

GCMSMS 法测定巴氏杀菌乳中 9 种香精成分

GCMSMS-204

摘要: 本文使用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气质联用仪建立了巴氏杀菌乳中 9 种香精成分的测定方法。结果表明：9 种香精成分标准品在 5~500 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，各组分校准曲线线性良好，线性相关系数 (R) 均在 0.997 以上，方法检出限为 1.69-12.97 $\mu\text{g/kg}$ ，定量限为 5.64-43.23 $\mu\text{g/kg}$ 。取 5 $\mu\text{g/L}$ 浓度点重复进样 6 次，峰面积的相对标准偏差 (RSD%) 小于 5%，精密度良好。对实际样品进行低浓度的三次加标回收率试验，平均加标回收率在 73~107% 之间。该方法前处理过程简单快速，检测准确度和灵敏度高，适用于巴氏杀菌乳中 9 种香精成分的检测要求。

关键词: 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 巴氏杀菌乳 香精

巴氏杀菌乳是以新鲜牛奶为原料，采用巴氏杀菌法加工而成的牛奶，特点是采用 72~85°C 左右的低温杀菌，在杀灭牛奶中有害菌群的同时完好地保存了营养物质和纯正口感。目前市面上巴氏杀菌乳种类繁多，风味各异。

香兰素、乙基香兰素等具有香荚兰豆气味及浓郁的奶香，作为食品添加剂被广泛用于糕点、糖果以及烘烤食品等行业中，但人体超量摄入可能导致头晕、恶心、呕吐，甚至损伤肝脏。香豆素具有芳香气味，但毒理实验已证明它会抑制凝血因子在肝脏的合成，继而造成肝脏损伤，目前已被世界卫生组织国际癌症研究机构列入致癌物清单。然而其衍生物例如二氢香豆素、7-甲基香豆素等则可能被作为替代物添加到食

品中。《GB 2760-2014 食品添加剂使用标准》中针对巴氏杀菌乳做了明确规定，不得添加食品用香精香料。

目前，针对食品中香豆素类和香兰素类物质的测试主要有气相色谱 - 质谱法、液相色谱法、液相色谱 - 质谱法等。相比液相色谱法，气相色谱质谱法对应的前处理简单，更易操作，但在复杂基质多组分分析时，气相色谱 - 质谱法使用的选择离子监测 (SIM) 模式易受样品基质干扰影响，从而出现假阳性结果。

本文开发了气相色谱 - 三重四极杆质谱法，采用 MRM 模式建立了分析香豆素等 9 种香精成分的方法，该方法前处理过程简单，选择性和抗干扰能力更强，定量更加准确。

■ 实验部分

1.1 仪器

三重四极杆气质联用仪：GCMS-TQ8050 NX

1.2 分析条件

色谱柱：Rxi-5 Sil MS (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

进样口温度：250°C

柱温程序：80°C (2 min) $_10^\circ\text{C}/\text{min}$ $_170^\circ\text{C}$ (1 min) $-60^\circ\text{C}/\text{min}$ -270°C (10 min)

恒线速度方式：36.8 cm/sec

进样方式：不分流进样

进样量：1 μL

离子化方式：EI

接口温度：250°C

离子源温度：250°C

检测器电压：调谐电压 +0.5 kV

采集方式：MRM，MRM 参数见表 1

1.3 样品前处理

准确称取液体巴氏杀菌乳 1 g，置于 50 mL 离心管中，加入 15 mL 无水乙醇，涡旋 1 min，低温离心（4℃，8000 r/min）5 min，取 1 mL 上清液，用 0.22 μm 尼龙滤膜过滤后，上机检测。

1.4 基质标准溶液的配制

称取不含目标物的液体巴氏杀菌乳 1 g，按照 1.3 前处理方法得到基质提取液，用基质提取液作为溶剂配制基质标准溶液。

■ 结果与讨论

2.1 标准色谱图

基质标准溶液标准色谱图如图 1 所示，化合物相关信息见表 1，化合物质量色谱图见图 2。

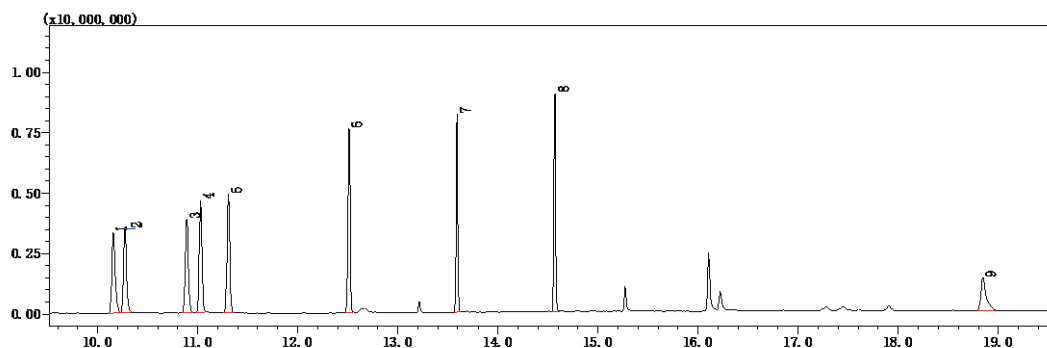


图 1 9 种香精成分 10 µg/mL 混合标准溶液 TIC 色谱图

表 1 9 种香精成分的保留时间及 MRM 模式下优化的质谱参数

No.	化合物	CAS No.	保留时间 min	目标离子对 (碰撞能 /V)	参考离子对 (碰撞能 /V)
1	二氢香豆素	119-84-6	10.234	148.00>120.10 (9)	120.00>91.10(15) 148.00>91.00(27)
2	香兰素	121-33-5	10.358	151.00>123.10 (9)	151.00>108.10(15) 151.00>52.10(39)
3	香豆素	91-64-5	10.976	146.00>118.10(15)	118.00>89.10(21) 146.00>89.10(33)
4	乙基香兰素	121-32-4	11.125	137.00>109.00 (9)	166.00>137.10(15) 137.00>81.10(15)
5	甲基香兰素	120-14-9	11.408	166.00>77.10 (27)	165.00>77.10(15) 165.00>137.10(9)
6	7- 甲基香豆素	2445-83-2	12.574	160.00>132.10 (9)	132.00>104.10(9) 131.00>77.10(21)
7	7- 甲氧基香豆素	531-59-9	13.627	176.00>148.10 (9)	148.00>133.10(9) 133.00>77.10(15)
8	7- 乙氧基 -4- 甲基 香豆素	87-05-8	14.612	204.00>148.10 (15)	148.00>91.10(24) 148.00>120.10(9)
9	环香豆素	518-20-7	19.145	265.00>187.10 (15)	265.00>121.10(21) 322.00>265.20(15)

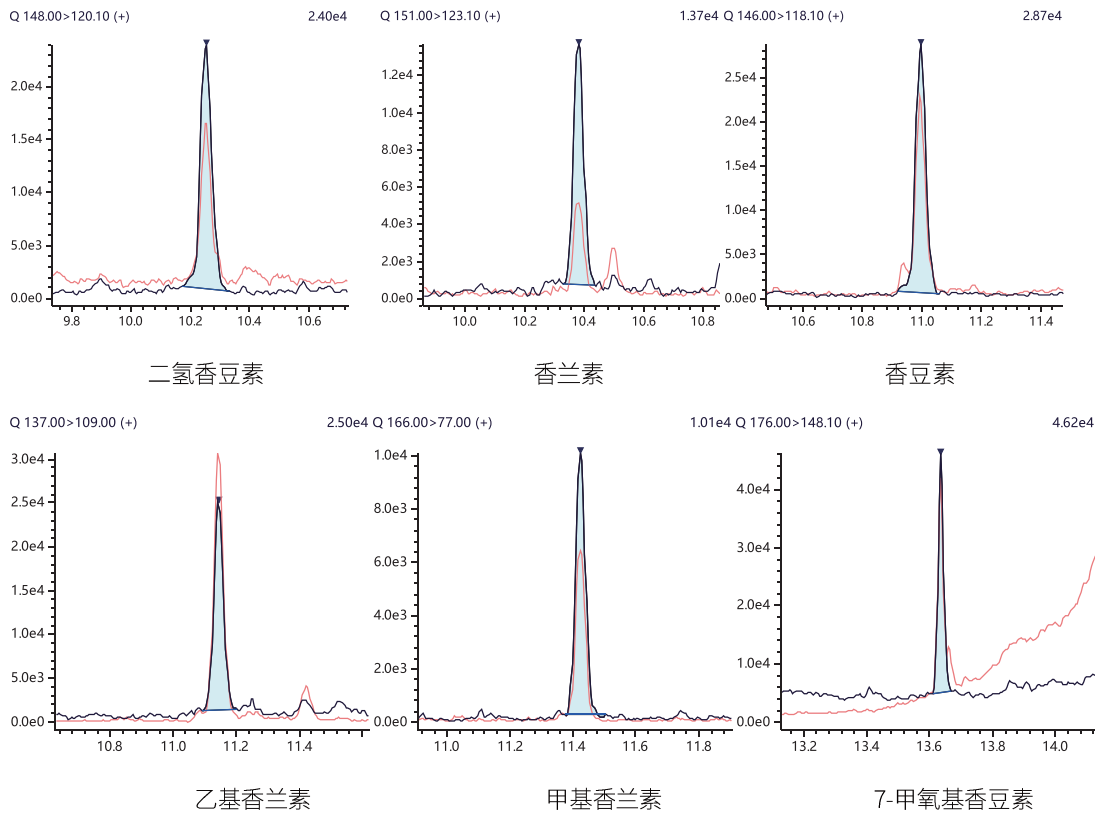


图2 部分香精成分 MRM 谱图 (5 µg/L)

2.2 标准曲线

按照 1.4 方法配制浓度分别为 5、10、50、100、200、500 µg/L 的 9 种香精成分的混合标准工作溶液，按优化后的仪器条件进行分析。以各目标物的质量浓度为横坐标，峰面积为纵坐标绘制外标法标准曲线。结果显示（见表 2），使用校准曲线最低点数据，分别以 3 倍和 10 倍信噪比 (S/N) 计算各目标物的方法检出限和定量限，9 种香精成分的方法检出限为 1.69-12.97 µg/kg，定量限为 5.64-43.23 µg/kg，各线性范围内标准曲线的相关系数均大于 0.997，线性关系良好。

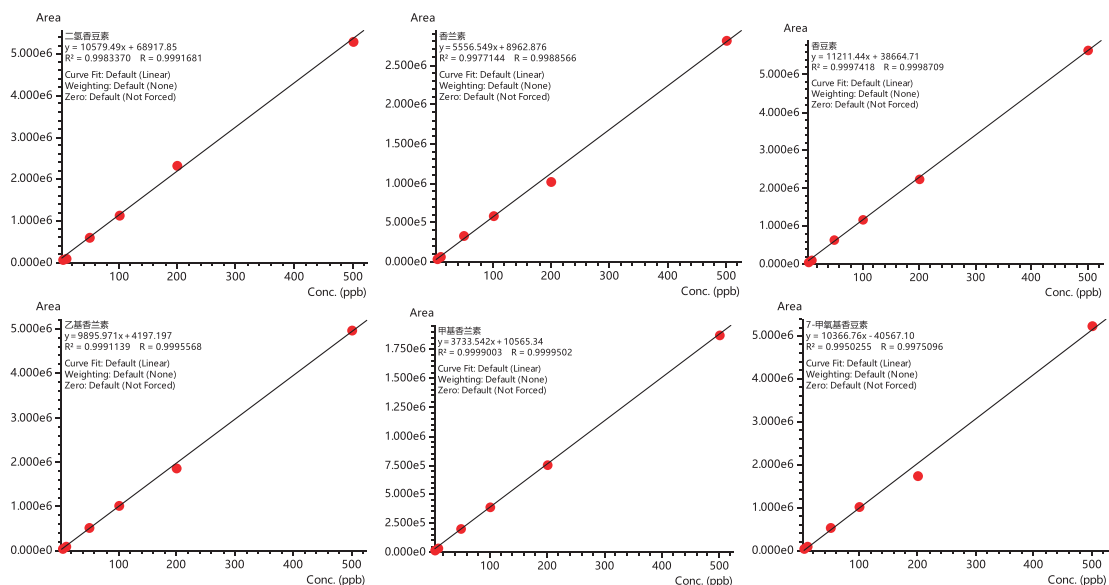


图3 部分香精成分标准曲线

表 2 9 种香精成分曲线相关系数、检出限与定量限

No.	目标物	相关系数 R	检出限 (µg/kg)	定量限 (µg/kg)
1	二氢香豆素	0.9991	5.19	17.31
2	香兰素	0.9988	12.97	43.23
3	香豆素	0.9998	3.29	10.96
4	乙基香兰素	0.9995	5.96	19.88
5	甲基香兰素	0.9999	3.93	13.10
6	7- 甲基香豆素	0.9986	1.81	6.04
7	7- 甲氧基香豆素	0.9975	5.99	19.97
8	7- 乙氧基 -4- 甲基香豆素	0.9998	1.69	5.64
9	环香豆素	0.9993	9.07	30.22

2.3 重复性测试

取浓度为 5.0 µg/L 的基质标准溶液，重复进样 6 次，考察仪器重复性，各组峰面积及 RSD% 见表 3。

表 3 9 种香精成分重复性结果

No.	组分名称	目标离子对峰面积						RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	
1	二氢香豆素	67934	70053	68961	68591	71864	66797	2.55
2	香兰素	38851	38434	39576	37861	35604	35643	4.45
3	香豆素	66878	67845	69692	70936	66522	72382	3.40
4	乙基香兰素	54854	54815	52375	56121	56133	58495	3.64
5	甲基香兰素	21541	21431	20293	22904	21108	21063	4.03
6	7- 甲基香豆素	69847	70593	72036	71287	68427	73019	2.30
7	7- 甲氧基香豆素	55843	55162	58611	56407	56644	56206	2.06
8	7- 乙氧基 -4- 甲基香豆素	71058	75038	72282	71694	68461	72953	3.03
9	环香豆素	5875	5692	5705	5570	6109	6225	4.39

2.4 样品回收率测试

在空白样品基质中添加校准溶液，按照 1.3 前处理过程制得加标浓度为 75 µg/kg 的样品加标溶液，重复测试 3 个平行样品，回收率结果及 RSD 如表 4 所示。

表 4 样品加标回收率

No.	目标物	添加水平 75 µg/kg				
		测试值 1 µg/kg	测试值 2 µg/kg	测试值 3 µg/kg	平均回收率 (%)	RSD (%)
1	二氢香豆素	66.15	65.1	72.15	90	5.64
2	香兰素	54.6	53.25	56.25	73	2.82
3	香豆素	67.05	63.6	67.05	88	2.99
4	乙基香兰素	75.9	71.25	70.8	97	3.83
5	甲基香兰素	64.8	66.15	65.7	87	1.00

6	7- 甲基香豆素	70.35	66.75	70.65	92	3.13
7	7- 甲氧基香豆素	70.2	67.8	71.7	93	2.79
8	7- 乙氧基 -4- 甲基香豆素	81.3	77.85	81.75	107	2.66
9	环香豆素	72.45	63.9	62.25	88	8.23

2.5 实际样品测试

取市售 2 个品牌的巴氏杀菌乳样品进行实验，得到样品色谱图见图 4，两个样品中均未检出 9 种目标组分。

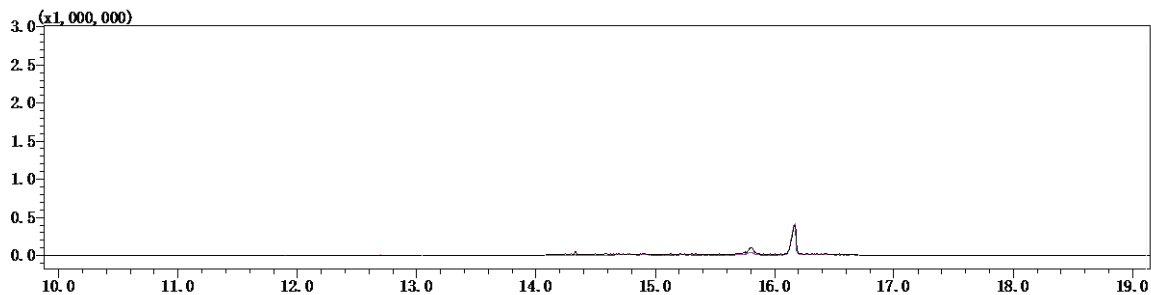


图 4 样品色谱图

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8050 NX 建立了巴氏杀菌乳中 9 种香精成分的检测方法。该方法在 5~500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 范围内标准曲线均线性良好，线性相关系数 (R) 大于 0.997，各组分的检出限和定量限分别为 1.69-12.97 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 5.64-43.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。空白样品中以 75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 浓度水平加标，平均回收率在 73~107% 之间。该方法采用低温离心法进行样品前处理，过程简单，灵敏度高，重复性好，可适用于巴氏杀菌乳中香精成分的测试。

岛津应用云

