

LC-MS/MS 检测肉制品中 4 种杂环胺

LCMSMS-935

摘要： 本文建立了使用三重四极杆液质联用仪测定肉制品中的 4 种杂环胺含量的方法。4 种杂环胺组分在 0.01 $\mu\text{g/L}$ ~10 $\mu\text{g/L}$ 浓度范围内线性良好，其相关系数 r 均在 0.999 以上。在高、中、低三个浓度下，化合物的保留时间和峰面积的 RSD% 分别在 0.05%~0.11% 和 0.56%~5.27% 之间，仪器精密度良好。加标浓度为 1~20 $\mu\text{g/kg}$ 的样品回收率在 69.1%~89.4% 之间。该方法前处理简单，灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于肉制品中杂环胺的准确定量检测。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 肉制品 杂环胺

技术特点：

- ❖ 相较 NY/T3904-2021《肉及肉制品中杂环胺检测 液相色谱 - 串联质谱法》，该方法样品前处理操作步骤少、耗时短，灵敏度高，方法定量限可优于标准十倍。
- ❖ 采用基于 AI 算法的 Peakintelligence 积分方式，无额外参数设置，数据处理操作更简便。

高温烹调是食品加工的主要手段之一，且也是一种非常受欢迎的加工方式，能一定程度上提高食品的色泽、风味和口感，但研究发现也会产生一些对人体健康造成严重危害的物质，如杂环胺类化合物（Heterocyclic aromatic amines, HAAs）。HAAs 是一类杂环芳香烃类化合物，是烤鱼、烤肉、熏肉等含蛋白类热加工肉制品中极易产生的致癌物和致突变物，会对人体健康造成巨大威胁，目前国际上对该类化合物中某些化合物规定了其每日最大摄入量，例如 IQ 为 0.50 $\mu\text{g/kg}$ ，MeIQx 为 0.41 $\mu\text{g/kg}$ ，因此评价且精确量化肉制品中 HAAs 显得尤为重要。

目前 HAAs 的常用检测方法有高效液相色谱法、

高效液相色谱 - 串联质谱法、气相色谱 - 串联质谱法、酶联免疫法等，但由于该类化合物大多具有不易挥发的特点，容易吸附在进样器或色谱柱中，因此采用 GC、GC-MS 测定时需要对其进行衍生化，其前处理操作步骤繁琐。而高效液相色谱法和酶联免疫法存在分析时间长、灵敏度低、选择性差等缺点。

所以，在本例中我们参照 NY/T 3904-2021《肉及肉制品中杂环胺检测 液相色谱 - 串联质谱法》建立了 LC-MS/MS 测定肉制品中 4 种杂环胺的检测方法。该方法前处理简单，分析时间短，且灵敏度高，可实现对肉制品中杂环胺含量有效检测。

实验部分

1.1 仪器

采用岛津超高效液相色谱与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统。具体配置为：

系统控制器：	CBM-20A	自动进样器：	SIL-30AC
输液泵：	LC-30ADx2	质谱仪：	LCMS-8050
柱温箱：	CTO-20AC	色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.120

1.2 分析条件

液相条件

色谱柱：Shim-park Scepter C18-120 (100 mm \times 2.1 mm I.D, 1.9 μm)
岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-31012-05

流动相：A 相 -0.01% 氨水溶液, B 相 - 乙腈 流速：0.3 mL/min

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$ 进样体积：2 μL

洗脱方式：梯度洗脱，初始浓度为 B 相 10%，时间程序见表 1

表 1 梯度洗脱程序

Time	Module	Command	Value
2.80	Pumps	Pump B Conc.	80
3.20	Pumps	Pump B Conc.	80
3.21	Pumps	Pump B Conc.	10
6.00	Controller	Stop	

质谱条件

质谱仪	: LCMS-8050	DL 管 温 度	: 250°C
离子源	: ESI, 正离子模式	加热模块温度	: 400°C
雾化气	: 氮气 3 L/min	接口温度	: 300°C
干燥气	: 氮气 10 L/min	扫描模式	: MRM
加热气	: 空气 10 L/min	MRM 参数	: 见表 2

表 2 MRM 参数

No	化合物	化学分子式	CAS	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE (V)	Q3 Pre Bais(V)
1	2-氨基-3-甲基-3H-咪唑并喹啉 (IQ)	C ₁₁ H ₁₀ N ₄	76180 -96-6	199.15	184.05*	-16	-28	-18
					157.10	-15	-37	-30
2	2-氨基-3,4-二甲基-3H-咪唑并喹啉 (MeIQ)	C ₁₂ H ₁₂ N ₄	77094 -11-2	213.05	198.10*	-15	-27	-20
					197.05	-15	-36	-20
					170.00	-16	-45	-29
3	2-氨基-3,8-二甲基咪唑 [4,6-F] 喹啉 (8-MeIQx)	C ₁₁ H ₁₁ N ₅	77500 -04-0	214.05	199.05*	-15	-27	-21
					146.10	-16	-29	-25
4	2-氨基-3,4,8-三甲基-3H-咪唑 [4,5-F] 喹啉 (4, 8-DiMeIQx)	C ₁₂ H ₁₃ N ₅	95896 -78-9	228.05	213.05*	-18	-28	-23
					160.00	-16	30	-29

* 表示定量离子

1.3 样品前处理

前处理方法参照 NY/T3904-2021《肉及肉制品中杂环胺检测 液相色谱-串联质谱法》，作适当调整：即调整提取溶剂乙酸乙腈为氨水乙腈，且经固相分散净化后直接有机滤膜过滤进样，减少氨吹复溶的步骤，结果表明通过该前处理，回收率有一定提升，且总耗时少。

称取试样 2 g（精确至 ±0.01 g）置于 50 mL 离心管中，加入 1 块陶瓷均质子和 10 mL 水，振荡 10 min，加入 10 mL 0.2% 氨水乙腈溶液，振荡 10 min；加入 4.0 g 硫酸镁和 1.0 g 氯化钠，涡旋混匀 10 min，以 10000 r/min 离心 10 min，移取上清液 6 mL 供净化使用。

向上述的 6 mL 待净化液中加入 900 mg 无水硫酸镁、150 mg N-丙基乙二胺（PSA）和 300 mg C18 固相萃取填料，涡旋 1 min，然后在 10000 r/min 离心 5 min，离心后取上清液过 0.22 μm 有机滤膜至进样小瓶，上液相色谱串联质谱分析。

■ 结果与讨论

2.1 基于“AI”算法的 Peakintelligence 助力数据处理

随着人工智能技术的快速发展和迭代更新，通过加载人工智能和机器学习的数据处理算法可以有效避免异常积分曲线出现的概率，简化数据后处理流程，提高结果的准确性。本例中使用了 LabSolutions 新型基于 AI 技术的 Peakintelligence 积分算法，不用复杂参数设置，便可实现目标色谱峰有效积分，并且针对复杂基线情况，积分结果更加科学合理，为多化合物分析提供便捷高效的技术手段。



图 1 Peakintelligence 积分处理界面和效果比较

2.2 标准样品的 MRM 色谱图

通过优化液相色谱分离和质谱条件，4 种杂环胺化合物的 MRM 色谱图如图 2 所示，色谱峰分离良好，定量离子通道无干扰。

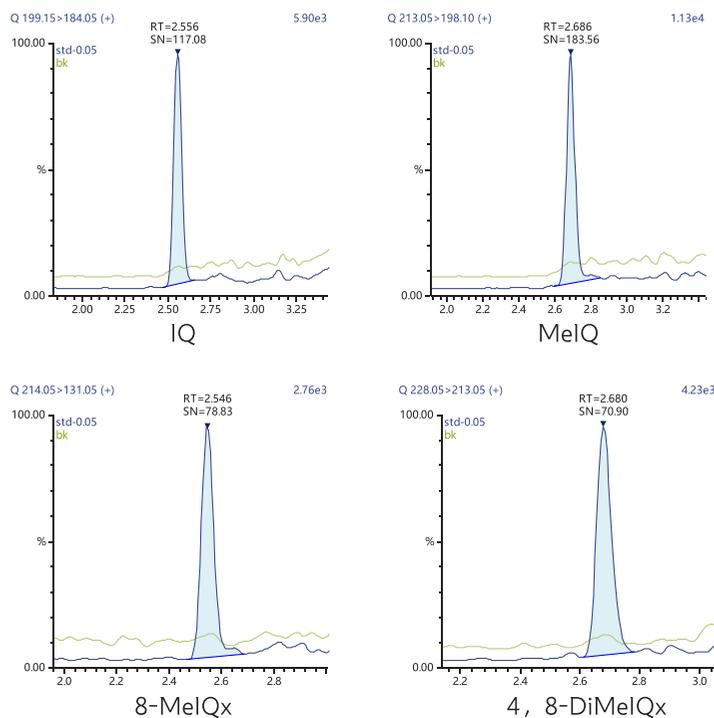


图 2 4 种杂环胺的 MRM 色谱图 (0.05 $\mu\text{g}/\text{L}$)

2.3 校准曲线和检出限

将一定浓度范围混合标准工作溶液，上机分析，以待测物特征离子峰面积为纵坐标，相应的基质匹配标准溶液浓度为横坐标，外标法定量，绘制校准曲线，求回归方程和相关系数。通过 LabSolutions insight 软件依据信噪比 (ASTM) 自动计算，以 3 倍信噪比计算方法检出限，其结果如表 3 所示。

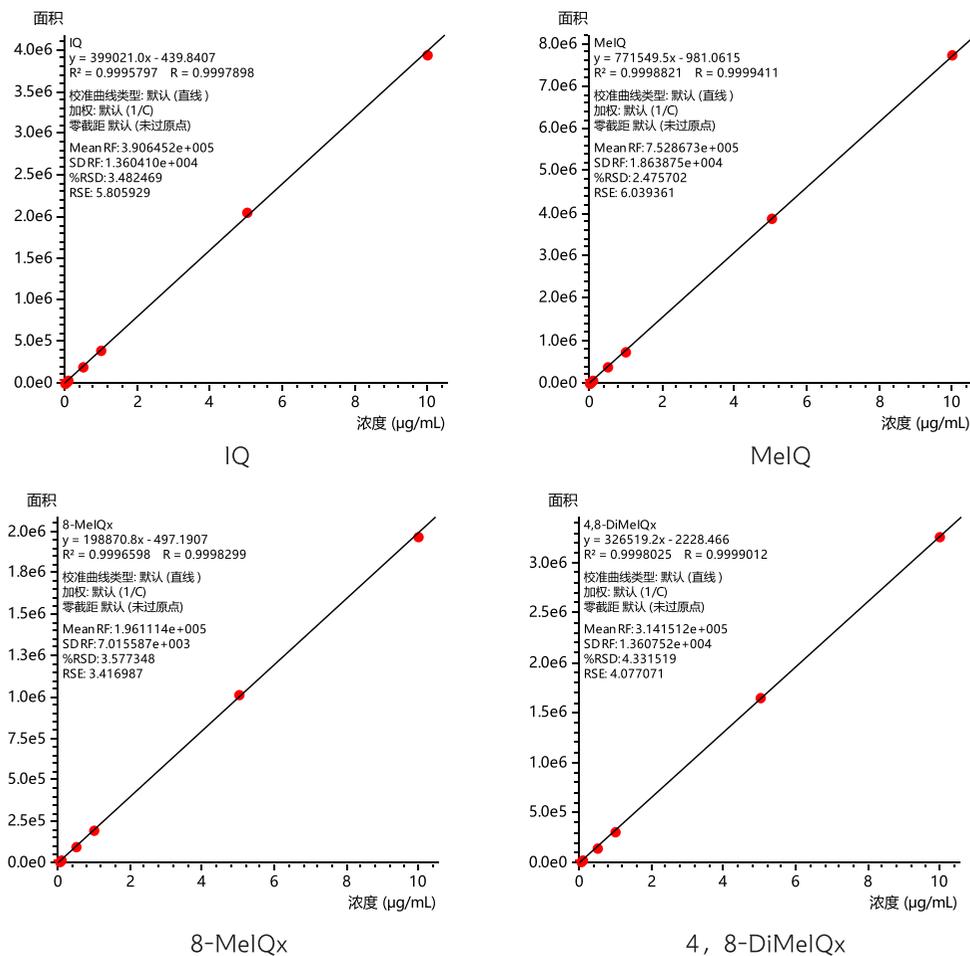


图 3 4 种杂环胺校准曲线

表 3 4 种杂环胺校准曲线及检出限 (权重 1/C)

#	化合物	线性范围 (µg/L)	校准曲线	相关系数 R	准确度 %	检测限 (µg/L)	定量限 (µg/L)
1	IQ	0.01~10	$Y = 399021X - 439.8407$	0.9997	94.7~110.3	0.002	0.005
2	MelQ	0.01~10	$Y = 771549.5 X - 981.0615$	0.9999	96.5~111.9	0.002	0.005
3	8-MelQx	0.05~10	$Y = 198870.8 X - 497.1907$	0.9998	95.7~104.4	0.003	0.010
4	4, 8-DiMelQx	0.05~10	$Y = 326519.2 X - 2228.466$	0.9998	94.3~103.7	0.003	0.010

2.4 重复性实验

取 0.1 µg/L、1 µg/L 和 10 µg/L 标准品溶液，连续进样 6 次，考察仪器的重复性，测定结果见表 4。

表 4 4 种杂环胺保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

No	化合物	RSD% (0.1 µg/L)		RSD% (1 µg/L)		RSD% (10 µg/L)	
		R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
1	IQ	0.08	2.29	0.06	1.95	0.07	0.56
2	MelQ	0.08	3.16	0.06	0.92	0.07	1.19
3	8-MelQx	0.11	5.27	0.05	2.87	0.06	0.66
4	4, 8-DiMelQx	0.11	3.84	0.07	2.50	0.07	1.70

2.5 加标回收率

选择加工猪肉样品，进行 1、5、20 µg/kg 浓度的加标回收试验，按照前述前处理方式处理，上机测定，每个加标浓度重复测定 3 次，以校准曲线法定量，计算回收率。4 种杂环胺回收率在 69.1%~89.4% 之间，具体结果见表 5。

表 5 4 种杂环胺回收率结果 (n=3)

No.	化合物	样品测定浓度	加标浓度 1 µg/kg		加标浓度 5 µg/kg		加标浓度 20 µg/kg	
		µg/kg	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%	回收率 %	RSD%
1	IQ	0.1350	69.1	0.80	70.7	0.38	69.3	2.00
2	MelQ	0.0835	78.5	3.67	78.0	1.02	77.5	1.84
3	8-MelQx	0.0000	81.4	2.00	86.9	1.86	85.2	3.54
4	4, 8-DiMelQx	0.0000	89.4	5.66	87.1	2.38	86.1	2.34

■ 结论

参照 NY/T3904-2021《肉及肉制品中杂环胺检测 液相色谱 - 串联质谱法》，使用三重四极杆液质联用仪建立了测定肉制品中杂环胺含量的方法。4 种杂环胺在一定浓度范围内线性良好，相关系数 0.999 以上，且重复性、回收率均满足测定需求，同时该方法前处理简单，灵敏度高，分析时间短，结果准确，可用于肉制品中杂环胺的准确定量检测。

岛津应用云

