

· 论 著 ·

顶空-气相色谱-质谱联用测定茶叶呋喃类化合物

王立媛, 应英, 胡争艳, 王天娇, 汤璠, 吴平谷

浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051

摘要: **目的** 建立茶叶呋喃类化合物顶空-气相色谱-质谱联用测定方法。**方法** 称取粉碎后的茶叶样品, 加入20%氯化钠溶液和同位素内标混合溶液, 取顶空气, 通过HP-PLOT Q毛细管色谱柱分离, 采用电子轰击源(EI)模式的气相色谱-质谱联用测定呋喃、2-甲基呋喃、3-甲基呋喃和2,5-二甲基呋喃。**结果** 在5~400 ng/mL浓度范围内, 4种呋喃类化合物的线性关系良好, 相关系数为0.999 2~0.999 6。检出限为0.2~1.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 定量限为0.4~3.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。分别以5.0、20.0、100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 加标, 平均回收率为95.4%~128.2%, 相对标准偏差为0.8%~11.3%。检测5类81份茶叶样品, 4种呋喃类化合物含量从高到低依次为红茶、黑茶、乌龙茶、绿茶和花茶。**结论** 该方法顶空前处理装置减少了茶叶的基质干扰, 在线性范围、回收率、精密度等方面均能满足检测需求, 可同时测定茶叶中4种呋喃类化合物。

关键词: 顶空-气相色谱-质谱联用; 呋喃类化合物; 茶叶

中图分类号: R155 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2020) 12-1200-04

Determination of furans in tea by headspace-gas chromatographic mass spectrometry

WANG Liyuan, YING Ying, HU Zhengyan, WANG Tianjiao, TANG Jun, WU Pinggu

Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

Abstract: Objective To establish a method for the determination of furans in tea by headspace-gas chromatographic mass spectrometry. **Methods** The 20% sodium chloride solution and isotope internal standards were added to the crushed and weighed tea sample. Furan, 2-methylfuran, 3-methylfuran, 2,5-dimethylfuran were separated by HP-PLOT Q capillary column and then determined by gas chromatography mass spectrometry with electron impact ionization mode. **Results** In the range of 5~400 ng, good linear relationships were observed in the four furan compounds, with the correlation coefficients ranging from 0.999 2 to 0.999 6. The detection limits ranged from 0.2 to 1.9 $\mu\text{g}/\text{kg}$, the quantification limit ranged from 0.4 to 3.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. The recovery rates of furans ranged from 95.4% to 128.2% when spiked at 5.0, 20.0 and 100.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the relative standard deviations ranged from 0.8% to 11.3%. Eighty-one tea samples were determined, the concentration of four furan compounds was highest in black tea, followed by dark tea, oolong tea, green tea and scented tea. **Conclusion** Headspace-gas chromatography-mass spectrometry can reduce the matrix interference of tea, and meet the requirements in the linear range, recovery and precision, which is suitable for simultaneous determination of four furan compounds in tea.

Keywords: headspace-gas chromatographic mass spectrometry; furan; tea

呋喃又称氧杂戊, 具有高度挥发性和脂溶性。2004年, 美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA) 在各类经过加热处理的食品中发现了呋喃^[1]。美国国家毒理学计划对呋喃的毒性进

行研究, 结果表明呋喃可导致大鼠和小鼠肝脏和肾脏毒性病变, 且严重程度与剂量呈正相关^[2]。呋喃被国际癌症研究机构归类为可能使人类致癌的“2B”组物质^[3]。目前, 呋喃类化合物的检测方法主要有顶空-气相色谱-质谱联用法、固相微萃取-气相色谱-质谱联用法、顶空-固相微萃取-气相色谱-火焰离子化法以及电化学分析法等^[4-12]。固相微萃取的实验要求和成本相对较高, 电化学分析法灵敏度相对较低, 顶空-气相色

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2020.12.003

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目(2019B020212001)

作者简介: 王立媛, 硕士, 副主任技师, 主要从事食品理化检验工作

通信作者: 吴平谷, E-mail: pguwu@cdc.zj.cn

谱-质谱联用法灵敏度高,样品前处理简便。本研究建立顶空-气相色谱-质谱联用法测定茶叶中呋喃类化合物,为监测茶叶中呋喃类化合物提供参考。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂 Agilent G1888A 自动顶空进样器、6890GC-5975MS 气相色谱-质谱联用仪(美国 Agilent 公司); 20 mL 螺口透明圆底顶空瓶。氯化钠、甲醇(色谱纯); 呋喃标准乙腈溶液(100 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、2-甲基呋喃、3-甲基呋喃、2,5-二甲基呋喃、 D_4 -呋喃、 D_6 -2-甲基呋喃、 D_3 -3-甲基呋喃、 D_3 -2,5-二甲基呋喃(北京振翔科技有限公司,除呋喃标准乙腈溶液外,其他标准品均为固体,纯度均 $>99.0\%$)。

1.2 样品采集 从超市、茶叶市场、网店购买 81 份茶叶样品,其中红茶 22 份、黑茶 11 份、乌龙茶 20 份、绿茶 24 份和花茶 4 份,冷藏保存。

1.3 标准溶液配制 以甲醇为溶剂,分别配制浓度为 2.0 mg/mL 的呋喃、2-甲基呋喃、3-甲基呋喃、2,5-二甲基呋喃的标准贮备液,用甲醇逐级稀释并定容,配制成浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的混合标准使用液,置于棕色试剂瓶中 0~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存;以甲醇为溶剂,分别配制浓度为 2.0 mg/mL 的 D_4 -呋喃、 D_6 -2-甲基呋喃、 D_3 -3-甲基呋喃、 D_3 -2,5-二甲基呋喃的内标贮备液,用甲醇逐级稀释并定容,配制成浓度为 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的内标混合溶液,置于棕色试剂瓶中 0~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存。

1.4 样品处理 取 200~500 g 茶叶样品,用食品粉碎机粉碎后过 100 目筛,取试样分析,留样装满 50 mL 塑料离心管,密封,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。称取 0.500 g (精确至 0.001 g) 试样于 20 mL 顶空瓶中,加入 10.0 mL 20% 氯化钠溶液,用移液枪加入 100 μL 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标混合溶液,立即盖上顶空瓶盖,混匀,放置到顶空进样装置上自动进行气相色谱-质谱分析。每个样品平行测定 3 次。

1.5 仪器条件

1.5.1 顶空条件 顶空自动进样装置,GC 循环时间: 30 min; 加热时间: 30 min; 加热箱温度: 60 $^{\circ}\text{C}$; 进样针温度: 70 $^{\circ}\text{C}$ 。

1.5.2 色谱条件 HP-PLOT Q 毛细管色谱柱: 30 $\text{m} \times 0.32 \text{ mm}$ (内径) $\times 20 \mu\text{m}$ (膜厚); 进样口温度: 200 $^{\circ}\text{C}$; 柱温: 初温 60 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min, 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 230 $^{\circ}\text{C}$, 共 18 min; 载气: 氮气, 纯度 $\geq 99.999\%$, 流速为 1.7 mL/min ; 分流比: 2:1。

1.5.3 质谱条件 电离模式: 电子轰击源(EI), 能

量为 70 eV, 自动调谐; 四极杆温度: 150 $^{\circ}\text{C}$; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 溶剂延迟: 10 min; 进样方式: 分流进样; 进样体积: 1 μL ; 检测方式: 选择离子扫描(SIM)采集。

1.6 标准曲线绘制 取 6 个 20 mL 顶空进样瓶,各加入 10 mL 20% 氯化钠溶液,用移液枪加入 100 μL 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 内标混合溶液,加入 5~400 μL 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 混合标准使用液,制成含 5.0、10.0、50.0、100.0、200.0、400.0 ng 的标准系列(含 100.0 ng 内标),盖上顶空瓶盖,混匀,临用时配制,进行气相色谱质谱分析,绘制标准曲线。

2 结果

2.1 氯化钠浓度的选择 分别用 10%、20%、30%、饱和氯化钠溶液溶解同一样品,检测呋喃类化合物。检测结果显示,20% 氯化钠溶液能最大限度地溶解提取出呋喃类化合物。见图 1。

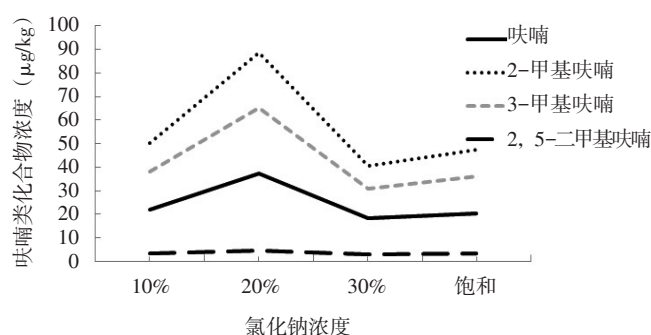
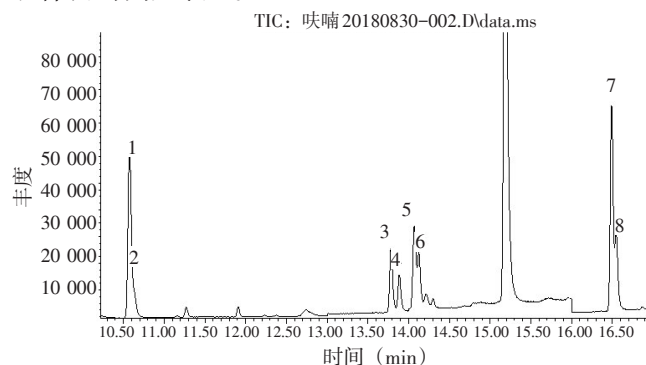


图 1 不同浓度氯化钠溶液对 4 种呋喃类化合物的溶解情况

2.2 气相色谱-质谱检测 在本研究色谱、质谱条件下,茶叶中 4 种呋喃类化合物及对应的内标均能很好分离,获得较好峰型,见图 2。各化合物监测离子和保留时间见表 1。



注: 1 表示 D_4 -呋喃; 2 表示呋喃; 3 表示 D_6 -2-甲基呋喃; 4 表示 2-甲基呋喃; 5 表示 D_3 -3-甲基呋喃; 6 表示 3-甲基呋喃; 7 表示 D_3 -2,5-二甲基呋喃; 8 表示 2,5-二甲基呋喃。

图 2 4 种呋喃类化合物总离子流图

2.3 线性关系、检出限和定量限 4种目标化合物的线性回归方程的相关系数为0.999 2~0.999 6, 线性范围为5~400 ng。各化合物在对应浓度范围内呈良好的线性关系。根据仪器3倍信噪比结合实际出峰浓度得出方法的检出限为0.2~1.9 μg/kg; 以10倍信噪比计算, 定量限为0.4~3.1 μg/kg。见表2。

2.4 精密度和回收率 在已知本底值的试样中, 分别进行5.0、20.0、100.0 μg/kg加标实验, 每个水平重复6次, 样品平均回收率为95.4%~128.2%, 相对标准偏差(RSD)为0.8%~11.3%。见表2。

表1 4种咪唑类化合物及其内标参考监测离子和保留时间

化合物	监测离子 (m/z)	保留时间 (min)
D ₄ -咪唑	42、72 ^a	10.60
咪唑	39、68 ^a	10.67
D ₆ -2-甲基咪唑	86、88 ^a	13.82
2-甲基咪唑	53、81、82 ^a	13.92
D ₃ -3-甲基咪唑	83、85 ^a	14.10
3-甲基咪唑	53、81、82 ^a	14.16
D ₃ -2, 5-二甲基咪唑	98、99 ^a	16.52
2, 5-二甲基咪唑	53、95 ^a 、96	16.58

注: a为定量离子。

表2 4种咪唑类化合物的标准曲线、检出限、定量限、回收率和精密度

化合物	线性范围 (ng)	线性方程	相关系数	定量限 (μg/kg)	检出限 (μg/kg)	平均回收率 (% , n=6)	RSD (% , n=6)
咪唑	5~400	y=1.335x-0.019	0.999 6	3.1	1.9	100.4~103.5	1.8~3.5
2-甲基咪唑	5~400	y=1.159x+0.029	0.999 2	0.4	0.2	97.9~103.7	1.1~2.9
3-甲基咪唑	5~400	y=2.087x+0.044	0.999 5	1.3	0.8	95.4~126.2	0.8~3.4
2, 5-二甲基咪唑	5~400	y=2.795x-0.012	0.999 3	1.1	0.7	101.3~128.2	1.5~11.3

2.5 样品测定 红茶检出咪唑类化合物含量最高, 咪唑、2-甲基咪唑、3-甲基咪唑和2,5-二甲基咪唑浓度

中位数分别为64.21、44.41、23.57、75.22 μg/kg; 绿茶和花茶检出咪唑类化合物含量相对较低。见表3。

表3 5类茶叶样品中咪唑类化合物检测结果

化合物	茶叶样品	检测数 (份)	检出浓度 (μg/kg)	
			范围	M (Q _k)
咪唑	绿茶	24	1.87 ~ 23.43	8.67 (7.06)
	乌龙茶	20	10.20 ~ 695.21	37.48 (42.14)
	红茶	22	17.16 ~ 147.01	64.21 (61.38)
	黑茶	11	1.61 ~ 423.58	4.59 (6.13)
	花茶	4	4.91 ~ 17.20	6.63 (9.80)
2-甲基咪唑	绿茶	24	4.61 ~ 26.31	14.20 (11.12)
	乌龙茶	20	9.57 ~ 1 155.28	37.49 (44.52)
	红茶	22	14.54 ~ 169.53	44.41 (68.18)
	黑茶	11	4.20 ~ 437.70	5.32 (7.57)
	花茶	4	8.72 ~ 18.32	11.53 (7.71)
3-甲基咪唑	绿茶	24	6.40 ~ 16.43	10.61 (3.87)
	乌龙茶	20	8.23 ~ 73.47	22.77 (18.66)
	红茶	22	11.96 ~ 94.80	23.57 (29.51)
	黑茶	11	3.40 ~ 26.05	6.60 (6.80)
	花茶	4	9.33 ~ 22.59	13.90 (7.71)
2, 5-二甲基咪唑	绿茶	24	6.37 ~ 27.37	11.87 (8.41)
	乌龙茶	20	12.59 ~ 220.06	37.60 (36.50)
	红茶	22	24.73 ~ 184.99	75.22 (72.00)
	黑茶	11	5.40 ~ 81.97	11.00 (16.28)
	花茶	4	7.80 ~ 23.12	11.66 (11.74)

3 讨论

测定呋喃类化合物时,用氯化钠溶液作为溶解液,既可以避免基质效应,也加大了水的极性,有利于呋喃类化合物达到气液平衡,使有机物尽可能地挥发,提高检测的灵敏度。不同浓度氯化钠溶液的溶解提取效率不同,通过比较,20%氯化钠溶液能最大限度地溶解提取呋喃类化合物。

由于呋喃及呋喃类化合物易挥发,采样及加提取剂要求快速,减少样品处理过程中的损失。本方法通过冷冻样品,粉碎后称样。揉捻和发酵的目的是通过拉力、压力及摩擦来促使茶叶中细胞破裂,从而使茶汁溢出附于叶表,茶叶研磨也是为了让茶叶细胞充分破碎,使呋喃类化合物更充分地挥发。实际样品检测结果显示,红茶中呋喃类化合物含量相对较高,黑茶和乌龙茶次之,绿茶和花茶相对较低,可能与茶叶的发酵程度有关^[13],发酵程度从低到高依次为绿茶、花茶、乌龙茶、红茶和黑茶。

本实验建立的检测方法在线性范围、回收率、精密度等方面均能满足检测需求,可为国家食品污染物及有害因素风险监测提供依据,为进一步研究茶叶种类、制作方法与茶叶中呋喃类化合物含量之间的关系,更好地开展呋喃类化合物暴露与安全评价提供了方法学基础。

参考文献

- [1] US Food and Drug Administration.Exploratory data on furan in food [EB/OL]. [2020-10-10].<https://www.fda.gov/food/chemicals/exploratory-data-furan-food>.
- [2] National Toxicology Program.Toxicology and carcinogenesis studies of furan in F344 rats and B6C3F1 mice [J].Natl Toxicol Program Tech Rep Ser, 1993, 402: 1-286.

- [3] BI K H, ZHANG L, QIAO X G, et al.Tea Polyphenols as inhibitors of furan formed in the maillard model system and canned coffee model [J].J Food Sci, 2017, 82 (5): 1271-1277.
- [4] 冯新昌,李拥军.食品中呋喃的检测方法研究进展 [C]//甘青宁色谱协作中心,甘肃省化学会色谱委员会.西北地区第七届色谱学术报告会甘肃省第十二届色谱年会论文集.兰州:甘青宁色谱协作中心,甘肃省化学会色谱委员会,2012: 26-28.
- [5] 刘晓毅,石维妮,赵玉琪,等.顶空固相微萃取法测定食品中的呋喃 [J].食品科技,2010,35 (9): 297-300.
- [6] 刘平,薛颖,金庆中,等.顶空气相色谱-质谱法测定婴幼儿食品中的呋喃 [J].色谱,2008,26 (1): 35-38.
- [7] 何碧英,孙健,柳洁,等.顶空气相色谱-质谱法测定食品中呋喃 [J].中国卫生检验杂志,2009,19 (12): 2790-2792.
- [8] HU G, ZHU Y, HERNANDEZ M, et al.An efficient method for the simultaneous determination of furan, 2-methylfuran and 2-pentylfuran in fruit juices by headspace solid phase microextraction and gas chromatography-flame ionisation detector [J].Food Chem, 2016, 192 (192): 9-14.
- [9] ALTAKI M S, SANTOS F J, GALCERAN M T.Automated headspace solid-phase microextraction versus headspace for the analysis of furan in foods by gas chromatography-mass spectrometry [J].Talanta, 2009, 78 (4/5): 1315-1320.
- [10] MARIKA J, TALVIKKI J, EILA J, et al.Furan in the baby-food samples purchased from the Finnish markets-Determination with SPME-GC-MS [J].Food Chem, 2009, 117 (3): 522-528.
- [11] CHAICHI M, MOHAMMADI A, HASHEMI M.Optimization and application of headspace liquid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry for determination of furanic compounds in coffee using response surface methodology [J].Microchem J, 2013, 108 (2): 46-52.
- [12] 柴晓玲,郝雅茹,李书国.电化学分析法快速测定食品中的呋喃 [J].食品科学,2019,40 (16): 256-260.
- [13] WU P G, ZHANG L Q, HU Z Y, et al.Contamination of 15+1 European Union polycyclic aromatic hydrocarbons in various types of tea and their infusions purchased on Hangzhou city market in China [J].Food Addit Contam, 37 (10): 1621-1632.

收稿日期:2020-09-01 修回日期:2020-10-10 本文编辑:徐文璐