

# 采用 Agilent 6546 LC/Q-TOF 和 MassHunter Classifier 检测食品真伪

## 作者

Karen E. Yannell  
安捷伦科技有限公司  
Santa Clara, CA, USA

Daniel Cuthbertson  
安捷伦科技有限公司  
Seattle, WA, USA

## 摘要

食品生产中的虚假标签和掺假现象日益严重，因此，食品行业迫切需要简便易用的质量控制分析工具。本应用简报介绍了一种新方法，可实现对食品真伪的常规检测。该工作流程包括 Agilent 6546 LC/Q-TOF，并与 MassHunter Profinder 10.0、Mass Profiler Professional 15.0 和 Classifier 1.0 软件配合使用。该方法能够快速获得可靠结果，实现对食品质量的深入了解。

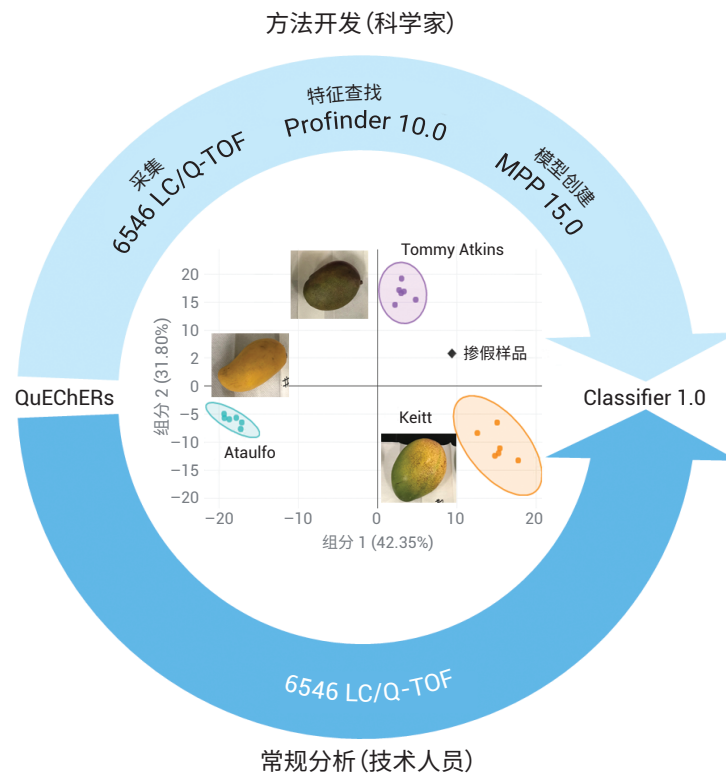
## 前言

由于食品掺假和虚假标签现象在复杂的食品供应链中愈发普遍，食品制造业越来越关注食品真伪检测。随着优质原料和产品的成本不断上升，食品行业还将面临更多的掺假或仿制品现象。目前，由于缺少用户友好型工具，用于测试上述行为的方法和程序的开发和部署受到限制。改进这些工具和工作流程可改善对供应链中的原料或消费者市场中的最终产品的质量控程序。这一改进使食品制造商能够始终确保所使用原料的真实性。

质谱 (MS) 能够测量和分析食品分子组分。这些分析可用于对样品进行分类，以确定其真实性或是否有掺假行为，并且此方法具有高精密度和准确度。Agilent 6546 LC/Q-TOF 质谱仪显著提高了低质量数分辨率，同时具有宽动态范围。这些特征可确保在复杂样品中发现并测量更多特征化合物。用于开发和执行食品真伪检测的分析软件和工作流程需要训练有素的专业人员，这使得食品实验室难以参与其中。

本应用简报介绍了用于开发和实施完整真伪鉴定工作流程（从样品前处理到数据分析，图 1）的软件。使用 QuEChERS 试剂盒进行快速样品前处理，同时联用 Agilent 1290 Infinity II 液相色谱系统和 6546 LC/Q-TOF 完成分析物的分离和检测。可从科学家的数据处理中建立真实模型，

这一过程可通过 MassHunter Profinder 10.0 和 Mass Profiler Professional (MPP) 15.0 实现自动化。Agilent MassHunter Classifier 1.0 对样品进行自动化真伪分析，以简化结果。通过上述经改进的工具，可以轻松实现常规食品真伪鉴定分析，并有利于这些分析的广泛实施。



**图 1.** 方法开发人员和常规分析人员的完整真伪鉴定工作流程。该流程以 QuEChERS 样品提取和纯化开始。在方法开发流程（上部分）中，使用 6546 LC/Q-TOF 采集样品数据。对上述数据进行分析，使用经过进一步改进的 Profinder 10.0 进行特征提取，使用 MPP 15.0 构建模型。开发人员可使用 Classifier 1.0 中的分类模型检测质量控制样品和未知样品。在常规使用中，Classifier 软件非常简便易用，能够让分析人员高效地运行和查看样品（下部分）。结果查看中包括一张图（中间），以便轻松查看样品为纯样品（彩色圆圈）还是掺假样品（此处显示为黑色菱形）

## 实验部分

### 样品组、前处理和数据采集

需要经过认证的真实样品建立模型。本研究分析了三种不同的芒果品种：Ataulfo、Keitt 和 Tommy Atkins。虽然这些芒果并非经认证的真实样品，但它们具有可用于实现正确鉴定的独特表型，这对于本概念验证研究而言是可接受的。从加利福尼亚地区的当地市场每个品种购买了六个芒果（生物学平行样品）。将芒果去皮，将果肉均质化。然后根据 QuEChERS EN 方案处理匀浆<sup>1</sup>。在 50 mL 锥形管中，将 10 g 芒果匀浆与 10 mL 乙腈混合 2 分钟。加入 EN 盐袋并振摇 2 分钟。然后，以 3500 rpm 的转速将样品离心 6 分钟。回收上清液，用玻璃 HPLC 样品瓶储存在 7 °C 下直至分析。

通过混合六个生物学平行样品的匀浆来制备每个品种的阳性质量控制 (QC) 样品（纯样品）（图 2）。通过按已知比例（例如 20:80 和 50:50）混合阳性 QC 样品来制备掺假样品（阴性对照）。用 QuEChERS EN 处理 QC 样品，并以与单独的样品相同的方式储存。

将 1290 Infinity II 液相色谱与 6546 LC/Q-TOF 联用分析样品。使用进样器程序，吸取 2  $\mu$ L 样品后进行针头清洗。接着吸取 1  $\mu$ L 内标 (IS)，100 ppb 氘代农药

混标，清洗针头，然后进样所有样品和 IS。该内标可用于在整个实验中监测数据质量。在正离子模式下 ( $m/z$  1700 范围) 对 Q-TOF 进行调谐和校准。

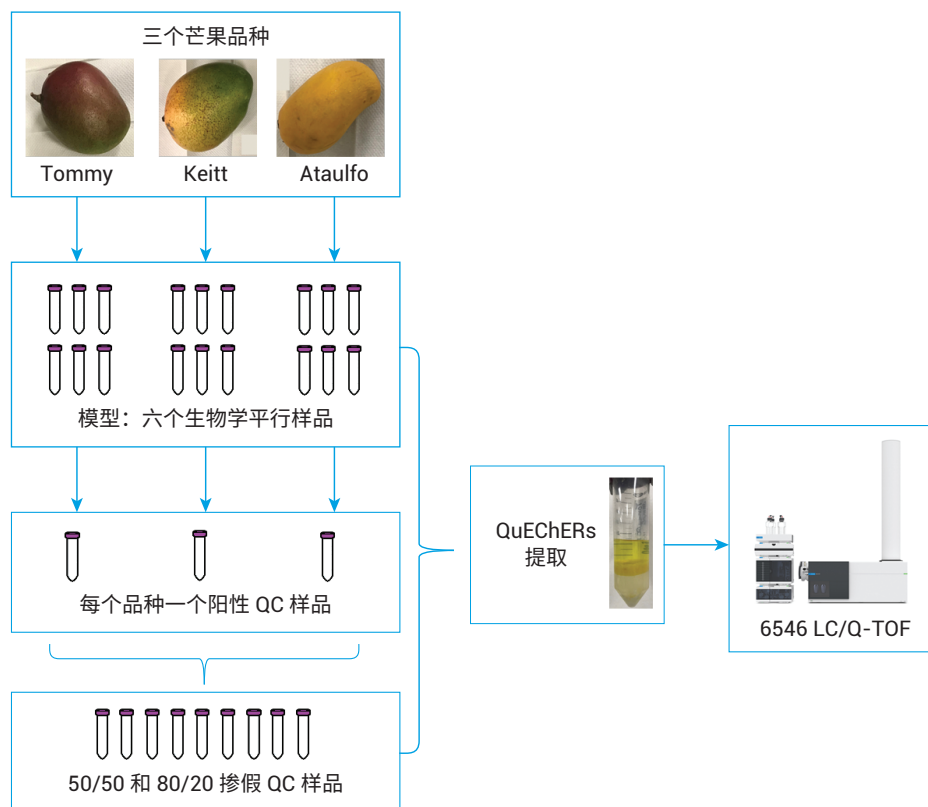


图 2. 用于构建芒果真实模型的样品和实验室工作流程。使用三个芒果品种的六个平行样品来制备阳性 QC 样品。通过混合纯 QC 样品制备掺假混合物。每个样品均使用 QuEChERS 试剂盒处理，然后使用 6546 LC/Q-TOF 采集数据

连续五天的采集数据表明，两个内部参比质量数均获得了出色的质量数准确度，这两个内部参比质量数分别为嘌呤和 HP-921 ( $^1\text{H}, ^1\text{H}, ^3\text{H}$ -四氟丙氧基)磷嗪)。MS 数据采集速率设置为在整个色谱峰范围内保持最少 8 至 12 个数据点。表 1 示出了其他方法详情。

将模型样品（六个生物学平行样 × 三个芒果品种）随机分配到任务列表中，然后进样随机掺假样品。上述步骤旨在模拟典型的实验室工作流程，即先采集模型数据再采集未知样品。在该任务列表中，每 10 次样品进样后，以随机顺序进样三个阳性 QC 样品。为了评估方法和模型寿命，在该数据采集 14 天后使用相同的方法和模型分析新配制的阳性 QC 样品和掺假样品。

## 结果与讨论

### 数据质量

氘代内标的质量数准确度和峰面积如图 3 所示。上述结果可用于每次进样以及整个数据集的质量控制校验。这些数据显示，在整个实验过程中，6546 LC/Q-TOF 的质量数误差较低 ( $< 2 \text{ ppm}$ )，且信号稳定 ( $\text{RSD} < 10\%$ )。在整个任务列表中，保留时间仅漂移了 0.1 分钟。出色的数据重现性可让您对每次分析的仪器性能充满信心。

表 1. 6546 LC/Q-TOF 分析的采集详情

采集参数	
色谱柱	Agilent ZORBAX SB-Aq, 3.0 × 150 mm, 3.5 μm
流动相 A	水 + 0.1% 甲酸, 5 mmol/L 甲酸铵, 0.5 mmol/L 氯化铵
流动相 B	乙腈 + 0.1% 甲酸, 5 mmol/L 甲酸铵, 0.5 mmol/L 氯化铵
鞘气温度	400 °C
鞘气气流	12 psi
气体温度	325 °C
气流	10 psi
雾化器	20 psi
毛细管电压	4000 V
MS 调谐	$m/z$ 1700
MS 模式	正离子
采集	仅 MS
MS 范围	$m/z$ 50–1000

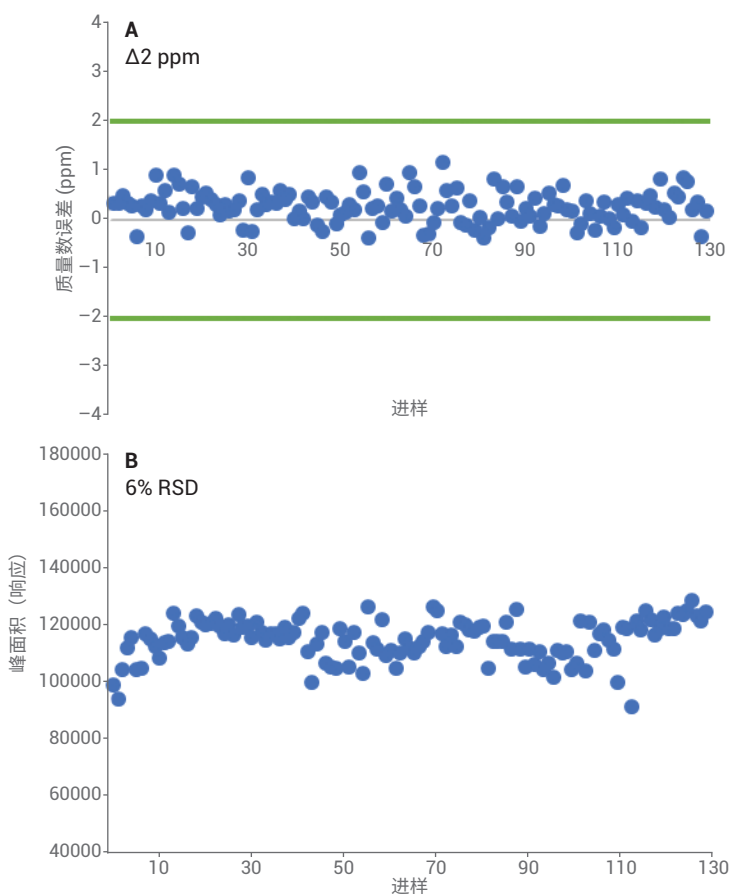


图 3. 整个分析过程中乐果-d<sub>6</sub> ( $m/z$  236.0446, RT 10.4 分钟) 的结果。100 多次进样的质量数误差小于 2 ppm，峰面积稳定，相对标准偏差 (RSD) 为 6%。本图为六种内标的代表性结果

## 方法开发工作流程：Profinder 10.0 和 MPP 15.0

对于食品真伪检测，分析的目标是找到可靠的鉴定物，而不是各种差别。该策略应实现在无需更新模型的情况下，延长分析模型的使用时间。该 Profinder 和 MPP 工作流程与其他类型的分析（例如代谢组学）之间存在许多关键差异。

将 18 个模型样品加载到 Profinder 10.0 中，按其芒果品种进行分组。由于此数据集集中的保留时间漂移很小，因此本分析不需要对保留时间进行校正。选择批处理递归特征提取（小分子/多肽）向导以非靶向方式检测特征。本分析对默认方法进行了一些更改。选择质子化离子形态：常见有机分子（不含卤素）同位素模型，且最多带一个电荷。每当向导要求选择时，使用 3000 的高度过滤器。最后，分子特征提取器 (MFE) 算法和特征质量的目标得分增加到 80。

以唯一名称保存该方法，然后可在 Classifier 1.0 软件中使用。

非靶向分析发现超过 4000 个特征（实体），这些结果被导出为 Profinder Archive (.PFA) 文件，以便导入 MPP。数据导入 MPP 后，可按频率、保留时间、ANOVA 统计分析统计数据和倍数变化进行过滤（图 4）。分析完成后，创建偏最小二乘判别分析 (PLS-DA) 模型。检查 PLS-DA 图和分组的拟合度 ( $R^2$ )、预测能力 ( $Q^2$ )，然后导出为 MPP 模型。

## 常规分析工作流程：Classifier 1.0

开发过程可确保常规实验室能够有效地从样品中提取特征 (Profinder)，并处理特征得到模型 (MPP)。对于新采集样品的常规分类，Profinder 和 MPP 不适用于快速简便的分析，因为它们需要高水平的专业知识。Classifier 1.0 是一款创新型软件，能够让分析人员将已保存的 Profinder 和 MPP 方法应用于新样品，从而快速获得结果。该软件不需要分析人员使用 Profinder 和 MPP。

Classifier 用于输入方法和样品信息的界面非常简洁（图 5）。提交样品后，可以在 Classifier 分析过程中随时将其他样品添加到项目中。每个样品的分析时间为几分钟，可在对序列中的下一个样品进行处理时查看已处理样品的数据。项目（包含一个或多个样品结果）能够进行保存、重新打开或导出为报告。

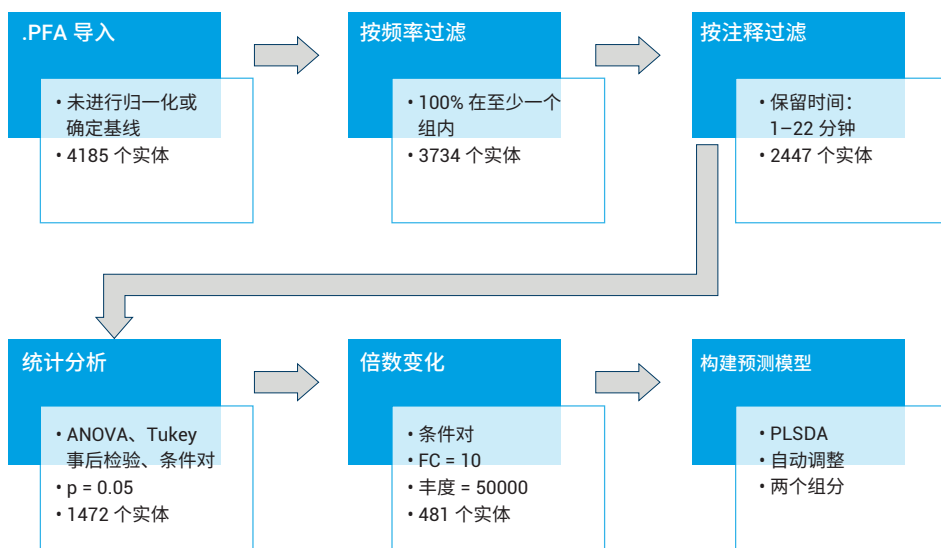


图 4. MPP 分析工作流程和关键参数。在每个过滤步骤中，记录了剩余的实体数量

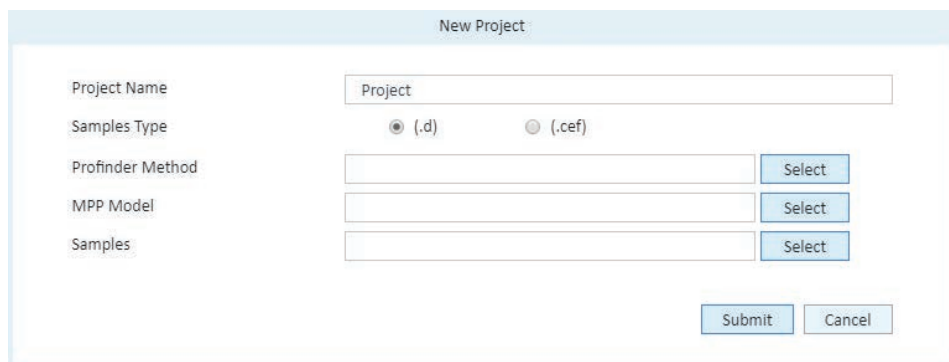


图 5. Classifier 1.0 新项目用户界面非常简单易用。选择在方法开发阶段创建的 Profinder 方法和 MPP 模型。可添加一个或多个样品

在本研究中，将 MPP 模型、Profinder 方法和所有掺假样品添加到 Classifier 1.0 项目中。结果填充于“样品表”（图 6A）中，其中每行包含样品名称、预测类别以及分类相关的置信度值。尚未分析的待处理样品仍在“样品表”中排队，直到获得结果（图 6B）。如需查看数据，可以从“样品表”中选择样品。此选择将使界面更新，所查看样品的位置将以黑色菱形显示在模型的主成分分析 (PCA) 图中。

该图包含霍特林 (Hotelling) 椭圆或 95% 置信度椭圆内的模型样品（图 6C）。对于每个分析样品，也可在“化合物表”中查看属于该模型的特征（图 6D）。

在此分析中，芒果 QC 数据未包含在模型构建中，而是在 Classifier 1.0 中作为真实样品的 QC 校验进行分析。每个 QC 样品都得到正确分类，PCA 图与 QC 的正确品种相匹配。创建模型的六个生物学平行样

品紧密地包含在霍特林椭圆中（图 7）。所查看样品在 PCA 图中显示为黑色菱形。样品相对于霍特林椭圆的位置代表其纯度，“样品表”（图 6A）中列出的置信度值同样表示其纯度。当样品为纯 QC 样品时，黑色菱形将位于其所属芒果分组内或非常接近该分组（图 7A 和 7B）。当样品掺假时，黑色菱形则远离分组（图 7C 和 7D）。

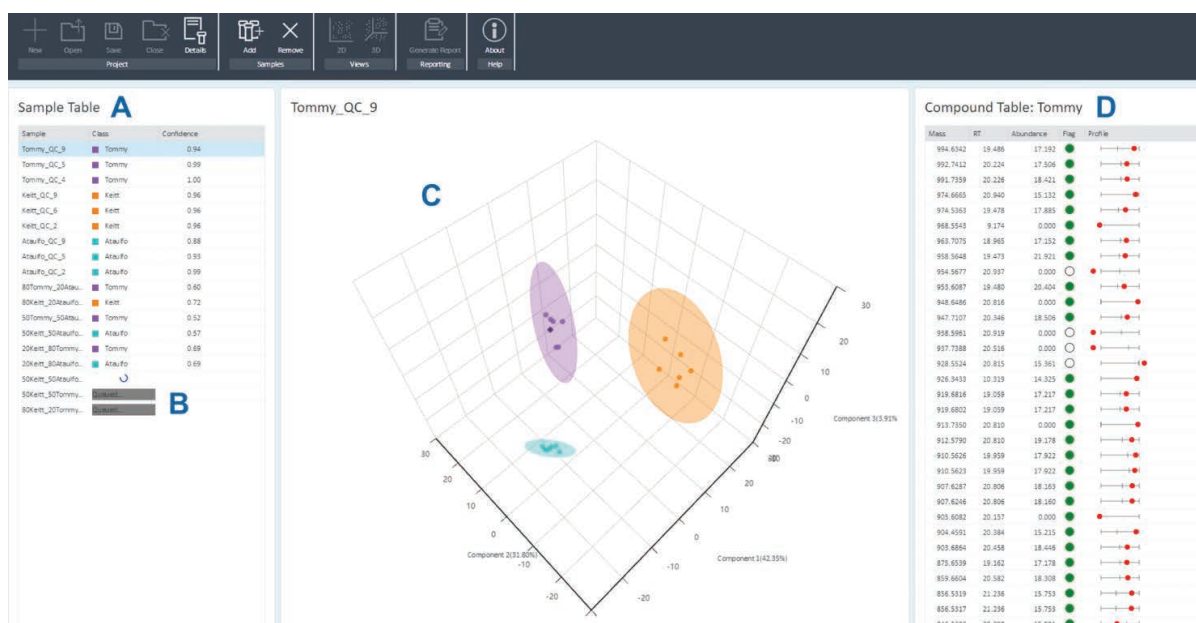


图 6. Classifier 1.0 结果显示在“样品表”(A)中，未分析样品仍在排队(B)。通过 PCA 图(C)或“化合物表”(D)中的特征详细信息可查看单个样品详细信息

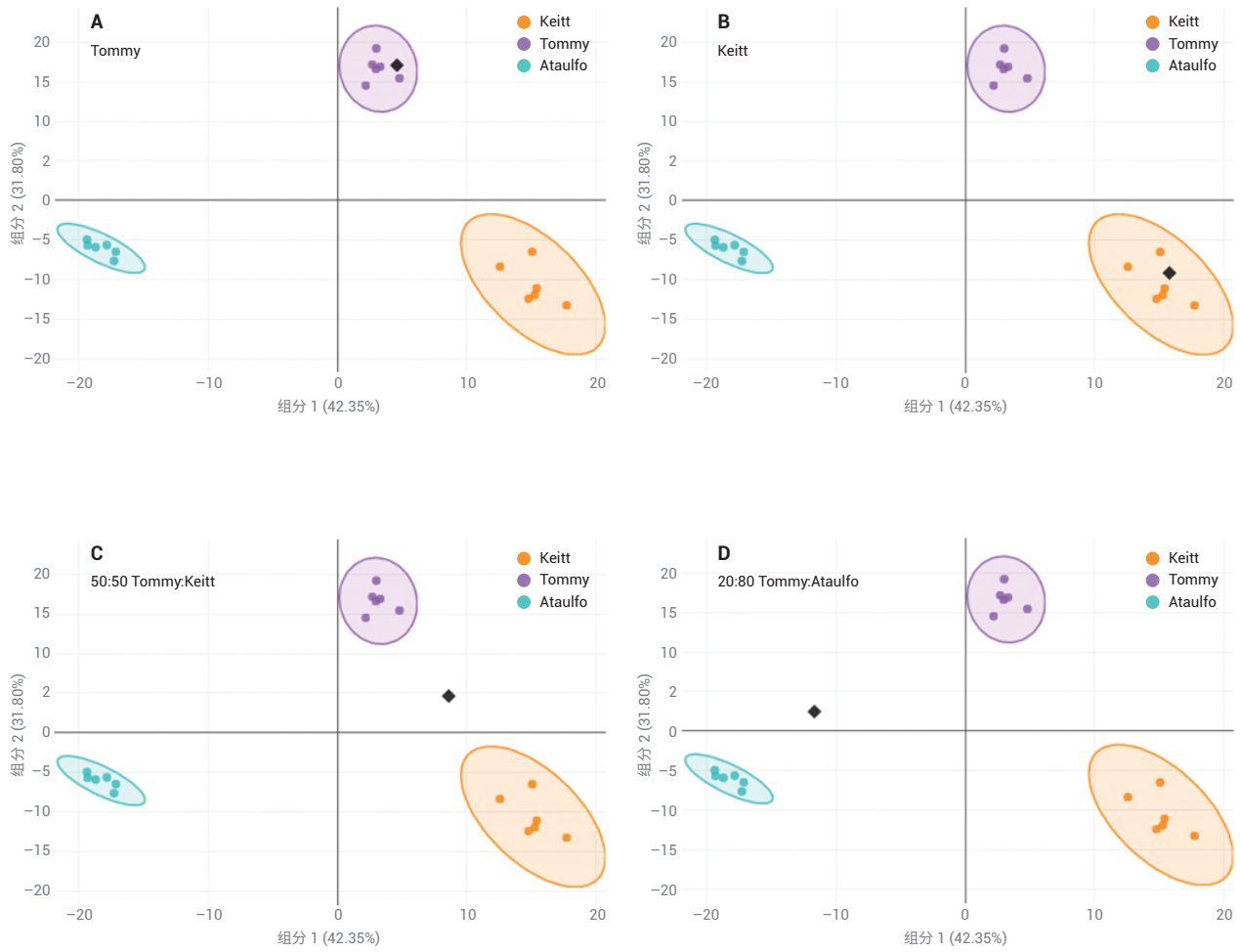


图 7. Classifier 1.0 PCA 图结果。Keitt 类为橙色，Tommy Atkins 类为紫色，Ataulfo 类为青绿色。黑色菱形代表所选样品。纯样品 (A) Tommy 和 (B) Keitt 完全落在其分组圈内。掺假样品 (C) 50% Tommy: 50% Keitt 和 (D) 20% Tommy: 80% Ataulfo 与模型分组圈相隔较远

图 8 汇总了本研究的置信度结果。纯 QC 样品具有高置信度值，而掺假样品和阴性对照的置信度值较低。在这种情况下，仅根据置信度值，0.8 的截止值就可以 100% 准确地鉴定样品为纯样品还是掺假样品。此外，该方法对于扩展的系列分析也获得了良好结果，在第 1 天和第 14 天采集的样品数据得到了相同结果。该方法精密度也非常高，置信度值 RSD < 5% (n = 10)。

**针对方法开发科学家的新工作流程改进**  
MPP 15.0 中的方法自动化工具能够让方法开发科学家有效地创建方法，并将其应用于常规分析。该工具（如图 9 所示）具有简单的拖放选择功能，可从分析选项列表中创建方法。创建方法后，可以将其保存并用于任何新的 .PFA，无需在“工

作流程”菜单中单击所有步骤。这一软件改进能更轻松地将新的真实样品添加到模型中，因为已保存的分析方法能轻松进行重新应用。可使用其他真实样品重新处理统计分析方法（例如图 4 中的方法），仅通过鼠标点击即可生成更新的模型，从而节省时间，减小人为误差。

结果汇总

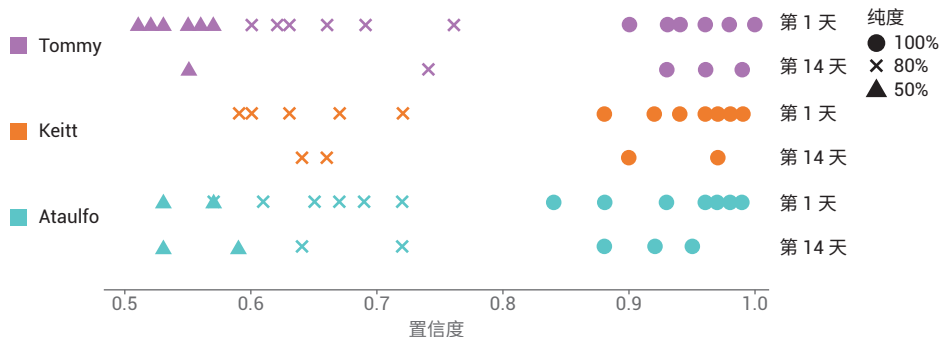


图 8. 从 Classifier 1.0 获得的芒果结果汇总图。颜色代表每个样品的芒果品种类别。对第 1 天和第 14 天的实验数据进行绘图

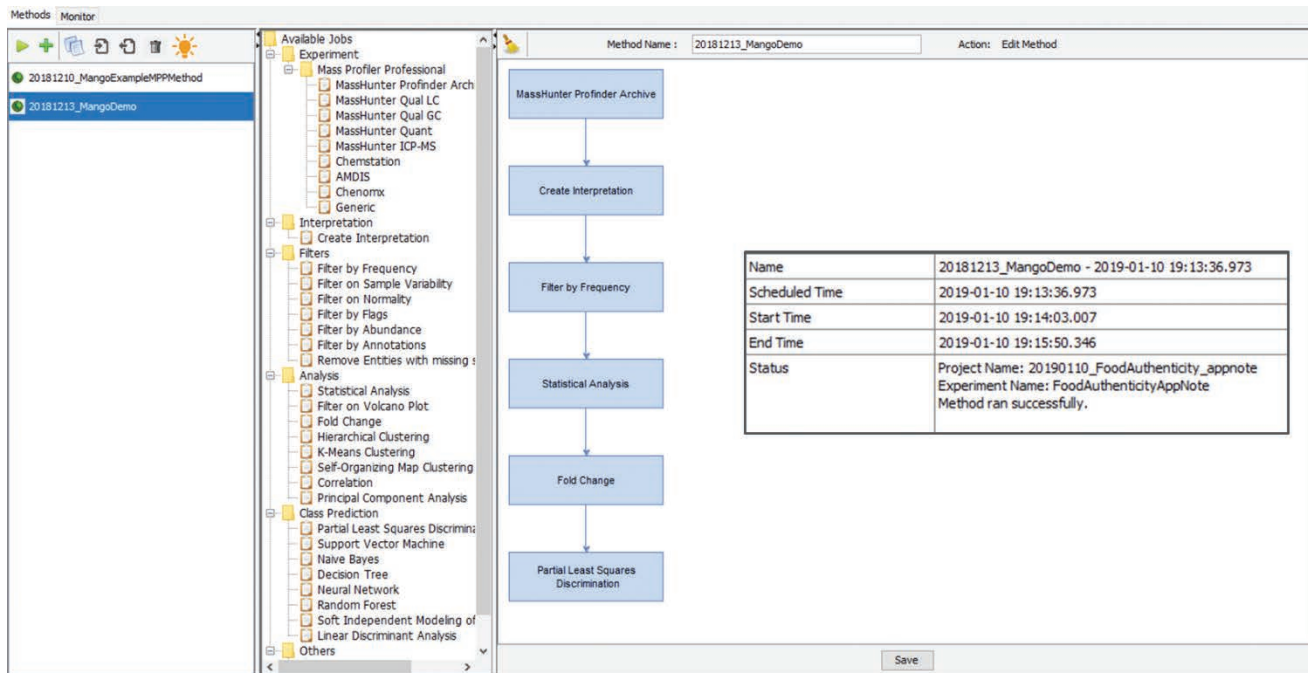


图 9. 具有新功能的 MPP 15.0 方法自动化用户界面。左侧面板为方法列表，带运行按钮以启动所需方法。通过为中间面板选择要添加到方法中的步骤，可在右侧创建新方法。使用方法自动化功能可以加快分析速度，并在完成时提供报告（插入图）



## 结论

由于产品和原料的掺假和标签错误现象越来越普遍，食品真伪鉴定工作流程需要使食品检测更加常规化。将 6546 LC/Q-TOF、Profiler 10.0、MPP 15.0 和 Classifier 1.0 联用获得了所需的工作流程。方法开发科学家拥有了更快速的自动化工作流程来帮助其构建模型。对于常规分析，分析人员只需使用 Classifier 1.0 即可从新数据中进行快速分类。该工作流程可帮助实验室快速获得清晰、可靠的结果，以了解原料和产品的质量。

## 参考文献

1. <https://www.agilent.com/en/products/sample-preparation/sample-preparation-methods/quechers/extraction-kits-preparation-methods/quechers/extraction-kits>

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

[LSCA-China\\_800@agilent.com](mailto:LSCA-China_800@agilent.com)

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2019  
2019年3月8日，中国出版  
5994-0694ZHCN

