UPLC-Q-Orbitrap-HRMS结合ICP-MS技术测定哀牢山手工红糖中的化学成分与无机元素

尹翠然[1], 郭海涛[1], 王嘉慧[1], 胡子怡[1], 于 晗[1], 刘庚洋[1], 于泽坤[1], 李杰姝[1], 王崟瓖[2], 王春国[1*], 刘永刚[1*], 马 涛[1*]

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100029; 2. 信实糖业商贸 (云南) 有限公司, 云南 楚雄 675100)

摘要: 基于超高效液相色谱−四极杆−静电场轨道阱高分辨质谱 (UPLC-Q-Orbitrap-HRMS) 技术和电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 法, 建立哀牢山手工红糖中化学成分与无机元素的分析方法。该红糖经水提醇沉后采用UPLC-Q-Orbitrap-HRMS测定其中的化学成分, 共鉴定出30种化学成分, 可分为氨基酸及其衍生物类10种、糖及衍生物类8种、有机酸类4种、醛类3种、其他类5种。采用ICP-MS结合指纹图谱、元素相关性分析和健康风险评价测定分析不同批次红糖元素种类、含量, 并对其进行质量评价。结果显示, 三批红糖中主要含有K、Mg、Ca等常量元素, Fe、Zn、Cu、Se、Co、Mn、Cr等微量元素, 不同批次哀牢山红糖的无机元素含量存在差异, 且元素间存在复杂的显著正/负相关关系网络。根据2025年版《中华人民共和国药典》的重金属含量规定, 采用每人每日每千克体重重金属摄入量 (Exp)、危害指数法 (HI) 和暴露限值法 (MOE) 进行评估, 结果显示不同批次红糖重金属含量均符合要求; 有害元素整体潜在的风险较低。本研究将UPLC-Q-Orbitrap-HRMS与ICP-MS两种方法结合, 构建了基于化学成分鉴定及无机元素定量分析的双维度质量评价体系, 为红糖质量图谱的建立、营养功能关联性研究提供了数据和技术支撑。

关键词: UPLC-Q-Orbitrap-HRMS; ICP-MS; 红糖; 化学成分鉴定; 元素测定

中图分类号: R917 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-4870(2026)01-0273-10

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS coupled with ICP-MS method for the determination of chemical constituents and inorganic elements in handmade brown sugar from Ailao Mountain

YIN Cui-ran[1], GUO Hai-tao[1], WANG Jia-hui[1], HU Zi-yi[1], YU Han[1], LIU Geng-yang[1], YU Ze-kun[1], LI Jie-shu[1], WANG Yin-xiang[2], WANG Chun-guo[1*], LIU Yong-gang[1*], MA Tao[1*]

(*1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2. Xinshi Sugar Industry and Trading Co., Ltd., Chuxiong 675100, China*)

Abstract: An integrated method based on UPLC-Q-Orbitrap-HRMS and ICP-MS was developed for the simultaneous characterization of chemical constituents and inorganic elements in brown sugar hand-crafted in the Ailao Mountain. After water extraction and ethanol precipitation, thirty metabolites were identified by UPLC-Q-Orbitrap-HRMS, including 10 amino acids and their derivatives, 8 sugars and derivatives, 4 organic acids, 3 aldehydes and 5 other organic compounds. ICP-MS quantified the elemental profiles of three independent batches, revealing high levels of the macro-elements K, Mg and Ca, along with nutritionally relevant amounts of the trace

收稿日期: 2025-07-23; 修回日期: 2025-10-27.

基金项目: 国家重点研发计划中医药现代化专项 (2023YFC3504100).

*通讯作者 E-mail: wangcg1119@126.com; liuyg0228@163.com; 201701033@bucm.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-0873

elements Fe, Zn, Cu, Se, Co, Mn and Cr. Fingerprinting, elemental correlation analysis and health-risk assessment were subsequently performed. Estimated daily exposure per kg body weight (Exp), hazard index (HI) and margin of exposure (MOE) indicated that all batches conformed to the heavy-metal limits set by the Chinese Pharmacopoeia (2025 edition), and the overall health risk from toxic elements is negligible. By integrating comprehensive chemical profiling with precise elemental quantification, the study establishes a dual-dimension quality evaluation system that provides robust data and technical support for constructing a quality profile of Ailao Mountain brown sugar and for elucidating the relationship between its chemical composition and nutritional functions.

Key words: UPLC-Q-Orbitrap-HRMS; ICP-MS; brown sugar; chemical composition identification; elemental determination

红糖是甘蔗汁经浓缩和结晶得到的粗产品, 因为没有经过高度提炼, 保留了较多的矿物质和其他营养成分, 颜色呈红色或红褐色, 因此被称为红糖[1]。中医认为, 红糖性温、味甘, 主要作用于肝经与脾经, 具有补血活血、健脾暖胃、缓解疼痛的功效[2]。近年来, 随着人们对健康食品的关注度不断提高, 哀牢山手工红糖因其天然、绿色的生产工艺以及丰富的营养成分, 受到了越来越多消费者的关注。

尽管手工红糖在市场上备受关注, 但目前对其化学成分和无机元素研究还较少。目前对红糖的研究主要集中在有害物质及污染物检测、部分活性物质的检测以及重金属及微量元素分析, 如采用气相色谱−质谱 (GC-MS)、超高效液相色谱−串联质谱 (UPLC-MS/MS) 等方法检测红糖中的丙烯酰胺[3]、3-硝基丙酸[4]、5-羟甲基-2-糠醛[5]、紫胶红色素[6]和一些农药残留[7], 通过HPLC测量红糖中的糖分组成[8]、有机酸类成分[9]和多酚类成分[10], ICP-MS 测定营养元素 (如铁、锌等)[11]及痕量稀土元素[12]。本研究在前人研究的基础上, 进一步拓展了红糖活性成分的测定范围, 为哀牢山手工红糖的营养与功效评价提供更全面、准确的科学依据。此外, 该红糖在生产过程中还可能会受到重金属污染或者混入其他有害物质, 因此本研究采用ICP-MS对红糖中的无机元素进行检测, 从而有效评估红糖的重金属污染状况及其他有害物质的混入情况, 为保障消费者的食品安全提供有力的技术支撑。

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS具有高分辨率、高精度和强大的定性定量能力, 常用于检测中药中复杂的化学成分[13]。使用ICP-MS法对哀牢山手工红糖进行元素含量测定, 可以多元素同时分析、灵敏度高、检测速度快[14]。云南哀牢山有着优越的自然环境, 土壤肥沃, 气候适宜, 为甘蔗的生长提供了良好的条件。信实糖业商贸 (云南) 有限公司的红糖制作遵循传统手工工艺, 从选取新鲜青皮甘蔗开始, 经过“五滚压榨”、三次百目级别滤网过滤, 再到干柴烈火烹制、连锅赶水2 000余瓢, 以及搅拌棒搅拌200次以上直至沙线明显、气孔均匀, 最后采用食品级硅胶模具固定形状, 每一个环节都严格把控, 确保了红糖的品质和营养成分的最大化保留。因此本研究拟采用UPLC-Q-Orbitrap-HRMS和ICP-MS法对哀牢山手工红糖中的化学成分和元素进行测定。期望能通过本研究深入剖析该红糖的化学组成, 为其在食品、医药等领域的合理应用提供有力支持。

材料与方法

仪器 Vanquish超高效液相色谱系统、Q-Exactive Orbitrap四极杆−静电场轨道阱质谱仪 (美国Thermo Scientific公司); Vortex-2 Genie型涡旋混合器 (Scientific Industries公司); 5810R型低温离心机 (Eppendorf公司); WD-9415C型超声波清洗器 (北京市六一仪器厂公司); CEM MARS 240/50型微波消解仪 (美国CEM公司); FA 1204B型十万分之一电子天平 (上海精密仪器仪表有限公司)。

样品及试剂 哀牢山手工红糖 (批号: HT20250227A、HT20250227B、HT20250227C, 信实糖业商贸有限公司); 甲醇 (色谱纯, 批号: MF20250115)、乙腈 (色谱纯, 批号: AC20250201)、甲酸 (色谱纯, 批号: FA20250308), Thermo Fisher公司; 30%过氧化氢 (分析纯, 批号: HP20211106)、HNO_3 (分析纯, 批号: 20211106), 北京化工厂有限责任公司; Mg、Al、B、Ca、V、Cr、Mn、Mo、Fe、Na、Ni、Cu、K、Zn、As、Se、Sc、Cd、Pb、Co、Te、Ga、Ba、Bi、In、Zr质量浓度为100 mg·mL^{-1}的混合标准溶液 (色谱纯, 批号: MIXSTD20250410, 上海麦克林生化科技股份有限公司); Rh质量浓度为1 000 μg·mL^{-1}的内标溶液 (色谱纯, 批号: RhIS20250522)、Re质量浓度为1 000 μg·mL^{-1}的内标溶液 (色谱纯, 批号: ReIS20250522), 国家有色金属及电子材料分析测试中心; 超纯水 (PW20250618, 广州屈臣氏食品饮料有限公司)。

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS样品制备 取适量哀

牢山手工红糖, 粉碎, 混匀, 精密称取5 g, 加水适量, 煮沸1 h, 趁热滤过, 除去不溶性杂质; 滤液浓缩至原体积的1/3, 加乙醇使含醇量达60%, 搅匀, 静置过夜, 使多糖沉淀析出; 取上清液, 以4 000 r·min^{-1}离心15 min, 除去沉淀多糖; 上清液经0.22 μm微孔滤膜滤过, 即得。

ICP-MS样品溶液制备 将红糖(批号HT20250227A)研细过筛后精密称取0.1 g置于消解罐中, 加入5 mL浓硝酸和1 mL 30%过氧化氢溶液预消解20 min后转移至微波消解仪。20 min升温至100 ℃保持5 min, 10 min升温至150 ℃保持5 min, 10 min升温至200 ℃保持30 min (设置功率1 600 W)。待程序结束, 样品冷却至室温转移至电热赶酸仪, 130 ℃赶酸。样品剩余约一颗黄豆粒大小 (500 μL) 时, 将样品过0.45 μm微孔滤膜后转移至25 mL量瓶, 用屈臣氏水洗涤消解罐3次, 将洗涤液与试液合并后用屈臣氏水定容至25 mL, 得到样品1溶液。同方法配置样品2和样品3溶液。

空白对照溶液 除不加红糖样品外, 其他条件与样品溶液制备方法相同。

内标溶液的制备 取0.25 mL Re和Rh单元素标准溶液至25 mL量瓶, 用2%硝酸溶液定容得到Re和Rh浓度均为10 μg·L^{-1}的内标溶液。

多元素标准溶液的制备 取B、Na、Mg、Al、K、Ca、Sc、V、Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Ga、As、Se、Zr、Mo、Cd、In、Te、Ba、Pb、Bi质量浓度为100 mg·mL^{-1}的混合标准溶液用2%硝酸逐级稀释得到浓度分别为0、1、10、100、1 000 μg·L^{-1}的多元素标准溶液。

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS液相条件 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm × 2.1 mm, 1.7 μm; 爱尔兰); 柱温: 35 ℃; 进样体积: 3 μL; 流速: 0.25 mL·min^{-1}; 流动相: A (乙腈, 含0.1%甲酸), B (0.1%甲酸水), 梯度洗脱 (洗脱条件: 0～2 min 95% B, 2～42 min 95%～10% B, 42～44 min 10%～10% B, 44～45 min 10%～95% B, 45～50 min 95% B)。

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS质谱条件 正离子检出模式: HESI-II离子源, 离子源温度350 ℃, 喷雾电压3.5 kV, S-Lens RF电压60 V, 毛细管温度300 ℃, 鞘气和辅助气均为高纯氮气, 鞘气流速: 40 arb, 辅助气流速: 20 arb。

负离子检出模式: HESI-II离子源, 离子源温度350 ℃, 电离源电压3.2 kV, S-Lens RF电压60 V, 鞘气和辅助气均为高纯氮气, 鞘气流速为35 arb, 辅助气流速为10 arb。扫描模式: 一级全扫描 (full scan, *m*/*z* 200～2 000) 与数据依赖性二级质谱扫描 (data-dependent acquisition) ddMS2; 分辨率: 70 000 (full scan), 17 500 (MS/MS); 碰撞模式: 高能量碰撞解离 (HCD), 碰撞能量: NEC30 (stepped NEC50%)。

ICP-MS测定条件 氩气压力: 0.65 MPa; 氦气压力: 0.1～0.2 MPa; 冷却气流速: 14.0 L·min^{-1}; 辅助气流速: 0.8 L·min^{-1}; 雾化气流速: 1.0 L·min^{-1}; 射频功率: 1 550 W; 雾化室温度: 2.5 ℃; 采样深度: 5 mm; 扫描次数30次; 数据采集模式: KED, 重复3次。

数据处理 基于超高效液相色谱—静电场轨道阱高分辨质谱进行完成红糖样品的一级和二级碎片质谱图采集, 在Trace Finder和Compound Discoverer (CD)软件的帮助下, 根据化合物的碎片离子等信息对原始数据进行OTCML中药成分高分辨质谱数据库检索并与在线数据库 (*m*/*z* Cloud、PubChem、ChemSpider) 进行比对分析确定化合物的结构。采用Origin 2024绘制无机元素指纹谱图和元素相关热图。

重金属健康风险评估 本研究采用暴露评估与风险表征模型评估红糖中重金属的健康风险。具体公式与参数如下:

$$\mathrm{Exp} = \mathrm{EF} \times \mathrm{ED} \times \mathrm{IR} \times C \times \frac{T}{W \times \mathrm{AT}} \quad (1)$$

公式 (1) 中, Exp为每人每日每千克体质量重金属摄入量; EF为暴露频率, 即一年中暴露于重金属的天数, 以P95分位值每年90天计; *C*为重金属测定浓度; ED为持续暴露时间, 即暴露于重金属的年数, 以20年计; IR为摄入率, 即每天摄入的食物量, 以0.1 kg计; *W*为个体体重, 以成人平均体重63 kg[15]计; AT为平均寿命天数, 按以25 550 d[16]计; *T*为重金属转移率, 取最大数值1。

$$\mathrm{HI} = \mathrm{Exp} \times \frac{10}{\mathrm{HBGV}} \quad (2)$$

公式 (2) 中, HI为重金属元素的危害指数, HI > 1则说明重金属风险危害较大[17]; HBGV为重金属元素的健康指导值[18], Cd、Cu、Cr的HBGV值分别计为0.83、500、3, Pb、As尚无明确规定; 10为安全因子。

$$\mathrm{MOE} = \frac{\mathrm{BMDL}}{\mathrm{Exp} \times 10} \quad (3)$$

公式 (3) 中, MOE为暴露限值[19], 是致癌风险的边际暴露量, 若MOE ≤ 1, 则风险危害较大。BMDL为基准剂量下限, 它是一个用来评估致癌风险的剂量, 表示在动物实验中观察到的某种致癌物质导致特定肿瘤发生率增加的最低剂量, Pb、As的BMDL值分别为1.3、3.0 μg·kg^{-1} [20-22], Cd、Cu、Cr尚无明确标准; 10为安全因子。

联合国粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会 (JECFA) 制定砷的每日容许摄入量 (ADI) 为0.05 mg·kg^{-1}(bw)[23], 相当于20 kg体重幼儿砷的每日耐受摄入量 (TDI) 为1 mg·d^{-1}; 以该红糖中平均砷含量

0.458 mg·kg^{-1}, 摄入量M = 10 g·d^{-1}计, 计算哀牢山红糖引起的20 kg体重幼儿每日砷最大暴露量。简单Cd、Pb、Cu、Cr暴露评估方法同上。

结果

1 UPLC-Q-Orbitrap-HRMS测定

1.1 正离子模式下哀牢山手工红糖主要成分鉴定 在正离子模式下对哀牢山手工红糖提取液进行检测, 以保留时间、高分辨质谱精确分子量等信息对总离子流图中的主要色谱峰进行系统鉴定。鉴定结果分别如图1和表1所示。

1.2 负离子模式下哀牢山手工红糖主要成分鉴定 在负离子模式下对哀牢山手工红糖提取液进行检测, 以保留时间、高分辨质谱精确分子量等信息对总离子流图中的主要色谱峰进行系统鉴定。鉴定结果分别如图2和表2所示。

在哀牢山手工红糖样本中共鉴定出30种活性成分, 可分为氨基酸及其衍生物类10种、糖及衍生物类8种、有机酸类4种、醛类3种、其他类5种。

以表1中的化合物**17**为例, 如图3A所示, 二级质谱图可见该成分的准分子离子峰为*m*/*z* 127.039 1 [M+H]$^+$, 拟合元素组成可知其分子式为$C_6H_6O_3$; 如图3B所示, 二级质谱图可见丢失一个水分子所得*m*/*z* 109.028 7 [M+H−H_2O]$^+$的特征碎片离子, 进一步碎裂丢失一分子羰基所得的*m*/*z* 81.034 0 [M+H−H_2O−CO]$^+$。根据以上特征碎片信息可确定该化合物为5-hydroxymethylfurfural, 质谱裂解规律如图3B所示。

以表1中的化合物**20**为例, 如图4A所示, 二级质谱图可见该成分的准分子离子峰为*m*/*z* 477.138 6 [M+H]$^+$, 拟合元素组成可知其分子式为$C_{23}H_{24}O_{11}$; 如图4B所示, 二级质谱图可见丢失一个水分子所得*m*/*z* 459.128 3 [M+H−H_2O]$^+$的特征碎片离子; 此外, 准分子离子峰也可以丢失$C_4H_8O_4$得到碎片离子*m*/*z* 357.096 0 [M+H−$C_4H_8O_4$]$^+$, 该碎片离子进一步丢失CH_2O得到碎片离子*m*/*z* 327.085 8 [M+H−$C_4H_8O_4$−CH_2O]$^+$。根据以上特征碎片信息可确定该化合物为orientin 7,3′-dimethyl

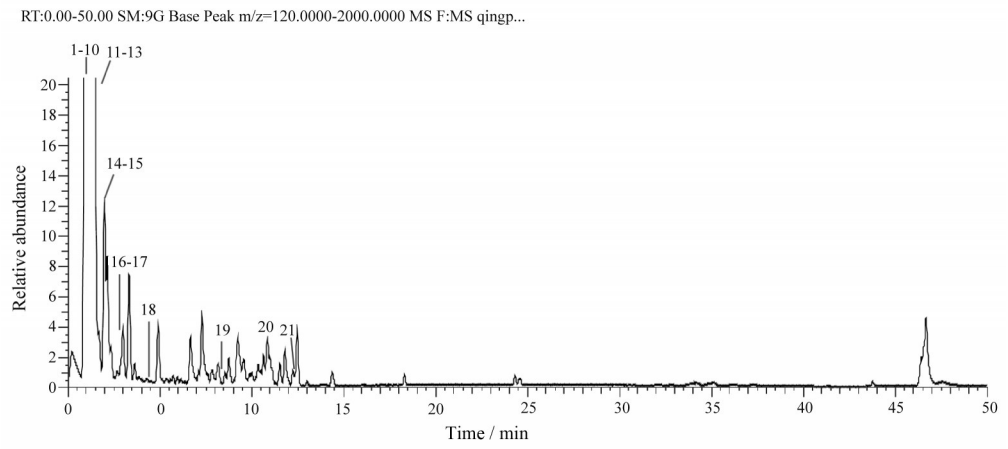


Figure 1 Total ion chromatogram of Ailao Mountain handmade brown sugar in positive ion mode. 1−21 correspond to those listed in Table 1

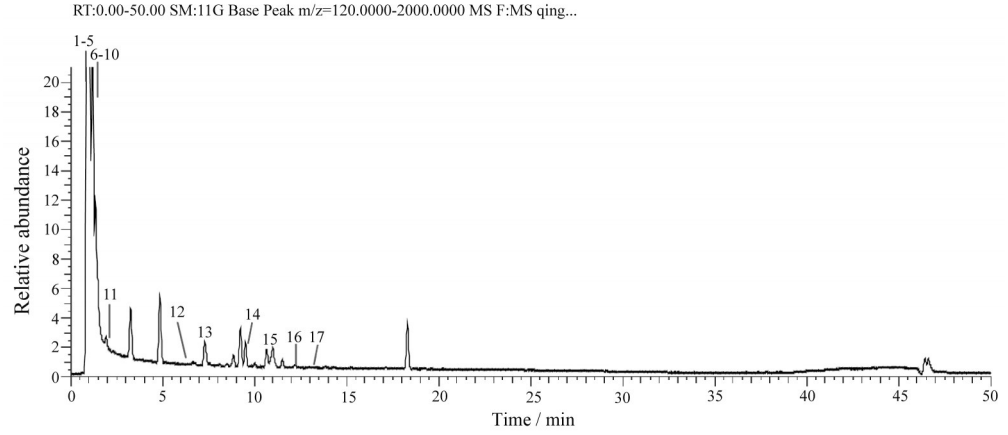


Figure 2 Total ion chromatogram of Ailao mountain handmade brown sugar in negative ion mode. Peaks 1−17 correspond to those listed in Table 2

Table 1 Identification results of components in Ailao Mountain handmade brown sugar in positive ion mode

No.	Formula	Name	Structure type	t_R /min	*m/z*		Annot. deltamass (ppm)	Secondary fragment *m/z*
					Annotation MW	Calc. MW		
1	$C_6H_{14}N_4O_2$	Arginine	Amino acid	0.87	174.111 68	174.111 39	−1.63	175.047 7, 151.938 5
2	$C_4H_8N_2O_3$	Asparagine	Amino acid	0.95	132.053 49	132.053 35	−1.1	133.064 9, 105.070 2, 86.096 9
3	$C_4H_9NO_2$	γ-Aminobutyric acid	Amino acid	0.96	103.063 33	103.063 54	2.05	104.107 3, 60.081 6, 87.044 6
4	$C_5H_9NO_2$	Proline	Amino acid	0.97	115.063 33	115.063 47	1.24	70.065 8, 116.070 8
5	$C_6H_{13}NO_5$	Glucosamine	Amino acid	0.97	179.079 37	179.079 07	−1.67	72.081 5, 118.086 5
6	$C_{12}H_{22}O_{11}$	α-Sophorose	Saccharide	1.00	342.116 21	342.115 53	−2	181.049 4, 343.101 2
7	$C_5H_{11}NO_2$	Valine	Amino acid	1.14	117.078 98	117.079 10	1	72.081 4, 118.086 4
8	$C_8H_{11}NO_3$	Pyridoxine	Vitamin	1.17	169.073 89	169.073 63	−1.58	170.080 9, 152.070 7, 124.075 8, 70.065 8
9	$C_5H_7NO_3$	Pyroglutamic acid	Amino acid	1.20	129.042 59	129.042 57	−0.15	84.081 3, 130.086 3
10	$C_9H_{11}NO_3$	Tyrosine	Amino acid	1.25	181.073 89	181.073 70	−1.06	136.075 6, 182.081 0, 165.054 5, 164.070 5
11	$C_6H_{13}NO_2$	Leucine	Amino acid	1.47	131.094 63	131.094 56	−0.52	86.096 9, 132.101 9
12	$C_{11}H_{12}O_4$	Sinapaldehyde	Aldehydes	1.51	208.073 56	208.073 31	−1.22	149.059 6, 121.064 8, 177.054 4, 209.080 5
13	$C_{10}H_{10}O_3$	Coniferaldehyde	Aldehydes	1.65	178.062 99	178.062 78	−1.22	345.105 4
14	$C_9H_{11}NO_2$	Phenylalanine	Amino acid	2.16	165.078 98	165.078 81	−1	120.080 9
15	$C_9H_{17}NO_5$	Pantothenic acid	Vitamin	2.35	219.110 70	219.110 40	−1.18	90.055 4, 220.117 5, 202.107 2, 184.096 8
16	$C_7H_6O_3$	Syringic acid	Organic acid	3.35	138.031 69	138.031 48	−1.55	121.076 2, 139.086 5, 109.076 3
17	$C_6H_6O_3$	5-Hydroxymethylfurfural	Aldehydes	3.43	126.031 69	126.031 65	−0.36	127.039 1, 109.028 7, 69.034 2, 81.034 0
18	$C_{11}H_{12}N_2O_2$	Tryptophan	Amino acid	4.62	204.089 88	204.089 65	−1.13	188.070 5, 146.059 9, 118.065 3
19	$C_{26}H_{28}O_{15}$	Neocarlinoside	Glycoside	8.60	580.142 82	580.142 56	−0.44	581.159 5, 419.106 7
20	$C_{23}H_{24}O_{11}$	Orientin 7,3′-dimethyl ether	Glycoside	11.10	476.131 86	476.131 40	−0.98	327.085 8, 477.138 6, 357.096 0, 459.128 3
21	$C_{29}H_{34}O_{16}$	Tricin 7-neohesperidoside	Glycoside	12.23	638.184 68	638.184 01	−1.06	331.080 8, 639.191 4, 493.133 2

Table 2 Identification results of components in Ailao Mountain handmade brown sugar in negative ion mode

No.	Formula	Name	Structure type	t_R /min	*m/z*		Annot. deltamass (ppm)	Secondary fragment *m/z*
					Annotation MW	Calc. MW		
1	$C_{12}H_{22}O_{11}$	α-Sophorose	Saccharide	0.94	174.111 39	174.111 68	0.13	173.111 3, 141.114 5
2	$C_6H_{12}O_6$	Glucose	Saccharide	0.96	132.053 35	132.053 49	−5.45	59.012 4, 89.023 0
3	$C_5H_{10}O_5$	Xylose	Saccharide	0.99	103.063 54	103.063 33	−7.82	71.012 4, 102.063 5
4	$C_{18}H_{32}O_{16}$	Raffinose	Saccharide	0.99	115.063 47	115.063 33	1.12	96.958 7
5	$C_4H_6O_5$	Malic acid	Organic acid	1.03	179.079 07	179.079 37	−9.41	115.002 4, 133.013 0, 71.012 5
6	$C_5H_7NO_3$	Pyroglutamic acid	Amino acid	1.17	342.115 53	342.116 21	−10.11	128.034 1, 341.115 5
7	$C_6H_6O_6$	Aconitic acid	Organic acid	1.36	117.079 10	117.078 98	−5.56	85.028 1, 116.079 1
8	$C_{17}H_{20}N_4O_6$	Riboflavin (vitamin B2)	Vitamin	1.44	169.073 63	169.073 89	−3.31	168.073 6, 119.033 7
9	$C_7H_6O_3$	Syringic acid	Amino acid	1.60	129.042 57	129.042 59	−9.09	37.023 2, 94.036 4
10	$C_9H_{11}NO_2$	Phenylalanine	Amino acid	1.94	181.073 70	181.073 89	−6.66	164.070 7, 96.958 7, 72.007 6
11	$C_9H_{17}NO_5$	Pantothenic acid	Vitamin	2.31	131.094 56	131.094 63	−2.03	88.039 0, 146.081 1
12	$C_8H_8O_3$	Syringic acid methyl ester	Ester	6.31	208.073 31	208.073 56	−7.31	207.073 3, 152.024 6
13	$C_{11}H_{12}O_4$	Sinapaldehyde	Aldehydes	7.27	178.062 78	178.062 99	−2.92	161.044 5, 73.028 0
14	$C_{22}H_{23}O_{11}$	Peonidin-3-galactoside	Flavonoids	9.50	165.078 81	165.078 98	−8.43	164.078 8, 147.181 1
15	$C_{23}H_{24}O_{11}$	Orientin 7,3′-dimethyl ether	Glycoside	11.10	219.110 40	219.110 70	0.49	218.110 4, 201.101 3
16	$C_{29}H_{34}O_{16}$	Tricin 7-neohesperidoside	Glycoside	12.23	138.031 48	138.031 69	1.37	137.031 4, 329.066 9
17	$C_{11}H_{12}O_5$	Sinapic acid	Organic acid	13.12	126.031 65	126.031 69	−1.67	66.030 4, 125.031 6

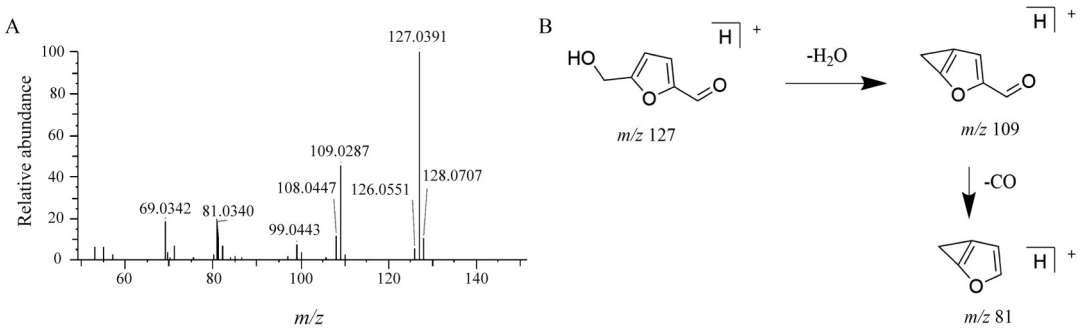


Figure 3 MS/MS spectrum (A) and fragmentation pathway (B) of 5-hydroxymethylfurfural in positive ion mode

ether, 质谱裂解规律如图4B所示。

2 ICP-MS测定

2.1 线性关系考察 将配制的标准溶液依次进行测定, 以标准溶液的浓度作为横坐标 (*X*), 各元素的响应值为纵坐标 (*Y*), 制作标准曲线, 见表3。26个元素的 *r* 为0.999～1.000, 检测限为0.001～3.231 μg·L^{-1}, 定量限为0.001～10.769 μg·L^{-1}, 线性关系良好。

2.2 红糖元素含量测定 三个批次红糖元素含量测定结果见表4。三批红糖中主要含有K、Mg、Ca等常量元素, 平均含量分别为9 638.435、2 260.313、2 220.465 mg·kg^{-1}。其次含有Fe、Zn、Cu、Se、Co、Cr等微量元素, 平均含量分别为73.795、48.428、4.486、2.505、2.466、2.106 mg·kg^{-1}。红糖来源于甘蔗, 对其质控评价参考2025年版中国药典对植物类药材及其饮片的要求。中国药典要求铅、镉、砷、汞、铜分别不超过5、1、2、0.2、20 mg·kg^{-1}。三个批次的红糖测得铅含量分别为0.364、0.249、0.446 mg·kg^{-1}; 镉含量分别为0.635、0.538、0.679 mg·kg^{-1}; 砷含量分别为0.479、0.405、0.489 mg·kg^{-1}, 铜含量分别为4.442、4.397、4.621 mg·kg^{-1}。以上重金属含量均符合中国药典要求。《GB 2762-2017 食品中污染物限量》规定了食糖及淀粉糖中铅含量不得超过0.5 mg·kg^{-1}, 砷含量不得超过0.5 mg·kg^{-1}。所测红糖中重金属含量远低于以上标准含量, 表明该红糖较为安全。

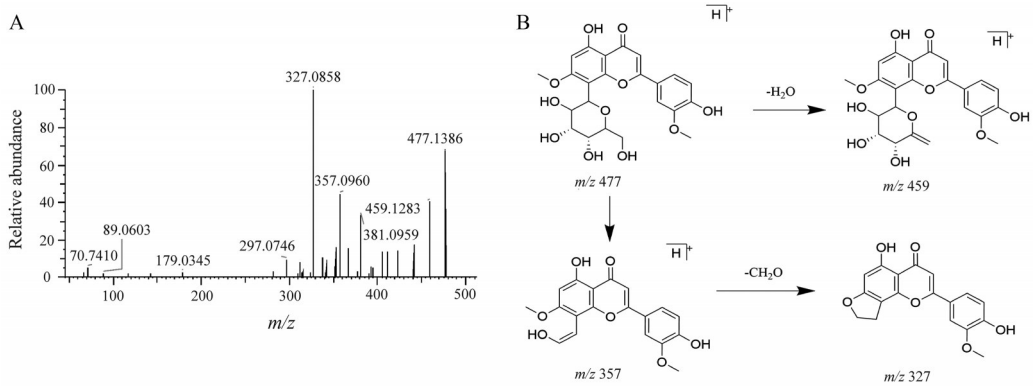


Figure 4 MS/MS spectrum (A) and fragmentation pathway (B) of orientin 7,3′-dimethyl ether in positive ion mode

Table 3 Linear equation, limit of detection and limit of quantification for each element in brown sugar

Element	Linear equation	*r*	Detection limit/μg·L^{-1}	Limit of quantitation/μg·L^{-1}
B	$Y = 134.688X + 1\,404.303$	0.999	0.855	2.849
Na	$Y = 3\,970.666X + 407\,170.084$	1.000	1.296	4.319
Mg	$Y = 1\,182.148X + 25\,086.288$	0.999	0.491	1.637
Al	$Y = 320.196X + 6\,008.560$	1.000	0.481	1.603
K	$Y = 1\,020.585X + 37\,088.554$	1.000	0.973	3.244
Ga	$Y = 64.325X + 14\,479.063$	0.999	3.231	10.769
Sc	$Y = 5\,529.681X + 76.223$	0.999	0.001	0.001
V	$Y = 20\,969.725X + 690.020$	0.999	0.003	0.011
Cr	$Y = 32\,524.531X + 28\,109.825$	0.999	0.003	0.011
Mn	$Y = 15\,200.555X + 11\,264.643$	0.999	0.025	0.082
Fe	$Y = 738.939X + 28\,490.057$	0.999	0.913	3.045
Co	$Y = 57\,800.829X + 2\,115.737$	1.000	0.002	0.005
Ni	$Y = 14\,415.772X + 12\,871.082$	1.000	0.025	0.085
Cu	$Y = 40\,343.763X + 24\,199.882$	1.000	0.011	0.037
Zn	$Y = 6\,103.200X + 184\,230.289$	1.000	0.550	1.832
Ga	$Y = 8\,835.509X + 184.224$	0.999	0.003	0.011
As	$Y = 3\,151.074X + 1\,245.841$	1.000	0.024	0.081
Se	$Y = 73.958X + 3.111$	1.000	0.063	0.208
Zr	$Y = 47\,376.054X + 6\,801.192$	1.000	0.007	0.023
Mo	$Y = 25\,203.893X + 3\,124.393$	0.999	0.009	0.029
Cd	$Y = 14\,841.320X + 1\,176.501$	1.000	0.011	0.036 3
In	$Y = 83\,961.493X + 341.783$	1.000	0.001	0.002
Te	$Y = 739.399X + 3.556$	1.000	0.006	0.019
Ba	$Y = 12\,166.418X + 29\,190.085$	1.000	0.090	0.301
Pb	$Y = 272\,365.055X + 538\,948.444$	1.000	0.045	0.152
Bi	$Y = 410\,155.804X + 8\,158.001$	1.000	0.001	0.002

Table 4 Determination of elemental content of three batches of brown sugar. A: HT20250227A; B: HT20250227B; C: HT20250227C

Element	A/mg·kg^{-1}	B/mg·kg^{-1}	C/mg·kg^{-1}	Average content/mg·kg^{-1}
Pb	0.364	0.249	0.446	0.353
As	0.479	0.405	0.489	0.458
Cd	0.635	0.538	0.679	0.617
Bi	0.788	0.638	0.803	0.743
Zr	1.728	0.538	0.351	0.872
In	1.716	1.436	1.819	1.657
Ga	1.901	1.590	2.020	1.837
Te	2.000	1.701	2.263	1.988
Cr	2.140	1.802	2.375	2.106
Mo	2.271	2.069	2.417	2.253
Sc	2.430	1.961	2.405	2.265
Co	2.659	2.153	2.588	2.466
Se	2.668	2.134	2.712	2.505
V	2.648	2.203	2.809	2.553
Ba	3.491	3.383	3.638	3.504
Ni	3.755	3.175	3.767	3.566
Cu	4.442	4.397	4.621	4.486
Mn	27.893	34.194	23.620	28.569
Al	35.546	28.552	35.078	33.059
Zn	48.901	48.456	47.928	48.428
B	46.823	93.082	58.777	66.227
Fe	72.689	83.967	64.728	73.795
Na	290.458	275.067	402.100	322.542
Ca	2 167.529	2 277.103	2 216.763	2 220.465
Mg	2 313.730	2 492.875	1 974.335	2 260.313
K	7 070.514	11 202.281	10 642.512	9 638.435

2.3 无机元素指纹谱图 为了更直观地观察不同批次红糖的元素含量差异, 根据含量的高低将元素分为三组。从图5可以看出三批红糖样品中K、B、Na、Mn、Zr含量差异较大, Al、Mg、Fe、Ca含量差异较小, Zn、Cu、Ni、Cd、As、Pb含量较为稳定。其中In、Ga、Te三种稀有元素在C批次中普遍较高。

2.4 元素相关性分析 如图6所示, Bi含量与Se含量呈极显著正相关, 与As、Ni含量呈显著正相关; In元素含量与Ga、V含量呈极显著正相关, 与Cd含量呈显著正相关; Ga元素含量与V含量呈极显著正相关, 与Cd含量呈显著正相关; Te含量与Mo、Pb、Cr含量呈显著正相关, 与Mn、Fe含量呈显著负相关; Sc元素含量与Al含量呈极显著正相关, 与Ni含量呈显著正相关; Mo含量与Pb、Cr含量呈极显著正相关, 与Fe含量呈极显著负相关, 与Mn含量呈显著负相关; Co含量与Al含量呈显著正相关; Se含量与As、Ni含量呈显著正相关; Pb含量与Cr含量呈极显著正相关, 与Mn、Fe含量呈极显著负相关; Ni含量与Al含量呈显著正相关; Cr含量与Mn、Fe含量呈极显著负相关; Mn含量与Fe含量呈极显著正相关。

2.5 重金属元素健康风险评估 通过公式 (1) 和 (2) 计算得三批红糖中的Cd、Cu、Cr的HI值均小于1, 证明三批红糖中Cd、Cu、Cr短期服用风险危害较小, 但Cd和Cr的HI值接近1, 应警惕长期摄入的累计效应。三批红糖中的Cd、Cu、Cr的HI值见表5。通过公式 (3) 计算得三批红糖中的Pb、As的MOE值均大于1, 证明三批红糖中的Pb、As致癌风险较小。三批红糖中的Pb、As的MOE值见表5。

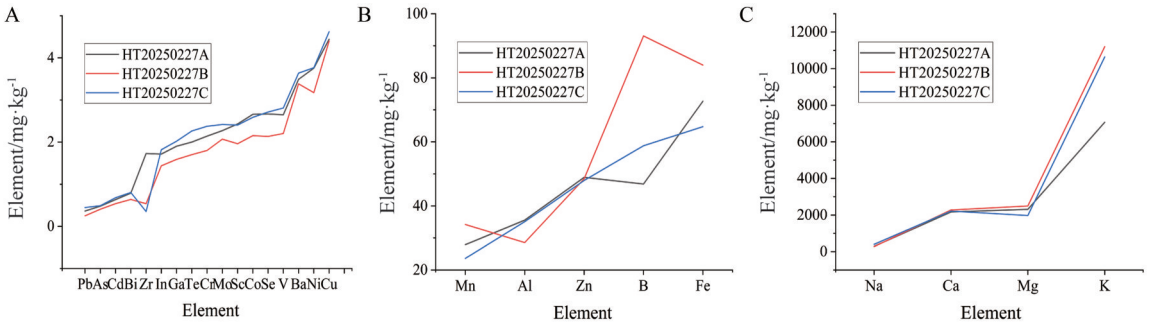


Figure 5 Characteristic spectrum of inorganic elements of brown sugar. A: Low content group of brown sugar element; B: Medium content group of brown sugar element; C: High content group of brown sugar element

Table 5 EXP, HI and MOE values of heavy metals in three batches of brown sugar. EXP: Heavy metal intake per person per day per kilogram of body weight; HI: Hazard index of heavy metal elements; MOE: Margin of exposure. A: HT20250227A; B: HT20250227B; C: HT20250227C

Element	EXP			HI			MOE		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Cd	0.071 0	0.060 2	0.075 9	0.854 9	0.725 4	0.914 8	/	/	/
Pb	0.040 7	0.027 9	0.049 8	/	/	/	3.194 4	4.662 1	2.608 0
As	0.053 6	0.045 3	0.054 6	/	/	/	5.595 7	6.618 8	5.490 2
Cu	0.496 7	0.491 6	0.516 7	0.009 9	0.009 8	0.010 3	/	/	/
Cr	0.239 3	0.201 5	0.265 6	0.797 8	0.671 6	0.885 3	/	/	/

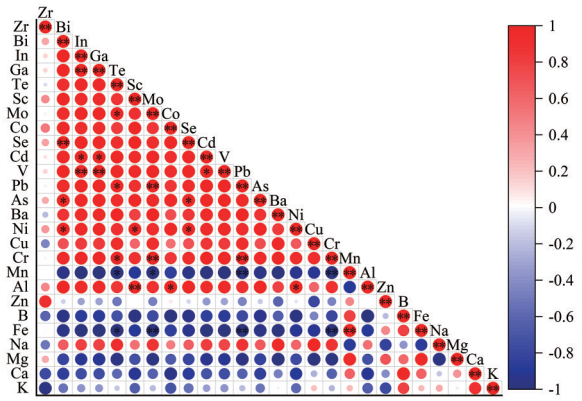


Figure 6 Correlation heatmap of 26 inorganic elements in brown sugar. $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* the null hypothesis of a zero population correlation coefficient

以TDI为指标评估哀牢山手工红糖对幼儿影响: 通过计算得哀牢山红糖引起的20 kg体重幼儿每日As、Cd、Pb、Cu、Cr最大暴露量分别为4.578、6.173、3.530、44.863、21.057 μg·d^{-1}, 分别为0.46%、30.87%、4.94%、0.45%、49.13% TDI。以上说明哀牢山红糖重金属单一及联合暴露均远未超过国际容许摄入量, 充分证明该红糖对幼儿食用安全、风险可控。

讨论

本研究通过UPLC-Q-Orbitrap-HRMS技术对哀牢山手工红糖中的化学成分进行检测, 将得到的一级离子和二级碎片离子与质谱数据库离子信息进行对比确定化合物类别。在红糖样本中共鉴定出30种活性成分, 可分为氨基酸及其衍生物类10种、糖及衍生物类8种、有机酸类4种、醛类3种、其他类5种。该结果表明, 哀牢山手工红糖成分多样性远超以单一蔗糖为主的工业化白糖, 证实传统工艺通过低温熬煮和物理压榨, 最大程度保留了甘蔗汁中的天然活性物质。本研究发现, 哀牢山手工红糖采用“五滚压榨、三次百目过滤、柴火慢熬、人工搅拌成沙”等传统工艺, 全程低温(≤ 120 ℃) 慢熬, 未经过高度精炼, 显著保留了甘蔗中热敏性成分如γ-氨基丁酸、核黄素、泛酸等水溶性维生素及多种游离氨基酸 (如缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸), 这些成分在工业化红糖中因高温浓缩、活性炭脱色、离心精制等工艺步骤而易被降解或去除。此外, 传统工艺未引入化学助剂, 使得红糖中天然黄酮苷类 (如orientin 7,3′-dimethyl ether, tricin 7-neohesperidoside) 及有机酸 (如苹果酸、乌头酸) 得以保留, 这些成分在工业化产品中含量显著降低。相比之下, 工业化红糖以高产量、高纯度为目标, 成分趋于单一, 主要为蔗糖, 微量元素和活性成分显著减少。

研究该红糖中的化学成分, 对其营养价值的评估和药理作用的研究起到十分必要的作用。黄酮苷类成分 (orientin 7, 3′-dimethyl ether, tricin 7-neohesperidoside, peonidin-3-galactoside) 的检出, 为红糖的抗氧化活性提供了物质基础。同时, 在红糖中检测到多种氨基酸, 其中缬氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸、色氨酸是人体必需氨基酸。必需氨基酸是合成蛋白质的关键成分, 蛋白质是细胞结构和功能的基础, 参与身体的生长、修复和维持正常生理功能[24]。哀牢山手工红糖由甘蔗汁熬制而成, 甘蔗汁本身含有少量游离氨基酸和肽类, 这些氨基酸在加工过程中部分保留下来。这些氨基酸的存在表明, 手工红糖可能在一定程度上为人体提供必需的营养成分。但是红糖中的氨基酸含量可能相对较低, 不能完全满足人体对必需氨基酸的日常需求。因此, 红糖可以作为饮食中的一部分, 但不能替代富含蛋白质的食物 (如肉类、鱼类、豆类和坚果) 作为主要的氨基酸来源。

此外, 哀牢山手工红糖中还含有多种有机酸, 如苹果酸、乌头酸等。苹果酸是一种常见的有机酸, 具有酸味柔和、口感清爽的特点, 它能够增强红糖的风味, 使红糖的甜味更加醇厚, 同时苹果酸在人体代谢过程中可以参与三羧酸循环, 为人体提供能量, 促进新陈代谢[25]。哀牢山手工红糖使用低温慢熬 (通常 ≤ 120 ℃) 的传统加工方法, 避免了红糖的高温焦化, 使热敏性物质如γ-氨基丁酸和维生素B6、核黄素得以保存。检测结果还显示哀牢山手工红糖中存在有多种小分子糖类, 这些糖类成分的共同存在使得哀牢山手工红糖在提供能量的同时, 还具有一定的健康促进作用, 有助于满足人体对不同糖类的需求, 对于维护人体的正常生理功能和健康状态具有积极的影响[26]。

通过ICP-MS法对红糖中的无机元素含量进行测定, 通过参考国家安全标准与中国药典计算Exp、HI、MOE值进行重金属元素健康风险评估, 结果说明三批红糖较为安全可靠。红糖中测出平均Fe元素含量为73.795 mg·kg^{-1}, 这一发现为“红糖具有补血功能”的传统理论提供了科学依据。红糖中Na、K、Mg等电解质元素含量较高。其中Na、K的富集特性有助于维持人体电解质平衡[27], Mg是构成骨骼矿物质的重要成分之一, 其存在为红糖潜在的骨骼健康促进作用提供了物质基础[28]。这些发现共同提示, 红糖可能通过其特殊的矿物质构成, 在维持电解质平衡、促进心血管及骨骼健康方面发挥辅助作用。但红糖中糖类物质含量较高[29], 过量食用容易造成肥胖、糖尿病等慢性疾病, 且摄入过量的钾可能会造成高血钾症[30], 因此要合理服用红糖, 避免过量。

UPLC-Q-Orbitrap-HRMS具有高分辨率和多级质谱能力, 可高效鉴定红糖中的有机成分, 结合ICP-MS对无机元素 (如镁、钾及痕量重金属) 的高灵敏度检测, 能系统分析红糖中的营养成分及潜在健康功效, 为红糖的质量控制、毒理评估、营养学研究提供科学依据。

作者贡献: 尹翠然负责实验设计、实验操作及文章撰写; 郭海涛负责数据处理; 王嘉慧负责文章修改及实验操作; 胡子怡、于晗、刘庚洋、于泽坤、李杰姝、王鉴璟负责文献查阅及整理; 马涛、王春国、刘永刚负责实验设计及文章审阅。

利益冲突: 本文所有作者声明不存在利益冲突关系。

References

[1] Yang T, Shen SY, Wang LM, et al. Comparative analysis of nutritional and aroma components of red sugar under different processing methods [J]. Sci Technol Food Ind (食品工业科技), 2021, 42: 43-55.

[2] Che XN, Chen HJ, Wang B, et al. Research progress on nutritional components and health benefits of brown sugar [J]. China Condiment (中国调味品), 2020, 45: 194-200.

[3] Xu M, Zhang YT, Wang Y, et al. Rapid determination of acrylamide in brown sugar by matrix dispersion solid-phase extraction combined with ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chem Res Appl (化学研究与应用), 2025, 37: 119-127.

[4] Gao YF, Pang YH, Zhen ZP, et al. Determination of 3-nitropropionic acid in brown sugar by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Sugarcane Canesugar (甘蔗糖业), 2019, (03): 56-59.

[5] Polovková M, Šimko P. Determination and occurrence of 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in white and brown sugar by high performance liquid chromatography [J]. Food Control, 2017, 78: 183-186.

[6] Meng P. Determination of *Rubia* red pigment in black tea and red sugar by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. J Anal Sci (分析科学学报), 2024, 40: 703-708.

[7] Yang K, Huang MS, Cai XY, et al. QuEChERS-GC-MS/MS method for determination of 172 pesticide residues in red sugar [J]. J Food Saf Qual (食品安全质量检测学报), 2025, 16: 97-103.

[8] Gong N. Determination of fructose, glucose and sucrose contents in Yushu Red Sugar by HPLC-RID and HPLC-ELSD methods [J]. J Xiangtan Univ (湘潭大学学报), 2024, 46: 98-105.

[9] Chen Q, Chen J, Chen H, et al. Determination of organic acids in brown sugar by solid-phase extraction coupled with high-performance liquid chromatography [J]. Food Res Dev (食品研究与开发), 2020, 41: 173-178.

[10] Zhang F, Teng H, Jin Y, et al. Extraction and determination of total polyphenols from brown sugar and their *in vitro* antioxidant activity [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2020, 46: 231-237

[11] Yang W, Li R, Fan XX, et al. Determination of six nutrient elements in brown sugar by diluted acid microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Food Ferment Ind (食品与发酵工业), 2021, 47: 261-264, 270.

[12] Lu JH, Fan XM, Huang XY, et al. Determination of trace rare earth elements in brown sugar by ICP-MS [J]. Sugarcane Canesugar (甘蔗糖业), 2018, (1): 45-49.

[13] Liao YH, Lu JK, Niu Y, et al. Study on the mechanism of blood-entering components of Guanxin Qiwei Tablets against atherosclerosis based on HPLC-Q-Exactive-MS/MS and network pharmacology [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2025, 60: 449-458.

[14] Yang HL, Zhong WT, Guo YS, et al. Analysis of inorganic elements content in different batches of *Pheretima* polypeptides by ICP-MS combined with chemometrics [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2024, 59: 1040-1047.

[15] Zhong Q, Luo FJ, Chen ZM, et al. Analysis of bifenazate residues in tea by ultra-high performance liquid chromatography-triple quadrupole tandem mass spectrometry and risk assessment [J]. J Chin Mass Spectrom Soc (质谱学报), 2019, 40: 32-41.

[16] Zhou JM, Jiang ZC, Xu GL, et al. Distribution of metal elements in groundwater around iron mines and health risk assessment [J]. China Environmental Sci (中国环境科学), 2019, 39: 1934-1944.

[17] Zuo TT, Wang Y, Zhang L, et al. Technical guidelines for safety risk assessment of exogenous harmful residues in traditional Chinese medicines [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2019, 39: 1902-1907.

[18] Fei YQ, Xiao L, Wang B, et al. Residue analysis and risk assessment of heavy metals and harmful elements in 37 plant-based medicinal materials [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2021, 41: 1000-1008.

[19] Li YL, Ju SS, Zhang B, et al. Study on trace element fingerprint profiles and safety evaluation of different medicinal parts of chicory based on chemometrics combined with ICP-MS [J]. China J Tradit Chin Med Pharm (中华中医药杂志), 2023, 38: 1190-1195.

[20] Chen XY, Li FF, Xie XL, et al. Comparison of heavy metals and harmful elements content changes in *Aucklandia lappa* before and after processing based on ICP-MS [J]. Spec Wild Econ Anim Plant Res (特产研究), 2023, 45: 135-138.

[21] Ma XJ, Cheng Y, Cui YB, et al. Contamination analysis and health risk assessment of heavy metals and harmful elements in *Bombyx batryticatus* [J]. China Insp Body Lab (中国检验检测), 2023, 31: 47-50.

[22] Xiao Qi, Li Z, Chen BL, et al. Risk assessment of heavy metals and harmful elements residues and difference of cadmium residues in *Curcuma* plants [J]. Chin J Pharm Anal (药物分析杂志), 2022, 42: 1599-1607

[23] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, World

Health Organization. Safety Evaluation of Certain Contaminants in Food [M]. Geneva: World Health Organization, 2011.

[24] Liu W, Wang T, Zhao K, et al. Effects of individual essential amino acids on growth rates of young rats fed a low-protein diet [J]. Animals, 2024, 14: 959.

[25] Wu JL, Wu QP, Zhang JM. Research progress on physiological functions of *L*-malic acid [J]. Food Sci (食品科学), 2008, 29: 692-695.

[26] Zhang ZQ, Jiang XL, Guan HS. Biological activities of oligosaccharides and potential application value of marine-derived oligosaccharides [J]. Chin J Mar Drugs (中国海洋药物), 2003, (3): 51-56.

[27] Ji TT, Jiang XW. Research progress and prospects of potassium stable isotopes in hydrogeochemistry [J]. Hydrogeol Eng Geol (水文地质工程地质), 2023, 50: 10-19.

[28] Wu H, Liu XH. Research progress on the mechanism of magnesium regulation in cardiovascular calcification [J]. Chin J Cardiovasc Med (中国心血管杂志), 2022, 27: 611-614.

[29] Liu ZY, Xu W, Lu B, et al. Comprehensive evaluation and analysis of the nutritional quality of century-old sugarcane brown sugar [J]. Mod Food Sci Technol (现代食品科技), 2023, 39: 213-224.

[30] Chen XN, Gao CN. Diagnosis and treatment of hyperkalemia in patients with chronic kidney disease [J]. Chin J Nephrol Dial Transplant (肾脏病与透析肾移植杂志), 2022, 31: 52-53.