|  |  |
| --- | --- |
| ICS  | 65.160.01 |
| CCS  |

|  |
| --- |
| D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png GBC |

X 50 |

广西物品编码与标准化促进会团体标准

T/GBC XXXX—XXXX

六堡茶 挥发性关键香气成分的测定 顶空-固相微萃取气相色谱-质谱法

Determination of volatile key aroma components in Liu Bao Tea by Headspace-Solid Phase microextraction Gas Chromatography-Mass Spectrometry

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

广西物品编码与标准化促进会  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由广西壮族自治区分析测试研究中心提出并宣贯。

本文件由广西物品编码与标准化促进会归口。

本文件起草单位：广西壮族自治区分析测试研究中心、广西壮族自治区南宁生态环境监测中心、广西壮族自治区产品质量检验研究院、广西医科大学第二附属医院、广西南环检测科技有限公司、广西新百桂科技有限公司、广西新桂环保科技集团有限公司、广西西大检测有限公司、广西壮族自治区林业科学研究院、广西南宁信雄科技服务有限公司。

本文件主要起草人：韦英亮、范磊、潘扬昌、陈德翼、邹源、韦树燕、梁杰、甘惠云、玉一岚、黄宁、卢一叶、蓝苏梅、陈海燕、梁忠云、黄优菊。

六堡茶 挥发性关键香气成分的测定 顶空-固相微萃取气相色谱-质谱法

* 1. 范围

本文件界定了六堡茶中6种挥发性关键香气成分的相关术语和定义，规定了六堡茶中6种挥发性关键香气成分测定的顶空—固相微萃取气相色谱—质谱法，包括方法原理、试剂和材料、仪器和设备、样品制备与保存、测定步骤、数据处理以及准确度和精密度等内容。

本文件适用于六堡茶中发性关键香气成分含量的测定。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

DB45/T 581 六堡茶

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

6种挥发性关键香气 6 volatile key aromas

成分包括：芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮。

* 1. 方法原理

利用固相微萃取纤维顶空吸附富集六堡茶样品中的芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮后用气相色谱质谱联用仪分离测定，内标法定量。

* 1. 试剂和材料
		1. 试剂

除非另有说明，本方法所用试剂分析纯以上试剂。

超纯水：符合GB/T 6682的要求，且质谱检验无干扰成分。

甲醇（CH3OH）：色谱纯。

氯化钠（NaCl）：优级纯，经450℃烘烤2 h后置干燥器内备用。

标准物质：芳樟醇（C10H18O）、壬醛（C9H18O）、薄荷醇（C10H20O）、癸醛（C10H20O）、香叶醇（C10H18O）、紫罗兰酮（C13H20O）纯度≥95%，或使用有证标准物质。

* + 1. 试剂配制

标准储备溶液：称取芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮10.0 mg，分别置于100 mL容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，质量浓度均为100 mg/L。将标准储备溶液置于聚四氟乙烯封口的螺口瓶中或密闭安瓿瓶中，尽量减少瓶内的液上顶空，避光于0 ℃～4 ℃冷藏保存。

标准中间溶液：分别用甲醇将芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮标准储备溶液稀释成质量浓度为10.0 mg/L的标准中间溶液。将标准中间溶液置于聚四氟乙烯封口的螺口瓶中或密闭安瓶中，尽量减少瓶内的液上顶空，避光于0 ℃～4℃冷藏保存，使用前要检查溶液是否挥发。

标准混合使用溶液：将标准中间溶液放至室温，用甲醇或纯水将10.0 µg/L的芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮标准中间溶液稀释成10.0μg/L的标准混合使用液。现用现配。

内标物：2-异丁基-3-甲氧基吡嗪（C9H14N2O），纯度＞95 %，或使用有证标准物质。

内标储备溶液：称取2-异丁基-3-甲氧基吡嗪标准物质10.0 mg，置于100 ml，容量瓶中，用甲醇溶解并稀释至刻度，质量浓度为100 mg/L。将内标储备溶液置于聚四氟乙烯封口的螺口瓶中或密闭安瓶中，尽量减少瓶内的液上顶空，避光于0 ℃～4 ℃冷藏保存。

内标中间溶液：用甲醇将2-异丁基-3-甲氧基吡嗪储备溶液逐级稀释成质量浓度为10.0 mg/L的内标中间溶液。将内标中间溶液置于聚四氟乙烯封口的螺口瓶中或密闭安瓿瓶中，尽量减少瓶内的液上顶空，避光于0 ℃～4 ℃冷藏保存，使用前要检查溶液是否挥发。

内标使用溶液的配制：将内标中间溶液放至室温，用甲醇或纯水将10.0 mg/L的2-异丁基-3-甲氧基吡嗪中间溶液稀释成质量浓度为50.0μg/L的内标使用溶液。现用现配。

* 1. 仪器和设备

气相色谱质谱联用仪，质谱仪使用电子电离源（EI）方式离子化，标准电子能量为70 eV。

全自动顶空固相微萃取装置能直接连接到色谱部分，并能自动启动色谱

纤维萃取头：85μm Carboxen/PDMS（聚二甲基硅氧烷）的纤维萃取头或相当者。

色谱柱30 m×0.25 mm，0.25 μm，填料为5%二苯基（95 %）二甲基聚硅氧烷；或其他等效色谱柱。

固相微萃取专用衬管（78.5 mm×6.3 mm，0.75 mm）。

固相微萃取瓶（SPME）：20 mL棕色螺旋口顶空瓶，具聚四氟乙烯衬垫和磁性螺旋盖。

分析天平：感量0.1 mg和0.01 g。

* 1. 样品制备与保存

取100 g 样品，粉碎后过60 目筛处理后，混合均匀，常温保存。

* 1. 测定步骤
		1. 样品处理

称取粉碎后样品约0.1 g（准确至0.0001 g）。置于20 mL棕色玻璃瓶，依次3 g氯化钠（5.1.4），混匀。10.0 mL超纯水（5.1.2）和 20 µL内标使用溶液（5.2.7），混匀，置于顶空固相微萃取样品盘适当位置，待测。纤维萃取头270 ℃活化 5 min，插入萃取瓶中，60 ℃条件下震荡萃取 40 min后拔出，插入气相色谱进样口 250 ℃热解析5 min，经气相分离后进入质谱检测。

* + 1. 绘制标准曲线

移取标准混合使用溶液（5.2.3）0.0 µL、10.0 µL、30.0 µL、50.0 µL、70.0 µL、100 µL、200 µL分别置于预先加有 3 g氯化钠（5.1.4）和 10.0 mL超纯水（5.1.2）的固相微萃取瓶（6.6）中，各加入20 µL内标使用溶液（5.2.7），混匀，按照8.1 前处理后，经气相色谱质谱联用仪分析。以峰面积为纵坐标，质量浓度为横坐标，绘制工作曲线。

* + 1. 仪器参考条件

气相色谱参考条件：

载气：高纯氦气[φ（He）≥99.999%]；进样口温度：250 ℃；进样模式：不分流进样；程序升温：起始温度40 ℃，保持2 min，以8 ℃/min速率升至110 ℃，保持5 min。以10 ℃/min速率升至260 ℃，保持5 min。

质谱仪操参考条件：

离子源：电子电离源（EI）；离子源温度：230 ℃；接口温度：260 ℃；离子化能量：70 eV；扫描模式：选择离子检测（SIM），参数见表1。

1. 选择离子检测参数

| 组分 | 保留时间 | 定量离子 | 定性离子 |
| --- | --- | --- | --- |
| 芳樟醇 | 9.520 | 71 | 93，43 |
| 壬醛 | 9.620 | 82 | 67，70 |
| 薄荷醇 | 11.045 | 81 | 71，41 |
| 癸醛 | 11.670 | 82 | 67，71 |
| 香叶醇 | 12.605 | 69 | 41，39 |
| 紫罗兰酮 | 16.470 | 177 | 162，147 |
| 2-异丁基-3-甲氧基吡嗪 | 10.955 | 124 | 151，94 |

* + 1. 空白实验

以超纯水替代试样，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

* 1. 数据处理
		1. 定性分析

各组分出峰顺序：芳樟醇、壬醛、薄荷醇、癸醛、香叶醇、紫罗兰酮

保留时间（min）：芳樟醇9.520、壬醛9.620、薄荷醇11.045、癸醛11.670、香叶醇12.605、紫罗兰酮16.470。

* + 1. 定量分析

样品中组分含量以质量浓度 $ρ\_{i}$计，单位以微克每千克（µg/kg）表示，按式（1）计算：

 $ρ\_{i}=\frac{（\frac{A\_{i}}{A\_{is}}-a\_{i}）×ρ\_{is}×10}{b\_{i}×m}×10^{-3}$ （）

式中：

$ρ\_{i}$——样品中目标化合物的质量浓度，单位为（µg/kg）；

$A\_{i}$——样品中目标化合物定量离子峰面积；

$A\_{is}$——样品中内标物物定量离子峰面积；

$a\_{i}$——标准曲线截距；

$ρ\_{is}$—— 样品中内标物的质量浓度，单位为（ng/L）；

$b\_{i}$——标准曲线斜率。

* 1. 准确度和精密度

空白试液加标浓度分别为50 ng/L和200 ng/L，重复测定6 次，其回收率和相对标准偏差（RSD）见表2。

1. 准确度和精密度测定结果

| 组分 | 加标浓度（ng/L） | 回收率（%） | RSD/% |
| --- | --- | --- | --- |
| 芳樟醇 | 50 | 91.3 ～ 106 | 4.6 ～ 5.1 |
| 200 | 96.5 ～ 102 | 5.6 ～ 10 |

表2 准确度和精密度测定结果（续）

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 壬醛 | 50 | 90.3 ～ 104 | 3.6 ～ 11 |
| 200 | 92.4 ～ 96.8 | 4.2 ～ 9.6 |
| 薄荷醇 | 50 | 92.4 ～ 98.6 | 7.2 ～ 8.8 |
| 200 | 93.2 ～ 104 | 6.5 ～ 9.8 |
| 癸醛 | 50 | 90.7 ～ 98.4 | 9.2 ～ 9.9 |
| 200 | 92.6 ～ 104 | 5.8 ～ 8.3 |
| 香叶醇 | 50 | 91.2 ～ 101 | 6.3 ～ 7.6 |
| 200 | 92.3 ～ 99.6 | 5.8 ～ 9.4 |
| 紫罗兰酮 | 50 | 92.5 ～ 106 | 4.7 ～ 8.6 |
| 200 | 93.7 ～ 101 | 7.2 ～ 9.8 |

