

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2023.04.016

林翠华. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食用植物油中添加的乙基麦芽酚[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(4): 118-122.

LIN C H. Determination of ethyl maltol added in edible vegetable oils by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2023, 31(4): 118-122.

超高效液相色谱-串联质谱法测定食用植物油中添加的乙基麦芽酚

林翠华

(泰安市食品药品检验检测研究院(泰安市纤维检验所), 山东 泰安 271000)

摘要: 采用液相色谱-串联质谱法测定食用植物油专项抽检样品中乙基麦芽酚的含量, 了解乙基麦芽酚的非法添加情况。该方法采用色谱柱为 ZORBAX SB-C18 柱 (2.0×100 mm, 1.8 μm); 以 0.1% 甲酸水溶液-乙腈为流动相, 梯度洗脱; 流速为 0.2 mL/min, 柱温 40 °C。结果表明, 乙基麦芽酚在 10~100 ng/mL 浓度范围内有较好的线性关系, 相关系数 R^2 为 0.999 8, 加标回收率平均为 99.9%, 相对标准偏差 (RSD) 为 0.31%。通过液相色谱-串联质谱法测定 83 批食用植物油中的乙基麦芽酚, 一批花生油中检测出乙基麦芽酚含量为 36.4 μg/kg。该方法可用于食用植物油的质量控制, 也可为食用植物油的监管提供科学参考。

关键词: 食用植物油; 乙基麦芽酚; 超高效液相色谱-串联质谱法; 含量测定

中图分类号: TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2023)04-0118-05

Determination of Ethyl Maltol Added in Edible Vegetable Oils by Ultra Performance Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry

LIN Cui-hua

(Tai'an Food and Drug Inspection and Testing Institute (Tai'an Fiber Inspection Institute),
Taian, Shandong 271000, China)

Abstract: The content of ethyl maltol in special sampling samples of edible vegetable oils was determined by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to understand the illegal addition of ethyl maltol. The chromatographic column used in this method was ZORBAX SB-C18 column (2.0×100 mm, 1.8 μm), and mobile phase was 0.1% formic acid solution-acetonitrile with gradient elution. The flow rate was 0.2 mL/min, and the column temperature was 40 °C. The results showed that ethyl maltol had a good linear relationship in the concentration range of 10~100 ng/mL with the correlation coefficient R^2 0.999 8, and the average recovery rate of added standard was 99.9% with and the relative standard deviation (RSD) 0.31%. Ethyl maltol in 83 batches of edible vegetable oil was determined by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and the content of ethyl maltol in 1 batch of peanut oil was 36.4 μg/kg. This study could be used for the quality control of edible vegetable oil and also provide scientific reference for the supervision

收稿日期: 2023-02-23

基金项目: 山东省食用植物油专项抽检监测项目 (SC20222405)

Supported by: Shandong Province Edible Vegetable Oil Special Spot-check Monitoring Project (No. SC20222405)

作者简介: 林翠华, 女, 1985 年出生, 硕士, 高级工程师, 研究方向为食品检验与质量控制。E-mail: sddzslch@163.com

of edible vegetable oil.

Key words: edible vegetable oil; ethyl maltol; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; content determination

乙基麦芽酚 (EMA), 化学名称为 2-乙基-3-羟基-4H-吡喃酮, 是一种高效合成增香剂, 香味浓、挥发性强^[1], 对食品香味的增强和改善效果显著, 因而被广泛应用于烟草、食品、饮料、化妆品等行业^[2]。但《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》(GB 2760—2014)^[3]食品添加剂使用卫生标准中明确规定植物油脂中不得添加食品用香料、香精^[4-5]。由于乙基麦芽酚价格低廉、性能优越, 添加微量就能起到很好地增香效果, 一些不法生产经营者为了牟取暴利, 在食用植物油中掺入乙基麦芽酚, 以次充好, 欺骗消费者。有研究表明, 过量食用乙基麦芽酚会对人的肝脏产生一定影响, 严重的会导致头痛、恶心、呕吐, 甚至造成肝、肾损伤, 对人们身心健康危害较大^[6]。食用植物油已经成为人们生活中的必需品, 食用植物油的质量关乎人民群众的身体健康, 所以对食用植物油质量检验与监测刻不容缓。目前, 食用植物油中乙基麦芽酚的检测方法主要有气相色谱法^[7]、液相色谱法^[8]、气相色谱-串联质谱法^[9]、液相色谱-串联质谱法^[10]、电化学法^[11]、拉曼光谱法^[12]、分光光度^[13]、荧光法^[14]等。

不同检测方法均有各自的优缺点^[15]。气相色谱法、气相色谱法-串联质谱法适用于易挥发有机物的检测, 但前处理复杂、耗时长; 液相色谱法前处理简单、检测速度快, 但定量测定时容易出现假阳性结果; 电化学方法操作简单、响应迅速、灵敏度高, 但容易受样品基质干扰, 对电极修饰材料要求较高; 拉曼光谱法检测快速、样品前处理相对简单, 能实现现场无损、痕量检测, 但容易受检测环境、基底等因素影响, 其信号强度会有差异。与其他检测方法相比, 超高效液相色谱-串联质谱法检出限低, 样品基质干扰小, 用于食品乙基麦芽酚定量测定准确度高, 可以减少假阳性的现象, 适合多种样品同时大批量的检测。本文通过超高效液相色谱-串联质谱法测定食用植物油中乙基麦芽酚的含量, 可为食用植物油的质量监

管提供依据, 有效打击乙基麦芽酚非法添加行为。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

乙基麦芽酚标准品 (CAS 号: 4940-11-8, 批号: 6492004, 纯度: 99.9%): 北京坛墨质检科技有限公司; 甲醇 (色谱纯): 天津市巴斯夫化工有限公司; 甲酸 (色谱纯): 上海安普实验科技股份有限公司; 食用植物油 (食用植物油专项抽检); 水为超纯水。

1.2 仪器与设备

1290-6460 型超高效液相色谱-串联质谱仪 (配电喷雾电离源): 美国安捷伦科技有限公司; XSE204 电子分析天平: 梅特勒-托利多公司; 高速离心机: 日本 HITACHI 公司; VORTEX-6 涡旋混合器: 其林贝尔仪器制造有限公司; Milli-Q 超纯水机: 美国 Millipore 公司; 0.22 μm 有机滤膜: 上海安普实验科科技股份有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 乙基麦芽酚标准溶液的配制

标准溶液储备液配制: 精密称取乙基麦芽酚标准品 101.23 mg, 置 100 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含乙基麦芽酚 1.011 3 mg 的溶液, 作为标准溶液储备液。

标准溶液中间液的配制: 精密吸取标准溶液储备液 1 mL, 置 10 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 再精密吸取 1 mL, 置 100 mL 容量瓶中, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 制成每 1 mL 含乙基麦芽酚 1 011.3 ng 的溶液, 作为标准溶液中间液。

标准工作液配制: 分别吸取标准溶液中间液 0.1、0.25、0.5、0.75、1.0 mL 于空白基质中, 用甲醇定容至 10 mL, 配成浓度分别为 10.11、25.28、50.55、75.83、101.13 ng/mL 的标准工作液。

1.3.2 样品前处理

准确称取 10 g 试样 (精确至 0.01 g) 置于 50 mL 离心管中, 用移液器准确加入 10 mL 甲醇, 涡旋

振摇 2 min, 离心 10 min (4 °C 条件下 9 000 r/min), 取上清液, 下层油液再用 10 mL 甲醇重复提取一次, 合并上清液, 用甲醇定容至 20 mL 容量瓶中, 经微孔滤膜 (0.22 μm, 有机相) 过滤, 供液相色谱-串联质谱分析。

1.3.3 阴性标准溶液的制备

以相应的空白溶液作为阴性标准品溶液。

1.3.4 色谱条件-质谱条件

色谱条件: ZORBAX SB-C18 色谱柱 (2.0×100 mm, 1.8 μm); 流速 0.2 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量为 2 μL; 流动相: A 为 0.1% 甲酸水溶液, B 为乙腈; 梯度洗脱, 梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

Table 1 Gradient elution procedure

时间/min	流动相比例/%	
	流动相 A	流动相 B
0	95	5
0.5	95	5
2.0	10	90
2.5	10	90
2.8	95	5
3.5	95	5

质谱条件: 电喷雾离子源, 正离子扫描; 多反应监测; 毛细管电压: 4 500 V; 雾化器压力: 40 psi; 干燥气流速: 10 L/min; 干燥气温度: 300 °C; 鞘气流速: 10 L/min; 鞘气温度: 300 °C。其他质谱条件见表 2。

1.4 数据分析

对 83 批食用植物油样品各检测 6 个平行, 应用安捷伦液相色谱-三重四极杆串联质谱联用仪 MassHunter 工作站软件对实验中数据进行分析处理, 并使用 Excel 2010 作图。

表 2 质谱条件

Table 2 Mass spectrum condition

化合物	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	去簇电压 /m	碰撞能量 /eV
乙基麦芽酚	140.9	126.0 (定量)	80	22
		71.1 (定性)	80	34

2 结果与分析

2.1 空白实验

取标准品溶液、样品溶液及阴性标准品溶液各 2 μL, 分别注入液相色谱-串联质谱仪, 依法测定。得到的色谱图表明, 阳性样品溶液中乙基麦芽酚与标准品工作液在同一保留时间 (1.881 min) 出峰, 阴性标准品溶液在相应保留时间未出现对应峰, 表明乙基麦芽酚的测定不受其他成分干扰。MRM 图见图 1。

2.2 线性关系实验、检出限和定量限

精密吸取 2.2.1 项下不同浓度 (10.11、25.28、50.55、75.83、101.13 ng/mL) 的标准工作液各 2 μL, 分别注入液相色谱-串联质谱仪, 依法测定峰面积, 以峰面积 (S) 对进样浓度 (C, ng/mL) 进行线性回归, 回归方程为 $S=721.04C-1146$ ($R^2=0.9998$), 线性关系良好, 以信噪比 $S/N \geq 3$ 确定检出限, 以信噪比 $S/N \geq 10$ 确定定量限, 乙基麦芽酚检出限为 1.1 μg/kg, 定量限为 3.5 μg/kg。线性关系结果见图 2。

2.3 精密度实验

精密吸取 2.2.1 项下的浓度为 25.28 ng/mL 的标准工作液 2 μL 注入液相色谱-串联质谱仪, 连续测定 6 次, 测得的峰面积及 RSD 见表 3。结果表明, 本方法精密度良好。

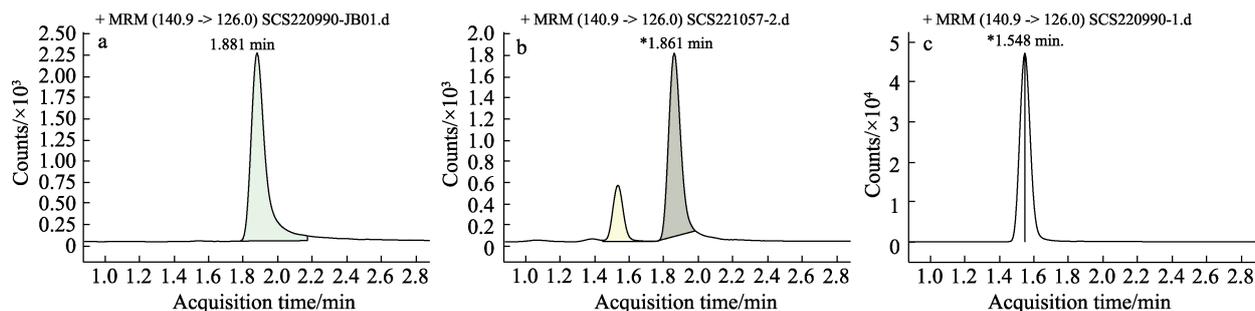


图 1 乙基麦芽酚标准品 (a)、阳性样品 (b) 与阴性标准品 (c) 的 MRM 图

Fig. 1 MRM diagram of ethyl maltol (a), positive sample (b) and negative standard (C)

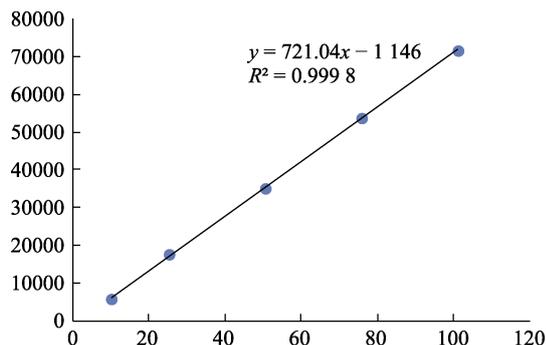


图 2 乙基麦芽酚线性关系实验结果

Fig. 2 Results of linear relationship test of ethyl maltol

表 3 精密度实验结果

Table 3 Precision test results

测定次数	1	2	3	4	5	6	RSD/%
峰面积	17 612	17 588	17 701	17 578	17 498	17 672	0.41

表 4 稳定性实验结果

Table 4 Stability test results

时间/h	0	1	2	4	8	12	RSD/%
峰面积	12 164	12 176	12 658	12 796	12 573	12 704	0.63

2.4 稳定性实验

精密吸取 2.2.2 项下的样品前处理溶液 2 μL 注入液相色谱-串联质谱仪, 间隔一定时间进行测定, 共测定 12 h, 测得的峰面积见表 4。结果表明, 样品溶液在 12 h 内基本稳定。

2.5 重现性实验

对同一批阳性样品, 按照 2.2.2 样品前处理方法分别制备 6 份样品溶液, 分别测定峰面积并计算含量, 结果见表 5。RSD 为 0.24%, 表明本方法重现性良好。

表 5 重现性实验结果

Table 5 Results of reproducibility tests

测定次数	1	2	3	4	5	6	RSD/%
含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	36.45	36.23	36.31	36.33	36.21	36.29	0.24

2.6 回收率实验

准确称取 10 g 试样 (精确至 0.01 g) 6 份, 分别置于 20 mL 容量瓶中, 分别精密加入 2.2.1 项下 1 011.3 ng/mL 乙基麦芽酚标准溶液中间液 0.4 mL, 用甲醇稀释至刻度, 摇匀, 经微孔滤膜 (0.22 μm , 有机相) 过滤, 供液相色谱-串联质谱分析。

精密吸取以上溶液各 2 μL , 分别注入液相色谱-串联质谱仪, 计算乙基麦芽酚测得量, 平均回收率为 99.9%, RSD 为 0.71%, 结果见表 6。

2.7 样品含量测定

取食用植物油样品, 按照 2.2.2 项下制备样品溶液, 按 2.1 项下色谱条件进行测定, 根据公式 $X=C \times V \times 1\,000 / m \text{ 样} \times 1\,000$ (X 为样品中乙基麦芽酚的含量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$), C 为试样溶液中乙基麦芽酚的浓度 (ng/mL), V 为样品溶液定容体积 (mL), m 样为样品质量 (g)), 计算出样品中乙基麦芽酚含量, 结果见表 7。

表 6 乙基麦芽酚回收率测定结果

Table 6 Recovery results of ethyl maltol

样品取 样量/g	样品中 量/ng	加入量 /ng	测得量 /ng	回收率 /%	平均回收 率/%	RSD/%
10.01	364.86	404.5	770.12	100.2		
10.03	365.57	404.5	771.43	100.1		
10.02	365.21	404.5	769.82	99.5	99.9	0.71
10.05	366.30	404.5	773.25	99.9		
10.06	365.67	404.5	768.84	98.7		
10.04	365.94	404.5	775.67	100.1		

表 7 样品含量测定结果

Table 7 Result of determination of sample content

品种	样品批次	不合格批次	乙基麦芽酚含量/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
芝麻油	25	0	
大豆油	28	0	
花生油	12	1	36.4
玉米油	6	0	
调和油	6	0	
其他食用植物油	6	0	

3 结论

本研究采用超高效液相色谱-串联质谱法测定食用植物油中添加的乙基麦芽酚, 通过对线性关系、精密度、稳定性、重现性、回收率等方法学指标的研究, 表明此方法精密度高, 线性关系、稳定性、重现性、回收率好。对所收集的 83 批食用植物油样品进行检测, 一批花生油中检测出乙基麦芽酚, 含量为 36.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。此结果表明, 乙基麦芽酚的非法添加已经不仅仅局限于芝麻油中, 一些不法商家为了牟取暴利, 在其他食用植物油中掺入乙基麦芽酚, 欺骗消费者, 损害消费者身

心健康。

市场上,食用植物油存在以次充好的现象。本研究不仅能提高消费者的警惕性,也可用于食用植物油质量控制,为食用植物油的质量监管提供一定的参考依据,改善食用植物油的市场环境。

参考文献:

- [1] 汝冬冬,朱庆仁,孙登明.化学修饰电极对乙基麦芽酚的测定[J].井冈山大学学报(自然科学版),2019,40(3):24-30+49.
 RU D D, ZHU Q R, SUN C M. Determination of ethyl maltol at chemically modified electrode[J]. Chinese Journal of Jinggangshan University, 2019, 40(3): 24-30+49.
- [2] 李宣,张滢元,黄永桥.UPLC-MS/MS法测定食用植物油中乙基麦芽酚含量的不确定度评定[J].分析检测,2022(4):89-94.
 L X, ZHANG Y Y, HUANG Y Q. Evaluation of uncertainty in determination of ethyl maltol in edible vegetable oil by UPLC-MS/MS[J]. Analysis and detection, 2022(4): 89-94.
- [3] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.GB2760—2014:食品安全国家标准食品添加剂使用标准[S].北京:中国标准出版社,2015.
 National Health and Family Planning Commission. GB2760—2014: national standard for food safety-use of food additives[S]. Beijing: China Standard Press, 2015.
- [4] 胡启立,刘国强,程江闯,等.食用植物油中乙基麦芽酚测定干扰未知物分析[J].食品工业,2021,42(2):291-294.
 HU Q L, LIU G Q, CHENG J C H, et al. Determination of ethylmaltol in edible vegetable oil by interference unknown substance analysis[J]. Food Industry, 2021,42(2): 291-294.
- [5] 王广丽,孙涛,刘建洋,等.浅谈乙基麦芽酚[J].食品安全导刊,2020(6):66-67.
 WANG G L, SUN T, LIU J Y, et al. Brief introduction to ethyl maltol[J]. Guide to food safety, 2020(6): 66-67.
- [6] 施元旭,张水锋,潘项捷,等.超高效液相色谱-串联质谱法测定菜籽油中乙基麦芽酚残留量的不确定度评定[J].中国油脂,2021,46(1):141-145.
 SHI Y X, ZHANG Y F, PAN X J, et al. Evaluation of uncertainty in the determination of ethyl maltol residues in rapeseed oil by High-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry[J]. China oils and Fats, 2021, 46(1): 141-145.
- [7] 龚国珍,李媛.气相色谱法测定食用植物油中乙基麦芽酚的含量[J].检验检疫学刊,2019,29(2):136-137.
 GONG G Z, LI Y. Determination of ethyl maltol in edible vegetable oil by Gas chromatography method[J]. Journal of Inspection and Quarantine, 2019, 29(2): 136-137.
- [8] 陈毓芳,林海丹,官咏仪,等.高效液相色谱法测定饮料中乙基麦芽酚含量的不确定度评定[J].食品安全质量检测学报,2018,9(9):2175-2180.
 CHEN Y F, LIN H D, GUAN Y Y, et al. Evaluation of uncertainty in the High-performance liquid chromatography determination of ethyl maltol in beverages[J]. Journal of food safety and quality inspection, 2018, 9(9): 2175-2180.
- [9] PENG J F, WEI M L, HU Y W, et al. Simultaneous determination of maltol, ethyl maltol, vanillin, and ethyl vanillin in foods by isotope dilution headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Anal Method, 2019, 12(8): 1725-1735.
- [10] 杨东东,李实飞,林正锋,等.固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定婴幼儿乳粉中乙基麦芽酚[J].中国乳品工业,2022,50(1):48-51.
 YANG D D, LI S F, LIN Z F, et al. Determination of ethyl maltol in infant formula milk powder by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with solid phase extraction[J]. China Dairy Industry, 2022, 50(1): 48-51.
- [11] CHEN M, XINYING M A. Electrochemical determination of ethyl maltol on a glassy carbon electrode modified with graphene[J]. Journal of The Chilean Chemical Society, 2013, 58(3): 1918-1920.
- [12] 董鸽,饶之帆,杨晓云,等.乙基麦芽酚分子的密度泛函理论计算及表面增强拉曼光谱分析[J].光散射学报,2011,23(4):311-316.
 DONG K, RAO Z F, YANG X Y, et al. Density functional theory calculation and surface-enhanced Raman spectroscopic analysis of Ethyl Maltol[J]. Journal of light scattering, 2011, 23(4): 311-316.
- [13] 彭少华,马文华,狄俊伟.分光光度法、高效液相色谱法和伏安法测定麦芽酚和乙基麦芽酚[J].光谱实验室,2005,22(4):680-682.
 PENG S H, MA W H, DI J W. Determination of maltol and ethyl maltol by spectrophotometer, high-performance liquid chromatography and voltammetry[J]. Spectroscopy laboratory, 2005, 22(4): 680-682.
- [14] 吕惠萍,朱琪,马心英,等.荧光分析法测定食品中乙基麦芽酚的含量[J].菏泽学院学报,2019,41(2):48-51.
 LV H P, ZHU Q, MA X Y, et al. Determination of ethyl maltol in food by fluorimetry[J]. Journal of Heze College, 2019, 41(2): 48-51.
- [15] 周惠健,刘佩,刘嘉琼,等.食品中乙基麦芽酚检测方法的研究进展[J].食品安全质量检测学报.2021,(12)8:3266-3272.
 ZHOU H J, LIU P, LIU J Q, et al. Progress in the determination of ethyl maltol in food[J]. Journal of food safety and quality inspection, 2021, (12)8: 3266-3272. 

备注:本文的彩色图表可从本刊官网(<http://lspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。