

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2022.03.019

鲍忠定, 王东铭, 王潇. 气相色谱-质谱联用法测定香米中添加的5,6,7,8-四氢喹啉[J]. 粮油食品科技, 2022, 30(3): 171-176.

BAO Z D, WANG D M, WANG X. Determination of 5,6,7,8-tetrahydroquinoxaline added in aromatic rice by gas chromatography-mass spectrometry[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2022, 30(3): 171-176.

气相色谱-质谱联用法测定香米中 添加的5,6,7,8-四氢喹啉

鲍忠定, 王东铭, 王 潇

(浙江公正检验中心有限公司, 浙江 杭州 310030)

摘 要: 建立气相色谱-质谱联用法 (gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS) 分离和测定香米中添加的5,6,7,8-四氢喹啉的方法。试样干燥后以无水乙醚为提取剂进行索氏提取, 提取液经无水硫酸钠脱水、氮吹浓缩、无水乙醇溶解, 提取物经 HP-INNOWAX 柱分离后进入质谱仪检测, 外标法定量。该方法在 5,6,7,8-四氢喹啉浓度 0.5~10.0 mg/L 的范围内具有良好的线性关系 ($R=0.9994$), 方法的精密度良好 RSD 为 4.77%, 加标回收率为 81.00%~93.70%, 方法的检出限 (RSN=3) 为 0.05 mg/L。结果表明气相色谱质谱联用方法可用于香米的快速定性测定及真伪鉴别。

关键词: 5,6,7,8-四氢喹啉; 香米; 气相色谱质谱联用法; 鉴别; 香精

中图分类号: TS207.3 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2022)03-0171-06

网络首发时间: 2022-05-05 08:50:26

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20220429.1159.004.html>

Determination of 5,6,7,8-Tetrahydroquinoxaline Added in Aromatic Rice by Gas Chromatography-Mass Spectrometry

BAO Zhong-ding, WANG Dong-ming, WANG Xiao

(Zhejiang Gongzheng Testing Center Inc, Hangzhou, Zhejiang 310030, China)

Abstract: A method for separation and determination of 5,6,7,8-tetrahydroquinoxaline added in aromatic rice by gas chromatography-mass spectrometry was established. The anhydrous ether was extracted (Soxhlet) after drying, purified by anhydrous sodium sulfate and concentrated with nitrogen blowing, and the anhydrous ethanol was dissolved. The extract was separated by an HP-INNOWAX column and then detected by a mass spectrometer, and quantified by an external standard method. The method had a good linear relationship ($R=0.9994$) in the range of 5,6,7,8-tetrahydroquinoxaline concentration of 0.5~10.0 mg/L. The RSD of the method was 4.77%. The recovery rate of addition was within 81.00%~93.70%, and the detection limit (RSN=3) of the method was 0.05 mg/L. Results showed that the gas chromatography-mass spectrometry method is suitable for rapid qualitative analysis and identification of aromatic rice.

Key words: 5,6,7,8-tetrahydroquinoxaline; aromatic rice; gas chromatography-mass spectrometry; identification; flavor

收稿日期: 2021-11-25

作者简介: 鲍忠定, 男, 1972 年出生, 本科, 高级工程师, 研究方向为食品质量与安全研究。E-mail: 13857136726@163.com.

大米作为人们日常主食, 因其高产、稳产、适应性强、经济价值高的优势, 在国民经济中占有极其重要的地位。随着居民的收入水平和健康意识的不断提高, 消费者对大米食味品质的要求逐渐提高, 特别是对口感的要求已从“可以吃”向“是否好吃”转变^[1-3]。香米是一种具有特别香型和特殊风味的稻米, 深受我国相当数量人口的喜爱, 消费需求呈现日益增长的趋势, 其价格相对于普通非香米而言常常高出 2~3 倍^[4-5]。

国内外学者从 20 世纪 70 年代开始对稻米香味化学组分进行了研究, 研究表明香米特征化合物和主要香气贡献物为具有“爆玉米花”香韵的 2-乙酰-1-吡咯啉^[6-9]。受经济利益驱动, 一些不良商家通过在普通大米中添加香米香精以制作“人工香米”以牟取暴利; 这种掺杂使假行为不仅损害了消费者的利益并可能造成一定的健康风险, 还严重扰乱了市场的正常秩序。2009 年 10 月卫生部曾发布公告: 根据《食品安全法》及其实施条例的规定, 大米等粮食生产加工过程中使用香精香料缺乏工艺必要性, 大米等粮食生产者不得在生产加工过程中使用香精香料; 食品添加剂使用标准 GB 2760—2014 明确规定: 大米中不得添加任何食品用香料、香精^[10]。但仍有不法分子为欺骗顾客、扩大销售、牟取暴利在普通大米中加入香米香精, 假冒特定品牌的优质大米^[11]。

目前对香米中是否添加了香精的分析研究主要有盖崴等^[12]利用红外光谱法寻找丙二醇吸收峰定性鉴别是否添加了香精溶剂。冯永巍等^[13]通过气相色谱法检测 2-乙酰基吡啶对增香大米进行鉴定。孙明哲等^[14]采用碘量法测定大米中的香精溶剂 1,2-丙二醇。各种方法均有缺点, 2-乙酰基吡啶、2-乙酰基吡啶和丙二醇只在部分香米香精中含有。前期研究表明在所购的香米香精样品中都检出 5,6,7,8-四氢喹啉物质, 有部分香米香精样品含有 2-乙酰基吡啶或 2-乙酰基吡啶。5,6,7,8-四氢喹啉天然微量存在于花生和榛子中, 有坚果、烤香、谷物、豆香、小麦香气以及坚果、爆玉米花味道^[15], 具有与天然香米特征芳香物质类似的香气。目前国内外还未有对香米中添加的 5,6,7,8-四氢喹啉的鉴别、分析研究报道, 针对大米中添加香米香精, 以次充好、以旧充新、冒

充品牌的现象, 通过测定香米中添加的 5,6,7,8-四氢喹啉的含量鉴别香米的真伪, 可有效打击大米造假的不法行为, 为大米中违法使用香精的监管提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

市售的 5 种不同品牌香米(分别以样品 A、B、C、D、E 表示); 3 种稻谷样品样品购于浙江、黑龙江、湖南主产地, 品种为中浙优 8 号、龙稻 18 和农香 32(分别以稻谷 1、2、3 表示); 5,6,7,8-四氢喹啉标准物质(纯度>98.0%): 日本东京化成工业株式会社; 无水乙醇、乙醚(分析纯): 永华化学股份有限公司(江苏); 无水硫酸钠(分析纯): 江苏强盛功能化学股份有限公司。

1.2 仪器与设备

GC 7890B-5977B 气相色谱质谱联用仪: 美国 agilent 公司; FY-SXT-06 索氏抽提器: 杭州菲跃仪器有限公司; DK-S28 电热恒温水浴锅、DGG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱: 上海森信实验仪器有限公司; DH5B 离心机: 湖南多恒仪器设备有限公司; R-210 旋转蒸发仪: 瑞士 BUCHI 公司; JLG-II 型实验砬谷机: 中储粮成都粮食储藏科学研究所; LYJM-2 型碾米机: 郑州良源分析仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

准确称取按其纯度折算为 100% 质量的 5,6,7,8-四氢喹啉标准品 100 mg, 用无水乙醇溶解, 配制成 1.0 mg/mL 的标准储备液, 于 4 °C 棕色瓶中避光保存。根据检测样品中 5,6,7,8-四氢喹啉的测定要求, 用无水乙醇配制成 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0、8.0、10.0 mg/L 的系列标准工作溶液, 现用现配。

1.3.2 样品前处理

稻谷样品经过实验砬谷机脱壳处理后, 再通过实验室用碾米机进行碾磨处理, 得到香米试样备用。将香米试样置于 105 °C 电热干燥箱中干燥 30 min, 冷却后, 称取 10.0 g 香米颗粒样品, 用滤纸包裹于索氏抽提器中, 由抽提器冷凝管上端加入无水乙醚至接受瓶内容积的三分之二处, 于

45 °C水浴上加热, 回流提取 2.0 h。取下接收瓶, 回流液过无水硫酸钠柱干燥, 于 45 °C水浴中充氮保护旋转浓缩至近干, 氮气吹干, 用无水乙醇溶解、混合, 并定容至 2.00 mL。然后在 4 000 r/min 离心机离心分离 5 min, 取上清液过 0.45 μm 滤膜后供气相色谱质谱仪检测分析。

1.3.3 色谱-质谱条件

色谱条件: 色谱柱为 HP-INNOWAX 毛细管柱 (30 m×0.25 mm i.d.×0.25 μm); 进样口温度为 230 °C; 载气为高纯氦气; 流速为 1.0 mL/min (恒流); 柱温初始温度 100 °C, 保持 2 min 后, 以 10 °C/min 升至 200 °C, 保持 8 min; 分流比 15 : 1; 进样量 1 μL。

质谱条件: 电子轰击 (EI) 离子源; 电离能量 70 eV; 离子源温度 230 °C; 四极杆温度: 150 °C; 连接线温度: 280 °C; 溶剂延迟时间 5.0 min; 选择离子采集 (SIM)。

2 结果与分析

2.1 定性及定量离子的选择

在选定的前处理条件及色谱-质谱条件下, 对样品进行测定。图 1、2 分别为稻谷、香米试样的 GC-MS 总离子色谱图 (TIC), 由图可知, 稻谷试样中不含峰 1, 香米试样中峰 1 能与其它化合物获得有效分离, 无干扰峰; 保留时间为 10.13 min。图 3 为峰 1 的质谱图, 经 NIST 谱库检索, 与 5,6,7,8-四氢喹啉标准质谱图匹配 (二者之间相似度为 90%)。经比较可确定峰 1 为 5,6,7,8-四氢喹啉, 质核比 m/z 为 106、119、133 和 134 的碎片离子峰是 5,6,7,8-四氢喹啉的主要特征离子。采用选择离子监测模式对目标物进行定量时,

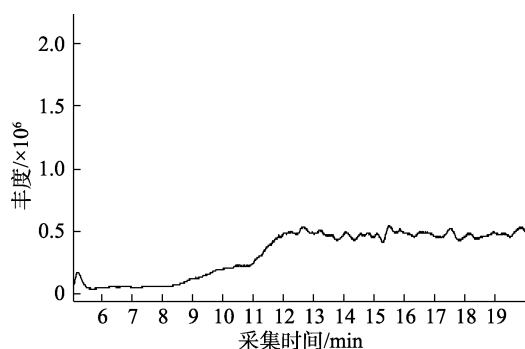


图 1 稻谷样品的总离子流图
Fig.1 Total ion chromatography of paddy

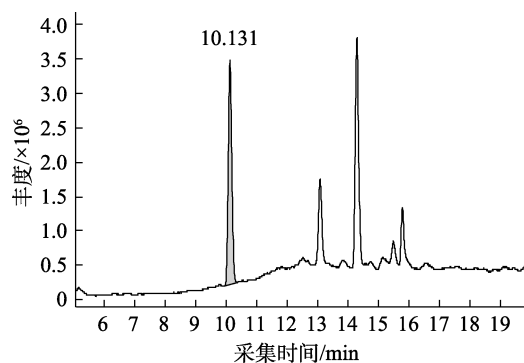


图 2 香米样品的总离子流图
Fig.2 Total ion chromatography of the aromatic rice

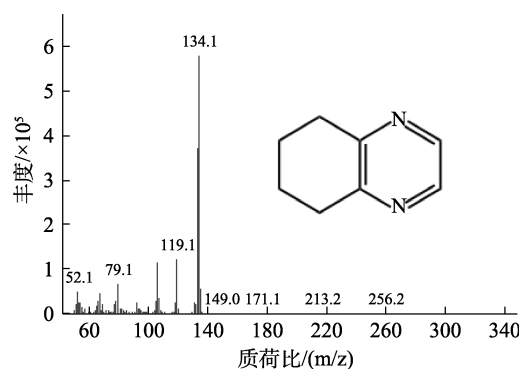


图 3 峰 1 质谱图
Fig.3 The mass spectrum of peak 1

通常选择灵敏度高、抗干扰能力强的碎片离子为目标离子定量。因此选择 5,6,7,8-四氢喹啉的定量离子是 m/z 134, 定性离子是 m/z 106、119、133。

2.2 前处理条件的优化

5,6,7,8-四氢喹啉几乎不溶于水, 属于非极性化合物, 依据相似相溶原理应选择非极性或弱极性溶剂作为提取剂, 选择无水乙醚、无水乙醇、正己烷提取溶剂进行了比较, 图 4 结果表明, 选择无水乙醚作为提取溶剂, 回收率好, 试样基质的干扰少。

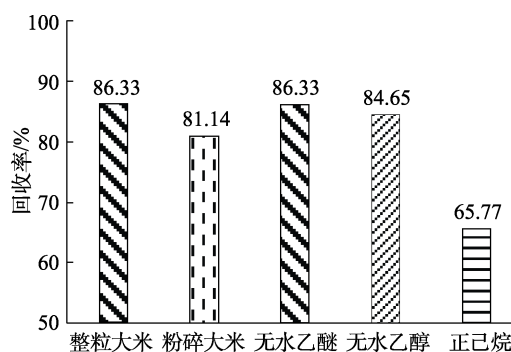


图 4 不同试样制备和不同提取溶剂
5,6,7,8-四氢喹啉回收率测定结果
Fig.4 Effects of sample preparation and extraction solvent
on recovery results of 5,6,7,8-tetrahydroquinoline

比较选择整粒米和粉碎米作为实验对象, 图 4 结果表明采用整粒米和粉碎米的回收率均达到 80% 以上, 由于粉碎米的米粒太小太轻, 对样品的包扎要求严格; 此外试样的紧密程度不一, 使米粒之间的空隙大小不一, 造成抽提速度和试样的重复性测定结果有一定影响; 而整粒米由于其表面天然的致密结构, 喷雾的香米香精粘附在大米颗粒表面较难渗入内部, 故选取整粒米作为实验对象是可行的。

选择 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 h 等不同的提取时间, 考察提取时间对香米中添加的 5,6,7,8-四氢喹啉提取率的影响; 图 5 结果表明抽提时间控制在 2.0 h, 既能保证目标物的有效提取, 又能减少试样中脂溶性成分的提取。

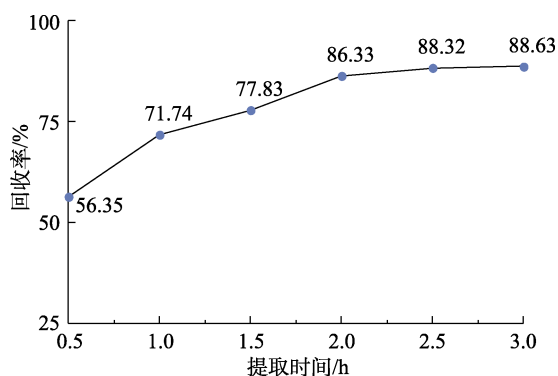


图 5 不同提取时间 5,6,7,8-四氢喹啉回收率测定结果
Fig.5 Effects of the extraction time on recovery results of 5,6,7,8-tetrahydroquinoline

2.3 线性关系、检出限

取 5,6,7,8-四氢喹啉标准系列工作溶液 (1.3.1) 按照 1.3.3 所述的色谱和质谱条件进行分析, 以目标物峰面积对应目标物浓度 (mg/L) 进行回归分析, 结果表明 5,6,7,8-四氢喹啉在 0.5~10.0 mg/L 浓度范围内呈良好的线性关系, 线性关系 R 为 0.999 4; 以 3 倍信噪比确定方法的检出限为 0.05 mg/L。

2.4 方法精密度、回收率

平行测定 6 份供试香米样品, 在上述分析条件下测定香米中 5,6,7,8-四氢喹啉的含量, 以考察方法的精密度。结果表明, 6 份供试样品中 5,6,7,8-四氢喹啉的含量分别为 0.269、0.283、0.294、0.271、0.297 和 0.266 mg/kg, 相对标准偏差 (RSD, $n=6$) 为 4.77%。以上述供试香米样品和稻谷为代表基质, 分别在 3 个水平下进行加标

回收实验, 考察方法的准确度。其测定结果见表 1 所示, 香米试样和稻谷的加标回收率在 81.00%~93.70% 与 80.00%~92.80% 之间, 结果表明方法在低、中、高浓度 5,6,7,8-四氢喹啉检测上能保证相应的准确度, 完全满足日常分析检测的要求。

表 1 5,6,7,8-四氢喹啉回收率测试结果 ($n=6$)

Table 1 Recovery results of 5,6,7,8-tetrahydroquinoline ($n=6$)

试样	本底值/(mg/kg)	加标量/(mg/kg)	测得量/(mg/kg)	回收率/%
香米	0.280	0.100	0.361	81.00
		0.300	0.543	87.67
		1.000	1.217	93.70
稻谷	N.D.	0.100	0.081	81.00
		0.300	0.259	86.33
		1.000	0.928	92.80

注: N.D. 表示未检出。

Note: N.D. represent Not Detected.

2.5 实际样品测试

应用建立的方法对市售的稻谷和香米中 5,6,7,8-四氢喹啉进行测定, 测定结果见表 2。由表 2 结果可见, 稻谷样品不含有 5,6,7,8-四氢喹啉; 有 1 批次市售的香米中检出 5,6,7,8-四氢喹啉 (0.12 mg/kg), 样品测试结果质谱图和质谱确认图如图 6、7 所示, 应是常规大米人为加入了

表 2 样品中 5,6,7,8-四氢喹啉的含量

Table 2 The content of 5,6,7,8-tetrahydroquinoline in the samples

样品编号	样品含量/(mg/kg)	样品编号	样品含量/(mg/kg)
稻谷 1	N.D.	样品 B	N.D.
稻谷 2	N.D.	样品 C	N.D.
稻谷 3	N.D.	样品 D	0.12
样品 A	N.D.	样品 E	N.D.

注: N.D. 表示未检出。

Note: N.D. represent Not Detected.

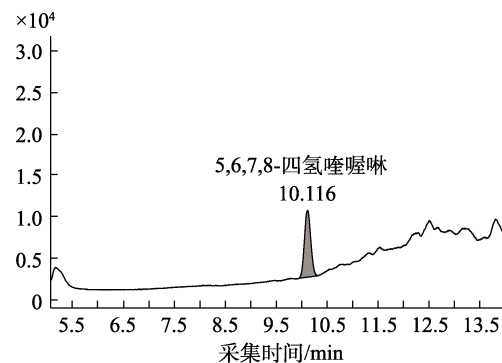


图 6 样品 D 中 5,6,7,8-四氢喹啉的选择离子监测质谱图

Fig.6 The selective ion monitoring mass spectrum of 5,6,7,8-tetrahydroquinoline in sample D

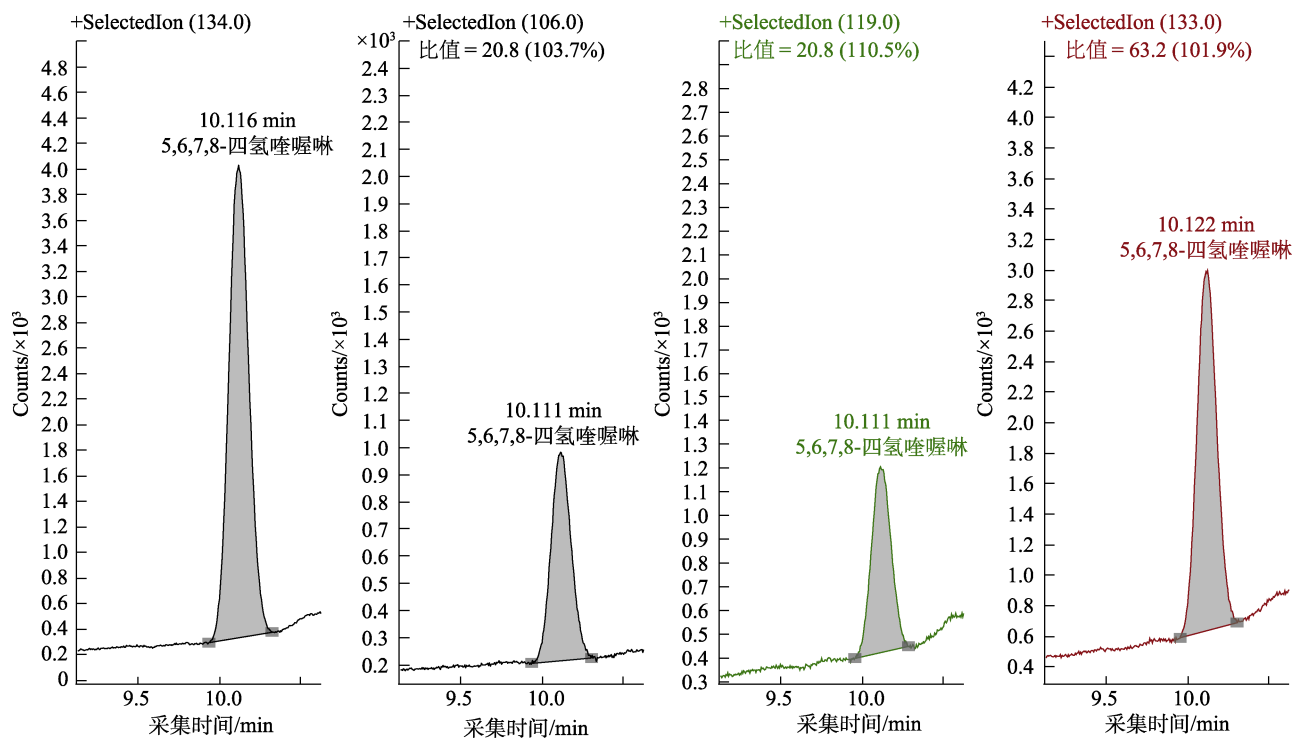


图7 5,6,7,8-四氢喹啉的定量和定性离子的质谱确认图

Fig.7 The conclusive diagram of quantitative and qualitative ion of 5,6,7,8-tetrahydroquinoxalinethe

香米香精，以冒充香米进行暴利销售，结果表明该方法是一种有效鉴别香米真伪的方法。

3 结论

本研究建立了测定香米中添加的5,6,7,8-四氢喹啉的气相色谱-质谱检测方法。香米试样经索氏提取和净化，根据保留时间和质谱定性，外标法定量。通过对方法回收率、精密度等方法学指标的研究，表明方法具有较高的回收率、精密度和灵敏度，适用于香米的快速定性测定及真伪鉴别，为大米中违法使用香精的监管提供科学参考和分析技术手段。

参考文献：

- [1] 刘敏, 谭书明, 张洪礼, 等. 不同品种大米口感品质分析[J]. 食品科学, 2018, 39(15): 88-92.
LIU M, TAN S M, ZHANG H L, et al. Taste quality of different rice varieties[J]. Food Science, 2018, 39(15): 88-92.
- [2] 矫江, 姜莹, 刘艳霞, 等. 大米品牌的打造与稻米产业发展建议[J]. 中国稻米, 2021, 27(4): 117-121.
JIAO J, JIANG Y, LIU Y X, et al. Building of rice brand and proposals for the development of rice industry in china[J]. China Rice, 2021, 27(4): 117-121.
- [3] 梁奕, 庄海宁, 冯涛, 等. 大米及其衍生食品风味物质的研究进展[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 41-49.
LIANG Y, ZHUANG H N, FENG T, et al. Research progress on flavor substances of rice and its derivatives[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 41-49.
- [4] 刘厚清, 河野元信. 优良食味大米的生产、加工技术[J]. 中国粮油学报, 2017, 32(9): 182-187.
LIU H Q, HEYE Y X. The production and processing technology on good eating taste of rice[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(9): 182-187.
- [5] 姚惠源. 大米增香剂的研究开发及应用[J]. 粮食与饲料工业, 1997(9): 1-2+5.
YAO H Y. Research, development and application of flavouring agent for white rice[J]. Cereal & Feed Industry, 1997(9): 1-2+5.
- [6] 胡亚微, 杨洋, 彭锦峰. 香米特征香味成分 2-乙酰基-1-吡咯啉提取及检测方法研究进展[J]. 色谱, 2020, 38(7): 768-774.
HU Y W, YANG Y, PENG J F. Research progress on detection of 2-acetyl-1-pyrroline, the characteristic aroma component of fragrant rice[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2020, 38(7): 768-774.
- [7] BUTTERY R G, LING L C, JULIANO B, et al. 2-Acetyl-1-pyrroline: an important aroma component of cooked rice[J]. Chemistry and Industry, 1982, 23: 958-959.
- [8] GHIASVAND A R, SETKOVA L, PAWLISZYN J, et al. Determination of flavour profile in Iranian fragrant rice samples using cold-fibre SPME-GC-TOF-MS[J]. Flavour and Fragrance Journal 2007, 22(5): 377-391.
- [9] 刘洪, 饶得花, 任永浩, 等. 香稻香气特征化合物 2-乙酰基-1-吡咯啉测定方法的建立[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2015, 41(3): 234-238.

- LIU H, RAO D H, REN Y H, et al. A method on determination the 2-acetyl-1-pyrroline of aromatic rice[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2015, 41(3): 234-238.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.
- National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China. National food safety standards Standard for uses of food additives: GB 2760—2014[S]. Beijing: Standards Press of China, 2015.
- [11] 王妮辰, 刘娟, 林宇, 等. 香型大米及其加工研究[J]. 中国食品, 2020(24): 97.
- WANG W C, LIU J, LIN Y, et al. Research on fragrant rice and its processing[J]. China Food, 2020(24): 97.
- [12] 盖崑, 高虹, 赵延华. 香米中香精的鉴别分析方法研究[J]. 现代科学仪器, 2015(4): 98-104.
- GAI W, GAO H, ZHAO Y H. Research on identification method of rice essence in rice[J]. Modern Scientific Instruments, 2015(4): 98-104.
- [13] 冯永巍, 薛庆海, 韩晨旻, 等. 气相色谱法检测增香大米中的 2-乙酰基吡啶[J]. 粮食与饲料工业, 2014(7): 60-62.
- FENG Y W, XUE Q H, HAN C H, et al. Determination of 2-acetyl-pyridine in scented rice by gas chromatography[J]. Cereal & Feed Industry, 2014(7): 60-62.
- [14] 孙明哲, 艾昕, 任晓雨, 等. 碘量法测定大米中的香精溶剂 1, 2-丙二醇[J]. 中国食品添加剂, 2018(6): 151-154.
- SUN M Z, AI X, REN X Y, et al. Determination of 1, 2-propanediol in rice by iodometric method[J]. China Food Additives. 2018(6): 151-154.
- [15] 孙宝国, 何坚. 香料化学与工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 465-466.
- SUN B G, HE J. Perfume chemistry and technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004: 465-466. 完
- 备注: 本文的彩色图表可从本刊官网 (<http://lyspkj.ijournal.cn>)、中国知网、万方、维普、超星等数据库下载获取。