

LC-MS/MS 法测定咖啡中丙烯酰胺

LCMSMS-898

摘要： 本文使用岛津液相色谱三重四极杆质谱仪，建立了咖啡中丙烯酰胺的测定方法。咖啡样品经提取后，采用 QuEChERS 法进行净化后上机，内标法定量。在指定的条件下，丙烯酰胺在 4 min 后出峰，能减少基质对丙烯酰胺的干扰；丙烯酰胺在 2~500 ng/mL 浓度范围内线性良好，检出限低至 0.2 ng/mL；所测试的咖啡样品中检出丙烯酰胺，且回收率、重复性均满足方法要求。本方法快速、有效，可用于咖啡中丙烯酰胺的测定。

关键词： 三重四极杆 液质联用仪 丙烯酰胺 咖啡

技术特点：

- ❖ 通过优化的液相条件，减少基质对丙烯酰胺的干扰
- ❖ 前处理采用 QuEChERS 法，简化咖啡样品前处理流程

丙烯酰胺是一种低分子量、高水溶性的有机化合物，也是国际癌症研究机构认定的二类致癌物质。食品中丙烯酰胺的主要来源是由原料中的天冬酰胺和还原糖在高于 120°C 的油炸、烘烤等工艺下，通过美拉德反应形成。许多食品原料本身含有天冬酰胺和还原糖，如马铃薯、谷物和咖啡豆，其加工制品薯片、面包和烘焙咖啡、速溶咖啡等需控制丙烯酰胺的污染。

2023 年 9 月，香港消委会发布调查报告，测试了 49 款咖啡产品，发现超过 9 成半样品检出丙烯酰

胺；12 月，福建省消协发布报告，市面上 59 份抽检咖啡全部检出低含量的致癌物丙烯酰胺。

目前丙烯酰胺的检测方法主要参照 GB 5009.204-2014《食品安全国家标准 食品中丙烯酰胺的测定》。标准采用 GCMS 法，丙烯酰胺需采用衍生化反应后进行分析，分析时间较长。本文使用岛津 LCMS-8050，建立了咖啡中丙烯酰胺的测定方法。方法采用 QuEChERS 法进行前处理，快速、有效，可用于咖啡中丙烯酰胺的快速测定。

■ 实验部分

1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-40 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-40lite	脱气机：	DGU-40A _{SR}
输液泵：	LC-40D XS×2	自动进样器：	SIL-40C XS
柱温箱：	CTO-40S	色谱工作站：	LabSolutions Ver.5.120

1.2 分析条件

液相色谱条件：

色谱柱：Shim-pack GIST-HP C18-AQ 柱（150 mm x 2.1 mm I.D., 3 μm）（P/N 227-30765-04）；
岛津（上海）实验器材有限公司

流动相：A-0.1% 甲酸水溶液；B- 甲醇

流速：0.2 mL/min 柱温：30°C

进样体积：10 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 2%，时间程序见表 1。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
5.00	Pump	B.Conc	2
5.50	Pump	B.Conc	95
7.00	Pump	B.Conc	95
7.10	Pump	B.Conc	2
9.00	Control	Stop	

质谱条件

离子化模式：	ESI (+)	接口电压：	4 kV
雾化气流速：	3.0 L/min	接口温度：	300°C
加热模块温度：	400°C	干燥气流速：	3 L/min
D L 温度：	250°C	加热气流速：	10 L/min
MRM 参数：	见表 2	扫描模式：	多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
丙烯酰胺	72.10	55.10	-10	-15	-22
		27.10	-29	-23	-28
丙烯酰胺 -D3	75.00	58.00	-10	-17	-23
		45.00	-13	-35	-19

* 代表定量离子对。

1.3 标准品及样品制备

标准储备溶液：丙烯酰胺和丙烯酰胺 -D3 分别取 10 mg 固标，用甲醇定容至 10 mL，即得 1 mg/mL 标准储备溶液。

标准曲线工作溶液：以水为溶剂，分别配制 1 µg/mL 丙烯酰胺和丙烯酰胺 -D3 内标标准中间液。再以水为溶剂，配制成内标浓度为 50 ng/mL、目标物浓度为 2、10、50、100、200、500 ng/mL 的标准曲线系列工作溶液。

样品前处理：准确称取咖啡样品 1 g，加入 1 µg/mL 丙烯酰胺 -D3 内标工作溶液 100 µL，再加入纯水 10 mL，振摇 10 min，离心后取上清液。加入 5 mL 正己烷，振荡萃取 10 min，离心除去有机相。再加入 10 mL 乙腈，提取 10 min，加入盐析剂（含 0.5 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸镁），振荡 10 min。在 4°C 下，以 10000 r/min 离心 10 min，取 2.0 mL 上清液于基质分散净化管中（含 20 mg 石墨化炭黑、150 mg 十八烷基吸附剂、150 mg 乙二胺 -N-丙基硅烷和 150 mg 强阳离子交换材料），涡旋 5 min，以 10000 r/min 离心 10 min，取 1 mL 上清液氮吹至近干，用 0.2 mL 纯水复溶，过滤后上机分析。

■ 结果与讨论

2.1 MRM 色谱图

通过优化液相条件，将丙烯酰胺出峰时间控制在 4 min 以后，避免样品中的干扰。色谱图如图 1 所示。

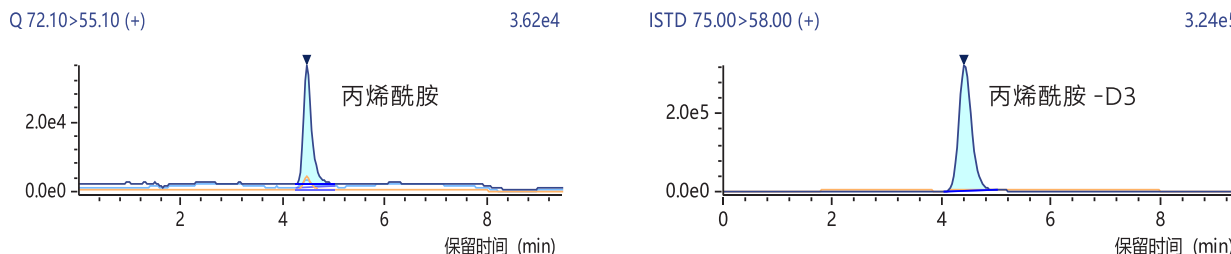


图 1 标准曲线最低点 MRM 色谱图

2.2 校准曲线

采用内标法建立校准曲线，结果如图 2 所示。丙烯酰胺在 2 ~ 500 $\mu\text{g/L}$ 线性浓度范围内线性良好，相关系数为 0.9999。分别取 10 $\mu\text{g/L}$ 和 100 $\mu\text{g/L}$ 丙烯酰胺标样，重复分析 6 次，保留时间重复性为 0.15~0.22%，峰面积重复性为 0.62~1.29%。仪器检出限为 0.2 $\mu\text{g/L}$ 。

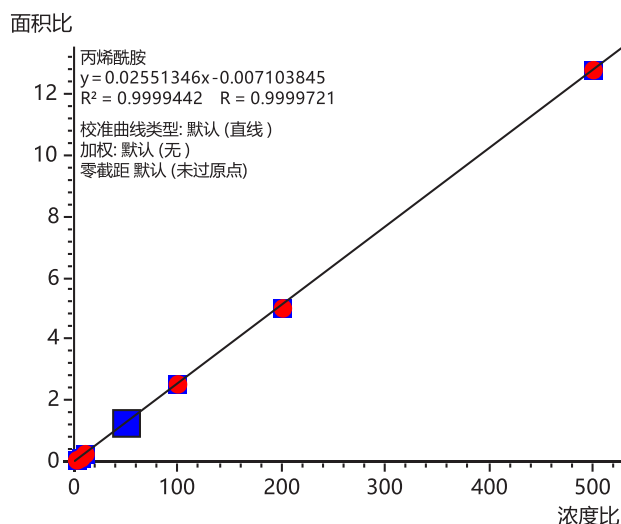


图 2 校准曲线结果

2.3 样品和加标回收测试

按照 1.2 中的分析条件和 1.3 中前处理方法对咖啡样品进行分析和加标回收测试，结果如表 3 所示。分别进行 20、100、200 $\mu\text{g/kg}$ 的加标回收测试，每个条件重复 3 次，回收率为 86.2~95.6%，重复性为 1.28~5.69%。

表 3 样品和加标回收测试结果 (n=3)

化合物名称	样品含量 ($\mu\text{g/kg}$)	加标浓度 ($\mu\text{g/kg}$)	回收率, %	RSD, %
丙烯酰胺	8.0	20	86.2	5.69
		100	89.3	3.12
		200	95.6	1.28

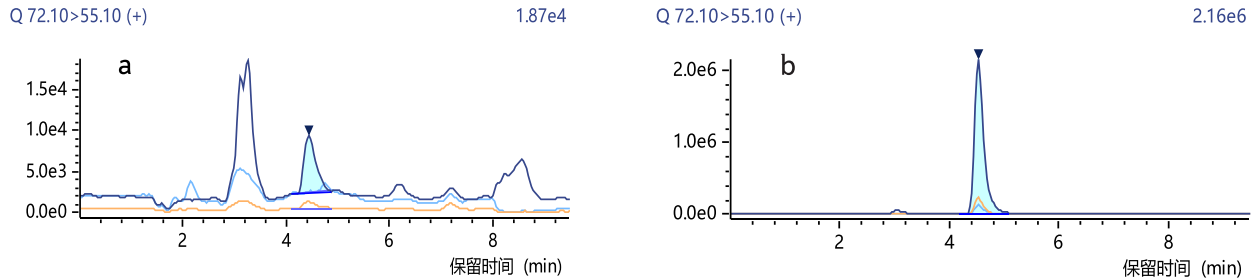


图3 样品色谱图 (a: 咖啡样品; b: 咖啡样品加标 200 µg/kg)

■ 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-40 与三重四极杆质谱仪 LCMS-8050 联用系统，建立了咖啡中丙烯酰胺的测定方法。咖啡样品经提取后，采用 QuEChERS 法进行净化后上机，内标法定量。丙烯酰胺在 2~500 µg/L 浓度范围内，相关系数为 0.9999，检出限为 0.2 µg/L；保留时间和峰面积重复性分别为 0.15-0.22% 和 0.62-1.29%。咖啡样品经测试检出丙烯酰胺，进行了 20、100、200 µg/kg 的加标回收测试，回收率为 86.2~95.6%，重复性为 1.28~5.69%。该方法可用于咖啡中丙烯酰胺的测定。

岛津应用云

