

LCMS-QTOF 分析茶饮料中 15 种酚汀、酚酞及其类似物

LCMS-QTOF-123

摘要：本文基于岛津超高效液相色谱 - 飞行时间质谱仪 LCMS-9050，参考《食品中 15 种酚汀（酚丁）、酚酞及其酯类衍生物或类似物的执法检验方法》，构建 15 种酚汀、酚酞及其类似物的高分辨二级质谱库，借助谱库对样品进行定性分析，然后对已检出目标物进行定量分析，建立了 15 种酚汀、酚酞及其类似物的检测方法。方法学考察结果显示，15 种目标化合物在 10 ~ 200 ng/mL 浓度范围内，其相关系数大于 0.997，准确度在 84.1% ~ 114.8% 之间；回收率为 77.3% ~ 103.5%；对不同浓度的标准溶液平行分析 6 次，其保留时间和峰面积 RSD 分别为 0.02% ~ 0.05% 和 0.74% ~ 6.36%，仪器精密度良好，仪器检出限在 0.017 ~ 0.093 mg/kg 之间，方法检出限优于标准检测要求，为相关从业人员参考使用。

关键词：LCMS-QTOF 酚汀 酚酞 定性分析 定量分析

技术特点：

- ❖ 使用 Insight Explore 软件设置“目标物确认判定条件”参数，结合建立的高分辨二级质谱库，可实现目标化合物的快速搜库定性确认。
- ❖ 15 种化合物检出限在 0.017~0.093 mg/kg 之间，优于标准给出的 1.0 mg/kg 检出限。

酚汀、酚酞及其酯类衍生物或类似物作为一类具有潜在生物活性的有机化合物，因具备调节食品表现性状、掩盖原料劣变缺陷的作用，常被不法分子违规添加至粮油制品、糕点蜜饯、调味酱料等多种日常食品中。该类物质具有明确的肠道刺激效应，长期或过量摄入会破坏人体肠道菌群平衡，引发电解质紊乱、腹痛腹泻等急性症状，部分衍生物还存在潜在的脏器蓄积毒性，对特殊人群如婴幼儿、孕产妇及慢性病患

者的健康威胁更为显著。

本文参考市场监管总局 2025 年 3 月发布的市监稽发[2025]19 号文《食品中 15 种酚汀（酚丁）、酚酞及其酯类衍生物或类似物的执法检验方法》，使用岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱 - 四极杆飞行时间串联质谱仪建立了 15 种酚汀、酚酞及其类似物的定量分析方法。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津 LCMS-9050 超高效液相色谱四极杆飞行时间质谱联用仪，具体配置为：

系统控制器：	SCL-40	脱气机：	DGU-403
输液泵：	LC-40D XS × 2	柱温箱：	CTO-40C
自动进样器：	SIL-40C XS	质谱仪：	LCMS-9050
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.128, Insight Ver. 4.3		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST C18 (100 mm×2.1 mm I.D, 2 μm)
 升 温 程 序 : 岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30001-04
 流 动 相 : A-0.1% 甲酸水溶液; B- 乙腈
 流 速 : 0.4 mL/min
 进 样 体 积 : 3 μL 柱 温 : 40°C
 洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, 初始浓度为 B 相 15 %, 时间程序见表 1。

表 1 液相梯度时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.00	Pumps	Pump B Conc	15
12.00	Pumps	Pump B Conc	98
17.00	Pumps	Pump B Conc	98
17.50	Pumps	Pump B Conc	15
20.00	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式 : ESI+ 雾化气流速 : 3.0 L/min
 接口电压 : +4.5 kV 干燥气流速 : 10.0 L/min
 接口温度 : 300°C 加热气流速 : 10.0 L/min
 D L 温度 : 250°C 加热块温度 : 400°C
 扫描模式 : MS Scan(m/z 300 -800); MS/MS

1.3 样品制备

准确称取 1 g 试样(精确至 0.001 g)置于 50 mL 具塞离心管(3.5.3)中, 加入 40 mL 甲醇, 超声提取 15 min, 冷却至室温, 于 4 000 r/min 离心 5 min, 上清液全部转移至 50 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度, 混匀。取适量上清液过微孔滤膜过滤, 待测定。

1.4 基质匹配曲线溶液的制备

选取空白基质样本, 经过 1.3 样品前处理制备出空白样品溶液, 以此配制浓度分别为 10、20、50、100、200 ng/mL 的系列浓度溶液, 用于建立基质匹配曲线。

■ 结果与讨论

按 1.2 中分析条件对 15 种目标化合物混合标准溶液进行测定, 以各目标物一级前体离子和 MS/MS 二级质谱特征碎片离子理论精确质量 ±5 ppm 内提取色谱峰, 一级前体离子作定量, 二级碎片离子作为定性离子, 实现了 15 种化合物的定性、定量分析, 化合物信息见下表 1。

表 2 15 种目标化合物高分辨质谱参数

序号	化合物名称	CAS 号	分子式	前体离子	碰撞能量 CE (V)	MS/MS 碎片离子
1	酚酞	77-09-8	C ₂₀ H ₁₄ O ₄	319.0965	20	225.0546, 197.0597, 141.0704
2	酚丁	125-13-3	C ₂₀ H ₁₅ NO ₃	318.1125	20	224.0706, 196.0757, 168.0813
3	双醋酚丁	115-33-3	C ₂₄ H ₁₉ NO ₅	402.1336	40	224.0706, 196.0757, 168.0813
4	双丙酚丁	2943075-86-1	C ₂₆ H ₂₃ NO ₅	430.1649	40	224.0706, 196.0757, 168.0813
5	双己酚丁	/	C ₃₂ H ₃₅ NO ₅	514.2588	40	224.0706, 196.0757, 318.1130
6	双庚酚丁	/	C ₃₄ H ₃₉ NO ₅	542.2901	40	224.0706, 196.0757, 318.1130
7	双辛酚丁	/	C ₃₆ H ₄₃ NO ₅	570.3214	40	224.0706, 196.0757, 318.1130
8	双环丙甲酰酚丁	2943075-87-2	C ₂₈ H ₂₃ NO ₅	454.1649	40	224.0706, 196.0757, 292.0974
9	双环己甲酰酚丁	/	C ₃₄ H ₃₅ NO ₅	538.2588	40	224.0706, 196.0757, 318.1130
10	三环丙甲酰酚丁	/	C ₃₂ H ₂₇ NO ₆	522.1911	40	224.0706, 196.0757, 358.1438
11	6- 氟双丙酚丁	/	C ₂₆ H ₂₂ FNO ₅	448.1555	40	242.0612, 214.0663, 186.0714
12	5- 氯酚丁	861070-76-0	C ₂₀ H ₁₄ ClNO ₃	352.0735	40	258.0316, 230.0373, 223.0628
13	5- 氯双醋酚丁	2910823-02-6	C ₂₄ H ₁₈ ClNO ₅	436.0946	40	258.0316, 230.0373, 223.0628
14	双酚沙丁	17692-24-9	C ₂₀ H ₁₅ NO ₄	334.1074	40	240.0655, 212.0706
15	双酚沙丁醋酸酯	14008-48-1	C ₂₄ H ₁₉ NO ₆	418.1285	40	240.0655, 212.0706

2.1 定性分析

2.1.1 目标化合物的判定

基于 1.3 样品前处理对样品进行处理，并参考 1.2 分析条件和标准方法中高分辨法定性要求对样品进行分析。目标物确认判定条件如表 3 所示：

表 3 目标物确认判定条件

序号	判别项	判定条件
1	保留时间	目标物与参考标准品以相同条件测定所获保留时间的相对偏差不大于 ±2.5%
2	质量准确性	一级母离子及 2 个主要二级碎片离子的 m/z 相对偏差 ≤ 5 ppm； 当 m/z < 200 时，其绝对偏差应 < 1 mDa
3	同位素峰	同位素峰分布一致，m/z 符合目标物确认的质量准确性要求
4	碎片相对离子丰度比	2 个主要碎片离子其相对离子丰度比符合最大允许偏差要求

2.1.2 高分辨数据库建立

使用标准溶液建立 15 种目标化合物的二级质谱库，采用 MS/MS 模式采集浓度为 100~1000 ppb 的目标化合物混合标准溶液在不同 CE 能量值下的质谱数据，获得质谱响应强度合适的二级质谱图，对质谱峰进行质量校准后，建立了 15 种酚丁、酚酞及其类似物的 Q-TOF 高分辨二级质谱库；可用于对未知样品进行快速筛查定性。

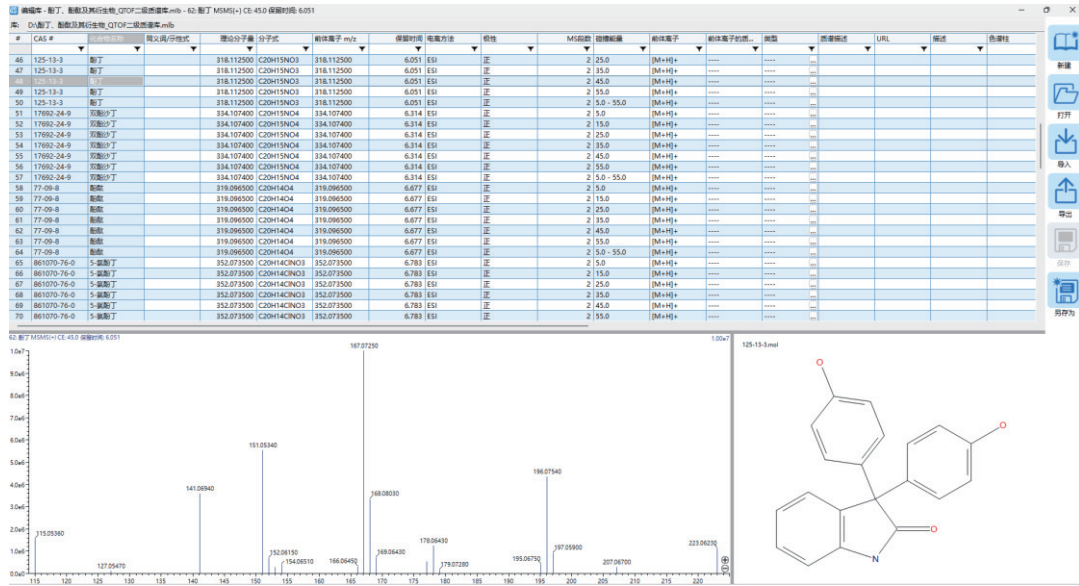


图 1 15 种目标化合物高分辨质谱库

2.1.3 样品定性分析

使用 MS/MS 模式对样品进行分析，通过 Insight Explore 软件设置“目标物确认判定条件”相关参数，对样品中目标物进行确认，参数设定如图 2 示例所示：

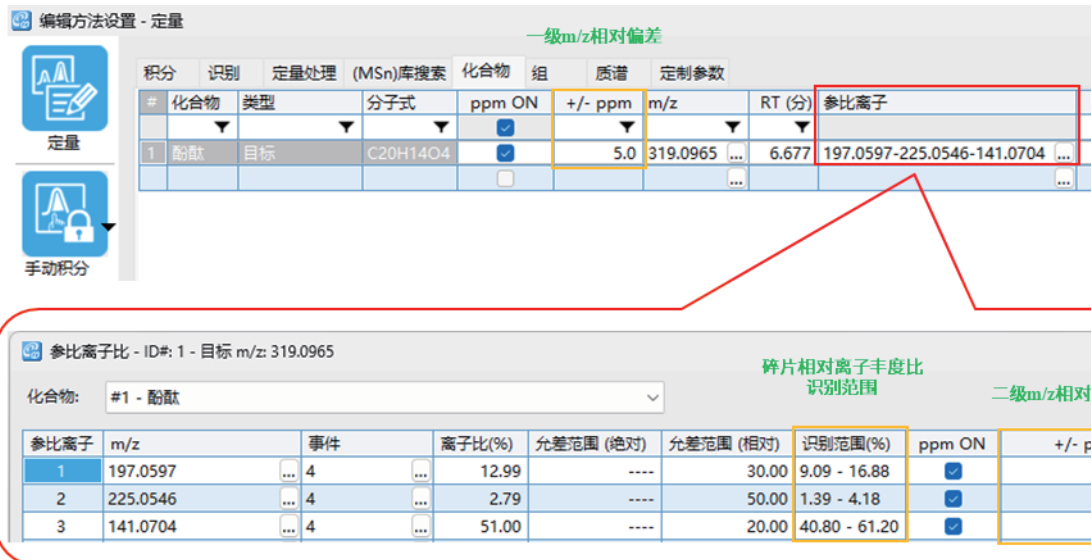


图 2 Insight Explore 分析参数设定

分析结果显示该样品检出酚酞，目标化合物的保留时间偏差为 0.30%，MS1 质荷比偏差为 -0.407 ppm，MS2 中 m/z 197.0597 质荷比偏差为 -3.164 ppm 和 -0.62 mDa，m/z 225.0546 的质荷比偏差为 -1.022 ppm 和 -0.23 mDa，二级谱图的相似度得分大于 90，同位素得分为 99.65，具体结果如图 3 所示，样本检测结果色谱图及 MS2 质谱图如图 4 所示：

#	标记	化合物名称	库化合物名称	保留时间 (min)	保留时间 (%)	m/z	实测 m/z	质量误差 (ppm)	质量误差 (mDa)	Ref 1 m/z	Ref 2 m/z	Ref 3 m/z	同位素得分
1		酚酞	酚酞	6.697	0.30	319.0965	319.09636	-0.407	-0.13	197.0597	225.0546	141.0704	99.65

#	标记	化合物名称	库化合物名称	Ref 1 质量误差 (ppm)	Ref 1 质量误差 (mDa)	Ref 1 测定%	Ref 1 允差...	Ref 2 质量误差 (ppm)	Ref 2 质量误差 (mDa)	Ref 2 测定%	Ref 2 允差范围
1		酚酞	酚酞	-3.146	-0.62	12.15	9.09 - 16.88	-1.022	-0.23	3.60	1.39 - 4.18

图 3 Insight Explore 分析结果视图

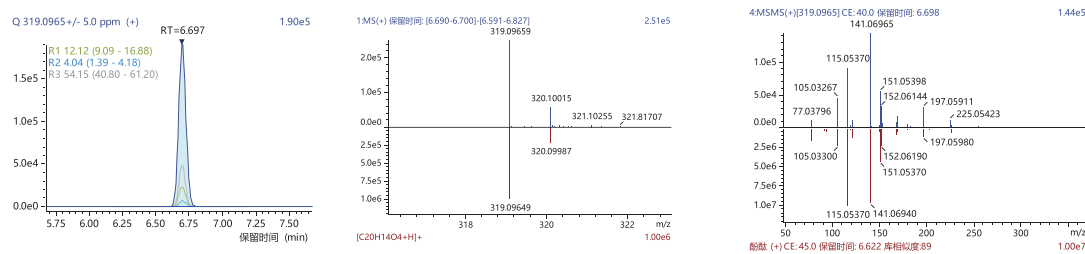


图 4 Insight Explore 样本检测结果色谱图、同位素及 MS2 质谱库搜索匹配图

2.2 定量分析

2.2.1 15 种目标化合物标准溶液精确质量提取一级色谱图

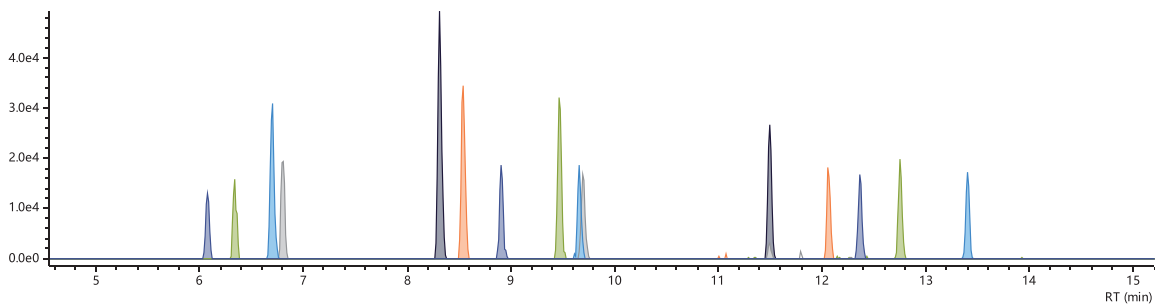
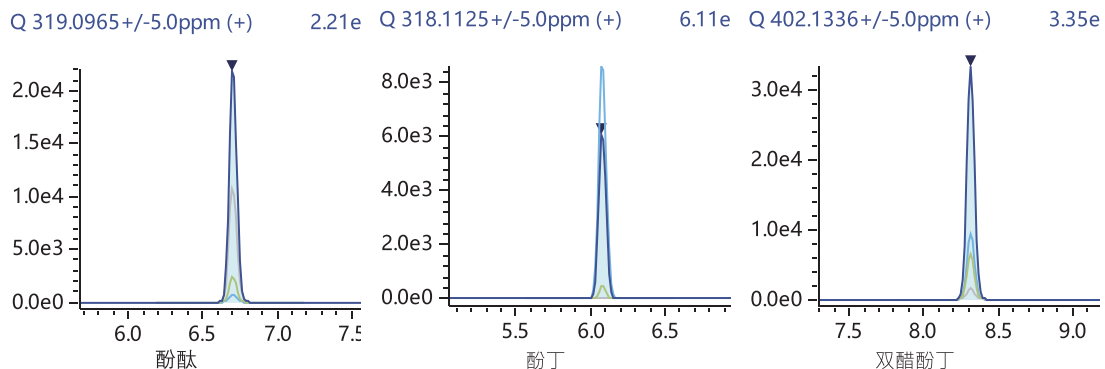


图 5 15 种目标化合物标准溶液一级提取色谱图 (10 ng/mL)



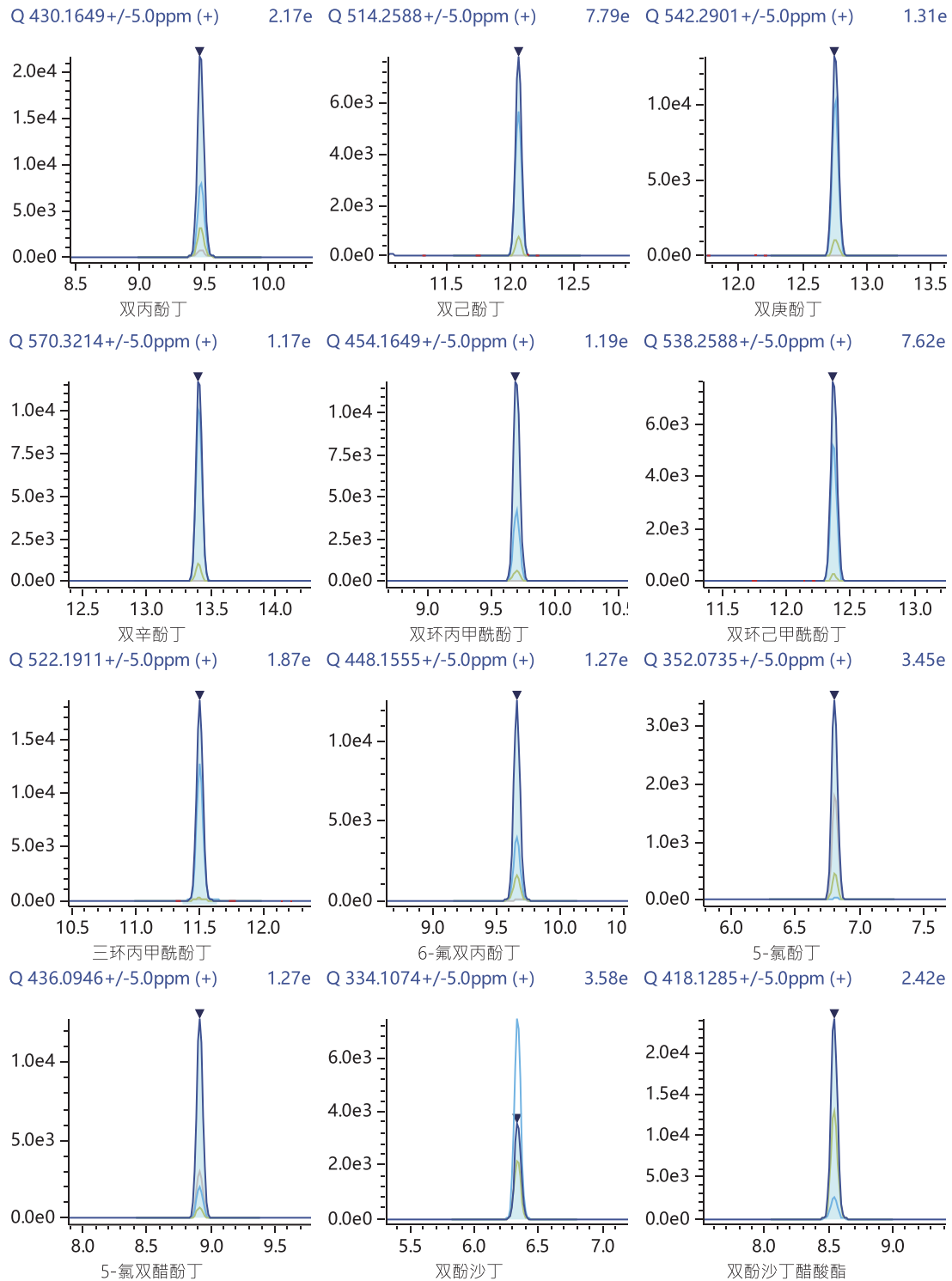


图 6 15 种目标化合物一级提取色谱图 (10 ng/mL)

2.2.2 校准曲线

按 1.2 分析条件测定,以浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,采用外标法建立基质匹配校准曲线(校准曲线见图 7),15 种化合物在相应线性浓度范围内,相关系数在 0.9981~0.9998 之间,各浓度点的回读准确度在 84.1%~114.8% 之间,线性相关性良好。15 种化合物的检出限(ASTM, S/N=3)在 0.33~1.85 ng/mL 间,其保留时间、线性范围、相关系数及仪器检出限见表 4。

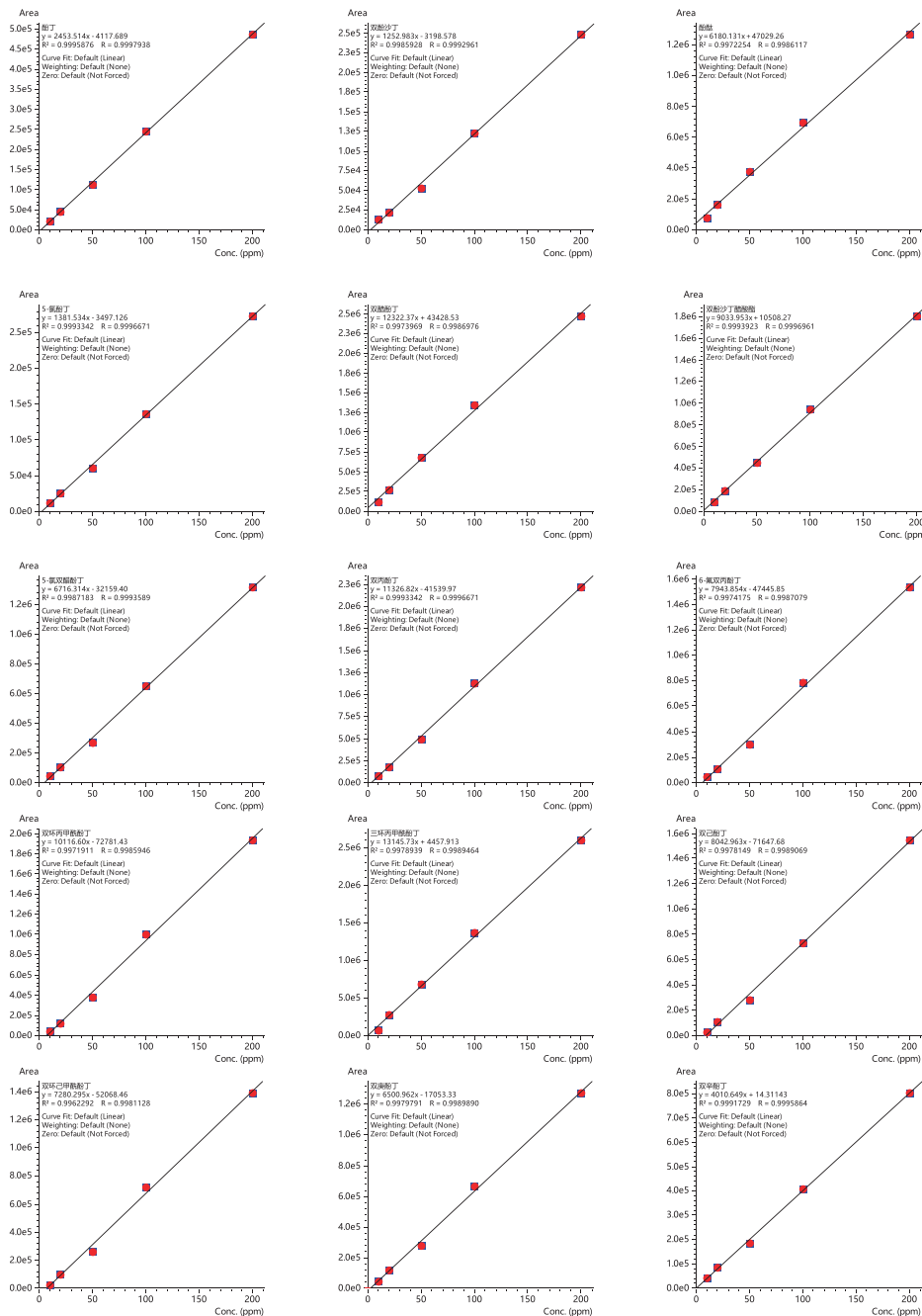


图 7 15 种化合物校准曲线

表4 15种化合物校准曲线信息

No.	化合物名称	保留时间 (min)	线性范围 (ppb)	相关系数 r	准确度 (%)	仪器检出限 (ng/mL)
1	酚酞	6.051	10~200	0.9998	95.0~106.2	0.33
2	酚丁	6.314	10~200	0.9993	90.4~114.8	1.02
3	双醋酚丁	6.677	10~200	0.9986	84.1~107.5	1.57
4	双丙酚丁	6.783	10~200	0.9997	93.0~113.1	0.58
5	双己酚丁	8.297	10~200	0.9987	85.9~106.0	0.89
6	双庚酚丁	8.525	10~200	0.9997	88.8~103.3	1.04
7	双辛酚丁	8.892	10~200	0.9994	87.4~114.3	0.69
8	双环丙甲酰酚丁	9.458	10~200	0.9997	95.3~107.6	0.91
9	双环己甲酰酚丁	9.644	10~200	0.9987	88.6~113.1	1.13
10	三环丙甲酰酚丁	9.683	10~200	0.9986	89.8~115.3	1.85
11	6-氟双丙酚丁	11.477	10~200	0.9990	84.7~111.3	0.73
12	5-氯酚丁	12.046	10~200	0.9989	87.4~112.7	0.96
13	5-氯双醋酚丁	12.353	10~200	0.9981	86.5~109.5	0.52
14	双酚沙丁	12.740	10~200	0.9990	90.5~105.2	1.24
15	双酚沙丁醋酸酯	13.390	10~200	0.9996	92.5~107.5	0.87

2.2.3 精密度

用空白基质配制不同浓度的混合标准溶液依次进样，每个浓度平行测定6次，考察仪器的精密度。结果显示，15种化合物在各浓度下的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在0.02%~0.05%和0.74%~6.36%之间，仪器精密度良好。

2.2.4 加标回收率

取茶饮料样品（本底样品经测试未检出15种目标化合物）加入一定浓度的混合标液（加标浓度如图12所示），按照2.1中样品制备方法，每个浓度平行制备3份样品，其中样品本底（未检出）和加标样的色谱图分别见下图8和9。加标回收率测试结果显示：15种化合物的样品加标回收率在77.3%~103.5%之间，测定结果结果如图10所示。

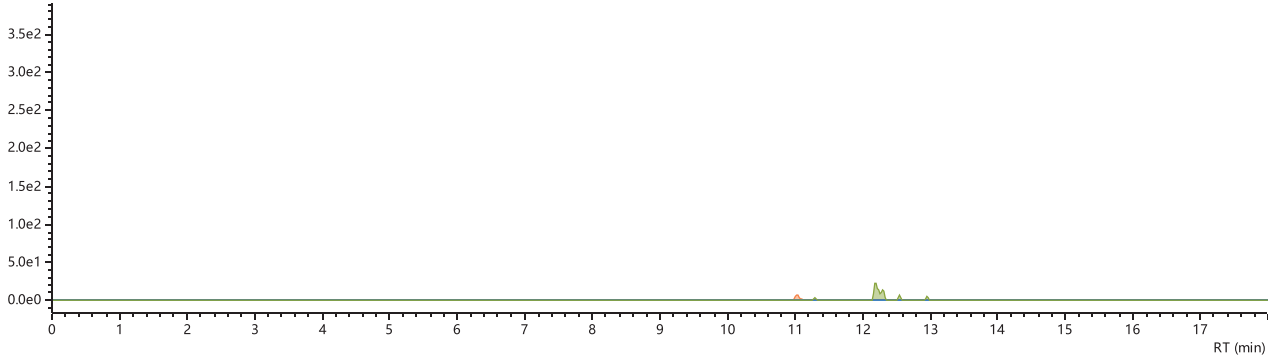


图 8 空白样品一级提取色谱图

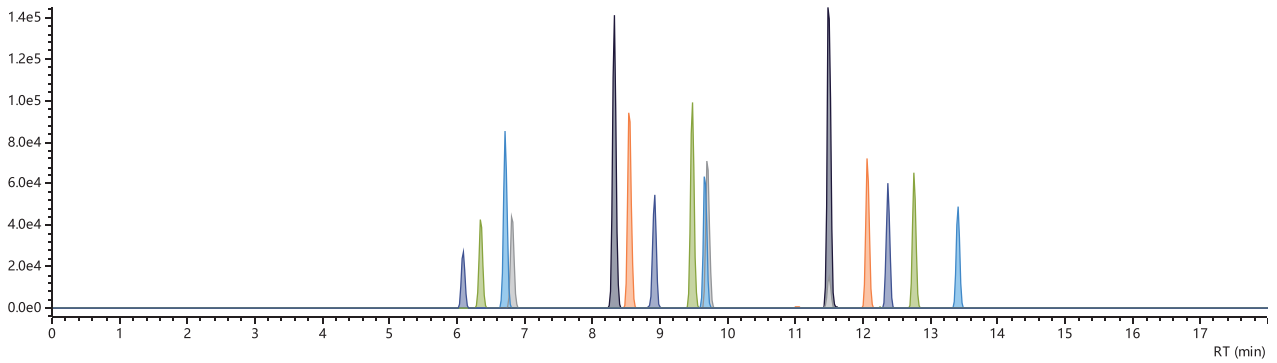


图 9 2.5 µg/g 加标样的一级提取色谱图

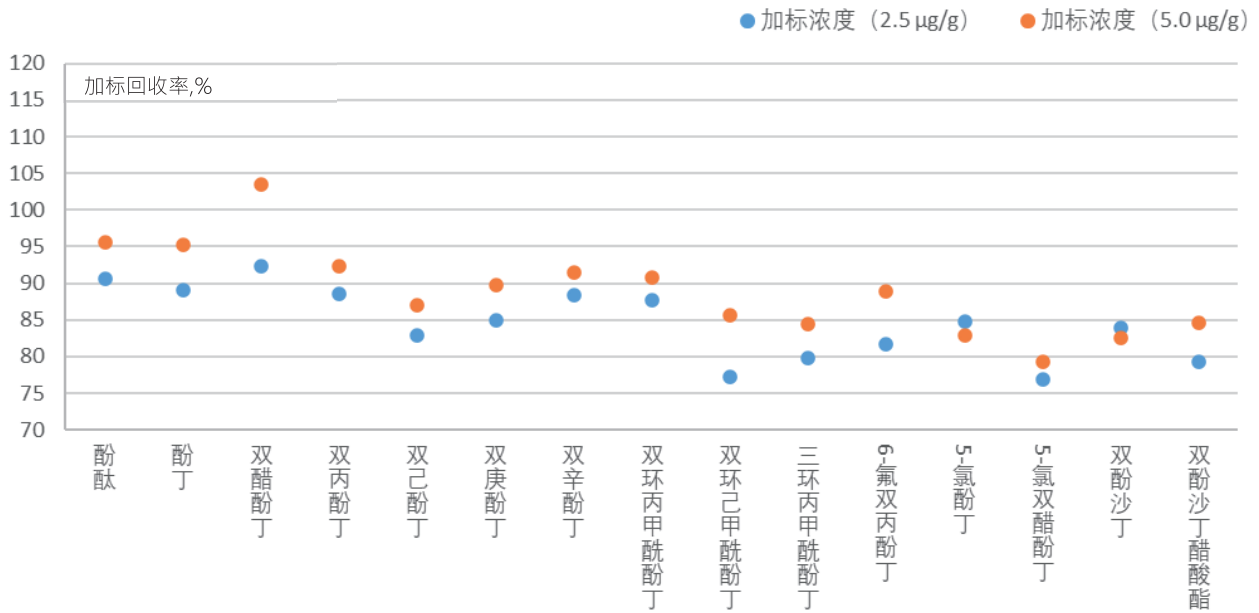


图 10 加标回收率结果 (n=3)

■ 结论

本文利用 LCMS-9050 四极杆飞行时间液质联用仪，基于标准物质构建 15 种酚丁、酚酞及其类似物的高分辨二级质谱库，并通过样品验证了搜库定性的准确性；同时采用外标法对 15 种化合物进行定量分析，建立了 15 种酚丁、酚酞及其类似物的检测方法。方法学验证结果表明其灵敏度、精密度和回收率等关键指标表现良好，满足《食品中 15 种酚汀（酚丁）、酚酞及其酯类衍生物或类似物的执法检验方法》的检测要求。

岛津应用云

