

固相微萃取-气相色谱-质谱联用快速鉴别香米真伪

孙谦^{1*}, 刘伟², 范军³, 邓晓丽³, 李月琪⁴, 杨桂香⁴, 黄涛宏³

(1. 岛津企业管理(中国)有限公司, 西安 710054; 2. 山东省食品药品检验研究院, 济南 250101;
3. 岛津企业管理(中国)有限公司, 上海 200052; 4. 岛津企业管理(中国)有限公司, 北京 100020)

摘要: **目的** 建立固相微萃取-气相色谱-质谱(SPME-GC-MS)快速测定香米香味特征化合物 2-乙酰基吡咯啉的方法, 以用于鉴别香米的真伪。 **方法** 香米样品经粉碎后, 加入内标物 2,4,6-三甲基吡啶, 密封, 在 80 °C 炉温箱中经固相微萃取(萃取纤维头为 50/30 μm DVB/Carboxen/PDMS)提取 40 min, 提取物经毛细管色谱柱分离, 全扫描监测气质联用法测定香米香味特征物质。 **结果** 该方法在短时间内可以分析香米特征物质 2-乙酰基吡咯啉, 且检出限和重复性好, 方法检出限为 0.001 mg/kg, 6 针峰面积比的相对标准偏差为 6.54%。 **结论** 该方法处理简单、快速、样本和试剂消耗少, 尤其适合香米的快速定性测定及真伪鉴别。

关键词: 固相微萃取; 气质联用法; 2-乙酰基吡咯啉; 香米; 真伪鉴别

Rapid identification of aroma rice by solid phase micro-extraction gas chromatography-mass spectrometry

SUN Qian^{1*}, LIU Wei², FAN Jun³, DENG Xiao-Li³, LI Yue-Qi⁴, YANG Gui-Xiang⁴, HUANG Tao-Hong³

(1. Shimadzu (China) Co., Ltd., Xi'an 710054, China; 2. Shandong Institute for Food and Drug Control, Jinan 250101, China; 3. Shimadzu (China) Co., Ltd., Shanghai 200052, China; 4. Shimadzu (China) Co., Ltd., Beijing 100020, China)

ABSTRACT: Objective To develop a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) method with solid phase micro-extraction (SPME) to detect the characteristic compound 2-acetyl-1-pyrroline (2-AP) in aroma rice. **Method** The internal standard of 2,4,6-trimethylpyridine was added into aroma rice after crushed. The sample was extracted by SPME under sealed condition at 80 °C oven for 40 min, and then analyzed by gas chromatography using Rxi-5 MS capillary column (30 m×0.25 mm×0.25 μm) for separation and mass spectrometry in scan monitoring mode for detection. **Results** This method could detect the characteristic compound in aroma rice with good repeatability and sensibility. The detection limit of this method was 0.001 mg/kg, and the relative standard deviation was 6.54% (n=6). **Conclusion** The proposed method is simple, rapid, and sensitive with less reagent consumption, which is suitable for rapid qualitative analysis and identification of aroma rice.

KEY WORDS: solid phase micro-extraction; gas chromatography-mass spectrometry; 2-acetyl-1-pyrroline; aroma rice; identification of aroma rice

1 引言

随着人们生活水平不断提高, 大米的品质越来越受到重视。优质米成为稻谷贸易中的主要产品, 特

别是香米在国际和国内市场上深受广大消费者欢迎^[1]。2-乙酰基吡咯啉(2-AP)是一种具有浓烈爆米花香味的物质, 易溶于热水、乙醇和乙醚, 它也是香稻香味特征化合物和主要香气贡献物^[2-8]。

*通讯作者: 孙谦, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品及环境等相关领域的检测。E-mail: sshsunq@shimadzu.com.cn

*Corresponding author: SUN Qian, Engineering, Shimadzu (China) Co., Ltd, Xi'an 710605, China. E-mail: sshsunq@shimadzu.com.cn

目前咀嚼法、显色法和氢氧化钾浸泡法等传统感官鉴定方法被广泛应用于香米育种材料的香味鉴定。应用这些方法存在人员感官差异较大,鉴定结果准确性和可靠性难以保证以及缺乏定量分析结果等缺陷。仪器分析方法具有灵敏度高、结果准确等优点,能有效弥补上述方法的缺陷^[9,10]。但目前应用于稻米香气收集的技术,如溶剂萃取法^[11]、蒸馏萃取法^[12]、柱萃取法^[13]、固相萃取法^[14]和超临界流体萃取法^[15]等技术,存在样品需要量大、有机溶剂消耗多、操作复杂、难以准确测定痕量的2-AP等^[16]。

针对以上问题,本文建立了固相微萃取结合气相色谱-质谱(SPME-GC-MS)技术分析香稻中特征化合物2-AP的方法。本方法具有设备简单、易操作、样品与试剂消耗量少,分析效率高和结果准确可靠等特点。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

GCMS-QP2010 Ultra 气相色谱-质谱联用仪(日本岛津公司);AOC-5000 自动进样器带固相微萃取装置(瑞士 CTC 公司);20 mL 顶空瓶(上海安谱公司);容量瓶(上海安谱公司)。

2,4,6-三甲基吡啶(TMP)标准品:纯度 99%,采购于上海百灵威公司。甲醇(色谱纯,上海安谱公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 溶液配置

称取 10 mg 2,4,6-三甲基吡啶标准品于 10 mL 容量瓶中,利用甲醇定容,配置成 1 mg/mL 的 2,4,6-三甲基吡啶的标准储备液备用。准确吸取 1 mL 2,4,6-三甲基吡啶储备液于 100 mL 容量瓶中,用甲醇定容,得到 10 μ g/mL 的 2,4,6-三甲基吡啶使用液,待用。

2.2.2 样品前处理

①采样和试样制备

抽取有代表性的样品,用四分法缩减取 10 g,粉碎后混匀,装入自封袋中,避光,备用。

②样品处理

精确称取 0.1 g 粉碎好的香米粉于 20 mL 顶空样品瓶中,加入 10 μ L 10 μ g/mL 的 2,4,6-三甲基吡啶内标物后立即封口,进行 SPME-GC-MS 分析。

2.2.3 仪器条件

AOC-5000 固相微萃取(SPME)条件:顶空瓶平

衡温度:80 $^{\circ}$ C;预平衡时间:5 min;萃取时间:40 min
解析时间:1 min;纤维头老化温度:250 $^{\circ}$ C;老化时间:5 min。

GCMS 条件:色谱柱:Rxi-5ms(30 m \times 0.25 mm, 0.25 μ m);柱温程序:50 $^{\circ}$ C 1 min;5 $^{\circ}$ C/min 升温至 120 $^{\circ}$ C;20 $^{\circ}$ C/min 升温至 260 $^{\circ}$ C,5 min;载气控制方式:恒线速度,35 cm/sec;进样方式:不分流进样不分流时间:1 min;离子源温度:200 $^{\circ}$ C;接口温度:250 $^{\circ}$ C;质量范围:40~600 amu。

2.2.4 定性分析及定量分析方法

2-AP 及 TMP 的定性分析采用 NIST 库检索。2-AP 标准物质极易分解,不易保持,且制备过程复杂,因此 2-AP 的定量分析采用内标法。以 2-AP 的峰面积除以 TMP 的峰面积的比值乘以 TMP 的浓度作为样品中 2-AP 的浓度^[8,9]。

3 结果与分析

3.1 色谱分离及定性分析

在选定的前处理条件及色谱-质谱条件下,对香米样品进行测定。图 1 为香米样品的 GCMS 总离子色谱图(TIC),其中,峰 1 为 2-AP(CAS: 85213-22-5),峰 2 为 TMP(CAS: 108-75-8)。由图 1 可见,2-AP 和 TMP 能获得有效的分离,保留时间分别为 6.317 min 和 8.333 min。图 2 为 2-AP 的质谱图,分子离子峰为 m/z 111,碎片离子峰为 m/z 68 和 83,经 NIST 谱库检索,与 2-AP 标准质谱图匹配。

3.2 方法精密度、回收率及灵敏度

平行配制 5 份供试样品,在上述分析条件下测定香米中 2-AP 的含量,以考察方法的精密度。其测定结果见表 1 所示。结果表明,5 次测定结果的 RSD% 为 6.54%,完全满足日常分析检测的要求。

TMP 是待测样品中不存在的组分,TMP 与 2-AP 的相对分子量相近,性质相似,不与 2-AP 发生化学反应,和 2-AP 的色谱保留时间相近,但能完全分离,因此选用 TMP 作为内标。以内标物 TMP 的回收率来考察方法的回收率(SPME 分析后的 TMP 峰面积除以直接进样时 TMP 的峰面积除来计算)。其回收率结果见表 2 所示。

该方法的检出限以内标物 TMP 计算,按照 3 倍的信噪比($S/N=3$,峰高比)进行计算,折合到样品中的检出限为 0.001 mg/kg。

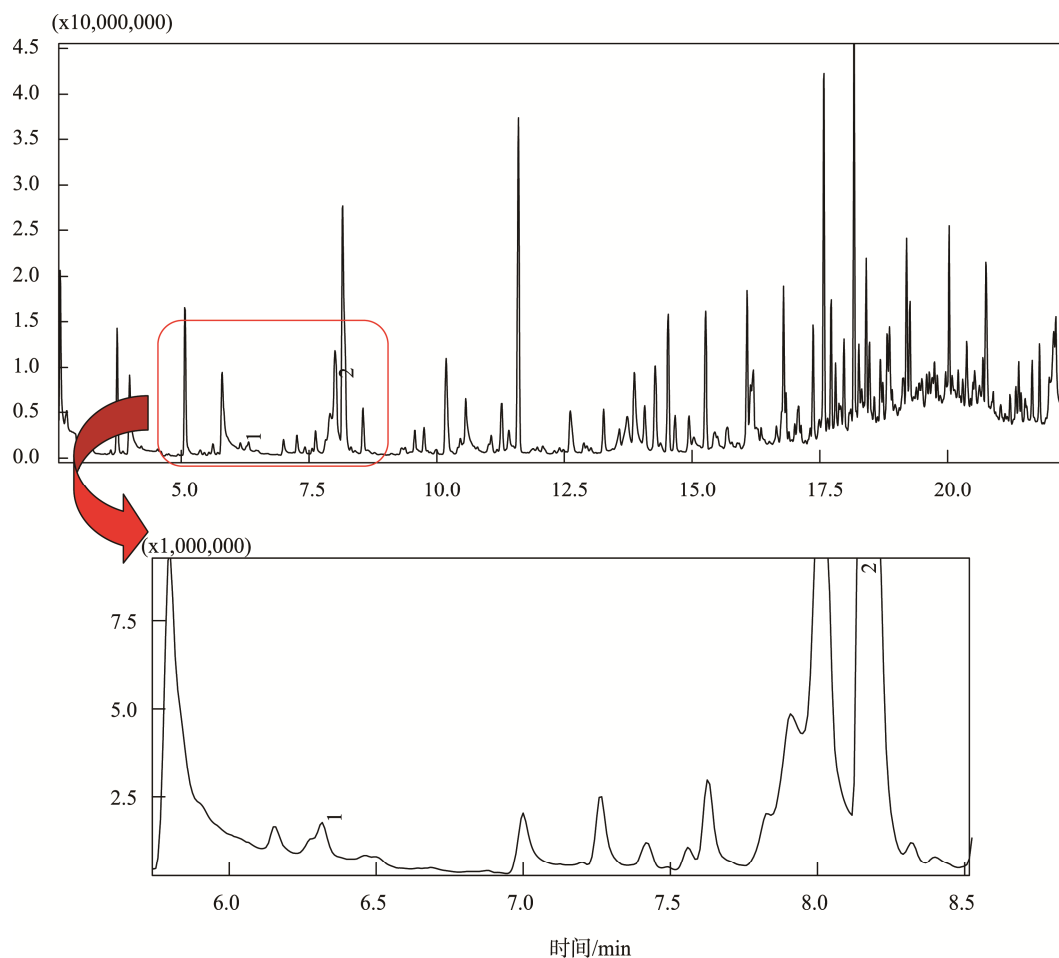


图 1 香米样品的总离子流图

Fig. 1 Total ion chromatography of the aroma rice

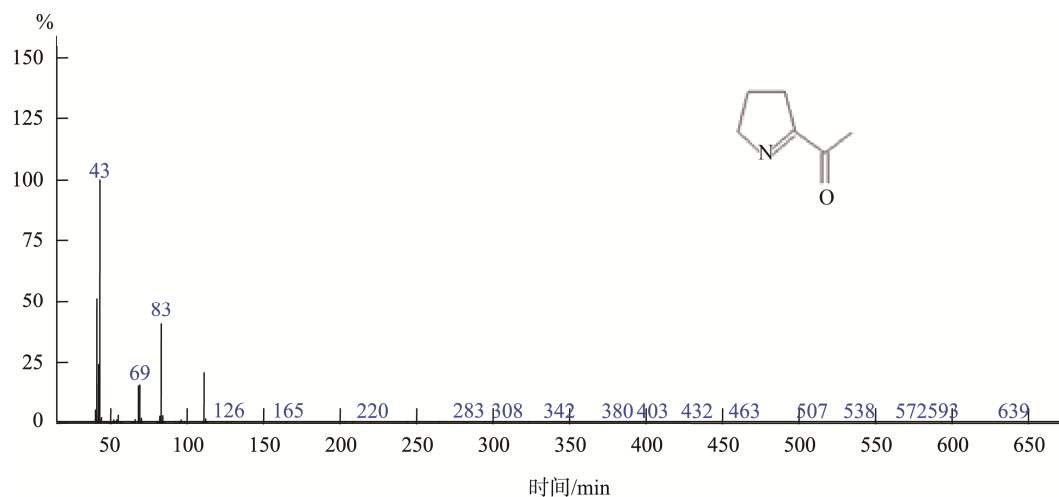


图 2 2-AP 质谱图

Fig. 2 The mass spectrum of 2-AP

表1 2-AP 精密度测试结果
Table 1 Accuracy results of 2-AP

N.O	1	2	3	4	5	RSD(%)
2-AP 含量(mg/kg)	0.1059	0.1046	0.0951	0.093	0.0928	6.54

表2 2-AP 回收率测试结果
Table 1 Recovery results of 2-AP

直接进样 TMP 峰面积	SPME 分析时 TMP 峰面积	平均回收率(%)	RSD(%)
1	340175		
2	310348		
3	372465	85.06	4.71
4	303644		
5	307194		

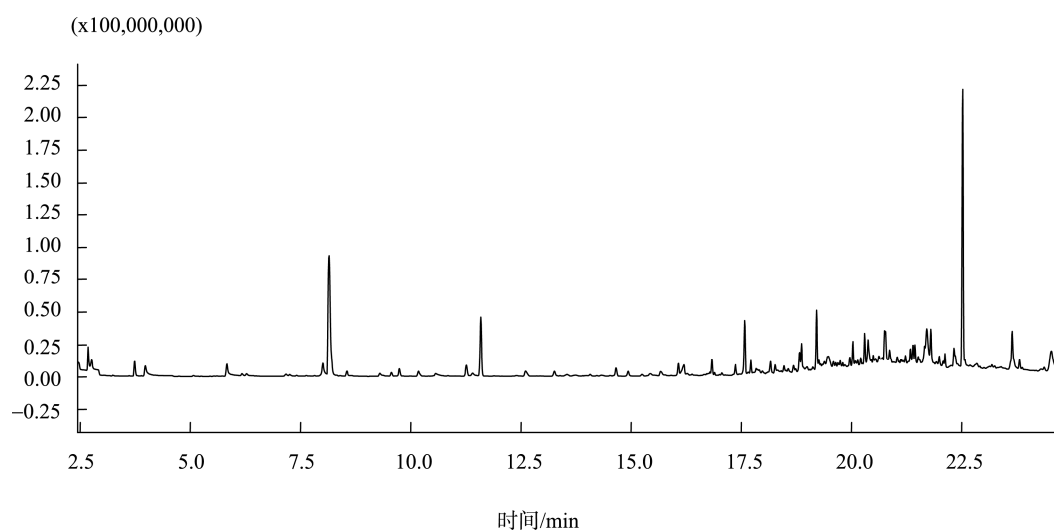


图3 市售某香米的总离子流图

Fig. 3 Total ion chromatography of the aroma rice in the market

3.3 实际样品测试

应用该方法对市售的几种香米中 2-AP 进行测定, 测定色谱图见图 3, 测定结果见表 3。由结果可见, 市售的香米中有部分香米并没有含有香米特有的物质 2-AP, 可能是常规大米加入特殊的香料提取物, 以冒充香米进行暴利销售。该方法可作为香米掺假鉴别及香稻育种的辅助手段。

表3 市售香米样品中 2-AP 的含量

Table 3 The content of 2-AP in the samples of aroma rice

样品编号	样品含量(mg/kg)
1	N.D
2	N.D
3	0.1069
4	0.0263

注: N.D.表示未检出

4 结 论

采用 SPME 结合 GCMS-QP2010 Ultra 分析香米中香味化合物 2-AP 的含量, 该方法具有设备简单、易操作、样品与试剂消耗量少, 分析效率高和结果准确可靠等特点, 可通过测定 2-AP 含量进行香稻育种前的大批量品种筛选, 同时也为市售香米的真假鉴别提供借鉴。

参考文献

- [1] 杨洁, 熊光权, 程薇, 等. 顶空固相微萃取与气质联用法分析香米中的挥发成分[J]. 湖南农业科学, 2010, (11): 2898–2902.
Yang J, Xiong GQ, Chen W, *et al.* Analysis of volatiles in rice by headspace solid phase micro-extraction coupled with GC-MS [J]. Hunan Agric Sci, 2010, (11): 2898–2092.
- [2] 吕艳梅, 谭伟平, 肖层林. 香米香味研究综述[J]. 湖南农业科学, 2010, (11): 19–23.
Lv YM, Tan WP, Xiao CL. Summarization of the scent of scented rice [J]. Hunan Agric Sci, 2010, (11): 19–23.
- [3] 吴娟. 水稻香味的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2011, 17(14): 47–50.
Wu J. Advances in the fragrance of rice [J]. Anhui Agric Sci Bull, 2011, 17(14): 47–50.
- [4] 田华, 段美洋, 黎国喜, 等. 香稻香气的研究进展[J]. 种子, 2008, 7(28): 51–54.
Tian H, Duan MY, Li GX, *et al.* Research progress on aroma of aromatic rice [J]. Seeds, 2008, 7(28): 51–54.
- [5] 黄怀生. 香米香气分析方法及加工过程对香米香气影响的研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2005.
Huang HS. The analytical method of aroma rice and the effects of rice fragrance of aroma rice during the processing [D]. Changsha: Hunan Agriculture University, 2005.
- [6] 毛锦生, 姚惠源, 张晖. 香米香气成分在香米中存在形式及形态的研究[J]. 粮食与饲料工业, 2008, 2: 89–91.
Mao JS, Yao HY, Zhang H. Research of the form and shape of fragrance compound in aroma rice [J]. Food Feed Ind, 2008, 2: 89–91.
- [7] 黄怀生, 朱旗, 李拥军, 等. 香米在加工过程中香气成分的变化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2007, 1(33): 45–47.
Huang HS, Zhu Q, Li YJ, *et al.* Changes of aroma in scented rice during processing [J]. J Hunan Agric Univ (Nat Sci), 2007, 1(33): 45–47.
- [8] 应兴华, 徐霞, 欧阳由男, 等. 固相微萃取-气相色谱/质谱联用快速鉴别香稻香味特征化合物 2-乙酰基吡咯啉[J]. 分析科学学报, 2011, (2): 69–71.
Ying XH, Xu X, Ouyang YN, *et al.* Analysis of characteristic compound in aroma rice by gas chromatography/mass spectrometry with solid-phase microextraction [J]. J Anal Sci, 2011, (2): 69–71.
- [9] 应兴华, 徐霞, 陈铭学, 等. 气相色谱-质谱技术分析香稻特征化合物 2-乙酰基吡咯啉[J]. 色谱, 2010(8): 782–785.
Ying XH, Xu X, Chen MX, *et al.* Determination of 2-acetyl-1-pyrroline in aroma rice using gas chromatography-mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2010(8): 782–785.
- [10] NY/T-592–2002 香米[S].
NY/T 592–2002 Aromatic rice [S].
- [11] Desideri PG, Lepri L, Checchini L. A new apparatus for the extraction of organic compounds form aqueous solutions [J]. Microchim Acta, 1992, 107(1/2): 55–63.
- [12] 黄忠林, 唐湘如, 王玉良, 等. 增香栽培对香稻香气和产量的影响及其相关生理机制[J]. 中国农业科学, 2012, 45(6): 1054–1065.
Huang ZL, Tang XR, Wang YL, *et al.* Effects of increasing aroma cultivation on aroma and grain yield of aromatic rice and their mechanism [J]. Sci Agric Sin, 2012, 45(6): 1054–1065.
- [13] 朱旗, 黄怀生, 李拥军, 等. 不同分析方法对香米香气测定结果的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2005, 31(6): 681–684.
Zhu Q, Huang HS, Li YJ, *et al.* Effects of different analytical methods on results of aroma of scented rice [J]. J Hunan Agric Univ (Nat Sci), 2005, 31(6): 681–684.
- [14] Conte ED, Conway SC, Miller DW, *et al.* Determination of methylisoborneol in channel catfish pond water by solid phase extraction followed by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Water Res, 1996, 30(9): 2125–2127.
- [15] Aro T, Brede C, Manninen P. Determination of semivolatile compounds in Baltic herring by supercritical fluid extraction-supercritical fluid chromatography gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(7): 1970–1975.
- [16] 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 DH, Ren YH, *et al.* A method on determination the 2-acetyl-1-pyrroline of aromatic rice [J]. J Hunan Agric Univ (Nat Sci), 2015, 41(3): 234–238.

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



孙 谦, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品及环境等相关领域的检测。

E-mail: ssshunq@shimadzu.com.cn