

GCMSMS 法测定发酵乳中 4 种糠醛类化合物含量

GCMSMS-210

摘要: 本文使用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪建立了发酵乳中糠醛、2-乙酰基呋喃、5-甲基-2-糠醛和 5-羟甲基-2-糠醛等 4 种糠醛类化合物的定量方法。4 种糠醛类化合物以苯甲醛-d6 作为内标, 标准曲线在 1~250 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内, 线性相关系数均大于 0.999。浓度为 1 $\mu\text{g/L}$ 混合标准溶液连续进样 6 针, 4 组分峰面积 RSD% 均小于 5.11%。加标回收率实验中 4 种糠醛类化合物加标回收率分布在 73.2%~110.8% 之间。实验结果证明: 该方法简单、准确, 灵敏度高, 为发酵乳中糠醛类化合物含量测定提供了可靠的分析方法。

关键词: 三重四极杆气相色谱质谱联用仪 发酵乳 糠醛类化合物 糠醛类化合物 内标法

发酵乳是以牛(羊)乳或乳粉为原料, 经过均质、巴氏杀菌及发酵等过程制成的, 具有独特的风味, 其营养成分更容易被人体吸收利用。巴氏杀菌通常保持在 90 至 95 $^{\circ}\text{C}$ 温度下近一分钟至几分钟, 或保持在约 85 $^{\circ}\text{C}$ 温度下 30 分钟。在热处理过程中, 氨基和还原糖之间容易发生美拉德反应(MR), 从而改变发酵乳的感官和功能特性, 并影响产品的质量。同时会生成不良化合物 5-羟甲基-2-糠醛(5-HMF), 此化合物是衡量美拉德反应程度的重要指标, 其经水解可产生糠醛(F)、2-乙酰基呋喃(FMC)和 5-甲基-2-糠醛

(5-MF)。据报道, 5-HMF 很容易通过胃肠道从食物中吸收, 代谢成不同的衍生物后, 通过尿液排出体外, 同时, 5-HMF 还会转化为 5-磺酰甲基-2-糠醛(SMF), 一种不可排泄的遗传毒性化合物。因此, 发酵乳的营养价值及质量问题备受科研工作者关注。

本文使用三重四极杆气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8050 NX 建立了发酵乳中糠醛、2-乙酰基呋喃、5-甲基-2-糠醛和 5-羟甲基-2-糠醛等 4 种糠醛类化合物的定量分析方法。为发酵乳中糠醛类化合物含量测定提供参考。

■ 实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱: SH-Stabilwax (30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm)

柱温程序: 70 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _150 $^{\circ}\text{C}$ _20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _250 $^{\circ}\text{C}$ (10 min)

进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

流速控制方式: 恒线速度

线速度: 36.5 cm/sec

进样方式: 不分流进样

高压进样: 250kPa, 1min

离子化方式: EI

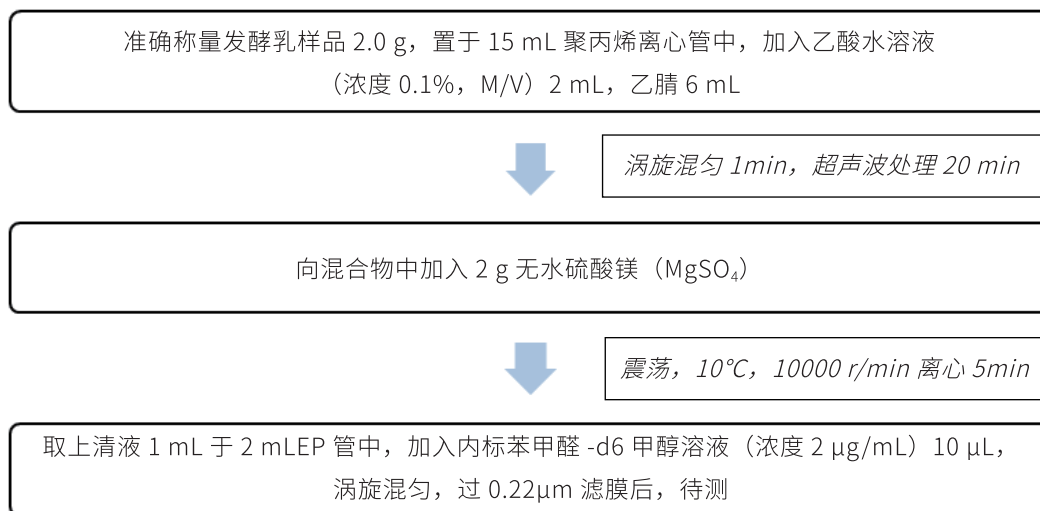
离子源温度: 200 $^{\circ}\text{C}$

色谱质谱接口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压: 调谐电压 +0.7kV

采集模式: MRM, 离子信息见表 1

■ 样品前处理



■ 结果与讨论

3.1 标准品色谱图

标准溶液谱图见图 1，各组分出峰时间详见表 1。

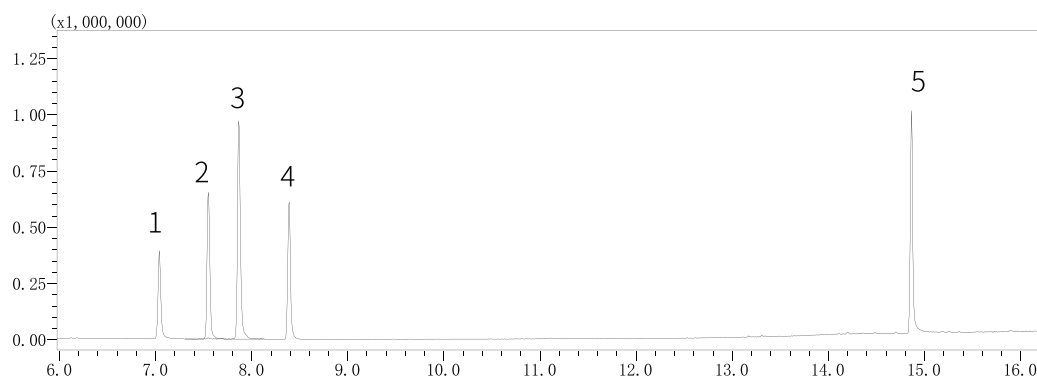


图 1 4 种糠醛类化合物谱图 (F,FMC,5-MF: 50 μg/L; 5-HMF: 100 μg/L)

表 1 4 种糠醛类化合物及内标物信息

No.	化合物名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	糠醛	Furfural	98-01-1	7.040	95.00 > 39.00	12	95.00 > 67.00	6
2	2-乙酰基呋喃	2-Acetylfuran	1192-62-7	7.550	110.00 > 95.10	8	110.00 > 67.10	22
3	苯甲醛-d6	Benzaldehyde-d6	17901-93-8	7.867	112.00 > 110.10	7	110.00 > 82.10	10
4	5-甲基-2-糠醛	5-Methylfurfural	620-02-0	8.389	109.00 > 53.10	12	109.00 > 81.10	4
5	5-羟甲基-2-糠醛	5-Hydroxymethylfurfural	67-47-0	14.865	126.00 > 97.10	6	126.00 > 69.10	12

3.2 标准曲线及 MRM 图

以乙腈为溶剂，配制 4 种糠醛类化合物混合标准溶液，其中糠醛、2-乙酰基呋喃和 5-甲基-2-糠醛浓度梯度为 1、5、20、50、100、250 $\mu\text{g/L}$ ，5-羟甲基-2-糠醛浓度梯度为 2、10、40、100、200、500 $\mu\text{g/L}$ ，向 1 mL 糠醛类化合物混合标准溶液中加入内标物苯甲醛-d6 甲醇溶液 (2 $\mu\text{g/mL}$) 10 μL ，取 1 μL 进样，以浓度比值为横坐标，各化合物峰面积与内标峰面积比值为纵坐标绘制标准曲线，4 种糠醛类化合物标准曲线如图 2 所示。4 个目标物 (F,FMC,5-MF: 1 $\mu\text{g/L}$; 5-HMF: 2 $\mu\text{g/L}$) MRM 谱图如图 3 所示。

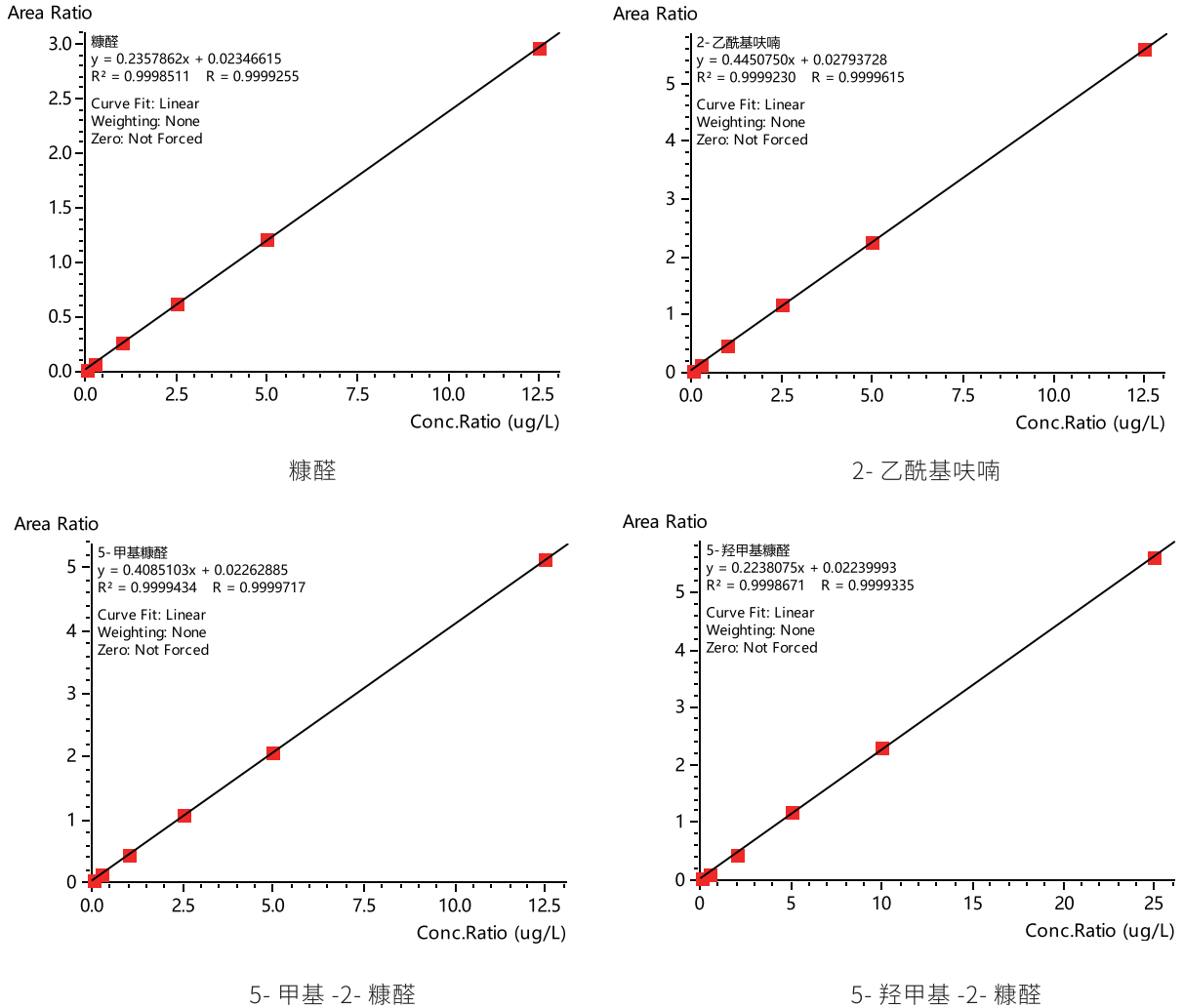


图 2 4 种糠醛类化合物标准曲线

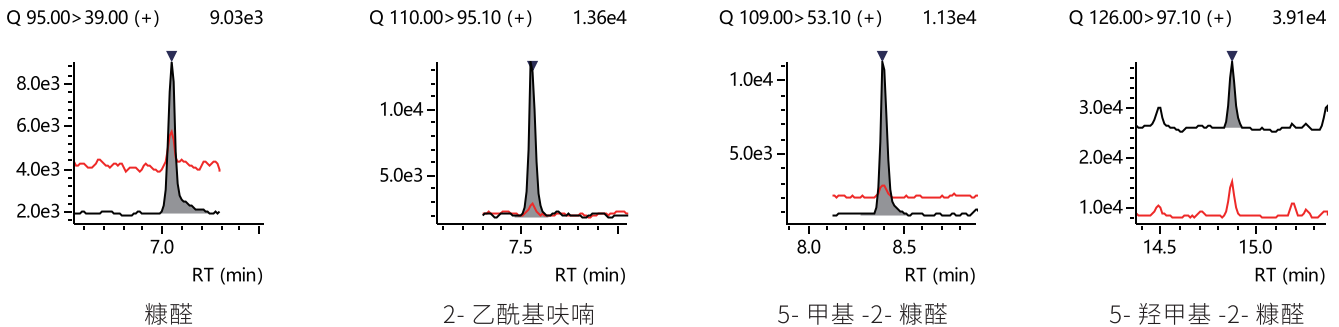


图 3 4 种糠醛类化合物 MRM 图 (F,FMC,5-MF: 1 $\mu\text{g/L}$; 5-HMF: 2 $\mu\text{g/L}$)

表 2 4 种糠醛类化合物标准曲线浓度范围、线性相关系数 r、检出限及重复性

No.	组分名称	浓度范围 (μg/L)	线性方程	相关系数 (r)	检出限 (μg/L)	峰面积 RSD% (n=6)
1	糠醛	1-250	Y=0.2358X+0.02346	0.9999	0.028	4.38
2	2-乙酰基呋喃	1-250	Y=0.4451X+0.02794	0.9999	0.027	2.13
3	5-甲基-2-糠醛	1-250	Y=0.4085X+0.02263	0.9999	0.013	2.81
4	5-羟甲基-2-糠醛	2-500	Y=0.2238X+0.02240	0.9999	0.72	5.11

3.3 检出限及重复性

取 4 种糠醛混合标准溶液 (F, FMC, 5-MF: 1 μg/L; 5-HMF: 2 μg/L) 连续进样 6 次, 计算 4 目标物峰面积, 考察仪器的重复性, 测定结果见表 2。根据该混合标准溶液数据计算各化合物检出限 (3 倍噪声, peak to peak), 各组分检出限见表 2。

3.4 加标回收率实验

加标回收率实验是在发酵乳样品中添加 4 种目标化合物混合标准溶液, 添加浓度分为高中低三个浓度, 4 个目标物的添加浓度如表 3 所示。每个加标发酵乳样品按前述样品处理流程平行处理 3 份, 上机分析, 其加标回收率结果见表 3。4 个目标物的回收率分布在 87.6%~106.7% 之间, 回收率 RSD% (n=3) ≤ 10.72。加标发酵乳样品谱图如图 4。

表 3 发酵乳样品加标回收率结果

No.	化合物	加标浓度 (μg/kg)	平均回收率 (%)	%RSD (n=3)
1	糠醛	20	106.7	5.73
		100	99.2	1.76
		500	98.7	4.30
2	2-乙酰基呋喃	5	101.6	2.71
		20	88.5	3.19
		100	93.4	1.55
3	5-甲基-2-糠醛	5	103.0	7.50
		20	87.6	4.49
		100	90.6	1.52
4	5-羟甲基-2-糠醛	40	-	-
		200	87.8	10.72
		1000	88.7	6.79

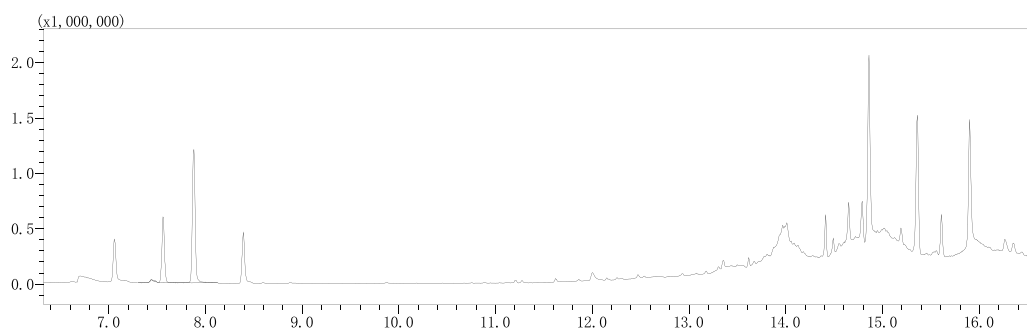


图 4 加标 4 种糠醛类化合物发酵乳样品谱图

3.5 实际样品分析结果

选取 2 种市售发酵乳，按前述样品处理流程进行样品制备，并采用上述仪器条件测定，4 种糠醛类化合物检测结果如表 4 所示。

表 4 发酵乳样品检测结果

No.	样品名称	浓度 (mg/kg)			
		糠醛	2-乙酰基呋喃	5-甲基糠醛	5-羟甲基糠醛
1	发酵乳 1 (原味发酵乳)	0.043	-	0.007	0.239
2	发酵乳 2 (炭烧发酵乳)	0.136	0.095	0.098	0.382

■ 结论

本文使用岛津 GCMS-TQ8050 NX 三重四极杆气相色谱质谱联用仪建立了发酵乳中糠醛、2-乙酰基呋喃、5-甲基-2-糠醛和 5-羟甲基-2-糠醛等 4 种糠醛类化合物的定量方法。发酵乳样品经过 QuEChERS 法样品制备，4 种目标物标准曲线在 1~250 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内，线性相关系数 (r) 均大于 0.999。混合标准溶液 (F, 5-MF, 5-MF: 1 $\mu\text{g/L}$, 5-HMF: 2 $\mu\text{g/L}$) 连续进样 6 针，4 组分峰面积 RSD% 均小于 5.11%。在低、中、高三种加标浓度下，4 种糠醛类化合物加标回收率分布在 87.6%~106.7% 之间，4 组分回收率 RSD% (n=3) \leq 10.72。对市售两种酸奶样品进行测定，原味发酵乳样品中检出糠醛、5-甲基糠醛和 5-羟甲基糠醛；炭烧发酵乳样品中 4 种糠醛类化合物均有检出。实验结果证明：该方法简单、准确，灵敏度高，为发酵乳中糠醛类化合物含量测定提供了参考。

岛津应用云

