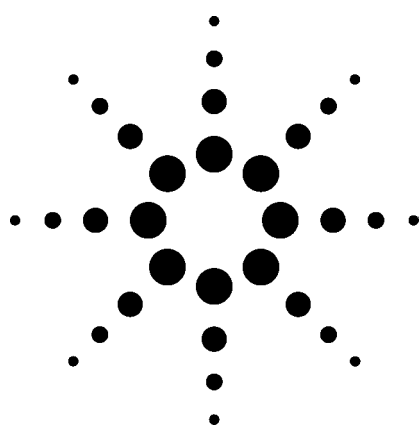




用液相色谱—质谱法(LC-MS)快速测定食品中的 羟甲基糠醛 应用

食品行业

作者

Vural Gökmen

Food Engineering Department

Hacettepe University, Beytepe Campus

06800 Beytepe

Ankara, Turkey

Hamide Z. Senyuva

Ankara Test and Analysis Laboratory

Scientific and Technical Research Council of Turkey

Ankara 06330, Turkey

摘要

羟甲基糠醛是食品腐烂的产物，对其可能产生的毒性作用仍在研究之中。它可被用来监测食品的质量。本文报道了一种用于监测这种化合物的高灵敏度和高选择性的LC/MS方法。这种方法能够定量测定食品中的羟甲基糠醛，检测限为0.005 µg/g。本文还报告了样品制备和分析条件。

引言

对于大部分食品而言，羟甲基糠醛(HMF)是一种公认的腐化指示剂。它是Maillard反应的一个中间体，也

可以在酸催化己糖脱水过程中产生。食品中HMF的形成与温度和pH尤为相关[1]。

近年来，食品中的HMF已经从毒理学上引起了人们的关注：该化合物及其类似的衍生物显示出具有细胞毒性、遗传毒性和致癌作用。然而，进一步研究表明，HMF不会造成严重的健康威胁，但对这一问题仍有争论。

已有几种HPLC技术测定各种食品中HMF的报导。由于糠醛类化合物在280到285 nm波长处有强吸收，这些技术都采用的是UV检测。但是，许多天然存在的或在食品加工中形成的化合物也可能在这段波长下有吸收。这些化合物的色谱分离差，可能对UV检测中的HMF定量有影响。

我们建立了快速可靠测定食品中的HMF的液相色谱/质谱(LC/MS)方法。方法包括，用水溶液提取HMF，固相萃取(SPE)净化，用LC/MS分析。为了缩短色谱分离时间，采用窄径柱进行分离。



Agilent Technologies

实验

LC/MS实验在一套Agilent 1100系列HPLC系统上进行分析,该系统包括二元泵、自动进样器、柱温箱,连接Agilent 1100的MS检测器,配备大气压化学电离接口(APCI)。

数据采集采用选择离子检测(SIM模式,接口参数为:干燥气体(N_2 , 100 psig),流量4 L/min,雾化器压力

LC/MS

流速:	0.2 mL/min
色谱柱:	ZORBAX Bonus RP, 100 mm $\times$ 2.1 mm, 3.5 μ m
流动相:	0.2%甲酸水溶0.01 mM醋酸
进样:	20 μ L进样1000 μ L

MS条件

电离模式:	正APCI
雾化器压力:	60 psi
干燥气流量:	4 L/min
干燥气温度:	325 $^{\circ}$ C
汽化室温度:	425 $^{\circ}$ C
椎孔电压:	20 V
毛细管电压:	4 kV
碰撞诱导解离电压:	55 eV
驻留时间:	439 ms

60 psig,干燥气温度325 $^{\circ}$ C,选择汽化室温度425 $^{\circ}$ C,毛细管电压4 kV,电晕电流4 μ A,碰撞诱导解离电压55 eV,驻留时间439 ms。HMF监测离子 m/z 109和 m/z 127。根据 m/z 109离子信号的响应进行定量。

色谱分离在ZORBAX Bonus RP窄径柱(2.1 mm $\times$ 100 mm, 3.5 μ m)上进行,流动相为含0.2%甲酸水溶液的0.01 mM醋酸,流速0.2 mL/min,温度40 $^{\circ}$ C。

方法

样品制备

称取研细的样品(1 g)置10 mL带塞的玻璃离心管中。将15 g铁氰化钾和30g硫酸锌分别溶于100 mL水中,配

制成Carrez I和II溶液。将100 μ L Carrez I和100 μ L Carrez II溶液加入样品中,并加0.2 mM醋酸至10 mL。用旋涡混合器混合试管3分钟提取HMF。并于0 $^{\circ}$ C 5,000 rpm离心10分钟。上清液用Oasis HLB SPE小柱进一步净化。使用前,SPE小柱用一个2 mL塑料注射器,以大约每秒钟两滴的速度,先用1 mL甲醇处理,再用1 mL水平衡。用2 mL空气赶出剩余的水。将1 mL水提取物注入预先处理过的小柱,使用塑料注射器,流速大约为每秒1滴,弃去洗脱液。用0.5 mL水冲洗小柱。再用缓和的氮气流吹干小柱。最后用一个2 mL塑料注射器以大约每秒1滴的速度,用0.5 mL乙醚将HMF从小柱上洗脱下来。洗脱液收集在一个尖底玻璃试管中,在3 psig氮气流下于40 $^{\circ}$ C水浴(Zymark Turbo Vap[®] LV蒸发器)蒸干。残渣立刻溶于1mL水中,用旋涡混合器混合1分钟。取20 mL溶液注入HPLC系统。

结果和讨论

HMF的正离子模式APCI-MS分析表明,即有母离子[M+1],也有从质子化的分子上丢失水后的特异性离子[C₆H₅O₂]⁺。见图1。在SIM模式中,用 m/z 127和109这些特征离子对HMF进行监测。用这些离子的比值(127离子的响应/109离子的响应 = 1.12)确证HMF

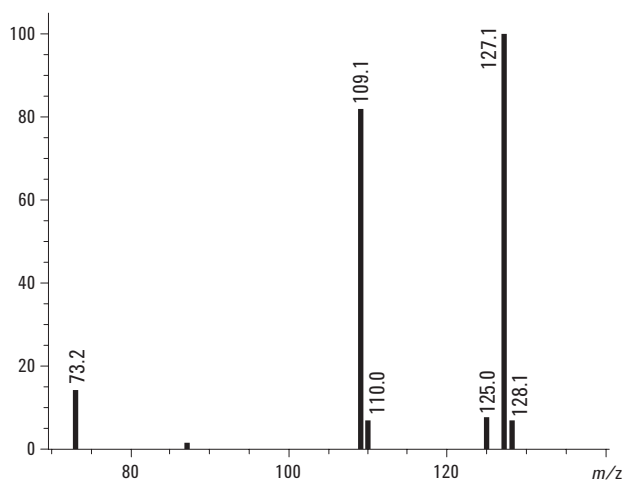


图1. 用正模式APCI获得的HMF质谱图

峰的纯度。两个离子的信号响应在0.05到2.0 $\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内呈线性，相关系数大于0.99。以信噪比为3进行测定， m/z 127和 m/z 109离子的检测限(LOD)分别为0.005 $\mu\text{g/mL}$ 和0.006 $\mu\text{g/mL}$ 。配备APCI的LC/MS是一种功能强大的工具，可以灵敏而精确地测定HMF。

HMF的色谱分离在ZORBAX Bonus RP窄径柱上进行。用含0.2%甲酸的0.01 mM醋酸水溶液作流动相，流速为0.2 mL/min，使HMF在柱上与共提取的干扰基质完全

分离，增加了MS检测的离子化。在此条件下，HMF于5.087 min洗出，保留时间重复性良好(5.09 ± 0.04 min, $n = 10$)。见图2。在死时间为1.55 min的条件下，测得HMF的容量因子(k')为2.33。

从固体食品基质中提取游离糠醛的一般方法是，先用水提取，然后再用Carrez I 和II试剂进行净化。将水相提取物直接进行LC/MS分析,显示存在干扰化合物。Oasis HLB小柱填充了大孔径亲脂的二乙烯苯和亲水的N-乙烯基吡咯烷酮聚合物，因此，可用于LC分析

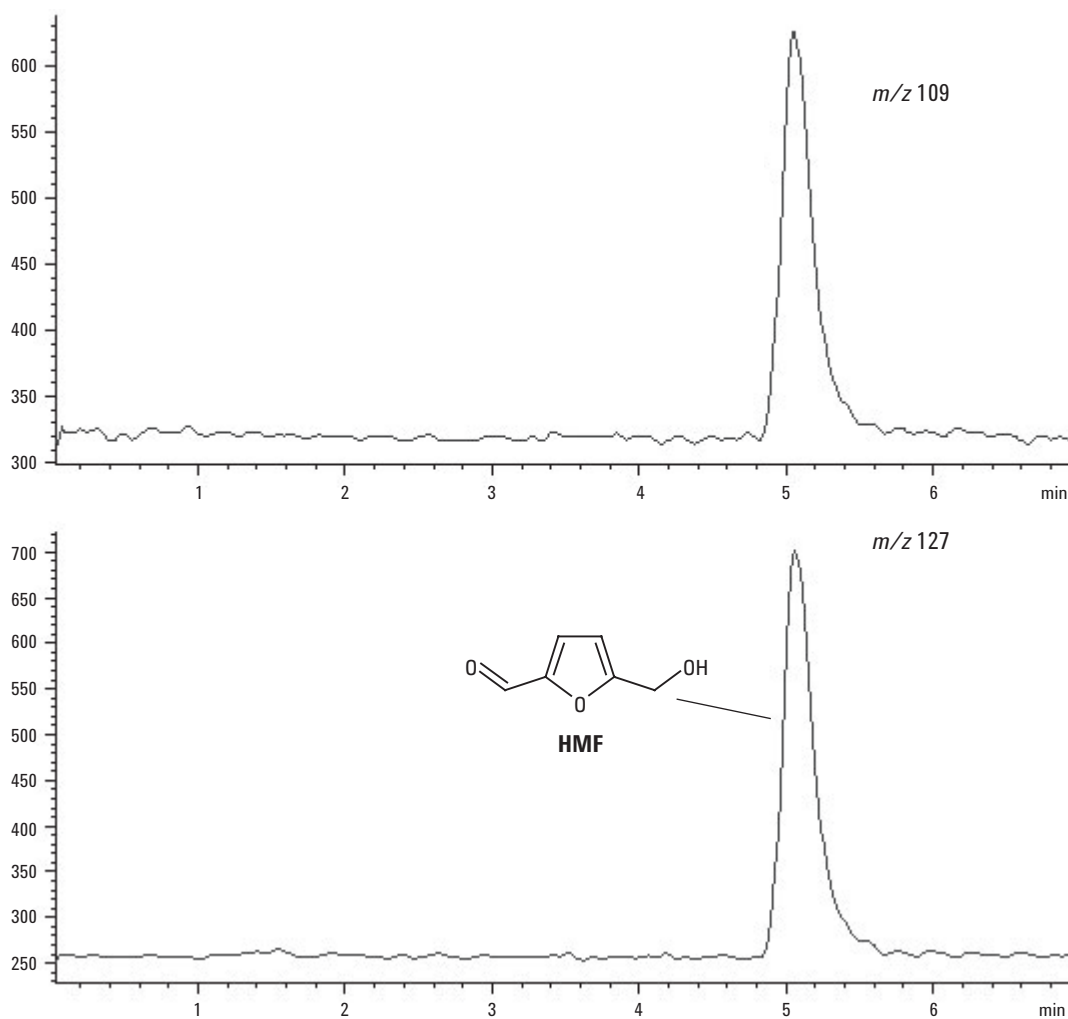


图2. HMF标准品(HMF浓度为100 ng/mL)的提取离子色谱图(EIC)

前的提取。让净化的水相提取物通过预处理过的小柱。提取物中存在的HMF与吸附材料发生强烈相互作用，而大部分共提取的物质则不发生作用。HMF被保留在小柱上，然后再用乙醚洗脱。经测定，0.5 mL乙醚就可以使小柱上的HMF完全洗脱。

通过SPE净化，对MS SIM模式的检测有明显改善。总离子流色谱图显示样品中有三个主要峰。通过对比保留时间和质谱数据，鉴定出了HMF峰。 m/z 127和

m/z 109特征离子的比值还可以确证HMF峰的纯度。我们发现， m/z 109化合物特征离子 $[C_6H_5O_2]$ 比化合物母离子选择性更强，因此，采用这个离子的信号响应对HMF进行定量。

对谷类婴儿食品中标准添加标样的样品进行分析，从而验证方法的准确度。每个标准添加样品进行4次HMF分析，以测定方法的回收率，添加浓度范围为0.25到5.0 $\mu\text{g/g}$ 。所有浓度水平的样品平均回收率超过90%。

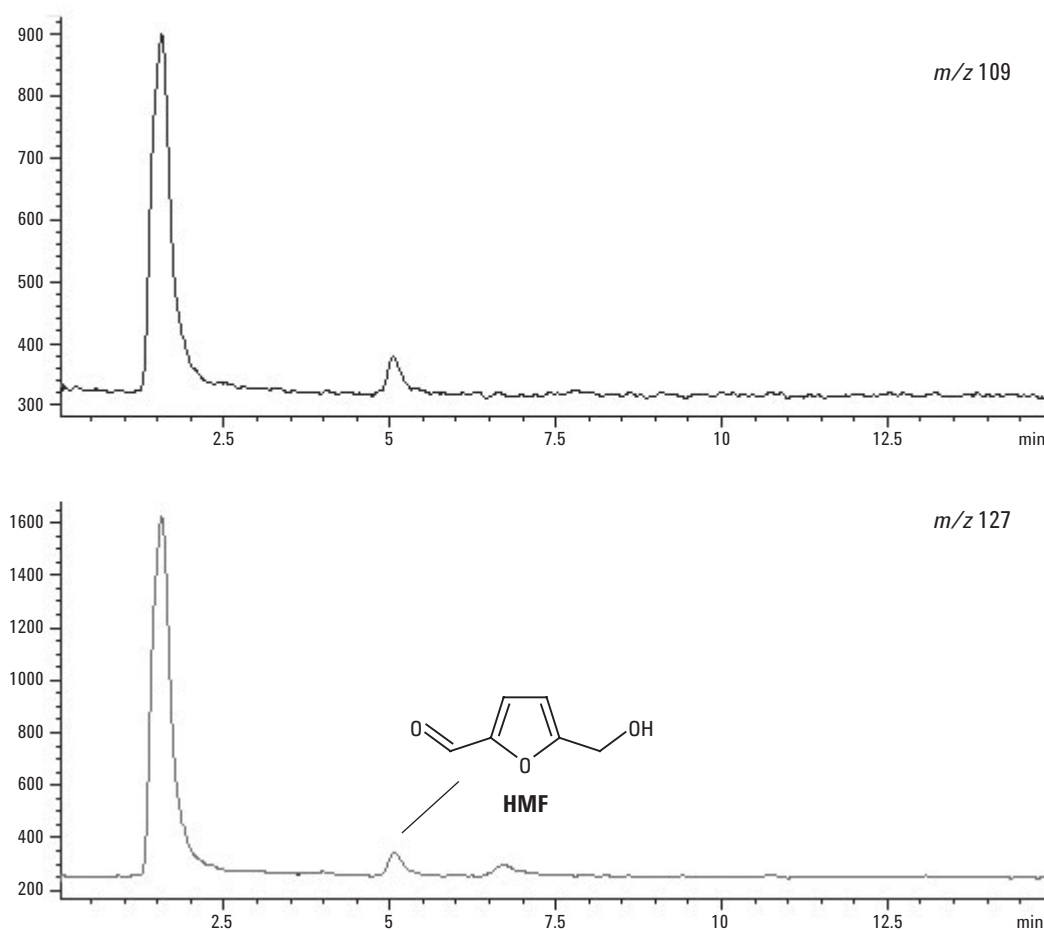


图 3. 果味酸奶样品的提取离子色谱图 (HMF浓度为 0.2 $\mu\text{g/g}$)

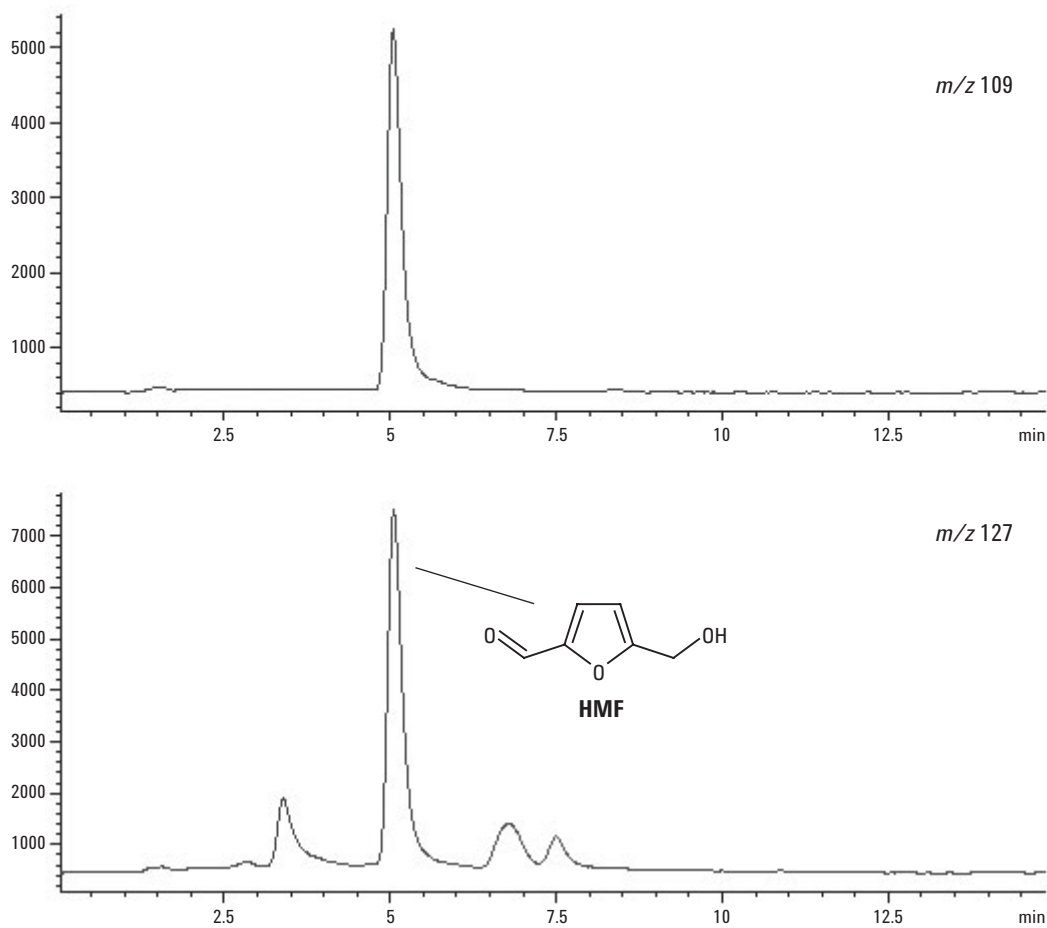


图 4. 薄脆饼干样品的提取离子色谱图 (HMF浓度为 17.5 $\mu\text{g/g}$)

本方法可以精密而准确地测定食品中低浓度和高浓度的HMF。图3显示了一个含HMF 0.2 $\mu\text{g/g}$ 的果味酸奶样品的提取离子色谱图。用LC-UV检测方法很难测定如此低浓度的HMF。图4显示了含HMF 17.5 $\mu\text{g/g}$ 的薄脆饼干样品的提取离子色谱图。

结论

科学界对HMF的潜在毒性越来越关注，需要努力建立测定真实基质中HMF的快速、可靠而灵敏的新方

法。以前常用的方法所分析的食品中HMF含量偏高，常用的提取方法不能在LC分析之前去除可能的干扰化合物。干扰化合物的存在可能造成一些问题，尤其是在测定婴儿食品等HMF浓度低的样品时，LC分离后的UV检测过程中。本应用报告所介绍的方法具有如下特点，1)用一个窄径柱将HMF从基质共提取物中快速分离，2)用SPE有效地净化提取物，3)用MS选择性地检测HMF。

参考文献

1. V. Gökmen, H. Z. Senyuva, Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54, 2845–2849.

如需了解详细信息

如需了解我们产品和服务的更多信息，请访问我们的网站 www.agilent.com/chem/cn。

安捷伦公司对这一材料里可能有的错误或有关装备、性能或使用这一材料而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本资料中所涉及的信息、说明，如有更改，恕不另行通知。

© 安捷伦科技有限公司 2006

中国印刷
2006年8月3日
5989-5403CHCN



Agilent Technologies