

附件 2

饮料中 γ -丁内酯及其相关物质的测定

BJS 201803

1 范围

本方法规定了饮料中 γ -丁内酯、1,4-丁二醇及 γ -羟基丁酸液相色谱-串联质谱的测定方法。

本方法适用于功能饮料、含乳饮料、果汁饮料、碳酸饮料、茶饮料、咖啡类饮料、含酒精饮料、苹果醋等各类饮料食品中 γ -丁内酯、1,4-丁二醇及 γ -羟基丁酸的测定。

2 原理

不同类型的样品经过沉淀蛋白、过滤或除气等处理后过滤，滤液供液相色谱-串联质谱测定，外标法定量。

3 试剂和材料

注:水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 甲醇：色谱纯。

3.1.2 甲酸：色谱纯。

3.1.3 乙腈：色谱纯。

3.2 试剂配制

0.02%甲酸水溶液：取甲酸 0.2mL 用水稀释至 1000mL。

3.3 标准品

γ -丁内酯、1,4-丁二醇及 γ -羟基丁酸对照品或标准物质的中文名称、英文名称、CAS 登录号、分子式、相对分子质量详见附录 A 中的表 A.1，纯度均 \geq 98%。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 标准储备液(1 mg/mL)：分别精密称取 γ -丁内酯、1,4-丁二醇及 γ -羟基丁酸（3.3）各 10.0 mg 于 10 mL 容量瓶中，用甲醇(3.1.1)溶解并稀释至刻度，摇匀，制成浓度为 1mg/mL 标准储备液，

- 20 °C 保存，保存期 1 个月。

3.4.2 混合标准中间工作液（10 μg/mL）：分别准确吸取γ-丁内酯、1,4-丁二醇及γ-羟基丁酸(1 mg/mL)(3.4.1)各 1 mL 至 100ml 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，制成 10 μg/mL 的混合标准中间工作液。临用新制。

3.4.3 混合基质标准工作溶液：分别准确吸取混合标准中间工作液 (10 μg/mL)(3.4.2)适量，用空白试样溶液稀释，得到γ-丁内酯、1,4-丁二醇及γ-羟基丁酸浓度分别为 50ng/mL、100ng/mL、200 ng/mL、500 ng/ mL、1000 ng/ mL 的基质混合标准系列工作溶液。临用新制。

4 仪器和设备

4.1 高效液相色谱-串联质谱仪：带电喷雾（ESI）离子源。

4.2 分析天平：感量分别为 0.01 mg 和 0.1 mg。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 离心机：转速≥6000 r/min。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 含乳饮料、咖啡类等含蛋白饮料

精密称取混匀后的样品 1 g（精确至 0.001g）至 10 mL 刻度试管中，加入乙腈（3.1.3）定容至 5 mL 混匀，涡旋 1min，转移至 15 mL 离心管中，6000rpm 离心 3min，精密吸取上清液 1mL 至 10mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，摇匀，过微孔滤膜（0.22μm），取续滤液，备用。

5.1.2 果汁饮料

取混匀后样品 50 mL，用滤纸滤过，再精密称取滤液 1 g（精确至 0.001g）至 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，过微孔滤膜（0.22μm），取续滤液，备用。

5.1.3 碳酸饮料、含酒精饮料

取混匀后样品 50 mL 至烧杯中，超声 20 min，去除饮料中的气体，再精密称取 1 g（精确至 0.001g）至 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，过微孔滤膜（0.22μm），取续滤液，备用。

5.1.4 其它饮料基质

精密称取混匀后的样品 1 g（精确至 0.001g）至 10 mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀，过微孔滤膜（0.22 μ m），取续滤液，备用。

5.1.5 空白试验

称取 1g 空白试样，按试样同法处理，制得空白试样溶液，备用。

5.2 仪器参考条件

5.2.1 色谱条件

- a) 色谱柱：C₁₈ (3.0 \times 150 mm, 1.8 μ m)，或性能相当者。
- b) 流动相：A 为 0.02%的甲酸水溶液（3.2），B 为甲醇（3.1.1），梯度洗脱程序见表 1。
- c) 流速：400 μ L/min。
- d) 柱温：40 $^{\circ}$ C。
- e) 进样量：2 μ L。

表 1 梯度洗脱程序表

梯度时间/min	流动相 A/%	流动相 B/%
0	95	5
4.5	95	5
7.5	5	95
9.5	5	95
9.6	95	5
12	95	5

5.2.2 质谱条件

- a) 离子源：电喷雾离子源（ESI 源），正离子模式。
- b) 检测方式：多反应离子监测（MRM）。
- c) 碰撞气为高纯氮气，干燥气、雾化气、鞘气等均为氮气或其他合适气体，使用前应调节相应参数使质谱灵敏度达到检测要求，毛细管电压、干燥气温度、鞘气温度、鞘气流量、喷嘴电压、碰

撞能量、碎裂电压等参数应优化至最佳灵敏度，监测离子对和定量离子对等信息详见附录 B。

5.3 定性测定

按照液相色谱-串联质谱条件测定试样和标准工作溶液，记录试样和标准溶液中各化合物的色谱保留时间，当试样中检出与某标准品质量色谱峰保留时间一致的色谱峰（变化范围在±2.5%之内），并且试样色谱图中所选择的监测离子对的相对丰度比与相当浓度标准溶液的离子相对丰度比（k）的偏差不超过表 2 规定的范围，可以确定试样中检出相应化合物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度 (%)	k > 50%	50% ≥ k > 20%	20% ≥ k > 10%	k ≤ 10%
允许的最大偏差 (%)	± 20	± 25	± 30	± 50

5.4 定量测定

5.4.1 标准曲线的制作

将混合标准工作溶液（3.4.3）分别按仪器参考条件（5.2）进行测定，得到相应的标准溶液的色谱峰面积。以混合标准工作溶液的浓度为横坐标，以色谱峰的峰面积为纵坐标，绘制标准曲线。

5.4.2 试样溶液的测定

将试样溶液（5.1.1-5.1.4）按仪器参考条件（5.2）进行测定，得到相应的样品溶液的色谱峰面积。根据标准曲线得到待测液中组分的浓度，平行测定次数不少于两次。

对照品色谱图参见附录 C。

5.4.3 空白试样溶液的测定

空白试样溶液（5.1.5）同试样溶液测定步骤操作。

6 结果计算

将液相色谱-质谱测得浓度代入下式计算含量：

$$X = \frac{c \times V}{m \times 1000} \times f \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X— 试样中各待测物的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c— 从标准曲线中读出的供试品溶液中各待测物的浓度，单位为微克每升（μg/L）；

V— 样液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m— 试样溶液所代表的质量，单位为克（g）；

f — 稀释倍数。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 20%。

8 其他

当称样量为 1 g（精确至 0.001g），定容体积为 10mL 时，本方法中 γ -丁内酯、1,4-丁二醇及 γ -羟基丁酸的检出限均为 1mg/kg，定量限均为 2.50 mg/kg。

空白试验应无干扰。

附录A

化合物相关信息

表A.1 化合物中文名称、英文名称、CAS号、分子式、相对分子质量

序号	中文名称	英文名称	CAS 号	分子式	分子量
1	γ-丁内酯	Gamma-Butyrolactone	96-48-0	C ₄ H ₆ O ₂	86.09
2	1,4-丁二醇	1,4-Butylene glycol	110-63-4	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12
3	γ-羟基丁酸	4-Hydroxybutanoic acid	591-81-1	C ₄ H ₈ O ₃	104.1

附录B

质谱参考条件

质谱参考条件

- a) 离子源：电喷雾离子源(ESI)；
- b) 检测方式：多反应监测 (MRM)；
- c) 扫描方式：正离子模式；
- d) 毛细管电压：4kV；
- e) 干燥气温度：300℃；
- f) 干燥气流量：7L/min；
- g) 雾化气压力：35psi；
- h) 鞘气温度：325℃；鞘气流量：11L/min；
- i) 喷嘴电压：0V；
- j) 其他质谱参数见表 B.1。

表 B.1 化合物定性、定量离子和质谱分析参数

序号	化合物名称	电离方式	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	Fragmentor (V)	碰撞能量 (eV)	保留时间 (min)
1	γ-丁内酯	ESI+	87.1	45.2*	69	14	3.85
				43.2	69	10	
2	1,4-丁二醇	ESI+	91.1	73.1*	40	2	3.33
				43.2	40	14	
3	γ-羟基丁酸	ESI+	105.1	87.1*	50	2	3.27
				45.2	50	22	

* 定量离子。本方法提供质谱条件为推荐质谱方法条件。可根据实际情况，选择响应信号强且无干扰的离子对进行检测，质谱参数亦可根据实际情况可达到最优灵敏度的条件进行设定。

附录 C

标准色谱图

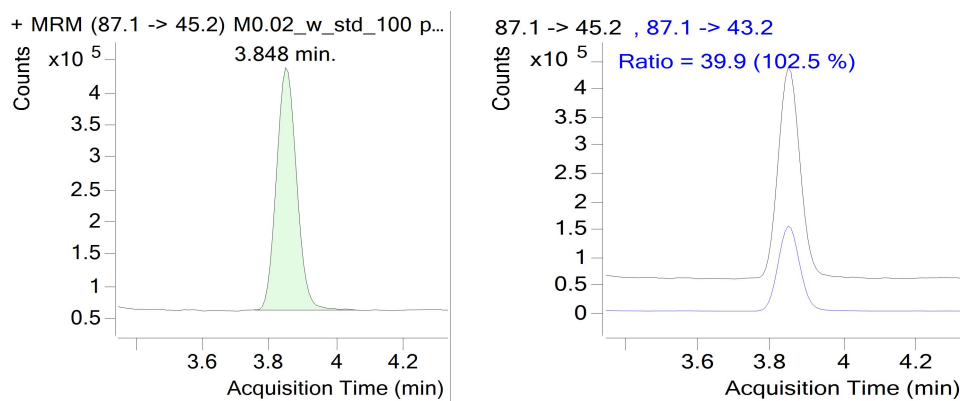


图 C.1 γ -丁内酯对照品的提取离子色谱图

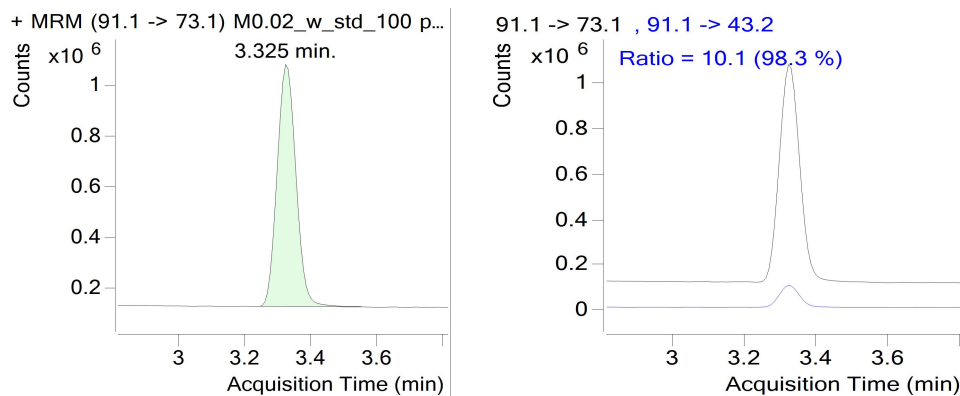


图 C.2 1,4-丁二醇对照品的提取离子色谱图

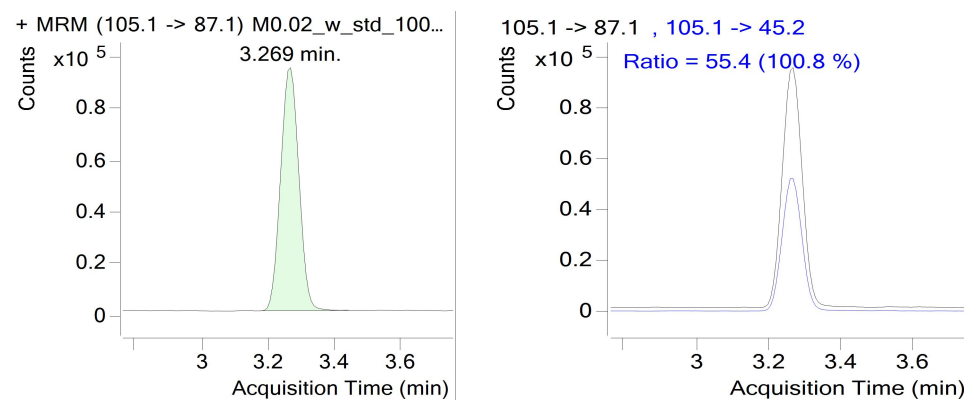


图 C.3 γ -羟基丁酸对照品的提取离子色谱图

本方法负责起草单位：中国食品药品检定研究院。

参与单位：公安部禁毒情报技术中心、四川省食品药品检验检测院、沈阳食品检验所、浙江省食品药品检验研究院、广东省食品检验所。

方法起草人：金绍明、宁霄、黄传峰、余晓琴、李澍才、陈学辉。

分送：各省、自治区、直辖市食品药品监督管理局，新疆生产建设兵团食品药品监督管理局，中检院。

国家市场监督管理总局办公厅

2018年4月18日印发
