

表面解吸常压化学电离质谱法直接测定饮料中的抗坏血酸

宋庆浩^{1,2}, 王 姜³, 陈焕文³, 金钦汉¹

(1. 浙江大学工业系统与控制国家重点实验室, 智能系统与控制研究所, 分析仪器研究中心, 浙江 杭州 310058;

2. 山东电力工程咨询院, 山东 济南 250013; 3. 东华理工大学应用化学系, 江西 抚州 344000)

摘要:建立了表面解吸常压化学电离质谱(SDAPCI-MS)测定饮料中抗坏血酸的方法。采用进样针取样, 每次取样不多于 5 nL, 无需任何样品预处理, 单个样品测定时间少于 0.5 min。该方法对抗坏血酸的检出限可达 $1.9 \times 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 线性范围为 $10^{-8} \sim 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 回收率为 89.9%~109.6%, 相对标准偏差(RSD)为 3.2%~5.8%。

关键词:表面解吸常压化学电离质谱(SDAPCI-MS); 抗坏血酸; 饮料; 快速检测

中图分类号: O 657.63 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-2997(2010)05-297-05

Surface Desorption Atmospheric Pressure Chemical Ionization Mass Spectrometry for Direct Detection of Ascorbic Acid in Beverages

SONG Qing-hao^{1,2}, WANG Jiang³, CHEN Huan-wen³, JIN Qin-han¹

(1. *Research Center for Analytical Instrumentation, Institute of Cyber-Systems and Control, State Key Laboratory of Industrial Systems and Control, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China;*

2. Shandong Electric Power Engineering Consulting Institute, Jinan 250013, China;

3. Department of Applied Chemistry, East China Institute of Technology, Fuzhou 344000, China)

Abstract: A novel method was developed for direct detection of ascorbic acid in beverages by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (SDAPCI-MS) without any sample pretreatment. Using sample needle sampling, the volume of each sampling was less than 5 nL. The average time for a single sample analysis was less than 0.5 min. The limit of detection for ascorbic acid is $1.9 \times 10^{-9} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the linear range is $10^{-8} \sim 10^{-3} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The recoveries for four samples spiked with $10^{-4} \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ ascorbic acid are in the range of 89.9%—109.6%, and the relative standard deviations in the range of 3.2%—5.8%.

Key words: surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry (SDAPCI-MS); ascorbic acid; beverages; rapid analysis

抗坏血酸(ascorbic acid),即维生素 C,是维持机体正常生理功能的重要维生素之一,普遍存在于蔬菜和水果中,或作为药品和保健品提供,人体不能自身合成。研究表明,抗坏血酸能够提高人体免疫力,在预防贫血、牙龈出血、坏血病和癌症,预防和缓解动脉硬化以及保护肝脏等方面都有非常良好的效果。抗坏血酸作为市场上众多饮料的主要营养物质,是检测相应饮料质量优劣的重要指标,因此,对复杂基体中抗坏血酸的快速灵敏检测具有重要的实用意义。

目前,测定抗坏血酸含量常用的方法有:滴定分析法^[1-2]、荧光分析法^[3]、分光光度法^[4]、色谱法^[5]以及电化学法^[6]等。这些方法各有长处,但一般都有试剂不稳定、操作繁琐、使用有毒试剂或特异性差等缺点。本工作采用表面解吸常压化学电离质谱(SDAPCI-MS)技术^[7-15],建立一种无需对样品进行预处理即可对饮料中的抗坏血酸进行直接检测的方法,该方法对于复杂基体中抗坏血酸含量的测定具有重要的应用价值。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

SDAPCI 离子源:实验室自制,装置图示于图 1; LTQ-XL 型线性离子阱质谱仪;美国 Finnigan 公司产品,配有 Xcalibur 数据处理系统。抗坏血酸(分析纯);上海国药集团产品。准确称取 250 mg 抗坏血酸标准品于 25 mL 棕色容量瓶中,用水溶解后稀释至刻度,得到 $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 抗坏血酸的标准溶液,用铝箔做避光保护,放置在冰箱中储存;4 种样品分别为:某品牌干红葡萄酒、某品牌橙汁饮料、某品牌混合果蔬饮料、某品牌牛奶果汁饮料,均购于当地超市,实验中样品没有经过任何预处理;实验用水均为二次蒸馏水。

1.2 实验条件

设置 SDAPCI 离子源为正离子检测模式,质量检测扫描范围 m/z 50~300,电离电压 3.5 kV,离子传输管温度 $150 \text{ }^\circ\text{C}$;放电针与质谱仪接口成 30° ,用进样针(钢针,长 15 cm 左右)蘸取不多于 5 nL 的样品,在样品正下方放置 1 根可加热的电阻丝(图中未示出),进样针上的样品在电阻丝所产生热气流的辅助作用下被解吸出来,然后被放电针尖端形成的大量离子电离,形成的样品离子被引入质谱仪进行分析。实验中,一级质谱测定时间少于 10 s,但二级质谱记录时间可为 0.5 min。在串联质谱分析时,母离子的选择窗口为 1.1 u,碰撞时间为 30 ms,碰撞能量为

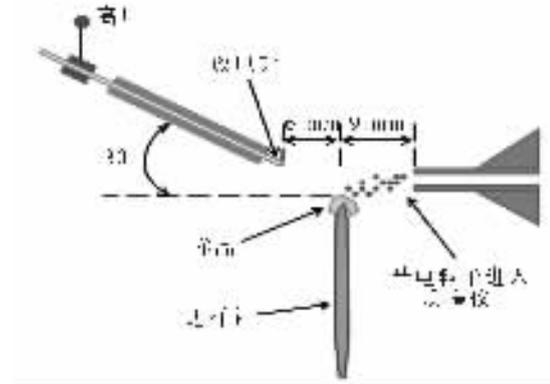


图 1 SDAPCI 离子源测定
饮料中抗坏血酸的装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of surface desorption atmospheric pressure chemical ionization (SDAPCI) for direct detection of ascorbic acid

30%,其他参数由 LTQ-MS 系统自动优化。

2 结果与讨论

2.1 抗坏血酸的 SDAPCI 串联质谱分析

在直接检测复杂基体样品中痕量待测组分时,一般采用多级串联质谱以排除假阳性结果。在正离子检测模式下获得的抗坏血酸一级质谱图示于图 2。由于抗坏血酸为酸性的极性物质,能够在正离子检测模式下被质子化,形成比较稳定的 $[M+H]^+$ 峰而被检测。所得质谱图比较复杂,准分子离子峰 m/z 177 的丰度较小,其他众多的质谱峰可能来自溶液中的其他物质和抗坏血酸的碎片离子,还可能与抗坏血酸本身纯度不够而且容易氧化变质有关。选择准分子离子峰 m/z 177 进行二级质谱研究,其质谱图示于图 3a,主要得到特征离子 m/z 121、149、159、135,它们分别为母离子丢失 2CO 、 CO 、 H_2O 、 CH_2CO 所形成。另外,若选择二级质谱离子 m/z 121 进行三级质谱实验,所得的质谱图示于图 3b,则可产生 m/z 93、105、79 的碎片离子,它们分别为抗坏血酸质子化离子进一步丢失 CO 、 CH_4 、 CH_2CO 所形成。为了确保结果的可靠性,还采用 ESI-MS 方法对抗坏血酸进行了 MS/MS 谱图对照分析,所得的二级质谱图示于图 4。结果发现,抗坏血酸 SDAPCI-MS/MS 谱与 ESI-MS/MS 谱完全吻合,而且也与文献^[16]的结果一致。证明了如果在实际样品中能够检测到信号峰 m/z 177,并且在 MS/MS 谱中观察到主要特征离子 m/z 121、149、159 和 135,即可以判断该样品中含有抗坏血酸。

2.2 工作曲线和精密度

分别配制浓度为 10^{-8} 、 10^{-7} 、 10^{-6} 、 10^{-5} 、 10^{-4} 、 10^{-3} $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 抗坏血酸标准溶液,按 1.2 方法进行 SDAPCI-MS 实验。将二级质谱中获

得的信号扣除背景后,以 m/z 121 的净响应信号强度表示,每个浓度的标准溶液测定 6 次,测定的净响应信号强度及相应的相对标准偏差列于表 1。

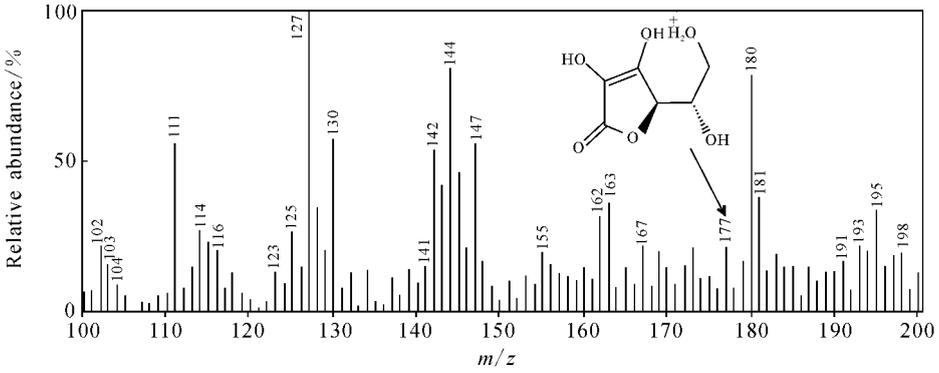


图 2 正离子模式下抗坏血酸的 SDAPCI 质谱图

Fig. 2 The SDAPCI mass spectrum of ascorbic acid recorded in positive ion detection mode

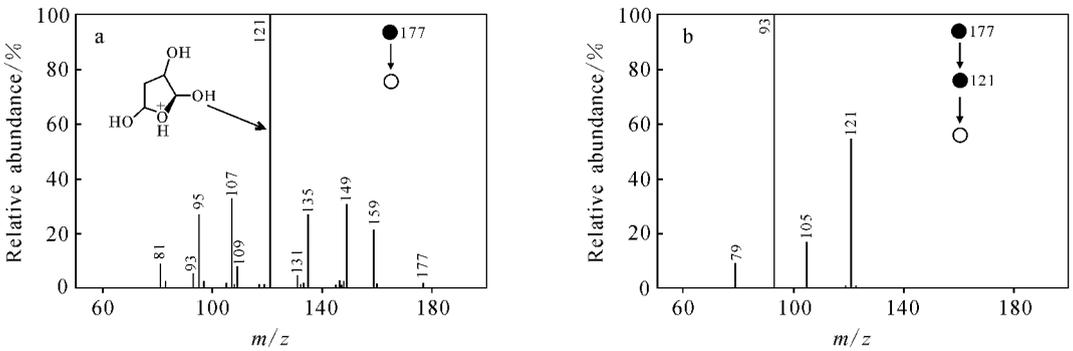


图 3 抗坏血酸的二级和三级 SDAPCI 质谱图

a. m/z 177 的二级质谱; b. m/z 121 的三级质谱

Fig. 3 The SDAPCI tandem MS spectra of ascorbic acid

a. MS^2 of m/z 177; b. MS^3 of m/z 121

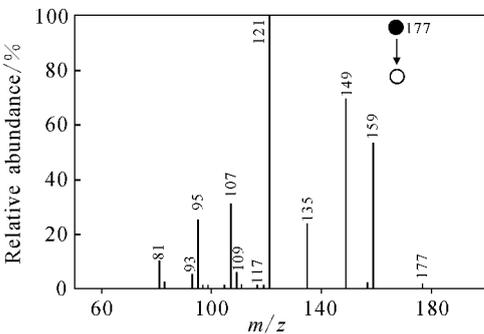


图 4 抗坏血酸的特征离子 m/z 177 二级电喷雾质谱图

Fig. 4 The ESI-MS/MS spectrum of the ions of m/z 177

信号强度与样品浓度分别取对数,绘制工作曲线,示于图 5。在 $10^{-8} \sim 10^{-3}$ $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,离子强度的对数(y)与浓度的对数(x)具有较好的线性关系。线性回归方程为 $y = 0.037x + 3.019$,相关系数为 $R^2 = 0.994$ 。

2.3 检出限

对浓度为 1×10^{-8} $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准溶液进行多次测定,获得净响应信号强度平均值为 524 ($n=6$),同时测得空白样品的 3 倍标准偏差为 100.8 ($S/N=3, n=20$),计算得本方法对抗坏血酸的检出限为 1.9×10^{-9} $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

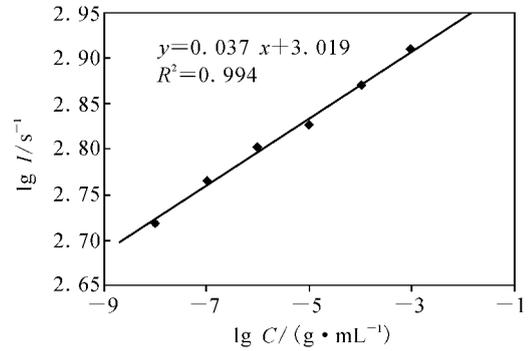
表 1 精密度测定

Table 1 Data obtained in precision study

浓度/ (g · mL ⁻¹)	信号强度值	信号强度 平均值	RSD/%
10 ⁻⁸	522,495,531,516,543,535	524	3.2
10 ⁻⁷	603,593,554,555,618,567	582	4.6
10 ⁻⁶	591,606,638,661,676,639	635	5.1
10 ⁻⁵	623,663,709,683,695,652	671	4.7
10 ⁻⁴	734,786,695,721,758,754	741	4.3
10 ⁻³	860,777,785,836,804,820	814	3.9

2.4 准确度实验

在测定样品时,同时用标准加入法做回收实验。分别取 4 种品牌的饮料按 1.2 方法进行测定,测得 4 种饮料中抗坏血酸的含量分别为 1.7×10^{-4} 、 8.7×10^{-5} 、 2.3×10^{-5} 和 6.3×10^{-8} g · mL⁻¹。然后对每种样品都加入 1.0×10^{-4}

图 5 用 m/z 121 测定抗坏血酸的工作曲线Fig. 5 Calibration curve for determination of ascorbic acid using m/z 121

g · mL⁻¹的抗坏血酸溶液做回收率实验,单个样品连续测定 9 次,测得加标回收率为 89.9%~109.6%,4 种添加抗坏血酸的饮料中,抗坏血酸信号强度的相对标准偏差(RSD)在 3.8%~5.8%之间。测定结果列于表 2。

表 2 样品测定结果($n=9$)Table 2 Detection of samples ($n=9$)

样品	样品含量/(g · mL ⁻¹)	加标量/(g · mL ⁻¹)	测得总量/(g · mL ⁻¹)	回收率/%	RSD/%
橙汁饮料	1.7×10^{-4}	1.0×10^{-4}	3.0×10^{-4}	109.6	4.9
混合果蔬饮料	8.7×10^{-5}	1.0×10^{-4}	2.0×10^{-4}	105.7	3.8
干红葡萄酒	2.3×10^{-5}	1.0×10^{-4}	1.2×10^{-4}	98.5	5.2
牛奶果汁饮料	6.3×10^{-8}	1.0×10^{-4}	9.0×10^{-5}	89.9	5.8

检测饮料、水果、蔬菜等食品中抗坏血酸的含量,对保证食品的质量、维护人们的身体健康具有重要意义。本实验对饮料中的抗坏血酸进行快速半定量分析,只要经过简单的榨汁、研碎、稀释等处理,此方法同样适用于对水果、蔬菜、药品等物质中抗坏血酸的快速测定。另外,如果能解决手动进样不稳和取样量不精确等问题,有望实现对抗坏血酸的快速精确定量分析。表面解吸常压化学电离质谱法具有无需样品预处理、取样量少、灵敏度高、快捷方便以及无毒无污染等特点,特别适用于结合小型质谱仪对食品、药品等复杂基体物质进行快速现场分析。

参考文献:

[1] 中国卫生部药典委员会. 中国药典: 第二部[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
[2] 江苏省农科院综合实验室. GB/T 6195—1986 水

果、蔬菜中维生素 C 含量的测定法[S]. 北京: 中国标准出版社, 1986.

- [3] 卫生部食品卫生监督检验所. GB/T 5009.86—2003 蔬菜、水果及其制品中总抗坏血酸的测定(荧光法和 2,4-二硝基苯肼法)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2003.
[4] 刘海玲, 欧水平. 阻抑动力学光度法测定抗坏血酸[J]. 分析化学, 2002, 30(1): 122.
[5] 侯璐, 钱和. 高效液相色谱法测定刺梨中的维生素 C 的含量[J]. 食品工业科技, 2009, 30(8): 311-313.
[6] 吴靖, 刘国东, 黄杉生, 等. 2-氨基吡啶修饰电极的电化学性质及对抗坏血酸的测定[J]. 分析化学, 2001, 29(10): 1140-1143.
[7] 陈焕文, 赖劲虎, 周瑜芬, 等. 表面常压化学电离源的研制及应用[J]. 分析化学, 2007, 35(8): 1233-1235.
[8] CHEN H W, ZHENG J, ZHANG X, et al. Sur-

- face desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry for direct ambient sample analysis without toxic chemical contamination[J]. J Mass Spectrom, 2007, 42(8): 1 045-1 056.
- [9] CHEN H W, LIANG H Z, DING J H, et al. Rapid differentiation of tea products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55: 10 093-10 100.
- [10] 杨水平, 陈焕文, 杨宇玲, 等. 鸡蛋中三聚氰胺的表面解吸常压化学电离串联质谱法成像[J]. 分析化学, 2009, 37(3): 315-318.
- [11] 杨水平, 胡 斌, 李建强, 等. 表面解吸常压化学电离质谱法直接测定奶粉中三聚氰胺[J]. 分析化学, 2009, 37(5): 691-694.
- [12] 梁华正, 陈焕文. 表面解吸常压化学电离质谱法快速测定茶叶化学指纹图谱[J]. 应用化学, 2008, 25(5): 519-523.
- [13] 王志畅, 韩 京, 李建强, 等. SDAPCI-MS 法对纺织品中 24 种致癌性芳香胺的直接测定[J]. 质谱学报, 2008, 29(增刊): 125-126.
- [14] 李建强, 吴转璋, 胡 燕, 等. 表面解吸常压化学电离质谱法快速测定冰毒[J]. 质谱学报, 2008, 29(增刊): 127-128.
- [15] YANG S P, DING J H, ZHENG J, et al. Detection of melamine in milk products by surface desorption atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry [J]. Anal Chem, 2009, 81: 2 426-2 436.
- [16] 丁建桦, 陈焕文, 游海珠, 等. L-抗坏血酸的电喷雾串联质谱行为研究[J]. 有机化学, 2008, 28(11): 1 971-1 977.

《分析化学》(2011 年)征订启事

《分析化学》(ISSN 0253-3820, CODEN FHHHDT, CN 22-1125/O6)是中国科学院和中国化学会共同主办的专业性学术期刊,主要报道我国分析化学创新性研究成果,反映国内外分析化学学科前沿和进展。刊物设有特约来稿、研究快报、研究报告、研究简报、评述与进展、仪器装置与实验技术、来稿摘登等栏目。读者对象为从事分析化学研究和测试的科技人员及大专院校师生。本刊也是有关图书、情报等部门必不可少的信息来源。

《分析化学》目前是我国自然科学核心期刊及全国优秀科技期刊,1999 年荣获首届国家期刊奖,2000 年获中国科学院优秀期刊特别奖,2001 年入选“中国期刊方阵”高知名度、高学术水平的“双高”期刊,2002 年又荣获第二届国家期刊奖和第三届中国科协优秀科技期刊奖。论文已被包括美、英、日、俄的国内外近 20 种刊物和检索系统收录。根据中国科技信息研究所历年来发布的“中国科技期刊引证报告”获悉,2008 年公布的影响因子为 1.2。多年来,本刊逐年被选入美国权威文摘《化学文摘》(CA)摘引量最大的 1000 种期刊(简称“CA 千种表”)中,并居我国入选“CA 千种表”期刊的前列。从 1999 年第 27 卷第一期开始被美国科学信息研究所(Institute for Scientific Information)正式收入《科学引文索引扩大版》(Science Citation Index-Expanded, SCIE, also known as SciSearch),同时还被收入《Research Alert》和《Chemistry Citation Index》等 ISI 系列。近期公布的 2009 年 SCI 影响因子为 0.79。

本刊为月刊,每期 160 页(大 16 开),由科学出版社出版。国内单价 15.00 元,全年 180.00 元。邮发代号 12-6,全国各地邮局订阅,国外代号 M336,中国国际书店订购,漏订读者,可与编辑部联系。广告经营许可证号:2200004000094,广告代理:北京行胜言广告有限公司,电话:010-52086537。

编辑部地址:长春市人民大街 5625 号 邮政编码:130022

编辑部电话:(0431)85262017/85262018 传真:(0431)85262018

E-mail: fxxh@ciac.jl.cn

网址: <http://www.analchem.cn>