离子检测进行阳性确证。样品采用固相萃取柱净化技术净化后，供液相色谱-质谱/质谱仪进行定性，外标法定量。本文通过对甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的特征母离子和子离子对进行分析，作为目标物的定性定量的依据，建立一套快速、灵敏、一次同时测定多个、多类别天然甜味剂的检测方法及其确证方法，也是为打破国外技术性贸易壁垒、增强我国出口产品在国际市场竞争力的一项急待解决的课题研究方向。

1 实验部分

1.1 仪器

API4000 液相色谱-串联质谱仪(美国 AB 公司,配有电喷雾离子源的两级串联四极杆质量选择检测器); Vortex - genie 2 涡旋振荡器(美国 Scientific industries 公司); AS20500A 超声波清洗器(中国天津 AUTO Science 公司); 天平(感量 0.1mg 和 0.01g 天平); 感量 0.1mg 和 0.01g 0.2 μ m 滤膜(美国 Waterman 公司); 聚丙烯离心管(50mL)。

1.2 试剂与材料

乙腈(色谱纯, Merck 公司); 甲酸。除特殊标注外,所用试剂为分析纯,水为去离子水。标准物质(纯度 $\geq 97\%$, Sigma 公司提供): 甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇。准确称取适量的标准品,用乙腈配成浓度为 1000 μ g/mL 的标准储备液,根据需要再用乙腈 + 0.1% 甲酸水溶液(1 + 1, 体积比)稀释成适当浓度的标准工作液。

1.3 液相色谱串联质谱条件

色谱柱: ZORBAX 糖分析柱, 250mm $\times$ 2.1mm (i.d), 粒度 5.0 μ m 或相当者; 流动相: 乙腈 - 0.1% 甲酸水; 流速: 0.8mL/min; 柱温: 30 $^{\circ}$ C; 进样量: 20 μ L; 电离方式: 电喷雾 ESI; 扫描方式: 负离子扫描, 多反应监测 MRM; 离子源温度: 550 $^{\circ}$ C; 电喷雾电压: -4500V; 雾化气压力: 0.45Mpa; 气帘气压力: 0.17Mpa; 辅助气流速: 30L/min; 选择监测离子(m/z): 每种目标物分别选择 1 对定量离子对, 2 对定性离子对, 碰撞气能量、去簇电压列于表 1。

表 1 保留时间、选择监测离子设定参数表

Table 1 the retention time and the parameters setting - up of selecting ions for detecting

序号	药物名称	保留时间 (min)	定量离子对	定性离子对	碰撞气能量 (eV)	去簇电压 (V)	相对强度 (% 基峰)
1	木糖醇	6.32	151.1 > 59.1	151.1 > 59.1 151.1 > 101.0	-28 -18	-44	40
2	甘露糖醇	6.66	181.0 > 89.1	181.0 > 89.1 181.0 > 71.1	-20 -27	-55	35
3	山梨糖醇	6.69	181.1 > 101.2	181.1 > 101.2 181.1 > 70.8	-22 -25	-50	43
4	麦芽糖	7.10	341.2 > 161.1	341.2 > 161.1 341.2 > 179.3	-11 -12	-44	38

1.4 分析步骤

1.4.1 糕点、油炸食品、酱菜

称取试样约 5g (精确至 0.01g) 置于 50mL 离心管中, 加入 30mL 水, 混匀后, 于超声波清洗器中超声 20min 后, 于 4000r/min 离心 5min, 过滤并用水定容至 50mL 容量瓶中, 待净化。

从 50mL 容量瓶中取 5mL 提取液, 使该样液以小于 1.0mL/min 的流速通过 Oasis HLB 固相萃取柱 (3.7)。样液全部流出后, 取 5mL 洗脱液 (3.9) 洗脱定容至 5mL。取 1mL 过 0.2 μ m 滤膜, 供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

1.4.2 酒类、饮料样品

准确移取 5mL 试样于 50mL 容量瓶中, 加水定容, 取 1mL 过 0.2 μ m 滤膜, 供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

1.4.3 高浓度的样品

对于高浓度的样品适当稀释后, 供液相色谱-质谱/质谱仪测定。

2 结果与讨论

2.1 提取溶剂和提取方法的选择

依据相似相容原理, 以试样种类、待测食品添加剂特性、提取溶剂性质三方面综合考虑, 以采用单一溶剂或混合溶剂进行提取是确定选用提取溶剂的原则。本课题研究待测的 4 种天然甜味剂易溶于水。因此, 本方法选用水作为提取溶剂可兼顾 5 种天然甜味剂的检测需要。

当前最为常用的经典提取方法有索氏提取法、漂洗法、振荡法、组织捣碎法、浸渍提取法、均质法、超声波提取法、消化法、柱层析洗脱法等。有文献报道食品样品大多都采用振荡法和超声波提取法, 两种提取方法提取效果相当, 但超声波提取法较振荡法提取时间更短, 可提高方法和检测工作效率。本方法选用超声波提取法进行食品中 4 种天然甜味剂的测定。

2.2 固相萃取 (SPE) 净化

本方法采用固相萃取柱净化, 并对其净化进行了条件试验, 以观察 C₁₈ 固相萃取小柱和 HLB 固相萃取小柱对 4 种天然甜味剂与样品基质的分离净化效果。发现 4 种天然甜味剂在 C₁₈ 固相萃取小柱上的保留行为较弱, 而在 HLB 固相萃取小柱

上的保留行为较好。所以本方法针对 HLB 固相萃取小柱的净化进行了进一步的试验。按照方法规定的条件通过 HLB 固相萃取小柱, 收集每 2mL 流出液于单个试管中, 共收集 20mL, 并分别检测出各段流出液中甜味剂的总含量和回收率, 以确定 HLB 固相萃取小柱净化的收集流出体积。从洗脱曲线可以看出, 4 种天然甜味剂在 HLB 固相萃取小柱上在 4mL 之前流出。因此, 本方法确定收集 5mL 洗脱液则可最大程度地除去基质干扰物的同时保证 4 种天然甜味剂组分的回收率符合检测的要求。洗脱曲线见图 1。

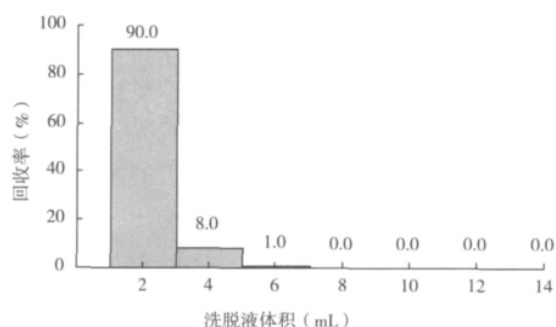


图 1 洗脱曲线

Fig. 1 Elution curve

2.3 色谱柱的选择

本文试验了安捷伦公司、资生堂公司和其他一些公司生产的 XDB-C₁₈ 和 ZORBAX 糖分析柱的分离效果, 结果表明, 安捷伦公司生产的 ZORBAX 糖分析柱不仅分离效果好, 而且响应值高, 可满足本方法的需要。

2.4 质谱检测条件选择试验

通过针泵进样, 进行 Q1 全扫描, 选择合适的子离子后, 进行 MRM 多反应监测扫描, 优化设定了碰撞气 (CAD)、气帘气 (CUR)、辅助气 1 (Gas1)、辅助气 2 (Gas2)、离子源温度 (TEM)、去簇电压 (DP)、入口电压 (EP)、碰撞能量 (CE)、出口电压 (CXP) 等参数。甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的选择离子对的种类、相对离子强度比及选择监测离子 (见表 1); 在选定的液相色谱-串联质谱条件下, 甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的 LC-MS/MS 多反应监测色谱图见图 2。

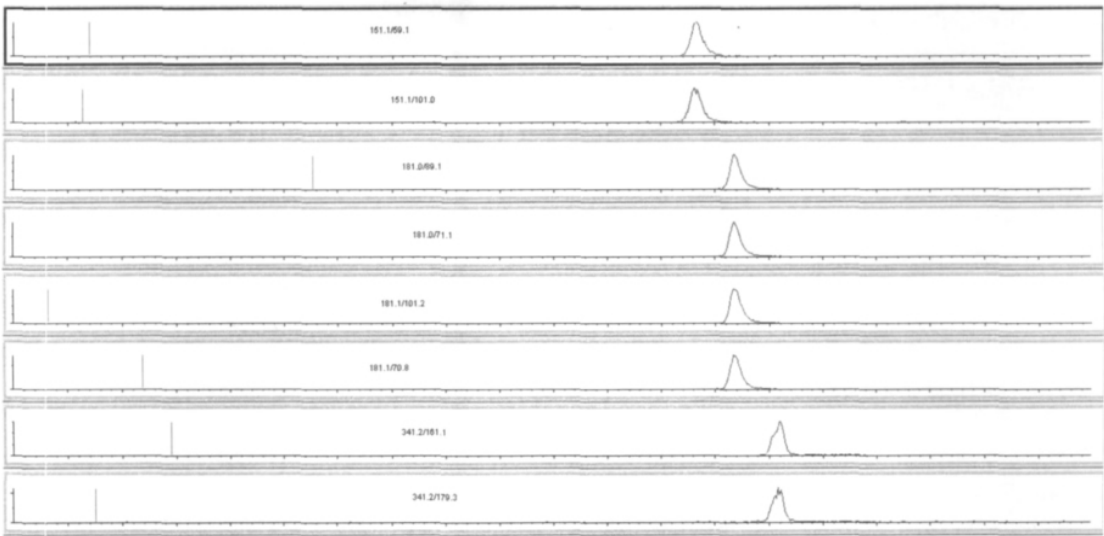


图2 甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇液相色谱-串联质谱多反应监测色谱图
(横坐标为时间,纵坐标为离子强度)

Fig. 2 MRM Chromatogram of mannitol, maltose, xylitol, sorbitol standard solution;

2.5 检出限和线性范围
本文在确定的实验条件下,分别对甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇在一定浓度范围

内进行了测定,每种标准物质在该浓度范围内呈良好线性关系,结果见表2。

表2 方法的线性范围和检出限
Table 2 linearity range and detection limits

物质名称	线性回归方程	相关系数	线性范围 (mg/kg)	检出限 (mg/kg)
木糖醇	Y = 7790X + 1490	0.9995	0.01 ~ 1.00	0.10
甘露糖醇	Y = 6430X + 2400	0.9999	0.01 ~ 1.00	0.10
山梨糖醇	Y = 5520X + 2410	0.9996	0.01 ~ 1.00	0.10
麦芽糖	Y = 19400X + 12400	0.9999	0.01 ~ 1.00	0.10

2.6 实际样品含量的测定
在该实验条件下,分别对5种不同样品进行了测定,试验结果见表3。

表3 实际样品的测定结果
Table 3 The measured results of actual samples

样品名称	4种化合物的测得量 (mg/kg)			
	甘露糖醇	麦芽糖	木糖醇	山梨糖醇
白酒	未检出	未检出	未检出	未检出
苏打水	未检出	未检出	未检出	未检出
饼干	未检出	21.30	未检出	未检出
方便面	12.40	未检出	未检出	2.56
腐乳	未检出	5.30	未检出	未检出

2.7 方法的精密度和回收率

在相同的实验条件下,采用添加法制备不同添加水平的模拟样品3组,每组平行测定6次,分别计算方法的精密度和平均回收率,结果见表4。

表4 方法的精密度和回收率
Table 4 precision and recovery

物质名称	平均回收率/%			相对标准偏差 RSD/%		
	0.10mg/kg	1.0mg/kg	1000.0mg/kg	0.10mg/kg	1.0mg/kg	1000.0mg/kg
木糖醇	89.0	93.0	92.3	4.6	4.4	4.3
甘露糖醇	90.2	93.3	92.8	3.7	3.4	2.8
山梨糖醇	91.4	93.9	92.9	4.2	2.7	2.5
麦芽糖	89.4	94.9	92.6	4.4	2.4	2.5

经试验结果表明,平均加标回收率在89.0%~94.9%,相对标准偏差在4.6%以内,测定结果令人满意。

3 结论

本文采用固相萃取净化技术和液相色谱-串联质谱联用技术相结合建立了食品中甘露糖醇、麦芽糖、木糖醇、山梨糖醇的检测方法,采用外标法定量,采用选择离子检测进行阳性确证,本方法检测结果准确可靠,线性范围宽,适用范围广能够满足高质量检测的要求。

参考文献:

- [1] 郭磊. 甜味剂的现状及发展趋势 [J]. 江西化工, 2009 (3): 12-13.
- [2] 李传慧, 李淑娟, 安娟. HPLC/MS/MS 法同时测定食品中5种天然甜味剂 [J]. 中国医药指南, 2008 (19): 161-163.
- [3] 刘敬兰, 陈连文. 衍生化毛细管气相色谱法分离测定山梨醇和甘露醇 [J]. 分析化学, 2001 (10): 11855-1187.
- [4] Koyama M, Yoshida K, Uchibori N, et al. Analysis of nine-kinds of sweeteners in foods by LC/MS [J]. ShokuhinEiseigaku Zasshi, 2005 (3): 72-78.

《中国食品添加剂》杂志—双核心期刊, 欢迎投稿!