

在线 GPC-GC-MS/MS 法测定茶叶中蒽醌含量

GCMSMS-085

摘要：本文利用岛津在线凝胶渗透色谱串联三重四极杆气质联用仪 GPC-GCMS-TQ8040 建立了测定茶叶中蒽醌的方法。在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内建立内标曲线，线性关系良好，相关系数 r 大于 0.999，并应用该方法进行了实际样品测试。同时，本文还比较了 GPC 进样和液体直接进样的表现，结果表明，由于 GPC 的净化效果和大体积进样，GPC-GC-MS/MS 有更好的检测灵敏度。

关键词：GPC-GC-MS/MS 茶叶 蒽醌

蒽醌，是一种醌类化学物，其存在于天然，也可以人工合成。欧盟认为其具有致癌性，国际癌症研究机构将蒽醌划分为“对人类可能致癌”（“2B 组”）一类中。茶叶中会含有微量蒽醌。蒽醌茶叶的出口欧盟的常规检测指标之一。2013 年下半年起，欧盟逐步加大了对我国输欧茶叶蒽醌残留的检测力度，要求不能超过 0.01 mg/kg 的“默认标准”。在各方交涉和努力下，欧盟不久前将茶叶中蒽醌限量标准提高至 0.02 mg/kg。但是蒽醌的含量超标仍是我国茶叶出口欧盟面临的一大问题。近期，

已有多批我国输欧茶叶因蒽醌超标被退货。因此，建立快速准确定量分析茶叶中的蒽醌的方法是十分必要的。

本文利用岛津 GPC-GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪建立了测定茶叶中蒽醌的方法，在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内建立的标准曲线，线性关系良好，相关系数 r 大于 0.999。同时，本文还比较了 GPC 进样和 GCMSMS 直接进样的表现，由于 GPC 的净化效果和大体积进样，GPC-GC-MS/MS 有更高的检测灵敏度。

实验部分

1.1 仪器

仪器：GPC-GCMS-TQ8040，GCMS-TQ8040

1.2 分析条件

GC-MS/MS 参数：

色谱柱：Rxi-5Sil MS 30 m \times 0.25 mmID \times 0.25 μm ，

柱温程序：50 $^{\circ}\text{C}$ (1 min)_25 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _125 $^{\circ}\text{C}$

(0 min)_10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _300 $^{\circ}\text{C}$ (8.5 min)

载气线速度：47.2 cm/sec

进样方式：不分流进样

进样口温度：280 $^{\circ}\text{C}$

离子源温度：200 $^{\circ}\text{C}$

接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.3 kv

GPC-GC-MS/MS 参数：

色谱柱：Rxi-5Sil MS 30 m \times 0.25 mmID \times 0.25 μm ，

柱温程序：82 $^{\circ}\text{C}$ (5min)_8 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _300 $^{\circ}\text{C}$ (7.75 min)

载气控制压力：120 kpa(0 min)_100 kpa/min_180kpa (4.4 min)_-49.8 kpa/min_120 kpa(33.8 min)

进样方式：不分流进样

进样口温度：120 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)_100 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ _250 $^{\circ}\text{C}$ (33.7 min)

离子源温度：200 $^{\circ}\text{C}$

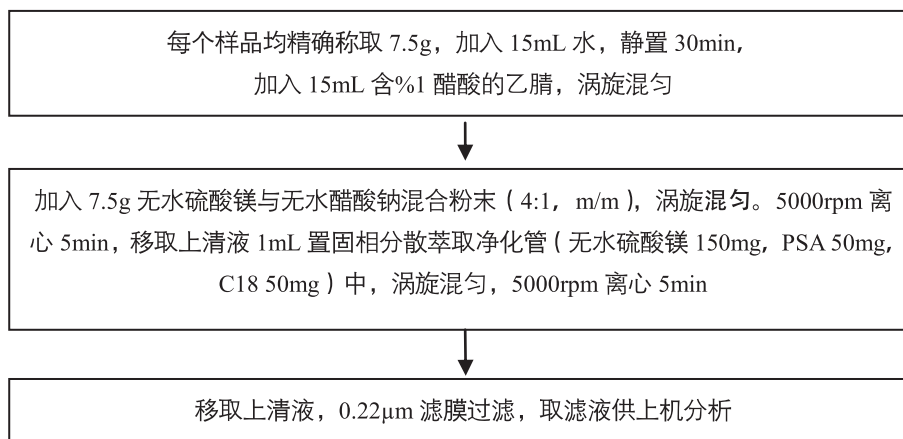
接口温度：300 $^{\circ}\text{C}$

检测器电压：调谐电压 +0.3 kv

表1 蒽醌保留时间及MRM参数

No.	仪器	保留时间 (min)	定量离子对	CE	定性离子对 1	CE	定性离子对 2	CE
1	GCMS-TQ8040	13.730	208>152.1	24	152>126	24	180>126.1	30
2	GPC- GCMS-TQ8040	21.729	208>152.1	24	152>126	24	180>126.1	30

1.3 样品前处理



■ 结果与讨论

2.1 标准样品谱图

以空白基质配制标准溶液系列, 浓度为 1、10、20、50、100 ng/ml。20 ng/ml 浓度的标准溶液 TIC 图见图 1, 20 ng/ml 和 1 ng/ml 浓度标准溶液的质量色谱图见图 2。

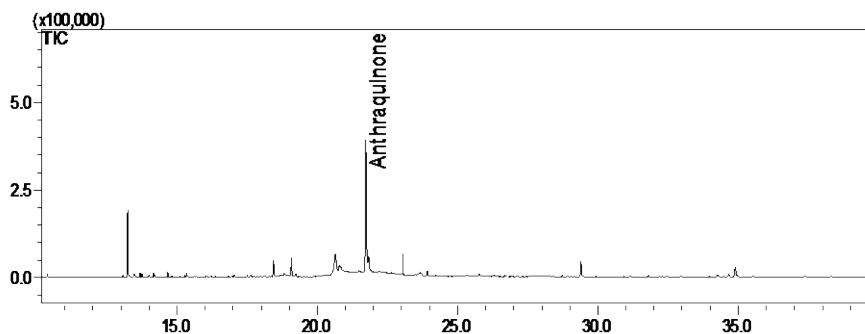


图1 20ng/ml蒽醌图标准溶液TIC图

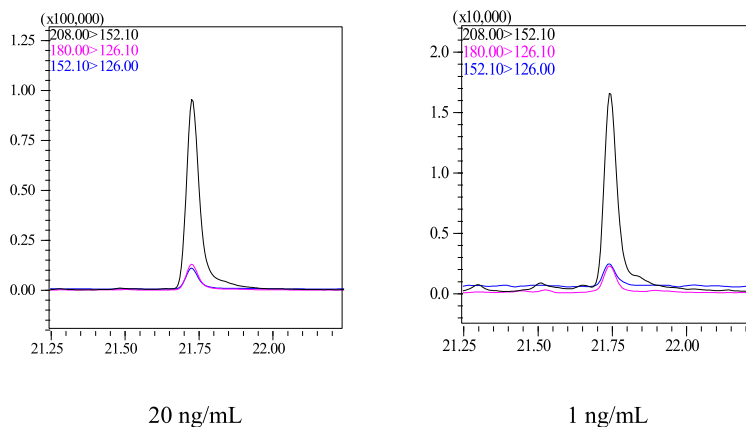


图2 葱醌标准溶液质量色谱图

2.2 校准曲线

使用 GPC-GCMS-TQ8040 测定 1、10、20、50、100 ng/ml 系列浓度的标准溶液，以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，制作标准曲线。所得标准曲线见图 3，回归方程和相关系数见表 2，所得标准曲线相关系数大于 0.999。

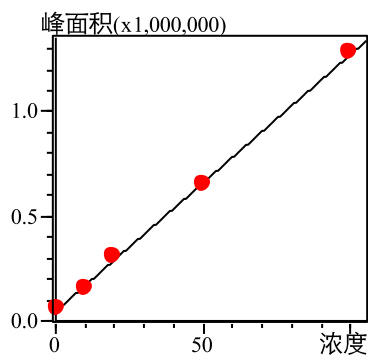


图3 校准曲线

表2 回归方程和相关系数

No.	回归方程	相关系数 R
1	$Y = 12260.89X + 46850.61$	0.9991

2.3 GPC 净化效果

对 GPC 净化效果进行了考察。图 4 为样品基质使用 GCMS-TQ8040 在 Scan 模式下测定得到的 TIC 图，图 5 为使用 GPC-GCMS-TQ8040 测定得到的 TIC 图。从两者谱图对比可以看出，除去一个较大的色谱峰外（经 NIST 谱库检索为咖啡因，分子量 194，在茶叶中含量高且在 GPC 柱上与葱醌流出时间接近），其余色谱峰已被净化掉，GPC 进样获得的 TIC 图基线更加平滑。由于 GPC 进样量较大，咖啡因的色谱峰在 GPC 进样的色谱图上更大。

从图 6 为 1 ng/ml 标样使用 GCMS-TQ8040 MRM 采集得到的谱图，图 7 为使用 GPC-GCMS-TQ8040 MRM 采集得到的谱图。两者谱图对比可看出 GPC-GCMSMS 所得结果干扰更少，基线更加平滑，目标色谱峰信噪比更高。表 3 是各浓度的标准溶液在两种方法下所得峰面积及信噪比，可看出由于进样量大，以及净化作用，采用 GPC 进样结果所得峰面积和信噪比均更大。

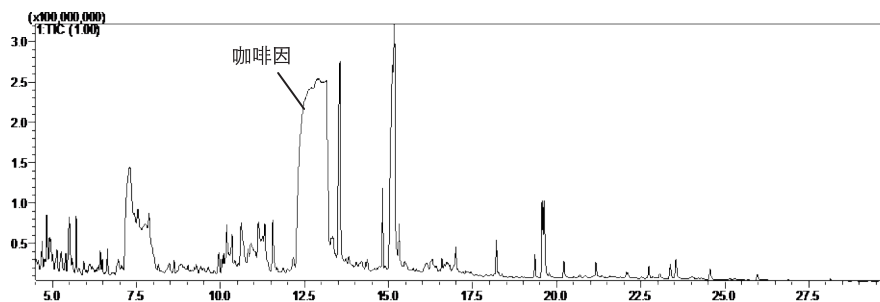


图4 GCMS-TQ8040采集得到谱图(Scan模式进样量1 μL)

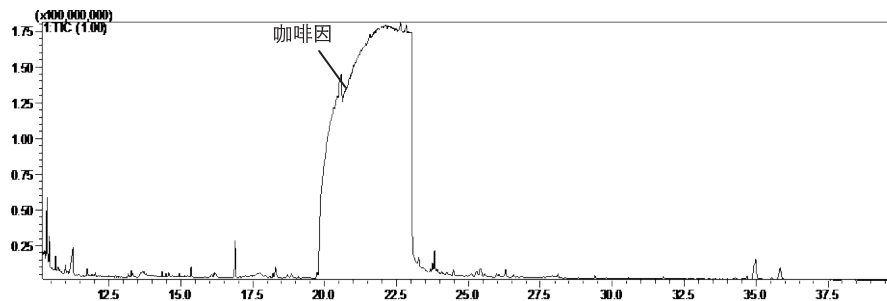


图5 GPC-GCMS-TQ8040采集得到谱图(Scan模式进样量10 μL)

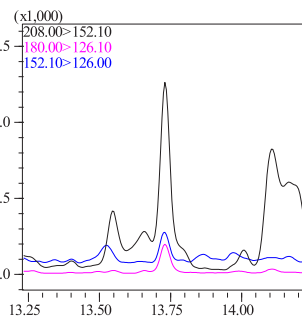


图6 GCMS-TQ8040MRM谱图(1 ng/ml)

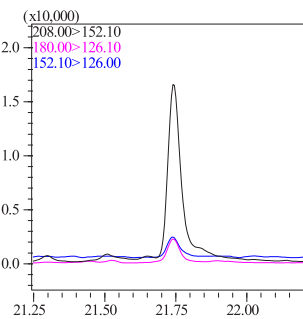


图7 GPC-GCMS-TQ8040MRM谱图(1 ng/ml)

表3 灵敏度比较

浓度(ng/ml)	GCMS-TQ8040 测定		GPC-GCMS-TQ8040 测定	
	峰面积	信噪比	峰面积	信噪比
1	13536	96	60032	215
10	40556	145	153321	546
20	65732	285	307706	1304
50	149439	501	651462	2975
100	281749	1405	1280953	7011

2.4 实际样品测定结果

对两个茶叶粉末样品进行检测，图 8、图 9 为分析样品所得的 TIC 图和蒽醌质量色谱图。两个样品中均有少量蒽醌被检出，所得结果列于表 4。

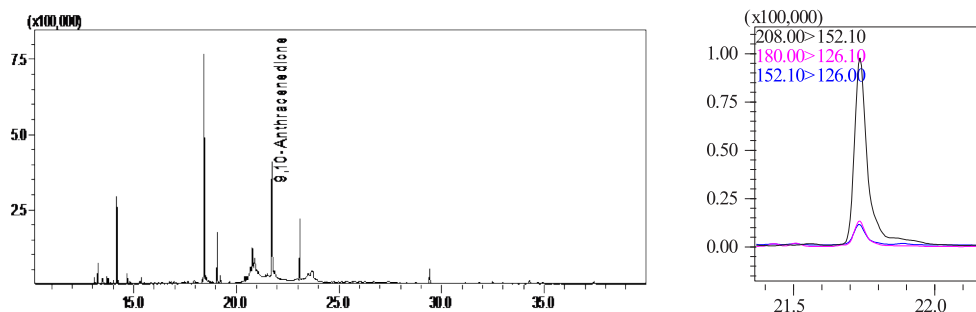


图8 样品1 TIC图和MRM图

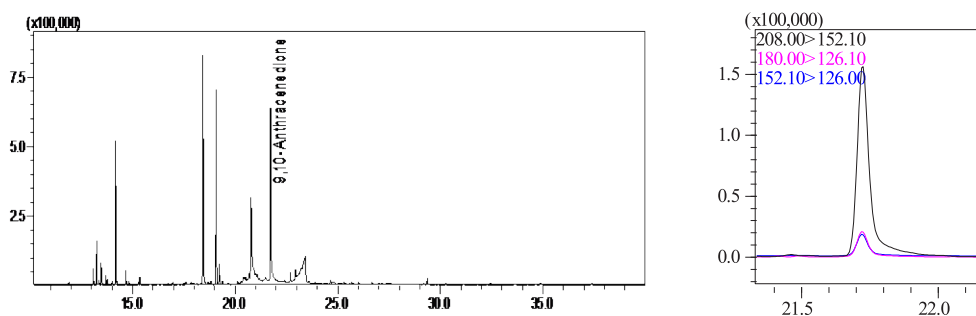


图9 样品2 TIC图和MRM图

表4 实际样品中蒽醌含量

No.	蒽醌含量 (ng/g)
1	47.90
2	77.96

结论

本文建立了在线 GPC-GCMS-TQ8040 三重四极杆气质联用仪测定茶叶中蒽醌的方法，并将其表现与直接进样的 GCMS-TQ8040 进行了比较。从结果可以看出，在 1~100 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内建立的标准曲线线性关系良好，相关系数大于 0.999，可对蒽醌进行准确的定量。相对于 GCMSMS 直接液体进样，GPC-GCMSMS 联用技术由于进样体积大以及对样品的净化作用，可以得到更好的检测灵敏度，在对目标化合物含量低或基质复杂的样品进行分析时，更有利于确定检测结果。最后对两个实际样品进行分析，均检出少量的蒽醌。