

LC-MS/MS 检测猪肉中卡拉胶含量

LCMSMS-643

摘要: 本文参考中华人民共和国农业行业标准 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中卡拉胶含量的方法。样品经盐酸溶液处理后，其中的卡拉胶降解生成特征性寡糖，以 LC-MS/MS 外标法定量检测特征性寡糖含量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

关键词: 猪肉 卡拉胶 三重四极杆液质联用仪

卡拉胶 (Carrageenan) 是从麒麟菜、石花菜和鹿角菜等红藻类海草中提炼出来的一种亲水性胶体，其具有较强的保水性和增稠性等特点，少数不法分子将其注入猪肉等肉品中增重以便达到非法获利的目的。

2021 年 11 月 1 日，中华人民共和国农业行业标准 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测液相色谱 -

串联质谱法》开始实施，该标准规定了猪肉中卡拉胶检测的制样和液相色谱 - 串联质谱测定方法。

本文参考该标准，利用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了猪肉中卡拉胶的检测方法。该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40B X3 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8045 联用系统。具体配置为：

系统控制器：CBM-40

自动进样器：SIL-40C X3

输液泵：LC-40B X3

质谱仪：LCMS-8045

柱温箱：CTO-40S

色谱工作站：LabSolutions Ver. 5.99 SP2

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：BEH Amide (100 mm × 2.1 mm I.D., 1.7 μm)

流动相：A 相 - 5mM 乙酸铵水溶液；B 相 - 乙腈

流速：0.4 mL/min

柱温：30°C

进样量：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 90%，洗脱程序见表 1

表 1 洗脱程序

Time(min)	Module	Command	Value
1.5	Pumps	Pump B Conc.	40
3.0	Pumps	Pump B Conc.	40
3.1	Pumps	Pump B Conc.	90
6.0	Controller	Stop	

质谱条件

离子化模式：ESI⁻

雾化气：氮气 3.0 L/min

干燥气：氮气 10.0 L/min

加热气：空气 10.0 L/min

接口温度：300°C

加热模块温度：400°C

DL 温度：250°C

扫描模式：多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias (V)	CE	Q3 Pre Bias (V)
1	卡拉胶降解的特征性寡糖	403.10	96.70*	28.0	42.0	16.0
			241.00	29.0	32.0	11.0

* 定量离子对

1.3 样品前处理

(1) 待测样品：参照 NY/T 3876-2021，称取 5 g 样品于 50 mL 离心管中，加入 20 mL 水，于 4°C 下 10000 r/min 匀浆 1 min。加入 2 mL 浓盐酸，涡旋 30 s，置于 80 °C 恒温振荡水浴锅振荡 2 h，取出后冷却至室温。依次加入 190 g/L 乙酸锌溶液 1.5 mL、150 g/L 亚铁氰化钾溶液 1.5 mL，涡旋 1 min 沉淀蛋白质。于 4°C 下 8000 r/min 离心 5 min，取上清液转移至 50 mL 容量瓶中，乙腈定容，0.22 μm 有机系滤膜过滤后待测。

(2) 标准样品：参照 NY/T 3876-2021，50 mL 离心管中加入适量标准储备液，再加入 23 mL 水和 2 mL 浓盐酸，涡旋 30 s，置于 80°C 恒温振荡水浴锅振荡 2 h，取出后冷却至室温，转移至 50 mL 容量瓶中，乙腈定容，0.22 μm 有机系滤膜过滤后待测。

■ 结果与讨论

2.1 灵敏度和专属性

0.05 μg/mL 卡拉胶标准样品降解后生成的特征性寡糖和空白样品的 MRM 色谱图如图 1 所示，空白样品无干扰，特征性寡糖在该浓度下信噪比为 21.9，以 S/N=10 对应的浓度计算定量限，可得其仪器定量限为 0.023 μg/mL。

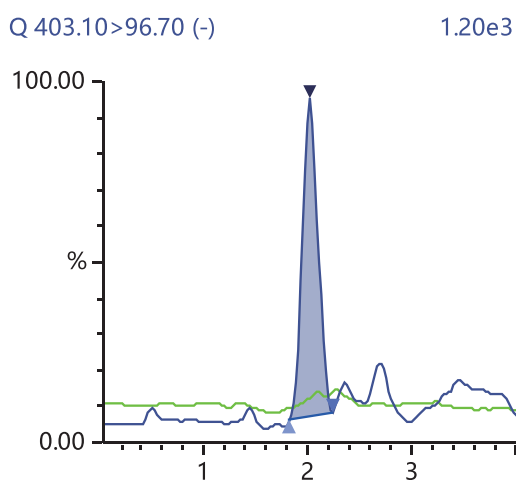


图 1 特征性寡糖（蓝色）和空白样品（绿色）MRM 色谱图

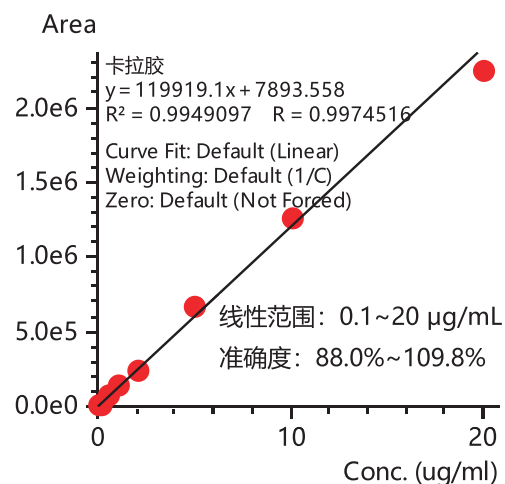


图 2 校准曲线

2.2 校准曲线

制备浓度分别为 0.1、0.5、1、2、5、10、20 μg/mL 的标准溶液，外标法建立校准曲线如图 2 所示。结果显示，在 0.1~20 μg/mL 浓度范围内，线性相关系数为 0.997，准确度 88.0%~109.8%。

2.3 残留考察

ULOQ 标准样品进样后，空白样品进样分析所得色谱图如图 3 所示，目标组分保留时间处无明显色谱峰。

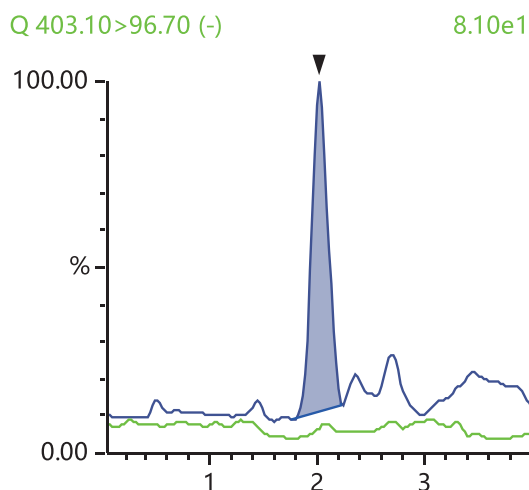


图3 残留考察

2.4 重复性考察

对不同加标浓度的样品分别连续分析 6 次，计算保留时间和峰面积的 RSD. 结果见表 3，保留时间 RSD 均不高于 0.11%，峰面积 RSD 均不高于 5.41%。

表 3 保留时间和面积 RSD

名称	浓度 (µg/mL)	保留时间 RSD(%)	峰面积 RSD (%)
卡拉胶特征性寡糖	2	0.11	5.41
	20	0.07	3.33

2.5 加标回收率

浓度分别为 2 µg/mL 和 20 µg/mL 的基质加标样品处理后进样分析，方法的回收率结果如表 4 所示，加标回收率分别在 88.6%~91.8% 之间。

表 4 加标回收率实验

序号	目标物	基质样品浓度 (µg/mL)	加标浓度 (µg/mL)	加标样品检测浓度 (µg/mL)	加标回收率 (%)
1	卡拉胶特征性寡糖	N.D.	2	1.77	88.6
2			20	18.36	91.8

N.D. 表示未检出

■ 结论

本文参考中华人民共和国农业行业标准 NY/T 3876-2021《猪肉中卡拉胶的检测 液相色谱 - 串联质谱法》，建立了一种使用岛津三重四极杆液质联用仪检测猪肉中卡拉胶含量的方法。样品经盐酸溶液处理后，其中的卡拉胶降解生成特征性寡糖，以 LC-MS/MS 外标法定量检测特征性寡糖含量。实验结果表明：该方法灵敏度高，重复性好，校准曲线线性良好，适合用作检测猪肉中的卡拉胶。

岛津应用云

