

采用安捷伦 Bond Elut QuEChERS AOAC 试剂盒及 LC/MS/MS 分析炸薯条中的丙烯酰胺

食品应用

作者

Fadwa Al-Taher
食品安全和健康研究所
伊利诺伊理工学院
Bedford Park, IL

摘要

本应用摘要描述了 QuEChERS (快速、简便、经济、高效、耐用和安全) 样品制备程序的应用。该 QuEChERS 方法采用了提取和纯化方案, 以 $^{13}\text{C}_3$ -丙烯酰胺为内标对丙烯酰胺进行测定。本文实验在反相 C-18 色谱柱 (2.1 mm \times 150 mm, 3 μm) 上采用等度洗脱分离分析物与内标物, 再通过聚焦正离子电喷雾离子化模式的三重串联四极杆质谱进行分析。丙烯酰胺的回收率在 97% 至 116% 之间, 相对标准偏差小于 5%。

前言

2002 年, 瑞典国家食品管理局和斯德哥尔摩大学的研究人员发现, 马铃薯和谷类制品, 如薯片、薯条、烤土豆、面包、早餐麦片和饼干中的丙烯酰胺含量可高达 3 毫克/公斤。高碳水化合物食品在高温 (>120 $^{\circ}\text{C}$) 条件下会产生丙烯酰胺, 如油炸、烘烤和挤压 (1)。对于动物, 它是公认的一种神经毒素和致癌物质。国际癌症研究机构(IARC)认为它可能使人致癌 (2)。高浓度的丙烯酰胺主要存在于马铃薯制品, 面包和谷物产品, 以及咖啡中。丙烯酰胺是在食品进行高温处理时生成的, 产生原因是某些氨基酸与还原糖发生了美拉德反应 (Maillard) (1)。大多数实验室使用液相色谱/三重四极杆质谱 (LC/MS/MS) 检测食品中的非衍生丙烯酰胺。液相色谱方法采用水提取食品中的丙烯酰胺。用正己烷、甲苯或环己烷除去脂肪, 然后对水相进行离心 (3)。根据美国食品药品监督管理局 (FDA) 的方法, 使用固相萃取 (SPE) 进行样品的净化 (4)。



Agilent Technologies

QuEChERS 方法最早用于食品中农药残留的分析，后来被 Mastovska 和 Lehota 修改之后，可用于食品中丙烯酰胺的提取净化 (5)。方法包括两个主要的步骤：提取和分散固相萃取净化。用水提取样品，正己烷除去脂肪，硫酸镁和氯化钠促使乙腈和水相分层，使丙烯酰胺进入乙腈中。取一定体积的有机相用分散固相萃取进行净化，利用 N-丙基乙二胺 (PSA) 去除有机酸，无水硫酸镁除去有机相中的水。最后用三重串联四极杆液质联用仪的正离子多反应监测模式 (MRM) 进行样品的分析。

本应用简报介绍了用 LC/MS/MS 检测炸薯条中丙烯酰胺的方法。方法包括采用安捷伦 Bond Elut QuEChERS 提取试剂盒 (p/n 5982-5850) 和 Bond Elut AOAC 分散固相萃取 2 mL 试剂盒 (p/n 5982-5022) 进行样品前处理。

实验部分

试剂和化学品

所有的试剂都是 Optima 或 LC/MS 级的。乙腈、正己烷、甲酸和水都是从 Fisher Scientific (Hanover Park, IL, USA) 购买的。丙烯酰胺 (图 1) 和同位素的 $^{13}\text{C}_3$ -丙烯酰胺 (内标) 是从 Cambridge Isotope Laboratories (Andover, MA, USA) 购买的。

标准溶液

丙烯酰胺标准储备液 (1 mg/mL) 用 100 毫克丙烯酰胺溶于 100 毫升的乙腈制备，并储存在 4 °C 条件下。内标 (甲基丙烯酰胺) 储备液 (100000 µg/mL) 用移液枪取 0.5 mL 浓度为 1 mg/mL 的标准溶液溶于 50 毫升的乙腈制备，并储存在 4 °C 条件下。所有的工作标液都是每天采用序列稀释法用乙腈新鲜配置的。

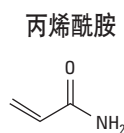


图 1. 丙烯酰胺的化学结构

设备和材料

样品分析是在安捷伦 1200 系列液相色谱和 6460 三重串联四极杆液质联用仪上进行的 (Agilent Technologies, Inc., CA, USA)。组分的分离采用 C18 色谱柱 (2.1 mm × 150 mm, 3 µm)，用安捷伦 MassHunter 软件进行数据处理。

用 Bond Elut QuEChERS 丙烯酰胺提取试剂盒 (p/n 5982-5850) 和安捷伦 Bond Elut QuEChERS AOAC 分散固相萃取试剂盒 (p/n 5982-5022) 进行样品的提取和净化。

仪器条件

表 1. 液质的分析条件

色谱柱	Reversed C-18 column, 2.1 mm × 150 mm, 3 µm
柱温	30 °C
梯度模式 (%B)	2.5%的甲醇/97.5%的 0.1%甲酸水溶液
流速	0.2 mL/min
进样体积	10 µL
分析时间	7 min
后运行时间	3 min
质谱仪	喷射流离子聚焦离子源，正离子模式
毛细管电压	4000 V
喷嘴电压	500 V
鞘流气温度	325 °C, 5 L/min
干燥气温度	350 °C, 11 L/min

样品制备

冷冻炸薯条从当地的商店购买。

提取

称取 1 克炸薯条放入 50 毫升的安捷伦的 Bond Elut QuEChERS 离心管中。加入内标 ($^{13}\text{C}_3$ 丙烯酰胺)，浓度为 500 ng/g。加入正己烷 (5 mL) 并涡旋振荡。加入 10 毫升水和 10 毫升乙腈，然后是 Bond Elut QuEChERS 提取混合物 (p/n 5982-5850)。振荡 1 分钟，在 5000 转下离心 5 分钟。

分散固相萃取净化

弃去正己烷相，将 1 毫升乙腈提取液转移至 2 毫升 Bond Elut QuEChERS AOAC 分散固相萃取管中 (p/n 5982-5022)。管中包含 50 毫克的 PSA，150 毫克的无水硫酸镁。振荡 30 秒，然后在 5000 转下离心 1 分钟。上清液转移至自动进样器的样品瓶中用于液质分析。

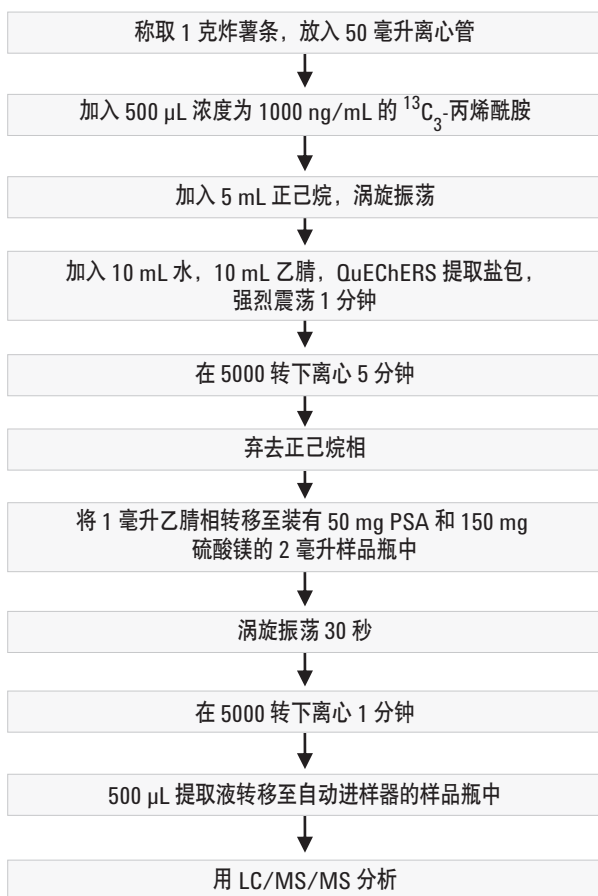


图 2. QuEChERS 样品前处理的流程图

结果和讨论

色谱分析

丙烯酰胺和甲基丙烯酰胺的分离是在 C18 柱上进行的 (2.1 × 150 mm, 3 μm)，采用等度洗脱，2.5% 的甲醇/97.5% 的 0.1% 甲酸水溶液。柱温是 30 °C，流速为 0.2 mL/min。图 3 为丙烯酰胺和甲基丙烯酰胺分离的典型的色谱图。

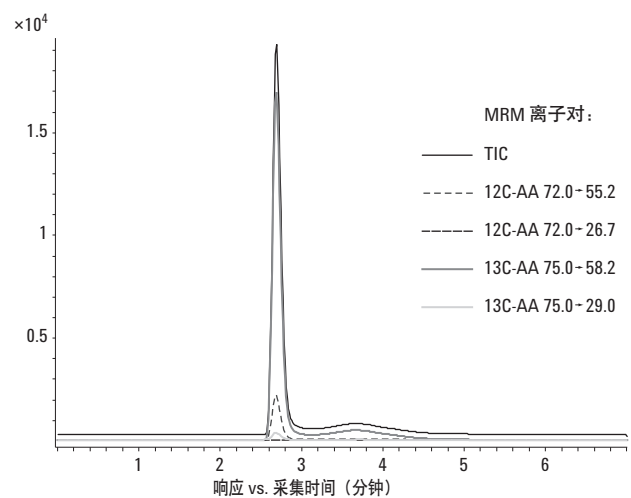


图 3. 浓度为 10 ng/mL 丙烯酰胺标准品和浓度为 500 ng/mL 内标 ($^{13}\text{C}_3$ -丙烯酰胺) 的分离色谱图

QuEChERS 方法

正己烷用于去除样品中的脂肪。加入水以利于提取薯条中的丙烯酰胺。包含 4 g MgSO_4 和 0.5 g NaCl 的 QuEChERS 提取盐包用于提取 1 克薯条中的丙烯酰胺。加盐的目的是促使乙腈和水更好地分层。分散固相萃取被用于样品的净化(5)。

本应用中的 QuEChERS 前处理步骤很简单。不再需要耗时、繁琐而且还可能致回收率损失的固相萃取步骤。

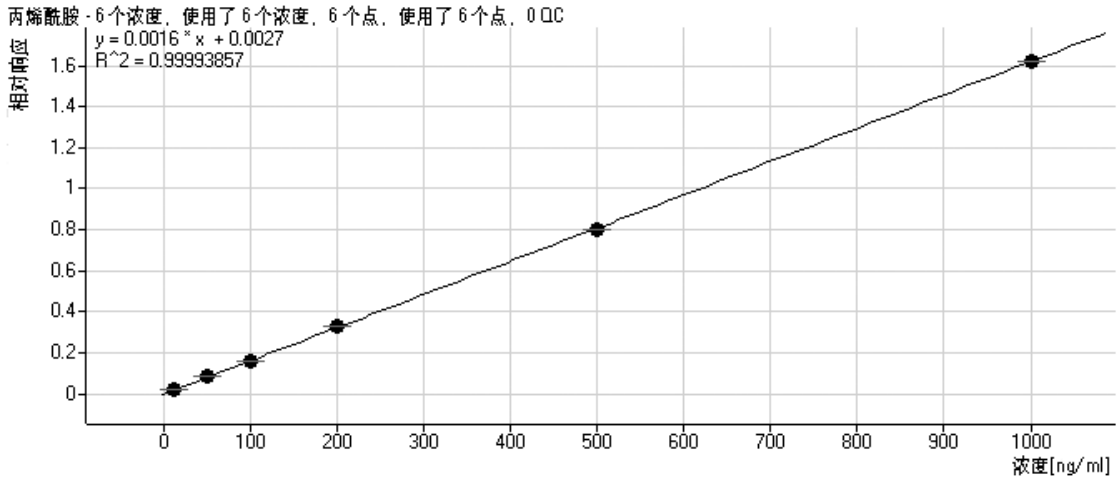


图 4. 丙烯酰胺的校正曲线

线性

线性校正曲线是用分析物的相对响应（待测物丙烯酰胺与内标物甲基丙烯酰胺的峰面积比值）对分析物的相对浓度（待测物丙烯酰胺与内标物甲基丙烯酰胺的浓度比值）作图建立的。丙烯酰胺的浓度范围为 0 – 1000 ng/mL (图 4)。线性度非常好 ($r^2 > 0.9999$)。

回收率和重现性

浓度分别为 50 和 100 ng/mL 的丙烯酰胺加标的 1:1 乙腈水溶液。每个浓度水平重复三次 ($n=3$)。用含有 33 ng/mL 丙烯酰胺的薯条分别添加两个浓度水平的丙烯酰胺 (100 和 200 ng/mL) 制备加标样品以及不加标的空白校正样品，这是因为很难找到完全空白的薯条样品。加标薯条样品的色谱图见图 5。分析重复三次 ($n=3$)。表 2 是丙烯酰胺的回收率和相对标准偏差。

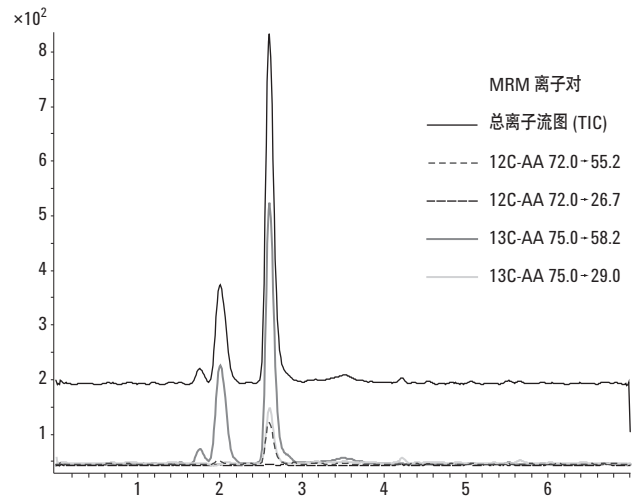


图 5. 加标薯条样品提取物的色谱图

表 2. 丙烯酰胺标样添加的薯条样品和 1:1 乙腈水溶液的回收率和相对标准偏差(n=3)

基质	丙烯酰胺的添加浓度 (ng/mL)	% 回收率 (n=3)	%RSD (n=3)
1:1 乙腈:水	50	116.6	4.07
1:1 乙腈:水	100	114.06	4.85
薯条	100	97.14 (背景校正之后)	5.04
薯条	200	97.50 (背景校正之后)	2.55

结论

基于安捷伦 Bond Elut QuEChERS 的样品前处理方法用于丙烯酰胺的提取和净化, LC/MS/MS 用于定量分析, 开发了简单快速的多残留分析方法, 具有高回收率以及高重现性, 这个方法可以用于监测食品中的丙烯酰胺。

参考文献

1. Al-Taher, F. 2009. Effect of heat-processed foods on acrylamide formation, In : Intentional and Unintentional Contaminants in Food and Feed. F. Al-Taher, L. Jackson, and J.W. DeVries, eds. Oxford University Press, New York, NY, pp.91-113.
2. IARC. Acrylamide. Some Industrial Chemicals: Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans; International Agency for Research on Cancer: Lyon, France, 1994.
3. Wenzl, T.; Calle, B. Anklam, E. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. Food Addit. Cont. 2003, 20, 885-902.
4. Roach, J.A.G.; Andrzejewski, D.; Gay, M.L.; Nortrup, D.; Musser, S.M. Rugged LC/MS/MS survey analysis for acrylamide in foods, J. Agric. Food Chem. 2003. 51, 7547-7554.
5. Mastovska, K. and Lehotay, S.T. Rapid sample preparation method for LC/MS/MS or GC-MS analysis of acrylamide in various food matrices, J. Agric. Food Chem. 2006. 54, 7001-7008.

www.agilent.com/chem/cn

安捷伦不对本文可能存在的错误或由于提供、展示或使用本文所造成的间接损失承担任何责任。

本文中的信息、描述和指标如有更改，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2012
2012年1月6日，中国印刷
5990-5940CHCN

