

特殊医学用途婴儿配方食品中香兰素检测方法的进展

郭美娟, 张兰天, 史国华, 张 岩, 王晨元, 张湘渠, 马越超*, 张 斌*

(河北省食品安全重点实验室, 国家市场监管重点实验室(特殊食品监管技术), 特殊食品安全与健康

河北省工程研究中心, 河北省食品检验研究院, 河北 石家庄 050227)

摘 要: 香兰素是目前食品行业应用较为广泛的香料之一。本文论述香兰素在食品行业中的应用现状、国内外的使用限量要求、生产工艺特点以及在食品中可能带入的风险, 重点汇总分析乳制品、婴幼儿配方食品和特殊医学用途婴儿配方食品中香兰素检测方法的研究进展, 包括气相色谱法、液相色谱法、气相色谱-串联质谱法、液相色谱-串联质谱法、光谱法等多种方法, 探讨不同检测方法各自的优势和局限性, 为特殊医学用途婴儿配方食品中香兰素的科学检测和深入研究提供依据。

关键词: 特殊医学用途婴儿配方食品; 香兰素; 气相色谱法; 高效液相色谱法; 气相色谱-串联质谱法; 液相色谱-串联质谱法

A Review of Methods for Determination of Vanillin in Formulas for Special Medical Purpose Intended for Infants

GUO Meijuan, ZHANG Lantian, SHI Guohua, ZHANG Yan, WANG Chenyuan, ZHANG Xiangqu, MA Yuechao*, ZHANG Bin*

(Hebei Food Safety Key Laboratory, Key Laboratory of Special Food Supervision Technology for State Market Regulation, Hebei Engineering Research Center for Special Food Safety and Health, Hebei Food Inspection and Research Institute, Shijiazhuang 050227, China)

Abstract: Vanillin is a flavor widely used in the food industry. This paper discusses the application of vanillin in the food industry, worldwide limits for the use of vanillin, the characteristics of the production technology and the possible risks brought by vanillin for foods, and it also summarizes the methods for vanillin detection in dairy products, infant formulas and formulas for special medical purposes intended for infants including gas chromatography (GC), liquid chromatography (LC), gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS), liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and spectroscopy with special attention to their advantages and limitations. This review is expected to provide a basis for the detection and further research of vanillin in infant formulas for special medical purpose.

Keywords: infant formula for special medical purposes; vanillin; gas chromatography; high performance liquid chromatography; gas chromatography-mass spectrometry; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

DOI:10.7506/rykxyjs1671-5187-20230517-025

中图分类号: TS252.7

文献标志码: A

文章编号: 1671-5187 (2023) 03-0052-07

引文格式:

郭美娟, 张兰天, 史国华, 等. 特殊医学用途婴儿配方食品中香兰素检测方法的研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2023, 46(3): 52-58. DOI:10.7506/rykxyjs1671-5187-20230517-025. <http://www.dairyst.net.cn>

GUO Meijuan, ZHANG Lantian, SHI Guohua, et al. A review of methods for determination of vanillin in formulas for special medical purpose intended for infants[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2023, 46(3): 52-58. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/rykxyjs1671-5187-20230517-025. <http://www.dairyst.net.cn>

收稿日期: 2023-05-17

基金项目: 市场监管总局市场监管技术保障专项(2022YJ37);

中国食品科学技术学会食品科技基金-雅培食品营养与安全专项科研基金项目(2022-F05);

河北省市场监督管理局科研计划项目(2021ZD19)

第一作者简介: 郭美娟(1989—)(ORCID: 0000-0002-4429-8182), 女, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品安全与检测。

E-mail: guomeijuan0405@163.com

*通信作者简介: 张斌(1980—)(ORCID: 0000-0002-6234-2351), 男, 高级工程师, 硕士, 研究方向为食品安全与检测。

E-mail: Zhibin1980@126.com

马越超(1972—)(ORCID: 0009-0007-3394-4533), 男, 高级工程师, 学士, 研究方向为食品检测及仪器设备。E-mail: mayuechao@sina.com

香兰素, 又名香草醛或3-甲氧基-4-羟基苯甲醛, 分子式为 $C_8H_8O_3$, 是一类芳香族有机化合物, 通常包括甲基香兰素和乙基香兰素; 最早从兰科植物香荚兰中被发现, 带有香荚兰香气和浓重的奶香, 外观呈淡黄色或白色结晶^[1-2]。随着科技的进步, 香荚兰中香兰素的提取技术取得了重大进展, 出现了以邻甲氧苯酚为原料合成的香兰素, 其与天然结构完全相同, 并广泛用于医药、烟草、香水日化等行业。香兰素也逐步应用于食品领域, 如乳制品、糖果、橄榄油、饼干、巧克力、蛋糕等, 作为增香剂和固香剂使用, 是世界范围内产量最大的合成香料品种之一^[3]。

特殊医学用途婴儿配方食品(以下简称特医婴配食品)是指针对患有特殊紊乱、疾病或医疗状况等特殊医学状况婴儿的营养需求而设计制成的粉状或液态配方食品, 需符合GB 25596—2010《食品安全国家标准 特殊医学用途婴儿配方食品通则》的要求。据报道, 近年来我国特医食品行业蓬勃发展, 市场规模约60亿元。特医婴配食品作为部分有特殊医学状况婴儿生命早期赖以生存的主要食物来源, 其营养成分分析、添加剂使用安全性以及检测方法的适用性和准确性等问题就更加重要。目前针对特医婴配食品营养成分检测方法及其适用性的研究逐步开展, 但针对香兰素检测方法的研究较少^[4-8]。本文论述香兰素的限量要求、生产工艺和可能带入特医婴配食品的风险, 重点分析乳品, 特别是婴幼儿配方食品和特医婴配食品中香兰素的检测方法研究, 探讨不同检测方法的优势和局限性, 为香兰素的科学检测和深入研究提供依据。

1 香兰素相关标准要求

世界卫生组织和联合国粮食和农业组织允许食品中使用香兰素, 认为每日摄入量一般不超过10 mg/kg是安全的; 美国允许在食品中使用香兰素, 建议包括冰激凌、饮料、糖果、焙烤食品、布丁、巧克力、口香糖等在内的食品可使用香兰素, 其使用量通常为10~100 mg/kg; 欧洲一些国家在食品中使用香兰素有很长的历史, 但未对其使用范围和使用量作出规定^[9]。我国依据GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》^[10]中的规定, 香兰素可用于饮料、冰激凌、蛋糕等各类食品, 用量可按生产需要适量使用, 另外规定了0~6个月婴幼儿配方食品中不得添加香兰素, 较大婴儿配方食品和幼儿配方食品、婴幼儿谷类辅助食品在即食状态下香兰素的最大使用量分别为5 mg/100 mL、7 mg/100 g^[11]。特医婴配食品在GB 2760—2014中的分类属于婴幼儿配方食品, 且其食用人群包括0~6个月婴幼儿, 因此特医婴配食品中不得添加香兰素。

2 香兰素生产工艺及特点

香兰素的生产工艺一般有3种, 分别是天然提取、化学合成及天然原料制备, 3种生产工艺得到的香兰素结构相同, 但在生产和使用过程中优缺点不同。香兰素天然存在于香荚兰豆等中, 由于热带香草兰花主要生长在马达加斯加、印度尼西亚等少数国家和地区, 且对土壤及气候因素的要求非常高, 种植、采收、提取及生产加工过程中的工艺复杂, 使得其成本高、产量低、价格贵, 因此天然提取的香兰素产量占全球产量的不足1%。以工业纸浆废液和石油化学品等作为原材料并用化学方法合成是主要的香兰素生产方法。该方法生产过程和技术稳定, 原料充足, 市场价格也较低。不足之处是产品香型较为单一, 缺乏天然香兰素的复合香气, 生产过程中也容易引发环境污染问题, 不符合下游应用市场对天然原料的消费趋势^[12]。以可再生资源丁香酚、阿魏酸作为天然原料制备香兰素, 由于其可再生性, 且香气更接近天然产品而受到重视^[13]。由于以丁香酚作为原材料制得的天然级香兰素香气诱人、食用安全性和实用价值均较高, 因此受到高端食品市场的青睐^[14-15]。阿魏酸广泛存在于玉米和小麦等农作物的细胞壁上, 是目前全球最为丰富的酚类化合物之一, 且生产工艺简单, 具有收效高、能耗低、污染小及食用安全等优点^[16]。可以看出, 天然原料制备的香兰素生产过程中所用玉米、小麦等原料可能存在香兰素本底并带入到终产品中。

3 特医婴配食品基质特点和香兰素带入风险

常见的特医婴配食品产品类别包括乳蛋白部分水解配方、无乳糖配方或低乳糖配方、乳蛋白深度水解配方、氨基酸配方、氨基酸代谢障碍配方、早产/低出生体质量婴儿配方和婴儿营养补充剂等, 每类配方均有其自身的特点^[17], 可见特医婴配食品是一类既复杂又特殊的食品。根据不同的产品类别, 其基质有所不同, 主要的配料也有所不同, 如表1所示。

表1 特医婴配食品的主要配料

Table 1 Main ingredients used in infant formulas for special medical purposes

产品类别	适用的特殊医学状况	主要配料
无乳糖配方或低乳糖配方	乳糖不耐受婴儿	麦芽糊精、葡萄糖浆、精炼植物油、全脂乳粉、分离乳清蛋白粉、固体玉米糖浆、固体淀粉糖
乳蛋白部分水解配方	乳蛋白过敏高风险婴儿	乳糖、部分水解乳清蛋白粉、植物油、固体淀粉糖、麦芽糊精、葡萄糖浆
乳蛋白深度水解配方或氨基酸配方	食物蛋白过敏婴儿	乳糖、植物油、麦芽糊精、乳清蛋白粉、葡萄糖浆、中链甘油三酯、马铃薯淀粉
早产/低出生体质量婴儿配方食品	早产/低出生体质量婴儿	麦芽糊精、脱盐乳清粉、植物油、乳清蛋白粉、固体淀粉糖、全脂乳粉、乳糖
母乳营养补充剂	早产/低出生体质量婴儿	固体淀粉糖、分离乳清蛋白粉、麦芽糊精、中链甘油三酯、水解乳清蛋白粉
氨基酸代谢障碍配方	氨基酸代谢障碍婴儿	葡萄糖浆粉、植物油、磷酸氢钙、L-亮氨酸、L-赖氨酸酯酸盐、L-酪氨酸、L-谷氨酰胺等多种氨基酸

由于特医婴配食品不同于普通婴儿配方食品, 需要根据不同疾病的营养需求, 设计针对性的产品配方并使用特定的原辅料(如麦芽糊精、玉米糖浆、葡萄糖浆、水解蛋白、淀粉糖和淀粉、氨基酸等)。部分原辅料的生产工艺如下: 淀粉的生产工艺(主要原料为玉米): 清理去杂→湿磨分离→脱水干燥→成品。麦芽糊精的生产工艺主要为酶法, 生产工艺为: 淀粉→调浆→第1次液化→高温灭酶→第2次液化→灭酶脱色→过滤→离子交换→浓缩→喷雾干燥→产品^[18]。玉米糖浆的生产工艺首先是要把玉米的胚芽和糠皮去除, 经过浸泡→磨浆→糖化→冷却→过滤→熬煮→成品。麦芽糊精、淀粉等特医婴配食品的原辅料很多来源于玉米、小麦、大豆等食品材料, 可能含有微量香兰素本底。相比于普通婴儿配方食品的主要基质是生牛乳或乳清粉, 特医婴配食品中经原辅料带入的风险有所增加。另一方面, 部分特医婴配食品生产企业存在特医婴配食品产品与较大婴儿和幼儿配方产品(6月龄以上人群婴幼儿配方食品可以添加香兰素)共线生产的情况, 可能因更换品类生产时对生产线的清洗、清场不彻底, 导致生产线残留香兰素带入后续产品。

4 香兰素的检测方法

目前GB 5009.284—2021《食品安全国家标准 食品中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的测定》^[19]的适用范围是婴幼儿配方食品、婴幼儿辅助食品、糕点、糖果、乳及乳制品、饮料和小麦粉。基于特医婴配食品中无乳糖配方、深度水解配方、部分水解配方、氨基酸代谢障碍等配方设计差异较大, 且原辅料和基质复杂, 从婴儿的特殊性及安全性考虑, 香兰素的检测方法适用性和准确性显然是至关重要的。目前, 食品中香兰素的检测方法包括色谱法^[20-25]、光谱法^[26-27]和电化学法^[28]等。本文对近年来所报道的乳制品、婴幼儿配方食品和特医婴配食品中香兰素检测方法的研究进展进行综述, 并总结了这些方法的优缺点, 旨在为特医婴配食品中香兰素的检测研究提供参考。

4.1 气相色谱(gas chromatography, GC)法

GC是一种适用于有机化合物中对易于挥发而不易分解的物质进行分离与分析的色谱技术, 适用于香兰素的定性和定量分析, 具有操作简单、仪器分析时间短、干扰小、灵敏度高、样品进样量少等特点。

刘玉萍^[29]建立婴幼儿乳制品中香兰素和乙基香兰素的内标法定量分析方法, 通过优化前处理方法将样品在含有NaCl的NaOH溶液中加热, 使蛋白质变性后用乙醚萃取, 从而达到快速、准确测定香兰素的目的, 加标回收率为96%~106%, 相对标准偏差为0.34%~3.55%。

4.2 液相色谱法

液相色谱法是一种流动相为液体的色谱法, 通常可分为高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)法和超高效液相色谱(ultra high performance liquid chromatography, UPLC)法, 该方法操作简单、灵敏度高、重现性好、精密度高, 可用于食品中香兰素的检测^[30]。

王存孝^[31]将样品经乙醇提取, 漩涡振荡、高速离心和微孔滤膜过滤后, 采用C₁₈反相色谱柱, 以甲醇溶液为流动相洗脱, 在279 nm波长处检测, 外标法定量。结果表明, 在0.1~40.0 μg/mL, 香兰素具有良好的线性关系, $R^2=0.9997$, 方法的检出限为0.05 μg/mL, 加标回收率为96.0%~100.2%, 相对标准偏差小于5%, 建立了一种利用HPLC法测定乳粉中香兰素的方法。林正锋等^[32]前处理采用叔丁基甲醚溶液提取, 氢氧化钠溶液萃取净化, 有效去除干扰物质, 建立同时测定乳粉中香兰素、乙基香兰素、麦芽酚、乙基麦芽酚4种香料含量的UPLC方法。籍芳等^[33]建立同时测定乳粉中香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素的UPLC法, 将样品用水溶解后使用ProElut PXA固相萃取柱进行样品前处理净化, C₁₈柱分离, UPLC仪进行色谱分析。该方法在0.5~20.0 mg/L范围内线性关系良好, 方法检出限为0.20~0.25 mg/L, 样品的加标回收率为80.3%~102.7%, 相对标准偏差为1.85%~4.11%。陶保华等^[34]创新了样品前处理方法, 首先利用乙酸锌沉淀蛋白, 再以MAX-SPE固相萃取小柱净化, 去除了样品中绝大部分的杂质, 极大降低了检测过程中基质的干扰, 建立了婴幼儿配方粉中香兰素和乙基香兰素的测定方法, 但回收率偏低。经研究表明, 沉淀蛋白的前处理方法会使待测组分被部分吸附, 影响回收率, 这就需要根据实际样品的取样量调整蛋白沉淀剂的使用量^[35]。陈静等^[36]选用正己烷除脂净化的前处理方法, 建立测定乳与乳制品中香兰素和乙基香兰素的反相HPLC分析方法, 该方法的定量限为0.2 mg/kg, 检出限均为0.06 mg/kg。贺江等^[37]从适宜固相萃取小柱筛选、洗脱条件优化、提取和蛋白沉淀方案确定、色谱分析条件优化等方面着手, 建立乳粉中香兰素的UPLC检测方法, 并对方法的准确度、精密度和灵敏度等进行评价。结果表明, 方法的加标回收率为80%~100%, 组内相对标准偏差为0.9%~6.1%, 组间相对标准偏差为7.0%, 方法的最低检出限为8.0 mg/kg。

目前国内所报道的特医婴配食品中香兰素检测研究仅见有关液相色谱法的适用性研究。吴纤黛等^[38]针对特医食品基质, 通过不同种类固相萃取柱净化效果优化前处理条件, 选择对特医食品基质净化效果较好的增强型脂质去除过滤柱Captive EMR-Lipid, 结合HPLC仪进行检测, 并结合二极管阵列检测器光谱图定位, 建立一种

测定特医食品中包括香兰素、乙基香兰素、甲基香兰素等在内的11种人工合成香料的检测方法。胡思怡^[39]对液相色谱条件进行优化,最终确定了用甲醇多次提取后选用固相萃取柱(500 mg/3 mL)检测特医食品中包括香兰素、乙基香兰素、甲基香兰素在内的11种香料的检测方法。

4.3 色谱-质谱法

4.3.1 气相色谱-串联质谱(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)法

GC-MS/MS是将GC仪和MS仪联合使用的仪器,同时具有GC的高效分离优势和MS的高选择性、灵敏度和分子结构鉴定等优势,且操作简便、抗干扰性强、定量准确性高,已被广泛应用于食品中营养成分分析及各种有害物质的痕量检测^[40-41]。

郑小严^[42]利用香兰素在pH值小于7的环境中以分子形式存在的特性,以环己烷和乙酸乙酯等比例混合作为溶剂提取香兰素,再经过凝胶色谱净化,最后用GC-三重四极杆质谱检测,外标法定量,加标回收率为85%~105%,相对标准偏差 $\leq 6.77\%$,定量限为0.10 mg/kg,从而建立了配方乳粉中香兰素和乙基香兰素的凝胶渗透色谱-GC-三重四极杆质谱测定方法。郑璇等^[43]优化萃取柱、吸附温度和时间、解吸附温度和时间等实验条件,方法的检测限为0.5 mg/kg,样品加标回收率为90.0%~100.0%,相对标准偏差为1.9%~4.1%,建立了自动顶空固相微萃取-GC-MS测定乳粉中香兰素和乙基香兰素的方法。周静等^[44]将样品经饱和氯化钠水溶液溶解后加入同位素内标,经乙腈超声提取后离心取上清液,加入正己烷去除脂类。采用VF-WAXms色谱柱分离,利用MS在全扫描和选择离子扫描同步扫描模式下,对香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素及其同位素内标物进行检测,内标法定量,建立了同时测定婴幼儿配方乳粉中4种香料的同位素稀释-GC-MS检测方法。该方法在0.05~5.00 mg/L范围内线性关系良好,相对标准偏差 $\leq 5.0\%$,平均回收率为85.7%~98.3%,定量限为0.03 mg/kg。章建辉等^[45]以乙醚为提取剂,100 μ L 0.01 mol/L NaOH为接受相,二氯甲烷为反萃取剂,选择离子监测模式,外标法定量。结果表明,0.2~10.0 mg/mL线性范围时,线性良好($R^2=0.9995$),相对标准偏差为2.83%~6.83%,检出限为0.004 mg/kg,加标回收率为82.0%~98.0%,从而建立了液-液萃取-接受相固化-反萃取技术联用GC-MS检测乳粉中香兰素的方法。高海燕^[46]通过多反应监测模式和GC-MS对牛乳中香兰素进行测定,线性范围为0.1~4.0 mg/L时,线性良好($R^2=0.9998$),相对标准偏差为3.3%,加标回收率为79.1%~86.2%,方法定量限为0.02 mg/kg。

4.3.2 液相色谱-串联质谱(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)法

LC-MC/MS法是由具有高效分离能力的LC和具有准确分析能力的MS结合,具有操作简单、灵敏度高和准确度高等优点,因此被用于实现解析化合物分子结构或样品的定性和定量分析^[47-49]。

韩超等^[50]采用LC-MC/MS建立了同时测定婴幼儿配方乳粉中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素4种香料的分析方法,线性关系良好($R^2>0.9993$),香兰素的定量限为10.0 μ g/kg,甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的定量限为5.0 μ g/kg,平均回收率为85.2%~107.4%,相对标准偏差 $\leq 5.7\%$ 。肖锋等^[11]将样品经Tris溶液和乙腈振荡提取,离心后提取液用正己烷脱脂过滤后上机测定,外标法定量,在5.0~200.0 μ g/L范围内线性良好,测定低限为50 μ g/kg,加标回收率为89.5%~115.0%,相对标准偏差小于15.6%,建立了HPLC-MS法检测婴幼儿配方乳粉中香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素的方法。马启明等^[51]将样品以水溶解、经乙腈提取后,盐析分层,离心后用增强型基质去除固相吸附剂净化上清液,采用大气压化学电离源和电喷雾离子源的复合源以正离子扫描方式进行采集。方法在2.0~200.0 μ g/L范围内呈良好线性关系($R^2>0.9991$),检出限和定量限分别为10.0~20.0 μ g/kg和35.0~60.0 μ g/kg,加标回收率为77.0%~94.1%,相对标准偏差为2.76%~4.77%,从而建立了乳粉中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的UPLC-四极杆/飞行时间质谱测定方法。詹胜群等^[52]通过对前处理条件、色谱和质谱条件进行优化建立UPLC-MS/MS法快速筛查婴幼儿配方乳粉中香兰素的检测方法,该方法具有限值低、分析时间短、前处理简单且无基质效应等优点。

4.4 光谱法

香兰素检测的光谱方法主要包括红外光谱法、紫外分光光度法、表面增强拉曼光谱法、荧光探针法等。

红外光谱技术是一种快速、无损、环保的分析技术,常与化学计量学结合,用于食品成分的定量检测与品质评价中。陈达等^[53]采用长光程傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)以顶空采样的方式,对掺杂香兰素的乳粉体系中的挥发性气体进行高灵敏检测,运用多尺度建模方法,该方法结合了离散小波变换和偏最小二乘法,充分利用气体红外光谱中的时/频多尺度信息,建立了长光程红外光谱检测方法。邹建^[54]利用气体FTIR技术并通过标准加入法,分析香兰素的红外特征吸收峰,经线性拟合对香兰素在1587、1515 cm^{-1} 处特征吸收峰的 R^2 均在0.950以上。Zhao Xin等^[55]基于近红外光谱和偏最小二乘判别分析建

立分类模型,通过视觉预测图能清楚地显示香兰素富集像素的位置,从而用来检测婴儿配方乳粉中的香兰素。

冯彩婷等^[56]采用紫外-可见分光光度法,发现吸光度在最大吸收波长435.0 nm处与香兰素含量呈正比,相对标准偏差为0.34%,加标回收率能达到98%以上,从而建立了紫外分光光度法测定乳粉中香兰素的方法。

红外光谱和拉曼光谱都属于分子振动光谱,可以反映分子的特征结构。表面增强拉曼光谱技术是在拉曼光谱技术的基础上,采用金、银等贵金属来增强拉曼散射。该方法具有快速、无损、前处理简单等特点,多用于食品的快速定性检测。王石等^[57]用饱和醋酸铅去除蛋白质,二氯甲烷进行萃取,pH 9的氢氧化钠溶液对提取液进行纯化,以粒径约58 nm的金胶溶液作为增强试剂。在上机待测液中加入1 mg/100 mL硝酸溶液200 μ L、1 mg/100 mL硝酸钾溶液50 μ L,在1 149、1 497、1 575 cm^{-1} 处定性,在30~300 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内进行定量计算, $R^2=0.991\ 3$,检出限为10 $\mu\text{g/mL}$,回收率为80.5%~86.9%,相对标准偏差<8.6%,从而建立了较大婴幼儿配方乳粉中香兰素的表面增强拉曼光谱检测方法。

以具有优异荧光性能的金属有机骨架(metal-organic frameworks, MOFs)制备成的高灵敏度和高选择性的荧光探针被用于快速检测食品中的香兰素。Wang Jing等^[58]利用钼酸铵辅助形状控制合成Co(II)基纳米MOFs荧光探针,在440 nm波长处的紫外光激发下对

香兰素敏感度高,并且在水溶液中可被香兰素选择性猝灭,从而对香兰素进行检测。

4.5 方法比较与分析

根据上述分析可以看出,GC/LC检测方法的操作简单,但检出限相对较高,这种情况容易造成含量较低时出现误判。随着联用技术的不断成熟,实现了MS与色谱之间功能和优势的互补,从而将MS的高选择性、高灵敏度、能够提供相对分子质量、结构信息等优点与色谱的高分离能力结合起来,结果的准确度大幅提升。但是,联用技术应用时多数样品需要净化处理,繁琐的前处理过程一定程度上也会影响结果的准确性。红外光谱法、拉曼光谱法等光谱检测方法的样品前处理简单,在现场快速、无损检测中具有广泛的应用前景,但灵敏度相对较低,多用于定性^[59]。具体分析见表2。

目前,乳品中香兰素的检测方法较为常见的是色谱法,特别是针对婴幼儿配方食品和特医婴儿食品,色谱法的应用更为广泛。上述检验方法的适用范围和优缺点各不相同,在对香兰素进行分析检测时,需要针对不同的基质,选取合适的提取方法和净化方法,从而建立合适的检测方法,才能保证测定的准确性。

虽然食品中香兰素的检测方法较多,但高精度、基质适用性强的检测特医婴配食品的方法研究非常少,本文希望通过总结乳品,特别是婴幼儿配方食品和特医婴配食品中各香兰素检测方法的优缺点,为进

表2 香兰素检验方法汇总
Table 2 Common methods to detect vanillin and their figures of merit

样品基质	优化净化方法	检测方法	方法检出限	回收率/%	相对标准偏差/%	参考文献
乳制品		GC		96~106	0.34~3.55	[29]
乳粉		HPLC	0.05 $\mu\text{g/mL}$	96.0~100.2	<5	[31]
乳粉	氢氧化钠溶液萃取净化	UPLC	<1 mg/kg	80.1~98.2	1.10~6.11	[32]
乳粉	ProElut PXA固相萃取柱净化	UPLC	0.20 mg/L 0.25 mg/L	80.3~102.7	1.85~4.11	[33]
婴幼儿配方乳粉	Oasis MAX固相萃取柱净化	UPLC	0.1 mg/kg	84.0~93.3	5.2~6.2	[34]
乳制品	正己烷除脂净化	反相HPLC	0.06 mg/kg 0.2 mg/kg	80.4~110.0	1.66~9.52	[36]
乳粉	固相萃取小柱	UPLC	8.0 mg/kg	80~100	0.9~6.1	[37]
特医食品	Captive EMR-Lipid增强型脂质去除过滤柱	UPLC		84~107		[38]
特医食品	C ₁₈ E SPE柱净化	UPLC				[39]
婴幼儿配方乳粉	凝胶色谱净化	GC-MS	0.10 mg/kg	85~105	≤ 6.7	[42]
乳粉	自动顶空固相微萃取	GC-MS	0.5 mg/kg	90.0~100.0	1.9~4.1	[43]
婴幼儿配方乳粉	VF-WAXms色谱柱净化	GC-MS	0.03 mg/kg	85.7~98.3	≤ 5.0	[44]
乳粉	接受相固化-反萃取	GC/MS	0.004 mg/kg	82.0~98.0	2.83~6.83	[45]
牛乳		GC-MS	0.02 mg/kg	79.1~86.2	3.3	[46]
婴幼儿配方乳粉		LC-MS	0.01 mg/kg 0.005 mg/kg	85.2~107.4	≤ 5.7	[50]
婴幼儿配方乳粉		LC-MS	0.05 mg/kg	89.5~115.0	<15.6	[11]
乳粉		LC-MS	0.01 mg/kg	77.0~94.1	2.76~4.77	[51]
婴幼儿配方乳粉	ACQUITY UPLC HSS T3分析柱	LC-MS	0.006 mg/kg	95.7~105.1	4.74	[52]
乳粉		FTIR技术				[53-55]
乳粉		紫外-可见分光光度法		>98	0.34	[56]
较大婴幼儿配方乳粉		表面增强拉曼光谱技术	10 $\mu\text{g/mL}$	80.5~86.9	<8.6	[57]
乳粉		Co(II)基纳米MOFs荧光探针				[58]

一步开展特医婴儿食品中香兰素的检测和研究提供一定的技术支持。

5 结 语

本文论述香兰素在食品行业中的应用现状、国内外的使用限量要求、生产工艺特点以及在特医婴儿食品中可能带入的风险,重点汇总分析乳品中,特别是婴幼儿配方食品和特医婴配食品中香兰素检测方法的研究进展,包括GC、LC、GC-MS/MS、LC-MS/MS、光谱法等多种方法,探讨不同检测方法各自的优势和局限性,为特医婴配食品中香兰素的科学检测和深入研究提供依据。

参考文献:

- [1] ZIYATDNINOVAG K, ANTONOVAT S, MUBARAKOVAL R, et al. An amperometric sensor based on tin dioxide and cetylpyridinium bromide nanoparticles for the determination of vanillin[J]. Journal of Analytical Chemistry, 2018, 73(8): 801-808. DOI:10.1134/S1061934818080129.
- [2] 张建斌. 香兰素制备技术研究进展及前景展望[J]. 广东化工, 2018, 45(12): 163-166.
- [3] GARCIA B M, SUTTON P W, STRAATMAN H, et al. Biocatalytic synthesis of vanillin by an immobilised eugenol oxidase: high biocatalyst yield by enzyme recycling[J]. Applied Catalysis A: General, 2021, 610: 117934. DOI:10.1016/j.apcata.2020.117934.
- [4] 郭美娟, 史国华, 张斌, 等. 国标方法检测特殊医学用途婴儿配方食品中部分B族维生素的基质适用性[J]. 食品科学, 2021, 42(12): 268-274. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200910-134.
- [5] 张斌, 李增宁, 郭美娟, 等. 特殊医学用途配方食品配制过程中VB₁、VD含量变化规律[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 1-5. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.04.001.
- [6] 吴昊, 张斌, 刘晓光, 等. 特殊医学用途婴儿配方食品中氯的国标检测方法适用性[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 11-14. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.04.003.
- [7] 赵丽敏, 黄云霞, 孟志娟, 等. 特殊医学用途婴幼儿配方食品中3-氯丙醇酯及缩水甘油酯的测定[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 15-18. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.04.004.
- [8] 马晓博, 吴磊, 张斌, 等. 特殊医学用途婴儿配方乳粉中左旋肉碱含量测定方法优化[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 19-23. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.04.005.
- [9] 陈林林, 郑凤鸣, 范天娇, 等. 食品中香兰素检测方法研究进展[J]. 中国调味品, 2022, 47(5): 206-211. DOI:10.1016/j.apcata.2020.117934.
- [10] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014.
- [11] 肖锋, 张毅, 陈沛金, 等. 高效液相色谱-串联质谱法同时测定婴幼儿配方食品中香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(11): 3431-3436. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956ts.2014.11.012.
- [12] 姚静芳, 穆旻, 张颂培. 香兰素产业发展概况[C]//第十届中国香料香精学术研讨会论文集. 北京: 中国香料香精化妆品工业协会, 2014: 6.
- [13] 党玥, 陈雪峰, 刘欢, 等. 香兰素生物合成的研究进展[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3678-3688. DOI:10.13344/j.microbiol.china.191014.
- [14] ARYA S S, ROOKES J E, CAHILL D M, et al. Vanillin: a review on the therapeutic prospects of a popular flavouring molecule[J]. Advances in Traditional Medicine, 2021, 21: 1-7. DOI:10.1007/S13596-020-00531-W.
- [15] 王立志, 章平毅, 毛海舫. 丁香酚制备香兰素研究进展[J]. 上海应用技术学院学报(自然科学版), 2016, 16(6): 125-131.
- [16] 樊永华. 以阿魏酸为底物微生物转化生产香兰素的研究进展[J]. 粮食与食品化工, 2017, 24(6): 43-47.
- [17] 郭美娟, 张斌, 张春林, 等. 不同方法检测特殊医学用途婴儿配方食品中硒含量[J]. 乳业科学与技术, 2021, 44(4): 34-37. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2021.04.008.
- [18] 杨倩雯. 高浓度底物条件下酶法生产麦芽糖浆工艺的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2017.
- [19] 中华人民共和国国家卫生健康委员会, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中香兰素、甲基香兰素、乙基香兰素和香豆素的测定: GB 5009.284—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
- [20] 郭国贤. 气相色谱法测定饲料中9种香味剂含量的研究[J]. 饲料博览, 2019(9): 29-32.
- [21] 贾璇, 王国胜. 高效液相色谱法同时测定邻位香兰素、香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素[J]. 沈阳化工大学学报, 2020, 34(4): 314-318.
- [22] 吴秉宇, 费婷, 罗辰, 等. 固相萃取-气相色谱/质谱联用法测定卷烟主流烟气中的香兰素和乙基香兰素[J]. 分析实验室, 2020, 39(1): 77-81. DOI:10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2019.041003.
- [23] 周静, 彭亚峰, 胡守江. 同位素稀释-气相色谱-质谱法同时测定婴儿配方乳粉中的4种香料[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3643-3649.
- [24] 聂鲲. 采用气相色谱-质谱法检测天然椰汁中的香精[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2017, 38(1): 76-80. DOI:10.16433/j.cnki.issn1673-2383.2017.01.015.
- [25] ALI L, PERFETTI G, DIACHENKO G. Rapid method for the determination of coumarin, vanillin, and ethyl vanillin in vanilla extract by reversed-phase liquid chromatography with ultraviolet detection[J]. Journal of AOAC International, 2008, 91(2): 383-386.
- [26] NI Yongnian, ZHANG Guowen, SERGE K. Simultaneous spectrophotometric determination of maltol, ethyl maltol, vanillin and ethyl vanillin in foods by multivariate calibration and artificial neural networks[J]. Food Chemistry, 2004, 89(3): 465-473. DOI:10.1016/j.foodchem.2004.05.037.
- [27] NAIL A. Development of vortex-assisted ionic liquid-dispersive microextraction methodology for vanillin monitoring in food products using ultraviolet-visible spectrophotometry[J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 93: 9-15. DOI:10.1016/j.lwt.2018.03.021.
- [28] SUN Yujiao, JIANG Xiaowen, JIN Hui, et al. Ketjen black/ferrocene dual-doped MOFs and aptamer-coupling gold nanoparticles used as a novel ratiometric electrochemical aptasensor for vanillin detection[J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1083(C): 101-109. DOI:10.1016/j.aca.2019.07.027.
- [29] 刘玉萍. 婴幼儿乳制品中香兰素的检测方法研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2011, 23(2): 51-54.
- [30] 刘兰, 陈雅楠, 尚云涛, 等. 高效液相色谱法测定大蒜愈伤组织中大蒜素的含量[J]. 中国调味品, 2019, 44(2): 1-4; 9.
- [31] 王存孝. 高效液相色谱法检测乳粉中香兰素的含量[J]. 食品安全导刊, 2022(34): 45-47. DOI:10.16043/j.cnki.cfs.2022.34.001.
- [32] 林正锋, 庞道标, 王朝政, 等. 超高效液相色谱法测定乳粉中四种常用香料[J]. 食品工业, 2021, 42(6): 436-440.
- [33] 籍芳, 孙玉慧, 李天宝, 等. 乳粉中香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素的测定[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(13): 79-81.
- [34] 陶保华, 储小军, 赖世云, 等. 婴幼儿配方粉中香兰素和乙基香兰素的检测方法比较[J]. 食品安全质量检测学报, 2013(2): 421-426. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956ts.2013.02.021.

- [35] 迟秋池, 李晓雯, 何家今, 等. 高效液相色谱法同时测定豆浆中麦芽酚、乙基麦芽酚、香兰素、甲基香兰素和乙基香兰素5种香料[J]. 食品安全质量检测学报, 2016(7): 2690-2695. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.2016.07.017.
- [36] 陈静, 段国霞, 刘丽君, 等. 高效液相色谱法快速测定乳与乳制品中4种香兰素类化合物[J]. 乳业科学与技术, 2020, 43(1): 19-24. DOI:10.15922/j.cnki.jdst.2020.01.005.
- [37] 贺江, 盛岳衡. 乳粉中香兰素UPLC检测方法的建立[J]. 食品工业, 2018, 39(5): 327-330.
- [38] 吴纤慷, 郑平安, 周勇, 等. 不同种类固相萃取柱对特医食品中香料含量结果的影响[J]. 食品工业, 2021, 42(1): 291-296.
- [39] 胡思怡. 特殊医学用途配方食品中多种人工香料的检测研究[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2019: 16-39.
- [40] DEJAGER L S, PERFETTI G A, DIACHENKO G W. Comparison of headspace-SPME-GC-MS and LC-MS for the detection and quantification of coumarin, vanillin, and ethyl vanillin in vanilla extract products[J]. Food Chemistry, 2007, 107(4): 1701-1709. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.09.070.
- [41] WANG Zhiyuan, ZENG Guangfeng, WEI Xiaoqun, et al. Determination of vanillin and ethyl-vanillin in milk powder by headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry[J]. Food Analytical Methods, 2016, 9(12): 3360-3366. DOI:10.1007/s12161-016-0520-8.
- [42] 郑小严. 凝胶渗透色谱-气相色谱-三重四极杆质谱法测定配方乳粉中香兰素和乙基香兰素[J]. 福建分析测试, 2018, 27(4): 12-17.
- [43] 郑璇, 黄瑾, 林洁, 等. 气相色谱-质谱法测定乳粉中香兰素含量的方法建立[J]. 食品与机械, 2016, 32(11): 35-38. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2016.11.008.
- [44] 周静, 彭亚锋, 胡守江. 同位素稀释-气相色谱-质谱法同时测定婴儿配方乳粉中的4种香料[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3643-3649.
- [45] 章建辉, 李莎, 黄辉, 等. 液液萃取-接受相固化-反萃取-气相色谱/质谱法测定乳粉中的香兰素[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 98-101; 105. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2015.02.020.
- [46] 高海燕. GC-QQQ顶空进样法测定牛乳中香兰素[J]. 农产品加工, 2016(9): 43-45. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2016.09.015.
- [47] 张晓瑜, 张桂芳, 王志昱, 等. 固相萃取-液相色谱-串联质谱法测定海产品中谷氨酸钠的含量[J]. 中国调味品, 2019, 44(11): 167-170.
- [48] SHEN Yan, CHAO Han, LIU Bin, et al. Determination of vanillin, ethyl vanillin, and coumarin in infant formula by liquid chromatography-quadrupole linear ion trap mass spectrometry[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(2): 679-686. DOI:10.3168/jds.2013-7308.
- [49] QU Baocheng, JIANG Jingqiu, MAO Xiqin, et al. Simultaneous determination of vanillin, ethyl vanillin and methyl vanillin in Chinese infant food and other dairy products by LC-MS/MS[J]. Food Additives and Contaminants, Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 2021, 38(7): 1-9. DOI:10.1080/19440049.2021.1902573.
- [50] 韩超, 刘滨, 朱振瓯, 等. 液相色谱-串联质谱法同时测定婴幼儿配方乳粉中4种香料[J]. 分析测试学报, 2014, 33(2): 208-211; 216.
- [51] 马启明, 梁小敏, 曾广丰. 增强型基质去除净化-UPLC-Q-TOF/MS法快速测定乳粉中的香兰素类化合物[J]. 中国乳品工业, 2021, 49(10): 54-58. DOI:10.19827/j.issn1001-2230.2021.10.011.
- [52] 詹胜群, 段勤勤, 周钧, 等. UPLC-MS/MS快速筛查婴幼儿配方乳粉中3种香兰素污染[J]. 食品科技, 2023, 48(1): 277-284. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2023.01.034.
- [53] 陈达, 邹建, 谭棕, 等. 基于傅里叶变换红外光谱技术检测奶粉中香兰素的新方法[J]. 纳米技术与精密工程, 2017, 15(6): 438-443. DOI:10.13494/j.npe.20160100.
- [54] 邹建. 基于气体FT-IR光谱技术的乳粉中香兰素检测新方法研究[D]. 天津: 天津大学, 2017.
- [55] ZHAO Xin, LI Chunhua, ZHAO Zhilei, et al. Generic models for rapid detection of vanillin and melamine adulterated in infant formulas from diverse brands based on near-infrared hyperspectral imaging[J]. Infrared Physics and Technology, 2021, 116: 103745. DOI:10.1016/j.infrared.2021.103745.
- [56] 冯彩婷, 杨丽霞, 李书静. 紫外-可见分光光度法测定乳粉中的香兰素含量[J]. 河北化工, 2012, 35(6): 78-80.
- [57] 王石, 程劼, 苏晓鸥. 应用表面增强拉曼光谱技术快速检测较大婴幼儿配方乳粉中的香兰素[J]. 中国农业科学, 2014, 47(11): 2224-2232.
- [58] WANG Jing, NI Yonghong. Ammonium molybdate-assisted shape-controlled synthesis of fluorescent Co(II)-based MOFs nanoflakes as highly-sensitive probes for selective detection of vanillin in milk powders[J]. Materials Research Bulletin, 2020, 123(C): 110721. DOI:10.1016/j.materresbull.2019.110721.
- [59] 周瑞铮, 易华娟, 林秋凤, 等. 食品中香兰素和乙基香兰素检测方法的研究进展[J]. 分析仪器, 2023(1): 9-15.