

液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术 对 3 种糖类的检测

LCMSMS-033

摘要： 本文建立使用液相色谱仪与三重四极杆质谱仪联用检测果糖、葡萄糖、蔗糖 3 种糖类的方法。通过高效液相色谱分离，三重四极杆质谱仪进行定量分析，3 种化合物在 0.1 ~ 10 mg/L 浓度范围内线性良好，标准曲线的相关系数均在 0.998 以上；对 1 mg/L 混合标准溶液进行重复性实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.51% 和 1.61% 以下；最低检测限在 0.7 ~ 11.6 $\mu\text{g/L}$ 。

关键词： 糖类 液相色谱仪 三重四极杆质谱仪

目前，检测食品单糖和双糖的方法有化学法、高效液相色谱法和质谱法。液相色谱法与现在使用的测定糖含量的菲林滴定法相比具有检测速度快、适用范围广的特点，但是也存在方法检出限高，排除干扰能力差等缺点。目前，我国检测食品单糖和双糖的最新标准检测方法 GB/T2222.1-2008《食品中葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖的测定高效液相色谱法》中规定：葡萄糖、果糖、蔗糖的检出限均为 0.4%，而且，不能消除无糖食品中广泛添加的糖醇等甜味剂对单糖和双糖测定时产生干扰。因此，寻求快速、准确、灵敏度高、选择性好的检测方法，才能为我国单糖、双糖的日常监管工作提供技术支持，从而保障食品的食用安全。本方法采用高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术同时测定葡萄糖、果糖和蔗糖，具有操作简单、灵敏度高、选择性好等优点。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用 HPLC-LCMS-8030 系统，包括 LC-20AD \times 2(输液泵)，SIL-20AC(自动进样器)，CTO-20AC(柱温箱)，CBM-20A(系统控制器)，DGU-20A5(在线脱气机)，LCMS-8030(三重四极杆液质) 和 LabSolutions Ver 5.41(工作站)。

1.2 分析条件

液相色谱条件

流动相：A 相：水；B 相：乙腈

流速：1 mL/min 分流 (分流比 1: 2)

色谱柱：Shodex Asahipak NH2P-50 4E

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：等度洗脱

进样量：10 μL

质谱条件

分析仪器：LCMS-8030

离子源：ESI(-)

离子源接口电压：-3.5 kV

雾化气及干燥气：氮气 3.0 L/min、15 L/min

碰撞气：氩气

脱溶剂管温度：250 $^{\circ}\text{C}$

加热模块温度：400 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：1.1 kV

扫描模式：多反应监测 (MRM)

驻留时间及延迟时间：100 ms、3 ms

表2 3种化合物的MRM参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
果糖	178.90	89.10*	18	10	17
		59.15	18	20	14
葡萄糖	178.90	89.10*	19	10	18
		59.15	19	20	22
蔗糖	340.90	89.10*	16	15	18
		179.05	16	20	18

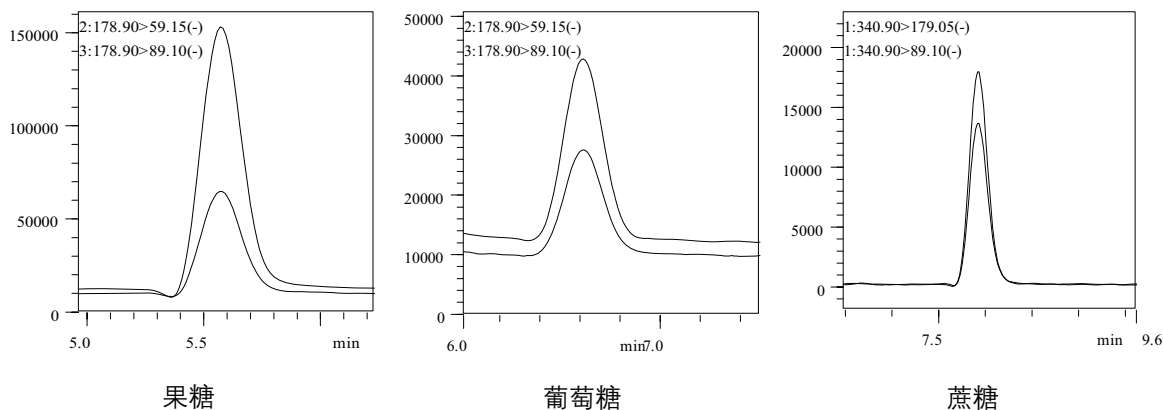
*表示定量离子

1.3 标准溶液制备

称取 100 mg 的果糖、葡萄糖、蔗糖标准品，用水溶于 100 mL 的容量瓶中，配成 1 mg/mL 的母液，再分别稀释成 0.1 mg/L，1 mg/L，10 mg/L 的标准溶液。

结果讨论

2.1 标准样品的 MRM 色谱图



2.2 线性关系

将浓度为 0.1, 1, 10 mg/L 的混合标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线如下图所示，线性方程及相关系数见表 3。

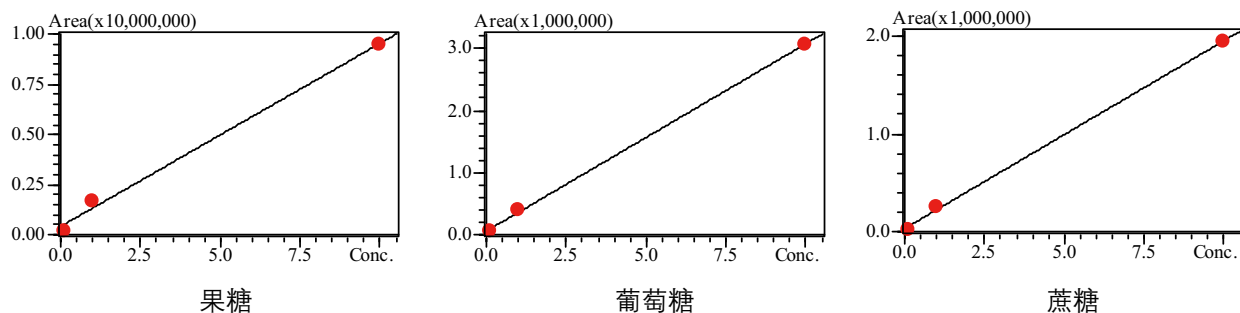


表3 3种化合物的校准曲线参数

编号	名称	校准曲线	相关系数 r
1	果糖	$Y = (915154)X + (41348)$	0.9981
2	葡萄糖	$Y = (302101)X + (5698.2)$	0.9996
3	蔗糖	$Y = (192422)X + (3207.2)$	0.9997

2.3 重复性实验

对 1 mg/L 混合标准工作液连续测定 6 次，考察仪器的重复性，保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示：1 mg/L 标准品的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.013%~0.194% 和 1.09%~3.57% 之间，该方法重复性良好。

表4 1mg/L保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

编号	名称	模式	R.T(min)	RSD%	RSD%
				R.T	Area
1	果糖	-	5.543	0.23	1.46
2	葡萄糖	-	6.601	0.18	4.22
3	蔗糖	-	7.931	0.51	1.61

2.4 灵敏度

为考察方法的灵敏度，配制 0.1 mg/L 的样品。通过 LabSolutions 软件计算信噪比、仪器检测限 (3 倍噪声计算)，结果见表 5。

表5 0.1mg/L信噪比、检测限

编号	名称	S/N	LOD ($\mu\text{g/L}$)
1	果糖	22.65	13.2
2	葡萄糖	183.00	1.6
3	蔗糖	435.89	0.7

结论

本文建立了高效液相色谱 – 三重四极杆质谱联用技术同时测定葡萄糖、果糖和蔗糖 3 种糖类的方法。该方法选择性和重复性好，灵敏度高，对 1 mg/L 混合标准溶液进行重复性实验，连续 6 次进样保留时间和峰面积相对标准偏差分别在 0.51% 和 1.61% 以下；最低检测限在 0.7 ~ 11.6 $\mu\text{g/L}$ ，适合糖类的检测使用。