



使用液质联用方法分析低热量甜味剂

应用简报

食品安全

作者

Ismael Flores 和 Carlos Sepulveda
Agrolab México
Km 7 Carretera Pachuca-Actopan
Pachuca
México

Ricardo Sánchez
安捷伦科技公司
Blvd. A. López Mateos 2009-202
Distrito Federal
México

摘要

本应用简报开发了一种液质联用方法，可同时分析软饮料中四种低热量甜味剂：安赛蜜、阿斯巴甜、甜菊糖和三氯蔗糖。该分析方法具有以下三项基本特征：分析速度快、易于实施、成本低；可用于常规分析；通量高且平均样品分析成本低。



Agilent Technologies

前言

近十年来，新型低热量甜味剂陆续进入食品市场。究其原因，糖尿病和肥胖症等健康因素是主要考虑因素。这类新型低热量甜味剂是由合成或天然化合物分子组成。食品及饮料产品中可能包含一种或多种低热量甜味剂。复合型甜味剂中可能包含合成和天然低热量分子、天然糖类，如葡萄糖、果糖、蔗糖、麦芽糖以及聚合度高于 8 的大分子寡糖，如菊糖。对于食品及饮料产品中添加的种类繁多的甜味剂，人们需要对这类产品中存在的所有甜味剂进行表征和定量。

目前，已经开发出多种不同的色谱和检测技术，可对糖和天然及合成的低热量甜味剂进行分析。结果表明，液质联用方法具有最高的灵敏度以及最优的选择性。

确定使用正离子加合物电喷雾离子化模式、在中性 pH 值水溶液流动相条件下进行分析，因为寡糖链可能会在酸性水溶液条件下发生水解，导致常规和稳定分析无法对其进行准确定量。这类化合物包括天然糖类、蔗糖、麦芽糖、乳糖、蜜二糖以及蜜三糖。虽然在本次分析中并未包含上述化合物，但是可以在不进一步优化离子化条件的情况下，将其加入到后续分析中，来实现对不同食品基质中低热量甜味剂和天然糖类的完整组分分析。

该分析使用锂离子作为正电荷改性剂。选择了锂离子加合物而非钠离子加合物的原因在于，没有证据表明目标化合物中羟基数目的增加会生成 $[M + 2Li]$ 加合物，反之更有可能生成 $[M + 2Na]$ 加合物。这样一来方法的优化和标准化会变得更加复杂。

本应用简报中开发的液质联用方法具有以下三项特征：无需预先运行衍生化、无需柱后添加剂（如 $CHCl_3$ ）、无需进行流动相制备（如添加三乙胺和甲酸等物质）。以上特征使得该常规分析更加可靠，并且具有高通量和低成本的优势。

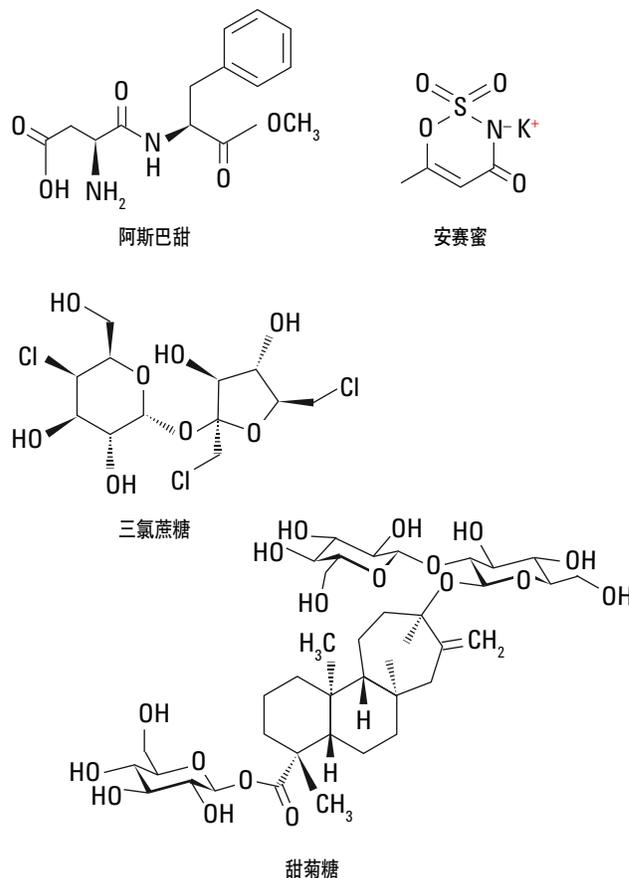


图 1. 四种低热量甜味剂的结构

实验部分

试剂、溶剂和化学品

安赛蜜、三氯蔗糖、阿斯巴甜、甜菊糖标准物质（图 1）和氯化锂均购于西格玛奥德里奇公司。乙腈购于 Burdick & Jackson。水通过实验室密理博 Milli-Q Advantage A10 纯化系统获得。超声系统型号为 Elma E30H Elmasonic。

样品制备

使用 0.5 mM LiCl 水溶液将软饮料样品（如调味水和可乐）稀释 1000 倍，然后进样至液质联用系统。对于可乐样品，在进行稀释前，先超声 5 min 以除去气泡。

仪器条件

使用 Agilent 1290 Infinity UHPLC 与安捷伦三重四极杆液质联用系统对样品进行分析。

HPLC 条件

色谱柱	Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18, 2.1 × 50 mm, 1.8 μm (部件号 959757-902)
流速	0.6 mL
柱温	30 °C
进样体积	1 μL
流动相	A: 水 B: 乙腈
梯度程序	时间 (min) % B 0.0 5.0 0.2 5.0 1.2 100 2.2 100 2.3 5.0

质谱条件

干燥气温度	300 °C
干燥气流量	8 L/min
雾化器压力	55 psi
鞘气温度	250 °C
鞘气流速	11 L/min
毛细管电压	3500 V, 正极性和负极性模式
喷嘴电压	500 V, 正极性和负极性模式
分辨率	三氯蔗糖为 widest/unit, 其它均为 unit/unit

结果与讨论

表 1 中列出了每种化合物优化后得到的碎裂电压和碰撞能量。在正极性模式下对三氯蔗糖、阿斯巴甜和甜菊糖相应形成的锂离子加合物 ($M+7$)⁺ 进行检测。安赛蜜在负极性模式下以钾离子丢失形成的 (M)⁻ 形式被检测。

Q1 分辨率始终设为 unit 模式 (0.7 FWHM), 三氯蔗糖除外 (设为 widest 模式 (2.5 FWHM))。在该设置条件下进行校正曲线第一级浓度 50 ppb 进样分析时, 四种化合物的信噪比 (S/N) 介于 1200 到 37000 之间 (图 2)。这是定量稳定性的有力佐证, 并且峰高均远高于基线。

表 1. 每种化合物的多反应监测信息

化合物	极性	保留时间	MRM	CE	碎裂电压
安赛蜜	负	0.86	162/82	10	135
甜菊糖	正	1.05	811.4/649.4	55	195
阿斯巴甜	正	0.92	301.1/185.9	20	120
三氯蔗糖	正	0.93	403.1/205.1	20	135

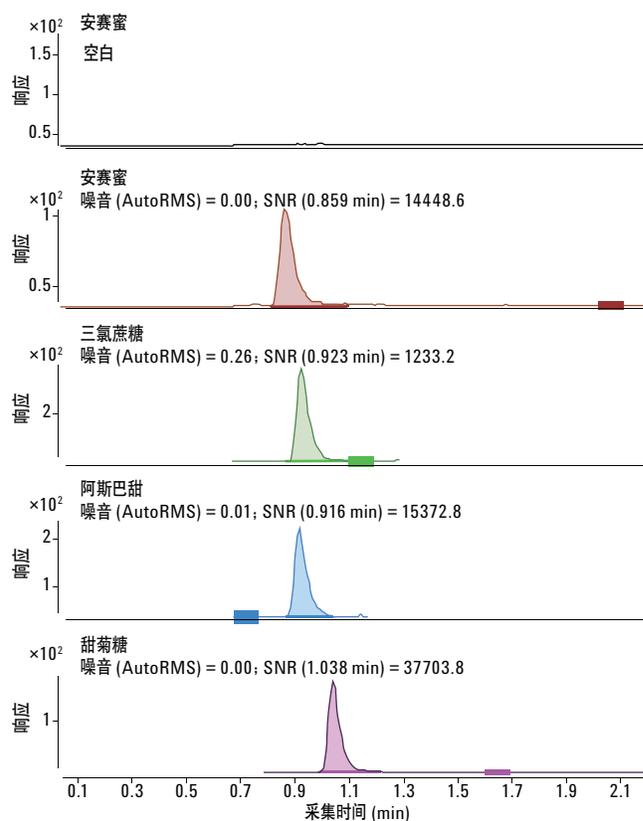


图 2. 空白水样和四种低热量甜味剂 (安赛蜜、三氯蔗糖、阿斯巴甜和甜菊糖) 50 ppb 标准混合物的色谱图示例

安赛蜜的校正曲线浓度范围在 50 – 600 ppb，其余化合物的校正曲线浓度范围均在 50 – 800 ppb (图 3)。考虑到这类化合物在饮料中的正常浓度，通常需将样品稀释 1000 倍。另外，由于进样量仅为 1 μ L，因而可推断基质效应不明显。

对于某些化合物，校正曲线为二次拟合，而非预期的线性拟合。上述情况在之前的出版物中已被报道 [1]。这类情况可能是由化合物自身的性质以及诸如氯化锂盐、色谱柱和梯度等多种分析条件引起的。

将可乐和调味水饮料样品稀释 1000 倍后进行检测 (图 4)。对可乐样品而言，分析结果与饮料标签上所列的甜味剂种类和浓度均一致。而对于调味水样品，甜味剂种类与标签所示的一致，定量结果因为标签没有列出，因此无从比较。

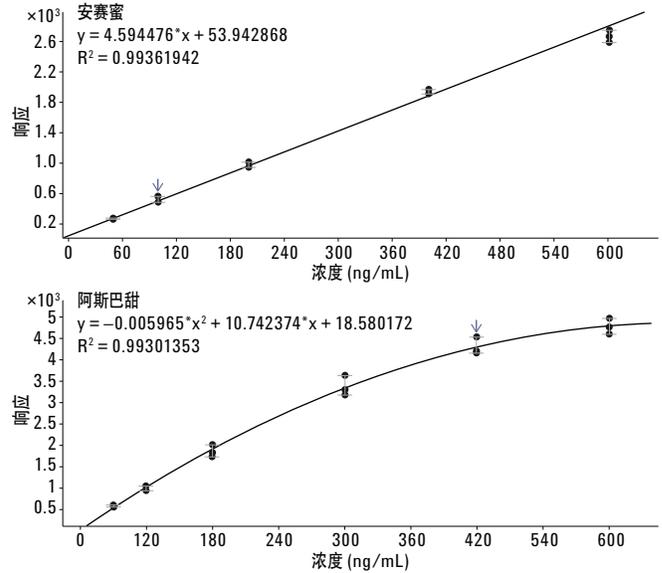


图 3 两种常用低热量甜味剂安赛蜜 (上图) 和阿斯巴甜 (下图) 的校正曲线示例，每个浓度重复三次进样

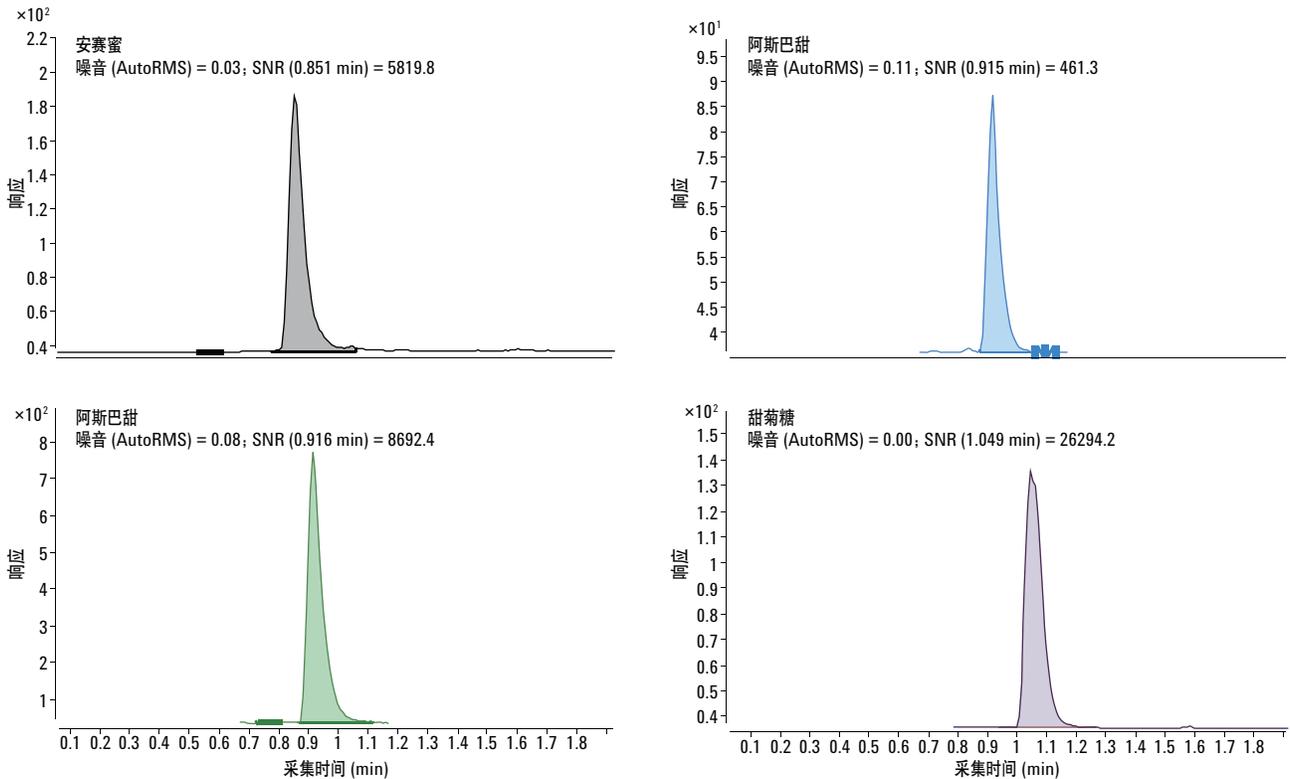


图 4. 将可乐 (左图) 和调味水 (右图) 样品稀释 1000 倍后，进样至液质联用系统所获得的色谱图示例

结论

本应用简报描述了使用液质联用方法对远低于饮料企业常规浓度的四种低热量甜味剂进行分析，该方法仅需稀释和上样两步，是一种快速、简便、低成本的检测方法。

参考文献

1. A. Zygler, *et al.*, *Anal. Bioanal. Chem.* 400:2159-2172, 2011

更多信息

这些数据仅代表典型结果。有关我们的产品和服务的详细信息，请访问我们的网站：www.agilent.com/chem/cn。

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦对本资料中可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本文中的信息、说明和技术指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2013

中国印刷

2013年7月31日

5991-2860CHCN



Agilent Technologies