

考察Xevo TQ-S cronos系统对加工薯片中丙烯酰胺测定的稳定性

Renata Jandova, Sara Stead, David Gordon

Waters Corporation

摘要

本应用纪要展示了在ACQUITY UPLC I-Class PLUS与Xevo TQ-S cronos的联用系统上使用UPLC-MS/MS测定加工食品中丙烯酰胺的性能方法。校准特性、线性和灵敏度结果均显示，该分析方法适用于监测缓解措施和检测薯片中的丙烯酰胺是否符合欧盟基准浓度要求。

优势

一种能在常规分析中可靠定量加工食品所含污染物的方法，结合了QuEChERS和SPE直通式样品制备方案，符合行业标准。在分析基质复杂的样品时展现出稳定的性能，能够大幅延长仪器正常运行时间，同时在长时间分析过程中尽量减少操作员干预需求。

简介

Xevo TQ-S cronos三重四极杆质谱仪是一款专为常规定量分析开发的系统，其性能非常可靠，沿用了ACQUITY QDa质谱检测器的样品锥设计。在这种倒锥形设计中，通道最窄的部分位于样品锥中心，而样品锥入口相对较宽（图1）。此设计可确保样品基质和流动相缓冲盐不会在采样孔处积聚并造成堵塞，从而延长仪器在两次锥孔清洗之间的正常运行时间，还能提升分析食品基质样品的灵敏度。

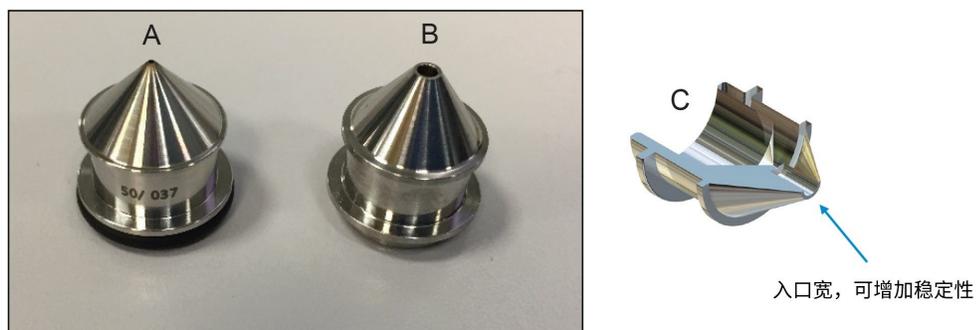


图1.常规样品锥(A)、倒锥形设计的样品锥(B)和倒锥形设计的横截面图(C)，图中显示这种设计的外孔更宽(1.5 mm)，内锥孔区域更窄(0.25 mm)。

除倒锥形设计外，其他成熟的技术也有助于Xevo TQ-S cronos获得稳定的性能，例如：1) 采用正交几何结构的离子源 - 独特地采用双正交几何结构，以便在将离子高效传输至分析器的同时去除未电离物质（中性物质）；2) StepWave离子导向装置 - 这款离轴离子导向装置可去除中性物质并减少气体负载，主动将离子束提取到平行的“离轴”离子隧道中，从而提高传输率，使其聚焦到分析器中，同时提升灵敏度与稳定性；3) 碰撞池技术 - 使用行波技术来缩短离子在碰撞池中的驻留时间，同时进一步聚焦离子束以提高性能，从而在不损失信号强度的前提下快速采集多组分MRM数据，同时尽量减少相邻MRM通道之间的交叉干扰。碰撞池技术还可确保与高质量多组分UPLC-MS/MS定量分析所需的高数据采集速率完全兼容。

我们之前发表过一种使用Xevo TQ-S micro系统测定丙烯酰胺的定量方法¹，该方法适用于各种加工食品，包括薯片、面包、咖啡和婴儿食品。丙烯酰胺是一种低分子量、高水溶性的有机化合物，由某些食品中的天然成分（天冬酰胺和糖类）在通常高于120 °C的温度下制备时形成。它主要存在于富含碳水化合物的烘焙或油炸食品中，这些食品的原材料含有其前体，例如谷物、马铃薯和咖啡豆。在本研究中，我们证明Xevo TQ-S cronos是一种可靠的系统，它采用了增强的样品净化功能，可在残留物监测实验室的典型条件下对复杂食品基质中的棘手分析物（例如丙烯酰胺）进行常规定量。

实验

样品前处理

粗磨脱水加工的薯片样品购自英国的一家薯片制造商，之前使用GC-MS表征测得的丙烯酰胺含量水平低于欧盟基

准浓度²（欧盟法规2017/2158）。

使用沃特世丙烯酰胺UHPLC增强型净化试剂盒(P/N: 176004423)提取并净化样品。

UPLC-MS/MS

UPLC系统:	ACQUITY UPLC I-Class PLUS
色谱柱:	ACQUITY UPLC HSS C ₁₈ SB, 100 Å, 1.8 µm, 2.1 × 100 mm) [P/N: 186004119]
流动相A:	0.1%甲酸的水溶液 (LC-MS级)
流动相B:	甲醇 (LC-MS级)
流速:	0.2 mL/min
进样体积:	5 µL (带针溢出的部分定量环进样)
柱温:	30 °C
样品温度:	10 °C
梯度:	如需获取完整梯度条件, 请访问: https://www.waters.com/waters/form.htm?id=135008043
MS仪器:	Xevo TQ-S cronos三重四极杆
电离模式:	ESI+
采集模式:	MRM
毛细管电压:	+0.5 kV

锥孔电压:	20 V
脱溶剂气温度:	600 °C
脱溶剂气流速:	1000 L/h
离子源温度:	150 °C

化合物	MRM通道 (m/z)	碰撞能量 (eV)	保留时间 (min)
丙烯酰胺	72.1 > 55.1	12	
丙烯酰胺	72.1 > 44.1	10	2.69
丙烯酰胺	72.1 > 27.1	10	
丙烯酰胺-d3	75.0 > 58.1	15	2.66

表1. 丙烯酰胺和丙烯酰胺-d3内标的MRM通道

使用选择性表现最佳的MRM通道。利用MassLynx软件4.2版采集数据，并用TargetLynx XS应用管理软件处理数据。利用Auto-Dwell功能自动设置最佳驻留时间。

在方法设置阶段对Xevo TQ-S cronos上的以下离子源参数进行了优化，有利于提高测定的重复性。

1) ESI探头定位

在靠近倒锥形设计外锥孔（宽锥孔入口区域）的位置优化ESI探头，大幅提高信号强度。我们发现，将探头位置调整到离最佳信号强度位置较远处，信号强度会减弱，但由于电荷竞争效应减少，信噪比和线性动态范围总体有所改善。

ESI探头位置 (相对于外锥孔)	平均归一化%TIC强度 (n = 6) 丙烯酰胺 (m/z 72.1 > 55.1)	S:N RMS
5.4 mm (最近)	100	680:1
6.4 mm (最远)	70	681:1
5.9 mm (中间)	60	930:1

表2.相对于倒锥形设计的ESI探头位置对薯片提取物信号强度和信噪比的影响

在研究测定的稳定性时，我们选择了最接近外锥孔区域的ESI探头位置(5.4 mm)，作为最具挑战性的设置来考察基质载样对外锥孔的影响。

2) 锥孔气流速

在开始稳定性研究之前，我们还评估了氮气的锥孔气流速。与样品锥孔较大的仪器相比，Xevo TQ-S cronos采用倒锥形设计且气体限流孔口较小，因此建议使用较低的锥孔气流速。外锥孔可以保护内锥孔，防止基质和/或流动相添加剂积聚，并在保持理想性能和稳定性的同时允许使用较低的锥孔气流速。

在不同的锥孔气流速下重复进样含有丙烯酰胺的薯片提取物(n = 6)，从信号强度和重复性(%RSD)方面确定最佳设置。

锥孔气流速 (L/h)	平均归一化TIC强度% 丙烯酰胺 (m/z 72 > 55)	TIC强度%RSD (n = 6)
0	100	2.21
20	100	1.00
50	99.0	0.57
100	92.0	1.60
150	77.1	1.16

表3.考察氮气的锥孔气流速、平均信号强度和重复性的影响。

在研究测定的稳定性时，我们选择了0 L/h的锥孔气流速，作为最具挑战性的设置来考察锥孔上的基质积聚情况。

结果与讨论

基质表征

在开始稳定性研究之前，我们使用上述方法条件对脱水薯片样品进行了表征，以确定丙烯酰胺的浓度并估算基质效应和潜在干扰。图2所示为薯片中丙烯酰胺的代表性MRM色谱图，表明经过净化步骤后，定量离子和定性离子通道不受基质干扰。

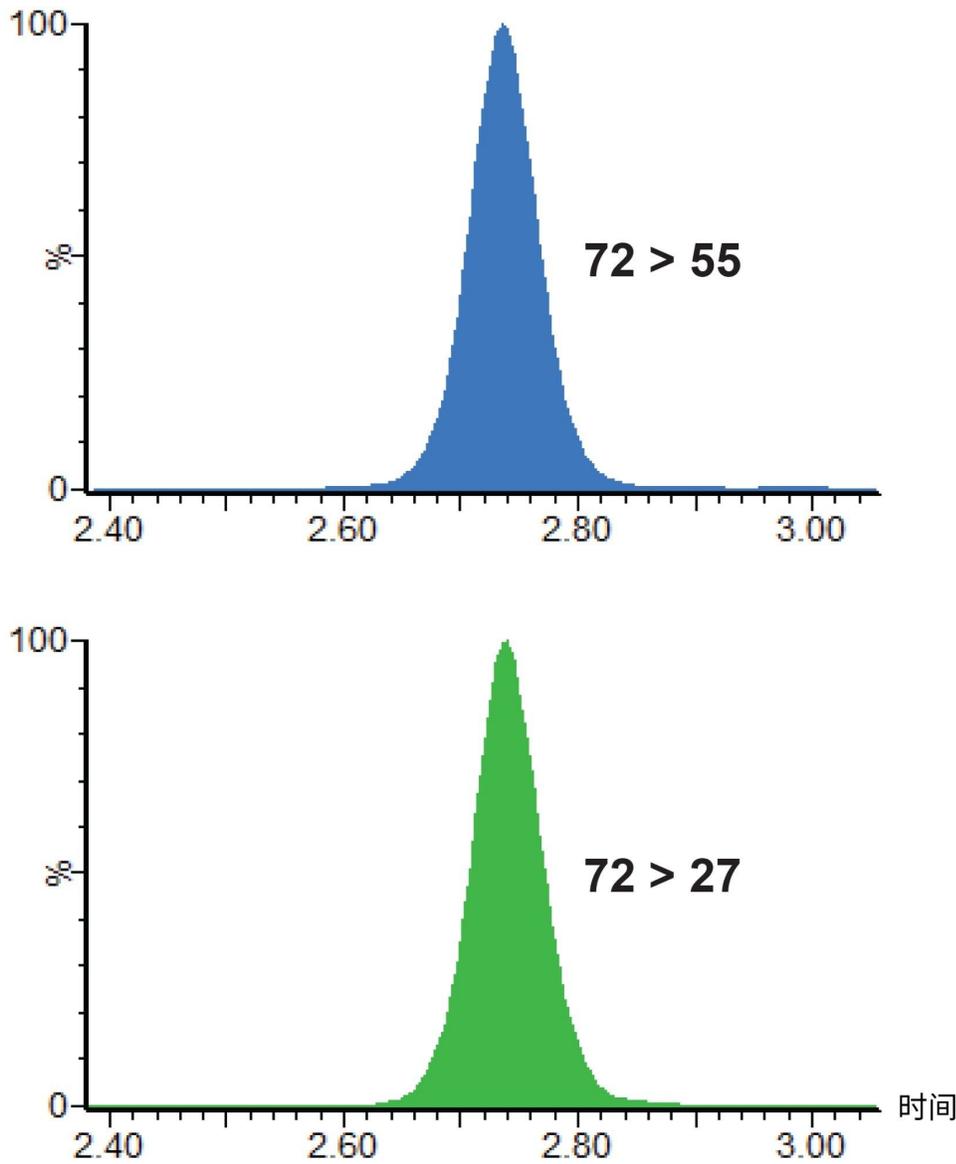


图2.薯片样品中丙烯酰胺定量离子(72 > 55)和定性离子(72 > 27)的MRM色谱图

为进行定量分析，我们制备了包含丙烯酰胺-d3的溶剂校准曲线，浓度范围为2~500 ng mL⁻¹（含），该浓度水平相当于EU 2017/2158规定的薯片基质LOD和LOQ（15 μg和50 μg kg⁻¹）性能要求。如图3所示，通过比较丙烯酰胺-d3加标至溶剂和基质中的响应测得，薯片提取物中存在40%左右的信号抑制。

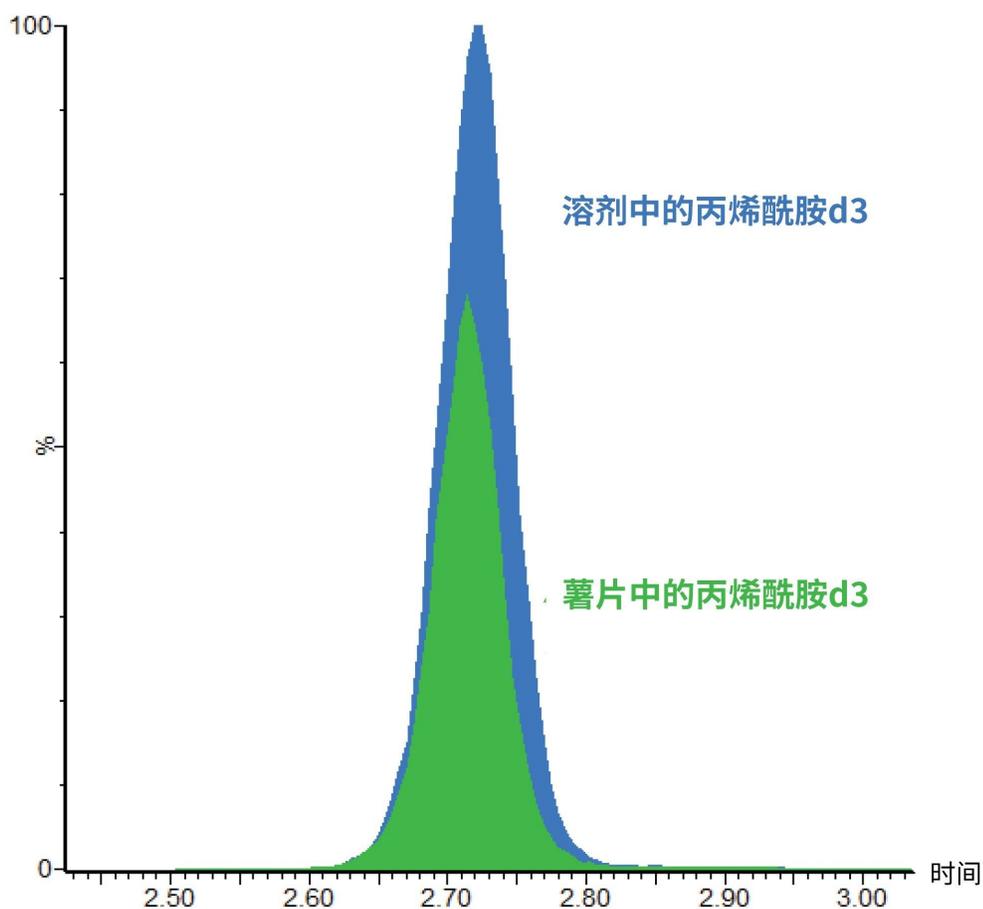


图3.薯片样品和溶剂标准品（加标浓度为 50 ng mL^{-1} ）中丙烯酰胺-d3 (75 > 58)的MRM色谱图。

测定的稳定性

我们研究了Xevo TQ-S cronos在重复进样薯片提取物（样品268）之后的稳定性，该样品在既往研究中测得的丙烯酰胺浓度为 $450 \mu\text{g kg}^{-1}$ 。本研究所用的离子源条件可以改善信号强度，并有助于在重复测定中获得较低的% RSD。ESI探头定位实验的结果表明，当探头相对于获得最大信号强度的最佳位置偏离锥孔时，信噪比有所改善。锥孔气流速实验表明，在流速高达50 L/h时，信号强度保持稳定，优势在于减少了基质/溶剂污染物在锥孔表面的积聚。

在四个样品瓶中分装样品并分别对提取物执行系统进样，保持相同的流动相溶液和条件进样500多次(5 μL)，无需用户干预。这相当于连续运行83.3小时（3.4天），直到该批次的流动相用完，526次进样后共上样超过1.5 mg共

提取物。绘制分析物（丙烯酰胺）定量离子通道(m/z 72 > 55)和内标（丙烯酰胺-d3）(m/z 75 > 58)的峰面积响应，结果在平均响应的两个标准偏差范围内。我们使用TrendPlot绘制了丙烯酰胺和d3类似物的定量离子通道峰面积的控制图（图4）。526次进样的总体%RSD \leq 2.2。

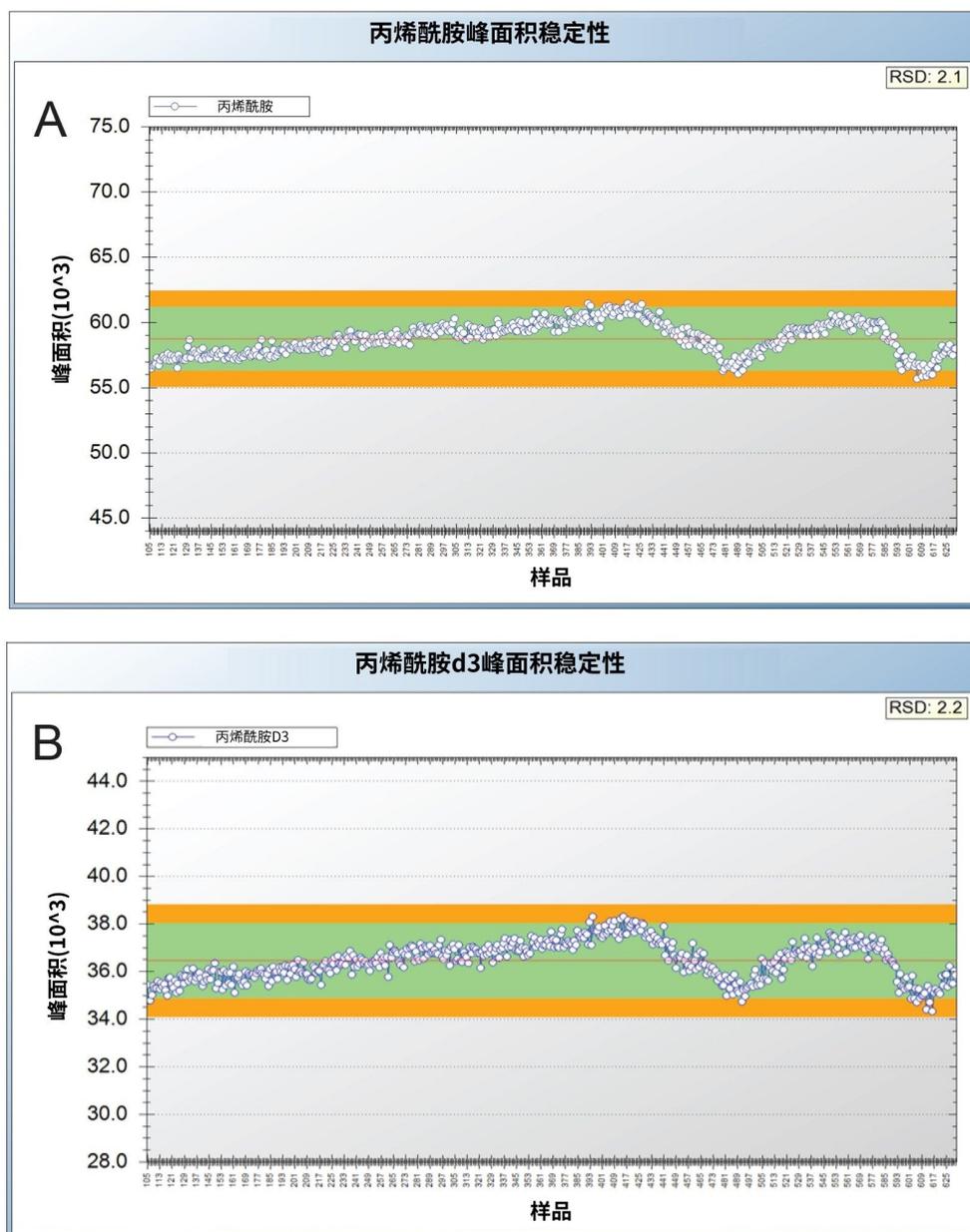


图4.加工薯片基质（含有450 $\mu\text{g kg}^{-1}$ 丙烯酰胺）连续进样500多次得到的(A)丙烯酰胺($ES+ 72 > 55$)和(B)丙烯酰胺-d3 ($ES+ 75 > 58$)峰面积重复性；连续分析时间超过83 h，无操作人员干预。

结论

本应用纪要展示了在ACQUITY UPLC I-Class PLUS与Xevo TQ-S cronos的联用系统上使用UPLC-MS/MS测定加工食品中丙烯酰胺的性能方法。校准特性、线性和灵敏度结果均显示，该分析方法适用于监测缓解措施和检测薯片中的丙烯酰胺是否符合欧盟基准浓度要求。

在最极端的离子源参数*下进行稳定性研究，考察高基质载样对仪器的影响。稳定性研究结果表明，Xevo TQ-S cronos在常规操作中非常稳定，即使对于复杂食品基质中具有挑战性的小分子强极性分析物，在长时间分析过程中也不需要操作员干预。这一优异的性能可归因于Xevo TQ-S cronos的技术特点，包括倒锥形设计（保护内部样品锥免受污染）、采用正交几何结构的离子源、StepWave离子导向装置和采用T-Wave技术的碰撞池。

*常规操作时，建议优化离子源参数（ESI探头位置和锥孔气流速），有利于改善信噪比，并减少基质在外锥孔表面积聚。

参考资料

1. 使用ACQUITY UPLC I-Class系统和Xevo TQ-S micro测定加工食品中的丙烯酰胺, 应用纪要, 沃特世公司, 720006495ZH (2019).
2. EU Regulation 2017/2158 Establishing mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food.(2017) L 304/24–44 *Official Journal of EU*.

特色产品

Xevo TQ-S cronos三重四极杆质谱仪 <<https://www.waters.com/135027354>>

ACQUITY UPLC I-Class PLUS系统 <<https://www.waters.com/134613317>>

MassLynx MS软件 <<https://www.waters.com/513662>>

TargetLynx <<https://www.waters.com/513791>>

720006701ZH, 2019年10月



©2019 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[使用条款](#) [隐私](#) [商标](#) [网站地图](#) [招聘](#) [Cookie](#) [Cookie设置](#)

[沪ICP备06003546号-2](#) [京公网安备 31011502007476号](#)