

UHPLC 结合串联质谱法可靠测定婴儿食品中的添加剂



作者

Wenxuan Yuan, Guoyin Lai,
Dunming Xu, Zhigang Zhang
厦门海关技术中心

Meiling Lu
安捷伦科技（中国）有限公司

摘要

本应用简报介绍了一种灵敏、可靠的方法，用于婴儿食品中四种常用食品添加剂（包括香豆素、香草醛、甲基香草醛和乙基香草醛）的常规监测。本文中所述的 LC/MS/MS 方法在 50–5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的浓度范围内线性良好。各分析物的检测限 (LOD) 和定量限 (LOQ) 分别为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。婴儿配方奶粉、婴儿谷粉和牛奶在加标浓度为 50、100、500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 时的回收率范围为 90.7%–98.5%，RSD 低于 10% ($n = 6$)。这些结果表明该方法精准可靠，可用于婴儿食品基质中这些添加剂的常规监测。

前言

香豆素和香草醛（包括烷基化香草醛）是两类重要的人工食品添加剂，广泛应用于食品行业中以改善食品的风味特征。然而，这些食品添加剂可能会导致潜在的健康危害，对婴幼儿更是如此。因此，许多国家和地区对这些种类的食品添加剂进行了严格的法规监管^[1,2]。在中国，根据 GB 2760-2016，6 个月以下的婴儿食品中不允许使用任何食品添加剂^[3]。因此，需要使用一种灵敏、可靠的方法测定婴儿食品中的这些食品添加剂，以便开展市场上的常规监测，从而确保婴儿食品安

全。本研究介绍一种 SPE 萃取净化结合 LC/MS/MS 的分析方法，并在三种婴儿食品基质（婴儿配方奶粉、婴儿谷粉和牛奶）中进行验证。

实验部分

化学品与试剂

选择对香豆素、香草醛、甲基香草醛和乙基香草醛的标准化合物进行监测，并选择使用其同位素标记的类似物进行内标法定量。使用 LC/MS 级甲醇和 Milli-Q 水配制流动相。甲酸、氨水和乙酸铵为 HPLC 级，所有其他试剂均为分析纯。

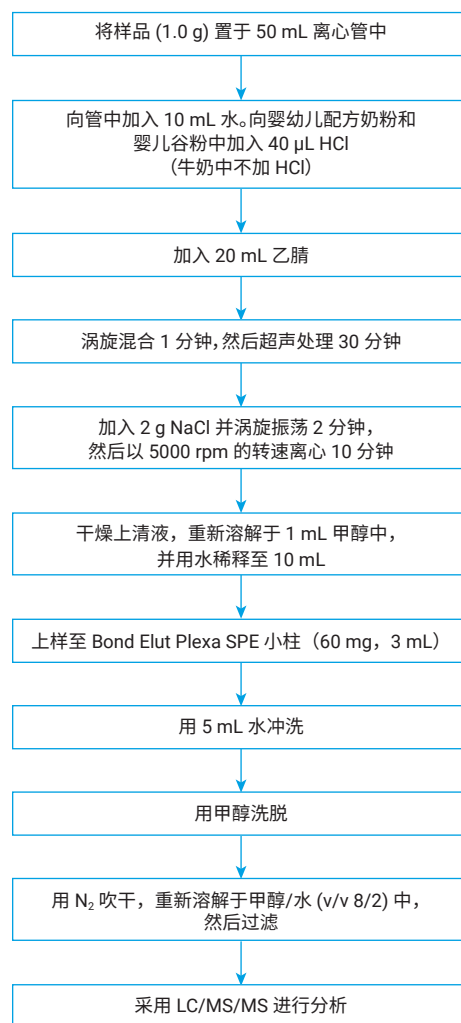
仪器条件

液相色谱条件																
Agilent 1290 Infinity II UHPLC 系统	• 1290 Infinity II 二元泵，内置脱气机 • 1290 Infinity II 自动进样器，具有针座反冲功能 • 1290 Infinity II 高容量柱温箱															
色谱柱	Agilent ZORBAX Eclipse Plus RRHD C18, 2.1 × 100 mm, 1.8 μm															
流动相	A) 0.1% 甲酸水溶液 B) 乙腈															
流速	0.15 mL/min															
柱温	30 °C															
进样量	10.0 μL															
后运行时间	3 min															
梯度	<table border="1"><thead><tr><th>时间 (min)</th><th>%A</th><th>%B</th></tr></thead><tbody><tr><td>0</td><td>55</td><td>45</td></tr><tr><td>5</td><td>40</td><td>60</td></tr><tr><td>5.01</td><td>10</td><td>90</td></tr><tr><td>8</td><td>10</td><td>90</td></tr></tbody></table>	时间 (min)	%A	%B	0	55	45	5	40	60	5.01	10	90	8	10	90
时间 (min)	%A	%B														
0	55	45														
5	40	60														
5.01	10	90														
8	10	90														
质谱条件																
质谱仪	Agilent 6470 QQQ															
离子源	安捷伦喷射流 ESI															
电离模式	正离子															
毛细管电压	4000 V															
喷嘴电压	600 V															
雾化气 (N ₂) 压力	50 psi															
干燥气 (N ₂) 温度	300 °C															
干燥气流速	8 L/min															
鞘气 (N ₂) 温度	350 °C															
鞘气流速	10 L/min															
采集模式	MRM															

方法

婴儿食品包括婴儿配方奶粉、婴儿谷粉和牛奶，购自当地供应商。按照以下流程图进行样品前处理。

样品前处理过程



结果与讨论

目标分析物在酸性条件下容易质子化；因此，选择在正离子 ESI 电离模式下进行 MRM 扫描检测。然后对分析物及其同位素标记内标 (ILIS) 的相应 MRM 采集参数进行了优化，以实现各分析物的高灵敏度和高选择性分析。表 1 列出了每一化合物的采集参数。将 0.1% 甲酸/乙腈作为二元流动相，并在优化的梯度洗脱条件下使用 C18 色谱柱，可以在 7 分钟内将四种分析物从色谱柱中洗脱。甲基香草醛和乙基香草醛是一对异构体，无法实现基线分离。但是，每种异构体都具有特定的碎片离子，因此可以对每种分析物进行选择性和准确定量。图 1 显示了分析物和相应 ILIS 的典型 MRM 色谱图。

表 1. 用于高灵敏度和高选择性检测的分析物的 MRM 参数 (* 定量离子)

分析物	保留时间 (min)	母离子 (m/z)	碎裂电压 (V)	子离子 (m/z)	CE (V)
D3-香草醛	4.40	156.2	106	93	17
				65*	29
香草醛	4.40	153	111	93.2	13
				65.2*	29
D5-乙基香草醛	5.35	172	101	112	13
				93.1*	21
乙基香草醛	5.35	167.1	111	110.9	13
				92.9*	17
D3-甲基香草醛	5.56	170.2	106	142.1*	13
				127	21
甲基香草醛	5.56	167.1	123	139*	13
				124.1	21
D4-香豆素	6.08	151.1	122	107.1	21
				95.1*	29
香豆素	6.08	147	117	103	17
				91.1*	30

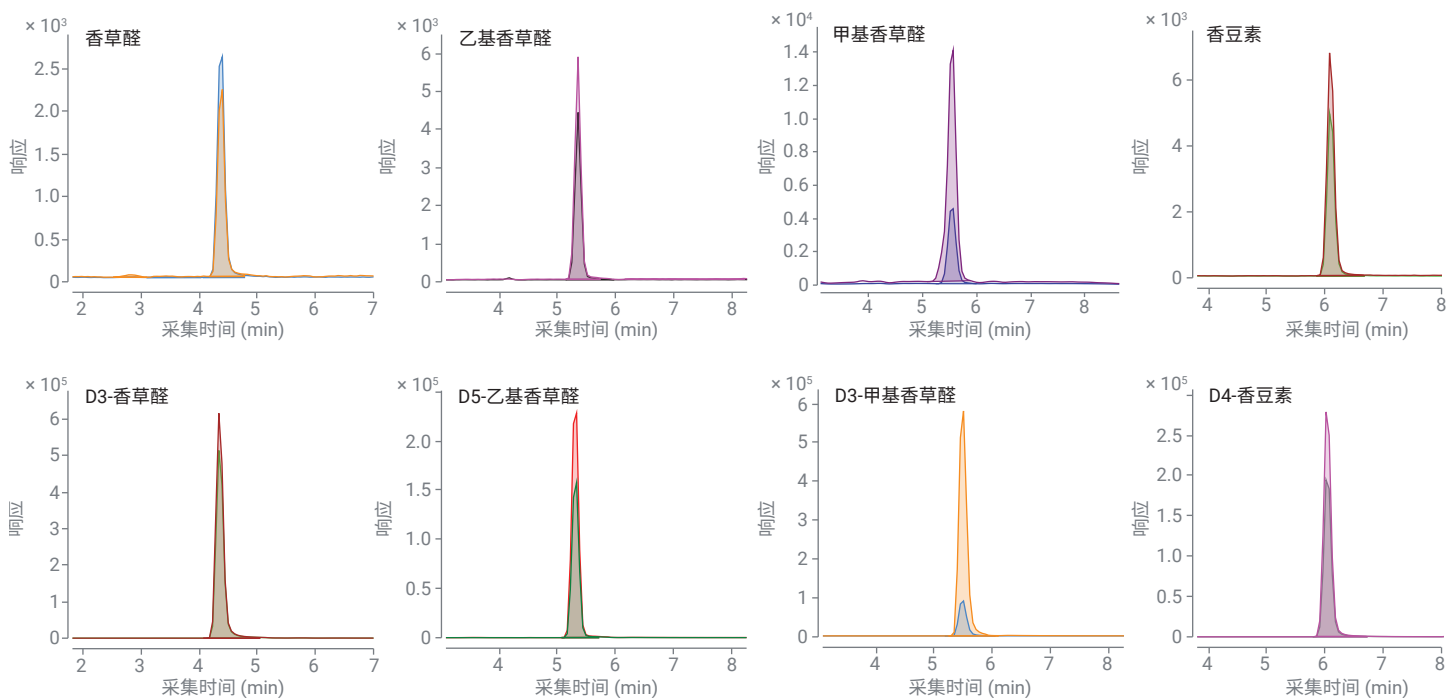


图 1. 四种食品添加剂 (上图) 及其相应内标同位素标记的类似物 (IS, 下图) 的提取 MRM 色谱图

样品前处理优化和方法性能

使用三种酸化溶剂对样品萃取进行了研究。如图 2 所示，在酸性条件下，乙腈、乙醚和乙醇三种所选溶剂中，酸化后的乙腈对各分析物的回收率最高，因此选其作为萃取溶剂。实验还考察了每种食物基质的酸含量，并以婴儿谷粉作为示例。如图 3 所示，加入 40 μL HCl 后各分析物呈现出最高回收率。另外，实验还对萃取和净化的其他参数进行了优化，以最大程度提高回收率。优化后的样品萃取和净化程序如方法部分所示。

使用优化的样品前处理方法，对方法性能进行了评估。通过 ILIS 内标校准发现，所有分析物在 50–5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的范围内具有出色的线性， R^2 高于 0.9995。各基质中每种化合物的 LOD 和 LOQ 分别为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，详见表 2。

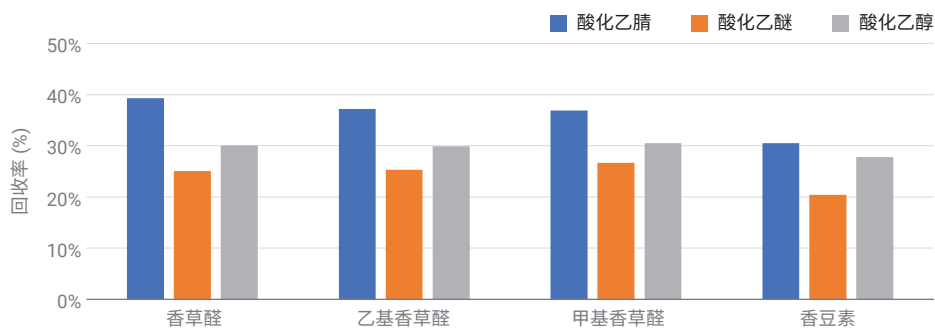


图 2. 不同溶剂对萃取效率的影响

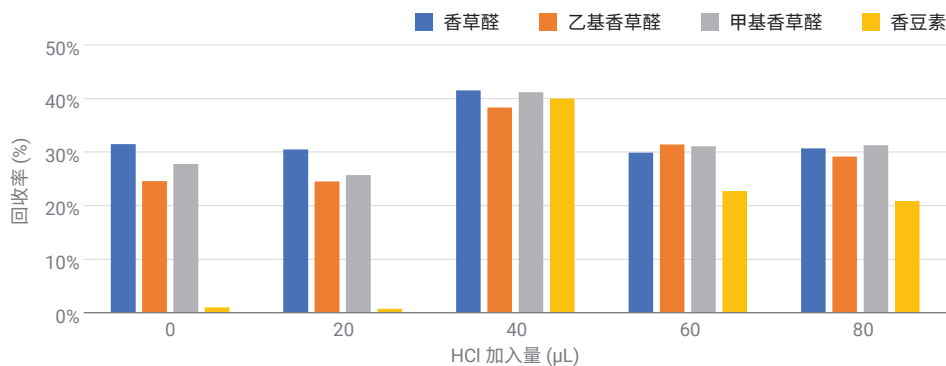


图 3. 加酸量对萃取效率的影响

表 2. 方法的线性、LOD 和 LOQ

化合物	校准方程	R^2	线性范围 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	LOD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
香草醛	$y = 0.009664x - 2.789625E-004$	0.99978	50–5000	10	50
乙基香草醛	$y = 0.046100x - 5.051333E-004$	0.99962	50–5000	10	50
甲基香草醛	$y = 0.037052x - 4.161242E-004$	0.99966	50–5000	10	50
香豆素	$y = 0.050603x - 8.280931E-005$	0.99962	50–5000	10	50

通过分析加标浓度分别为 1 倍、2 倍和 5 倍 LOQ 浓度的三种基质样品，各浓度重复测定 6 次，评估方法的回收率和精密度。如图 4 所示，所有基质的回收率范围为 81.7%–102%，RSD% 低于 10%，表明该方法准确可靠。

结论

本研究展示了一种用于测定婴儿配方奶粉、婴儿谷粉和牛奶中四种常见添加剂的可靠 UHPLC-MS/MS 方法。该方法具有出色的线性、准确度和精密度，能够可靠用于婴儿食品中这些添加剂的常规监测。

参考文献

1. US Food and Drug Administration. 21 CFR 189.130 - Coumarin. **2002**
2. The European Parliament and the Council. Regulation (EC) No. 1334/2008
3. 中国 GB 2760-2016 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准

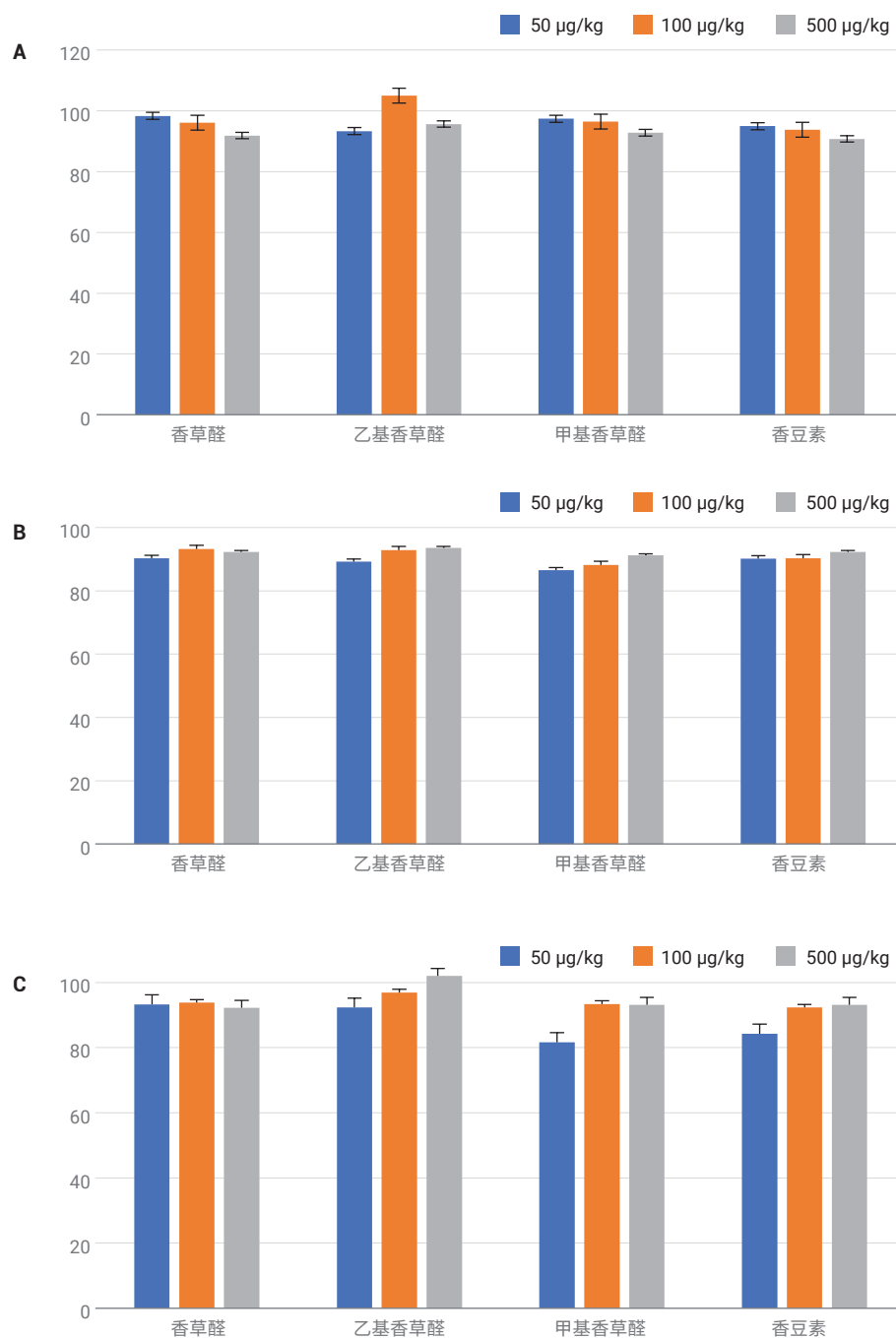


图 4. 在三种基质三个水平下的加标回收率和精密度 (n = 6)。A) 婴幼儿配方奶粉；B) 婴儿谷粉；C) 牛奶

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020

2020年2月24日，中国出版

5994-1675ZHCN

DE.4549652778

