

# 改进QuEChERS-气相色谱-质谱法测定不同脂肪含量牛奶中19种酯类风味物质

梁明<sup>1</sup>, 胡均鹏<sup>1</sup>, 陈荣桥<sup>1</sup>, 冼燕萍<sup>1</sup>, 吴玉奎<sup>1\*</sup>, 白卫东<sup>2</sup>, 戴航<sup>1</sup>, 侯向昶<sup>1</sup>

(1. 广州质量监督检测研究院, 广州市食品安全风险动态监测与预警研究中心, 广州市食品安全检测技术重点实验室, 广东广州 511447)

(2. 仲恺农业工程学院轻工食品学院, 广东省岭南特色食品科学与技术重点实验室, 广东广州 510225)

**摘要:** 采用改进 QuEChERS-气相色谱-质谱法 (GC-MS) 技术测定不同脂肪含量牛奶中 19 种酯类风味物质, 研究牛奶中酯类风味物质与脂肪含量的关系。样品中的酯类风味物质经乙腈提取和 PSA 净化, 净化后的样液经滤膜过滤后采用气相色谱-质谱法测定。19 种酯类风味物质经 DB-FFAP 色谱柱分离, 单离子监测模式测定, 外标法定量。结果表明, 19 种酯类风味物质在 5.0-500.0  $\mu\text{g/L}$  质量浓度范围内具有很好的线性关系, 相关系数均高于 0.999。通过牛奶样品的加标回收试验, 19 种酯类风味物质的平均回收率在 74.7%-109.2% 之间, 日内精密性 ( $n=6$ ) 在 1.9%-8.5% 之间, 方法检出限和定量限分别为 3.5-14.0  $\mu\text{g/kg}$  和 10.0-40.0  $\mu\text{g/kg}$ 。实际样品检测发现牛奶中检出的  $\delta$ -癸内酯、 $\gamma$ -十二内酯和  $\delta$ -十二内酯的含量与脂肪含量正相关, 且全脂纯牛奶 > 低脂纯牛奶 > 脱脂纯牛奶; 此外, 部分牛奶样品可能添加有香精香料, 导致  $\gamma$ -壬内酯和  $\gamma$ -十一内酯的含量明显升高。该方法快速简便、准确度高、重现性好, 可满足不同脂肪含量牛奶中 19 种酯类风味物质的检测要求。

**关键词:** 酯类风味物质; 牛奶; QuEChERS; 气相色谱-质谱法

文章编号: 1673-9078(2024)03-281-288

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0440

## Determination of 19 Flavor Esters in Milk Samples of Different Fat Contents Using Modified QuEChERS-gas Chromatography-mass Spectrometry

LIANG Ming<sup>1</sup>, HU Junpeng<sup>1</sup>, CHEN Rongqiao<sup>1</sup>, XIAN Yanping<sup>1</sup>, WU Yuluan<sup>1\*</sup>, BAI Weidong<sup>2</sup>, DAI Hang<sup>1</sup>, HOU Xiangchang<sup>1</sup>

(1. Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou City Research Center of Risk Dynamic Detection and Early Warning for Food Safety, Guangzhou City Key Laboratory of Detection Technology for Food Safety, Guangzhou 511447, China) (2. College of Light Industry and Food Sciences, Guangdong Provincial Key Laboratory of Lingnan Specialty Food Science and Technology, Guangzhou 510225, China)

引文格式:

梁明, 胡均鹏, 陈荣桥, 等. 改进 QuEChERS-气相色谱-质谱法测定不同脂肪含量牛奶中 19 种酯类风味物质 [J]. 现代食品科技, 2024, 40(3): 281-288.

LIANG Ming, HU Junpeng, CHEN Rongqiao, et al. Determination of 19 flavor esters in milk samples of different fat contents using modified QuEChERS-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 281-288.

收稿日期: 2023-04-12

基金项目: 广东省重点领域研发计划项目 (2022B0202050003)

作者简介: 梁明 (1989-), 男, 硕士, 工程师, 研究方向: 食品安全检测, E-mail: 18520640429@126.com

通讯作者: 吴玉奎 (1965-), 女, 博士, 教授级高级工程师, 研究方向: 食品安全及风险预警研究, E-mail: docwu@126.com

**Abstract:** A modified “quick, easy, cheap, effective, rugged and safe” (QuEChERS)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique was adopted to determine 19 flavor esters in milk samples having different fat contents, and the relationship between flavor esters and fat content was investigated. The flavor esters were extracted with acetonitrile from the samples and purified using prostate specific antigen (PSA). Subsequently, the extract was filtered through a filter membrane and analyzed using GC-MS. The 19 flavor esters were separated using a DB-FFAP chromatographic column. They were then detected in the single ion monitoring (SIM) mode, and their contents were quantified using the external standard calibration method. The results showed good linear relationships for 19 flavor esters within the range of 5.0~500.0 µg/L, with their correlation coefficients (R<sup>2</sup>) being higher than 0.999. The average recoveries were in the range of 76.0%~109.2%, and the intra-day precision was 1.9%~8.5% (*n*=6). The limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) are 3.5~14.0 µg/kg and 10.0~40.0 µg/kg, respectively. Real-time sample detection revealed the contents of  $\delta$ -decalactone,  $\gamma$ -dodecalactone, and  $\delta$ -dodecalactone to be positively correlated with the fat content, and therefore were higher in whole milk followed by low-fat milk and by skimmed milk. In addition, flavors and fragrances may be added in some milk samples, resulting in significant increases in the contents of  $\gamma$ -nonalactone and  $\gamma$ -undelactone. The proposed method is rapid, simple, and accurate, with good reproducibility and can be used to determine 19 flavor esters in milk samples of different fat contents.

**Key words:** flavor esters; milk; gas chromatography-mass spectrometry

酯类化合物是很多食品香气的主要来源,它不仅能够给食物带来独特的果香、奶香、花香和坚果香等香味,而且能够与其它挥发性成分相互协同,让食品的整体风味愈加柔和<sup>[1-3]</sup>。牛奶在加工过程中会产生酯类、醇类、醛类、酮类、酸类等风味物质<sup>[4-6]</sup>,其中酯类化合物尤其是内酯类风味物质对乳与乳制品的风味有很大贡献,能够使乳品整体香味更加完整<sup>[7]</sup>,如 $\delta$ -癸内酯和 $\gamma$ -十二内酯被证明是超高温瞬时灭菌乳中含有的重要风味物质<sup>[2]</sup>。牛奶中脂肪水解会生成系列脂肪酸,脂肪酸在牛奶加热过程中会引起羧基内部酯化生成内酯类化合物<sup>[8]</sup>;此外,若牛奶中添加有香精香料等添加剂,也可能产生多种酯类风味物质。因此,准确测定含不同脂肪的纯牛奶中酯类化合物的含量,可为揭示牛奶中酯类风味物质的来源提供部分依据,有助于鉴别牛奶的品质。

目前,食品中风味物质的检测采用的前处理方法主要有固相微萃取法(Solid-phase Microextraction, SPME)<sup>[9,10]</sup>、搅拌棒吸附萃取法(Stir Bar Sorptive Extraction, SBSE)<sup>[11]</sup>、加速溶剂萃取法(Accelerated Solvent Extraction, ASE)<sup>[12]</sup>、微波辅助萃取法(Microwave-assisted Extraction, MAE)<sup>[13]</sup>等。SPME和SBSE法虽然简单快捷但其吸附材料价格昂贵,且随着使用频次的增加,吸附材料富集能力下降导致重复性变差,此外,这两种方法也可能不适用于长链内酯的定量<sup>[14]</sup>。ASE和MAE法则需要使用一些特殊的仪器辅助萃取,会导致前处理成本增加。溶剂萃取技术是一种操作简单且不需要特殊仪器的液液萃取技术,主要通过样品中组分在溶剂中溶解度

或分配系数的不同来实现分离或提取,该方法可以同时提取具有不同极性的风味物质<sup>[7]</sup>。提取出的风味物质一般采用气相色谱<sup>[15]</sup>、气相色谱-质谱<sup>[16]</sup>、气相色谱-离子迁移光谱<sup>[17]</sup>、液相色谱-串联质谱<sup>[18,19]</sup>、电子鼻和电子舌<sup>[20]</sup>等技术进行测定。虽然目前已有检测内酯类化合物的方法,但尚没有同时测定和对比不同脂肪含量牛奶中19种酯类风味物质的方法。

由于19种酯类风味物质中包含有不同碳链长度的内酯化合物,它们具有不同的极性<sup>[14]</sup>,因此本研究通过采用有机溶剂进行液液萃取,可同时提取不同极性的目标化合物,再利用QuEChERS技术对提取液进行净化,可实现对不同脂肪含量纯牛奶中19种酯类风味物质含量的测定,再结合牛奶中丙二醇和乙基麦芽酚的含量,探索纯牛奶中酯类香味物质的与脂肪含量和丙二醇与乙基麦芽酚的关系,方法简单、稳定、通用性强,可为牛奶中酯类风味物质的监测提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与材料

16种内酯类标准物质包括 $\gamma$ -(戊、己、庚、辛、壬、癸、十一、十二)内酯、 $\delta$ -(己、庚、壬、癸、十一、十二)内酯、环十五内酯和环十六内酯标准物质,纯度 $\geq 98\%$ ;3种酯类物质包括水杨酸甲酯、苯甲酸苄酯和水杨酸苄酯标准溶液,浓度1 000 mg/L,均购自上海安谱实验科技股份有限公司;色谱级乙腈,由德国Merk公司提供;石墨化炭黑(GCB)、十八烷基键合相硅胶(C18)和乙二胺-N-丙基硅

烷 (PSA) 3 种净化材料, 购于上海安谱实验科技股份有限公司; 分析纯氯化钠和无水硫酸镁, 购于广州化学试剂厂; 牛奶样品包括全脂 (脂肪含量为 6%~13%)、低脂 (脂肪含量为 2%) 和脱脂 (脂肪含量为 0%) 纯牛奶, 购于网上超市和广州超市。

## 1.2 仪器与设备

5975C 气相色谱-质谱仪, 美国安捷伦公司; UMV-2 多管涡旋振荡器, 常州杰博森仪器有限公司; KDC-40 低速离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; Eppendorf 5418 小型高速离心机, 德国 Eppendorf 公司; Milli-Q 超纯水仪, 美国 Millipore 公司。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 样品前处理

称取 5 g 摇匀的牛奶样品于 50 mL 离心管中, 准确加入 10 mL 乙腈, 混匀后加入 2 g NaCl 和 2 g 无水 MgSO<sub>4</sub>, 涡旋萃取 3 min, 随后以 4 200 r/min 的速率离心 5 min, 吸取上层清液并定容至 10 mL。用吸管吸取约 1.5 mL 上层提取液于事先加入了 50 mg PSA 和 100 mg 无水 MgSO<sub>4</sub> 的塑料离心管中, 涡旋

30 s, 以 12 000 r/min 的速率高速离心 3 min, 吸取上清液过 0.22 μm 滤膜, 用于 GC-MS 测定。

### 1.3.2 标准溶液配置

分别称取适量 16 种内酯类标准物质溶解于乙腈中, 并配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的单标贮备液。逐一吸取适量 16 种内酯单标贮备液和 3 种酯类标准溶液于 10 mL 容量瓶中, 用乙腈定容配成质量浓度为 10 mg/L 的混合标准中间溶液, 再用乙腈分别配制成质量浓度为 5.0、10.0、20.0、50.0、100.0、200.0、500.0 μg/L 系列标准工作液。

### 1.3.3 仪器条件

色谱柱 Agilent DB-FFAP (60 m×0.25 mm, 0.25 μm); 分流进样 (分流比为 10:1); 进样体积 1 μL; 升温程序为: 80 °C 维持 1 min, 以 10 °C/min 升至 150 °C, 维持 2 min, 以 5 °C/min 升至 230 °C, 维持 20 min; 进样口温度和辅助气温度均为 230 °C。MS 采用电子轰击 (Electron Impact, EI) 方式电离, 电离能量为 70 eV; 离子源和四极杆温度分别为 230 °C 和 150 °C, 溶剂延迟 7 min; 单离子监测模式 (SIM) 检测, 各化合物信息和监测离子见表 1。

表 1 19种酯类风味物质的信息、保留时间及定性定量离子

Table 1 Chemical information, retention time, quantitative and qualitative ion of 19 ester flavor substances

序号	化合物	化学式	CAS 号	保留时间/min	定量离子(m/z)	定性离子(m/z)
1	γ-戊内酯	C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>	108-29-2	12.49	56	85
2	γ-己内酯	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	695-06-7	14.09	85	57
3	水杨酸甲酯	C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub>	119-36-8	15.38	120	92
4	δ-己内酯	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>	823-22-3	15.87	42	70
5	γ-庚内酯	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	105-21-5	15.93	85	56
6	δ-庚内酯	C <sub>7</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	3301-90-4	17.28	99	71
7	γ-辛内酯	C <sub>8</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub>	104-50-7	18.02	85	57
8	γ-壬内酯	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	104-61-0	20.11	85	41
9	δ-壬内酯	C <sub>9</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>	3301-94-8	21.16	99	71
10	γ-癸内酯	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	706-14-9	22.22	85	128
11	δ-癸内酯	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>	705-86-2	23.19	99	71
12	γ-十一内酯	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	104-67-6	24.26	85	55
13	环十五内酯	C <sub>15</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>	32539-85-8	24.39	55	69
14	δ-十一内酯	C <sub>11</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>	710-04-3	25.21	99	71
15	环十六内酯	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	109-29-5	26.13	55	41
16	γ-十二内酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	2305-5-7	26.22	85	55
17	δ-十二内酯	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>	713-95-1	27.20	99	55
18	苯甲酸苄酯	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>	120-51-4	31.54	105	91
19	水杨酸苄酯	C <sub>14</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub>	118-58-1	36.11	91	228



## 2 结果与讨论

### 2.1 仪器条件的优化

#### 2.1.1 色谱柱的选择

气相毛细管色谱柱的类型会直接影响化合物的分离和保留能力,牛奶中风味物质种类多、极性差别大,因此本研究对比了三种不同极性的色谱柱对19种酯类风味物质的分离性能:DB-FFAP(强极性)、DB-1701(中等极性)和DB-5(弱极性)色谱柱。结果发现大部分目标分析物在DB-5和DB-1701色谱柱上响应较差甚至无响应,而DB-FFAP色谱柱对极性化合物惰性良好,且耐溶剂冲洗,19种酯类化合物在DB-FFAP色谱柱上响应强度均比DB-5和DB-1701好,峰型窄而对称且19种化合物均基本分离,因此本研究采用DB-FFAP色谱柱对目标分析物进行分离。

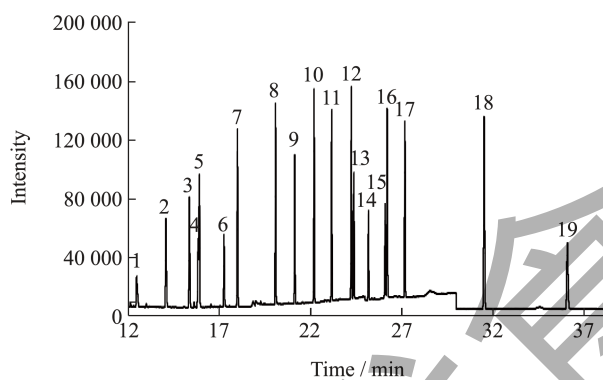


图1 19种酯类风味物质的总离子色谱图

Fig.1 Total ion chromatograms of 19 ester flavor substances (500  $\mu\text{g/L}$ )

注:1. $\gamma$ -戊内酯;2. $\gamma$ -己内酯;3.水杨酸甲酯;4. $\delta$ -己内酯;5. $\gamma$ -庚内酯;6. $\delta$ -庚内酯;7. $\gamma$ -辛内酯;8. $\gamma$ -壬内酯;9. $\delta$ -壬内酯;10. $\gamma$ -癸内酯;11. $\delta$ -癸内酯;12. $\gamma$ -十一内酯;13.环十五内酯;14. $\delta$ -十一内酯;15.环十六内酯;16. $\gamma$ -十二内酯;17. $\delta$ -十二内酯;18.苯甲酸苄酯;19.水杨酸苄酯。图2同。

#### 2.1.2 分流比的优化

为降低色谱柱和质谱污染,减少杂质对目标分析物的影响,本研究拟采用分流模式进样并优化了分流比。在不分流、分流比10:1( $V/V$ )、30:1( $V/V$ )和50:1( $V/V$ )四种进样模式下,分别对质量浓度为100  $\mu\text{g/L}$ 的基质加标样品进行测定。结果发现在分流模式下色谱图的干扰峰减少,但随着分流比增大,各化合物的响应随之降低,当分流比为10:1( $V/V$ )时目标化合物峰强度适中,干扰物质对目标物的影响

可以忽略,因此,本研究选择分流比10:1( $V/V$ )进样。19种酯类化合物的总离子色谱图如图1所示,可见各化合物分离度良好、峰形完整。

### 2.2 样品前处理条件的确立

#### 2.2.1 盐的优化

萃取过程加入无机盐会导致盐析效应和萃取液膜物理特性的变化,因此离子强度既可以提高萃取效率也可能降低萃取效率,需要选择合适的盐种类和质量以使萃取效率最佳<sup>[21]</sup>。乙腈与水相体系的盐析通常会使用NaCl,此外水分会对大部分气相色谱柱产生不利影响,因此为了保障萃取后的萃取剂中无水分或减少水分含量,选择加入QuEChERS常用的无水 $\text{MgSO}_4$ 进行除水,因此,本实验考察了不同质量的NaCl和无水 $\text{MgSO}_4$ 对19种酯类风味物质萃取回收率的影响,分别考察了(1)1g NaCl+1g  $\text{MgSO}_4$ 、(2)2g NaCl+1g  $\text{MgSO}_4$ 、(3)2g NaCl+2g  $\text{MgSO}_4$ 、(4)2g NaCl+4g  $\text{MgSO}_4$ 、(5)4g  $\text{MgSO}_4$ 的提取效果。结果发现第4组和第5组加入4g无水 $\text{MgSO}_4$ 时,部分酯类风味物质的回收率会略微降低,这可能是因为加入过多的 $\text{MgSO}_4$ 会大量放热导致酯类风味物质部分挥发而回收率降低,而第1、2、3组的盐离子对19种酯类风味物质的提取效果相差不大。因此综合考虑下,为保障盐析和除水效果,选择2g NaCl+2g无水 $\text{MgSO}_4$ 作为盐离子。

#### 2.2.2 净化材料的选择

$\text{C}_{18}$ 、GCB和PSA由于其独特的化学结构可分别吸附食品中不同类别的杂质,因此常被用作QuEChERS方法的净化材料。为充分保障净化效果,本研究对比了QuEChERS不同净化材料对19种酯类风味物质回收率的影响,对比了(1)50mg GCB;(2)50mg PSA;(3)50mg PSA+50mg GCB;(4)50mg PSA+50mg  $\text{C}_{18}$ ;(5)50mg  $\text{C}_{18}$ 对牛奶中19种酯类风味物质的净化效果。实验结果如图2所示,GCB和 $\text{C}_{18}$ 对苯甲酸苄酯和水杨酸苄酯的影响较大,加入GCB后,虽然其他酯类风味物质的回收率相差不大,但苯甲酸苄酯和水杨酸苄酯的回收率很差,仅为19.6%~51.4%;而加入 $\text{C}_{18}$ 后,苯甲酸苄酯的回收率也较差,回收率为68.8%~73.5%。因此,本研究选择50mg PSA作为净化材料,此时19种酯类风味物质的回收率为76.3%~113.5%。

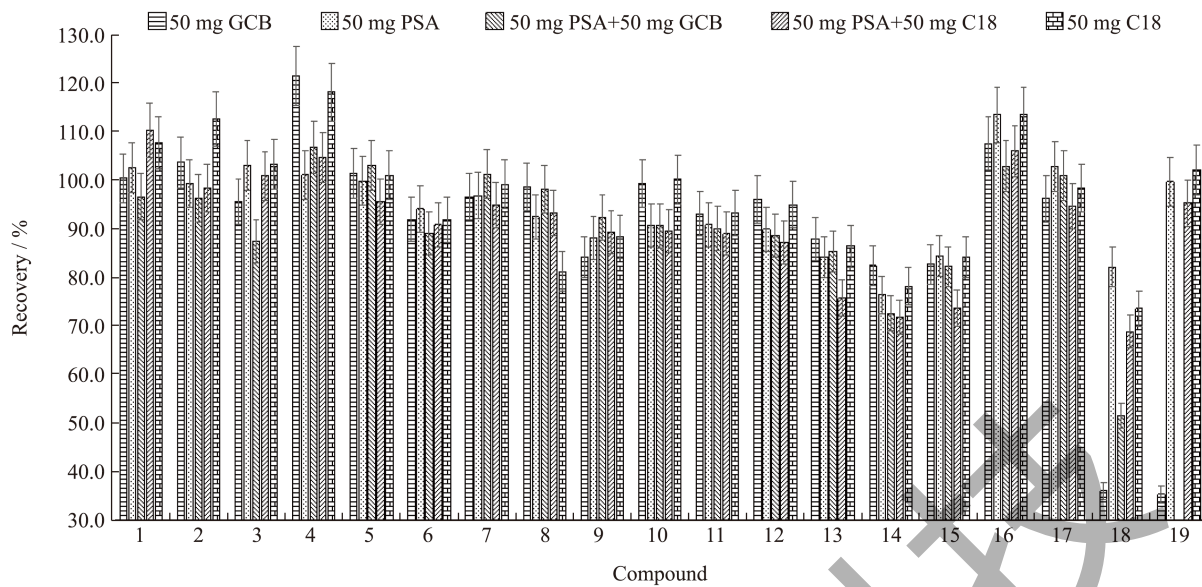


图 2 净化材料对牛奶中 19 种酯类风味物质回收率的影响

Fig.2 Effects of purification materials on the recovery of 19 ester flavor substances in milk

## 2.3 方法学的建立

### 2.3.1 线性范围、检出限和基质效应

在最佳的气相色谱-质谱条件下,以标准工作溶液中各目标分析物质量浓度( $\mu\text{g/L}$ )作为横坐标( $x$ ),相应的定量离子峰面积作为纵坐标( $y$ ),绘制标准曲线,得到 19 种目标分析物的线性方程和相关系数。通过逐步稀释混合标准溶液,得到各目标物 3 倍信噪比( $S/N=3$ )和 10 倍信噪比( $S/N=10$ )所对应的浓度,分别作为仪器检出限(ILOD)和仪器定量限(ILOQ),再结合样品稀释倍数预估得到方法检出限(MLOD)和方法定量限(MLOQ)。质谱的基质效应(Matrix Effect, ME)一般通过基质溶液标准曲线与纯溶剂标准曲线的斜率比来评估,当 $0.8 \leq ME \leq 1.2$ ,表明基质效应的影响可以忽略,否则则存在基质抑制或增强作用<sup>[22,23]</sup>。各实验结果如表 2 所示,19 种酯类风味物质具有良好的线性关系,其相关系数 $R^2$ 均大于 0.999;各目标分析物的方法检出限在 3.5~14.0  $\mu\text{g/kg}$  之间,方法定量限在 10.0~40.0  $\mu\text{g/kg}$  之间,表明方法具有较好的灵敏度;基质效应在 0.84~1.10 之间,均在可接受范围内,表明本方法中基质效应可以忽略,因此本研究可以采用纯溶剂乙腈配制系列标准工作溶液。

### 2.3.2 方法回收率和精密度

结合方法定量限和样品检出值,选择检出含量较少的牛奶样品进行三浓度水平加标实验,3 个加标浓度水平分别为 MLOQ、2 倍 MLOQ 和 10 倍 MLOQ,每个加标浓度平行测试 6 次( $n=6$ ),计算平均回收率和精密度(RSD, %),实验结果见表 2,19 种酯类风味物质的平均回收率在 74.7%~109.2% 之间,日内精密度 RSD( $n=6$ )为 1.9%~8.5%,表明方法回收率和精密度良好,准确度高。

## 2.4 实际样品的测定

牛奶在加工过程中可能因为各种化学反应而产生多种风味物质,如张申平等<sup>[7]</sup>证明了在超高温灭菌乳和巴氏杀菌乳都存在 $\delta$ -癸内酯和 $\delta$ -十二内酯,超高温灭菌乳中还存在 $\gamma$ -十二内酯。在优化的实验条件下,采用本方法对 32 份市售纯牛奶样品进行检测,其中 1~5 号为脱脂纯牛奶、6~9 号为低脂纯牛奶、10~23 号为全脂纯牛奶。此外,为进一步探究牛奶中酯类香味物质可能产生的原因,参照 GB 5009.251-2016 和 GB 5009.250-2016 的方法<sup>[24,25]</sup>,对 32 份牛奶样品中的 1,2-丙二醇和乙基麦芽酚含量也进行了测定。

表 2 线性范围和线性方程、相关系数、方法检出限和定量限、基质效应、回收率和精密度  
 Table 2 Linear ranges, regression equations, MLOD, MLOQ, ME, recoveries and precision for 19 analytes

化合物	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	线性方程	$R^2$	MLOD ( $\mu\text{g/kg}$ )	MLOQ ( $\mu\text{g/kg}$ )	ME	加标水平 ( $\mu\text{g/kg}$ )	平均回收率 (日内精密度) %
$\gamma$ -戊内酯	10.0~500.0	$y=93.2270x-117.1896$	0.9999	7.0	20.0	1.10	20.0, 40.0, 200.0	85.6 (6.3), 98.2 (5.4), 93.8 (4.5)
$\gamma$ -己内酯	10.0~500.0	$y=292.5358x-186.3641$	0.9999	7.0	20.0	0.97	20.0, 40.0, 200.0	93.0 (6.9), 101.0 (4.5), 92.2 (3.8)
水杨酸甲酯	10.0~500.0	$y=312.5489x-2618.5287$	0.9997	7.0	20.0	0.99	20.0, 40.0, 200.0	96.1 (7.5), 103.6 (3.4), 104.6 (5.5)
$\delta$ -己内酯	10.0~500.0	$y=137.5790x+31.7254$	0.9997	7.0	20.0	0.90	20.0, 40.0, 200.0	81.5 (5.8), 100.6 (2.1), 92.9 (3.9)
$\gamma$ -庚内酯	5.0~500.0	$y=423.6544x+624.7038$	0.9999	3.5	10.0	0.95	10.0, 20.0, 100.0	93.7 (8.3), 101.7 (4.3), 96.5 (4.6)
$\delta$ -庚内酯	10.0~500.0	$y=100.5623x-623.6255$	0.9997	7.0	20.0	0.94	20.0, 40.0, 200.0	85.0 (7.7), 92.5 (6.2), 88.4 (5.8)
$\gamma$ -辛内酯	5.0~500.0	$y=507.0409x-462.4616$	1.0000	3.5	10.0	0.89	10.0, 20.0, 100.0	93.7 (4.4), 96.6 (3.7), 90.5 (3.0)
$\gamma$ -壬内酯	5.0~500.0	$y=544.1507x-321.9897$	1.0000	3.5	10.0	0.86	10.0, 20.0, 100.0	99.8 (8.1), 102.2 (6.7), 87.4 (6.2)
$\delta$ -壬内酯	5.0~500.0	$y=230.5808x-454.8657$	1.0000	3.5	10.0	0.95	10.0, 20.0, 100.0	74.7 (5.8), 92.7 (4.6), 86.1 (5.1)
$\gamma$ -癸内酯	5.0~500.0	$y=541.6972x-711.1555$	0.9999	3.5	10.0	0.96	10.0, 20.0, 100.0	94.6 (3.9), 90.9 (2.6), 86.9 (3.2)
$\delta$ -癸内酯	5.0~500.0	$y=301.1670x-644.6498$	1.0000	3.5	10.0	0.88	10.0, 20.0, 100.0	92.5 (7.1), 95.4 (6.5), 84.6 (5.8)
$\gamma$ -十一内酯	5.0~500.0	$y=507.6990x-528.5676$	0.9999	3.5	10.0	0.97	10.0, 20.0, 100.0	86.1 (8.2), 90.2 (6.8), 86.4 (7.5)
环十五内酯	10.0~500.0	$y=113.2223x-206.2887$	0.9999	7.0	20.0	0.94	20.0, 40.0, 200.0	88.1 (3.0), 83.3 (1.9), 78.4 (2.7)
$\delta$ -十一内酯	10.0~500.0	$y=157.4058x-904.4066$	0.9998	7.0	20.0	0.95	20.0, 40.0, 200.0	75.1 (5.4), 78.0 (3.6), 81.6 (3.1)
环十六内酯	20.0~500.0	$y=106.0353x+757.6357$	0.9996	14.0	40.0	0.97	40.0, 80.0, 400.0	79.9 (6.1), 88.2 (2.4), 86.4 (5.5)
$\gamma$ -十二内酯	5.0~500.0	$y=473.4024x-510.7485$	0.9999	3.5	10.0	0.87	10.0, 20.0, 100.0	98.3 (8.5), 109.2 (7.3), 98.9 (6.5)
$\delta$ -十二内酯	10.0~500.0	$y=318.2646x-1105.6909$	0.9999	7.0	20.0	0.84	20.0, 40.0, 200.0	80.7 (7.5), 105.4 (6.6), 103.9 (7.1)
苯甲酸苄酯	5.0~500.0	$y=488.2656x-774.0520$	1.0000	3.5	10.0	0.93	10.0, 20.0, 100.0	81.2 (3.3), 84.7 (4.1), 78.4 (4.8)
水杨酸苄酯	20.0~500.0	$y=372.5724x-5104.8383$	0.9995	14.0	40.0	1.01	40.0, 80.0, 400.0	95.1 (2.4), 101.1 (3.7), 93.3 (5.9)



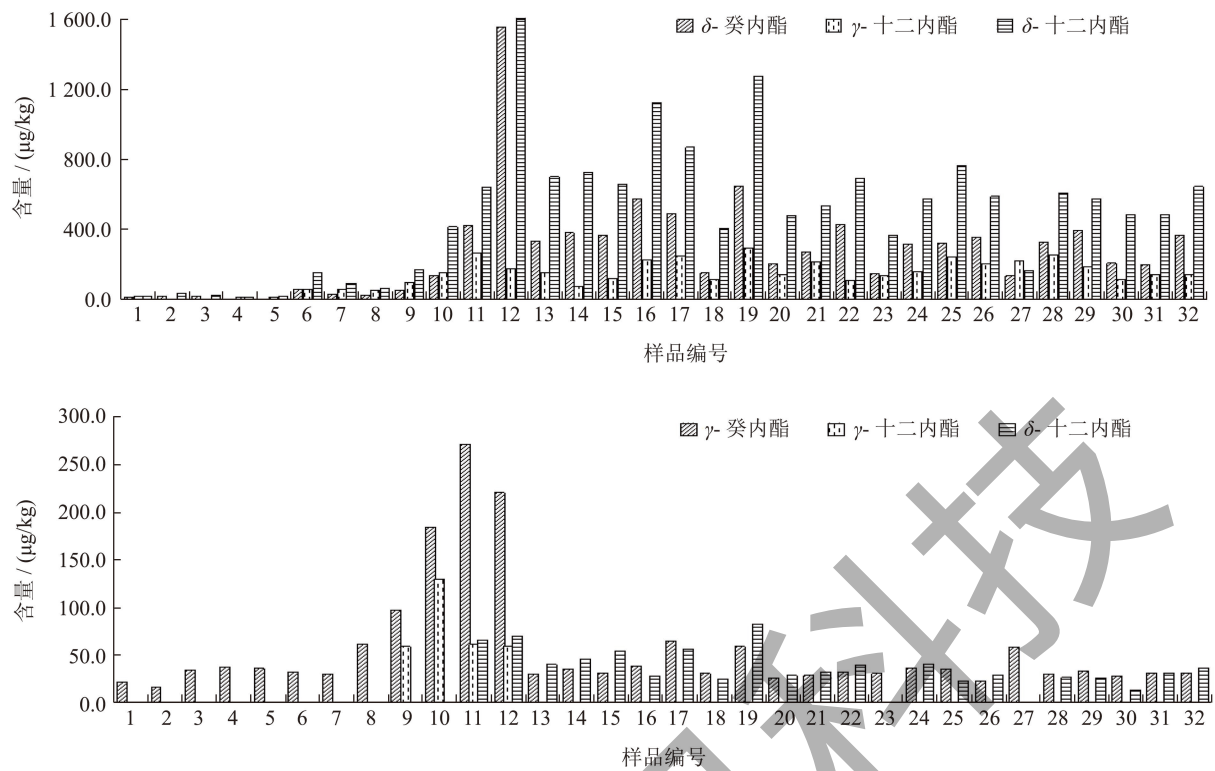


图3 不同脂肪含量牛奶样品中检出的酯类化合物及其含量

Fig.3 The kind and value of ester compounds detected in milk samples with different fat content

测定结果如图3所示, (1) 全脂牛奶和低脂牛奶均检出有 $\delta$ -癸内酯、 $\delta$ -十二内酯和 $\gamma$ -十二内酯, 部分低脂牛奶也检出这三种物质, 但含量较低, 由图可看出, 不同类别牛奶样品中这三种物质的含量大小为: 全脂纯牛奶>低脂纯牛奶>脱脂纯牛奶, 其中全脂纯牛奶中 $\delta$ -癸内酯、 $\delta$ -十二内酯和 $\gamma$ -十二内酯的含量分别为133~1563、73~294和164~2738  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 低脂纯牛奶中含量分别为24~59、53~99和62~170  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; 脱脂纯牛奶中含量分别为0~17、0~15和14~33  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 这说明牛奶中这三种内酯的含量与脂肪含量呈正相关, 因为牛奶在加热过程中脂肪会水解生成脂肪酸, 脂肪酸内部酯化后即生成各种内酯<sup>[8]</sup>; (2) 1,2-丙二醇与各类香精香料具有较好的互溶性, 常用作香精香料的溶剂<sup>[26]</sup>, 乙基麦芽酚是食品中常用的食品增香剂, 也是奶味香精中常检出的化合物, 被用作评价纯牛奶中添加奶味香精的特征性指示物<sup>[27]</sup>。32份牛奶中有3份样品(9~11号样)中检出1,2-丙二醇(1.2~68.9  $\text{mg}/\text{kg}$ )和乙基麦芽酚(30~2734  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 结果发现这3份样品中 $\gamma$ -壬内酯的含量(97~271  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )明显高于除12号样品外的其他牛奶(22~64  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 且这3份样品还检出有 $\gamma$ -十一内酯(59~129  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 而其他未检出1,2-丙二醇和乙基麦芽酚的牛奶中只有1份全脂

牛奶检出 $\gamma$ -十一内酯(59  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), 这可能是因为牛奶中添加了香精香料导致这两种物质含量增加; (3) 12号样品中 $\delta$ -癸内酯、 $\delta$ -十二内酯和 $\gamma$ -壬内酯含量均很高, 可能是因为12号样品中脂肪含量最高(脂肪含量13%)的原因, 其他全脂牛奶脂肪含量为6%~9%; (4) 23份全脂牛奶中有19份样品还检出有 $\delta$ -十一内酯, 含量为12~82  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 而低脂和脱脂牛奶中均未检出。

### 3 结论

本研究通过QuEChERS技术对牛奶样品中19种酯类风味物质进行提取和净化, 再结合气相色谱-质谱法同时测定不同脂肪含量牛奶中19种酯类风味物质。方法简单快速且准确度高, 实际样品检测发现被检牛奶中 $\delta$ -癸内酯、 $\gamma$ -十二内酯和 $\delta$ -十二内酯三种内酯的含量与牛奶中脂肪含量呈正相关, 且全脂牛奶中这三种内酯的含量均较高; 此外, 检出1,2-丙二醇和乙基麦芽酚的牛奶样品中还检出 $\gamma$ -壬内酯和 $\gamma$ -十一内酯且含量明显高于其他牛奶, 这可能是因为牛奶中添加了香精香料导致这两种物质含量增加。该方法简便快捷、重复性好、精密度高, 可以为牛奶中酯类风味物质的定性定量检测和来源分析提供依据。

## 参考文献

- [1] CAMELEYRE M, MADRELLE V, LYTRA G, et al. Impact of whisky lactone diastereoisomers on red wine fruity aromatic expression in model solution [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2020, 68(39): 10808-10814.
- [2] 于海燕,姚文倩,陈臣,等.内酯类化合物在食品中的风味贡献及形成机制[J].*现代食品科技*,2022,38(5):337-349.
- [3] 陈臣,刘政,于海燕,等.奶酪中内酯类物质风味贡献及其生物合成调控进展[J].*现代食品科技*,2020,36(11):305-312.
- [4] CAROLINE S, ANDREA B. The aroma of goat milk: Seasonal effects and changes through heat treatment [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(49): 11805-11817.
- [5] 袁志鹰,黄惠勇,谢梦洲,等.应用顶空-气相离子迁移谱分析百合发酵乳的风味物质[J].*理化检验-化学分册*,2020, 56(1):78-83.
- [6] 张晓梅,全令君,潘明慧,等.巴氏灭菌与超高温灭菌对全脂牛乳挥发性风味物质的影响[J].*食品科学*,2017,38(10): 173-177.
- [7] 张申平,周静,徐红斌.气相色谱-质谱法分析比较超高温灭菌乳和巴氏杀菌乳中的10种内酯类风味物质[J].*食品安全质量检测学报*,2021,12(22):8660-8665.
- [8] VAGENAS G, ROUSSIS I G. Fat-derived volatiles of various products of cows', ewes', and goats' milk [J]. *International Journal of Food Properties*, 2012, 15(3): 665-682.
- [9] 雷文平,周辉,周杏荣,等.SPME-GC-MS结合组学技术分析发酵椰奶特征风味与风味物质相关性[J].*食品与机械*, 2019,35(2):42-47.
- [10] 董娟,孙静涛,华宵,等.SPME-GC-MS对低温酯酶解稀奶油香基成分分析及香气变化规律研究[J].*中国油脂*, 2016,41(7):33-38.
- [11] KARHY R, SAM P D L, ROGER M S, et al. An alternative method for analysis of food taints using stir bar sorptive extraction [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2010, 677(1): 29-36.
- [12] CICHETTI E, CHAINTREAU A. Comparison of extraction techniques and modeling of accelerated solvent extraction for the authentication of natural vanilla flavors [J]. *Journal of Separation Science*, 2009, 32(11): 1957-1964.
- [13] DAI J M, ORSAT V, RAGHAVAN V G S, et al. Investigation of various factors for the extraction of peppermint leaves [J]. *Journal of Food Engineering*, 2010, 96(4): 540-543.
- [14] OBI J, YOSHINAGA K, TAGO A, et al. Simple quantification of Lactones in milk fat by solvent extraction using gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Oleo Science*, 2018, 67(8): 941-948.
- [15] WONG N P, ELLIS R, LACROIX D E. Quantitative determination of lactones in Cheddar Cheese [J]. *Journal of Dairy Science*, 1975, 58(10):1437-1441.
- [16] 侯园园,王兴国,刘元法.GC-O与GC-MS结合鉴定天然乳脂风味中的特征致香成分[J].*食品工业科技*,2008,29(3):143-145.
- [17] YAO J L, ZHANG Q A, LIU M J. Utilization of apricot kernel skins by ultrasonic treatment of the dough to produce a bread with better flavor and good shelf life [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2021, 145: 111545.
- [18] 王玉健,黄惠玲,徐志伟,等.高效液相色谱-串联质谱法测定食用香精中13种饱和内酯类化合物[J].*中国食品添加剂*,2016,4:166-175.
- [19] 王玉健,纪少凡,陈文慧,等.QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法快速测定饮料中13种饱和内酯类合成香料[J].*食品科学*,2016,37(12):197-202.
- [20] YANG Y, ZHAO X, WANG R. Research progress on the formation mechanism and detection technology of bread flavor [J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87: 3724-3726.
- [21] DONG H, LI H X, LIANG M, et al. Rapid determination of nine N-nitrosamines in dry-cured mackerel (*Scomberomorus niphonius*) using salting out homogeneous phase extraction with acetonitrile followed by GC-MS/MS [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 130: 109716.
- [22] XIAN Y P, WU Y L, DONG H, et al. Dispersive micro solid phase extraction (DMSPE) using polymer anion exchange (PAX) as the sorbent followed by UPLC-MS/MS for the rapid determination of four bisphenols in commercial edible oils [J]. *Journal of Chromatography A*, 2017, 1517: 35-43.
- [23] HU J P, LIANG M, XIAN Y P, et al. Development and validation of a multianalyte method for quantification of aflatoxins and bongkreic acid in rice and noodle products using PRiME-UHPLC-MS/MS method [J]. *Food Chemistry*, 2022, 395: 133598.
- [24] GB 5009.251-2016 《食品安全国家标准 食品中1,2-丙二醇的测定》[S].
- [25] GB 5009.250-2016 《食品安全国家标准 食品中乙基麦芽酚的测定》[S].
- [26] 陈德斌,许均图,陈冬虹,等.气相色谱法测定液态奶中1,2-丙二醇的方法优化[J].*现代食品*,2022,28(24):206-208+213.
- [27] 韩双.UHT纯奶中奶味香精的分析与检测方法的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2007.