

团 体 标 准

P/CIQA-140-2023

食用植物油中乙基麦芽酚的测定 液相色谱 —串联质谱法

Determination of ethyl maltol in edible vegetable oils - LC-MS/MS

（征求意见稿）

2024-XX-XX 发布

2024-XX-XX 实施

中国出入境检验检疫协会 发布

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国出入境检验检疫协会综合质量服务标准化技术委员会(CIQA/TC12)归口。

本文件起草单位：中检溯源华南技术服务（深圳）有限公司、中检溯源江苏技术服务有限公司、中国检验认证集团湖南有限公司、福建中检华日食品安全检测有限公司、中国检验认证集团广西有限公司；湖北省阿克瑞德检验检测有限公司、中检集团中原农食产品检测（河南）有限公司、国家粮食和物资储备局科学研究院。

本文件主要起草人：陈坤、彭磊、陈丹华、汤秀秀、刘向荣、汤姣、方胜、朱明杰、谢凤慧、苏建峰、梁任佳、宋琪、孙明鑫、张炜、徐淑海文、刘向阳。

食用植物油中乙基麦芽酚的测定 液相色谱—串联质谱法

1 范围

本文件规定了食用植物油中乙基麦芽酚的液相色谱—串联质谱测定方法。

本文件适用于大豆油、菜籽油、花生油、芝麻油、食用植物调和油等食用植物油中乙基麦芽酚的测定。

本文件方法的检出限和定量限：检出限为 $5 \mu\text{g/kg}$ ；定量限为 $15 \mu\text{g/kg}$ 。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 1.1-2020 标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规则和试验方法

GB/T 27404-2008 实验室质量控制规范 食品理化检测

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的乙基麦芽酚用正己烷饱和乙腈提取，浓缩， C_{18} 固相萃取柱净化，液相色谱—串联质谱仪检测，外标法定量。

5 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯，水符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 乙腈：色谱纯。

5.2 甲醇：色谱纯。

5.3 甲酸：色谱纯。

5.4 正己烷：色谱纯。

5.5 乙酸铵：色谱纯。

5.6 正己烷饱和乙腈：取适量乙腈和正己烷一起摇匀，静止分层，下层即为正己烷饱和乙腈。

5.7 乙腈水溶液（4:1）：取 400 mL 乙腈+100 mL 水混匀。

5.8 标准品：乙基麦芽酚（ $\text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3$ ），CAS（4940-11-8），纯度不小于 99%。

5.9 空白基质溶液：按照8规定的前处理方法操作制备空白基质溶液。

5.10 标准储备液：1.00 mg/mL，准确称量乙基麦芽酚（5.8），用甲醇配成 1.00 mg/mL 的标准储备液， -18°C 冰箱保存，有效期 6 个月。

5.11 中间工作液：10.00 $\mu\text{g/mL}$ ，准确移取 1 mL 乙基麦芽酚标准储备液（5.10）于 100 mL 容量瓶中，用甲醇稀释至刻度， -18°C 冰箱保存，有效期 3 个月。

5.12 基质加标标准工作曲线：吸取中间工作溶液（5.11）适量，用空白基质溶液（5.9）将其稀释为 1 ng/mL、5 ng/mL、10 ng/mL、20 ng/mL、50 ng/mL 标准系列工作溶液，临用时配制。

- 5.13 0.1 % 甲酸 - 2 mmol/L 乙酸铵水溶液:准确称取 0.1542 g 乙酸铵(5.5)，用 0.1 % 甲酸水溶液溶解并稀释至 1000 mL，摇匀。
- 5.14 C₁₈固相萃取小柱（500 mg / 3 mL）或相当者：使用前依次用 3 mL 乙腈、3 mL 水和 3 mL 乙腈水溶液（5.7）活化。
- 5.15 微孔滤膜：0.22 μm，聚四氟乙烯滤膜。

6 仪器和设备

- 6.1 液相色谱-串联质谱仪：配有电喷雾离子源。
- 6.2 电子天平：感量 0.1 mg 和 0.01 g。
- 6.3 高速冷冻离心机。
- 6.4 固相萃取装置。
- 6.5 超声波清洗仪。
- 6.6 涡旋振荡器。
- 6.7 旋转蒸发仪。

7 试样的制备与保存

油脂样品按照 GB/T 5524 的规定进行扦样和取样；油脂样品置于干燥、阴凉、避光的地方常温保存。

8 测定方法

8.1 提取

称取 4 g（精确到 0.01 g）食用植物油样品置于 50 mL 具塞离心管中，加 8 mL 正己烷饱和乙腈（5.6）涡旋 3 min 提取，再超声提取 10 min，冷冻离心（5000 r/min，0℃）15 min，取上清液于旋蒸瓶中，再用 8 mL 正己烷饱和乙腈(5.6)按以上步骤提取一次，合并两次上清液，经旋转蒸发仪(30 ℃)浓缩至 2 mL，加入 3 mL 乙腈水溶液（5.7），作为待净化液，待净化。

8.2 净化

C₁₈ 固相萃取小柱（5.15）活化后，加入待净化液，待液体全部进入柱子后，用 15 mL 乙腈水溶液（5.7)分 3 次清洗旋蒸瓶，并全部上柱，收集所有流出液，定容至 20 mL，取适量溶液过微孔滤膜(5.15)，供液相色谱-串联质谱测定。

8.3 色谱测定

8.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C₁₈（2.1×50 mm，1.8 μm），或相当者；
- b) 流动相：A相：0.1 % 甲酸 - 2 mmol/L 乙酸铵水溶液；B相：甲醇；梯度洗脱程序见表1。
- c) 流速：0.30 mL/min
- d) 柱温：30 ℃
- e) 进样量：2.0 μL

表1 梯度洗脱程序

时间, min	0.1 % 甲酸 - 2 mmol/L 乙	甲醇, %
---------	-----------------------	-------

	酸铵水溶液, %	
0	90	10
1	90	10
5	40	60
6	10	90
8	10	90
8.1	90	10
10	90	10

8.3.2 质谱参考条件

- a) 离子源: 电喷雾离子源 (ESI);
b) 扫描方式: 正离子扫描;
c) 检测方式: 多反应监测 (MRM);
d) 毛细管电压: 3500 V;
e) 鞘气温度: 350 °C;
f) 鞘气流速: 12 L/min;
g) 干燥气温度: 350 °C;
h) 干燥气流速: 5 L/min;
i) 雾化器压力: 45 psi;
化合物定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量见表2:

表2: 定性、定量离子对及锥孔电压、碰撞能量

化合物	母离子 (Q1)	检测模式	子离子 (Q3)	锥孔电压 (V)	碰撞能量 (eV)
乙基麦芽酚	141.1	正模式	126*	90	22
			71.1	90	32

注: 表中带*的离子为定量离子; 对于不同质谱仪器, 仪器参数可能存在差异, 测定前应将质谱参数优化到最佳。

8.4 液相色谱-串联质谱测定

8.4.1 定性测定

按照上述条件测定样品和混合基质标准溶液, 如果样品的质量色谱峰保留时间与混合基质标准溶液的保留时间偏差在 $\pm 2.5\%$ 之内; 定性离子对的相对丰度与浓度相当的混合基质标准溶液的相对丰度一致, 相对丰度偏差不得超过表3的规定, 则可判断样品中存在相应的被测物。混合基质标准溶液的液相色谱-串联质谱色谱图见附录A。

表3: 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤ 10
允许的相对偏差/%	± 20	± 25	± 30	± 50

8.4.2 定量测定

根据试样中待测物的含量情况, 配制响应值适宜的混合基质标准溶液进行液相色谱-质谱联用仪分析, 混合基质标准溶液应有5个浓度水平。混合基质标准溶液和待测液中乙基麦芽酚的响应值应在仪器线性响应范围内。如果样品中待测物含量超过标准曲线的线性范围, 用空白基质溶液稀释(5.9)至合适浓度后分析。

8.4.3 空白试验

除不加试样外, 均按上述操作步骤进行。

9 结果计算和表达

采用标准工作曲线定量, 试样中乙基麦芽酚的含量由液相色谱-质谱/质谱仪的数据处理软件或按公式(1)计算, 计算结果需扣除空白值:

$$X = \frac{C \times V \times f \times 1000}{m \times 1000} \quad \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot \cdot (1)$$

式中:

X——试样中被测组分含量, 单位为微克每千克($\mu\text{g}/\text{kg}$);

C——从标准工作曲线得到的样液中被测组分溶液浓度, 单位为微克每升($\mu\text{g}/\text{L}$);

V——最终样液的定容体积, 单位为毫升(mL);

m——试样质量, 单位为克(g);

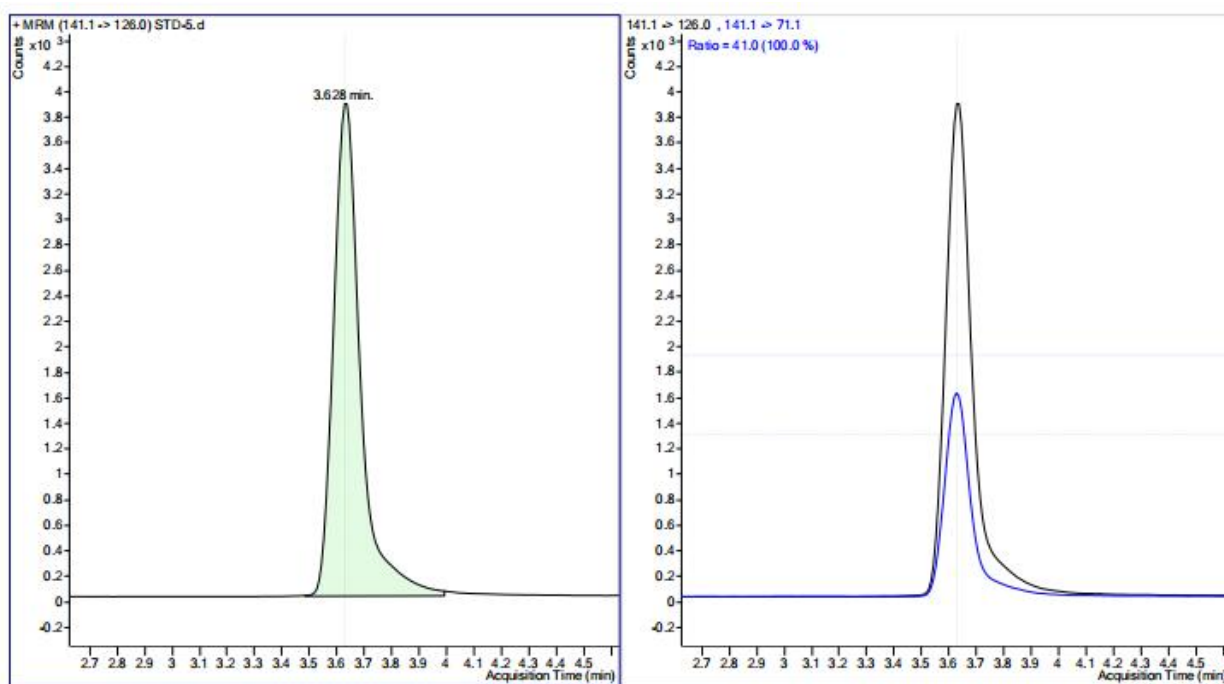
f——稀释倍数。

注: 结果保留三位有效数字。

10 回收率和精密度

本方法在 $5.00 \mu\text{g}/\text{kg} \sim 150.0 \mu\text{g}/\text{kg}$ 添加浓度的范围内, 其回收率范围为 $60\% \sim 120\%$ 。
本方法批内相对标准偏差 $\leq 15\%$, 批间相对标准偏差 $\leq 15\%$ 。

附录A
(资料性附录)
标准样品质量色谱图



图A 乙基麦芽酚定量离子和定性离子色谱图