

# LC-MS/MS 法测定出口乳制品中肌醇的含量

## LCMSMS-568

**摘要：**本本文利用岛津 LCMS-8060 液质联用系统，建立了出口乳制品中肌醇含量的快速分析检测方法。该方法可以在 10 min 内完成样品的分析检测，目标物和其他组分的色谱峰分离效果良好，在 0.01~5.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的浓度范围内建立标准曲线，线性关系良好；不同浓度的样品加标回收率在 92.72%~108.58% 之间。肌醇 LOD 为 0.6  $\text{ng}/\text{mL}$ 、LOQ 为 2.0  $\text{ng}/\text{mL}$  满足《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》的要求。该方法操作简捷、灵敏度高、分析速度快，满足样品的定性定量分析。

**关键词：**LCMS-8060 液质联用仪 乳制品 肌醇

肌醇别名肌糖，又名环己六醇或纤维醇肌糖。英文名称：Inositol。肌醇是存在于食物中的一种营养物质，结构类似于葡萄糖。肌醇广泛分布在动物和植物体内，是动物、微生物的生长因子。最早从心肌和肝脏中分离得到。主要用于治疗肝硬化、肝炎、脂肪肝、血中胆固醇过高等症。肌醇在结构上可以看作是环己烷的多元羟基衍生物，其在自然界中最为常见的是肌肉肌醇，几乎所有生物都含有游离态或结合态的肌醇。游离态的肌醇主要存在于肌肉、心脏、肺脏、肝脏中等。游离的肌肉肌醇是鸟类及哺乳类物种的必需营养源，是生命素的主要成分之一。高等动物缺乏肌肉肌醇，将会出现生长停滞和毛发脱落等不良症状，因此食用富含肌醇的食品对人体健康息息相关。如今随着添加

肌醇的强化食品种类越来越多，肌醇物质的准确定量就显得尤为重要了。因此 2019 年 10 月 25 日，由中华人民共和国海关总署发布了出口乳制品中肌醇的检测方法，并在 2020 年 5 月 1 日实施执行，其中规定了采用高效液相色谱串联质谱法对出口乳制品中肌醇的含量进行分析测定。

本文采用岛津 LCMS-8060 三重四极杆液相色谱质谱联用仪，参照中华人民共和国海关总署发布的《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》，建立了乳制品中肌醇含量的检测方法。该方法快速准确、灵敏度高，适用于固态和液态乳制品中肌醇物质的筛查及准确测定。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器配置

岛津 LCMS-8060 三重四极杆液质谱联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-20A

脱气机：DGU-20A<sub>5R</sub>

输液泵：LC-30AD×2

自动进样器：SIL-30AC

柱温箱：CTO-20AC

检测器：LCMS-8060

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99

### 1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST-HP C18-AQ 色谱柱（2.1 mm I.D.×100 mm L，3  $\mu\text{m}$ ，岛津（上海）实验器材有限公司 P/N：227-30765-03）

流动相：A 相 2.0% 乙酸水溶液，B 相 甲醇

流速：0.1 mL/min

进样量：10  $\mu\text{L}$

柱温：40°C

洗脱方式：等度洗脱

初始浓度：A 相初始浓度为 98%，B 相初始浓度为 2%

LCMS-8060 质谱条件:

离子源: ESI (-)

雾化气流速: 3.0 L/min

加热气流速: 10.0 L/min

干燥气流速: 10.0 L/min

接口温度: 300°C

DL 温度: 250°C

扫描模式: 多反应监测 (MRM)

MRM 参数: 见表 1

表 1 肌醇及氘代肌醇 MRM 参数

名称	CAS#	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
肌醇	87-89-8	179.2	117.1*	13	13	12
			161.2	12	14	11
氘代肌醇	66922-44-1	185.2	167.2*	14	13	18

注: \* 表示定量离子

### 1.3 标准溶液配置

参照国家出入境检验检疫行业标准《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》，使用纯水将肌醇成分进行逐级稀释，得到浓度分别为 0.01 μg/mL、0.05 μg/mL、0.1 μg/mL、0.5 μg/mL、1.0 μg/mL、5.0 μg/mL 的标准工作溶液（其中都含有氘代肌醇内标浓度为 0.5 μg/mL），待上机分析。

### 1.4 样品前处理方法

参照国家出入境检验检疫行业标准《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》。

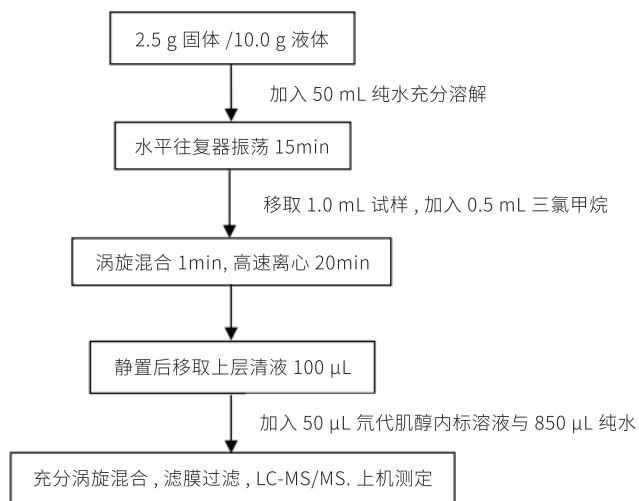


图 1 前处理流程图

## ■ 结果与讨论

### 2.1 线性范围

参照国家出入境检验检疫行业标准《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》选用液质联用系统在负模式下进行肌醇与氘代肌醇的物质采集，分别如图 2 和图 3 所示，为肌醇标准物质与氘代肌醇内标物质的 MRM 色谱图。将肌醇按照 1.3 配制成标准溶液，再以肌醇目标物与氘代肌醇内标物的浓度比值为横坐标，峰面积比值为纵坐标，以内标法绘制肌醇的标准曲线，如图 4 所示，该标准曲线线性关系良好，相关系数 R 大于 0.999，线性方程情况详见表 2。

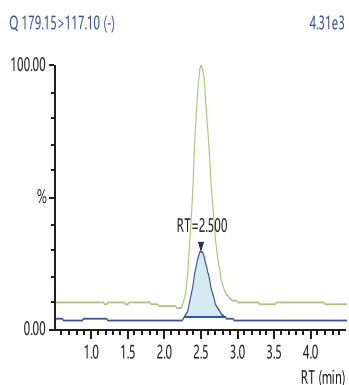


图2 肌醇物质 MRM 谱图

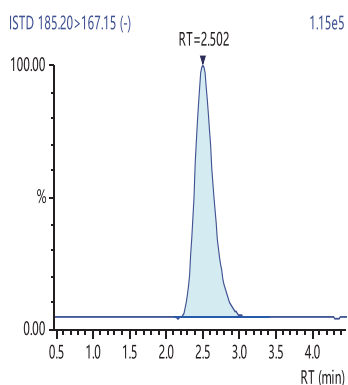


图3 氘代肌醇物质 MRM 谱图

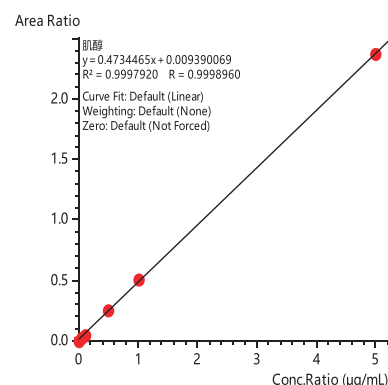


图4 肌醇标准曲线图

表2 肌醇标准曲线参数

名称	校准曲线	线性范围 (µg/mL)	相关系数 R	精确度 %
肌醇	$Y=0.4734465X+0.009390069$	0.01~5.0	0.9998	87.4~105.7

## 2.2 精度实验

取低、中、高三个浓度的标准溶液，连续进样 6 次，仪器精密度实验考察结果详见表 3。该结果表明，肌醇保留时间的 RSD 在 0.05%~0.15% 的范围，峰面积的 RSD 在 0.47%~1.43% 的范围，以上数据表明仪器的精密度良好。

表3 精密度实验测试结果 (n=6)

序号	0.05 µg/mL		0.5 µg/mL		1.0 µg/mL	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
1	2.500	59990	2.503	517704	2.506	974417
2	2.503	60871	2.504	523193	2.502	980334
3	2.499	59990	2.503	525112	2.506	977334
4	2.509	62143	2.502	523754	2.500	982911
5	2.503	61222	2.501	523033	2.505	969675
6	2.499	60105	2.504	518968	2.505	975958
RSD%	0.15	1.43	0.05	0.56	0.10	0.47

## 2.3 样品加标回收率实验

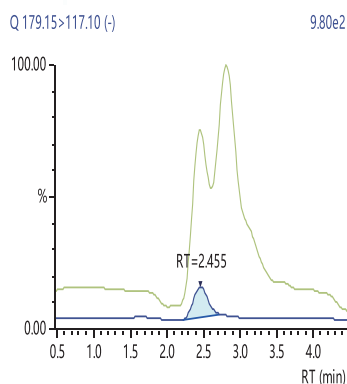


图5 样品 1 (奶粉) MRM 色谱图

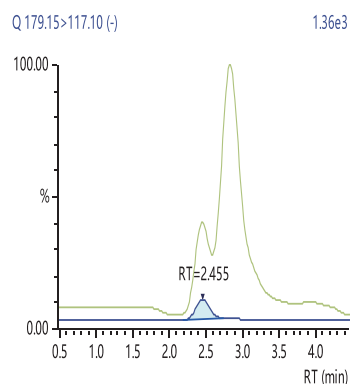


图6 样品 2 (乳酪) MRM 色谱图

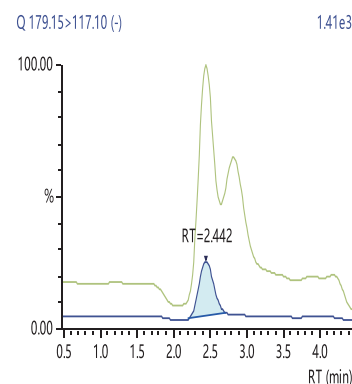


图7 样品 3 (牛奶) MRM 色谱图

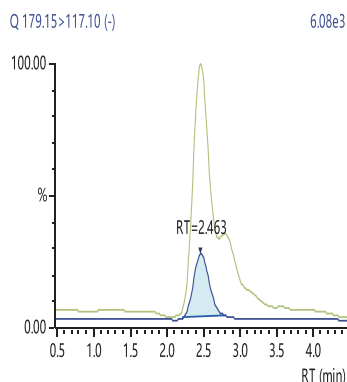


图8 样品1加标 120 µg/g  
MRM 色谱图

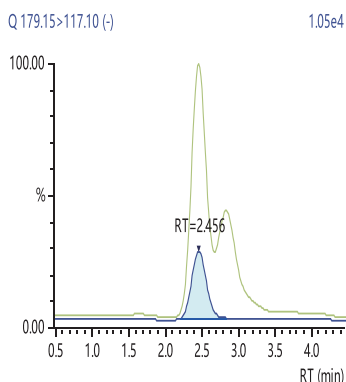


图9 样品2加标 120 µg/g  
MRM 色谱图

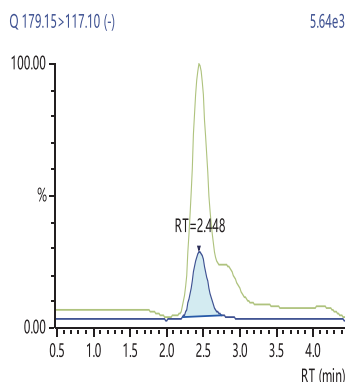


图10 样品3加标 30 µg/g  
MRM 色谱图

取三种不同样品，按照 1.4 步骤制备样品和样品加标，在低中高三个加标浓度的水平下，进行回收率实验，结果详见表 4，各样品平行测定 3 次。该测试结果显示，样品的低中高三个浓度梯度的加标回收率分别在 92.73%~103.87%、92.72%~99.24%、96.11%~108.58% 之间，均满足该检测方法的条件要求。

注：固体样品加标量：低、中、高浓度加标分别为 60 µg/g、120 µg/g、180 µg/g；

液体样品加标量：低、中、高浓度加标分别为 15 µg/g、30 µg/g、45 µg/g。

表 4 样品及加标回收率实验结果 (n=3)

样品名称	样品含量平均值 (µg/g)	标准物质添加量 (µg/g)	回收率范围 (%)
样品 1 (奶粉)	15.43	60	92.73~95.52
		120	93.05~98.06
		180	98.70~99.69
样品 2 (乳酪)	11.62	60	97.29~103.87
		120	97.51~99.24
		180	96.11~98.06
样品 3 (牛奶)	11.01	15	93.61~98.24
		30	92.72~94.32
		45	102.79~108.58

## 2.4 灵敏度实验

将最低浓度为 0.01 µg/mL 的肌醇标准溶液，按 1.2 中的分析条件进行上机测定。通过软件计算得到检出限和定量限；肌醇的检出限和定量限情况详见表 5。在上述条件下，肌醇物质的 LOD 为 0.6 ng/mL，LOQ 为 2.0 ng/mL（固体样品：0.4 µg/g；液体样品：0.1 µg/g），测试结果表明仪器灵敏度良好，满足《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》的测定低限的要求。

表 5 检出限和定量限

物质名称	检出限 (ng/mL)	定量限 (ng/mL)
肌醇	0.6	2.0

## ■ 结论

本实验使用岛津 LCMS-8060 液质联用系统，参照中华人民共和国海关总署发布的《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》，建立了针对乳制品中肌醇含量的快速检测方法。该检测方法表明肌醇物质在 0.01~5.0  $\mu\text{g/mL}$  的范围内线性良好，相关系数 R 大于 0.999；精密度实验中，肌醇保留时间的 RSD 分布在 0.05%~0.15% 的范围，峰面积的 RSD 分布在 0.47%~1.43% 的范围，仪器精密度良好；在固体样品加标量分别为 60  $\mu\text{g/g}$ 、120  $\mu\text{g/g}$ 、180  $\mu\text{g/g}$ ，和液体样品加标量分别为 15  $\mu\text{g/g}$ 、30  $\mu\text{g/g}$ 、45  $\mu\text{g/g}$  的情况下，样品的加标回收率分布在 92.72%~108.58% 的范围之间，能够满足方法要求；肌醇物质的灵敏度测定结果 LOD 为 0.6  $\text{ng/mL}$ ，LOQ 为 2.0  $\text{ng/mL}$ （固体样品：0.4  $\mu\text{g/g}$ ；液体样品：0.1  $\mu\text{g/g}$ ），测试结果表明仪器灵敏度良好，均低于标准要求的 10.0  $\mu\text{g/g}$ （固体样品）和 2.0  $\mu\text{g/g}$ （液体样品）的定量限，满足《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》的灵敏度要求。岛津 LCMS-8060 液质联用仪具有分析速度快、稳定性好、结果准确度高等特点，满足《出口乳制品中肌醇的测定 液相色谱 - 质谱 / 质谱法》的方法需求，也适用于多种相关行业的质量控制及分析检验工作。

岛津应用云

